



Università
Ca'Foscari
Venezia

Corso di Laurea Magistrale in
Chimica e tecnologie sostenibili
Curriculum Chimica Industriale

D.M. 270/2004

Tesi di Laurea

Sintesi di nuovi complessi di Pd(I) e studio della loro attività antitumorale

Relatore

Prof. Fabiano Visentin

Correlatori

Dott.ssa Enrica Bortolamiol

Dott.ssa Eleonora Botter

Laureando

Jacopo Viviani

Matricola: 857015

Anno Accademico

2022/2023

Sommario

1. Introduzione	5
1.1. Cancro	5
1.2. Complessi metallici in chemioterapia	7
1.3. Cisplatino	8
1.3.1. Meccanismo d'azione	9
1.3.2. Resistenza al cisplatino	11
1.3.3. Strategie per superare la resistenza	13
1.4. Altri complessi	16
1.4.1. Meccanismi di azione	16
1.4.2. Complessi di Pd(II) in ambiente biologico	19
1.4.3. Complessi di Pd(I): caratteristiche generali	23
1.4.4. Sintesi ed esempi vari di complessi di Pd(I)	25
1.5. Leganti fosfinici	32
1.5.1. Classificazione dei leganti fosfinici	33
1.6. Leganti isonitrilici	37
1.6.1. Generale	37
2. Scopo della tesi	43
3. Risultati e discussione	44
3.1. Valutazione dell'attività antiproliferativa	62
4. Conclusioni	66
5. Parte sperimentale	68
5.1. Procedura sintetica	68
5.1.1. Reagenti e solventi impiegati	68
5.1.2. Strumentazione	68
5.1.3. Sintesi di sintesi di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$	68
5.1.4. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)(\text{Tic})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4a-Tic)	69
5.1.5. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)(\text{Cyc})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4a-Cyc)	71
5.1.6. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)(\text{Adic})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4a-Adic)	73
5.1.7. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4b-Tic)	75
5.1.8. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Cyc})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4b-Cyc)	77
5.1.9. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Adic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4b-Adic)	79
5.1.10. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4c-Tic)	81
5.1.11. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Cyc})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4c-Cyc)	83
5.1.12. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Adic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4c-Adic)	85

5.1.13. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4d-Tic)	87
5.1.14. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Cyc})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4d-Cyc)	89
5.1.15. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Adic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4d-Adic)	91
5.1.16. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(\text{Ph}_2\text{-2-Pyridin})(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4e-Tic)	93
5.1.17. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(\text{Furyl})_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4f-Tic)	95
5.1.18. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(\text{Ph}_2\text{-2Py})(\text{Adic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4e-Adic)	97
5.2. Studio dell'attività antiproliferativa dei complessi sintetizzati	99
5.2.1. Additivi e solventi biologici	100
5.2.2. Strumentazione	101
5.2.3. Piastramento	101
5.2.4. Trattamento	102
5.2.5. Lettura ed elaborazione dati	102
6. Appendice	104
6.0.1. Il cisplatino e il veleno d'ape	104
6.0.2. L'odore degli isonitrili	104
6.1. Serendipity	104
7. Bibliografia e sitografia	113

1. Introduzione

1.1. Cancro

Il cancro è una delle principali cause di morte al mondo come emerge dal rapporto stilato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)¹ e secondo i dati risalenti al 2020 la maggior parte dei casi è stata registrata negli Stati Uniti, Cina, Giappone, India, Australia e in Europa.² Ogni anno vengono censiti circa dieci milioni di decessi. In termini generali, questa patologia è caratterizzata da una crescita cellulare anomala e incontrollata che può interessare diverse parti del corpo. Le cellule mutate nel tempo si accumulano fino alla formazione di una massa di tessuto a cui è data la denominazione di tumore. Esistono differenti cause che possono portare allo sviluppo di una patologia neoplastica tra cui la predisposizione genetica e fattori esterni che includono entità cancerogene fisiche (radiazioni ultraviolette e ionizzanti) fattori chimici (tabacco, aflatossina, arsenico) e biologici (infezioni da virus, batteri, parassiti).

Il cancro ovarico è uno dei tumori ginecologici più comuni con la più alta mortalità al mondo. Nel 2020 sono stati registrati più di 300.000 casi con più di 200.000 decessi. L'alto tasso di mortalità deriva principalmente da una diagnosi tardiva, stante la difficoltà di individuare tale patologia in fase precoce per la mancanza di sintomi specifici ad essa associabili. Ad oggi, inoltre, sono relativamente scarse le risposte terapeutiche a disposizione per il suo trattamento.

Per quanto la causa di questa neoplasia sia ancora sconosciuta, il carcinoma ovarico insorge nelle donne con predisposizione ereditaria, che si stima interessi il 5-15% dei casi. Con evidenze emergenti, inoltre, si ritiene che i carcinomi ovarici insorgano a seguito di una trasformazione maligna dell'epitelio superficiale ovarico e/o dell'epitelio sieroso delle tube di Falloppio; il meccanismo biologico rimane comunque sfuggente, anche se probabilmente comporta un processo a più fasi con accumulo di lesioni genetiche.³

Nessun fattore ambientale viene ricollegato alla carcinogenesi ovarica, ma l'esposizione agli ormoni sessuali e la storia riproduttiva del paziente potrebbero avere un ruolo significativo. Il parto di uno o più bambini vivi, ad esempio, sembra ridurre il rischio di incorrere in questa malattia.⁴

Nella maggior parte dei casi, il trattamento del tumore ovarico prevede un intervento chirurgico seguito da una chemioterapia postoperatoria per eliminare eventuali cellule tumorali ancora presenti. Tra i composti maggiormente impiegati in tal senso vi sono il cisplatino *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] e i suoi derivati. Il principale problema nell'uso dei composti a base di platino è

che dopo il primo trattamento esiste un'alta probabilità che il tumore si ripresenti. Per ovviare a questa problematica si sceglie, ove possibile, di ricorrere a una terapia combinata o ad strategie terapeutiche diverse.^{3,5}

Oltre ai trattamenti tradizionali, come la chirurgia, la chemioterapia, la radioterapia, esistono anche e approcci di nuova generazione come l'immunoterapia, le terapie ormonali e le terapie fotodinamiche.⁶

In combinazione con le attuali tecniche troviamo anche l'utilizzo di complessi metallici.

1.2. Complessi metallici in chemioterapia

Per secoli farmaci a base metallica sono stati utilizzati per il trattamento di differenti patologie, ma solo in tempi relativamente recenti sono stati formalizzati protocolli per la sintesi di composti specifici accompagnati da studi per identificare il loro sito *target* e fare luce sul meccanismo d'azione.⁷ Tra questi gli agenti antitumorali stanno guadagnando un'importanza crescente. Molti di questi complessi sono stati ottenuti grazie a scoperte più o meno casuali ma, sfruttando l'ampio bagaglio di conoscenze accumulato nel corso degli anni, la ricerca punta ora ad una progettazione mirata delle caratteristiche dei potenziali farmaci.⁸ La progettazione chimica basata è spesso ostacolata, però, dalla difficoltà di modificare un singolo parametro chimico-fisico di un composto senza influenzare anche altri parametri critici in modo imprevedibile e talvolta sorprendente. Va evidenziato che non bisogna sottovalutare il fatto che spesso le interazioni con l'ambiente biologico vengono studiate preliminarmente *in vitro*, in un sistema, cioè, notevolmente semplificato. Risultati differenti possono emergere in un sistema più complesso, come un organismo vivente. Di conseguenza, l'obiettivo di sviluppare un composto metallico in grado di mirare a biomolecole specifiche potrebbe spesso risultare in un esercizio sterile.⁸

Attualmente, il numero di composti metallici impiegati in ambito clinico per il trattamento delle patologie tumorali è estremamente circoscritto e si limita quasi esclusivamente a complessi a base di platino.

Storicamente, questi composti sono stati tra i primi ad essere testati e approvati come chemioterapici a seguito del grande successo riscosso dal cisplatino, uno dei complessi antitumorali maggiormente impiegati ancora oggi.

L'impiego di farmaci antitumorali a base di platino è però vincolato dalla loro seria tossicità generalizzata (neurotossicità, epatotossicità, nefrotossicità) e dalla resistenza che le cellule tumorali possono sviluppare spontaneamente o acquisire a seguito del trattamento. Al fine di superare questa problematica, nel corso degli anni sono stati ampiamente esaminati numerosi altri composti metallici.

1.3. Cisplatino

Il cisplatino (*cis*-[PtCl₂(NH₃)₂]) rappresenta il primo complesso di platino ad essere stato approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) nel 1978 per il trattamento di varie forme di cancro, tra cui quello cervicale, colorettales, polmonare, il linfoma recidivante, ovarico e testicolare (circa il 90% di questi casi viene attualmente curato con cisplatino).⁹

Il complesso fu sintetizzato la prima volta da Peyrone (1845) e per questo inizialmente venne chiamato *sale di Peyrone*.⁶

La sua capacità di inibire la proliferazione cellulare venne scoperta casualmente in uno studio di Rosenberg (1965) incentrato sull'influenza delle correnti elettriche sulla divisione cellulare batterica. Rosenberg aveva osservato che i fusi mitotici di una cellula in fase di divisione mostravano somiglianze con il tipico esperimento scientifico in cui le linee del campo magnetico si formano disperdendo polvere di ferro su carta posta sopra un magnete. Per poter studiare tale fenomeno vennero fatte crescere delle cellule di *Escherichia Coli* in un tampone di cloruro di ammonio dove vennero inseriti degli elettrodi di platino, inerti, per poter far passare corrente. Le cellule, alla fine dell'esperimento, avevano una forma allungata e filamentosa diversa da quella classica. Dopo diverse indagini, venne accertato che questa inibizione della divisione cellulare era dovuta ai prodotti di idrolisi del platino che si venivano a formare in prossimità degli elettrodi. Il complesso che, con questa modalità, si veniva ad ottenere era la forma *cis* del Pt(II), [PtCl₂(NH₃)₂],^{6,9} oggi noto come cisplatino. Sulla base di studi eseguiti successivamente su cavie da laboratorio e di successivi *trials* clinici, questo composto ottenne l'approvazione da parte della FDA. L'impiego del complesso nel campo antitumorale ebbe un enorme successo, al punto da sancire simbolicamente la nascita della moderna chimica inorganica medica.^{5,7}

Tra le altre tipologie di complessi a base di platino attualmente in uso in molti protocolli clinici per il trattamento del cancro vi sono: il carboplatino (*cis*-diammino(1,1-ciclobutanodicarbossilato)platino(II)) e l'oxaliplatino (*trans*-R,R-cicloesano-(1,2-diammina)ossalatoplatino(II)) (*Figura 1*). Assieme al cisplatino, questi sistemi vengono comunemente utilizzati in combinazione con altri agenti per trattare tutta una serie di tumori maligni.¹⁰

Oltre a questi, sono stati approvati anche altri derivati aventi platino come centro metallico: nedaplatino, eptaplatino, lobaplatino, satraplatino e picoplatino (*Figura 1*).¹¹

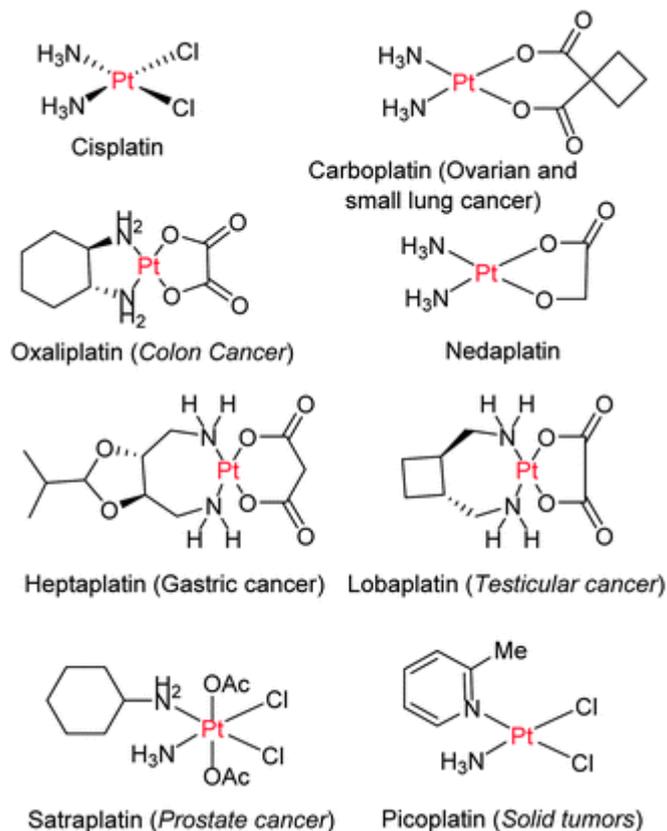


Figura 1. Agenti antitumorali a base di platino.¹¹

Ogni anno vengono venduti farmaci a base di platino per un valore monetario di circa due miliardi di dollari e circa il 50% dei pazienti affetti da tumore sono curati con cisplatino.⁹⁶

1.3.1. Meccanismo d'azione

L'azione principale del cisplatino è quella di provocare la morte delle cellule tumorali attraverso la formazione di addotti DNA-platino, impedendo la proliferazione cellulare in virtù dell'inibizione della sintesi del DNA.

Il complesso viene immesso nel flusso sanguigno per via endovenosa in una soluzione salina sterile, dove la concentrazione elevata di cloruro (circa 100 mM), impedisce la sostituzione dei gruppi cloruro con l'acqua. Tale fenomeno invece si verifica all'interno della cellula, dove la concentrazione di ione cloruro è notevolmente inferiore. È stato dimostrato però che tra il 65-98% del cisplatino iniettato si lega a proteine presenti nel plasma sanguigno attraverso gruppi tiolici entro 24 ore dalla somministrazione (es. può legarsi all'albumina attraverso i gruppi -SH terminali dell'amminoacido cisteina). Tale fenomeno porta, di conseguenza, alla disattivazione del complesso.

Si ritiene che il cisplatino rimanente entri nella cellula tramite diffusione attiva sfruttando i canali del trasportatore del rame (CTR1).⁶ Una volta all'interno delle cellule, i due gruppi cloruro presenti nel cisplatino vengono sostituiti da una o due molecole d'acqua, formando così i complessi idrati cationici $cis-[Pt(NH_3)(Cl)(H_2O)]^+$ e $cis-[Pt(NH_3)(H_2O)_2]^{2+}$, poiché la concentrazione di ioni cloruro nel citoplasma è relativamente bassa (circa 4-20 mM). Studi recenti hanno confermato che il sistema mono-acquo è più reattivo del complesso diacquo.⁶ Questi acquo-complessi con carica positiva vengono attratti dall'energia statica del DNA, che è caricato negativamente, attraversano la membrana nucleare e raggiungono il nucleo dove si legano al DNA stesso (il 98% di questi complessi è responsabile del legame Pt-DNA nella cellula). Le molecole d'acqua vengono successivamente sostituite come leganti da basi azotate presenti nel DNA, formando così addotti DNA- $(cis-[Pt(NH_3)_2]/DNA)$ (Figura 2).

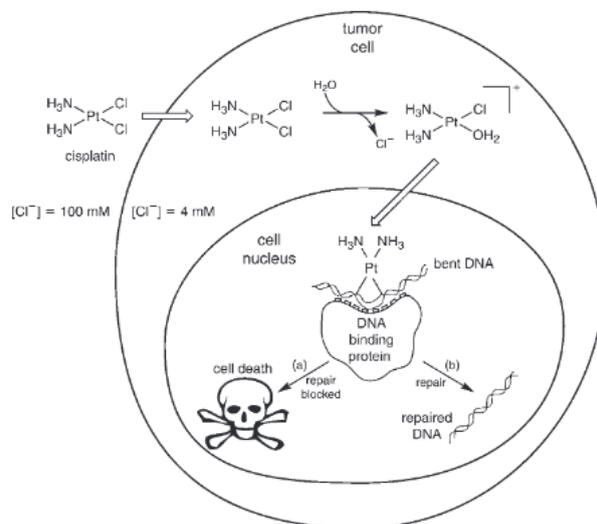


Figura 2. Via citotossica del cisplatino. Dopo essere entrato nella cellula si viene a formare l'acquo-complesso che poi si lega al DNA cellulare. Se la lesione del DNA non viene riparata dalla cellula (percorso a), può verificarsi la morte cellulare per apoptosi.

La posizione preferenziale dell'attacco da parte del cisplatino idratato è la posizione N7 della base guanina; tramite studi computazionali è stato visto che la guanina è di circa 3-4 ordini di grandezza più reattiva verso il cisplatino rispetto all'adenina, in ragione del fatto che è presente uno stato di transizione caratterizzato da un forte legame idrogeno tra l'idrogeno aminico del cisplatino e la porzione O-C6 della guanina mentre nel caso dell'adenina si forma solo un debole legame idrogeno tra il ligando cloruro del cisplatino e il gruppo H₂N-C6 (Figura 3).¹²

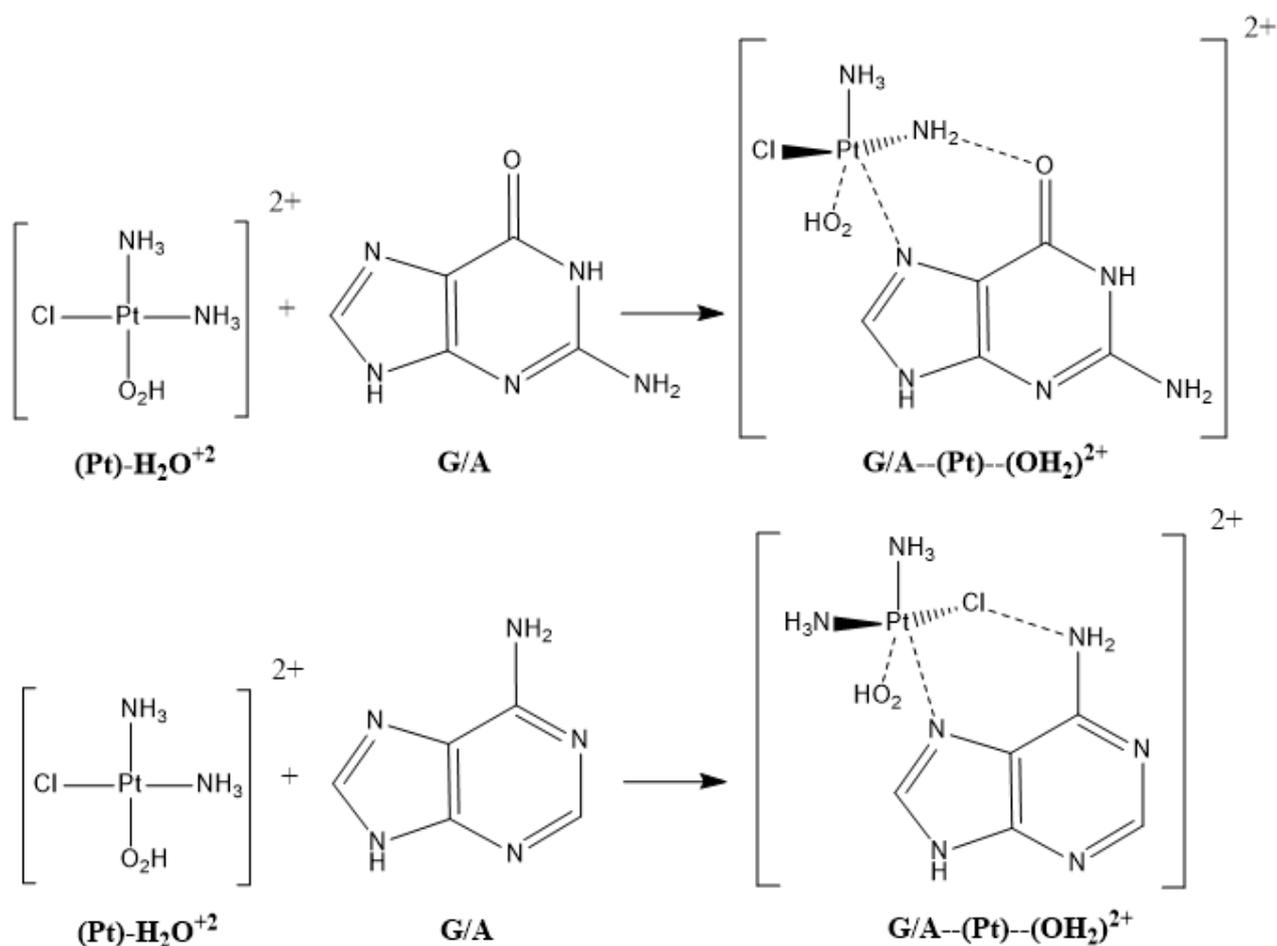


Figura 3. Schema di interazione tra il cisplatino e le basi azotate prese in analisi.

Questi legami incrociati provocano interruzioni nella struttura a doppia elica del DNA, causano danni al materiale genetico, ostacolano la replicazione del DNA, inducono l'arresto del ciclo cellulare e, infine, conducono all'apoptosi (morte cellulare programmata). Lo stress ossidativo è un meccanismo molto comune nella citotossicità del cisplatino e viene indotto attraverso la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) come i radicali idrossilici o superossido. Il mitocondrio è uno dei bersagli più importanti dello stress ossidativo e i ROS possono influenzare la funzione respiratorio mitocondriale e causare disfunzione cellulare.^{5,6,9}

1.3.2. Resistenza al cisplatino

Il cisplatino è ancora oggi uno dei chemioterapici maggiormente utilizzati nonostante gli effetti collaterali associati a questa tipologia di trattamento, i quali possono includere tossicità ai reni e al sistema nervoso, difficoltà uditive, nausea vomito e altri.⁹

Un altro problema legato al cisplatino è la resistenza; diverse tipologie di cancro, come ad esempio il cancro al polmone non a piccole cellule e il cancro al colon-retto, sono resistenti al cisplatino. Altre tipologie di neoplasie, invece, sono particolarmente sensibili al farmaco; tra queste vanno menzionati il cancro ai testicoli, il cancro alle ovaie, il cancro alla testa e al collo e il cancro al polmone a piccole cellule.⁶

Oltre alla resistenza “intrinseca” di alcune tipologie di carcinomi, è necessario considerare anche la resistenza acquisita al cisplatino, ovvero la resistenza sviluppata dalla maggior parte dei pazienti sottoposti al trattamento con questo farmaco, che porta all’insuccesso della terapia e a un incremento della mortalità. I meccanismi di resistenza sono complessi e variano a seconda del paziente, della fase della terapia e dello stadio di avanzamento del cancro, oltre a poter mutare durante la progressione della malattia.⁵

Il tumore ovarico è uno dei tumori che ancora oggi viene curato con il cisplatino ma purtroppo lo sviluppo di resistenza nei confronti del farmaco è tra le cause che rendono questa neoplasia una di quelle con più alto tasso di mortalità.

Ad oggi sono state proposte diverse spiegazioni su come le cellule maligne dell’ovaio sviluppino resistenza ai trattamenti. In sintesi, tutti i fattori che influenzano l’interazione del cisplatino con il DNA e che interferiscono con il processo di apoptosi possono contribuire alla resistenza al farmaco. Questi includono:

- resistenza on-target: cambiamenti cellulari che si verificano prima che il cisplatino si leghi ai bersagli cellulari. L’accumulo ridotto di cisplatino all’interno delle cellule e l’aumentata capacità di disintossicazione rappresentano entrambi meccanismi che consentono alle cellule tumorali ovariche di minimizzare la citotossicità del farmaco prima che esso si leghi al DNA.

Come precedentemente riportato, in accordo con la teoria *Hard-Soft Acid-Base* (HSAB), è possibile una forte coordinazione tra il platino e lo zolfo dei gruppi tiolici delle proteine presenti nel flusso sanguigno e all’interno della cellula; tali interazioni portano a una disattivazione del complesso. È stato accertato che la proteina transmembrana CTR1, responsabile dell’assorbimento cellulare del rame, regola l’assorbimento del cisplatino nelle cellule tumorali ovariche. L’interazione con il cisplatino provoca la rapida degradazione e internalizzazione di CTR1, limitando così l’accumulo del farmaco nelle cellule.^{5,9}

- resistenza sul target: modifiche negli addotti DNA-cisplatino. Quando il cisplatino induce danni al DNA, attiva diverse vie di segnalazione che conducono all’arresto della

progressione del ciclo cellulare, alla riparazione del DNA e all'apoptosi. L'efficacia del farmaco dipende principalmente dall'incapacità delle cellule tumorali di riparare il DNA danneggiato. I segnali apoptotici, infatti, vengono attivati solo quando il danno al DNA risulta irreparabile. Nelle cellule del carcinoma ovarico, in generale, si osservano livelli bassi di espressione dei geni coinvolti nella riparazione del danno al DNA.

- resistenza off-target: mutazioni o variazioni nell'espressione delle vie di segnalazione a valle coinvolte nell'induzione dell'apoptosi. I danni irreparabili al DNA provocati dal cisplatino favoriscono la morte cellulare attivando la via di segnalazione dell'apoptosi. La resistenza post-target potrebbe essere associata a modifiche in queste vie di segnalazione a valle che influenzano l'apoptosi.
- resistenza fuori bersaglio: alterazioni delle vie cellulari non direttamente collegate ai segnali innescati dal cisplatino. I meccanismi di resistenza fuori bersaglio coinvolgono modifiche nei processi cellulari o nelle vie di segnalazione che, in modo indiretto, ostacolano l'effetto del cisplatino o impediscono la morte cellulare.⁵

1.3.3. Strategie per superare la resistenza

La chemioterapia rappresenta la pietra angolare nel trattamento delle neoplasie tumorali ovariche resistenti al cisplatino. Tuttavia, sono stati documentati scarsi tassi di risposta per la maggior parte degli agenti chemioterapici. Pertanto, sono necessari nuovi protocolli di cura e strategie di somministrazione nel trattamento delle cellule tumorali ovariche resistenti al cisplatino.⁵

Diversi approcci hanno dimostrato di sensibilizzare efficacemente le cellule tumorali a una varietà di trattamenti, tra cui:

- Chemioterapia citotossica non a base di platino: applicabile a cellule tumorali che hanno sviluppato resistenza al cisplatino.
- Terapia a bersaglio molecolare: la terapia a bersaglio molecolare rappresenta una strategia terapeutica che mira specificamente a target molecolari delle cellule tumorali. A differenza della chemioterapia convenzionale, la terapia mirata non solo minimizza gli effetti tossici e collaterali dei farmaci sui tessuti normali dell'organismo, ma intensifica anche la letalità dei farmaci nei confronti dei tessuti tumorali.

- Agenti anti-angiogenici: con il termine angiogenesi si indica la formazione di nuovi vasi sanguigni da capillari o vene post-capillari preesistenti che sostengono la crescita, l'invasione e la metastasi del tumore andando a rifornire nutrienti e ossigeno alle cellule tumorali. I farmaci anti-angiogenici bloccano la formazione di questi nuovi vasi sanguigni, migliorando e potenziando gli effetti chemioterapici.

- Inibitori della poli ADP-ribosio polimerasi: inibendo tale enzima si può bloccare la riparazione del DNA delle cellule tumorali, promuovendo l'apoptosi e migliorando l'efficacia dei farmaci a base di cisplatino.

- Immunoterapia: L'immunoterapia è un metodo per la cura delle patologie basato sull'impiego di sostanze che stimolano il sistema immunitario. Nel caso del trattamento di tumori si parla di immunoterapia di attivazione (oncologica), che è finalizzata ad indurre o di amplificare una risposta immunitaria.¹³

- Inversione della resistenza mediata da sostanze fitochimiche: i principi attivi estratti da prodotti naturali costituiscono più della metà dei farmaci antitumorali per il trattamento del cancro. Tra questi composti troviamo le sostanze fitochimiche. A differenza di altri trattamenti, tali composti presentano delle modalità di azione uniche e presentano bassi effetti collaterali. Tra questi sono stati utilizzati ad esempio: teaflavine, la miricetina e la curcumina (fenoli), la tetrandrina e la barberina (alcaloidi) l'emodina e il plumbagin (chinoni); tali sistemi permettono di integrare l'azione dei farmaci antitumorali tradizionali.

- Sistemi di rilascio di nanoparticelle: consistono nell'incapsulamento di un farmaco in nanoparticelle al fine di permettere un rilascio controllato del principio attivo. Lo scopo è quello di controllare il rilascio del farmaco in uno specifico target sfruttando anche la possibilità di eseguire una somministrazione integrata di più farmaci. Particolare

attenzione è posta verso nanoparticelle polimeriche, che sono costituite da polimeri sintetici come l'acido polilattico e l'acido polilattico-co-glicolico, o da polimeri naturali, come l'acido ialuronico e il chitosano. In questo caso viene sfruttata anche la biodegradabilità del mezzo, il quale permette un rilascio continuo per un periodo di tempo prolungato. Vengono sfruttate inoltre nanoparticelle inorganiche, a base di silicio o di altri metalli, per il rilascio del farmaco nella zona interessata. In questo caso viene sfruttata l'elevata porosità per trasportare diversi farmaci.⁵

1.4. Altri complessi

La grande versatilità e le molteplici architetture molecolari, ottenibili in ragione delle diverse modalità di coordinazione e dei differenti stati di ossidazione del centro metallico, hanno fatto assumere ai *metaldrugs* un'importanza sempre maggiore nel trattamento delle patologie neoplastiche. Un gran numero di complessi anche non a base di platino sono stati sintetizzati e testati per ovviare alla resistenza dello stesso cisplatino e i suoi effetti collaterali indesiderati.⁵ Ciò nonostante, ben pochi di questi sono poi entrati effettivamente nella pratica clinica.⁷

Tra i vari centri metallici che negli anni sono stati testati vi sono il rutenio, l'osmio, l'oro, il rame, il ferro e altri,⁵ tra cui anche l'argento e il palladio.

I complessi a base di rutenio e gallio, ad esempio, sono degli ottimi candidati come sistemi antitumorali grazie alla capacità di interagire su più target e la loro attività antiproliferativa risulta essere molto elevata su linee cellulari cisplatino resistenti.⁵

I farmaci con centro metallico a base di oro e argento, inoltre, sono stati largamente utilizzati nella moderna medicina. In particolare, i farmaci a base di argento presentano impieghi come sistemi antibatterici, antiartritici e antitumorali.

1.4.1. Meccanismi di azione

Vi sono diverse tipologie di meccanismi di azione con i quali i complessi metallici possono interagire con le cellule tumorali. Vengono sfruttati non solo i vari stati di ossidazione dei metalli e le varie geometrie di coordinazione, ma anche il tipo e il numero di ligandi, i processi redox e anche l'innescio di cicli catalitici. L'attivazione del complesso, inoltre, può sfruttare anche uno stimolo esterno (radiazione, suono, calore) e avvenire selettivamente nel sito bersaglio. È possibile distinguere, dunque:^{7,8}

- Composti funzionali con attivazione tramite idrolisi: composti dove la coordinazione tra bio-bersaglio e metallo risulta essere la principale responsabile dell'attività biologica. In questo caso il meccanismo comporta la sostituzione di ligandi sigma-donatori debolmente legati al centro metallico con una molecola d'acqua. Tale meccanismo è molto comune nei metalli di transizione e una adeguata scelta dei ligandi permette di controllare l'inerzia degli ioni metallici.

- Composti funzionali con attivazione tramite riduzione: in condizioni di ipossia, tipiche delle cellule tumorali, i metalli sono facilitati nella riduzione. Questo può portare a una attivazione selettiva dei complessi nei confronti del sistema target.
- Consegna selettiva di composti metallici funzionali: tramite leganti specifici è possibile eseguire il trasporto ed il rilascio di frammenti metallici in compartimenti cellulari ben specifici. Inoltre, la stessa molecola trasportatrice può essere a sua volta una molecola bioattiva. L'attività antitumorale dei composti funzionali descritti dipende da diversi fattori come le caratteristiche termodinamiche del centro metallico (*hardness/softness*) e il suo stato di ossidazione, la natura chimico-fisica dei ligandi (dimensione, carica, interazioni non covalenti, solubilità ecc.) e la cinetica dell'attivazione (ligandi uscenti, scambio di ligandi, potenziale redox, ecc.)

Risulta sempre complicato controllare questi fattori tra di loro interconnessi, soprattutto in considerazione delle eventuali interazioni in ambiente biologico. È necessario considerare, inoltre, che questa tipologia di farmaci presenta una elevata tossicità generata da reazioni secondarie con entità chimiche diverse dal sito target.⁸

- Ioni metallici come trasportatori di ligandi attivi: viene sfruttata una specifica coordinazione del metallo col ligando attivo consentendone il trasporto fino alla cellula tumorale prima che vi sia degradazione del complesso. L'idea è quella di migliorare la biodistribuzione sfruttando il ruolo protettivo offerto dalla coordinazione con il centro metallico.
- Attivazione spontanea: si sfrutta l'ambiente che si viene a generare (in termini di pH, potenziale redox ecc.) in prossimità delle cellule tumorali.
- Attivazione indotta tramite fotoattivazione: irradiando il *metaldrug* a specifiche lunghezze d'onda è possibile attivarlo in modo selettivo. Tra le varie tecniche troviamo: la terapia fotodinamica (PDT) che, in presenza di un metallofarmaco, genera nella cellula specie reattive dell'ossigeno (ROS), causando stress ossidativo e portando così alla morte cellulare; la terapia fototermica che trasforma i fotoni in calore causando la morte cellulare (il danno alle cellule, in media, si verifica a una temperatura > 41°C) e la chemioterapia fotoattivata (PACT) che mediante una radiazione verso un farmaco inerte permette di ottenere dei fotoprodotto che svolgono effetti terapeutici.
- Attivazione indotta tramite radiazioni ionizzanti: tale tipologia di radiazione, combinata con un opportuno composto, porta ad attivare ed a potenziare l'efficacia del farmaco.

- Metallo farmaci catalitici: sistemi, che, seppur inerti all'attivazione mediante acquazione, sono capaci di generare una reazione biocatalitica anche in piccole quantità. Tali catalizzatori richiedono però elevate conversioni e buona tolleranza nei confronti dell'ambiente biologico.
- Composti strutturali: in questi sistemi non è presente un legame diretto tra metallo e bersaglio biologico. Si suppone che tali sistemi rimangano invariati *in vivo* e che la loro attività sia legata alla capacità di interagire con l'ambiente cellulare grazie alla loro struttura tridimensionale, mediante legami non-covalenti. Il sistema metallico dovrà essere stabile e inerte e per ottenere questo risultato sono generalmente impiegati ligandi chelanti multidentati o altri frammenti. Ci si aspetta che tali composti risultino essere, per questa loro natura, meno tossici rispetto ai composti funzionali.^{7,8}

1.4.2. Complessi di Pd(II) in ambiente biologico

Per ovviare alle problematiche dovute alla tossicità dei complessi di platino(II), tra cui i danni funzionali che può provocare a fegato, reni e cervello, numerosi sforzi sono stati compiuti per sviluppare nuovi tipi di farmaci variando il centro metallico. Tra centri metallici candidati a questo scopo, il Pd(II) presenta interessanti analogie con il Pt(II), tali da permettere la sintesi di un buon numero di complessi analoghi a quelli di platino. Inizialmente i complessi di Pd(II) testati non presentavano un'elevata attività antitumorale, probabilmente a causa della bassa stabilità da imputarsi alla maggior labilità cinetica dei composti.¹⁴ È possibile, infatti, che in ambiente biologico avvenga una rapida idrolisi dei legami palladio-ligando, portando quindi a specie reattive che difficilmente potranno raggiungere il bio-target. È stato perciò necessario aumentare la stabilità di questi complessi attraverso, per esempio, l'uso di leganti polidentati e/o monodentati con elevato ingombro sterico e/o fortemente legati al centro metallico come ad esempio leganti carbenici *N*-eterociclici.

Di recente nuovi composti organopalladio hanno ricevuto particolare attenzione in ragione della loro stabilità in condizioni fisiologiche e l'attività antiproliferativa su diverse linee cellulari cisplatino resistenti e sensibili.¹⁵

Tra questi, meritano di essere annoverati anche alcuni esempi di complessi di palladio a due centri metallici:

1993: Navarro-Ranninger e collaboratori sviluppano un lavoro basato sulla sintesi di dimeri di palladio isostrutturali derivati dalla *N*-(4-metossifenil)- α -benzoilbenzilidenammina (*Figura 4*), sistemi che presentano una buona attività antitumorale su carcinoma al seno e leucemia, anche se inferiore al cisplatino.¹⁶

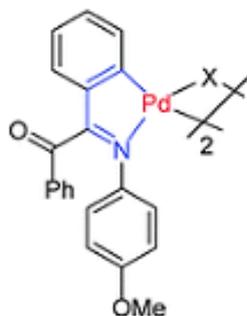


Figura 4. Rappresentazione della *N*-(4-metossifenil)- α -benzoilbenzilidenammina.¹¹

1993: Lo stesso gruppo di ricerca sintetizza complessi dimerici utilizzando la putrescina e la spermina (Figura 6). Questi sistemi presentano un'attività citotossica paragonabile a quella osservata per il cisplatino.¹⁷

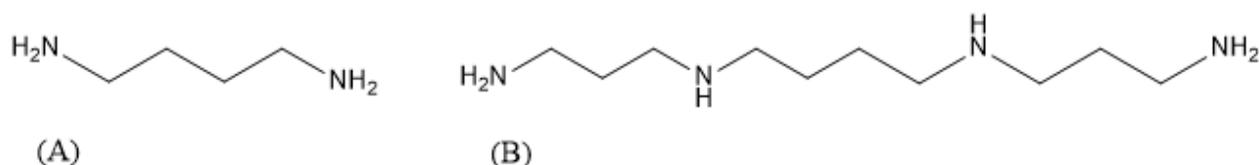


Figura 5. Rappresentazione della putrescina (A) e della spermina (B).

