



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA

SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI PALLADATI INDENILICI CON DIVERSI PRECURSORI DI LEGANTI CARBENICI  
N-ETEROCICLICI

Relatore: Dott. Thomas Scattolin

Laureando: Giacomo Baio

2009824

Anno Accademico 2022/2023

## Sommario

1	Introduzione.....	3
1.1	Composti di metalli di transizione come antitumorali .....	3
1.2	Composti organometallici di palladio.....	4
1.2.1	Frammento indenilico .....	6
1.2.2	Palladio indenile .....	7
1.2.3	Palladati.....	7
1.3	