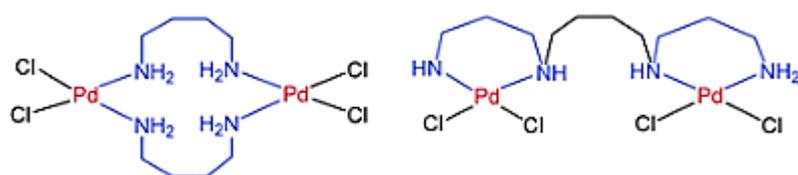


Figura 6. Esempi di complessi derivati dai due sistemi prima rappresentati.¹¹

1997: Gli stessi autori propongono la sintesi di complessi dimerici a ponti alogenuro e pseudoalogenuro a base di imidazolina. Il sistema avente come ponte alogeno il legante cloruro (Figura 7) ha mostrato attività citotossica paragonabile al cisplatino in alcune linee cellulari tumorali leucemiche.¹⁸

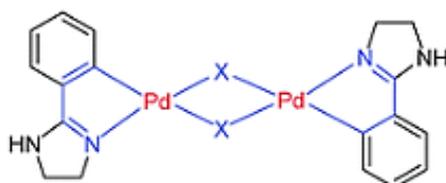


Figura 7. Esempio di complesso con ponte alogeno tra i due centri metallici.¹¹

1998: Manassero e collaboratori sintetizzano complessi dimerici con struttura analoga a quelli riportati da Navarro-Ranninger (Figura 8). Questi complessi non hanno mostrato nessuna attività antitumorale, ma ciò non toglie il fatto che possano essere utilizzati come trasportatori del principio attivo tramite una coordinazione tra il centro metallico e il farmaco.¹⁹

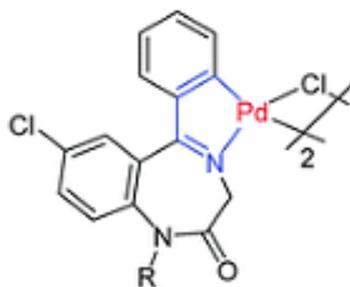


Figura 8. Struttura base dei complessi sintetizzati da Navarro e collaboratori.¹¹

2000: Altri esempi di complessi dimerici con ponte alogenuri sono riportati nel lavoro di Tusek-Bozic (Figura 9) e testati su cellule epidermoidi umane con ottimi risultati.²⁰

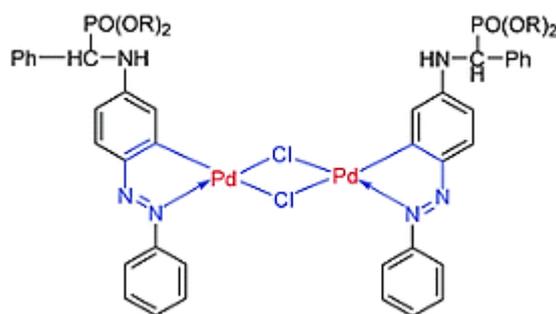


Figura 9. Complesso a ponte cloro del lavoro di Tusek-Bozic.¹¹

2003: Travasson e colleghi riportano un percorso efficiente per sintetizzare complessi ciclopalladati dimerici con leganti fosfinici (Figura 10), i quali sono stati testati contro cellule di melanoma murino.²¹

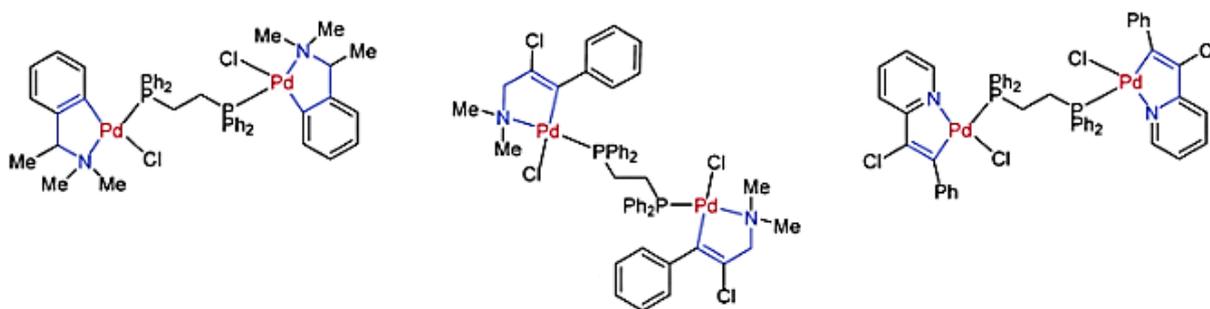


Figura 10. Complessi con leganti fosfinici del lavoro di Travasson.¹¹

2004: Guitierrez e collaboratori riportano l'attività antitumorale di complessi enantiomericamente puri ottenuti utilizzando ligandi chirali S-(-)-(1-feniletilimino)benzilfenilchetone (*Figura 11*). La citotossicità è stata testata su linee di leucemia e di tumore alla prostata, al colon e al seno, seppur mostrando una attività relativamente più bassa rispetto quella del cisplatino.²²

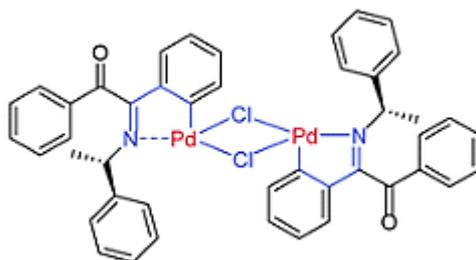


Figura 11. Rappresentazione del complesso dimerico ciclopalladato.¹¹

2007: Carlos e colleghi riportano alla sintesi del complesso in *Figura 13*, tramite l'utilizzo del ligando *N,N*-dimetilbenzilammina (dmba) (*Figura 12*). Purtroppo, l'attività antitumorale è risultata molto inferiore a quella del cisplatino.²³

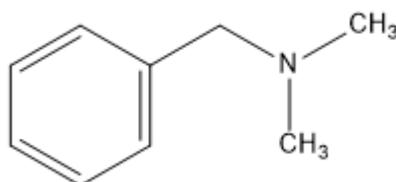


Figura 12. Rappresentazione del ligando N,N-dimetilbenzilammina (dmba).



Figura 13. Complesso sintetizzato col ligando sopra riportato.¹¹

2014-2017: Karami e collaboratori sintetizzano diversi ciclopalladati dinucleari riportati nella *Figura 14*²⁴, i quali hanno dimostrato buone proprietà antitumorali nei confronti di cellule tumorali di leucemia e di cancro ovarico.

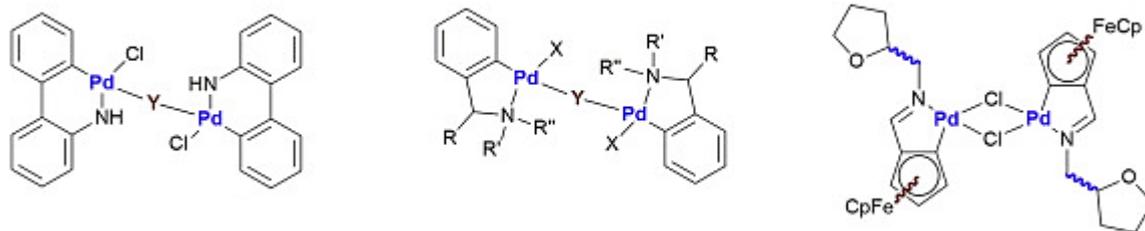


Figura 14. Complessi di Karami e collaboratori.¹⁵

2018: Viene sintetizzato un nuovo dimero di palladio (II) di formula $[Pd_2((C,N)L)_2(\mu-Sac)_2]$ con $L = C_{14}H_{11}NBr$ e Sac il legante saccarinato (Figura 15). La citotossicità *in vitro* del complesso è stata studiata e comparata ai risultati dati dal cisplatino nei confronti di linee cellulari di cancro alla cervice, cancro al polmone e cancro alla mammella, mostrando una buona attività antitumorale.²⁵

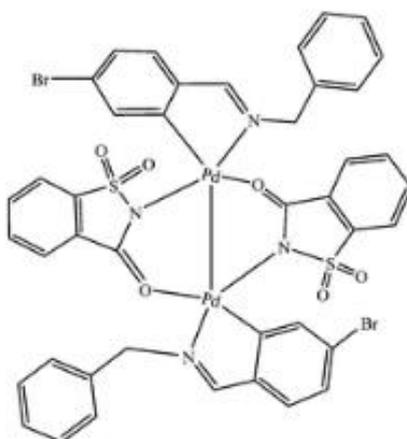


Figura 15. Rappresentazione del complesso $[Pd_2((C,N)L)_2(\mu-Sac)_2]$.²⁵

Molti meno esempi sono invece rinvenibili in letteratura riguardo a complessi con il centro metallico di Pd(I), specialmente in forma dimerica, utilizzati in ambiente biologico.

1.4.3. Complessi di Pd(I): caratteristiche generali

Negli ultimi anni, si è assistito a un crescente interesse nella ricerca e nello studio della complessa chimica dei centri metallici elettron-ricchi.²⁶ Uno dei metalli di notevole rilevanza in questo contesto è il palladio che può assumere uno stato di ossidazione +1, soprattutto

all'interno di strutture organometalliche. Storicamente, i complessi di palladio (I) sono piuttosto rari e spesso sono stati considerati come intermedi di reazione nelle sintesi organiche catalizzate dal palladio.²⁷ Inoltre, mentre la chimica dei complessi mononucleari di palladio (I) è ben più consolidata, le conoscenze riguardo ai complessi organometallici contenenti il legame Pd-Pd con centri metallici di valenza (I) sono notevolmente più limitate. In generale, le strutture dimeriche comunemente ottenute spesso sono caratterizzate da un legame a ponte tra i due metalli.²⁸

Va sottolineato che, tra gli elementi appartenenti al decimo gruppo della tavola periodica, il palladio possiede una configurazione elettronica (d¹⁰) che è differente rispetto al platino (Pt) (s¹d⁹). Di conseguenza, esiste un vantaggio termodinamico per i complessi organometallici di Pd(II) a dare eliminazione riduttiva rispetto a quelli di platino(II).²⁹ Va ricordato che questa caratteristica è molto sfruttata in catalisi, dove la maggior labilità dei complessi di Pd(II) contribuisce ad accelerare le reazioni; basti pensare all'utilizzo di catalizzatori a base di palladio nel processo Wacker per la produzione di acetaldeide.

Un metodo ampiamente adottato per la formazione selettiva di legami metallo-metallo covalenti omonucleari è rappresentato dalla condensazione redox tra metalli con diversi stati di ossidazione. In particolare, nel caso di complessi di Pd(I), si tratta di una condensazione omometallica che coinvolge una specie contenente Pd(II) e una specie contenente Pd(0)(d⁸ e d¹⁰) al fine di produrre un dimero di Pd(I) con configurazione elettronica d⁹.³⁰ Tuttavia, è importante notare che questo non rappresenta l'unico metodo disponibile per ottenere tali composti, poiché esistono alternative che prevedono la manipolazione diretta di una sola specie di Pd(II).

È interessante notare che, nonostante la disponibilità dei complessi di palladio(I) sia relativamente ampia, le modalità di utilizzo delle forme polinucleari di palladio in catalisi sono state sorprendentemente limitate per lungo tempo.³¹ Tuttavia a partire dai primi anni duemila anche i dimeri di Pd(I) hanno cominciato a riscuotere interesse per possibili applicazioni in catalisi.³²

E' infatti presto chiaramente emerso che i complessi bimetallici omonucleari, tra cui quelli contenenti il legame Pd-Pd con valenza 1 e ligandi debolmente coordinati, potessero avere caratteristiche peculiari che ben si sposavano con alcuni processi catalitici.³³ In particolari reazioni che coinvolgono alogenuri poliaromatici, si è scoperto che la specie dimerica di Pd(I) è in grado di catalizzare in modo efficace lo scambio dell'atomo di alogeno in una molecola target, mentre il medesimo centro metallico ma con diversa valenza (2 o 0) non produce lo stesso risultato(*Figura 16*).³²

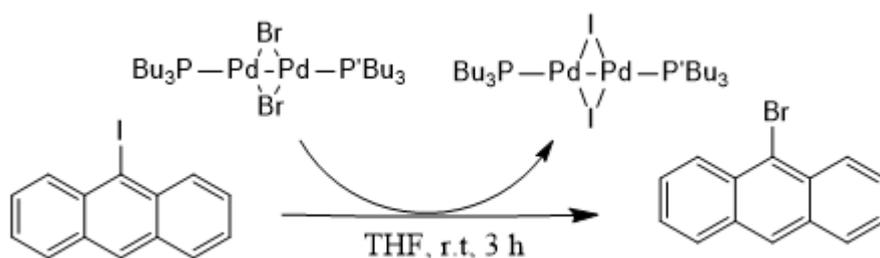


Figura 16. Schema di reazione con dimero di palladio (I) come catalizzatore.

Oltre che in catalisi, alcuni dimeri di Pd(I) sono stati impiegati con successo per la deposizione chimica di film sottili in fase vapore. Un aspetto particolarmente intrigante è la maggiore volatilità di questi dimeri rispetto ai complessi monometallici con stati di ossidazione 2 e 0. Ad esempio, PdCl₂ decompone a una temperatura di 500 °C senza sublimare, mentre esistono complessi organometallici di Pd(I) noti per sublimare facilmente all'aria a temperature inferiori ai 50 °C, permettendo così la produzione di film di palladio anche a temperatura ambiente.³⁴ Sono state successivamente elaborate metodologie specifiche che consentissero di ottimizzare questi processi. A titolo di esempio, è possibile la realizzazione di un film di palladio attraverso un processo di foto-riduzione in presenza di accettori di elettroni.³⁵

Nel corso degli anni, i sistemi multinucleari hanno dimostrato di essere straordinariamente efficaci anche in relazione a specifici bersagli biologici, mostrando proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche particolarmente interessanti. Tra le possibili applicazioni, vi è l'impiego di tali complessi come agenti antitumorali, con l'obiettivo di superare la resistenza sviluppata nei confronti di noti farmaci, come il cisplatino.³²

1.4.4. Sintesi ed esempi vari di complessi di Pd(I)

Nel corso degli anni, sono state elaborate diverse metodiche per sintetizzare i dimeri di Pd(I). È importante notare che molti di questi complessi sono stati ottenuti in modo casuale e non pianificato.²⁹

Un esempio emblematico risale al **1965**, quando fu proposta una delle prime sintesi di un complesso di dipalladio(I) con ligandi aromatici. Il complesso in questione [PdAl₂Cl₇(C₆H₆)]₂ (Figura 17A) presenta un legame palladio-palladio ed è costituito da una struttura a sandwich, composta da due benzeni coordinati ad entrambi i centri palladio.^{36,37} Tale struttura

rappresentava una novità poiché, fino a quel momento, erano noti solo sistemi a sandwich in cui un singolo atomo metallico era coordinato a due anelli aromatici.

Successivamente, tra il **1972** e il **1975**, vennero sintetizzati i complessi μ - η^3 -allyl di dipalladio(I)³⁸ (Figura 17B) e il complesso Cp-allyl di dipalladio(I) (Figura 17C).³⁹ Queste specie rappresentano i primi esempi di complessi con un sistema insaturo coordinato al legame Pd-Pd.

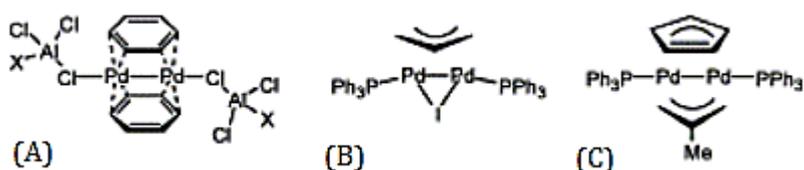


Figura 17. Bis-benzene dipalladio(A), μ - η^3 -allyl di dipalladio (B), Cp-allyl di dipalladio.²⁹

Una interessante sottocategoria di complessi di palladio(I) è quella rappresentata da derivati dimerici in cui i centri metallici adottano una struttura planare quadrata sfalsata di circa 90° rispetto al legame metallo-metallo. Questa particolare configurazione è comunemente nota come “corner sharing” e rappresenta una classificazione strutturale nella chimica dei composti di coordinazione a base di metalli di transizione.²⁹

Nei primi anni '70, venne condotta un'approfondita ricerca sulla sintesi del complesso di dipalladio isonitrile $[\text{Pd}_2(\text{t-BuNC})_4(\text{I})_2]$ (Figura 18). Questo composto è stato ottenuto partendo da un precursore di Pd(II), ovvero $\text{PdX}_2(\text{RNC})_2$ (dove X=Cl, Br, I), utilizzando un eccesso di *tert*-BuNC in benzene. È interessante osservare che in questo composto si osserva nello spettro IR un sensibile abbassamento della frequenza di *stretching* del legame NC rispetto al precursore di palladio (II)(Tabella 1)⁴⁰.

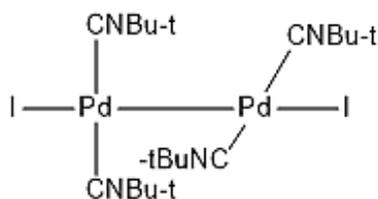


Figura 18. Complesso di dipalladio isonitrile.

Tabella 1. Stretching del precursore e del dimero di palladio.

Complesso	Stretching -NC
$\text{PdI}_2(t\text{-BuNC})_2$	2216
$[\text{Pd}_2(t\text{-BuNC})_4(\text{I})_2]$	2170

Nel **1974**, fu sviluppata la sintesi del primo dimero cationico di Pd(I) avente esclusivamente leganti isonitrilici. Il processo di sintesi ha previsto l'uso di una soluzione di $\text{Na}_2(\text{PdCl}_4)$, che è stata trattata con un eccesso di metilisonitrile per un periodo di 18 ore a temperatura ambiente. Durante la reazione, la soluzione ha assunto un colore giallo pallido, indicando la progressiva formazione del complesso. Successivamente, la precipitazione del composto è stata ottenuta mediante l'aggiunta di esafluorofosfato di ammonio. Il risultato finale di questa sequenza di reazioni è rappresentata dal complesso avente la formula $[\text{Pd}(\text{CNCH}_3)_3(\text{PF}_6)]_2$, con una resa del 80% (Figura 19). Questa sintesi rappresentò un notevole passo avanti nella chimica dei complessi di Pd(I) e aprì la strada a ulteriori esplorazioni nel campo dei legami terminali isonitrilici.²⁷

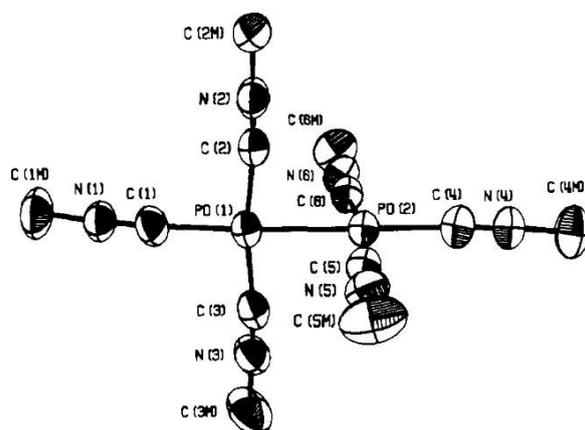
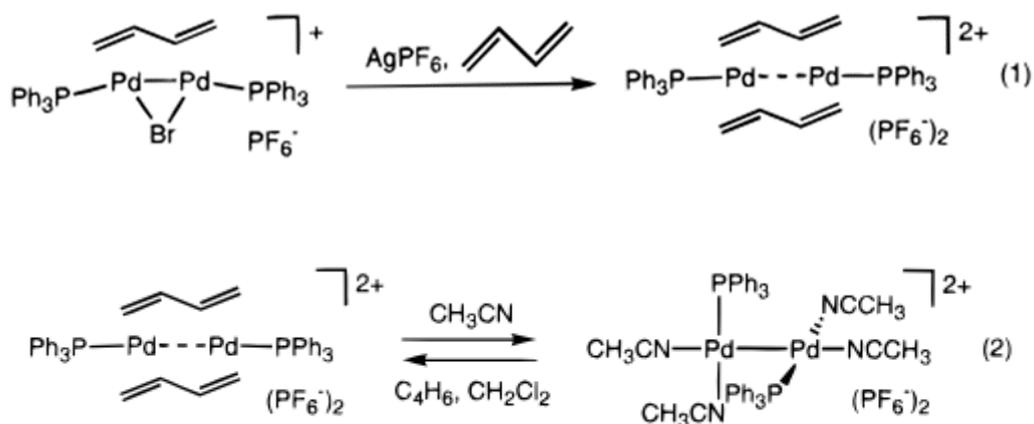


Figura 19. Struttura 3D del complesso $[\text{Pd}(\text{CNCH}_3)_3(\text{PF}_6)]_2$.²⁷

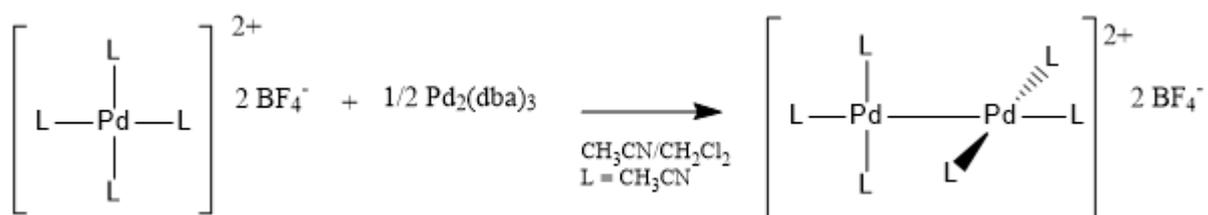
Pochi anni dopo, venne proposta un'ulteriore via di sintesi per ottenere lo stesso complesso a partire dal precursore $[(\text{CH}_3\text{-NC})_4\text{Pd}][\text{PF}_6]_2$. Questa volta, il processo è stato svolto in acetonitrile, con l'aggiunta successiva di metilisonitrile in forma solida. La miscela è stata quindi riscaldata brevemente, fino a ottenere una soluzione di colore giallo. Successivamente, il complesso è stato precipitato utilizzando etere etilico, con una resa del 94%. In particolare, l'aggiunta di metilisonitrile a una soluzione di $[\text{PdCl}_4]_2$ si è dimostrata in grado di indurre la rapida formazione dello ione incolore $[(\text{CH}_3\text{NC})_4\text{Pd}]^{2+}$. Il complesso è stato quindi precipitato aggiungendo ammonio esafluorofosfato.²⁸

Nel **1998**, venne progettata una sintesi articolata che portò alla formazione del complesso $[\text{Pd}_2(\text{CH}_3\text{CN})_6][\text{PF}_6]_2$. Questo processo ha avuto inizio con un precursore contenente un legame Pd-Pd, con un legame a ponte bromuro e coordinato a un butadiene. In presenza di AgPF_6 e ulteriore butadiene, è stato ottenuto il complesso diamagnetico di tipo “sandwich” illustrato nello *Schema 1*. Sciogliendo questo complesso in acetonitrile, è stato possibile rimuovere entrambi i ligandi dienici, ottenendo infine il complesso target.⁴¹



*Schema 1. Sintesi del complesso di Pd(I) $[\text{Pd}_2(\text{CH}_3\text{CN})_6][\text{PF}_6]_2$.*⁴¹

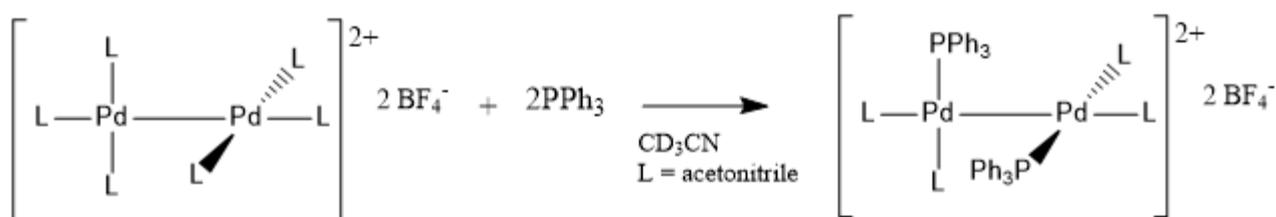
Nel **2000**, fu condotto uno studio ulteriore sulla sintesi del complesso precedentemente menzionato, impiegando BF_4^- come controione (*Schema 2*). Nel caso del bis-trifenilfosfina dipalladio, è importante notare che i due gruppi trifenilfosfinici si trovano in posizione *cis* rispetto al legame tra i centri metallici. Va evidenziato che in queste reazioni il gruppo CH_3CN è labile quando coordinato al centro metallico. Questa caratteristica è stata essenziale per poterlo sostituire con altre specie.^{29,33}



Schema 2. Dimero avente come controione il BF_4^- .

Il complesso $[\text{Pd}_2(\text{CH}_3\text{CN})_6][\text{BF}_4]_2$ è stato ottenuto anche mediante una differente procedura sintetica, cioè, partendo da $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (dba = dibenzilidenacetone), il quale è stato trattato a temperatura ambiente in una miscela di CH_3CN e CH_2Cl_2 . La miscela è stata dunque addizionata ad etanolo, portando alla formazione di una polvere di colore arancione, con un una resa del 90%.

In un passo successivo, è stata condotta una reazione di sostituzione del ligando. Il primo complesso è stato trattato con PPh_3 in CH_3CN , portando alla formazione del complesso di dipalladio $[\text{Pd}_2(\text{CH}_3\text{CN})_4(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$ (Schema 3). Questa reazione è poi servita come punto di partenza per ulteriori sintesi e applicazioni, specialmente nella catalisi, oltre alla sua potenziale versatilità nella creazione di cluster di palladio.^{33,42}



Schema 3. Sintesi del complesso $[\text{Pd}_2(\text{CH}_3\text{CN})_4(\text{PPh}_3)_2][\text{BF}_4]_2$.

Nel **2002**, un ulteriore complesso di Pd(I) fu sintetizzato mediante una reazione che coinvolgeva due specie di partenza di Pd(0) e Pd(II) in quantità equimolari, specificamente $\text{Pd}(\text{Pme}_3)_4$ e $\text{Pd}(\text{hfac})_2$ (hfac = esafluoroacetilacetato), in presenza di Pme_3 . Il prodotto finale poteva essere facilmente separato per precipitazione in dietilere/diclorometano, e si presentava sotto forma di solido di colore giallo (Figura 20).³⁴

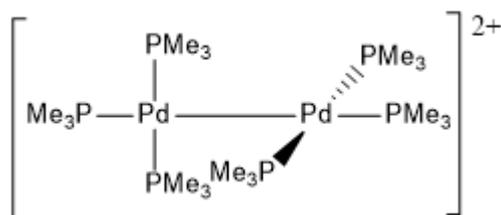
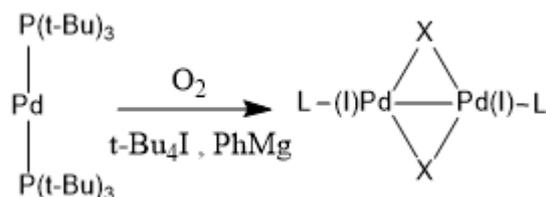


Figura 20. Dimero $[\text{Pd}(\text{Pme}_3)_3]_2$.

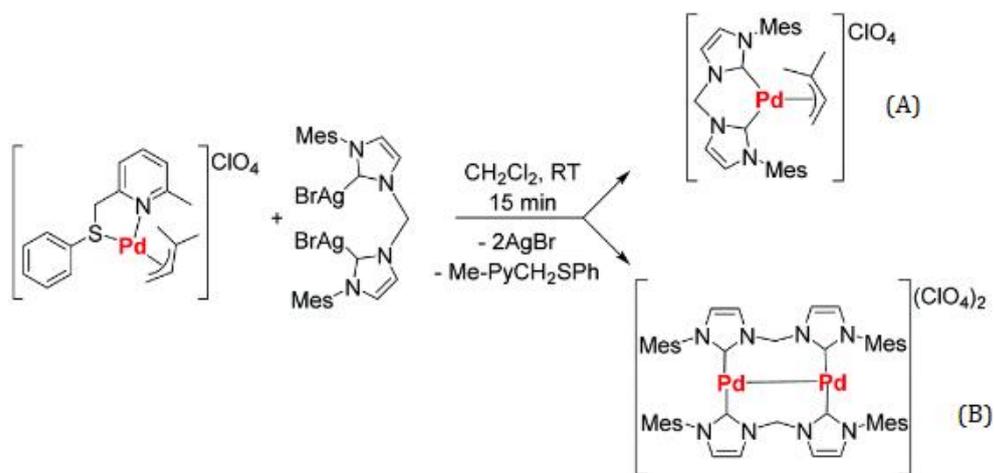
Merita infine di essere menzionato un esempio recente di un complesso dimerico di Pd(I) la cui sintesi si discosta significativamente da quelle precedentemente descritte. Questa metodica

consente di preparare dimeri di Pd(I) con un doppio ponte alogenuro. Questi complessi sono stati sintetizzati a partire da specie di Pd(0) attraverso un'ossidazione aerobica controllata. La procedura di sintesi ha coinvolto l'utilizzo di un precursore, Pd((t-Bu)₃)₂, che è stato sottoposto a una reazione con Bu₄I e PhMgCl. Il risultato di questa complessa sequenza di reazioni è stata la formazione di dimeri di Pd(I) con un interessante ponte alogenuro tra gli atomi metallici. Sottoprodotto di questa reazione è il bifenile (*Schema 4*).³²



Schema 4. Sintesi dimero con ponte alogenuro.

Nel **2020** il gruppo di ricerca presso cui è stato svolto questo lavoro di tesi ha eseguito un dettagliato studio sull'attività antiproliferativa di un dimero di Pd(I) (configurazione d⁹) dove sono presenti solo due ligandi biscarbenici a ponte. Il dimero presenta una notevole stabilità all'aria e all'umidità, in contrasto con la generale scarsa stabilità dei complessi di Pd(I) imputabile all'insaturazione del centro metallico. Questo derivato è stato ottenuto casualmente come prodotto minore nella sintesi del *bis*(NHC)Pd(II)(η³-1,1-dimetil-allile) (*Schema 5*) e risulta stabile in diversi solventi organici (metanolo, solventi clorurati, THF, DMSO) e in soluzione fisiologica per almeno 96 ore. Queste caratteristiche hanno permesso di testarne le proprietà antiproliferative su diverse linee cellulari di tumore ovarico tra cui: KURAMOCHI, OVCAR5, A2780 e A2780*cis*.^{15,43} Questo studio è il primo in assoluto condotto su composti di palladio in cui il centro metallico presenti stato di ossidazione 1.



Schema 5. Formazione del complesso Pd(II)-allile **(A)** e del corrispondente dimero Pd(I) **(B)**.¹⁵

I risultati sono molto promettenti ed in tutti i casi si riscontra una attività maggiore rispetto al cisplatino (Tabella 2).

Tabella 2. Valori di IC_{50} del complesso sintetizzato

Linee cellulari	Cisplatino IC_{50}	Dimero di Pd(I) IC_{50}
A2780	$0,81 \pm 0,06$	$0,025 \pm 0,007$
A2780cis	43 ± 5	$1,9 \pm 0,2$
OVCAR5	$5,2 \pm 0,8$	$1,4 \pm 0,3$
KURAMOCHI	$1,7 \pm 0,3$	$0,38 \pm 0,09$

1.5. Leganti fosfinici

Tra i più importanti leganti fosforo-donatori troviamo le fosfine PX_3 , dove X può essere un gruppo alchilico, un alogeno o un sostituente del tipo $-NR_2$ o $-OR$. In questo lavoro di tesi si sono utilizzate esclusivamente delle fosfine ariliche, che risultano molto più stabile all'ossidazione all'aria rispetto a quelle alchiliche e per le quali non è strettamente necessario un ambiente con atmosfera inerte maggiormente controllata.⁴⁴ I leganti fosfinici sono molto impiegati come leganti spettatori e sono adatti a stabilizzare un gran varietà di complessi utilizzati in chimica organometallica e nella catalisi omogenea. Va sottolineato che le fosfine sono difficilmente leganti attori.⁴⁵

Le fosfine sono leganti neutri σ -donatori, in grado di condividere due elettroni con il centro metallico (leganti di tipo L). La loro natura è *soft* e pertanto preferiscono legarsi ai metalli della seconda e della terza serie di transizione. Il legame metallo-fosforo è più o meno significativamente rafforzato da un contributo di π -retrodonazione metallo-legante. L'entità della retrodonazione dipende dalla natura dei sostituenti sull'atomo di fosforo. Inizialmente si è ipotizzato che la retrodonazione interessasse gli orbitali 3d del fosforo; questi orbitali, però, si trovano ad energia nettamente più elevata degli orbitali d del metallo, rendendo di fatto la loro sovrapposizione trascurabile. L'ipotesi più accreditata è che sia invece l'orbitale di antilegame σ^* P-R ad avere un'energia e una simmetria tale da dare sovrapposizione π con gli orbitali del centro metallico. Maggiore è l'elettronegatività dei sostituenti del fosforo, più bassa è l'energia dell'orbitale σ^* e questo permette un maggior grado di retrodonazione.⁴⁴ Man mano, che diminuisce l'elettronegatività dei sostituenti, invece, maggiore è la differenza di energie tra orbitali del legame e del metallo e questo ha come conseguenza una minor grado retrodonazione metallo-fosfina. Con l'aumento progressivo dell'elettronegatività del gruppo X, l'orbitale che il frammento X utilizza per legarsi al fosforo diventa più stabile e ciò implica una maggiore stabilità dell'orbitale σ^* del legame P-X. Allo stesso tempo, vi è un aumento della dimensione del lobo σ^* che punta verso il metallo. Tutti questi fattori favoriscono la retrodonazione.

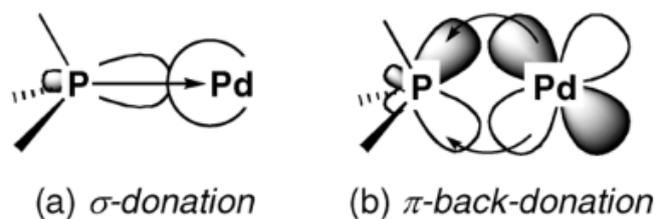


Figura 21. Schema delle interazioni di legame tra fosfina e centro metallico, nel caso specifico con Pd, (a) donazione σ , (b) retrodonazione π ⁴⁶.

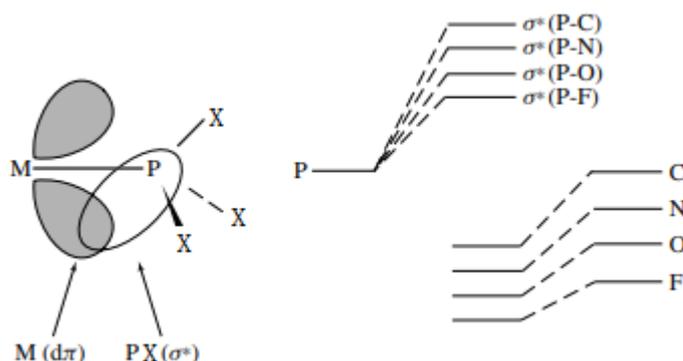


Figura 22. Spostamento energetico dell'orbitali σ^* in base al sostituito e alla sua elettronegatività⁴⁵

Da un punto di vista strutturale, la retrodonazione non porta a un allungamento del legame P-X. Questo perché, se da un lato la densità elettronica trasferita dal metallo sull'orbitale di antilegame σ^* P-X porterebbe ad un aumento della distanza di legame, dall'altro la delocalizzazione anche sul centro metallico del doppietto del fosforo con la σ -donazione ha un effetto contrario che lo compensa. Cambia invece significativamente la lunghezza del legame metallo fosfina.

1.5.1. Classificazione dei leganti fosfinici

Le caratteristiche elettroniche e steriche delle fosfine possono essere modulate scegliendo opportunamente i sostituenti X. Per quantificare il carattere più o meno elettrondonatore/attrattore di una fosfina si utilizzano vari tipi di parametri. Il più noto ed il più estesamente impiegato è il TEP (*Tolman Electronic Parameter*).⁴⁷ Trattasi di un parametro ottenuto sperimentalmente e basato sulla classe di complessi $[\text{Ni}(\text{CO})_3\text{L}]$, dove il centro metallico è legato a tre gruppi carbonili e al legante fosfinico da valutare; questi composti sono facilmente ottenibili partendo dal precursore $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$ (da maneggiare con la massima cautela perché estremamente tossico)⁴⁸ per reazione con un equivalente della fosfina in THF a temperatura ambiente.

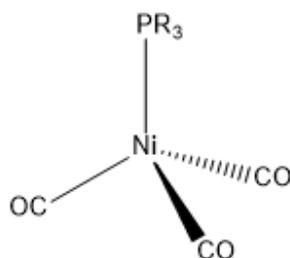


Figura 23. Rappresentazione $[Ni(CO)_4]$

Al variare dei sostituenti R, viene stimato come variano gli stretching dei carbonili (ν_{CO}). La retrodonazione sul legante CO avviene su orbitali π^* vuoti, portando così ad un indebolimento del legame C-O. Il fenomeno è evidenziabile dalla spettroscopia IR con un abbassamento della frequenza di vibrazione rispetto al valore di 2143 cm^{-1} del CO libero. Ad un aumento della densità elettronica per la retrodonazione sull'orbitale π^* corrisponde quindi una riduzione della frequenza di *stretching* $\nu(CO)$. Pertanto, più la fosfina PR_3 è elettrodonatrice, minore sarà la retrodonazione tra gli orbitali d del metallo e i σ^* della fosfina. Conseguentemente, il centro metallico sarà più elettronricco e ci sarà più retrodonazione sull'orbitale π^* del CO, portando quindi ad un indebolimento del legame C-O e ad un abbassamento della sua frequenza di *stretching*. Al contrario, quando il legante R è elettronattrattore, la frequenza di vibrazione dello *stretching* C-O si alza poiché il contributo di retrodonazione verso il gruppo carbonile diminuisce.^{44,47} Vengono riportati, a titolo d'esempio, alcuni valori di TEP di fosfine comuni (Tabella 3):

Tabella 3. Valori esemplativi di valori TEP di fosfine generiche

Legante	Valore di TEP (cm^{-1})
PMe_3	2064.1
PEt_3	2061.7
PPh_3	2068.9
PCl_3	2097

Per quantificare l'ingombro sterico delle fosfine, il parametro maggiormente utilizzato è l'angolo conico θ .⁴⁹ Esso misura lo spazio occupato dal legante attorno al centro metallico. Il parametro viene calcolato teoricamente considerando la fosfina coordinata e piegando i sostituenti fino a quando le loro nubi elettroniche si toccano; si considera il cono ideale con vertice nel centro metallico e la cui base va a contenere gli atomi del legante.

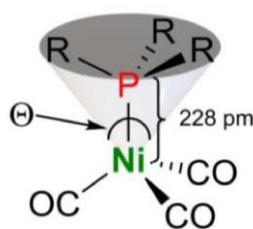


Figura 24. Angolo conico o angolo di Tolman

Le fosfine più ingombranti sono ovviamente quelle che hanno i sostituenti più ingombranti. ($P(t\text{-Bu})_3$), per esempio, ha un angolo conico di circa 190° , mentre la tricicloesilfosfina (PCy_3), di 180° .

A titolo d'esempio vengono riportati alcuni angoli di cono di fosfine monodentate (Tabella 4):

Tabella 4. Valori esemplativi d'angolo conico di fosfine generiche.

Fosfina	Angolo conico ($^\circ$)
PMe_3	118
PEt_3	132
PPh_3	145
PCl_3	125

In Figura 25 è invece riportato un grafico onnicomprensivo, con i valori di TEP e di angolo conico associati alle fosfine più comuni.

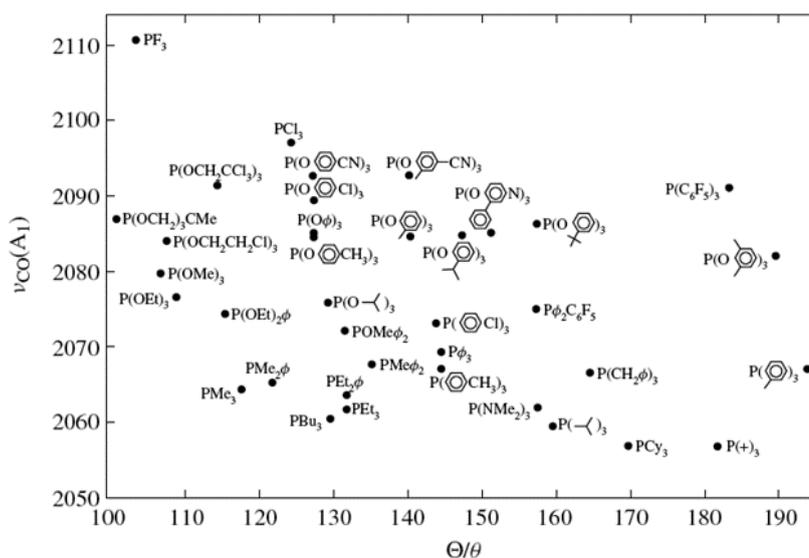


Figura 25. Rappresentazione in una mappa dei parametri elettronici e sterici di alcuni più comuni leganti P-donatori.⁴⁵

Con lo svilupparsi di ligandi strutturalmente più elaborati, risulta difficile applicare il modello di Tolman. Per misurare l'ingombro sterico di una fosfina terziaria gli studi di Nolan e Cavallo hanno proposto un parametro alternativo basato su dati cristallografici e noto con la denominazione di *buried volume* ($\%V_{bur}$). Tale parametro viene calcolato considerando una sfera di raggio definito dove il centro metallico corrisponde al centro della sfera. Il volume rappresenta il potenziale spazio della sfera di coordinazione attorno al centro metallico occupato dai ligandi.

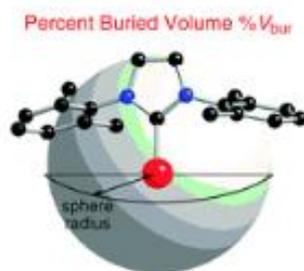


Figura 26. Rappresentazione schematica del *buried volume* ($\%V_{bur}$) nel caso di un legante carbenico N-eterociclico⁵⁰

Il modello venne pensato per studiare complessi con leganti carbenici di rutenio, iridio, nichel, oro, argento e palladio. In presenza di più leganti coordinati al centro metallico veniva calcolato un valore di *buried volume* medio. Ponendo in un grafico i valori tabulati e misurati con i due modelli (angolo conico o angolo di Tolman *vs percent buried volume*) è stata calcolata una correlazione lineare di 0.96, ilche dimostra che i due approcci sono intercambiabili. Sono riportati alcuni valori di $\%V_{bur}$; si tenga conto che l'analisi prende in considerazione lunghezze di legame metallo-fosforo poste arbitrariamente a 2.00 e 2.28 Å (Tabella 5)⁵⁰:

Tabella 5. Valori esemplativi di *buried volume* di fosfine generiche.

Fosfina	$\%V_{bur}$ (2.00 Å)	$\%V_{bur}$ (2.28 Å)
PMe ₃	26.1	22.2
PEt ₃	32.7	27.8
PPh ₃	34.2	29.6

1.6. Leganti isonitrilici

1.6.1. Struttura e proprietà

Nel 1956 Ilse Hagedorn scoprì la struttura dell'antibiotico *xantocillina* (Figura 27), uno dei primi composti organici a contenere come gruppo funzionale l'isonitrile.^{51,52}

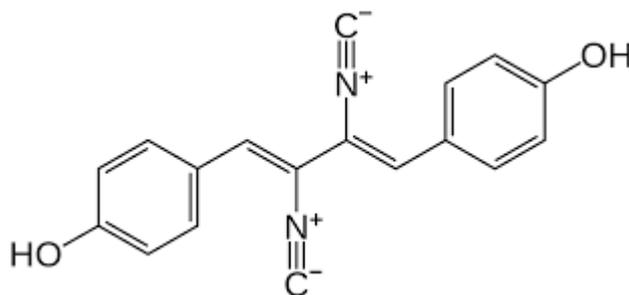


Figura 27. Rappresentazione della Xantocillina.

Risalgono invece ai primi anni Settanta gli studi di Malatesta che portarono alla sintesi del primo complesso di tetraalchilisonitrile avente come centro metallico Ni(0).⁵³

Gli isonitrili a basso peso molecolare (da 1 a 10 atomi di carbonio) presentano un odore pungente e in generale una minore stabilità, caratteristiche che si attenuano man mano che il peso della molecola aumenta. Si riportano, a titolo d'esempio, i due isomeri del mentolo dove è stato sostituito il gruppo -OH con il gruppo -NC: la caratteristica principale è che presentano un delicato odore di pompelmo.⁵⁴

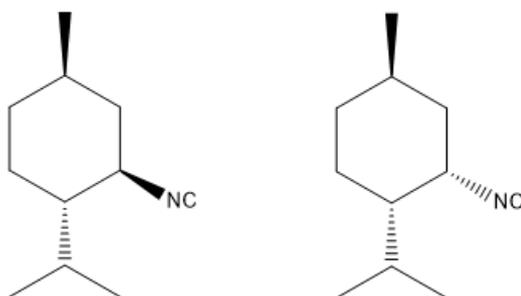


Figura 28. Isomeri del mentolo dove è stato sostituito il gruppo -OH con il gruppo -NC.

Gli isonitrili sono una tipologia di composti caratterizzati dalla presenza di un triplo legame carbonio-azoto e aventi un residuo alchilico o arilico legato all'azoto. Essi possono essere descritti avvalendosi delle due forme di risonanza di seguito riportate (*Figura 29*):

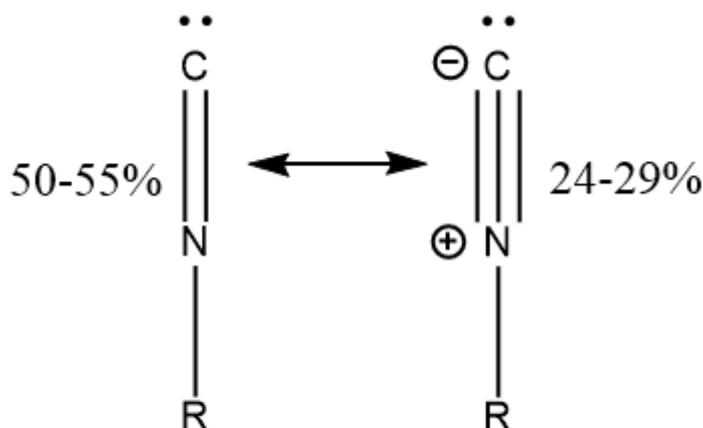


Figura 29. Forme di risonanza del legante isonitrilico.

In generale tali composti sono lipofili ma, dato il loro momento dipolare, hanno anche la capacità di creare interazioni con le proteine e con le metalloproteine cariche.^{55,54}

Gli isonitrili sono una tipologia di leganti neutri donatori di due elettroni, i quali sono allocati sull'atomo di carbonio. Dato che presentano delle similitudini con il gruppo carbonile è possibile descrivere le loro proprietà comparandoli proprio al CO. Il frammento NR conferisce al legante isonitrilico un carattere più σ -elettron-donatore rispetto al CO, permettendogli così di stabilizzare centri metallici a più alto stato di ossidazione, come avviene per esempio nel complesso $[\text{Pt}(\text{CNPh})_4]^{2+}$.

La possibilità di variare il sostituente R, conferisce ai leganti isonitrilici una certa modulabilità sterica ed elettronica, ovviamente assente nel CO. A questo proposito va ricordato che, quando il sostituente R è un sistema arilico, vi è una delocalizzazione della densità elettronica del gruppo CN, ed il gruppo isonitrilico diventa un miglior π accettore. Questa caratteristica viene esaltata quando all'anello aromatico sono legati gruppi elettronattrattori.^{56,57} Si può concludere, quindi, che gli isonitrili aromatici si coordinano a centri metallici elettronricchi con legami più forti.

In presenza di questa retrodonazione si va a perdere la linearità del gruppo col metallo arrivando a un angolo diedro di 130-140°. L'accettore π sarà l'orbitale di antilegame $2\pi^*$ che si andrà a sovrapporre con gli orbitali pieni d del metallo.

È importante sottolineare, inoltre, che secondo la teoria dell'orbitale molecolare, l'orbitale su cui si trova il doppietto solitario del carbonio isonitrilico ha maggior carattere di antilegame di quello di un carbonio carbonilico. Questo comporta che, quando il legante $-CNR$ è legato a centri metallici debolmente π -basici (come Pt(II) o Pd(II)) ed agisca pertanto quasi esclusivamente da σ -donatore, il legame CN risulti rafforzato, con conseguente innalzamento della frequenza dello stretching $\nu(CN)$ (rispetto anche al legante libero).⁵⁴

Gli isonitrili sono inerti a pH fisiologici nei confronti di acqua, tioli, alcoli ammine; a pH inferiore a 5 mostrano invece la tendenza ad idrolizzarsi e a dare formammidi.^{58,59}

Gli isonitrili formano più difficilmente composti a ponte rispetto ai carbonili, ma come questi sono disponibili a comportarsi da leganti attori e quindi a reagire loro stessi. Un esempio di questo comportamento è la formazione di gruppi aminocarbenici: l'attacco di una ammina sul carbonio di un isonitrile coordinato, infatti, porta alla formazione di un carbene di Fisher. (Figura 30)

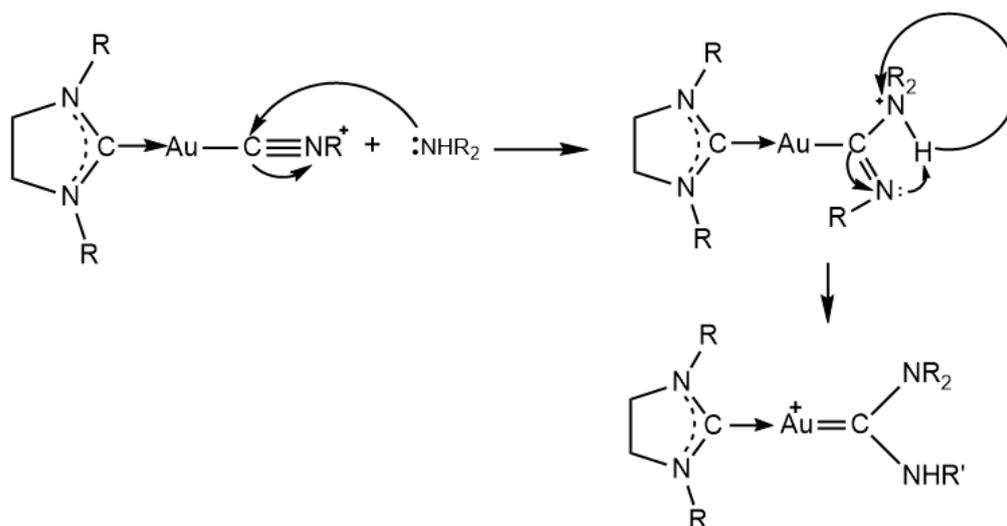


Figura 30. Schema di reazione per la formazione di un ammino-carbene di Fisher.

A seguito della coordinazione, dunque, l'atomo d'azoto e l'atomo di carbonio sono suscettibili ad attacco di coppie di elettroni appartenenti a diverse tipologie di atomi donatori, caratteristica che è stata sfruttata anche in chimica farmaceutica (Figura 31)^{60,61}:

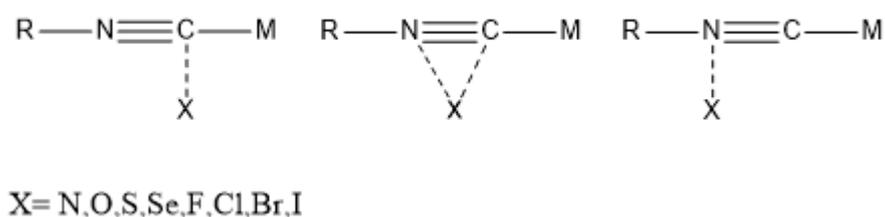


Figura 31. Diverse interazioni tra il legante isonitrilico e un sistema con coppie di elettroni disponibili.

In Figura 32 sono riportati i quattro diversi modi con cui l'isonitrile può coordinarsi al centro metallico:

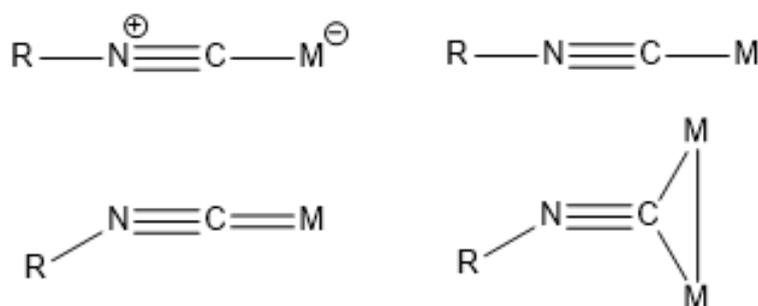


Figura 32. I quattro diversi modi di coordinazione dell'isonitrile nei confronti di un centro metallico.

Infine, si ricorda che i leganti isonitrilici danno più facilmente reazione di inserzione sul legame metallo-alcile o metallo-arile.

Molte tipologie di composti contenenti il gruppo isonitrile hanno mostrato una significativa attività biologica, comportandosi a seconda dei casi come antibatterici, antifungini, antimalarici, antivegetativi e antitumorali. Tra questi ultimi merita di essere menzionata la xantocillina X (Figura 33), che è stata isolata da batteri (*Penicillium* comune) presenti nei sedimenti di acque profonde. Lo studio della attività antibatterica e antitumorale è stato eseguito *in vitro*, con ottimi risultati contro lo *Staphylococcus aureus* e l'*Escherichia coli* e su diverse linee cellulari di carcinoma mammario. È stato dimostrato, inoltre, che anche la xantocillina X dimetiletere (Figura 34) presenta interessanti proprietà antiproliferative nei confronti di diverse linee cellulari tumorali ovariche, mammarie, epatiche e polmonari.⁵⁴

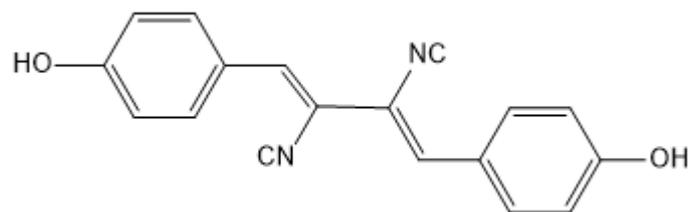


Figura 33. Rappresentazione Xantocillina X.

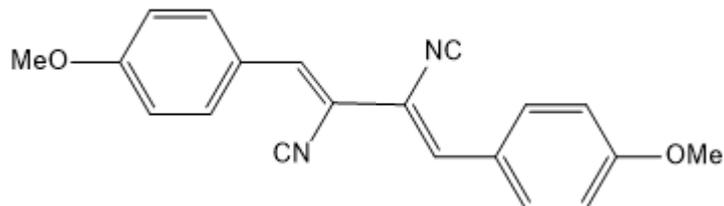


Figura 34. Rappresentazione Xantocillina X dimetiletere.

L'indolo acrilonitrile (Figura 35) è una altra tipologia di molecola contenente il gruppo isonitrile; oltre ad aver mostrato una potente attività antimicrobica e antifungina, si è dimostrato citotossico anche contro diverse linee cellulari tumorali.⁵⁴

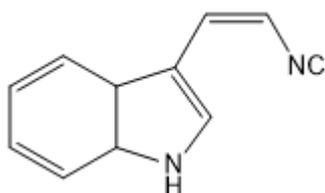


Figura 35. Rappresentazione dell'Indolo acrilonitrile.

Il composto actisonitrile (Figura 36) è stato testato a sua volta assieme al suo enantiomero come agente antitumorale (glioma di ratto, cancro cervicale umano), mostrando una certa efficacia.⁵⁴

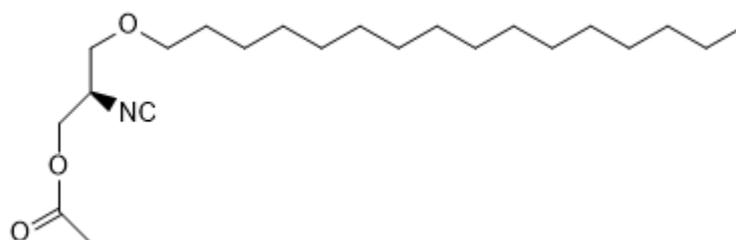


Figura 36. Rappresentazione dell'Actisonitrile.

Per concludere, stanno prendendo piede anche altre tipologie di farmaci contenenti il gruppo isonitrilico; questi sistemi presentano una propensione a inibire la β -glucuronidasi, enzima sovraespresso in diverse tipologie di cancro. Un esempio è riportato in (Figura 37).^{54,62}

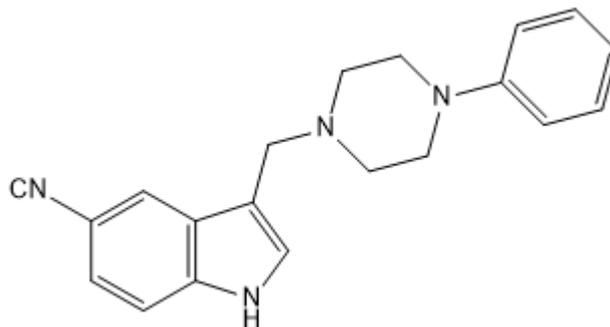


Figura 37. Rappresentazione di un composto contenente il frammento isonitrilico impiegato come inibitore della β -glucuronidasi.

2. Scopo della tesi

Lo scopo principale di questo lavoro di tesi è quello di sintetizzare e caratterizzare una nuova classe di complessi dimerici di Pd(I) di formula generica $[\text{Pd}(\text{PAr}_3)(\text{CNR}')_2]_2(\text{ClO}_4)_2$. Tali composti sono caratterizzati dalla peculiarità di non avere alcun legante a ponte tra i due centri metallici, che sono pertanto tenuti insieme unicamente dal legame che intercorre tra di essi. In lavori precedenti svolti dal gruppo di ricerca del Prof. Visentin, è stata messa a punto la via sintetica per poter preparare quelli che si sono rivelati essere i precursori di Pd(II) (di formula generica $[\text{Pd}(\text{Ind})(\text{PAr}_3)(\text{CNR}')] \text{ClO}_4$, con Ar= Ph, *p*-Cl-Ph, *p*-F-Ph, *p*-OMe-Ph, 2-furil, 2-piridil e R' = *tert*-butile, cicloesile, adamantile), più adatti per ottenere questi derivati dimerici di palladio(I).

Una parte del lavoro di questa tesi è stata pertanto finalizzata a ricercare e ad ottimizzare le condizioni di reazione più efficaci per poter trasformare i precursori di Pd(II) nei dimeri finali di Pd(I). Una seconda parte importante del lavoro è stata poi dedicata alla caratterizzazione dei complessi preparati, avvalendosi in particolare della spettroscopia NMR (protonica ed eteronucleare, mono e bidimensionale) integrata con quella FT-IR e, ove possibile, dalla cristallografia a raggi X.

Infine, la terza importante parte del lavoro, svolta in collaborazione con il gruppo di ricerca del Prof. Rizzolio, è stata incentrata sulla determinazione dell'attività antiproliferativa su differenti linee cellulari di cancro ovarico dei complessi ottenuti. Questo studio è particolarmente importante perché, se è vero che i derivati di palladio cominciano ad essere presi sempre più seriamente in considerazione come potenziali agenti antitumorali, è altrettanto risaputa la scarsità di dati disponibili su composti in cui tale metallo si presenti in stato di ossidazione (I). L'unico precedente è stato recentemente proposto dal nostro stesso gruppo di ricerca, con risultati piuttosto incoraggianti.⁶³

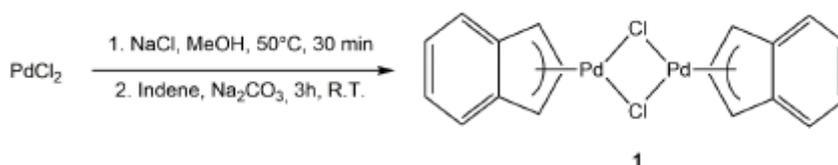
3. Risultati e discussione

Questo lavoro è finalizzato a definire una strategia di sintesi per preparare nuovi complessi dimerici di Pd(I), dotati di leganti spettatori fosfinici e isonitrilici.

Il protocollo adottato per l'ottenimento dei prodotti finali si articola in tre stadi distinti:

- 1) la sintesi del precursore iniziale $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$, preparato in un'unica soluzione ed in misura sufficiente ad ottenere le quantità desiderata dei prodotti finali;
- 2) la sintesi degli specifici intermedi indenilici di palladio(II);
- 3) la preparativa finale di 14 dimeri di Pd(I), a partire da queste specie intermedie

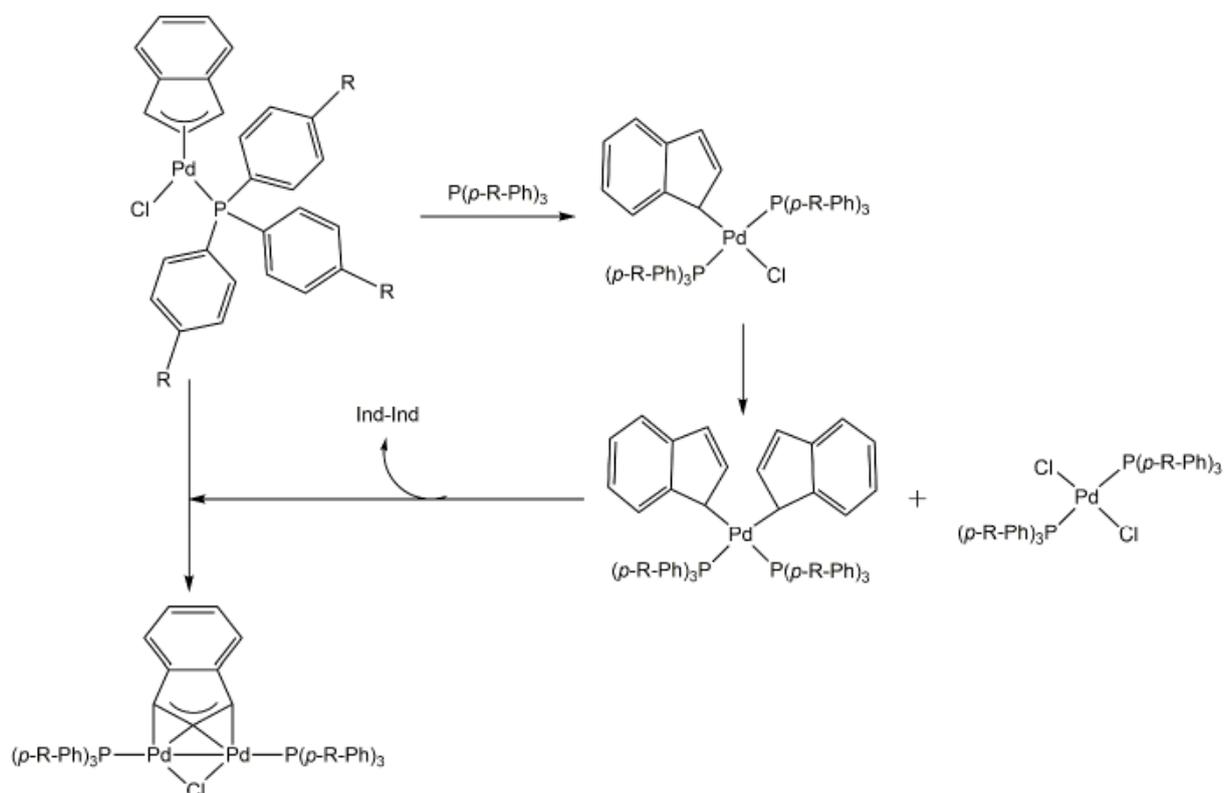
Per la preparativa di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$, la metodologia seguita è quella riportata da Hazari e ben collaudata dal nostro gruppo di ricerca, che prevede di preparare *in situ* Na_2PdCl_4 , dissolvendo PdCl_2 in metanolo a 50°C in presenza di un eccesso di sodio cloruro. La soluzione così ottenuta è trattata con indene, la cui deprotonazione con carbonato di sodio permette l'ottenimento del gruppo funzionale Pd-indenilico. (Schema 6).⁶⁴ Quest'approccio sintetico è più efficace e meno problematico da un punto di vista operativo, di quello che prevede l'utilizzo di Li-indenile.⁶⁵



Schema 6. Sintesi del precursore $[\text{Pd}(\text{Ind})\text{Cl}]_2$.

A partire da questo precursore dimerico, vengono preparate le specie intermedie di Pd(II) introducendo nella sfera di coordinazione del palladio i leganti spettatori fosfinici e isonitrilici, in due stadi distinti e successivi.

In prima battuta, a $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$, vengono addizionati 1.9 equivalenti di ciascuna delle fosfine ariliche *para*-sostituite $\text{P}(p\text{-X-C}_6\text{H}_4)_3$ ($\text{X} = \text{H}, \text{Cl}, \text{F}, \text{OMe}$). La reazione viene condotta in atmosfera inerte per evitare ogni possibilità di ossidazione del legante fosfinico in fosfinossido, utilizzando CH_2Cl_2 anidro e lasciando la miscela a temperatura ambiente per circa 15 minuti. È importante sottolineare che la scelta di lavorare in leggero difetto di fosfina nasce dalla necessità di evitare, in questa fase, l'innescò di una serie di ben note reazioni collaterali, con formazione di sottoprodotti indesiderati e di difficile separazione (Schema 7).

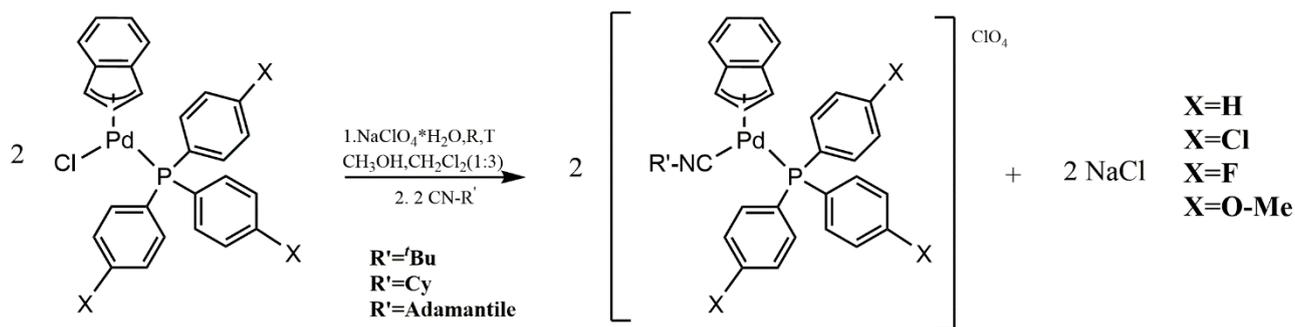


Schema 7. Meccanismo di reazioni collaterali in presenza di un eccesso di legante fosfinico.

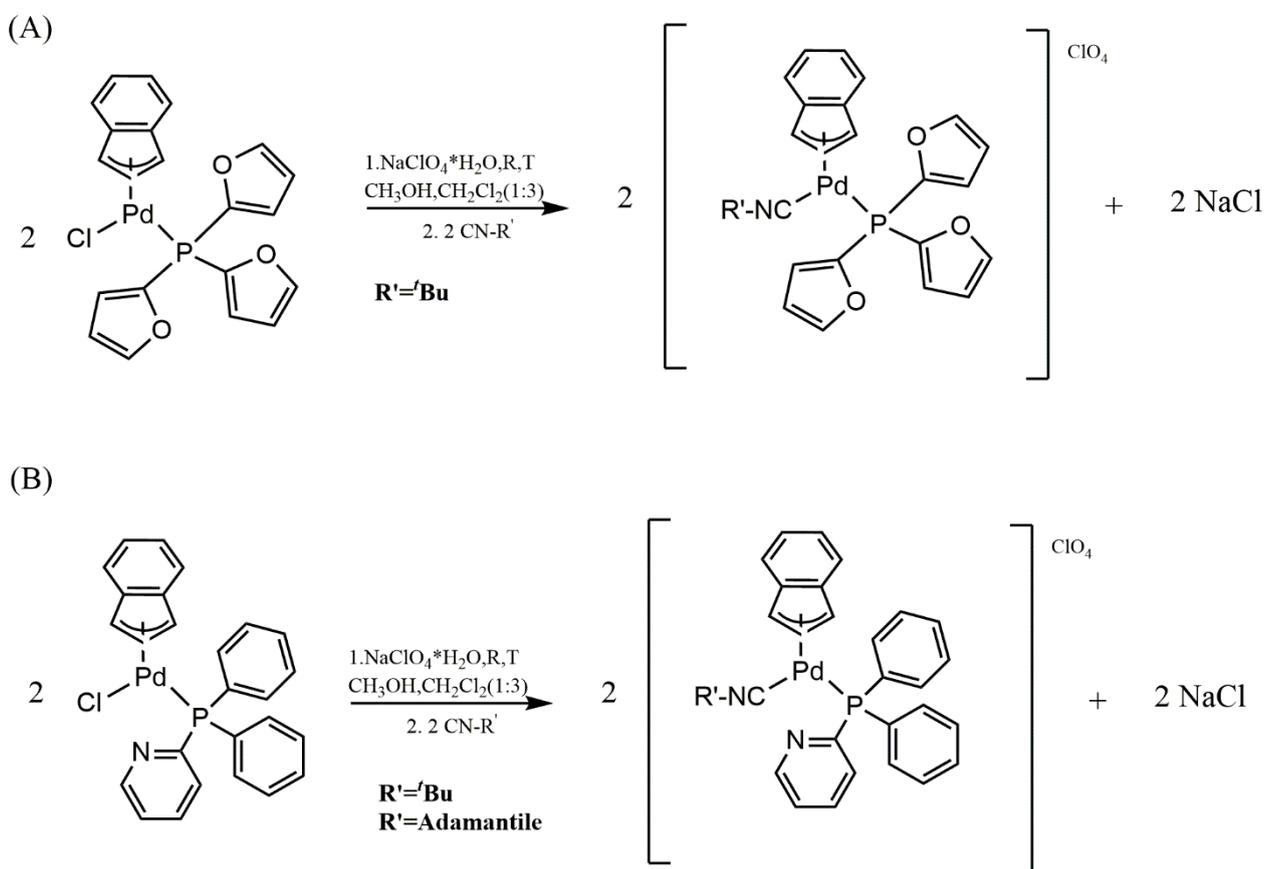
Sempre con l'intento di scongiurare questa possibilità, subito prima del legante isonitrilico CNR' (con R' = *tert*-Butile, cicloesile, adamantile), viene aggiunta una soluzione metanolica di sodio perclorato, creando i presupposti per la dechlorurazione della specie $[Pd(Ind)(Cl)(P(p-X-C_6H_4)_3)]$. La precipitazione di cloruro di sodio, che si inizia ad osservare immediatamente dopo l'aggiunta dell'isonitrile, costituisce la *driving-force* del processo e promuove selettivamente la formazione di ciascuna delle 12 specie indeniliche $[Pd(Ind)(CNR')(P(p-X-C_6H_4)_3)ClO_4]$, che, come detto, costituiscono, la base di partenza per la formazione dei dimeri finali di Pd(I) (Schema 8). Va sottolineato che la reazione risulta ottimizzata quando il rapporto tra diclorometano e metanolo nella miscela di reazione viene mantenuto circa 3:1.

L'isolamento dei composti indenilici, dopo la rimozione per filtrazione del cloruro di sodio, viene facilmente ottenuto mediante precipitazione indotta dall'aggiunta di etere etilico alla soluzione finale in diclorometano.

Con un approccio analogo sono stati preparati anche i tre nuovi complessi $[Pd(Ind)(Tic)(P(2-piridil)Ph_2)ClO_4]$, $[Pd(Ind)(Adic)(P(2-piridil)Ph_2)ClO_4]$ e $[Pd(Ind)(Tic)(P(2-furil)_3)ClO_4]$, contenenti le due fosfine eteroaromatiche difenil-2-piridilfosfina e tri(2-furil)fosfina (Schema 9).



Schema 8. Sintesi dei precursori di formula generica $[Pd(Ind)(PR_3)(CNR')]ClO_4$.



Schema 9. Sintesi del precursore $[Pd(Ind)(Tic)(P(2-furil)_3)ClO_4]$ (A) e dei precursori $[Pd(Ind)(Tic)(P(2-pyridil)Ph_2)ClO_4]$ e $[Pd(Ind)(Adic)(P(2-pyridil)Ph_2)ClO_4]$ (B).

Queste ultime tre specie intermedie sono inedite e sono state pertanto esaustivamente caratterizzate.

L'unicità dei prodotti ottenuti è certificata dalla presenza nei rispettivi spettri $^{31}P\{^1H\}NMR$, di un unico picco, localizzato a circa 29.7 ppm nel caso dei due complessi coordinanti la difenil-2-piridilfosfina e a -29.3 ppm nel caso del complesso con la 2-tri(2-furil)fosfina. In tutti due casi, si nota un deciso spostamento rispetto al corrispondente segnale della fosfina libera (si innalza, come accade di norma per le fosfine aromatiche, nel caso dei complessi con la difenil-2-

pyridilfosfina, si abbassa invece nel caso del complesso con la tri(2-furil)fosfina), fatto che ne testimonia indirettamente l'avvenuta coordinazione. Ovviamente questo trova riscontro anche negli spettri ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (Figura 38 e 39), nei quali sono distinguibili i segnali dei protoni e dei carboni degli anelli eteroaromatici delle fosfine. Nelle zone alchiliche degli stessi spettri sono invece rintracciabili i picchi attribuibili ai sostituenti *tert*-butilici e adamantilici degli isonitrili.

Infine, la presenza del frammento indenilico è resa evidente dai sette e nove distinti protoni e carboni ad esso assegnabili quando si trova legato ad un centro metallico di palladio (II) che coordina due differenti leganti spettatori.

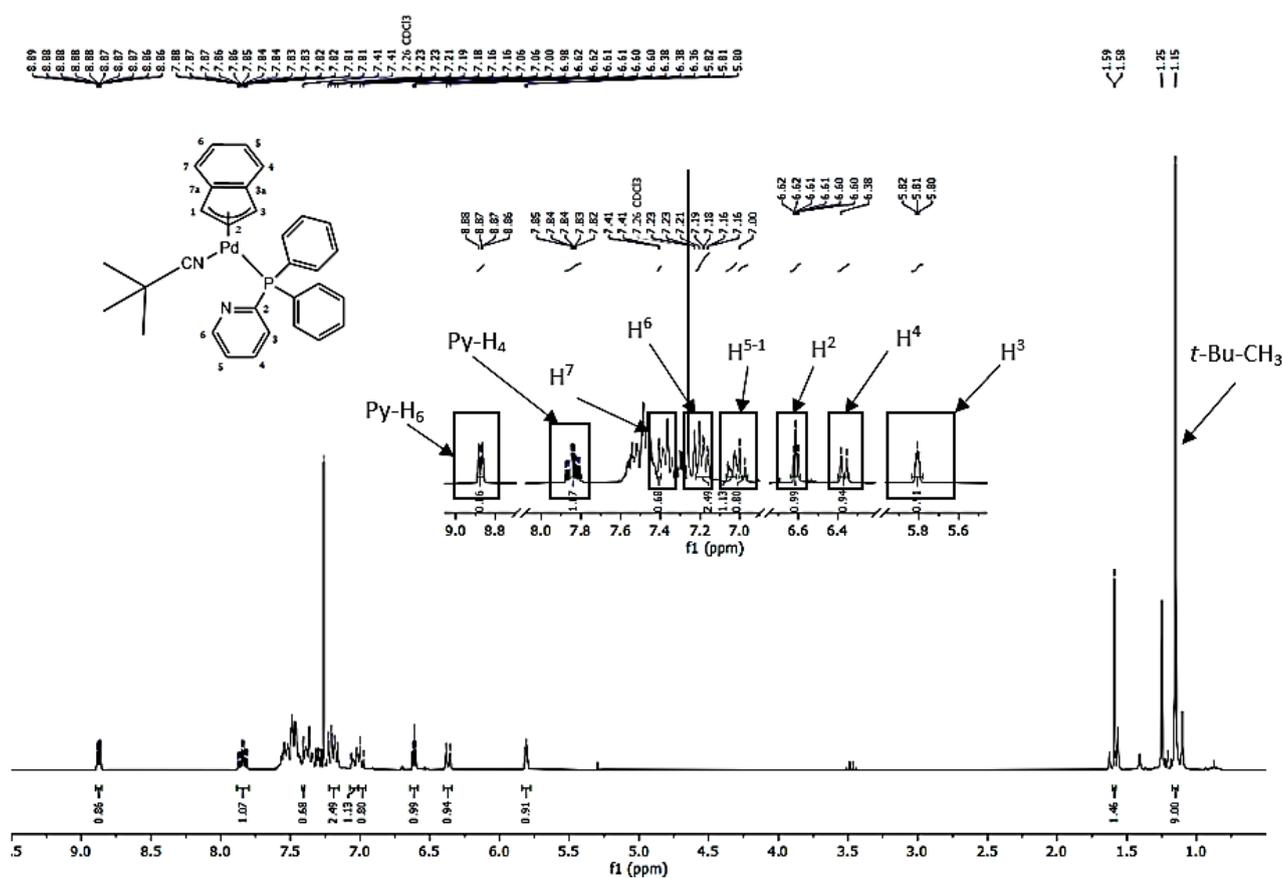


Figura 38. Spettro ^1H NMR di $[\text{Pd}(\text{Ind})\text{PPh}_2(2\text{-py})_3](\text{TIC})\text{ClO}_4$ a 298K in CDCl_3 .

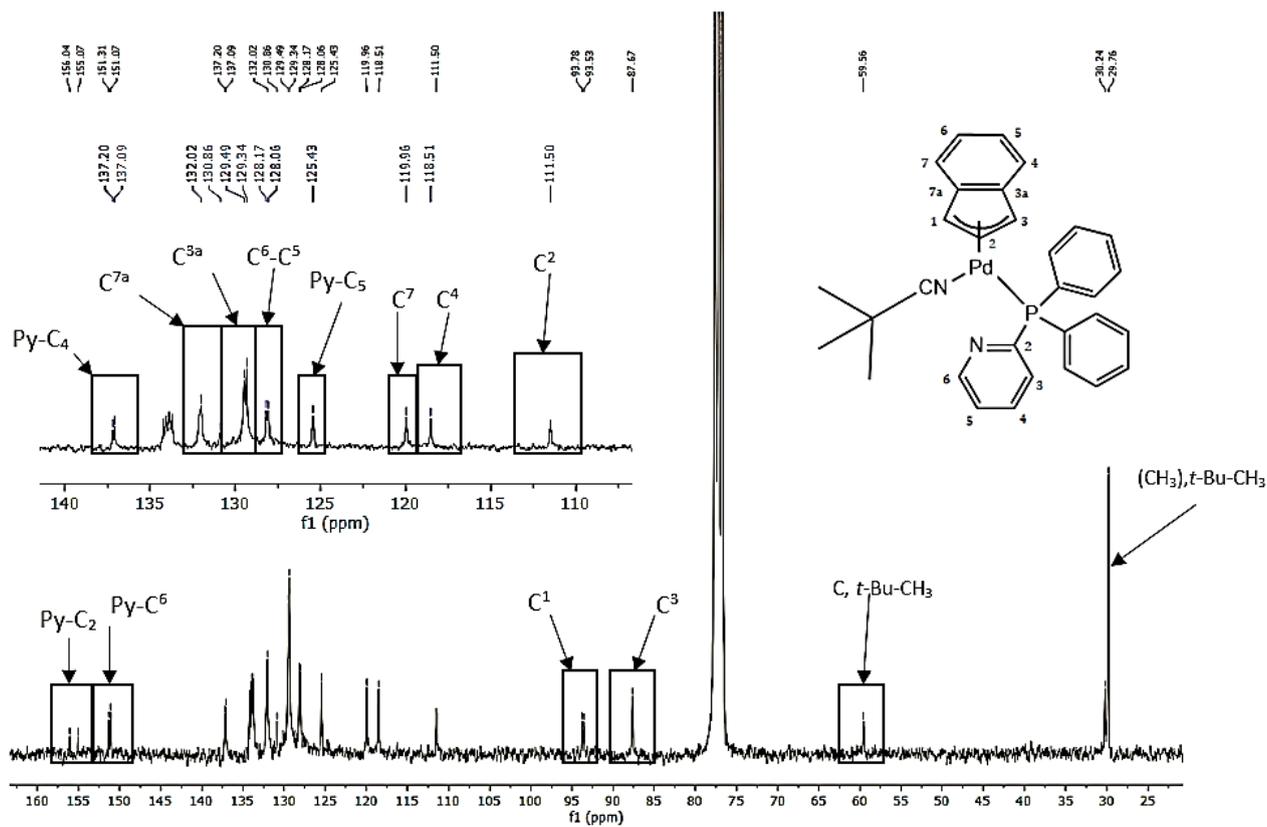


Figura 39. Spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR di $[\text{Pd}(\text{Ind})\text{PPh}_2(2\text{-py})_3](\text{TIC})\text{ClO}_4$ a 298K in CDCl_3 .

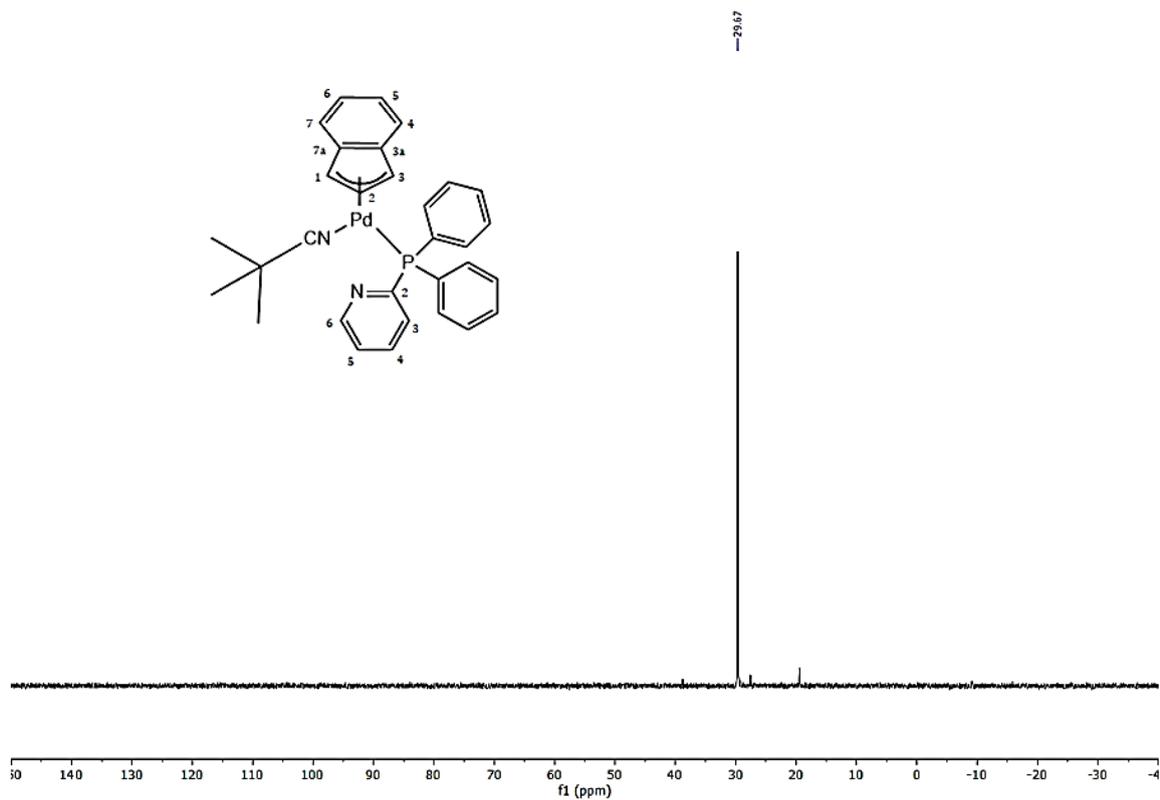
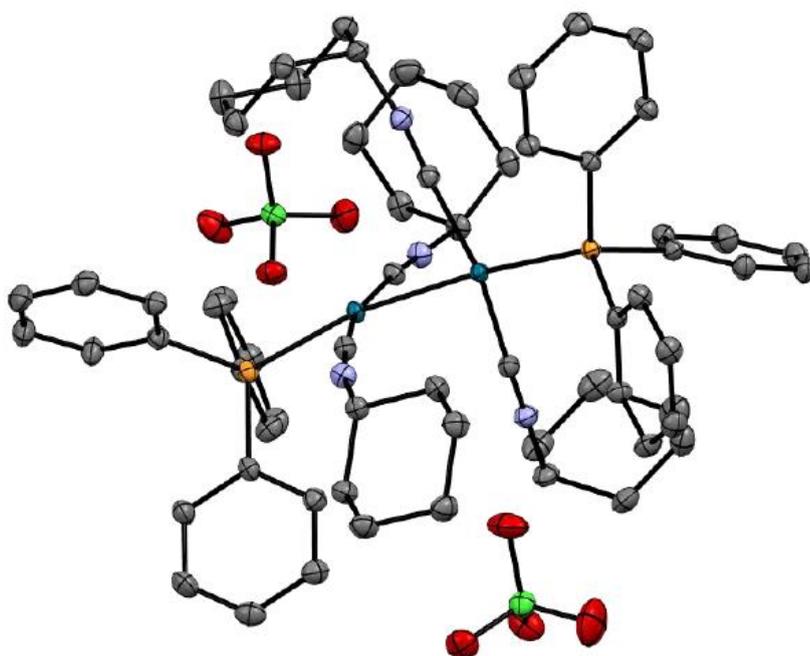


Figura 40. Spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR di $[\text{Pd}(\text{Ind})\text{PPh}_2(2\text{-py})_3](\text{TIC})\text{ClO}_4$ a 298K in CDCl_3 .

Negli spettri IR, particolarmente diagnostica risulta la presenza dell'intenso picco a circa 2200cm^{-1} relativo allo *stretching* $\nu(\text{CN})$ dell'isonitrile coordinato, e quella dei segnali dello *stretching* e *bending* del legame Cl-O, del contrione perclorato a circa 1080 e 620 cm^{-1} .

Siamo così giunti gradualmente al cuore del problema affrontato in questo lavoro di tesi, vale a dire quello della preparazione di una nuova classe di derivati dimerici di palladio(I). La questione ha preso avvio dall'osservazione piuttosto casuale che l'utilizzo di un eccesso del legante isonitrilico quando si tenti di preparare i complessi indenilici $[\text{Pd}(\text{Ind})(\text{CNR}')(\text{P}(p\text{-X-C}_6\text{H}_4)_3)]\text{ClO}_4$ secondo la metodica descritta precedentemente, porta alla progressiva trasformazione di questi derivati in un nuovo substrato metallico privo della componente indenilica ma che mantiene invece la coordinazione sia dei leganti fosfinici che isonitrilici. Da una prima analisi degli spettri NMR, si evince inoltre che nella nuova specie il rapporto tra il numero di leganti fosfinici e quello di leganti isonitrilici è 1:2, e che la sua struttura deve essere altamente simmetrica poiché esiste un solo set di segnali attribuibile ai leganti fosfinici ed isonitrilici presenti. A mettere una parola definitiva sulla natura del prodotto ottenuto ha contribuito, come succede spesso in questi casi, il fatto di essere riusciti ad ottenerne dei cristalli adatti a risolverne la struttura ai raggi X. Questa ha rivelato trattarsi della specie dimerica di Pd(I) riportata in *Figura 41*:



*Figura 41. Struttura cristallografica del dimero $[\text{Pd}(\text{Cyic})_2(\text{PPh}_3)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4a-Cyic**)*

Non sfuggirà il fatto che tra i cinque isomeri ottenibili distribuendo sui due centri metallici di palladio quattro isonitrili e due fosfine, (supponendo, come è ragionevole, che vi sia una rotazione libera attorno al legame Pd-Pd), quello ottenuto è quello maggiormente simmetrico e l'unico che può giustificare gli spettri NMR che segnalano un solo set di segnali per i leganti fosfinici e per quelli isonitrilici (*Figura 42*).

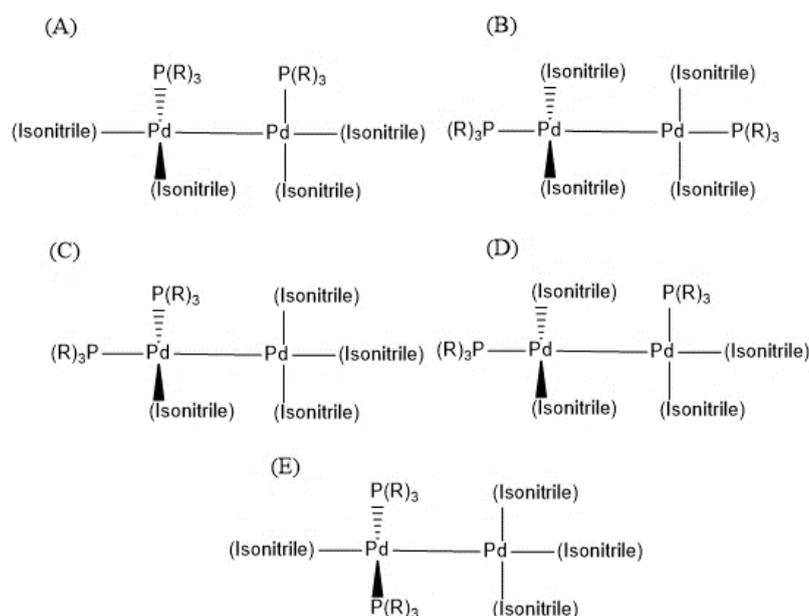
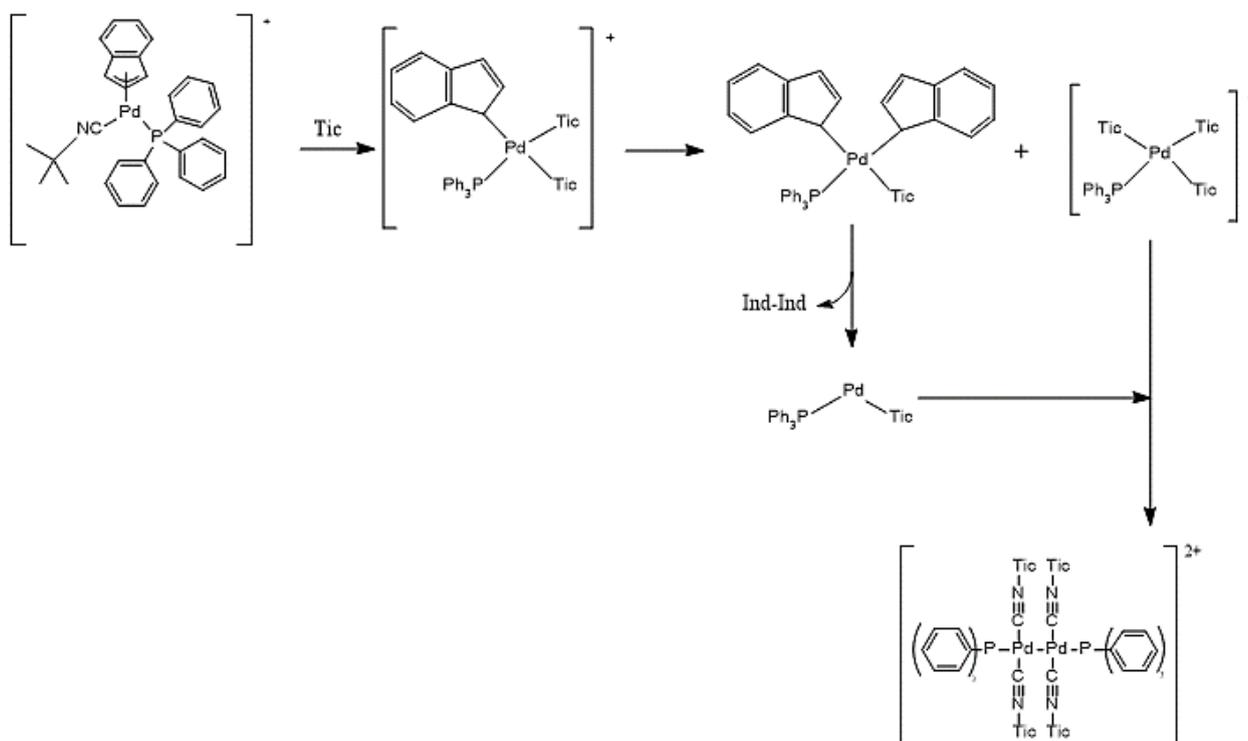


Figura 42. Isomeri che possono essere ottenuti; nel nostro caso la reazione è specifica per l'isomero (B).

Sulla scorta di questo esito, possiamo proporre questa ragionevole frequenza di eventi reattivi in grado di determinarlo. In prima battuta si può pensare che l'aggiunta di un ulteriore molecola di legante isonitrilico possa trasformare il complesso iniziale $[\text{Pd}(\text{Ind})(\text{CNR}')(\text{PAR}_3)]^+$, nella specie intermedia $[\text{Pd}(\text{CNR}')_2(\text{PAR}_3)(\eta^1\text{-Ind})]^+$, in cui l'entrata nella sfera di coordinazione del nuovo legante è reso possibile dalla diminuzione dell'apicità del frammento indenilico da tre a uno (da dati spettroscopici e strutturali in realtà l'apicità del complesso indenilico di partenza è compresa tra 3 e 5). Due molecole di questa tipo possono, mediante uno scambio di leganti, generare i due nuovi intermedi $[\text{Pd}(\text{CNR}')_3(\text{PAR}_3)]^{2+}$ e $[\text{Pd}(\text{CNR}')(\text{PAR}_3)(\eta^1\text{-Ind})_2]$, il secondo dei quali, per eliminazione riduttiva di 1-1'-bisindene, produce la specie insatura di palladio(0) $[\text{Pd}(\text{CNR}')_3(\text{PAR}_3)]$. Il processo si conclude con l'accoppiamento tra quest'ultimo intermedio e $[\text{Pd}(\text{CNR}')_3(\text{PAR}_3)]^{2+}$, a generare il dimero biscationico di Pd(I), $[\text{Pd}_2(\text{PAR}_3)_2(\text{CNR}')_4]^{2+}$, che costituisce l'esito finale della reazione oltre che il soggetto principale di questo lavoro di tesi (*Schema 10*). Non è da escludere che in questo ultimo passaggio uno degli isonitrili agisca da ponte, rendendo più agevole il processo ossidoriduttivo a sfera interna.



Schema 10. Presunto meccanismo di formazione del dimero $[Pd(Tic)_2(PPh_3)]_2^{2+}$.

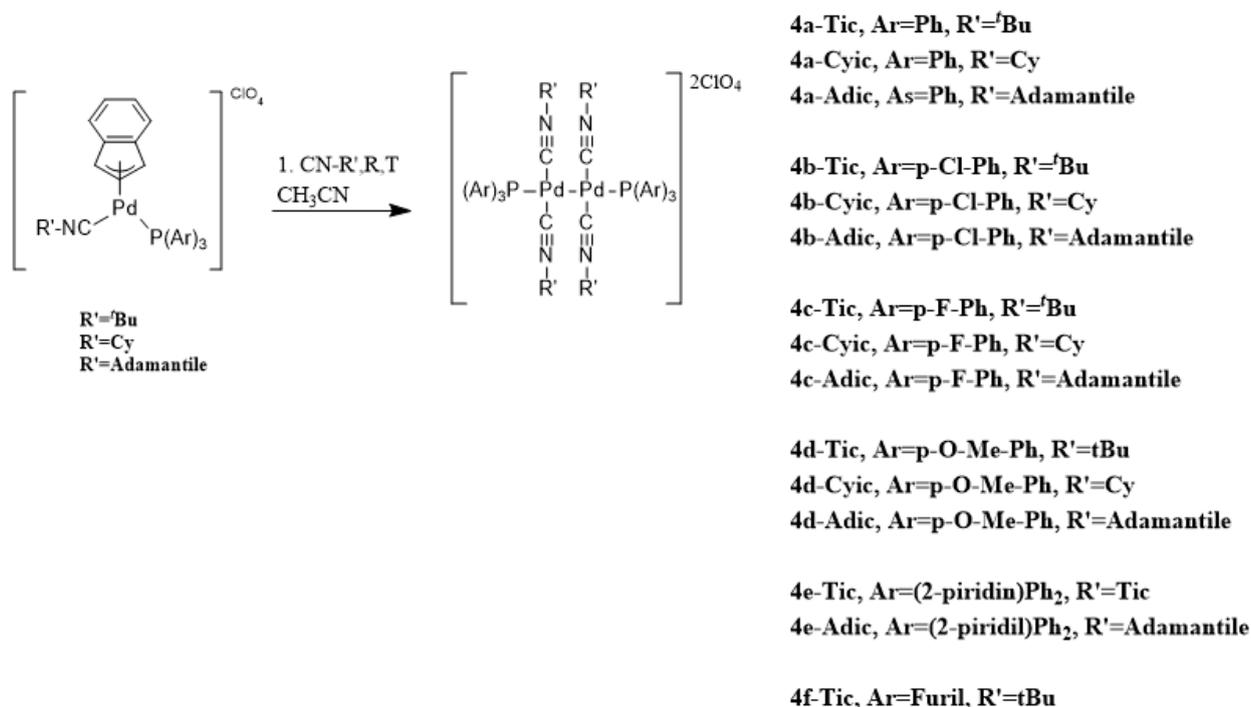
Una parte importante del lavoro è stato quello di cercare le condizioni di reazioni ottimali al fine di massimizzare la resa del prodotto finale. A tal proposito, una serie di prove di reattività condotte in tubo NMR sono state messe in cantiere e condotte modificando in particolare il rapporto tra i reagenti coinvolti ed il tipo di solvente impiegato.

L'opzione migliore si è rivelata quella di utilizzare un eccesso dell'isonitrile aggiunto (2 equivalenti anziché 1), ed un sovente polare come l'acetonitrile. La necessità di un eccesso di isonitrile trova giustificazione nel fatto che si riesce in questo modo ad agevolare il primo stadio del processo che prevede l'addizione dell'isonitrile sul centro metallico e che si configura probabilmente come un equilibrio veloce, da cui si dipartono gli stadi lenti del processo (verosimilmente lo scambio di leganti tra i due centri metallici e la reazione ossidoriduttiva finale). La scelta di un solvente decisamente polare come l'acetonitrile gioca invece, con molta probabilità, un ruolo chiave nella stabilizzazione di tutte le specie coinvolte nel processo, che nella maggior parte dei casi sono cationiche.

Lavorando in queste condizioni, la reazione si completa in poco più di 12 ore, senza sostanziali differenze variando i substrati iniziali impiegati. Quando la procedura è stata scalata dal livello di reazione in tubo a quello di preparativa, si è tuttavia adottato un tempo prudenziale di

reazione di 18 ore. Va segnalato che il monitoraggio in tubo NMR ha messo in evidenza che all'aggiunta dell'isonitrile al complesso iniziale $[\text{Pd}(\text{Ind})(\text{CNR}')(\text{PAr}_3)]^+$ si osserva un repentino e importante allargamento dei picchi presenti negli spettri (p.e. negli spettri protonici non sono più osservabili i segnali del frammento indenilico, mentre del fosforo apparentemente scompare ogni segnale). Solo molto lentamente cominciano nel tempo a delinearsi i segnali del prodotto finale che nello spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}\text{NMR}$ sono rappresentati da un unico singoletto localizzato tra 8 e 12 ppm, a seconda dei substrati iniziali, vale a dire a chemical shift più bassi di circa 20 ppm rispetto al composto di partenza. Va detto che a tempi intermedi si intravede nello spettro del fosforo della miscela di reazione anche un picco molto allargato (a 7-8 ppm più in alto rispetto al segnale del prodotto finale), che inizialmente sembra crescere per poi scomparire definitivamente. Tale segnale dovrebbe essere in qualche modo riferibile alle specie intermedie in parziale equilibrio tra di loro e coinvolte in veloci processi di scambio dei leganti promossi dall'eccesso di isonitrile). Il monitoraggio NMR segnala inoltre che la reazione è molto selettiva e l'unico sottoprodotto presente nella miscela finale è rappresentato da piccole tracce del fosfinossido della fosfina coinvolta. Va detto che tale quantità, che non supera mai qualche punto percentuale, risulta ulteriormente ridotta quando la reazione è riprodotta su vasta scala, dove è più facile riuscire a controllare l'atmosfera di reazione mantenendo il sistema sotto argon; in ogni caso questa impurezza può venire facilmente ed integralmente rimossa lavando il prodotto finale con etere dietilico. Tali lavaggi permettono altresì di separare dall'eccesso di isonitrile usato e il bis-indene formatosi.

Adottando questo protocollo sintetico è stato possibile preparare i 14 nuovi complessi dimerici riportati nello *Schema 11*. Essi si differenziano per il tipo di fosfina aromatica o eteroaromatica usata, ed il tipo di sostituente alchilico del legante isonitrilico. Queste differenze potrebbero avere delle ripercussioni sulle attività biologiche dei singoli composti, e potrebbero permetterci poi di scegliere, tra quelli disponibili, il derivato più performante.



Schema 11. Schema dei complessi di interesse.

Come già accennato, l'analisi spettroscopica NMR dei prodotti ottenuti consente la loro identificazione in maniera coerente ed esaustiva. Innanzitutto, gli spettri $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR sono tutti caratterizzati dalla presenza di unico segnale, a riprova che il processo è selettivo e che, come desunto in maniera inequivocabile dalla struttura ai raggi X, in queste specie dimeriche, la cui geometria attorno ai due centri di Pd(I) è praticamente planare quadrata, le due fosfine si trovano coordinate una per ciascun centro metallico, in posizione *trans*- al legame palladio-palladio (Figura 43).

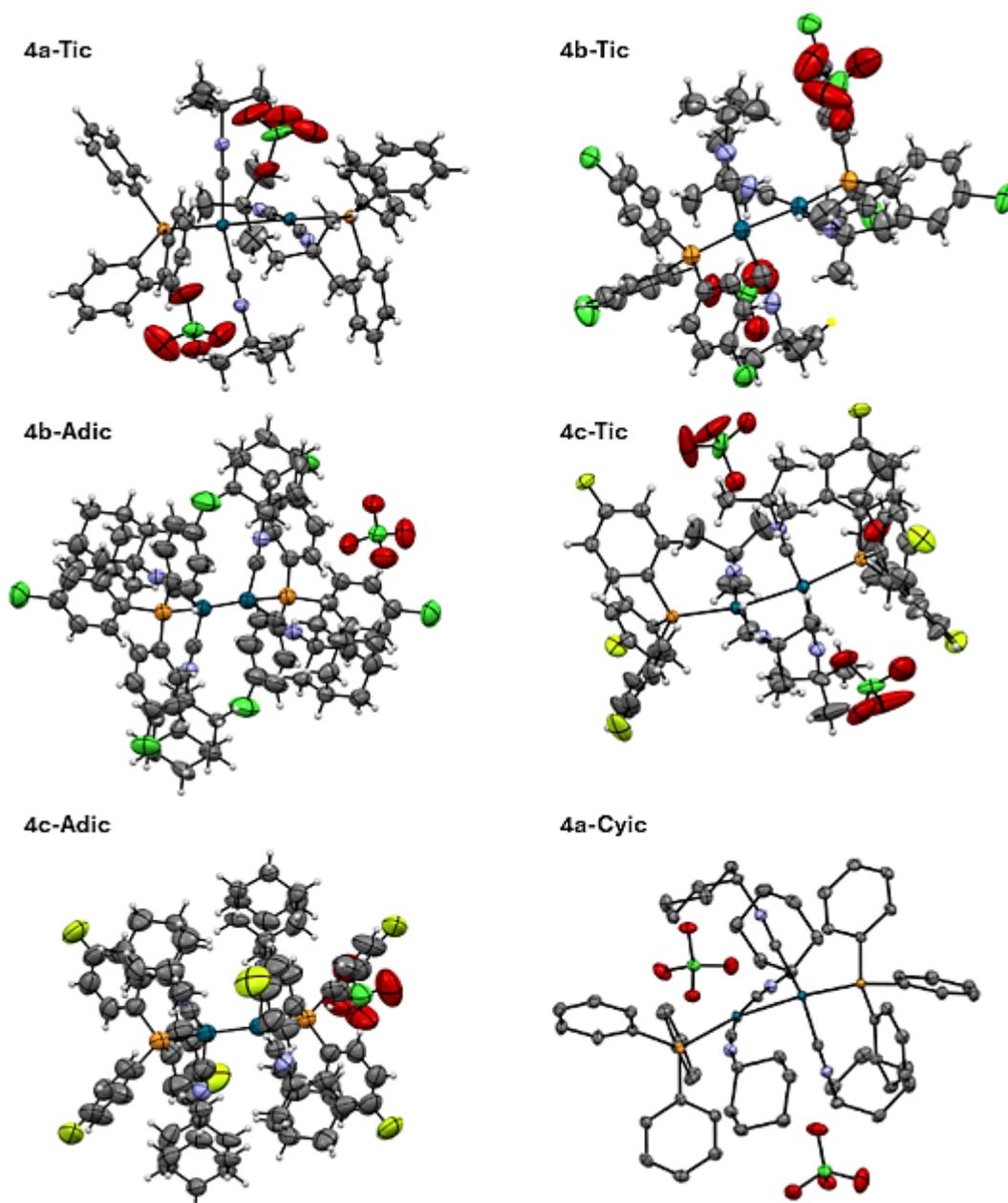


Figura 43. Struttura cristallografica di alcuni dimeri sintetizzati.

Il *chemical shift* di tale segnale (sempre compreso tra 8 e 12 ppm, con le piccole differenze da imputarsi alla diversa natura della fosfina impiegata) è significativamente più basso di quello dei precursori indenilici di Pd(II), accordandosi con il più basso stato di ossidazione del palladio in questo nuovo contesto e alla sua minor capacità, pertanto, di ricevere densità elettronica dai leganti fosfinici. Coerentemente, nella zona aromatica degli spettri protonici e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR sono individuabili i singoli set di segnali attribuibili ai sostituenti arilici delle fosfine. Nello spettro del carbonio, in particolare, essi mostrano accoppiamento con i fosfori di entrambe le fosfine del complesso. Nel dettaglio, il segnale del carbonio in posizione *ipso* è sempre quello

che mostra le costanti di accoppiamento più grandi con il fosforo, mentre quello in *para* (nelle fosfine *para* sostituite) è quello che assume il valore di chemical shift più elevato e che nel caso dei complessi la 4-fluorotrifetilfosfina è addirittura localizzato sopra i 160 ppm, in ragione del forte carattere elettronattrattore del sostituente. In quest'ultimo caso, esso presenta anche un forte accoppiamento con l'atomo di fluoro adiacente ($J_{C-F} \sim 250$ Hz). D'altro canto, la presenza degli atomi di fluoro in questi complessi trova riscontro anche nel segnale individuabile a circa 105-110 ppm nello spettro $^{19}F\{^1H\}$ NMR, nonché nella molteplicità (doppietto) del segnale presente negli spettri $^{31}P\{^1H\}$ NMR.

Oltre a quelli riconducibili alla fosfina aromatica, negli spettri protonici e del carbonio è anche sempre rinvenibile un unico set di segnali relativi al legante isonitrilico. Ovviamente tra questi particolarmente intensi son quelli dei sostituenti alchilici (*tert*-butile, cicloesile e adamantile), facilmente individuabili nella zona alchilica degli spettri. Va detto che le integrazioni di questi picchi, confrontate con quelle dei picchi dei sostituenti aromatici delle fosfine, sono perfettamente coerenti con un rapporto tra i leganti isonitrilici e quelli fosfinici di 1:2 (p.e. nel caso del complesso $[Pd(PPh_3)(Tic)_2](ClO_4)_2$, se l'integrazione dei picchi dei sostituenti *tert*-butilici dell'isonitrile è fissata 36, si trova che coerentemente quella dei sostituenti fenilici delle due trifetilfosfine coordinate ammonta a 30). Molto meno intenso per sua natura è invece il segnale del carbonio isonitrilico coordinato sul centro metallico. Esso comunque è nella maggior parte dei casi individuabile appena sotto i 130 ppm.

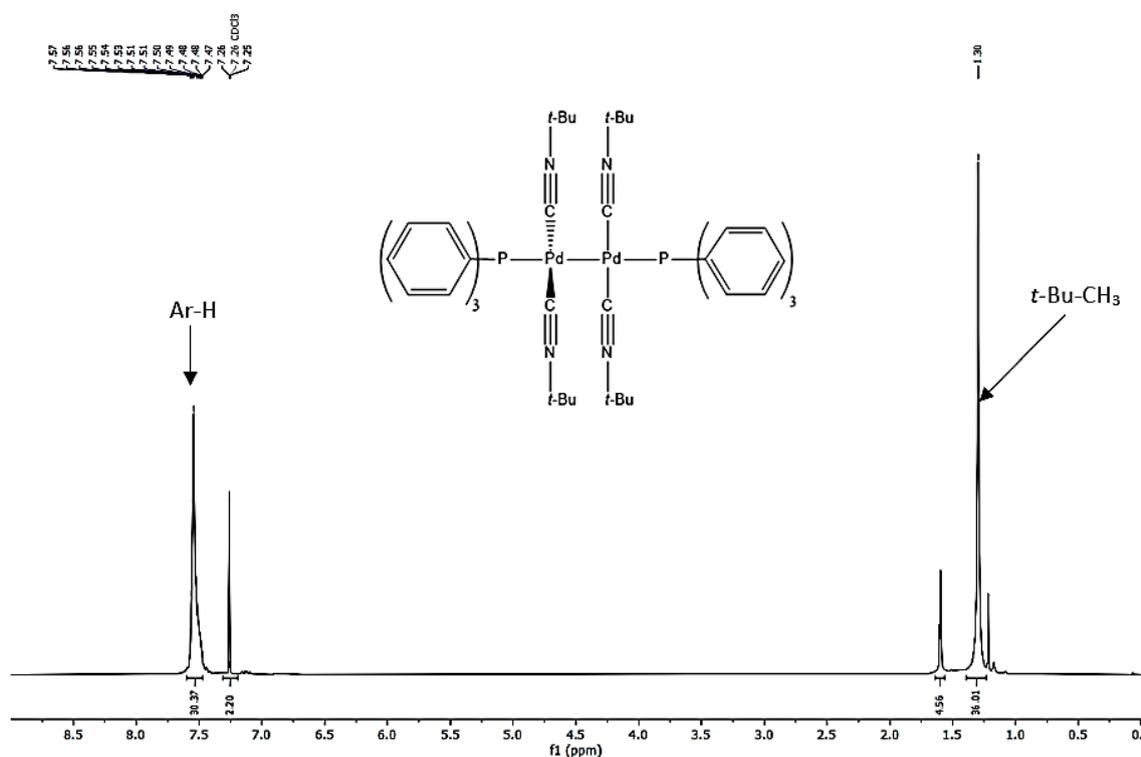


Figura 44. Spettro 1H NMR di $[Pd(PPh_3)(Tic)_2](ClO_4)_2$ (**4a-Tic**) a 298K in $CDCl_3$.

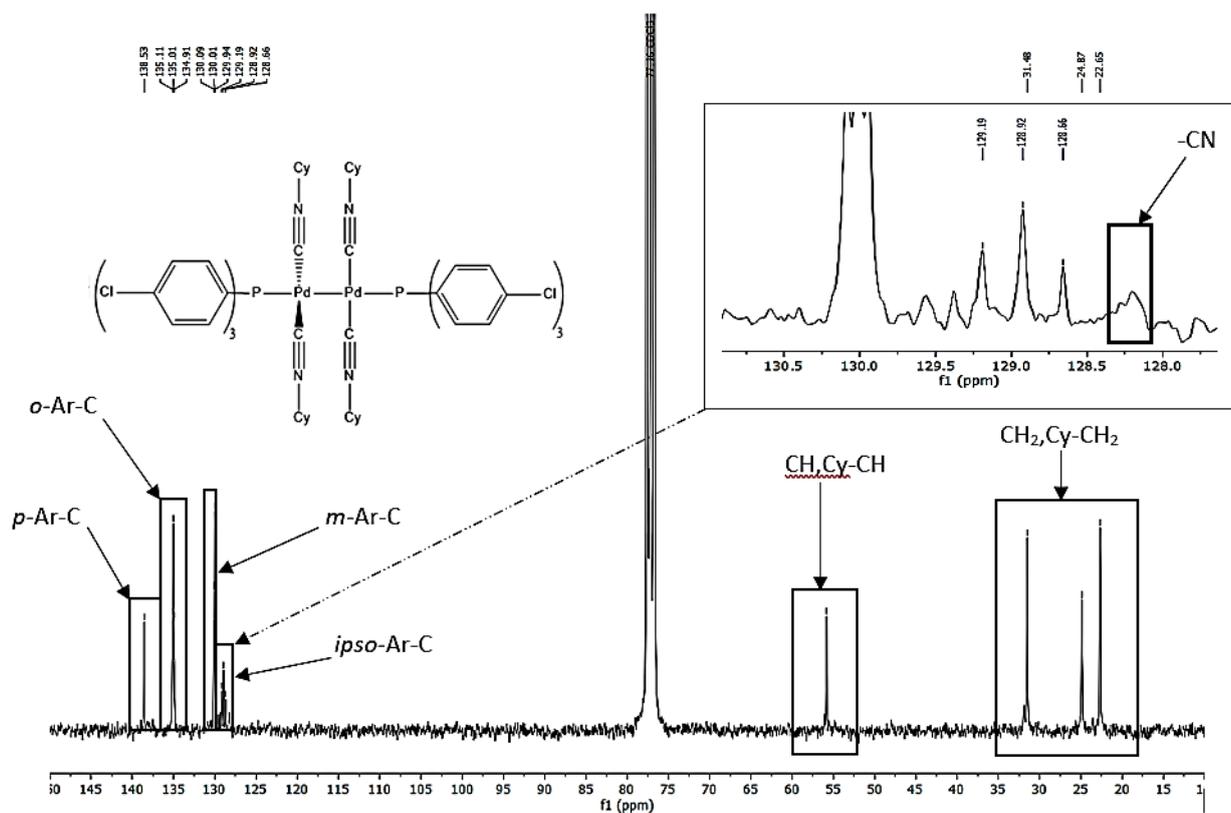


Figura 45. Spettro ^{13}C $\{^1H\}$ NMR $[Pd(P(p-Cl-C_6H_5)_3)(Cic)_2](ClO_4)_2$ (**4b-Cyic**) a 298K in $CDCl_3$.

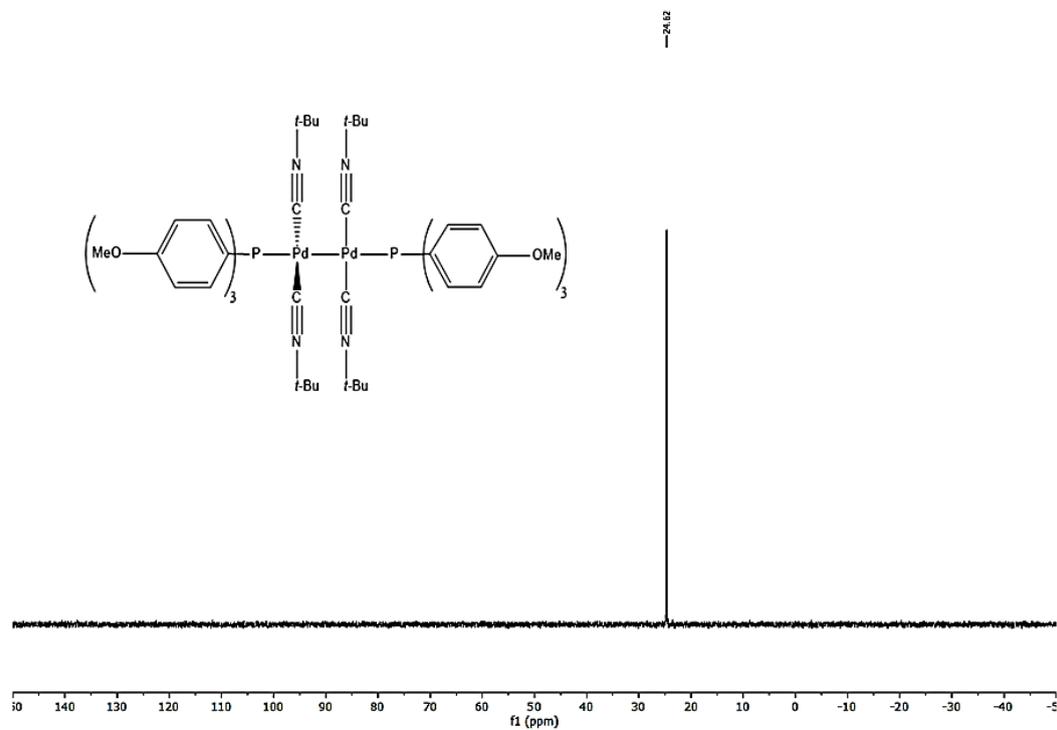


Figura 46. Spettro $^{31}P\{^1H\}$ NMR $[Pd(P(p-OMe-C_6H_5)_3)(Tic)_2](ClO_4)_2$ (**4d-Tic**) a 298 K in $CDCl_3$.



Figura 47. Spettro $^{19}F\{^1H\}$ NMR $[Pd(P(p-F-C_6H_5)_3(Adic)_2]_2(ClO_4)_2$ (**4c-Adic**) a 298 K in $CDCl_3$.

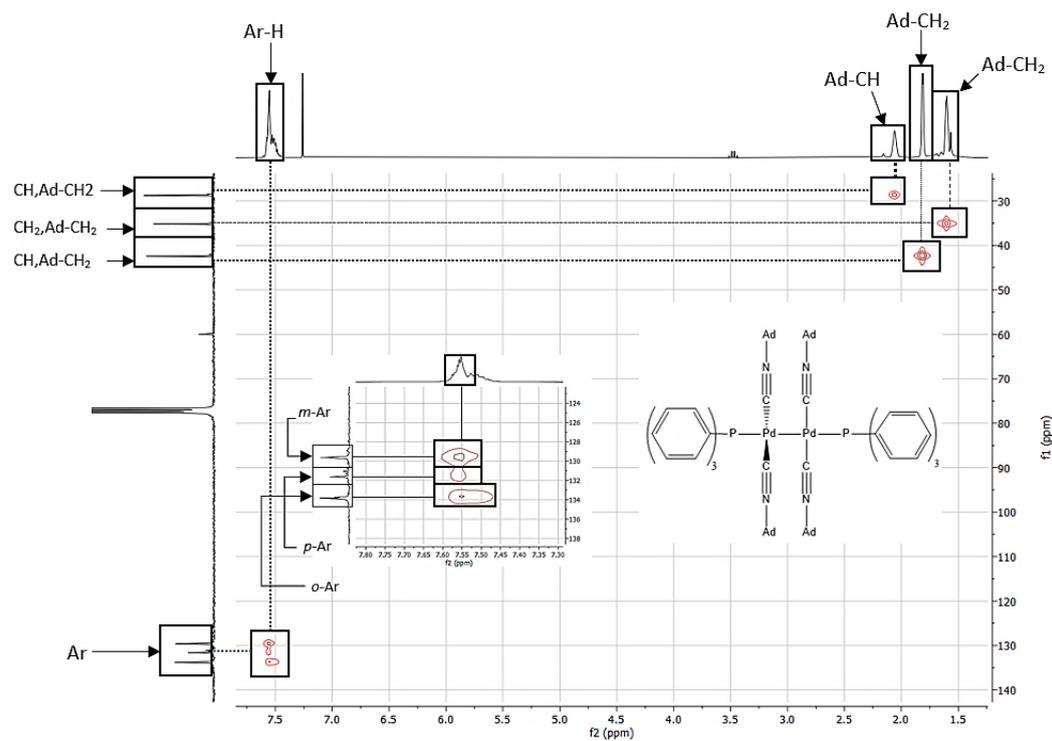


Figura 48. Spettro HMQC di $[Pd(PPh_3)(Adic)_2]_2(ClO_4)_2$ (**4a-Adic**) a 298 K in $CDCl_3$.

Molto utile per valutare la coordinazione di leganti isonitrilici si è rivelata invece la spettroscopia IR. Particolare attenzione è stata posta a riguardo sullo *stretching* del legame CN. In generale esso, per un isonitrile alchilico libero, si aggira attorno ai 2130 cm^{-1} ; è noto invece che, quando l'isonitrile è coordinato a centri metallici elettron-poveri o in medio/alto stato di ossidazione, il valore di questo picco si sposta a valori più elevati, contrariamente a quanto succede nel caso di una coordinazione con centri metallici zerovalenti o elettron-ricchi, dove la retrodonazione metallo-legante può talvolta generare un effetto esattamente contrario. Con centri metallici elettron-deficienti, come nel caso dei complessi in esame, la retrodonazione viene surclassata dall'effetto di donazione del doppietto dell'isonitrile; tale donazione comporta una diminuzione della repulsione tra elettroni di legame, aumentando la forza del triplo legame CN. Il *lone-pair* nell'isonitrile libero è infatti posto su un'orbitale con parziale carattere di antilegame; delocalizzando gli elettroni del legante verso il centro metallico vi è dunque un aumento dell'ordine di legame dovuto al trasferimento sul metallo di elettroni da un orbitale di antilegame CN. L'aumento dell'ordine di legame è direttamente correlato ad un aumento della forza del legame, che si traduce in un aumento della frequenza di *stretching* del legame NC e, di conseguenza, del numero d'onda della banda legata a questo moto di vibrazione. In relazione ai complessi di palladio oggetto di questo lavoro di tesi, l'isonitrile libero ha un picco di *stretching* del gruppo CN situato a numeri d'onda inferiori rispetto sia al precursore che al dimero. Procedendo più in dettaglio ad una comparazione dei valori riportati nelle *Tabella 7* e *Tabella 8*, appare evidente che il segnale dello *stretching* CN del precursore di Pd(II) presenta sempre a valori più elevati che nei complessi dimerici di Pd(I). Questo è sicuramente da imputarsi al diverso stato di ossidazione del palladio nelle due categorie di composti. Nel caso dei derivati di Pd(II), infatti, il centro metallico è più elettron-povero ed è in grado di drenare densità elettronica dal gruppo CN andando, quindi, ad aumentare l'ordine di legame CN. Per i derivati dimerici di Pd(I), che a causa del minor stato di ossidazione lasciano sul centro metallico una maggior densità elettronica, questo effetto è meno marcato ma comunque tale da aumentare la frequenza dello *stretching* CN rispetto all'isonitrile libero.

Tabella 6. Assorbimenti IR di $\nu(\text{NC})$ di riferimento.

	<i>tert</i> -butilisonitrile	cicloesilisonitrile	adamantilisonitrile
$\nu(\text{NC})$ libero (cm^{-1})	2137 ⁶⁶	2140 ⁶⁷	2123 ⁶⁸

Tabella 7 Valori di $\nu(\text{NC})$, $\nu(\text{ClO})$, $\delta(\text{ClO})$ dei dimeri sintetizzati.

Dimero	$\nu(\text{NC}) \text{ cm}^{-1}$	$\nu(\text{ClO}) \text{ cm}^{-1}$	$\delta(\text{ClO}) \text{ cm}^{-1}$
[Pd(PPh ₃)(Tic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2190	1093	623
[Pd(PPh ₃)(Cyc) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2197	1096	623
[Pd(PPh ₃)(Adic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2173	1088	620
[Pd(P(<i>p</i> -F-C ₆ H ₅) ₃)(Tic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2190	1090	620
[Pd(P(<i>p</i> -F-C ₆ H ₅) ₃ (Cyc) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2201	1090	620
[Pd(P(<i>p</i> -F-C ₆ H ₅)(Adic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2184	1085	620
[Pd(P(<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₅)(Tic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2190	1085	620
[Pd(P(<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₅) ₃ (Cyc) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2196	1082	620
[Pd(P(<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₅) ₃ (Adic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2190	1085	620
[Pd(P(<i>p</i> -OMe-C ₆ H ₅) ₃ (Cyc) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2190	1096	620
[Pd(P(<i>p</i> -OMe-C ₆ H ₅) ₃ (Tic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2184	1096	620
[Pd(P(<i>p</i> -OMe-C ₆ H ₅) ₃ (Adic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2184	1093	620
[Pd(P(Ph ₂ -2Py)(Tic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2190	1093	620
[Pd(P(Ph ₂ -2Py)(Adic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2184	1090	620
[Pd(P(Furil) ₃)(Tic) ₂] ₂ (ClO ₄) ₂	2196	1090	620

Tabella 8: valori di $\nu(\text{NC})$, $\nu(\text{ClO})$, $\delta(\text{ClO})$ dei precursori sintetizzati

Precursore	$\nu(\text{NC}) \text{ cm}^{-1}$	$\nu(\text{ClO}) \text{ cm}^{-1}$	$\delta(\text{ClO}) \text{ cm}^{-1}$
[Pd(PPh ₃)(Ind)(Tic)]ClO ₄	2212	1093	620
[Pd(PPh ₃)(Ind)(Cyc)]ClO ₄	2207	1090	615
[Pd(PPh ₃)(Ind)(Adic)]ClO ₄	2201	1088	620
[Pd(P(<i>p</i> -F-C ₆ H ₅) ₃ (Tic)(Ind)]ClO ₄	2201	1093	618
[Pd(P(<i>p</i> -F-C ₆ H ₅) ₃ (Cyc)(Ind)]ClO ₄	2207	1085	620
[Pd(P(<i>p</i> -F-C ₆ H ₅)(Adic)(Ind)]ClO ₄	2218	1090	620
[Pd(P(<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₅)(Tic)(Ind)]ClO ₄	2213	1082	623
[Pd(P(<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₅) ₃ (Cyc)(Ind)]ClO ₄	2212	1082	620
[Pd(P(<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₅) ₃ (Adic)(Ind)]ClO ₄	2207	1082	620
[Pd(P(<i>p</i> -OMe-C ₆ H ₅) ₃ (Cyc)(Ind)]ClO ₄	2212	1093	618
[Pd(P(<i>p</i> -OMe-C ₆ H ₅) ₃ (Tic)(Ind)]ClO ₄	2207	1093	618
[Pd(P(<i>p</i> -OMe-C ₆ H ₅) ₃ (Adic)(Ind)]ClO ₄	2212	1093	618
[Pd(P(Ph ₂ -2Py)(Tic)(Ind)]ClO ₄	2212	1090	620
[Pd(P(Ph ₂ -2Py)(Adic)(Ind)]ClO ₄	2201	1090	620
[Pd(P(Furil) ₃)(Tic)(Ind)]ClO ₄	2207	1090	623

È importante sottolineare, infine, che l'analisi IR permette di verificare la presenza del controione ClO_4^- tramite lo *stretching* e il *bending* che cadono rispettivamente a valori di circa 1080 e 620 cm^{-1} . Ciò consente di confermare indirettamente la natura cationica dei dimeri di Pd(I) (Figura 49).

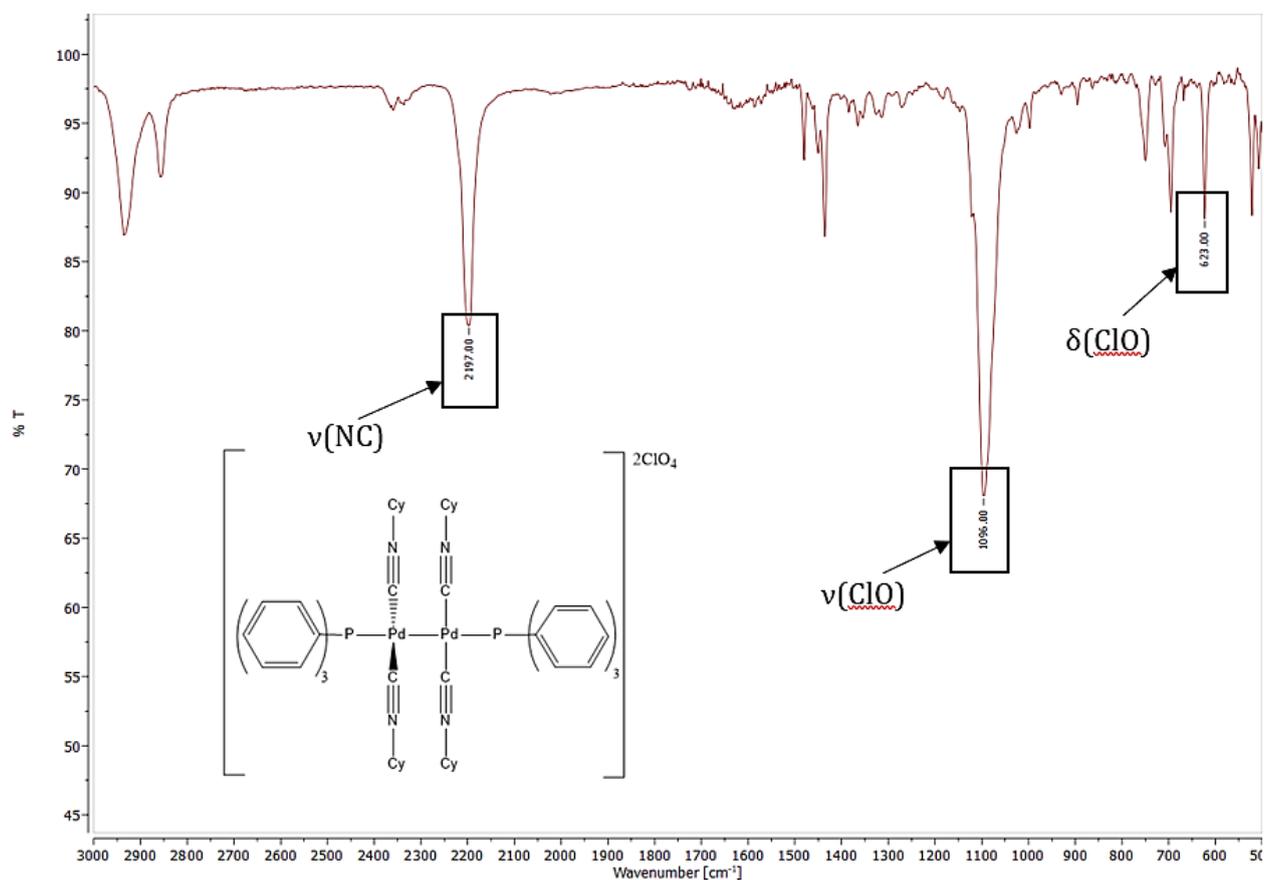


Figura 49. Spettro IR di **4a-Cyic** in KBr.

Al termine di questa sezione è opportuno sottolineare che, nel caso in cui si applichi la procedura sintetica descritta sopra nel dettaglio per la reazione tra il complesso $\text{Pd}(\text{Ind})(\text{Tic})(\text{P}(\text{2-furil})_3)\text{ClO}_4$ e il legante Tic, non si ottiene selettivamente un solo isomero, ma verosimilmente una miscela di tutti e cinque gli isomeri possibili (Figura 42), come si può evincere dallo spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del prodotto finale isolato, registrato a 233K. Anche in questo caso probabilmente vi è prevalenza della specie avente le fosfine in *trans* al legame Pd-Pd (specie (B) nella Figura 42), ma è fuor di dubbio che sono presenti anche quantità significative delle altre specie isomeriche. Evidentemente utilizzando una fosfina

etreoaromatica con anelli a cinque membri si abbassano le differenze di energie in gioco tra i vari isomeri compromettendo la selettività del processo.

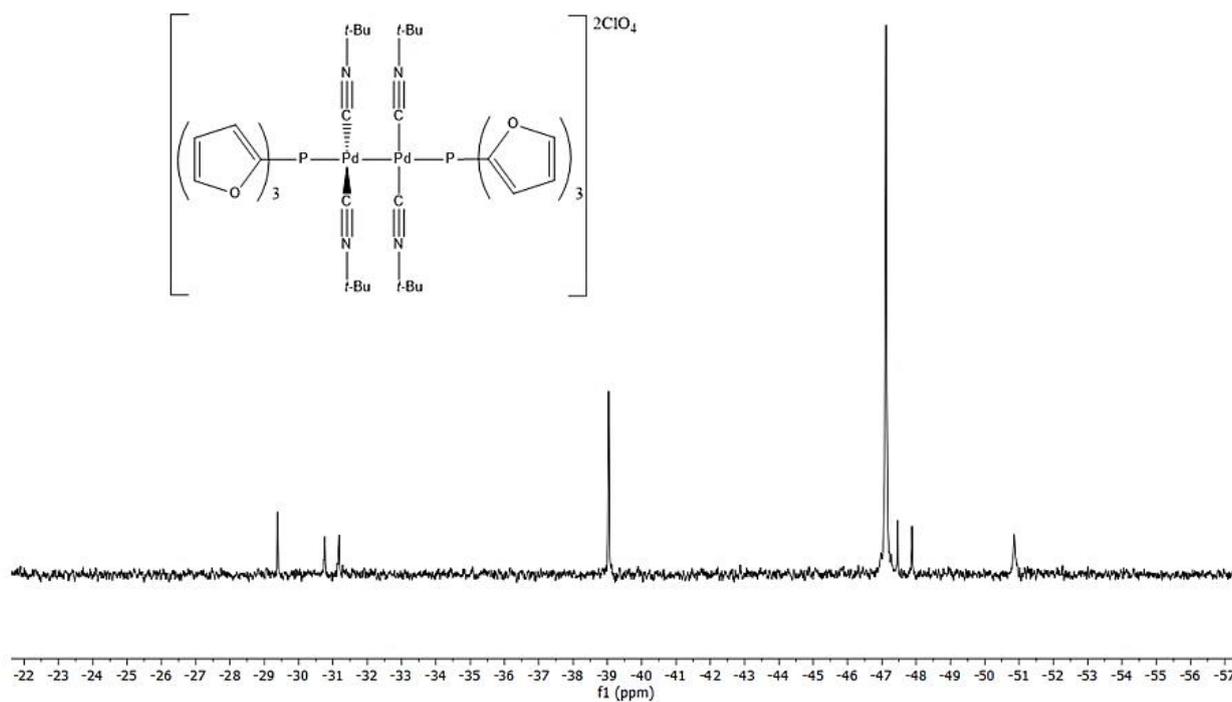


Figura 50. Spettro $^{31}P\{^1H\}$ NMR di $[Pd(P(Furil)_3)(Tic)_2](ClO_4)_2$ (**4f-Tic**) a 233K in $CDCl_3$.

3.1. Valutazione dell'attività antiproliferativa

I test di citotossicità sono stati condotti in collaborazione col gruppo di ricerca del Prof. Rizzolio. Per eseguire tali prove si è accertato preliminarmente che i composti da testare risultassero stabili in DMSO-d₆ (dimetilsolfossido), solvente in cui si preparano le soluzioni madri per i trattamenti. Queste prove sono state eseguite monitorando gli spettri ¹H e ³¹P{¹H} NMR delle soluzioni dei complessi che sono risultati tutti stabili per almeno 12 ore.

I test di citotossicità sono stati eseguiti sulle quattro linee cellulari di cancro ovarico A2780, A2780*cis* (ceppo nel quale è stata indotta una resistenza al cisplatino), KURAMOCHI e OVCAR-5. Per tutte le quattro linee cellulari tumorali è stato usato come terreno di cultura RPMI-1640. Tutti i terreni sono stati integrati con il 10% di FBS (*Fetal Bovine Serum*) e l'1% di P/S (Pen&Strep, miscela di antibiotici costituita da penicillina e streptomina).

Accertato lo stato di salute, mediante osservazione al microscopio, delle cellule mantenute in coltura in piastre Petri, queste vengono staccate e contate. Successivamente viene eseguita una prima fase di piastramento delle cellule nei pozzetti di 96-well plates. Le piastre sono quindi mantenute per 24 ore in incubatore al fine di permettere l'adesione delle cellule al fondo dei pozzetti.

Per ogni complesso da testare è preparata una soluzione madre in DMSO alla concentrazione 10 mM, dalla quale sono poi effettuate diluizioni seriali 1:10 in terreno di coltura al fine di raggiungere le concentrazioni prescelte per il trattamento. Le soluzioni diluite sono poi addizionate nei pozzetti contenenti le cellule. Dopo 96 ore dal trattamento, la vitalità cellulare è valutata mediante l'utilizzo di CellTiter-Glo®; tale prodotto induce lisi cellulare e contestualmente genera un composto luminescente in quantità proporzionale all'ATP presente secondo la reazione riportata in (Figura 51).⁶⁹

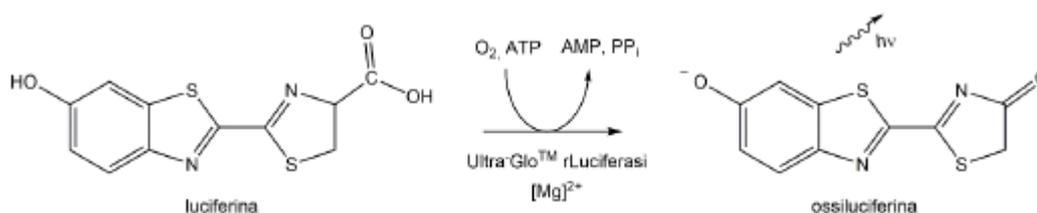


Figura 51. Rappresentazione della trasformazione del substrato luciferina che, in presenza di ATP e dell'enzima luciferasi, forma l'ossiluciferina. La reazione comporta la liberazione di un protone che viene rilevato dall'analisi di fotoluminescenza.

Il valore di luminescenza viene plottato in funzione del logaritmo della concentrazione del complesso, ottenendo così una curva dose-risposta (un esempio viene riportato in *Figura 52*) dalla quale è possibile estrapolare tramite regressione non-lineare il valore di IC₅₀, dove con IC₅₀ viene indicata la concentrazione inibente, ovvero la concentrazione in grado di inibire il 50% della popolazione totale.

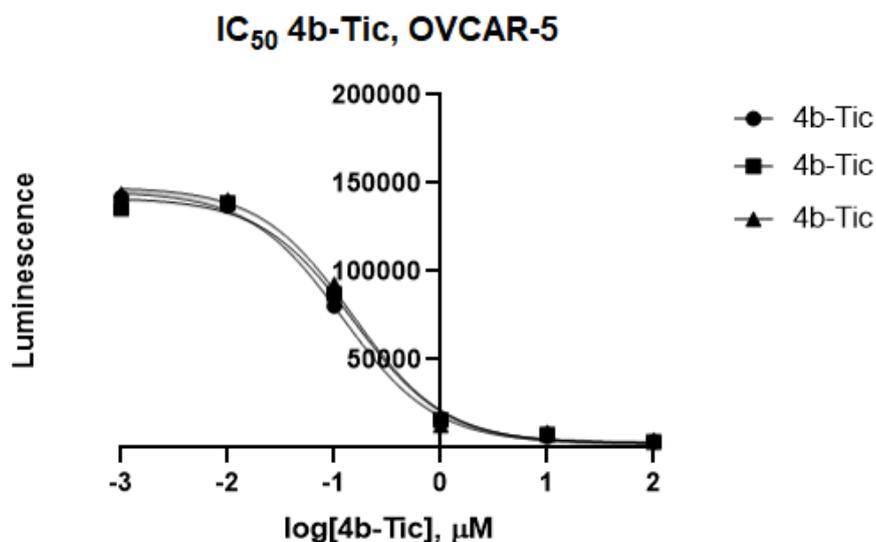


Figura 52. Grafico luminescenza vs concentrazione del complesso **4b-Tic** sulla linea cellulare OVCAR-5.

Vengono riportati in *Tabella 9*, i valori di IC₅₀ ottenuti sulle varie linee cellulari e i valori del cisplatino, considerato il riferimento per i *metal-drugs*, per il confronto.

Tabella 9. Valori di IC₅₀ (μM) per i complessi testati sulle varie linee cellulari.

Linee cellulari	A2780	A2780cis	KURAMOCHI	OVCAR-5
Cisplatino	0.6 ± 0.1	2 ± 1	0.43 ± 0.06	1.40 ± 0.42
4a-Tic	1.4 ± 0.8	0.57 ± 0.05	0.97 ± 0.09	0.04 ± 0.02
4a-Cyic	0.019 ± 0.002	0.06 ± 0.03	1.3 ± 0.3	0.03 ± 0.02
4a-Adic	/	/	/	/
4b-Tic	0.3 ± 0.1	0.31 ± 0.07	0.65 ± 0.06	0.14 ± 0.02
4b-Cyic	0.09 ± 0.05	0.13 ± 0.07	9 ± 1	0.14 ± 0.02
4b-Adic	/	/	/	/
4c-Tic	0.6 ± 0.2	0.19 ± 0.08	2.1 ± 0.2	0.03 ± 0.01
4c-Cyic	/	0.19 ± 0.08	1.1 ± 0.3	0.15 ± 0.02
4c-Adic	/	/	/	/
4d-Tic	1.7 ± 0.1	1.6 ± 0.2	0.69 ± 0.09	0.11 ± 0.06
4d-Cyic	/	5.3 ± 1.3	0.3 ± 0.2	4.77 ± 0.80
4d-Adic	/	/	/	/
4e-Tic	0.29 ± 0.06	0.45 ± 0.03	2.47 ± 0.07	0.17 ± 0.08
4e-Adic	/	/	/	/

Analizzando i dati riportati in *Tabella 9*, si possono fare le seguenti considerazioni:

- 1) L'attività antiproliferativa dei complessi nei confronti della linea A2780 è in generale comparabile o addirittura superiorerispetto al cisplatino.
- 2) I valori di IC₅₀ sulla linea A2780_{cis} sono paragonabili a quelli ottenuti nella linea cellulare A2780; il comportamento è dunque prossimo a quello del cisplatino cisplatino, fatta eccezione per il complesso **4d-Cyic** che presenta una citossicità minore. Questo fatto è molto importante perché probabilmente sottintende un meccanismo di azione differente rispetto a quello dei classici derivati a base di platino, già entrati nella pratica clinica.
- 3) L'andamento sulla linea cellulare KURAMOCHI è in generale paragonabile a quello delle linee già menzionate. Fanno eccezione i complessi **4a-Cyic, 4-b-Cyic, 4c-Tic, 4c-Cyic e 4e-Tic**, che mostrano una citotossicità sensibilmente più bassa.
- 4) Lo stesso andamento si trova riproposto sulla linea OVCAR-5, dove però si osserva un generale aumento della citotossicità rispetto alla linea KURAMOCHI, con la sola eccezione del complesso **4d-Cyic**. Va sottolineato che l'attività antiproliferativa dei composti è per questa linea sempre di un ordine di grandezza, se non più, maggiore di quella del cisplatino. Questo risultato è particolarmente interessante, perché questa linea cellulare (al pari della KURAMOCHI) appartiene a ceppi di *High Grade Serous Ovarian Cancer*, ovvero delle forme più aggressive di questo tipo di tumori.
- 5) I valori di IC₅₀ relativi ai complessi coordinanti l'isonitrile Adic non sono riportati nella tabella perché questi derivati presentano un livello di citotossicità molto maggiore di quello dei complessi con gli altri due isonitrili; si è osservata infatti, in questi casi, la morte di tutte le cellule piastrate anche alle concentrazioni inferiori di trattamento esperite. Questo, pur in attesa di misure condotte abbassando ulteriormente la concentrazione dei composti usati per il trattamento, ci permette di affermare che l'introduzione dell'**Adic** nella sfera di coordinazione di questi complessi di Pd(I) sia in grado di amplificarne notevolmente la citotossicità.
- 6) Dove è possibile il confronto, non sembra invece che il tipo di fosfina arilica impiegata (quindi il sostituito in posizione *para* rispetto all'atomo di fosforo), sia in grado di conferire attività diverse ai rispettivi composti.

4. Conclusioni

Questo lavoro di tesi è basato sulla sintesi e l'applicazione come agenti antitumorali di una nuova classe di complessi dimerici di palladio(I) coordinanti ciascuno due fosfine e quattro isonitrili. Per prepararli sono stati impiegati gli isonitrili alchilici ingombrati *tert*-butil isonitrile, cicloesilisonitrile e adamantilisonitrile, e le fosfine aromatiche trifenilfosfina, tris(4-fluorofenil)fosfina, tris(4-metossifenil)fosfina, tris(4-clorofenil)fosfina, difenil-2-piridilfosfina e tris(2-furil)fosfina. I complessi sono bis-cationici, con la doppia carica positiva dei complessi che è bilanciata da due ioni perclorato. Questi prodotti sono stati ottenuti mediante una procedura sintetica innovativa, articolata in 3 step successivi che hanno previsto la preparazione del precursore iniziale $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$, la sintesi degli intermedi indenilici di palladio (II) di formula $[\text{Pd}(\text{Ind})(\text{PR}_3)(\text{CNR}')]$ (tra cui tre inediti precursori contenenti le fosfine eteroaromatiche difenil-2-piridilfosfina e tris(2-furil)fosfina) e infine, ed è questa la parte più originale, la loro evoluzione finale a dimeri di Pd(I), ottenuta sfruttando la contestuale formazione del bis-indene.

Tutti i nuovi complessi sono stati esaustivamente caratterizzati mediante spettroscopia NMR monodimensionale ^1H , ^{13}C , ^{31}P (e ^{19}F dove necessario), e bidimensionale omo- ed etero-correlata, nonché spettroscopia FT-IR.

Nel caso de complessi **4a-Tic**, **4b-Tic**, **4b-Adic**, **4c-Tic** e **4c-Adic** sono state inoltre ottenute le risoluzioni strutturali mediante diffrazione ai raggi X.

Tutti i complessi presentano la medesima struttura tridimensionale, dove ogni centro di palladio presenta una conformazione quadrato planare con il piano di coordinazione perpendicolare rispetto a quello dell'altro atomo metallico. Notevole il fatto che, usando fosfine aromatiche e isonitrili ingombrati, di tutti gli isomeri possibili si ottiene sempre esclusivamente quelli aventi il legame tra il palladio e legante fosfinico in posizione *trans* rispetto al legame Pd-Pd.

La specificità della reazione non viene mantenuta nel caso dell'utilizzo della fosfina tris(2-furil)fosfina, per la quale è stata ottenuta invece una miscela di differenti isomeri.

Una volta dimostrata la stabilità dei complessi in DMSO- d_6 , l'attività antiproliferativa è stata valutata su cinque diverse linee cellulari: A2780, A2780*cis*, KURAMOCHI, OVCAR-5 (linee tumorali). Il dato generale è che tutti i complessi coordinanti il cicloesilisonitrile e *tert*-butil isonitrile mostrano un'attività assolutamente paragonabile e anzi sovente leggermente maggiore di quella del cisplatino, preso come riferimento positivo. Da sottolineare anche che l'efficacia dei composti non cambia significativamente quando vengono trattate le linee A2780

(cispaltino sensibile) e A2780cis (cisplatino resistente), facendo supporre che essi agiscano con un meccanismo d'azione differente da quello dei classici antitumorali a base di platino.

I complessi coordinanti l'adamantilisonitrile mostrano poi un livello di attività antitumorale molto maggiore di quella dei complessi equipaggiati con gli altri due isonitrili, tanto da provocare la morte di tutte le cellule tumorali trattate anche alle più basse concentrazioni con cui vengono utilizzati.

Non sembra invece esserci un effetto significativo da imputarsi alle diverse fosfine aromatiche utilizzate.

In definitiva i nuovi derivati di Pd(I) preparati mostrano delle interessantissime proprietà antitumorali su forme neoplastiche ovariche; in particolare appaiono efficaci perché in grado di agire anche su forme cancerose particolarmente aggressive (come sono quelle *high-grade serous* della linea cellulare KURAMOCHI), con meccanismi d'azioni presumibilmente diversi da quelli dei farmaci antitumorali a base di platino di comune uso clinico. In questo senso si potrebbero prestare per il trattamento delle forme tumorali recidivanti con resistenza indotta al cisplatino, che rappresenta la prima linea di trattamento per questo genere di patologie.

Ulteriori studi sono da pianificare in futuro per comprendere quali possano essere i bersagli cellulari e molecolari di questi composti, e per meglio definire le potenzialità dei derivati ad elevatissima citotossicità contenenti l'adamantilisonitrile.

5. Parte sperimentale

5.1. Procedura sintetica

5.1.1. Reagenti e solventi impiegati

I solventi impiegati sono diclorometano (CH_2Cl_2) anidro, acetonitrile (CH_3CN) anidro e metanolo (CH_3OH); l'anidificazione dei due solventi è stata eseguita mediante setacci molecolari rispettivamente 3 Å e 4 Å (10% m/V per 24 h). Precursori e prodotti di interesse sono stati precipitati con etere dietilico (Et_2O) anidificato su setacci molecolari 4 Å e lavati con *n*-pentano. Sono stati utilizzati due diversi solventi per le caratterizzazioni NMR; rispettivamente cloroformio deuterato (CDCl_3) anidro per i precursori e diclorometano deuterato (CD_2Cl_2) anidro per i dimeri. Per i test di reattività, volti a determinare le condizioni di sintesi ottimali dei derivati dimerici di Pd(I), è stato anche utilizzato anche CD_3CN . Le prove di stabilità sono state eseguite impiegando DMSO- d_6 così come fornito dal produttore.

I reagenti utilizzati (fosfine, isonitrili, $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, PdCl_2 , NaCl , Na_2CO_3 , indene) sono stati impiegati così come forniti dal produttore e conservati secondo le specifiche date.

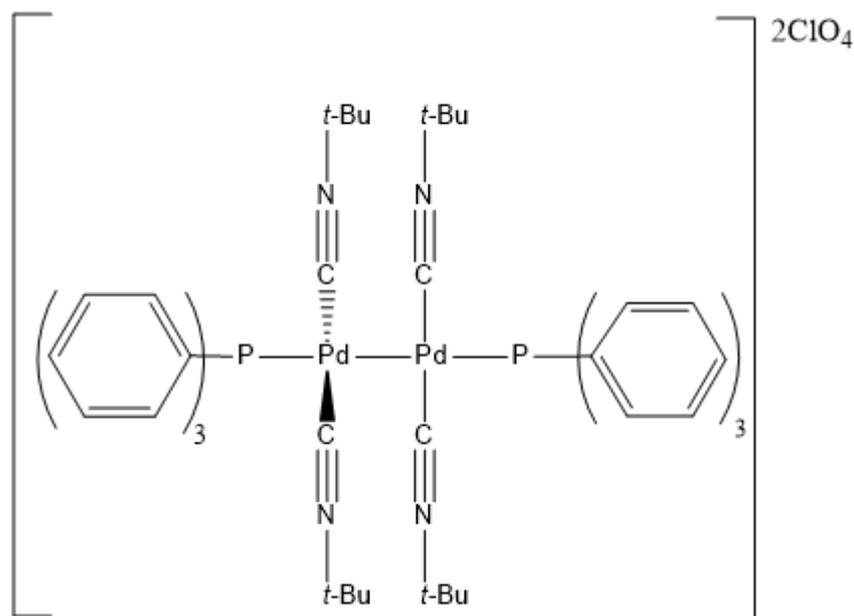
5.1.2. Strumentazione

Tutti gli spettri IR sono stati registrati tramite spettrofotometro FT-IR Spectrum One Perkin Elmer, previa macinazione e dispersione del prodotto in KBr. Gli spettri ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR e gli spettri bidimensionali COSY, HMQC e HMBC, sono stati registrati tramite gli spettrometri NMR Bruker® Avance 400 e NMR Bruker® Avance 300.

5.1.3. Sintesi di sintesi di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$

In un pallone ad un collo da 250 mL vengono aggiunti 0.6670 g (11.40 mmol) di NaCl e 1.0129 g (5.705 mmol) di PdCl_2 in 70 mL di CH_3OH . La miscela viene riscaldata a 50 °C e mantenuta in agitazione per 30 minuti. Si nota la progressiva formazione di una soluzione di color rosso scuro. In seguito, vengono aggiunti 0.7259 g (6.278 mmol) di indene e 0.9068 g (8.555 mmol) di Na_2CO_3 ; la miscela viene mantenuta a questo punto in agitazione per circa 3 ore, al termine delle quali si può osservare la precipitazione di un solido bruno. In conclusione, il prodotto viene filtrato su gooch e lavato con acqua ed etere dietilico e posto ad essiccare a pressione ridotta. Sono stati ottenuti 1.3419 g (2.6104 mmol) con una resa del 91%.

5.1.4. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)(\text{Tic})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4a-Tic)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0670 g (0.1303 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0649 g (0.2476 mmol) di PPh_3 . La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0549 g (0.3910 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0226 g (0.2742 mmol) di *t*-Buisonitrile sciolti in 3 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi (CH_2Cl_2 :MeOH) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del cloruro sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Tic})\text{PPh}_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1612 g (0.2418 mmol) di complesso, con una resa del 93%.

^1H NMR (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.13 (s, 9H, *t*-Bu-CH₃), 5.32 (*pseudo-t*, J = 2.5 Hz, 1H, H³), 6.28 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁴), 6.68 (t, J = 3.2 Hz, 1H, H²), 7.02 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H⁵), 7.09

(m, 1H, H¹), da 7.15-7.35 (m, 7H, H⁶, Ar-H), 7.36-7.62 (m, 10H, H⁷, Ar-H)

Vengono pesati 0.0787 g (0.1185 mmol) di precursore [Pd(Tic)PPh₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0197 g (0.2369 mmol) di *t*-Bu-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0655 g (0.0520 mmol) di composto (**4a-Tic**), con una resa del 87%.

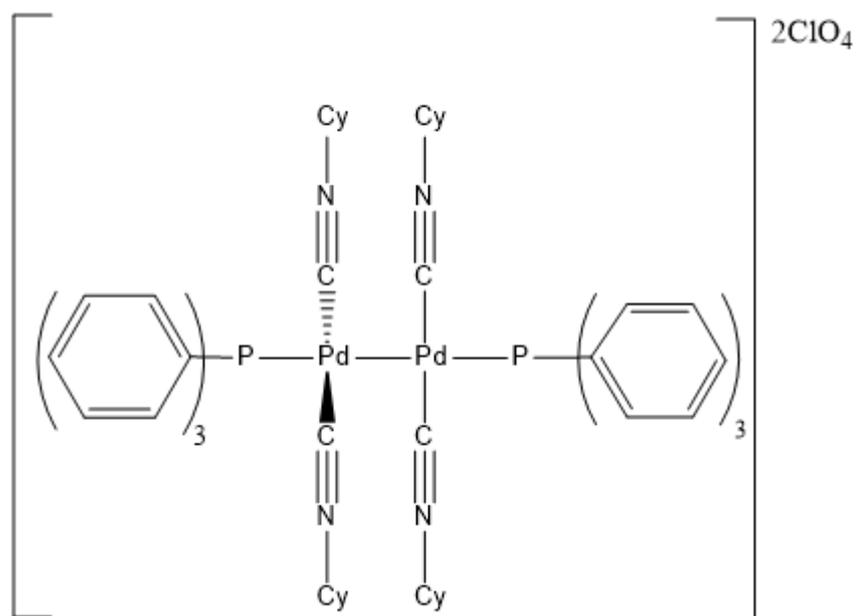
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.30 (s, 36H, *t*-Bu-CH₃), 7.39-7.65 (m, 30H, Ar-H)

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ: 11.7

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ: 29.8 (CH₃, *t*-Bu-CH₃), 60.3 (C, *t*-Bu-C), 129.7 (CH, *t*, J_{C-P} = 4.9 Hz, *m*-Ar-CH), 129.1 (C, isocyanide-CN), 131.1 (C, *t*, J_{C-P} = 20.2 Hz, *ipso*-Ar-C), 131.7 (CH, *p*-Ar-CH), 133.7 (CH, *t*, J_{C-P} = 6.5 Hz, *o*-Ar-CH).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2190 ν(NC); 1093, ν(ClO), 623 δ(ClO)

5.1.5. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)(\text{Cyc})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4a-Cyc)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0689 g (0.1434 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.06687 g (0.2549 mmol) di PPh_3 . La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.05654 g (0.4026 mmol) di $\text{NaClO}_4\text{-H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.02990 g (0.2774 mmol) di cicloesil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl come sottoprodotto. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del sottoprodotto.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Cyc})\text{PPh}_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1731 g (0.2500 mmol) di complesso, con una resa del 93%.

¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.02-1.32 (bm, 8H, Cy-CH₂), 1.61 (bs, 2H, Cy-CH₂), 3.82-3.95 (bm, 1H, Cy-CH), 5.31 (*pseudo-t*, J = 2.9 Hz, 1H, H³), 6.30 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H⁴), 6.62 (td, J = 3.2, 0.8 Hz, 1H, H²), 7.03 (t, J = 7.5, Hz, 1H, H⁵), 7.07-7.14 (m, 1H, H¹), 7.18-7.31 (m, 7H, H₆, *o*-Ar-H), 7.41-7.59 (m, 10H, H₇, *m*, *p*-Ar-H).

Vengono pesati 0.0750 mg (0.1080 mmol) di precursore [Pd(Cyc)PPh₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.02358 mg (0.2160 mmol) di cicloesil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0644 g (0.0469 mmol) di composto (**4a-Cyc**), con una resa del 87%.

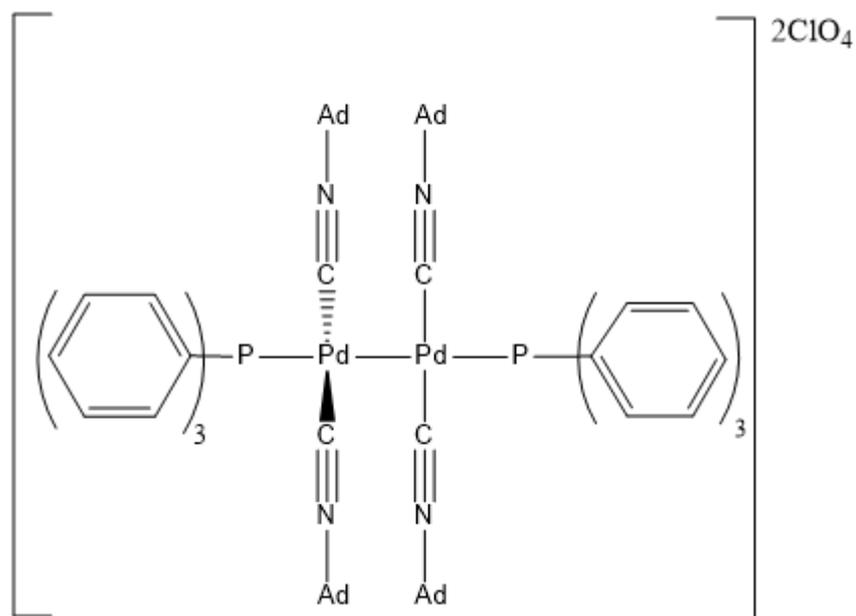
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T=298K, ppm) δ: 1.29-1.47 (m, 32H, Cy-CH₂), 1.56-1.72 (m, 8H, Cy-CH₂), 4.22 (m, 4H, Cy-CH), 7.42-7.60 (m, 30H, Ar-H).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ: 11.6

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ: 22.5-31.5 (CH₂, Cy-CH₂), 55.8 (CH, Cy-CH), 129.2 (C, isocyanide-CN), 129.5 (CH, t, J_{C-P} = 5.2 Hz, CH, *m*-Ar-CH), 131.0 (C, t, J_{C-P} = 19.7 Hz, *ipso*-Ar-C), 131.5 (C, *para*-Ar-C), 133.7 (CH, t, J_{C-P} = 7.0 Hz, *o*-Ar-CH).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2197 ν(NC), 1096 ν(ClO), 623 δ(ClO)

5.1.6. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)(\text{Adic})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4a-Adic)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0700 g (0.1361 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})_2]$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0649 g (0.2476 mmol) di PPh_3 . La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0574 g (0.4114 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0439 g (0.2723 mmol) di adamantil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per favorire la precipitazione del sale sodico

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Adic})\text{PPh}_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1826 g (0.2450 mmol) di complesso, con una resa del 90%.

^1H NMR (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.42-1.55 (m, 6H, Ad- CH_2), 1.62 (d, J = 2.9 Hz, 6H, Ad- CH_2), 1.97 (bs, 3H, Ad-CH), 5.32 (*pseudo-t*, J = 2.2 Hz, 1H, H³), 6.29 (d, J = 7.6, 1H, H⁴),

6.69 (td, $J = 3.2, 0.8$ Hz, 1H, H²), 6.95-7.11 (m, 2H, H⁵, H¹), 7.22 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H⁶), 7.23-7.35 (m, 6H, *o*-Ar-H), 7.40 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H⁷), 7.45-7.61 (m, 9H, *m*-Ar-H).

Vengono pesati 0.0754 g (0.1013 mmol) di precursore [Pd(Adic)PPh₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0355 g (0.2203 mmol) di adamantil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.07640 g (0.0483 mmol) di composto (**4a-Adic**), con una resa del 88%.

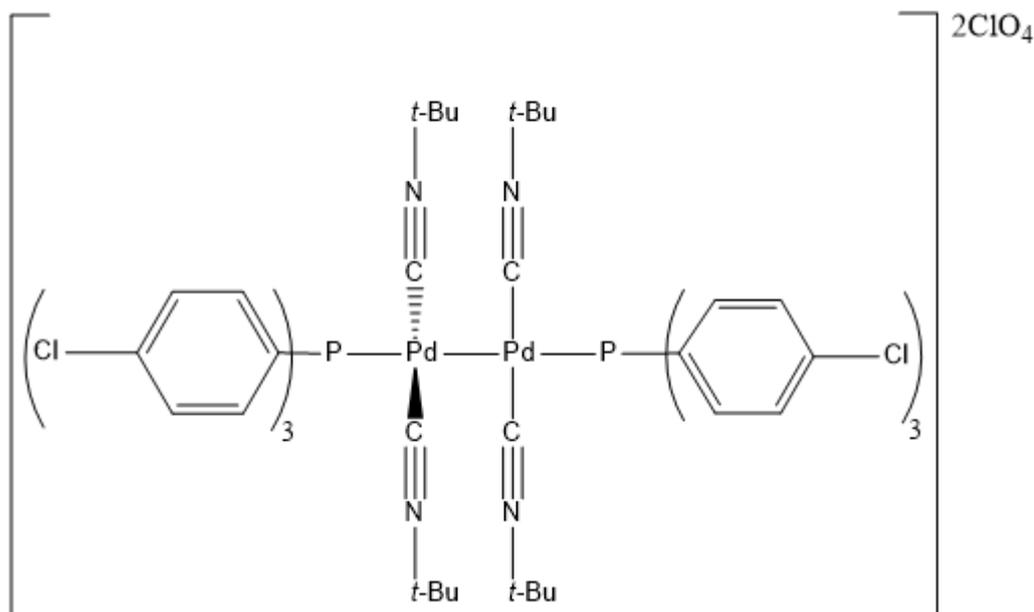
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T=298K, ppm) δ : 1.49-1.74 (m, 24H, Ad-CH₂), 1.81 (d, $J = 3.0$ Hz, 24H, Ad-CH₂), 2.02-2.10 (m, 12H, Ad-CH), 7.43-7.63 (m, 30H, Ar-H).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ : 12.1

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ : 28.8 (CH, Ad-CH₂), 35.2 (CH₂, Ad-CH₂), 42.4 (CH₂, Ad-CH₂), 60.0 (C, Ad-C), 128.2 (C, isocyanide-CN) 129.6 (CH, t, $J_{C-P} = 5.2$ Hz, CH, *m*-Ar-CH), 131.1 (C, t, $J_{C-P} = 19.7$ Hz, *ipso*-Ar-C), 131.6 (CH, *p*-Ar-CH), 133.8 (CH, t, $J_{C-P} = 6.9$ Hz, CH, *o*-Ar-CH).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2173, ν (NC); 1088, ν (ClO), 620 δ (ClO)

5.1.7. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4b-Tic**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0671 g (0.1305 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0907 g (0.2480 mmol) di $\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0550 g (0.3915 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0217 g (0.2610 mmol) di *t*-Buisonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl come sottoprodotto. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato definito empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del del sale sodico

La miscela di reazione viene quindi trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Tic})\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1850 g (0.2403 mmol) di complesso, con una resa del 92%.

¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T=298K, ppm) δ: 1.20 (s, 9H, tBu-CH₃), 5.39 (pseudo-t, J = 2.9, Hz, 1H, H³), 6.40 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁴), 6.84 (pseudo-td, J = 3.0, 0.8 Hz, 1H, H²), 7.05 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H⁵), 7.08-7.15 (m, 1H, H¹), 7.12 (m, 1H, H⁶), 7.16-7.30 (m, 7H, H⁶, o-Ar-H), 7.38 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁷), 7.45-7.54 (m, 6H, m-Ar-H).

Vengono pesati 0.0824 mg (0.1071 mmol) di precursore [Pd(Tic)P(*p*-Cl-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0177 mg (0.2130 mmol) di *t*-Bu-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0712 g (0.0483 mmol) di composto (**4b-Tic**), con una resa del 90%.

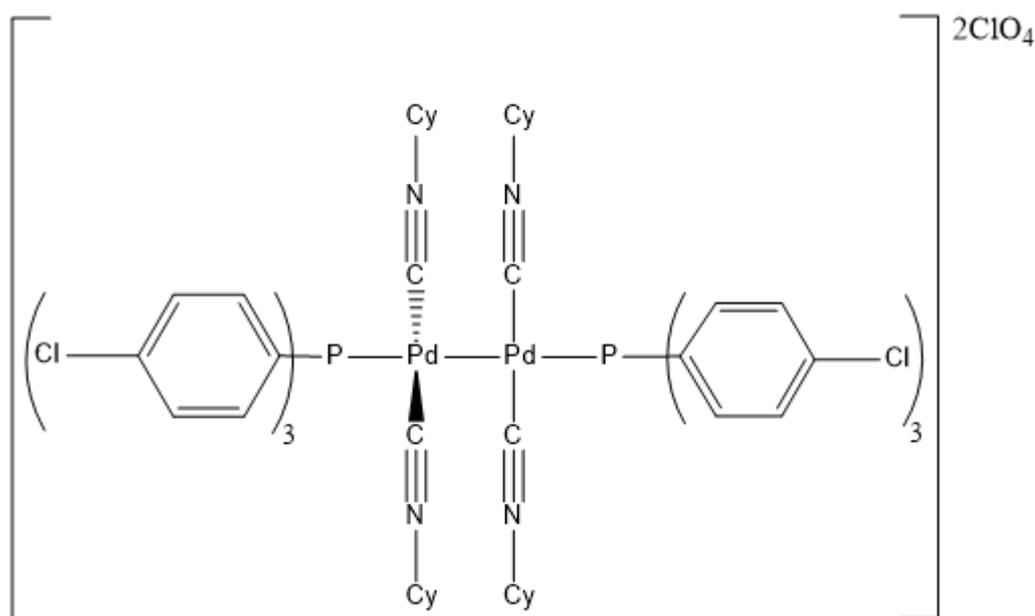
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.29 (s, 36H, *t*-Bu-CH₃), 7.47-7.69 (m, 24H, Ar-H).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 8.5

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 29.7 (CH₃, *t*-Bu-CH₃), 60.0 (C, *t*-Bu-C), 129.0 (C, t, J_{C-P}=19.8 Hz, *ipso*-Ar-C), 130.0 (CH, t, J_{C-P}= 5.5 Hz, *m*-Ar-CH), 135.1 (CH, t, J_{C-P}=7.6 Hz, *o*-Ar-CH) 138.5 (C, *p*-Ar-C).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2190, ν(NC); 1085, ν(ClO), 620 δ(ClO)

5.1.8. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Cyc})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4b-Cyic**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0643 g (0.1250 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0869 g (0.2375 mmol) di $\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0527 g (0.3751 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0273 g (0.2500 mmol) di cicloesilisonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali si osserva la precipitazione di NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del sale sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Cyc})\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1875 g (0.2356 mmol) di complesso, con una resa del 94%.

$^1\text{H NMR}$ (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.04-1.36 (bm, 8H, Cy- CH_2), 1.64 (bs, 2H, Cy- CH_2), 3.87-3.98 (bm, 1H, Cy- CH), 5.39 (*pseudo-t*, J = 2.9 Hz, 1H, H^3), 6.41 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H^4),

6.74 (td, $J = 3.2, 0.7$ Hz, 1H, H²), 7.05 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, H⁵), 7.13-7.25 (m, 8H, H¹, H⁶, *o*-Ar-H), 7.42 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H⁷), 7.45-7.51 (m, 6H, *m*-Ar-H).

Vengono pesati 0.0758 mg (0.0952 mmol) di precursore [Pd(Cyic)P(*p*-Cl-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0307 mg (0.1903 mmol) di cicloesil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0605 g (0.0383 mmol) di composto (**4b-Cyic**), con una resa del 80%.

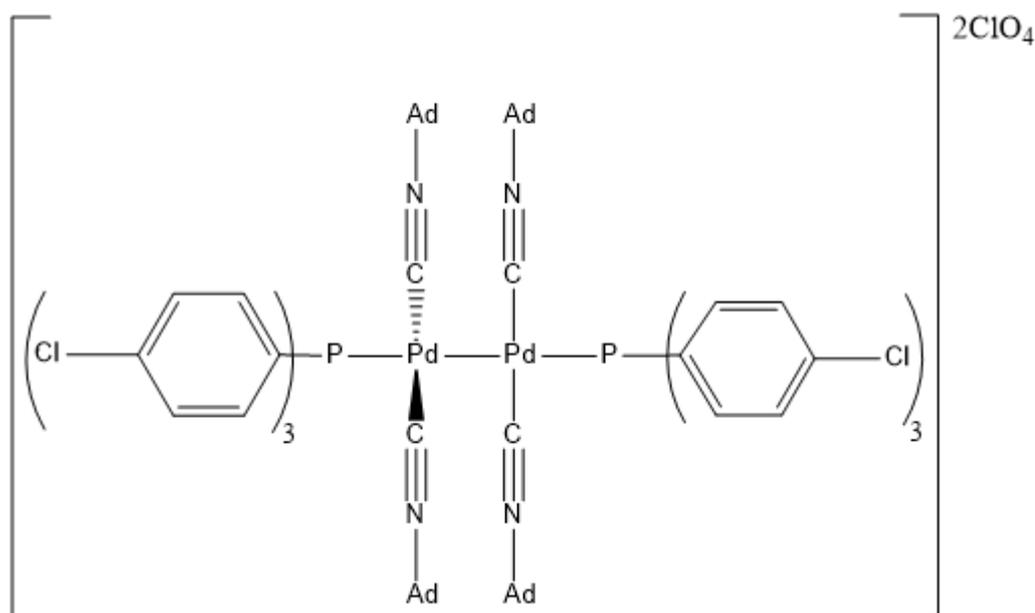
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T=298K, ppm) δ: 1.12-1.53 (m, 32H, Cy-CH₂), 1.64-1.70 (m, 8H, Cy-CH₂), 4.25 (bs, 4H, Cy-CH), 7.40-7.63 (m, 24H, Ar-H).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ: 8.9

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T=298 K, ppm) δ: 22.7 (CH₂, Cy-CH₂), 24.9 (CH₂, Cy-CH₂), 31.5 (CH₂, Cy-CH₂), 55.8 (CH, Cy-CH), 128.9 (CH, t, $J_{C-P} = 20.0$ Hz, *ipso*-Ar-C), 130.0 (C, t, $J_{C-P} = 5.5$ Hz, CH, *m*-Ar-CH), 135.0 (CH, t, $J_{C-P} = 7.7$ Hz, *o*-Ar-CH), 138.5 (C, *p*-Ar-C).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2196, ν (NC); 1082, ν (ClO), 620 δ (ClO)

5.1.9. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Adic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4b-Adic**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0709 g (0.1379 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0960 g (0.2621 mmol) di $\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0580 g (0.4938 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0445 g (0.2758 mmol) di adamantil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per ottimizzare la precipitazione del cloruro di sodio. La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite fino alla completa estrazione del prodotto. In questo modo viene ottenuta una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Adic})\text{P}(p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.2076 g (0.2448 mmol) di complesso, con una resa del 89%.

^1H NMR (300.0 MHz, CDCl_3 , T=298K, ppm) δ : 1.55 (q, $J = 12.5$ Hz, 6H, Ad- CH_2), 1.67 (d, $J = 2.9$ Hz, 6H, Ad- CH_2), 2.01 (s, 3H, Ad-CH), 5.43 (bt, 2.2 Hz, 1H, H^3), 6.41 (d, $J = 7.6$, 1H, H^4), 6.85

(td, $J = 3.3, 0.8$ Hz, 1H, H²), 6.98-7.14 (m, 2H, H⁵, H¹), 7.16-7.28 (m, 7H, H⁶, *o*-Ar-H), 7.36 (bd, $J = 7.6$, 1H, H⁷), 7.45-7.52 (m, 6H, *m*-Ar-H).

Vengono pesati 0.0821 mg (0.0968 mmol) di precursore [Pd(Adic)P(*p*-Cl-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0312 mg (0.1903 mmol) di adamantil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0722 g (0.0404 mmol) di composto (**4b-Adic**), con una resa del 84%.

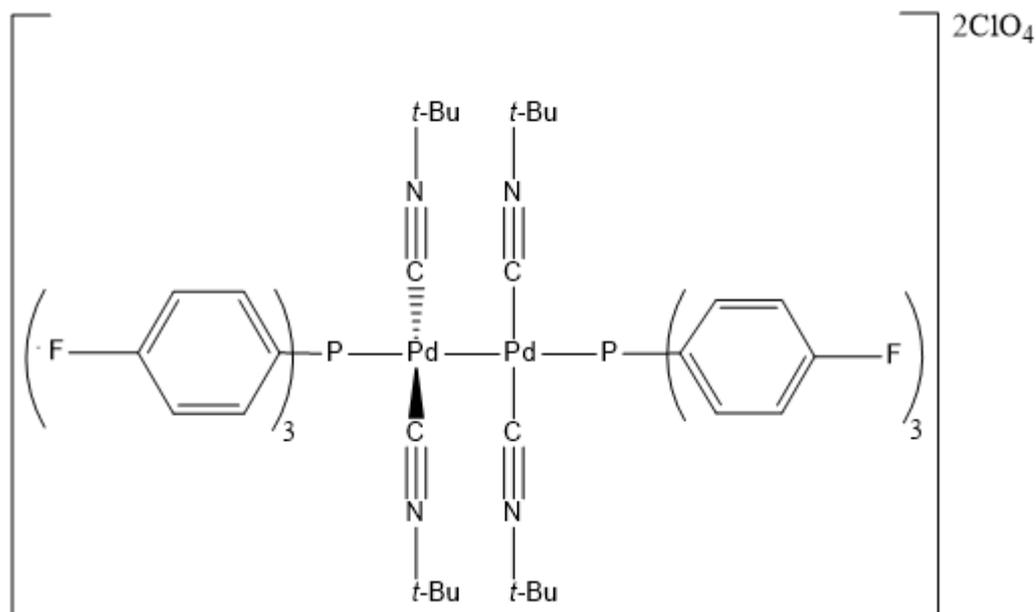
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ : 1.54-1.68 (m, 24H, Ad-CH₂), 1.81 (d, $J = 3.0$ Hz, 24H, Ad-CH₂), 2.03-2.10 (m, 12H, Ad-CH), 7.45-7.61 (m, 24H, Ar-H)

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ : 8.9

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ : 28.8 (CH, Ad-CH), 35.2 (CH₂, Ad-CH₂), 42.2 (CH₂, Ad-CH₂), 59.8 (C, Ad-C), 128.5 (C, isocyanide-CN), 129.0 (C, t, $J_{C-P} = 19.9$ Hz, *ipso*-Ar-C), 130.1 (CH, t, $J_{C-P} = 5.5$ Hz, *m*-Ar-CH), 135.2 (CH, t, $J_{C-P} = 7.6$ Hz, *o*-Ar-CH), 138.4 (C, *p*-Ar-C).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2190, ν (NC); 1085, ν (ClO), 620 δ (ClO)

5.1.10. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4c-Tic**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0646 g (0.1361 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0755 g (0.2388 mmol) di $\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0530 g (0.3771 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0209 g (0.2514 mmol) di *t*-butilisonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del sale sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Tic})\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1309 g (0.1817 mmol) di complesso, con una resa del 72%.

$^1\text{H NMR}$ (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.03-1.38 (bm, 8H, Cy- CH_2), 1.64 (bs, 2H, Cy- CH_2), 3.84-4.02 (bm, 1H, Cy-CH), 5.37 (pseudo-t, J = 2.9 Hz, 1H, H^3), 6.39 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H^4),

6.74 (td, $J = 3.2, 0.8$ Hz, 1H, H²), 7.04 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H, H⁵), 7.06-7.18 (m, 1H, H¹), 7.13-7.36 (m, 13H, H⁶, Ar-H), 7.42(d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H⁷).

Vengono pesati 0.0789 mg (0.1095 mmol) di precursore [Pd(Tic)P(*p*-F-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0182 mg (0.2189 mmol) di *t*-butil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0655 g (0.0476 mmol) di composto (4c-Tic), con una resa del 87%.

¹H NMR (300.0 MHz, CD₂Cl₂, T = 298K, ppm) δ: 1.32 (s, 36H, *t*-Bu-CH₃), 7.17-7.31 (m, 12H, *m*-Ar-H), 7.52 (d, $J = 6.6$ Hz, CH, *o*-Ar-CH).

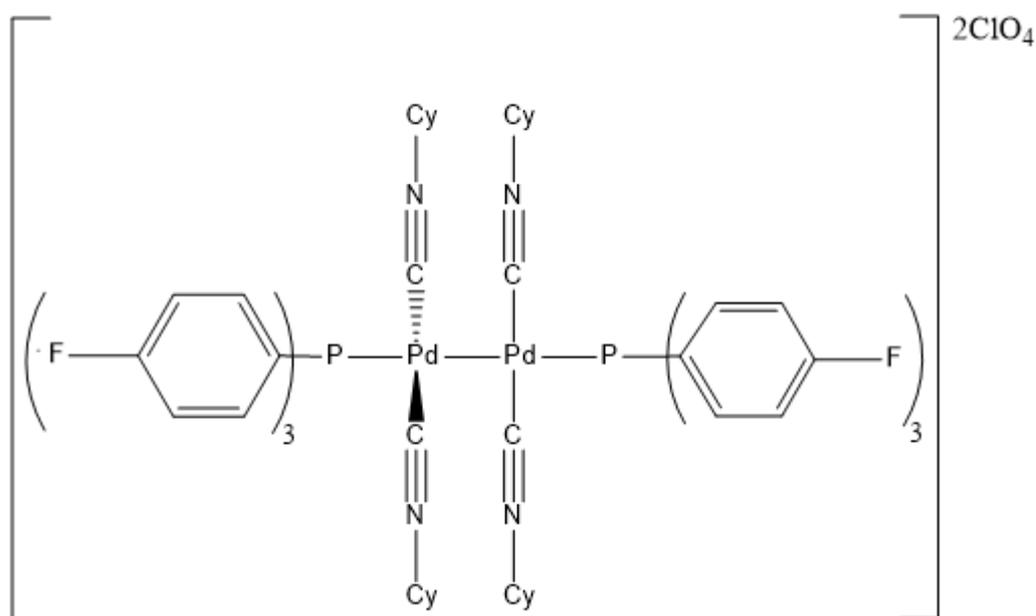
³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CD₂Cl₂, T = 298 K, ppm) δ: 7.5

¹⁹F{¹H} NMR (121.5 MHz, CD₂Cl₂, T = 298 K, ppm) δ: --107.1

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CD₂Cl₂, T = 298 K, ppm) δ: 30.1 (CH₃, *t*-Bu-CH₃), 60.9 (C, *t*-Bu-C), 117.7 (CH, d, $J_{C-F} = 21.5$ Hz, *m*-Ar-CH), 127.0 (C, t, $J_{C-P} = 22.7$ Hz, *ipso*-Ar-C), 129.1 (C, isocyanide-CN), 136.4 (CH, d, $J_{C-P} = 7.9$ Hz, *o*-Ar-CH), 163.4 (C, d, $J_{C-F} = 254.1$ Hz, *p*-Ar-C).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2190, ν (NC); 1090, ν (ClO), 620 δ (ClO)

5.1.11. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Cyc})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4c-Cyc**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0730 g (0.1419 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0853 g (0.2698 mmol) di $\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0598 g (0.4259 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0310 g (0.2839 mmol) di cicloesilisonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per ottimizzare la precipitazione del sale sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Cyc})\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.875 g (0.2512 mmol) di complesso, con una resa del 88%.

¹H NMR (300.0 MHz, CD₂Cl₂, T = 298K, ppm) δ: 1.20 (s, 9H, tBu-CH₃), 5.38 (*pseudo-t*, J = 2.9 Hz, 1H, H³), 6.38 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁴), 6.82 (td, J = 3.2, 0.8 Hz, 1H, H²), 7.00-7.12 (m, 2H, H⁵, H¹), 7.15-7.36 (m, 13H, H⁶, Ar-H), 7.39 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁷).

Vengono pesati 0.0909 mg (0.1218 mmol) di precursore [Pd(Cyc)P(*p*-F-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0266 mg (0.2436 mmol) di cicloesil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0723 g (0.0488 mmol) di composto (**4c-Cyc**), con una resa del 80%.

¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.09-1.53 (m, 36H, Cy-CH₂), 1.60-1.80 (m, 8H, Cy-CH₂), 4.26 (bs, 4H, Cy-CH), 7.08-7.39 (m, 12H, Ar-CH), 7.42-7.71 (m, 12H, Ar-CH).

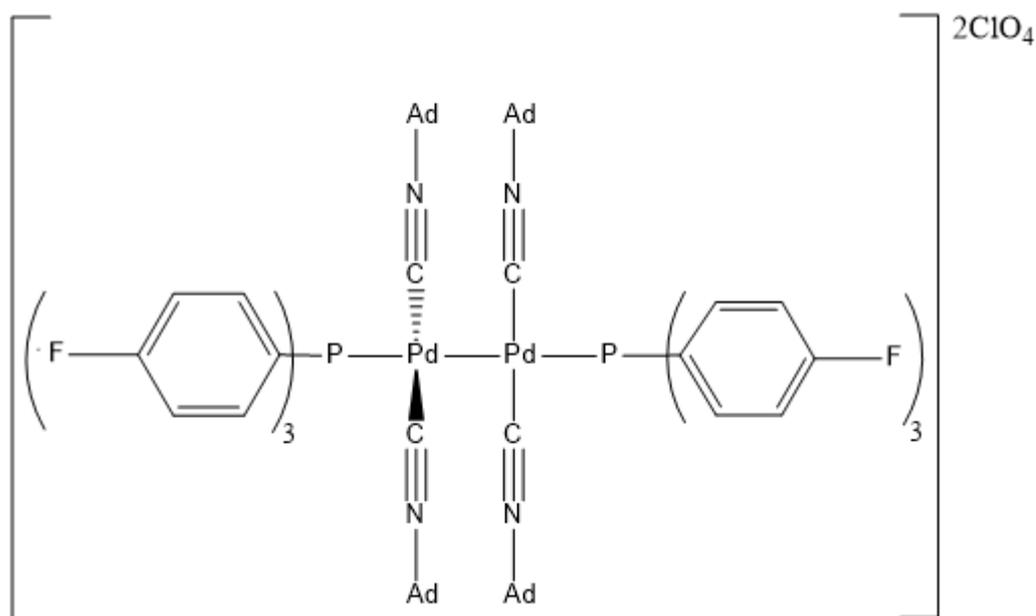
³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 26.6

¹⁹F{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: -106.7

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 22.6 (CH₂, Cy-CH₂), 24.9 (CH₂, Cy-CH₂), 31.5 (CH₂, Cy-CH₂), 55.8 (CH, Cy-CH), 117.1 (dt, J_{C-F,C-P} = 21.5, 5.7 Hz, CH, *m*-Ar-CH), 126.8 (td, J_{C-P,C-F} = 20.7, 3.1 Hz, C, *ipso*-Ar-C), 128.6 (C, isocyanide-CN), 136.0 (CH, q, J = 8.3 Hz, *o*-Ar-CH), 164.8 (C, J_{C-F} = 254.6 Hz, *p*-Ar-C)

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2201, ν(NC); 1090, ν(ClO), 620 δ(ClO)

5.1.12. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Adic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4c-Adic**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0705 g (0.1371 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})_2]$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. Di seguito vengono aggiunti 0.0824 g (0.2606 mmol) di $\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0578 g (0.4114 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0442 g (0.2743 mmol) di adamaantil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato definito empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del sale sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo viene ottenuta una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Adic})\text{P}(p\text{-F-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1943 g (0.2433 mmol) di complesso, con una resa del 89%.

$^1\text{H NMR}$ (300.0 MHz, CDCl_3 , T=298K, ppm) δ : 1.40-1.64 (m, 6H, Ad- CH_2), 1.68 (d, J = 2.9 Hz, 6H, Ad- CH_2), 2.00 (bs, 3H, Ad-CH), 5.40 (*pseudo-t*, J = 2.2 Hz, 1H, H^3), 6.39 (d, J = 7.8, 1H, H^4),

6.83 (td, $J = 3.2, 0.8$ Hz, 1H, H²), 6.99-7.10 (m, 2H, H⁵, H¹), 7.16-7.34 (m, 13H, H⁶, Ar-H), 7.36 (d, $J = 7.8$, 1H, H⁷).

Vengono pesati 0.0820 mg (0.1027 mmol) di precursore [Pd(Adic)P(*p*-F-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0331 mg (0.2054 mmol) di adamantil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0686 g (0.0406 mmol) di composto (**4c-Adic**), con una resa del 79%.

¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ : 1.54-1.78 (m, 24H, Ad-CH₂), 1.83 (d, $J = 3.0$ Hz, 24H, Ad-CH₂), 2.08 (bs, 12H, Ad-CH), 7.22-7.34 (m, 12H, *m*-Ar-H), 7.58 (m, 12H, *o*-Ar-H).

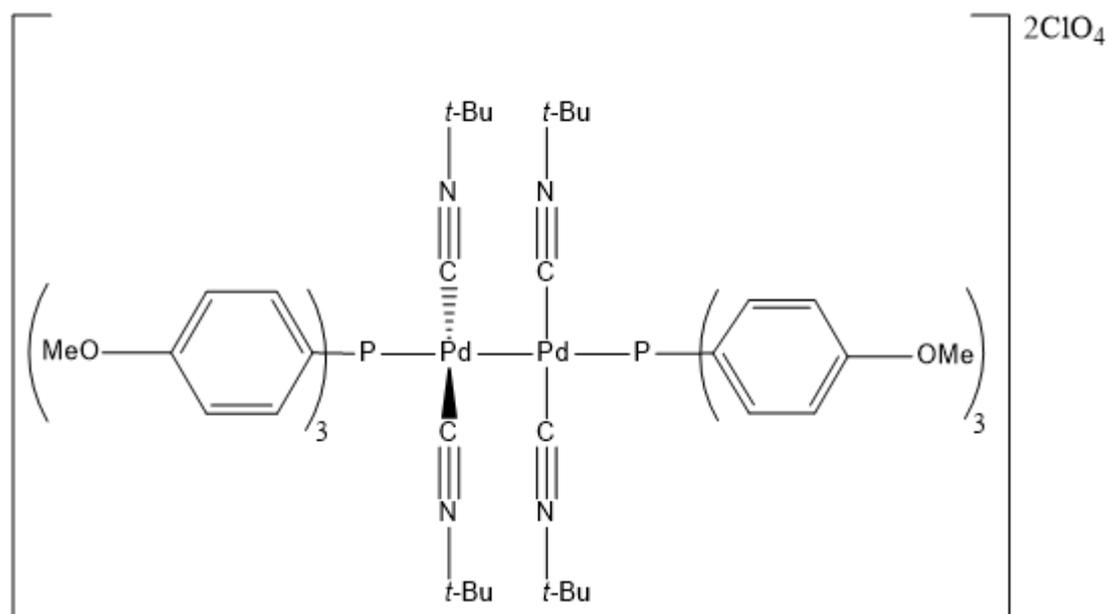
³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ : 8.6

¹⁹F{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ : -106.9

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ : 28.8 (CH, Ad-CH), 35.2 (CH₂, Ad-CH₂), 42.3 (CH₂, Ad-CH₂), 59.8 (C, Ad-C), 117.1 (CH, dt, $J_{C-F, C-P} = 21.5, 5.4$ Hz, *m*-Ar-CH), 126.8 (C, t, $J_{C-P} = 20.6$, *ipso*-Ar-C), 128.9 (C, isocyanide-CN), 136.2 (CH, q, $J_{C-P} = 8.2$ Hz, *o*-Ar-CH), 164.80 (C, d, $J_{C-F} = 254.5$ Hz, *p*-Ar-C).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2185, ν (NC); 1085, ν (ClO), 620 δ (ClO)

5.1.13. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4d-Tic)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0702 g (0.1365 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})_2]$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro e quindi 0.0914 g (0.2587 mmol) di $\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0575 g (0.4096 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0227 g (0.2731 mmol) di *t*-butil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali è possibile osservare la precipitazione di NaCl. Il rapporto realizzato tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per favorire la massima precipitazione del sale sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Tic})\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1850 g (0.2445 mmol) di complesso, con una resa del 90%.

^1H NMR (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.15 (s, 9H, tBu- CH_3), 3.87 (s, 9H, O- CH_3), 5.25 (pseudo-t, J = 2.8, 1H, H^3), 6.42 (d, J = 7.6, 1H, H^4), 6.64 (td, J = 3.2, 0.8 Hz, 1H, H^2), 6.92-7.01(m, 7H, H^1 , Ar-H), 7.06 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H^5), 7.12-7.24 (m, 7H, H^6 , Ar-H), 7.39 (d, = 7.6 Hz, 1H, H^7).

Vengono pesati 0.0809 mg (0.1071 mmol) di precursore $[\text{Pd}(\text{Tic})\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH_3CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono quindi 0.0178 mg (0.2141 mmol) di *t*-butil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrato su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et_2O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0726 g (0.0501 mmol) di composto (**4d-Tic**), con una resa del 94%.

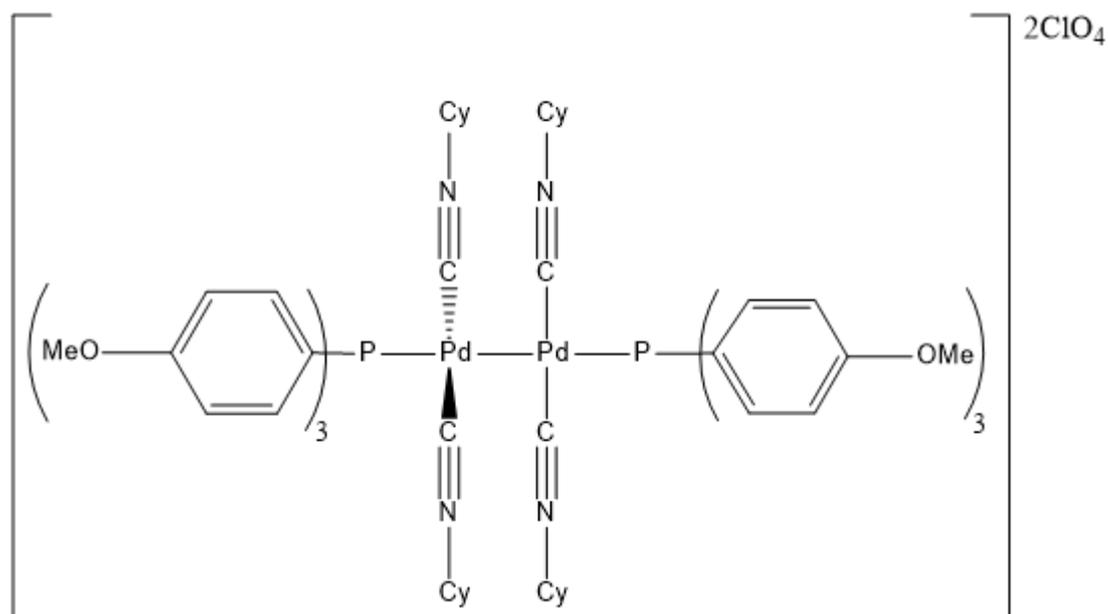
^1H NMR (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.33 (s, 36H, tBu- CH_3), 3.86 (s, 9H, O- CH_3), 7.01-7.12 (m, 12H, Ar-H), 7.33-7.45 (m, 12H, Ar-H).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (121.5 MHz, CDCl_3 , T = 298 K, ppm) δ : 24.6

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75.0 MHz, CDCl_3 , T = 298 K, ppm) δ : 29.7 (CH_3 , *t*-Bu- CH_3), 55.7 (CH_3 , O- CH_3), 60.0 (C, *t*-Bu-C), 115.1 (CH, $J_{\text{C-P}}=6.0$ Hz, *m*-Ar-CH), 122.3 (C, $J_{\text{C-P}} = 22.8$, *ipso*-Ar-H), 129.9 (C, isocyanide-CN), 135.0 (CH, t, $J_{\text{C-P}} = 7.7$ Hz, *o*-Ar-H), 162.2 (C, *p*-Ar-C).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm^{-1}): 2184, $\nu(\text{NC})$; 1096, $\nu(\text{ClO})$, 620 $\delta(\text{ClO})$

5.1.14. Sintesi di $[\text{PdP}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Cyc})_2]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4d-Cyc**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0777 g (0.1514 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})_2]$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. A seguire, vengono aggiunti 0.1012 g (0.2872 mmol) di $\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi introdotti, goccia a goccia, 0.0637 g (0.4085 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0330 g (0.3023 mmol) di cicloesilisonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del cloruro sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante ed il pallone viene poi lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Cyc})\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1734 g (0.2216 mmol) di complesso, con una resa del 81%.

$^1\text{H NMR}$ (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.03-1.36 (bm, 8H, Cy- CH_2), 1.57 (bs, 2H, Cy- CH_2), 3.87(s, 9H, O- CH_3) 3.88-3.96 (bm, 1H, Cy-CH), 5.24 (*pseudo-t*, J = 2.6 Hz, 1H, H^3), 6.43 (d, J

= 7.6 Hz, 1H, H⁴), 6.60 (td, J = 3.2, 0.8 Hz, 1H, H²), 6.91-7.02 (m, 7H, H¹, m-Ar-H), 7.06 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H⁵), 7.12-7.24 (m, 7H, H⁶, o-Ar-H), 7.40 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H⁷)

Vengono pesati 0.0928 mg (0.1186 mmol) di precursore [Pd(Cyic)P(*p*-OMe-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, e disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono quindi 0.0261 mg (0.2372 mmol) di cicloesil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si ottiene quindi la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ricavando un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0845 g (0.0544 mmol) di composto (**4d-Cyic**), con una resa del 92%.

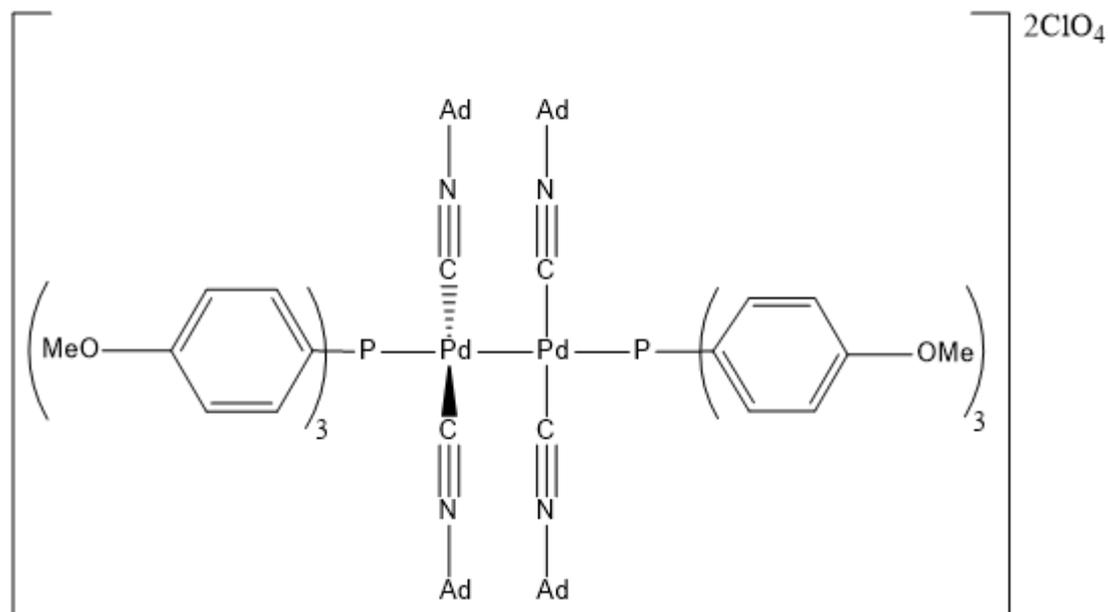
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.05-1.51 (m, 32H, Cy-CH₂), 1.64-1.83(m, 8H, Cy-CH₂), 3.86 (s, 9H, O-CH₃), 4.16-4.27 (m, 4H, Cy-CH), 7.01-7.08 (m, 12H, *m*-Ar-CH), 7.35-7.44 (m, 12H, *o*-Ar-CH).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 8.7

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 22.5 (CH₂, Cy-CH₂), 24.9 (CH₂, Cy-CH₂), 31.6 (CH₂, Cy-CH₂), 55,7 (CH₂, Cy-CH₂), 55.8 (CH₃, O-CH₃), 115.0 (CH, t, J = 5.7 Hz, Ar-CH), 122.6 (C, t, J_{C-P} = 22.4 Hz, *ipso*-Ar-C), 130.2 (C, isocyanide-CN), 135.2 (CH, t, J_{C-P} = 7.6 Hz, Ar-CH), 162.1 (C, *p*-Ar-C),

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2190, ν(NC); 1096, ν(ClO), 620 δ(ClO)

5.1.15. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Adic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (4d-Adic)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0702 g (0.1365 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})_2]$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro. A seguire vengono addizionati 0.0914 g (0.2594 mmol) di $p\text{-OMe-PPH}_3$. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0575 g (0.4096 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e quindi 0.0440 g (0.2731 mmol) di adamaantilisonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali è possibile osservare la precipitazione di NaCl . Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del sale sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite fino alla completa estrazione del prodotto ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Adic})\text{P}(p\text{-OMe-C}_6\text{H}_4)_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con n -pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.2161 g (0.2589 mmol) di complesso, con una resa del 95%.

¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.52 (q, J = 12.9 Hz, 6H, Ad-CH₂), 1.63 (d, J = 2.3 Hz, 6H, Ad-CH₂), 1.98 (bs, 3H, Ad-CH), 3.87 (s, 9H, O-CH₃), 5.28 (bt, 1H, H³), 6.42 (d, J = 7.6, 1H, H⁴), 6.63 (t, J = 3.2 Hz, 1H, H²), 6.87-6.95 (m, H¹), 6.95-7.01 (m, 6H, Ar-H), 7.05 (t, J = 7.6, 1H, H⁵), 7.11-7.24 (m, 7H, H⁶, Ar-H), 7.37 (d, J = 7.7, 1H, H⁷).

Vengono pesati 0.0821 mg (0.0984 mmol) di precursore [Pd(Adic)P(*p*-OMe-C₆H₄)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0317 mg (0.1967 mmol) di adamantil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0831 g (0.0472 mmol) di composto (**4d-Adic**), con una resa del 96%.

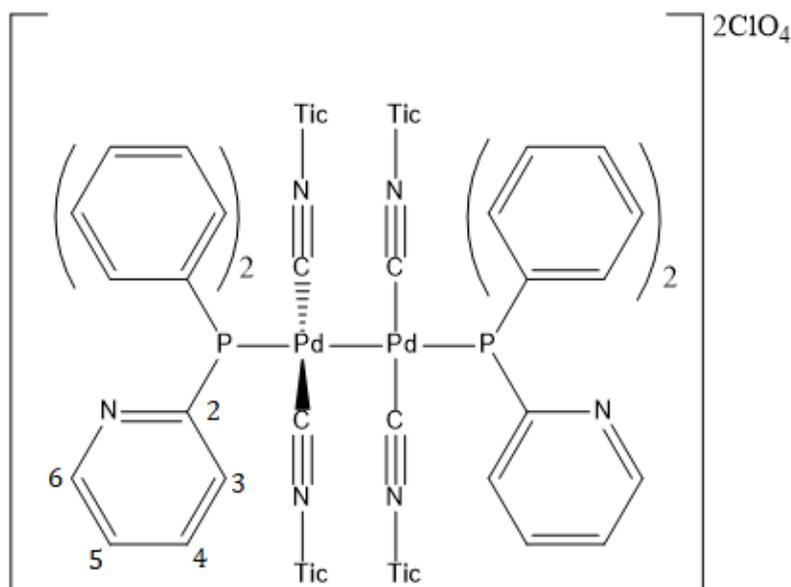
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.52-1.69 (m, 24H, Ad-CH₂), 1.84 (d, J = 3.2 Hz, 24H, Ad-CH₂), 2.07 (s, 12H, Ad-CH), 3.87 (s, 18H, O-CH₃), 7.05 – 7.14 (m, 12H, *m*-Ar-CH), 7.40 (dt, J_{C-P} = 8.8, Hz, *o*-Ar-CH).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 24.7

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 28.8 (CH, Ad-CH₂), 35.2 (CH₂, Ad-CH₂), 42.5 (CH₂, Ad-CH₂), 55.9 (CH₃, O-CH₃), 59.9 (C, Ad-CN), 115.2 (CH, d, J = 5.8 Hz, Ar-CH), 122.6 (C, t, J_{C-P} = 22.8 Hz, *ipso*-Ar-C), 129.8 (C, isocyanide-CN) 135.3 (CH, t, J_{C-P} = 237 Hz, Ar-CH), 162.15 (C, *p*-Ar-C).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm⁻¹): 2184, ν(NC); 1093, ν(ClO), 620 δ(ClO)

5.1.16. Sintesi di $[Pd(P(Ph_2-2-Pyridin)(Tic)_2)]_2(ClO_4)_2$ (4e-Tic)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0696 g (0.1353 mmol) di $[Pd(Ind)(\mu-Cl)]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro e, a seguire, vengono addizionati 0.0677 g (0.2571 mmol) di $P(Ph_2-2-Pyridin)$. La miscela risultante viene tenuta in agitazione per 15 minuti. Vengono quindi aggiunti, goccia a goccia, 0.0570 g (0.4059 mmol) di $NaClO_4 \cdot H_2O$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0225 g (0.2707 mmol) di *t*-butil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali è possibile rilevare la precipitazione copiosa di NaCl. Va sottolineato che il rapporto ottimale tra i due solventi ($CH_2Cl_2:MeOH$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del sale sodico.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite ricavando in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[Pd(P(Ph_2-2Py)(Tic)(Ind)]ClO_4$ di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1627 g (0.2438 mmol) di complesso, con una resa del 90%.

Selected peaks

¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.25 (s, 36H, *t*-Bu-CH₃), 5.81 (t, J=2.5 Hz, 1H, H³), 6.37 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁴), 6.61 (td, J = 3.2 Hz, 1H, H²), 6.99 (*pseudo-t*, J = 7.4 Hz, 1H, H⁵), 7.06 (d, J = 0.7 Hz, 1H, H¹), 7.15-7.24 (m, 1H, H⁶), 7.41 (d, J = 1.4 Hz, 1H, H⁷), 7.84 ((tdd, J = 7.8, 3.8, 1.8 Hz, 2H, H-Py-C₄), 8.87 (ddt, J = 4.7, 1.8, 0.9 Hz, 2H, H-Py-C₆).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 29.7

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 30.0 (CH₃, d, J = 36.6 Hz, *t*-Bu-CH₃), 59.6 (C, *t*-Bu-C), 87.7 (CH, C³), 93.7 (CH, d, J_{C-P} = 18.8 Hz, C¹), 111.5 (CH, C²), 118.5 (CH, C⁴), 120.0 (CH, C⁷), 125.4 (CH, Py-C₅), 128.1 (CH, C⁵), 128.2 (CH, C⁶), 130.9 (C, C^{3a}), 132.0 (C, C^{7a}), 137.2 (CH, d, J_{C-P} = 8.0 Hz, C-Py-C₄), 151.2 (CH, d, J_{C-P} = 18.1 Hz, C-Py-C₆), 155.6 (C, d, J_{C-P} = 73.3 Hz, C-Py-C₂).

Vengono pesati 0.0803 mg (0.1203 mmol) di precursore [Pd(P(Ph₂-2Py)(Tic)(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono poi 0.0200 mg (0.2406 mmol) di *t*-butil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela risultante viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si esegue la precipitazione del prodotto finale con Et₂O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0681 g (0.0536 mmol) di composto (**4e-Tic**), con una resa del 89%.

Selected peaks

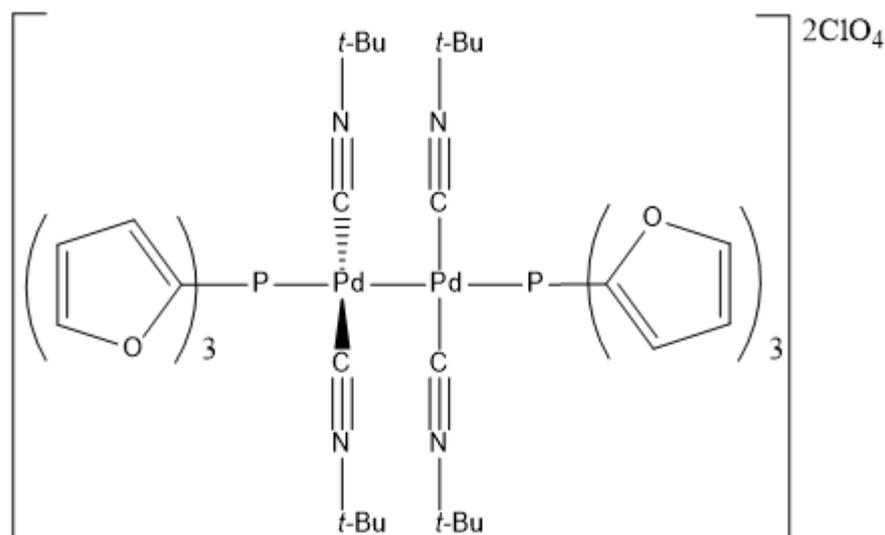
¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃, T = 298K, ppm) δ: 1.30 (s, 36H, *t*-Bu-CH₃), 7.22-7.35 (m, 2H, H-Py-C₃), 7.41-7.67 (m, 2H, H-Py-C₅), 7.76-7.88 (m, 2H, H-Py-C₄), 8.82 (dd, J_{C-P}=4.8, 1.6 Hz, 2H, H-Py-C₆).

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 11.3

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 30.1 (CH₃, d, J_{C-P}= 21.5 Hz, *t*-Bu-CH₃), 60.5 (C, *t*-Bu-C), 125.6 (CH, Py-C₅), 128.9 (CH, Py-C₃), 132.37 (C, Py-C₂), 137.53 (CH, Py-C₄), 151.39 (CH, Py-C₆).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm^{-1}): 2190, $\nu(\text{NC})$; 1093, $\nu(\text{ClO})$, 620 $\delta(\text{ClO})$

5.1.17. Sintesi di $[\text{Pd}(\text{P}(\text{Furyl})_3(\text{Tic})_2)]_2(\text{ClO}_4)_2$ (**4f-Tic**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0692 g (0.1346 mmol) di $[\text{Pd}(\text{Ind})(\mu\text{-Cl})]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro e, a seguire, vengono aggiunti 0.0594 g (0.2557 mmol) di $\text{P}(\text{Furyl})_3$. La miscela risultante viene tenuta in agitazione per 15 minuti, al termine dei quali sono aggiunti, goccia a goccia, 0.0567 g (0.4038 mmol) di $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e in seguito 0.0224 g (0.2692 mmol) di *t*-butil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. La miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali precipita copiosamente NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del sale sodico, e quindi la dealogenazione.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante e, in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per ulteriori 15 minuti in linea da vuoto. Il solido risultante è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene quindi eseguita la filtrazione su celite ottenendo in questo modo una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[\text{Pd}(\text{Tic})\text{P}(\text{Furyl})_3(\text{Ind})]\text{ClO}_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1243 g (0.1953 mmol) di complesso, con una resa del 73%.

^1H NMR (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.36 (s, 36H, *t*-Bu- CH_3), 6.12-6.19 (m, 1H, H^3), 6.59 (ddd, J = 3.6, 1.8, 1.3 Hz, 3H, Furi- H^4), 6.63 (td, J = 3.2, 0.9 Hz, 1H, H^2), 6.74 (ddd, J = 3.1,

2.2, 0.7 Hz, 3H, Furil-H³), 6.79 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁴), 7.09 (s, 1H, H⁵), 7.15-7.26 (m, 1H, H¹, H⁶), 7.41 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H⁷), 7.80 (d, J = 0.7 Hz, 3H, Furil-H⁵).

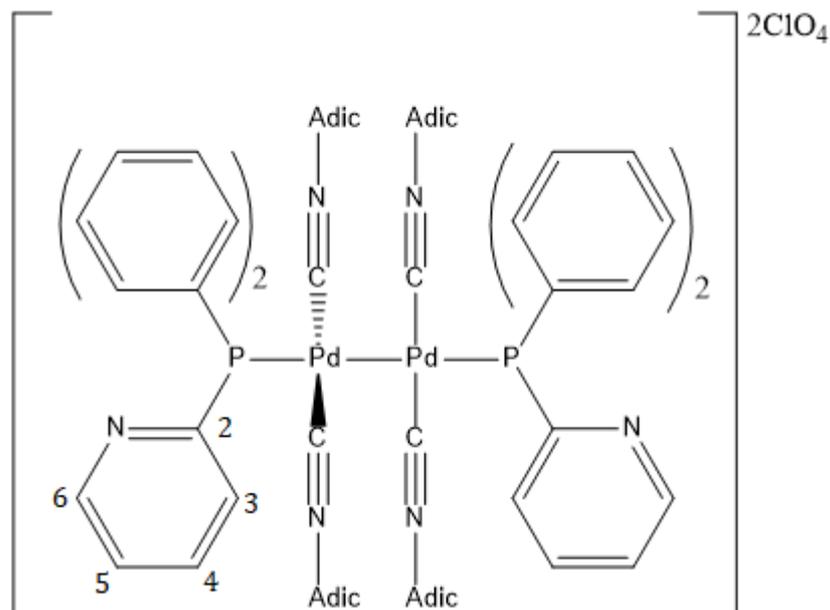
³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: -29.4

¹³C{¹H} NMR (75.0 MHz, CDCl₃, T = 298 K, ppm) δ: 30.0 (CH₃, *t*-Bu-CH₃), 59.8 (C, *t*-Bu-C), 85.7 (CH, Furil-CH), 95.7 (CH, d, J_{C-P} = 20.2 Hz, C¹), 111.7 (CH, d, J_{C-P} = 6.6 Hz, C²), 112.2 (CH, J_{C-P} = 8.2 Hz, Furil-C⁴), 119.5 (CH, C⁴), 120.4 (CH, C⁷), 124.7 (CH, d, J_{C-P} = 20.5 Hz, Furil-C³).

Vengono pesati 0.0727 mg (0.1143 mmol) di precursore [Pd(Tic)P(Furyl)₃(Ind)]ClO₄, disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH₃CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono quindi 0.0190 mg (0.2286 mmol) di *t*-butil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore. Il volume della miscela è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si promuove quindi la precipitazione del prodotto finale aggiungendo Et₂O anidro e ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0606 g (0.0502 mmol) di una miscela di isomeri tra cui il dimerico di interesse (**4f-Tic**).

5.1.18. Sintesi di $[Pd(P(Ph_2-2Py)(Adic)_2)_2(ClO_4)_2]$ (**4e-Adic**)



In un pallone codato da 50 mL, generata una atmosfera di Ar, vengono introdotti 0.0704 g (0.1369 mmol) di $[Pd(Ind)(\mu-Cl)]_2$ disciolti in circa 5 mL di CH_2Cl_2 anidro e, a seguire, vengono aggiunti 0.0685 g (0.2602 mmol) di $PPh_2-2Pyridin$. La miscela risultante viene tenuta in agitazione per circa 15 minuti, al termine dei quali sono aggiunti, goccia a goccia, 0.0577 g (0.4109 mmol) di $NaClO_4 \cdot H_2O$ precedentemente disciolti in 3 mL di metanolo e quindi 0.0441 g (0.2739 mmol) di adamantil-isonitrile sciolti in 4 mL di CH_2Cl_2 anidro. Questa miscela viene tenuta in agitazione per 15 minuti durante i quali è possibile osservare un'abbondante precipitazione di NaCl. Il rapporto ottimale tra i due solventi ($CH_2Cl_2:MeOH$) è stato determinato empiricamente a 3:1 per massimizzare la precipitazione del cloruro sodico e quindi la dealogenazione del complesso.

La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 100 mL e portata a secco all'evaporatore rotante; in seguito, il pallone viene lasciato essiccare per altri 15 minuti in linea da vuoto. Il solido ottenuto è ripreso con una minima quantità di CH_2Cl_2 anidro (2 mL) e trattato con una punta di spatola di carbone attivo. Viene eseguita la filtrazione su celite fino alla completa estrazione del prodotto. In questo modo viene ottenuta una soluzione color arancione che viene raccolta in un pallone da 50 mL e poi portata a piccolo volume a pressione ridotta. Il precursore solido $[Pd(P(Ph_2-2Py)(Adic)(Ind))]ClO_4$, di color arancione, viene precipitato con Et_2O anidro, filtrato su gooch, lavato con *n*-pentano e posto in essiccatore per una notte. In questo primo passaggio si ottengono 0.1910 g (0.2562 mmol) di complesso, con una resa del 90%.

^1H NMR (300.0 MHz, CDCl_3 , T = 298K, ppm) δ : 1.45-1.59 (m, 6H, Ad- CH_2), 1.67 (d, $J=2.9$ Hz, 6H, Ad- CH_2), 2.01 (bs, 3H, Ad-CH), 5.84 (*pseudo-t*, $J=2.5$ Hz, 1H, H^3), 6.40 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H^4), 6.64 (td, $J = 3.2$ Hz, 1H, H^2), 6.97-7.09 (m, 2H, H^5 , H^1) 7.87 (tdd, $J = 7.8, 3.8, 1.8$ Hz, 1H, H-Py- C_4), 8.9 (ddd, $J = 3.8, 1.8, 0.9$ Hz, 1H, H-Py- C_6).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (121.5 MHz, CDCl_3 , T = 298 K, ppm) δ : 29.8

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75.0 MHz, CDCl_3 , T = 298 K, ppm) δ : 28.7 (CH, Ad- CH_2), 35.1 (CH_2 , Ad- CH_2), 42.4 (CH_2 , Ad- CH_2), 59.3 (C, Ad-C), 87.7 (CH, C^3), 93.6 (CH, d, $J_{\text{C-P}} = 19.1$ Hz, C^1), 111.6 (CH, C^2), 118.5 (CH, C^4), 119.9 (CH, C^7), 125.4(CH, Py- C_5), 128.0 (CH, C^5), 128.1 (CH, C^6), 130.9 (C, C^{3a}), 137.2 (CH, d, $J_{\text{C-P}} = 8.0$ Hz, C-Py- C_4), 151.2 (CH, d, $J_{\text{C-P}} = 17.6$ Hz, C-Py- C_6), 155.6 (C, d, $J_{\text{C-P}} = 73.5$ Hz, C-Py- C_2).

Vengono pesati 0.0823 mg (0.1104 mmol) di precursore $[\text{Pd}(\text{P}(\text{Ph}_2\text{-2Py})(\text{Adic})(\text{Ind}))\text{ClO}_4$, e disciolti in 5 mL di acetonitrile (CH_3CN) in un pallone codato da 50 mL posto preventivamente in atmosfera di Ar. Si aggiungono quindi 0.0356 mg (0.2208 mmol) di adamantil-isonitrile, disciolti anch'essi in 5 mL di acetonitrile. La miscela viene mantenuta in agitazione per 18 ore a temperatura ambiente.

Work-up: La miscela di reazione viene trasferita in un pallone da 50 mL e filtrata su millipore e volume della soluzione risultante è quindi ridotto mediante evaporatore rotante. Si promuove la precipitazione del prodotto finale per aggiunta di Et_2O anidro, ottenendo così un solido di colore giallo zolfo che viene isolato mediante filtrazione su gooch, lavato con *n*-pentano e posto infine ad essiccare sottovuoto. Si ottengono 0.0830 g (0.0525 mmol) di composto (**4e-Adic**), con una resa del 95%.

^1H NMR (300.0 MHz, CD_3CN , T=298K, ppm) δ : : 1.33-1.55 (m, 24H, Ad- CH_2), 1.60 (s, 24H, Ad- CH_2), 1.79-1.98 (m, 12H, Ad-CH), 7.14 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, HPy- C_3), 7.28-7.48 (m, 2H, m, 2H, H-Py- C_5), 7.64 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-Py- C_4), 8.62 (ddd, $J = 4.7, 1.8$ Hz, 2H, H-Py- C_6).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (121.5 MHz, CD_3CN , T=298 K, ppm) δ : 11.97

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75.0 MHz, CD_3CN , T=298 K, ppm) δ : : 29.55 (CH, Ad- CH_2), 35.52 (CH_2 , Ad- CH_2), 43.23 (CH_2 , Ad- CH_2), 60.55 (C, Ad-C),), 126.05 (CH, Py- C_3), 129.35 (CH, Py- C_5), 131.14 (C, Py- C_2), 129.42-135.61 (CH, Ar-CH), 138.02 (CH, Py- C_4), 151.97 (CH, Py- C_6).

Bande IR caratteristiche (pastiglia di KBr, cm^{-1}): 2184, $\nu(\text{NC})$; 1090, $\nu(\text{ClO})$, 620 $\delta(\text{ClO})$

5.2. Studio dell'attività antiproliferativa dei complessi sintetizzati

Studio dell'attività antiproliferativa dei complessi sintetizzati

L'attività antiproliferativa è stata valutata su cinque diverse linee cellulari:

Tabella 10. Kuramochi⁷⁰

Nome linea cellulare	KURAMOCHI
Malattia	Adenocarcinoma sieroso ovarico di alto grado
Specie d'origine	Umano
Sesso della cellula	Femmina

Tabella 11. A2780⁷¹

Nome linea cellulare	A2780
Malattia	Carcinoma endometrioido dell'ovaio
Specie d'origine	Umano
Sesso della cellula	Femmina

Tabella 12. A2780cis⁷²

Nome linea cellulare	A2780cis
Malattia	Carcinoma endometrioido dell'ovaio
Specie d'origine	Umano
Sesso della cellula	Femmina

Tabella 13. OVCAR-5⁷³

Nome linea cellulare	OVCAR-5
Malattia	Adenocarcinoma sieroso ovarico di alto grado
Specie d'origine	Umano
Sesso della cellula	Femmina

Tabella 14. MRC-5⁷⁴

Nome linea cellulare	MRC-5
Malattia	fibroblasti polmonari isolati da feto umano
Specie d'origine	Umano
Sesso della cellula	Maschio

Le indagini sono state condotte seguendo le direttive e le procedure elaborate dal gruppo del Professor Flavio Rizzolio, inizialmente presso il Centro di Riferimento Oncologico di Aviano (CRO) e attualmente anche presso il Dipartimento di Scienze Molecolari e Nanosistemi (DSMN) dell'Università Ca' Foscari.

5.2.1. Additivi e solventi biologici

I complessi da esaminare sono stati solubilizzati in DMSO e mantenuti in condizioni di sterilità. Per il trattamento, sono stati utilizzati terreni di coltura appropriati, tutti acquistati commercialmente da Gibco-Thermo Fischer Scientific:

- RPMI Medium 1640, GlutaMAX™ Supplement (Roswell Park Memorial Institute): impiegato per le linee cellulari A2780, A2780cis e OVCAR-5 e Kuramochi;

Sono stati inoltre utilizzati i seguenti componenti:

- FBS (Fetal Bovine Serum): aggiunto al 10% in tutti i terreni come fonte di fattori di crescita (Microgem);
- PBS 1X (Phosphate Buffered Saline): soluzione salina a pH controllato, utilizzata per il lavaggio delle cellule prima del conteggio (Thermo Fischer Scientific);
- Tripsina 0.05% e 0.25% (per tutte le altre linee, Gibco-Thermo Fischer Scientific) in EDTA. Un enzima proteolitico utilizzato per staccare le cellule adese alle piastre;
- CellTiter-Glo® (substrato e buffer): kit utilizzato nei saggi di citotossicità per valutare la vitalità cellulare tramite la quantificazione dell'ATP;⁶⁹
- Cisplatino: soluzione 3.33 mM utilizzata per preparare soluzioni test su ogni linea cellulare. Nel caso della linea A2780cis, sono stati aggiunti 600 ng/mL di cisplatino al terreno per selezionare la popolazione resistente.
- P/S 100X (Pen&Strep 100X): mix di antibiotici contenente penicillina e streptomina, aggiunto all'1% in tutti i terreni (Sigma-Aldrich);

5.2.2. Strumentazione

Le operazioni sono state eseguite in condizioni aettiche all'interno di una cappa a flusso laminare (Faster). Le cellule sono state mantenute in un incubatore (Mettler) a 37 °C, in un

ambiente contenente il 5% di CO₂. La valutazione dello stato di salute cellulare è stata condotta utilizzando un microscopio Nikon Eclipse Ts2R, e la conta cellulare è stata eseguita con una camera di Burker (Marienfeild, 0.025 mm²). Strumenti quali la centrifuga Heraeus Multifuge X1R (Thermo Fisher Scientific) e il lettore di luminescenza Synergy™ H1 (BioTek) sono stati impiegati per le fasi successive. Le colture cellulari sono state propagate in piastre petri con diametro di 10 cm o in flask da 25, 75 o 175 cm². Per quanto riguarda il saggio di citotossicità, sono state utilizzate piastre multiwell da 96 di marca Sarstedt.

5.2.3. Piastramento

Dopo aver verificato lo stato di salute delle cellule, viene rimosso il terreno di cultura dalla piastra e viene effettuato un lavaggio con 6 ml di PBS. Viene aggiunto successivamente 1 mL di tripsina (0.25% nelle altre linee) e la piastra viene posta in incubatore per 5 minuti. Si esegue un test visivo al microscopio per verificare che cellule si siano staccate dal fondo della flask, dopodiché vengono aggiunti 6 ml di terreno fresco per inibire la tripsina. Ottenuta quindi una sospensione di cellule nel terreno, si trasferisce il tutto in una provetta conica da 15 ml che viene poi messa in centrifuga (1500 rpm per 5 minuti); questa operazione viene eseguita per rimuovere la tripsina e per ottenere un pellet di cellule (fondo). A questo punto il surnatante è rimosso, il pellet è risospeso in 6-7 ml di terreno fresco e si esegue l'operazione di conta cellulare. Si prelevano 10 µL della sospensione prodotta (terreno + cellule) e li si pone nella camera di Burker; la conta cellulare avviene in quattro quadranti. Il valore medio di cellule contate viene moltiplicato per un fattore 10⁴ per ottenere il numero di cellule in un mL. Viene quindi eseguita una ulteriore diluizione allo scopo di ottenere il corretto numero di cellule in 100 µL di terreno, quantità di sospensione che viene poi addizionata ai pozzetti di una piastra *multiwell* da 96. Viene riportato nella *Tabella 15* il numero di cellule da inserire nel pozzetto in base alla linea cellulare:

Tabella 15. Linee cellulari con le rispettive quantità tabulate di cellule da inserire in un pozzetto.

Linea cellulare	Numero di cellule per pozzetto
A2780	1000
A2780 <i>cis</i>	2500
OVCAR-5	2000
KURAMOCHI	2000

Sono riempiti 18 pozzetti per ciascun complesso da testare e per il cisplatino, in modo da studiarne la tossicità in triplicato con 6 differenti concentrazioni. In ogni piastra, inoltre, vengono aggiunti tre pozzetti per il controllo negativo. Infine, le *multiwell* vengono messe in incubatore per 24 h, al fine di permettere alle cellule di aderire al fondo del pozzetto.

5.2.4. Trattamento

Una volta verificato lo stato delle cellule precedentemente piastrate al microscopio, viene preparata una soluzione madre in DMSO alla concentrazione 10mM dei complessi da testare. A partire da questa soluzione, sono preparate delle diluizioni in terreno di coltura, impiegando una piastra *multiwell* da 48. Le concentrazioni trattate sono 100 μM , 10 μM , 1 μM , 0.1 μM , 0.01 μM , 0.001 μM . Nei pozzetti di controllo negativo vengono aggiunti 100 μL di terreno addizionale. Le piastre aventi nei pozzetti le cellule e il terreno sono poste in incubatore a 37 °C per 96 ore.

5.2.5. Lettura ed elaborazione dati

Viene eseguito un rapido controllo al microscopio dei pozzetti per valutare la salute delle cellule. Una volta rimosso il terreno dai pozzetti, vengono aggiunti 20 μL di una soluzione 1:1 di CellTiter-Glo® (miscela di Substrate e Buffer) e PBS. Le piastre vengono poste su shaker per poi eseguire la lettura dei valori di luminescenza con lettore automatizzato. La rielaborazione dei dati viene eseguita con il *software* GraphPad Prism al fine di ottenere il dato di IC₅₀ tramite delle curve dose-risposta generale dal programma.

6. Appendice

6.0.1. Il cisplatino e il veleno d'ape

Come precedentemente detto, il trattamento con cisplatino presenta numerose problematiche che non si limitano all'induzione di resistenza nei confronti del farmaco, ma comprendono anche ricadute ed effetti collaterali.

Per migliorare le terapie esistenti, oltre alla sintesi di nuove tipologie di complessi metallici, è stato valutato anche l'uso di terapie combinate dove si vanno ad applicare più farmaci con meccanismo d'azione diverso. Tra le varie tipologie di cure che possono essere applicate per il cancro ovarico troviamo la combinazione un po' inusuale del cisplatino col veleno d'ape, testato *in vitro* in una linea cellulare cisplatino resistente (A2780cis). Il veleno dell'ape mellifera (*Apis mellifera*) è una miscela complessa di peptidi, enzimi e ammine di cui la melittina e la fosfolipasi A2 sono le principali componenti. È stato dimostrato che il veleno d'ape può arrestare la crescita di diverse tipologie di cellule cancerogene.⁷⁶

6.0.2. L'odore degli isonitrili

Non è possibile generalizzare sull'odore degli isonitrili a basso peso molecolare semplicemente perché esistono più di mille proteine che, nel naso, hanno la capacità di codificare un profumo. Di conseguenza, la *teoria della vibrazione*, basata sull'assunto che per identificare un odore sia possibile basarsi sulla presenza di gruppi funzionali presenti nella molecola, i quali avranno a loro volta particolari vibrazioni nell'IR, non è sufficiente a spiegare il fenomeno. È necessario quindi tenere in considerazione anche *la teoria della forma* della molecola, altro studio basato sull'assunto che la conformazione sterica sia responsabile dell'odore. Un'ulteriore ipotesi sostiene che gli isonitrili, data la loro capacità di creare complessi, abbiano la possibilità di coordinarsi a ioni metallici presenti nei recettori olfattivi, il che porterebbe a spiegare il forte odore di questi sistemi.⁵⁴

6.1. Serendipity

Con il termine "*serendipity*" si intende la scoperta di qualcosa mentre si cerca qualcos'altro. Essa ha avuto un ruolo importante e talora rivoluzionario anche in chimica e in biologia.⁷⁷

L'origine della parola "serendipità" deriva da una fiaba persiana che parla di tre principi che nei loro viaggi facevano scoperte accidentali di cose delle quali non erano alla ricerca.⁷⁷

Fu poi Horace Walpole che, a metà del 1750, coniò il termine "serendipity" attraverso una lettera inviata a un suo amico. Oggi, secondo l'*Oxford English Dictionary* la parola identifica "la facoltà di fare scoperte felici e inaspettate per caso" mentre nel dizionario medico si riferisce a "una scoperta accidentale". Sotto un certo punto di vista questa definizione è in parte errata, almeno in ambito scientifico, dato che tutte le scoperte hanno un punto in comune, ovvero sono state riconosciute, valutate e messe alla luce da una esperienza intellettuale dello scopritore.⁷⁸ Diceva Pasteur "il caso aiuta la mente preparata". Nel 1856, ad esempio, in chimico inglese William Henry Perkins, durante i suoi studi per sintetizzare il chinino (*Figura 53*), si ritrovò con una sostanza bluastra che aveva eccellenti proprietà tintorie. Il composto divenne uno dei primi esempi di coloranti artificiali, denominato blu di Tiro.⁷⁹

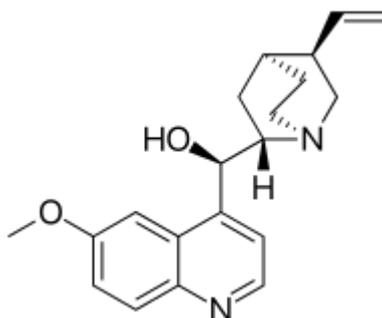


Figura 53. Rappresentazione del chinino.

Da questa scoperta si avviò poi lo sviluppo dell'industria dei coloranti. Tale scoperta però non fu totalmente casuale dato che Perkins studiò al Royal College of Chemistry a Londra sotto August Wilhelm von Hofmann, pioniere della chimica dell'anilina.⁷⁹ La scoperta è stata fortuita ma costruita su una conoscenza e su una esperienza passata, con una consapevolezza del potenziale utilizzo.

Basandoci sui dati del 2012, il 5.8% dei farmaci attualmente in commercio dipende dal fattore "serendipità". Di questi farmaci il 2.2% sono stati scoperti a causa di incidenti avvenuti in laboratori mentre il 3.7% sono stati scoperti in ambito chimico. Si stima inoltre che il 18.3% dei farmaci usati in ambito clinico siano a loro volta dei derivati chimici di qualcosa scoperto per serendipità. Per quanto riguarda i farmaci antitumorali, il 35.2% può essere attribuito sempre a eventi fortuiti.⁸⁰

Concentrandoci invece su una tipologia di farmaci applicati in ambito psichiatrico sono interessanti esempi di serendipità le scoperte delle applicazioni cliniche del bromuro di potassio (KBr) e del cloralio idrato (2,2,2-tricloro-1,1-etandiolo).

Il bromuro di potassio è il più antico sedativo utilizzato in medicina. Storicamente si pensava che potesse sostituire lo iodio per alcune applicazioni a livello terapeutico. Nel 1857 venne scoperta l'azione anticonvulsivante e sedativa del composto da Charles Lockock, partendo già dalla conoscenza che i bromuri avevano la capacità di controllare l'epilessia e le convulsioni; il loro utilizzo è andato nel corso del tempo a diminuire data la loro bassa efficacia terapeutica e la loro elevata tossicità.⁸¹

Il cloralio venne preparato per la prima volta nel 1832 da Justus von Liebig. Il ragionamento in questo caso fu chimico dato che si ipotizzò che il composto potesse scindersi formando cloroformio, composto che si sapeva essere in grado di indurre il sonno. Lo studio del sistema dimostrò che, con la degradazione, il composto non portava alla formazione del cloroformio. Tuttavia, applicando la molecola con tale scopo, vennero scoperte le sue proprietà sedative ed ipnotiche, che sono ancora oggi impiegate in medicina.

Nel 1938 Hofman preparò la dietilammina dell'acido lisergico (*Figura 55*) con lo scopo di sviluppare un analettico (farmaco capace di regolare la contrazione del cuore e della respirazione).

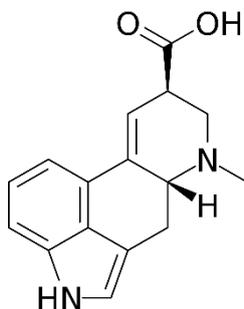


Figura 54. Rappresentazione acido lisergico.

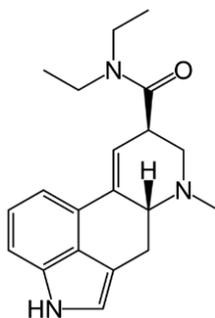


Figura 55. Rappresentazione della dietilammina dell'acido lisergico.

La sostanza venne chiamata LSD-25, perché venticinquesimo nella serie delle ammidi dell'acido lisergico. Dopo degli effetti indesiderati dovuti all'esposizione dello scienziato a tale sostanza, si vennero a scoprire gli effetti psicotomimetici dell'LSD-25 e, negli anni 50, venne scoperto che tale composto inibiva il neurotrasmettitore della serotonina.⁸² (Figura 56)

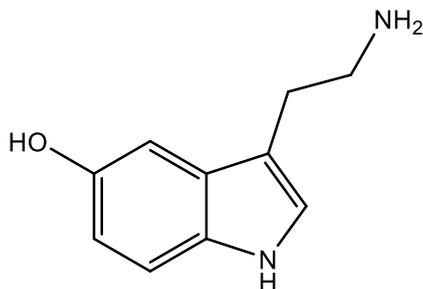


Figura 56. Rappresentazione serotonina.

Una delle più celebri scoperte causali è senz'altro quella della penicillina da parte di Alexander Fleming durante le sue ricerche sull'influenza. In una delle sue piastre di cultura dello Stafilococco venne a formarsi una contaminazione da parte di una muffa che creava una zona priva di batteri. Isolando la muffa scoprì che questa andava a produrre una sostanza con un effetto distruttivo su molti tipi di batteri che erano in grado di infettare l'uomo. Fleming chiamò tale sostanza "penicillina" (Figura 57), dal nome del *Penicillium notatum*, il contaminante della colonia.⁷⁷

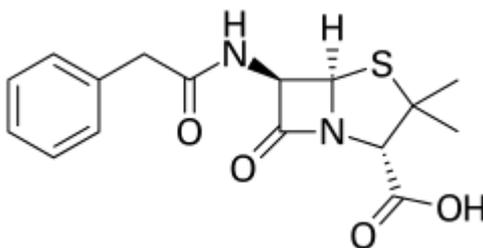


Figura 57. Rappresentazione della Penicillina G, capostipite della famiglia.

Soffermando la nostra attenzione sui farmaci antitumorali, nel 2012 sono stati contati in totale 88 farmaci antitumorali in uso clinico. Di questi, 18 sono sono quelli ottenuti in maniera più o meno fortuita.⁸⁰

Vengono elencati alcuni farmaci antitumorali scoperti con serendipità in laboratorio:

- Mecloretamina (Figura 58): utilizzato nel trattamento delle micosi fungoide, tipo comune di linfoma cutaneo. La mecloretamina è un agente alchilante chemioterapico che colpisce le cellule in rapida divisione.⁸³

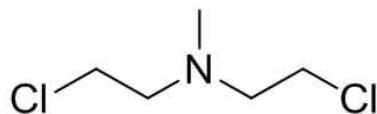


Figura 58. Rappresentazione della mecloretamina.

- Metotrexato (Figura 59): applicato nel trattamento dell'artrite reumatoide (una malattia infiammatoria cronica sistemica che colpisce le articolazioni) e di altre malattie reumatiche, noto anche per gli effetti antiproliferativi contro malattie maligne, in concomitanza con la somministrazione di acido folico e folinico (recenti studi hanno confermato anche un'attività antinfiammatoria).⁸⁴

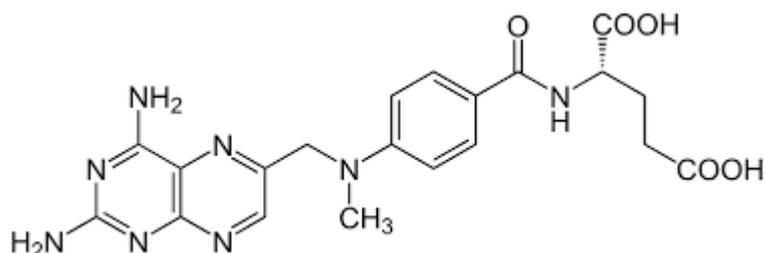


Figura 59. Rappresentazione del metotrexato.

- Sorafenib (Figura 60): farmaco antitumorale approvato dalla US-FDA (*Food and Drug Administration*) per il trattamento del carcinoma epatocellulare (carcinoma che interessa il fegato) e del carcinoma a cellule renali avanzato.⁸⁵ Il composto è risultato efficace anche contro il tumore primitivo al fegato ed è indicato per il trattamento di pazienti con carcinoma alla tiroide.⁸⁶

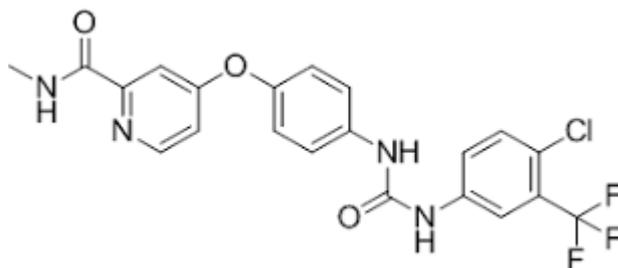


Figura 60. Rappresentazione del Sorafenib.

- Vinblastine (Figura 61): farmaco con qualità antitumorali che viene estratto dalla pianta *Catharanthus roseus*, pianta medicinale usata fin dai tempi antichi per combattere disturbi gastrointestinali, disturbi al fegato e ai reni e utilizzata anche per malattie cardiovascolari. La vinblastine è un alcaloide naturale, somministrato per la prima volta

ai conigli per esplorare la presunta funzione antidiabetica; il principio attivo si è dimostrato poi efficace anche come agente chemioterapico, nello specifico per il trattamento dei linfomi di Hodgking (tumore del sistema linfatico)⁸⁷ e non Hodgkin (tumore che nasce dai linfociti),⁸⁸ del cancro al seno, del sarcoma di Kaposi (tumore aggressivo che si sviluppa nei soggetti con infezione da HIV)⁸⁹, del carcinoma alle cellule renali e del cancro ai testicoli.⁹⁰

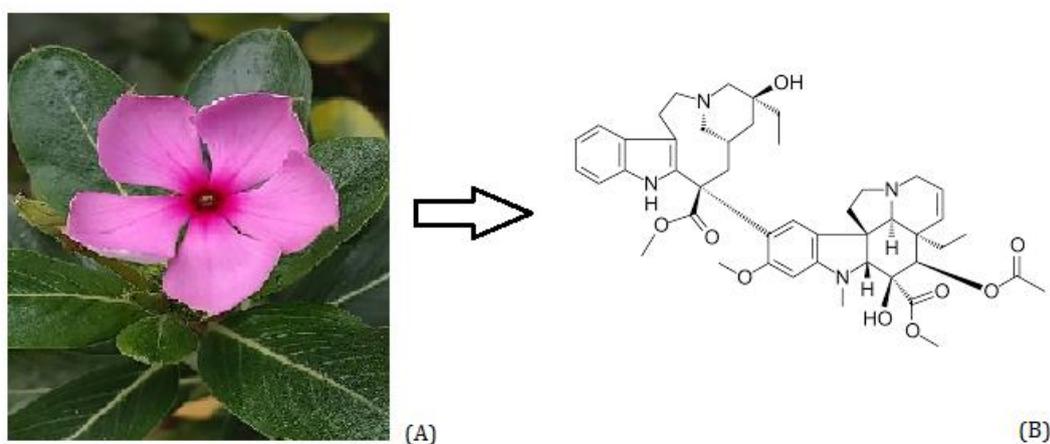


Figura 61. (A) pianta *Catharanthus roseus* dalla quale si estrae (B) la Vinblastine.

- Aminoglutetimide (Figura 62): tipologia di farmaco indicata per alcuni pazienti affetti da sindrome di Cushing e cancro al seno. Altri usi (carcinoma della prostata, ipertensione ecc.) rimangono in fase sperimentale. La somministrazione di aminoglutetimide a pazienti affetti da sindrome di Cushing determina un miglioramento nel 56% dei casi.⁹¹

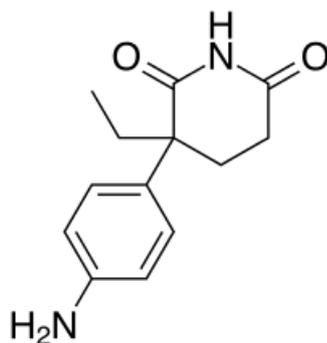


Figura 62. Rappresentazione dell'Aminoglutetimide.

- Celecoxib (Figura 63): introdotto sul mercato nel 1998, il farmaco è un antinfiammatorio non steroideo con proprietà analgesiche e antipiretiche. Il farmaco si è dimostrato efficace anche nella prevenzione del cancro ed è utilizzato, assieme alla chirurgia, per ridurre il numero di polipi adenomatosi del colon-retto (piccole escrescenze che possono formarsi nella mucosa del colon già a partire dalle primissime fasi della pubertà).⁹²

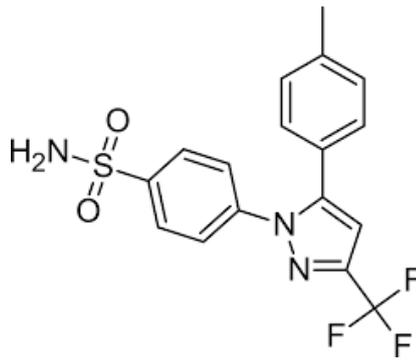


Figura 63. Rappresentazione del Celecoxib.

- Dactinomycin (*Figura 64*): farmaco comunemente usato contro il tumore di Wilms, nefroblastoma che colpisce i reni in età pediatrica. Risulta efficace sia se somministrato prima che dopo la terapia convenzionale (chirurgia e irradiazione).^{93,94}

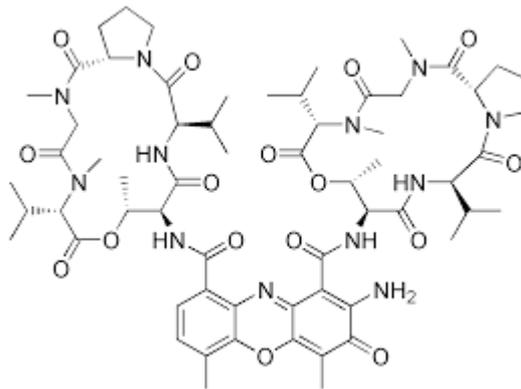


Figura 64. Rappresentazione del Dactinomycin.

- Doxorubicin (*Figura 65*): negli anni 50 venne scoperto un nuovo ceppo batterico di *Streptomyces peucetius*, per combattere il quale è stato poi prodotto un antibiotico che presentava anche una buona attività contro i tumori nei topi. Questo composto venne chiamato Daunorubicina ed è stato utilizzato con successo nel trattamento della leucemia acuta e del linfoma. Studi successivi portarono a delle modifiche genetiche del batterio per produrre poi un nuovo composto, l'Adriamicina, chiamata in seguito Doxorubicina (*Figura 66*). Il problema principale del farmaco è l'elevata cardiotossicità; per questo vennero poi prodotti più di 2000 altri composti analoghi della doxorubicina.⁹⁵

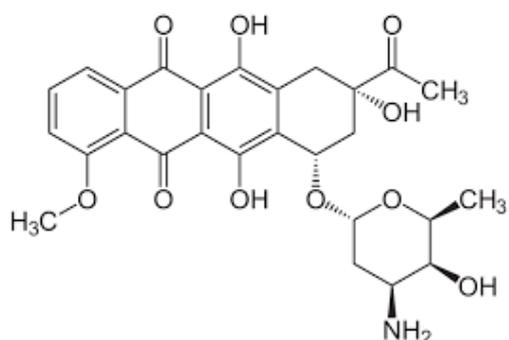


Figura 65. Rappresentazione del Daunorubicina.

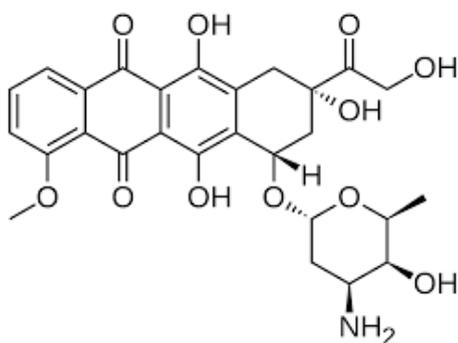


Figura 66. Rappresentazione del Doxorubicina.

- Imatinib (Figura 67): farmaco rivoluzionario per la terapia farmacologica contro la leucemia mieloide cronica (malattia che si sviluppa nel midollo osseo, cronica perché progredisce lentamente e può rimanere asintomatica per anni nella fase iniziale)⁹⁶, con tassi di risposta completa di oltre il 40% dei pazienti.⁹⁷

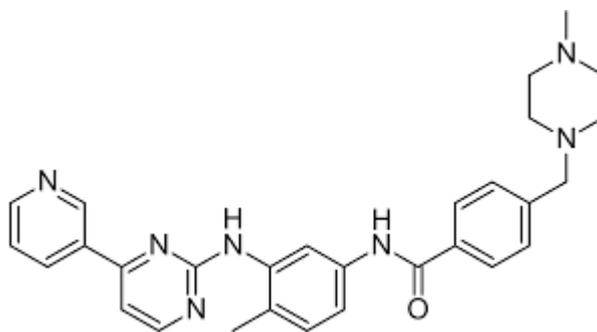


Figura 67. Rappresentazione del Imatinib.

- Tamoxifen (Figura 68): da più di 25 anni, tale farmaco è stato applicato per il trattamento endocrino di tutti gli stadi del cancro al seno. Viene stimato che più di 400.000 donne siano vive oggi grazie alla terapia col farmaco e altrettante ne abbiano beneficiato portandosi a una prolungata sopravvivenza. Il Tamoxifen è diventato anche il primo chemio-preventivo contro il cancro approvato dalla FDA per la riduzione del cancro al seno nelle donne ad alto rischio sia in pre che in post-menopausa.⁹⁸

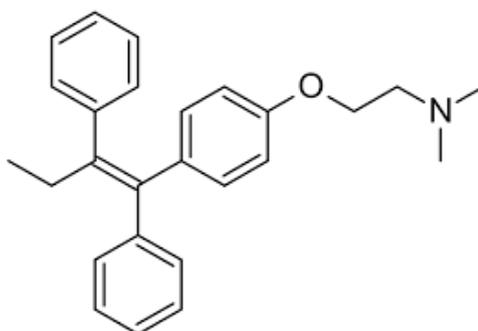


Figura 68. Rappresentazione del Tamoxifen.

- Thalidomide (*Figura 69*): tale farmaco viene considerato come uno dei più famigerati nella storia della medicina, dato che ha prodotto gravi embriopatie nel 1961 in molte parti della Germania e in altri paesi.⁹⁹ Originariamente rilasciato come sedativo e antiemetico (anti-vomito), sono poi stati eseguiti degli studi su altre applicazioni che mostrarono dei miglioramenti dei sintomi per la malattia di Crohn refrattaria, la lebbra lepromatosa, l'artrite sieronegativa, e la del trapianto contro l'ospite in pazienti sottoposti a trapianto di midollo osseo e lupus cutaneo.¹⁰⁰

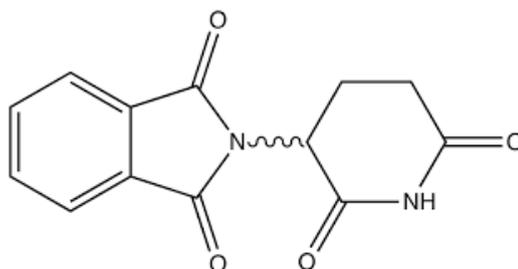


Figura 69. Rappresentazione Thalidomide.

Per quanto riguarda la scoperta di complessi metallici applicati come antitumorali e della loro scoperta fortuita, il caso più emblematico è rappresentato dal cisplatino e dai suoi derivati, cui è già stato dedicato un capitolo in questo lavoro di tesi.

In conclusione, vogliamo ricordare che, come scrisse Johann Wolfgang Goethe: “La scoperta ha bisogno di fortuna, invenzione, intelletto; nessuno può fare a meno dell’altro”.¹⁰¹

7. Bibliografia e sitografia

- (1) Salute, M. della. *Organizzazione Mondiale della Sanità - OMS*. <https://www.salute.gov.it/portale/rapportiInternazionali/menuContenutoRapportiInternazionali.jsp?lingua=italiano&area=rapporti&menu=mondiale> (accessed 2023-11-15).
- (2) *Cancer today*. <http://gco.iarc.fr/today/home> (accessed 2023-10-27).
- (3) Lynch, H. T.; Casey, M. J.; Snyder, C. L.; Bewtra, C.; Lynch, J. F.; Butts, M.; Godwin, A. K. Hereditary Ovarian Carcinoma: Heterogeneity, Molecular Genetics, Pathology, and Management. *Mol. Oncol.* **2009**, *3* (2), 97–137. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2009.02.004>.
- (4) Alizadehnohi, M.; Nabiuni, M.; Nazari, Z.; Safaeinejad, Z.; Irian, S. The Synergistic Cytotoxic Effect of Cisplatin and Honey Bee Venom on Human Ovarian Cancer Cell Line A2780cp. *J. Venom Res.* **2012**, *3*, 22–27.
- (5) Song, M.; Cui, M.; Liu, K. Therapeutic Strategies to Overcome Cisplatin Resistance in Ovarian Cancer. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, *232*, 114205. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114205>.
- (6) Ghosh, S. Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug. *Bioorganic Chem.* **2019**, *88*, 102925. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>.
- (7) J. Anthony, E.; M. Bolitho, E.; E. Bridgewater, H.; L. Carter, O. W.; M. Donnelly, J.; Imberti, C.; C. Lant, E.; Lermyte, F.; J. Needham, R.; Palau, M.; J. Sadler, P.; Shi, H.; Wang, F.-X.; Zhang, W.-Y.; Zhang, Z. Metallodrugs Are Unique: Opportunities and Challenges of Discovery and Development. *Chem. Sci.* **2020**, *11* (48), 12888–12917. <https://doi.org/10.1039/D0SC04082G>.
- (8) Gianferrara, T.; Bratsos, I.; Alessio, E. A Categorization of Metal Anticancer Compounds Based on Their Mode of Action. *Dalton Trans.* **2009**, *0* (37), 7588–7598. <https://doi.org/10.1039/B905798F>.
- (9) Alderden, R. A.; Hall, M. D.; Hambley, T. W. The Discovery and Development of Cisplatin. *J. Chem. Educ.* **2006**, *83* (5), 728. <https://doi.org/10.1021/ed083p728>.
- (10) Hall, M. D.; Telma, K. A.; Chang, K.-E.; Lee, T. D.; Madigan, J. P.; Lloyd, J. R.; Goldlust, I. S.; Hoeschele, J. D.; Gottesman, M. M. Say No to DMSO: Dimethylsulfoxide Inactivates Cisplatin, Carboplatin, and Other Platinum Complexes. *Cancer Res.* **2014**, *74* (14), 3913–3922. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0247>.
- (11) R. Kapdi, A.; S. Fairlamb, I. J. Anti-Cancer Palladium Complexes: A Focus on PdX₂L₂, Palladacycles and Related Complexes. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (13), 4751–4777. <https://doi.org/10.1039/C4CS00063C>.
- (12) Baik, M.-H.; Friesner, R. A.; Lippard, S. J. Theoretical Study of Cisplatin Binding to Purine Bases: Why Does Cisplatin Prefer Guanine over Adenine? *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (46), 14082–14092. <https://doi.org/10.1021/ja036960d>.
- (13) *Immunoterapia e Immunoterapia oncologica*. <https://www.my-personaltrainer.it/salute-benessere/immunoterapia.html> (accessed 2024-01-05).
- (14) Alam, M. N.; Huq, F. Comprehensive Review on Tumour Active Palladium Compounds and Structure–Activity Relationships. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *316*, 36–67. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.02.001>.
- (15) Scattolin, T.; Voloshkin, V. A.; Visentin, F.; Nolan, S. P. A Critical Review of Palladium Organometallic Anticancer Agents. *Cell Rep. Phys. Sci.* **2021**, *2* (6), 100446. <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2021.100446>.
- (16) Navarro-Ranniger, C.; Lopez-Solera, I.; Perez, J. M.; Rodriguez, J.; Garcia-Ruano, J. L.; Raithby, P. R.; Masaguer, J.; Alonso, C. Analysis of Two Cycloplatinated Compounds Derived from N-(4-Methoxyphenyl)-.Alpha.-Benzoylbenzylideneamine. Comparison of

- the Activity of These Compounds with Other Isostructural Cyclopalladated Compounds. *J. Med. Chem.* **1993**, *36* (24), 3795–3801. <https://doi.org/10.1021/jm00076a006>.
- (17) Navarro-Ranninger, C.; Zamora, F.; Masaguer, J. R.; Pérez, J. M.; González, V. M.; Alonso, C. Palladium(II) Compounds of Putrescine and Spermine. Synthesis, Characterization, and DNA-Binding and Antitumor Properties. *J. Inorg. Biochem.* **1993**, *52* (1), 37–49. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(93\)85621-E](https://doi.org/10.1016/0162-0134(93)85621-E).
- (18) Zamora, F.; González, V. M.; Pérez, J. M.; Masaguer, J. R.; Alonso, C.; Navarro-Ranninger, C. Pd(II) and Pt(II) Complexes of 2-Phenyl- and 2-Benzyl-Imidazoline: Synthesis, Structural Characterization, DNA Modification and in Vitro Antileukaemic Activity. *Appl. Organomet. Chem.* **1997**, *11* (8), 659–666. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0739\(199708\)11:8<659::AID-AOC614>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0739(199708)11:8<659::AID-AOC614>3.0.CO;2-B).
- (19) Cinellu, M. A.; Ganadu, M. L.; Minghetti, G.; Cariati, F.; Demartin, F.; Manassero, M. Adducts and Cyclometallated Derivatives of Palladium(II) with Some 1,4-Benzodiazepin-2-Ones. Crystal and Molecular Structure of Trans-Dichlorobis[7-Chloro-1-(Cyclopropylmethyl)-1,3-Dihydro-5-Phenyl-2H-1,4-Benzodiazepin-2-One] Palladium(II). *Inorganica Chim. Acta* **1988**, *143* (2), 197–207. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)83689-0](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)83689-0).
- (20) Tušek-Božić, L.; Komac, M.; Ćurić, M.; Lyčka, A.; D'Alpaos, M.; Scarcia, V.; Furlani, A. Five-Membered [C,N] and [N,O] Metallocyclic Complexes of Palladium(II) with Monoalkyl [α -(4-Benzeneazoanilino)-N-Benzyl]Phosphonates: Synthesis, Characterization and Antitumour Activity. *Polyhedron* **2000**, *19* (8), 937–948. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(00\)00339-9](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(00)00339-9).
- (21) Rodrigues, E. G.; Silva, L. S.; Fausto, D. M.; Hayashi, M. S.; Dreher, S.; Santos, E. L.; Pesquero, J. B.; Travassos, L. R.; Caires, A. C. F. Cyclopalladated Compounds as Chemotherapeutic Agents: Antitumor Activity against a Murine Melanoma Cell Line. *Int. J. Cancer* **2003**, *107* (3), 498–504. <https://doi.org/10.1002/ijc.11434>.
- (22) Peláez, Ma. A.; Ramírez, T.; Martínez, M.; Sharma, P.; Álvarez, C.; Gutiérrez, R. Synthesis, Crystal Structures and Anticancer Activity of the New Chiral Mono- and Dinuclear Palladium(II) Complexes Derived from (S)-(-)-(1-Phenylethylimino)Benzylphenylketone. *Z. Für Anorg. Allg. Chem.* **2004**, *630* (10), 1489–1494. <https://doi.org/10.1002/zaac.200400140>.
- (23) Rocha, M. C. da; Santana, A. M.; Ananias, S. R.; Almeida, E. T. de; Mauro, A. E.; Placeres, M. C. P.; Carlos, I. Z. Citotoxicity and Immune Response Induced by Organopalladium(II) Compounds in Mice Bearing Ehrlich Ascites Tumour. *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, *18*, 1473–1480. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000800004>.
- (24) Karami, K.; Lighvan, Z. M.; Jahromi, M. D.; Lipkowski, J.; Momtazi-borojeni, A. A. Synthesis, Electronic Structure and Molecular Docking of New Organometallic Palladium (II) Complexes with Intercalator Ligands: The Influence of Bridged Ligands on Enhanced DNA/Serum Protein Binding and in Vitro Antitumoral Activity. *J. Organomet. Chem.* **2017**, *827*, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2016.10.001>.
- (25) Karami, K.; Alinaghi, M.; Amirghofran, Z.; Lipkowski, J.; Abbas Momtazi-borojeni, A. A Saccharinate-Bridged Palladacyclic Dimer with a Pd–Pd Bond: Experimental and Molecular Docking Studies of the Interaction with DNA and BSA and in Vitro Cytotoxicity against Human Cancer Cell Lines. *New J. Chem.* **2018**, *42* (1), 574–586. <https://doi.org/10.1039/C7NJ03138F>.
- (26) Sen, A.; Lai, T.-W.; Thomas, R. R. Reactions of Electrophilic Transition Metal Cations with Olefins and Small Ring Compounds. Rearrangements and Polymerizations. *J. Organomet. Chem.* **1988**, *358* (1), 567–588. [https://doi.org/10.1016/0022-328X\(88\)87104-3](https://doi.org/10.1016/0022-328X(88)87104-3).

- (27) Adawadkar, P.; Wilson, W. D.; Brey, W.; Gabbay, E. J. Stereospecific Interaction of Dipeptide Amides with DNA. Evidence for Partial Intercalation and Bending of the Helix. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97* (7), 1959–1961. <https://doi.org/10.1021/ja00840a062>.
- (28) Boehm, J. R.; Doonan, D. J.; Balch, A. L. *Preparation and some reactions of dimeric isocyanide complexes of palladium(I) and platinum(I)*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/ja00432a026>.
- (29) Murahashi, T.; Kurosawa, H. Organopalladium Complexes Containing Palladium–palladium Bonds. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *231* (1), 207–228. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00121-2](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00121-2).
- (30) Inoue, I.; Yamamoto, K.; Sakaki, S.; Murahashi, T. Heterometallic D8–D10 Coupling of Rh(I) and M(0) (M=Pd, Pt) in a Sandwich Framework of π -Conjugated Ligands. *Chem. – Eur. J.* **2021**, *27* (41), 10558–10562. <https://doi.org/10.1002/chem.202101133>.
- (31) Murahashi, T.; Otani, T.; Okuno, T.; Kurosawa, H. Coupling of Alkynes on a Pd–Pd Bond to Generate an Electrophilic μ -Butenediylidene Moiety. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39* (3), 537–540. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(20000204\)39:3<537::AID-ANIE537>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(20000204)39:3<537::AID-ANIE537>3.0.CO;2-S).
- (32) Fricke, C.; Sperger, T.; Mendel, M.; Schoenebeck, F. Catalysis with Palladium(I) Dimers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60* (7), 3355–3366. <https://doi.org/10.1002/anie.202011825>.
- (33) Murahashi, T.; Nagai, T.; Okuno, T.; Matsutani, T.; Kurosawa, H. Synthesis and Ligand Substitution Reactions of a Homoleptic Acetonitrile Dipalladium(i) complex Electronic Supplementary Information (ESI) Available: NMR Spectroscopic Data and Elemental Analysis for 6 and 7. See <http://www.rsc.org/Suppdata/Cc/B0/B004726k/>. *Chem. Commun.* **2000**, *0* (17), 1689–1690. <https://doi.org/10.1039/B004726K>.
- (34) Lin, W.; Wilson, S. R.; Girolami, G. S. *Synthesis and X-ray Crystal Structure of the New Palladium(I) Dimer [Pd₂(PMe₃)₆][hfac]₂ and Its Conversion to [PdMe(PMe₃)₃][hfac] via Activation of Phosphorus–Carbon Bonds*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/ic00088a032>.
- (35) Lemke, F. R.; Granger, R. M.; Morgenstern, D. A.; Kubiak, C. P. Photoreduction of Palladium Radical Cations. Transient Absorbance Kinetics of Electron Transfers to Photogenerated [Pd(CNMe)₃].Cntdot.+ Radicals. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (10), 4052–4054. <https://doi.org/10.1021/ja00166a060>.
- (36) Yamamoto, K.; Sugawa, T.; Murahashi, T. Multinuclear Coordination of Fused Benzene Ring Hydrocarbons. *Coord. Chem. Rev.* **2022**, *466*, 214575. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214575>.
- (37) Allegra, G.; Immirzi, A.; Porri, L. A New Type of Bis Arene-Metal Complex. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87* (6), 1394–1395. <https://doi.org/10.1021/ja01084a051>.
- (38) Kobayashi, Y.; Iitaka, Y.; Yamazaki, H. The Crystal and Molecular Structures of a Novel μ -Allyl Palladium Complex, μ -Allyl- μ -Iodo-Bis(Triphenylphosphinepalladium) Benzene Solvate. *Acta Crystallogr. Sect. B* **1972**, *28* (3), 899–906. <https://doi.org/10.1107/S0567740872003383>.
- (39) Werner, H.; Tune, D.; Parker, G.; Krüger, C.; Brauer, D. J. Preparation and Structure of Novel Binuclear Palladium Complexes Containing a Metal–Metal Bond: μ -(η -C₅H₅)- μ -(η -C₄H₇)Pd₂L₂. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14* (3), 185–186. <https://doi.org/10.1002/anie.197501851>.
- (40) *Univalent palladium complexes*. <https://doi.org/10.1021/ja00753a079>.
- (41) Murahashi, T.; Otani, T.; Mochizuki, E.; Kai, Y.; Kurosawa, H.; Sakaki, S. Remarkably Wide Range of Bond Distance Adjustment of D₉–d₉ Pd–Pd Interactions to Change in Coordination Environment. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (18), 4536–4537. <https://doi.org/10.1021/ja972206e>.

- (42) Kurosawa, H.; Murahashi, T. Novel Coordination Behavior of Unsaturated Hydrocarbon Ligands on Pd-Pd Bonds. *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73* (2), 295–298. <https://doi.org/10.1351/pac200173020295>.
- (43) Scattolin, T.; Bortolamiol, E.; Palazzolo, S.; Caligiuri, I.; Perin, T.; Canzonieri, V.; Demitri, N.; Rizzolio, F.; Cavallo, L.; Dereli, B.; V. Mane, M.; P. Nolan, S.; Visentin, F. The Anticancer Activity of an Air-Stable Pd(II)-NHC (NHC = N-Heterocyclic Carbene) Dimer. *Chem. Commun.* **2020**, *56* (81), 12238–12241. <https://doi.org/10.1039/D0CC03883K>.
- (44) *Chimica degli elementi di transizione e della serie dei lantanidi*. <https://iris.unive.it/handle/10278/3738306> (accessed 2023-11-30).
- (45) 16142.Pdf. <https://ds.amu.edu.et/xmlui/bitstream/handle/123456789/2049/16142.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (accessed 2023-11-30).
- (46) Yamanaka, M.; Mikami, K. Theoretical Study on the Tropos Nature of the BIPHEP–Pd(II)/DABN and DPEN Complexes: PIO Analysis of Phosphine–Pd(II) Interaction and Trans Influence. *Organometallics* **2005**, *24* (19), 4579–4587. <https://doi.org/10.1021/om050249v>.
- (47) Tolman, C. A. Electron Donor-Acceptor Properties of Phosphorus Ligands. Substituent Additivity. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92* (10), 2953–2956. <https://doi.org/10.1021/ja00713a006>.
- (48) Huynh, H. V.; Han, Y.; Jothibas, R.; Yang, J. A. ¹³C NMR Spectroscopic Determination of Ligand Donor Strengths Using N-Heterocyclic Carbene Complexes of Palladium(II). *Organometallics* **2009**, *28* (18), 5395–5404. <https://doi.org/10.1021/om900667d>.
- (49) Tolman, C. A. Steric Effects of Phosphorus Ligands in Organometallic Chemistry and Homogeneous Catalysis. *Chem. Rev.* **1977**, *77* (3), 313–348. <https://doi.org/10.1021/cr60307a002>.
- (50) *Percent buried volume for phosphine and N-heterocyclic carbene ligands: steric properties in organometallic chemistry - Chemical Communications (RSC Publishing)* DOI:10.1039/B922984A. https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2010/cc/b922984a?casa_token=3VIg9_ijYOUAAAAA:TUUultgceE3WpBIUEzgh7ocTIDgF517uR5uqs7RaF4exCXdyFAcrnlt7GkIirghIMuLGMth2kRGlcs (accessed 2023-11-30).
- (51) HAGEDORN, I.; TONJES, H. [Structure of xanthocillin, a new antibiotic]. *Pharm.* **1956**, *11* (6), 409–410.
- (52) Vesonder, R. F. Xanthocillin, A Metabolite of Eupenicillium Egyptiacum NRRL 1022. *J. Nat. Prod.* **1979**, *42* (2), 232–233. <https://doi.org/10.1021/np50002a016>.
- (53) Calderazzo, F. A Celebration of Inorganic Lives: Interview with Lamberto Malatesta. *Coord. Chem. Rev.* **2005**, *5–6* (249), 517–523. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.07.013>.
- (54) Massarotti, A.; Brunelli, F.; Aprile, S.; Giustiniano, M.; Tron, G. C. Medicinal Chemistry of Isocyanides. *Chem. Rev.* **2021**, *121* (17), 10742–10788. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00143>.
- (55) Ferstandig, L. L. **Carbon as a Hydrogen Bonding Base and Carbon-Hydrogen-Carbon Bonding**. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84* (18), 3553–3557. <https://doi.org/10.1021/ja00877a027>.
- (56) Cotton, F. A.; Zingales, F. The Donor-Acceptor Properties of Isonitriles as Estimated by Infrared Study. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83* (2), 351–355. <https://doi.org/10.1021/ja01463a022>.
- (57) Wang, B.; Gao, M.; Uosaki, K.; Taketsugu, T. A Quantum Chemical Study of Substituent Effects on CN Bonds in Aryl Isocyanide Molecules Adsorbed on the Pt Surface. *Phys.*

- Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22* (21), 12200–12208.
<https://doi.org/10.1039/D0CP00760A>.
- (58) Sung, K.; Chen, C.-C. Kinetics and Mechanism of Acid-Catalyzed Hydrolysis of Cyclohexyl Isocyanide and pKa Determination of N-Cyclohexylnitrilium Ion. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (29), 4845–4848. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)00863-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)00863-2).
- (59) D. Cunningham, I.; J. Buist, G.; R. Arkle, S. Chemistry of Isocyanides. Part 2. Nucleophilic Addition of Hydroxide to Aromatic Isocyanides in Aqueous Dimethyl Sulphoxide. Correlations of Rate with a Nucleophilicity Function. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, *0* (5), 589–593. <https://doi.org/10.1039/P29910000589>.
- (60) Wang, H.; Wang, W.; Jin, W. J. σ -Hole Bond vs π -Hole Bond: A Comparison Based on Halogen Bond. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (9), 5072–5104.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00527>.
- (61) Lim, Y. Y.; Stein, A. R. Acid-Catalyzed Solvolysis of Isonitriles. I. *Can. J. Chem.* **1971**, *49* (14), 2455–2459. <https://doi.org/10.1139/v71-402>.
- (62) Yousuf, M.; Haq, Z.-U.-; SHAIKH, N. N.; Choudhary, M. I. IN-SILICO BASED TECHNIQUES IN THE IDENTIFICATION OF POTENT β -GLUCORONIDASE INHIBITORS. US20170009272A1, January 12, 2017.
<https://patents.google.com/patent/US20170009272A1/en> (accessed 2023-12-11).
- (63) Scattolin, T.; Bortolamiol, E.; Palazzolo, S.; Caligiuri, I.; Perin, T.; Canzonieri, V.; Demitri, N.; Rizzolio, F.; Cavallo, L.; Dereli, B.; V. Mane, M.; P. Nolan, S.; Visentin, F. The Anticancer Activity of an Air-Stable Pd(i)-NHC (NHC = N-Heterocyclic Carbene) Dimer. *Chem. Commun.* **2020**, *56* (81), 12238–12241. <https://doi.org/10.1039/D0CC03883K>.
- (64) Melvin, P. R.; Nova, A.; Balcells, D.; Dai, W.; Hazari, N.; Hruszkewycz, D. P.; Shah, H. P.; Tudge, M. T. Design of a Versatile and Improved Precatalyst Scaffold for Palladium-Catalyzed Cross-Coupling: (H3-1-tBu-Indenyl)₂(μ -Cl)₂Pd₂. *ACS Catal.* **2015**, *5* (6), 3680–3688. <https://doi.org/10.1021/acscatal.5b00878>.
- (65) Sui-Seng, C.; Enright, G. D.; Zargarian, D. New Routes to H1- and (H3 \leftrightarrow η 5)-Indenylpalladium Complexes: Synthesis, Characterization, and Reactivities. *Organometallics* **2004**, *23* (6), 1236–1246. <https://doi.org/10.1021/om034253n>.
- (66) Edwards, D. A.; Tetrick, S. M.; Walton, R. A. The Vibrational Spectra of T-Butyl Isocyanide and the Homoleptic Cations [M(CNCMe₃)₆]N⁺ (M = Re, n = 1; M = Ru and Os, n = 2) as Their Hexafluorophosphate Salts. *J. Organomet. Chem.* **1988**, *349* (3), 383–391.
[https://doi.org/10.1016/0022-328X\(88\)87031-1](https://doi.org/10.1016/0022-328X(88)87031-1).
- (67) Baldwin, J. E.; Derome, A. E.; Riordan, P. D. Deoxygenation of Isocyanates to Isonitriles: A Mechanistic Study by Nuclear Magnetic Resonance. *Tetrahedron* **1983**, *39* (18), 2989–2994. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)92161-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)92161-1).
- (68) Galli, U.; Tron, G. C.; Purghè, B.; Grosa, G.; Aprile, S. Metabolic Fate of the Isocyanide Moiety: Are Isocyanides Pharmacophore Groups Neglected by Medicinal Chemists? *Chem. Res. Toxicol.* **2020**, *33* (4), 955–966.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00504>.
- (69) *CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay*. https://ita.promega.com/products/cell-health-assays/cell-viability-and-cytotoxicity-assays/celltiter_glo-luminescent-cell-viability-assay/ (accessed 2023-12-18).
- (70) *Linea cellulare Cellosaurus Kuramochi (CVCL_1345)*. https://www.cellosaurus.org/CVCL_1345 (accessed 2023-12-18).
- (71) *Cellosaurus cell line A2780 (CVCL_0134)*. https://www.cellosaurus.org/CVCL_0134 (accessed 2023-12-18).
- (72) *Cellosaurus cell line A2780cis (CVCL_1942)*. https://www.cellosaurus.org/CVCL_1942 (accessed 2023-12-18).

- (73) *Cellosaurus cell line OVCAR-5 (CVCL_1628)*. https://www.cellosaurus.org/CVCL_1628 (accessed 2023-12-18).
- (74) *Linea cellulare Cellosaurus MRC-5 (CVCL_0440)*. https://www.cellosaurus.org/CVCL_0440 (accessed 2023-12-18).
- (75) *Gibco EfficientFeed+ Supplements - IT*. <https://www.thermofisher.com/uk/en/home/life-science/bioproduction/gibco-bioprocessing/feeds-supplements/gibco-efficientfeed-supplements.html> (accessed 2023-12-18).
- (76) Son, D. J.; Lee, J. W.; Lee, Y. H.; Song, H. S.; Lee, C. K.; Hong, J. T. Therapeutic Application of Anti-Arthritis, Pain-Releasing, and Anti-Cancer Effects of Bee Venom and Its Constituent Compounds. *Pharmacol. Ther.* **2007**, *115* (2), 246–270. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.04.004>.
- (77) Ban, T. A. The Role of Serendipity in Drug Discovery. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2006**, *8* (3), 335–344. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.3/tban>.
- (78) Golin, M. SERENDIPITY—BIG WORD IN MEDICAL PROGRESS: DOES “PURE LUCK” DESERVE ALL THE CREDIT? *J. Am. Med. Assoc.* **1957**, *165* (16), 2084–2087. <https://doi.org/10.1001/jama.1957.72980340011013>.
- (79) Xavier, M. G. Eletrossíntese de nanoestruturas de polianilina. **2010**.
- (80) Hargrave-Thomas, E.; Yu, B.; Reynisson, J. Serendipity in Anticancer Drug Discovery. *World J. Clin. Oncol.* **2012**, *3* (1), 1–6. <https://doi.org/10.5306/wjco.v3.i1.1>.
- (81) Ewing, J. A.; Grant, W. J. THE BROMIDE HAZARD. *South. Med. J.* **1965**, *58*, 148–152. <https://doi.org/10.1097/00007611-196502000-00002>.
- (82) *The Discovery of LSD*. <https://catbull.com/alamut/Bibliothek/HOFMANN%20Albert/discovery/lsd.htm> (accessed 2023-12-13).
- (83) Liner, K.; Brown, C.; McGirt, L. Y. Clinical Potential of Mechlorethamine Gel for the Topical Treatment of Mycosis Fungoides-Type Cutaneous T-Cell Lymphoma: A Review on Current Efficacy and Safety Data. *Drug Des. Devel. Ther.* **2018**, *12*, 241–254. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S137106>.
- (84) Chan, E. S. L.; Cronstein, B. N. Methotrexate—How Does It Really Work? *Nat. Rev. Rheumatol.* **2010**, *6* (3), 175–178. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.5>.
- (85) Abdelgalil, A. A.; Alkahtani, H. M.; Al-Jenoobi, F. I. Chapter Four - Sorafenib. In *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*; Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology; Academic Press, 2019; Vol. 44, pp 239–266. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2018.11.003>.
- (86) *Sorafenib - Aimac - Associazione Italiana Malati di Cancro*. <https://www.aimac.it/farmaci-tumore/inibitori-crescita-tumorale/sorafenib> (accessed 2023-12-13).
- (87) *Linfoma di Hodgkin: sintomi, prevenzione, cause, diagnosi*. <https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/guida-ai-tumori/linfoma-di-hodgkin> (accessed 2023-12-14).
- (88) *Linfoma non hodgkin: sintomi, prevenzione, cause, diagnosi*. <https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/guida-ai-tumori/linfoma-non-hodgkin> (accessed 2023-12-14).
- (89) *Sarcoma di Kaposi - Patologie della cute*. Manuale MSD, versione per i pazienti. <https://www.msdmanuals.com/it-it/casa/patologie-della-cute/cancro-della-pelle/sarcoma-di-kaposi> (accessed 2023-12-14).
- (90) Dhyani, P.; Quispe, C.; Sharma, E.; Bahukhandi, A.; Sati, P.; Attri, D. C.; Szopa, A.; Sharifi-Rad, J.; Docea, A. O.; Mardare, I.; Calina, D.; Cho, W. C. Anticancer Potential of Alkaloids: A Key Emphasis to Colchicine, Vinblastine, Vincristine, Vindesine, Vinorelbine and

- Vincamine. *Cancer Cell Int.* **2022**, *22* (1), 206. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02624-9>.
- (91) Santen, R. J.; Misbin, R. I. Aminoglutethimide: Review of Pharmacology and Clinical Use. *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* **1981**, *1* (2), 95–119. <https://doi.org/10.1002/j.1875-9114.1981.tb03557.x>.
- (92) Gong, L.; Thorn, C. F.; Bertagnolli, M. M.; Grosser, T.; Altman, R. B.; Klein, T. E. Celecoxib Pathways: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Pharmacogenet. Genomics* **2012**, *22* (4), 310–318. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32834f94cb>.
- (93) Burgert, E. O., Jr.; Glidewell, O. Dactinomycin in Wilms' Tumor. *JAMA* **1967**, *199* (7), 464–468. <https://doi.org/10.1001/jama.1967.03120070076010>.
- (94) *Il Tumore di Wilms nei bambini*. <https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/guida-ai-tumori-pediatrici/tumore-di-wilms-del-bambino> (accessed 2023-12-14).
- (95) Rivankar, S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J. Cancer Res. Ther.* **2014**, *10* (4), 853. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.139267>.
- (96) *Leucemia mieloide cronica: sintomi, prevenzione e cause*. <https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/guida-ai-tumori/leucemia-mieloide-cronica> (accessed 2023-12-14).
- (97) Deininger, M.; Buchdunger, E.; Druker, B. J. The Development of Imatinib as a Therapeutic Agent for Chronic Myeloid Leukemia. *Blood* **2005**, *105* (7), 2640–2653. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-08-3097>.
- (98) Jordan, V. C. Tamoxifen: A Most Unlikely Pioneering Medicine. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2* (3), 205–213. <https://doi.org/10.1038/nrd1031>.
- (99) Lenz, W.; Knapp, K. Die Thalidomid-Embryopathie*. *DMW - Dtsch. Med. Wochenschr.* **1962**, *87* (24), 1232–1242. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1111892>.
- (100) Stephens, T. D.; Bunde, C. J. W.; Fillmore, B. J. Mechanism of Action in Thalidomide Teratogenesis. *Biochem. Pharmacol.* **2000**, *59* (12), 1489–1499. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(99\)00388-3](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00388-3).
- (101) Ayd, F. J. and B. *Discoveries in Biological Psychiatry*. eweb:2112. <https://repository.library.georgetown.edu/handle/10822/763309> (accessed 2023-12-13).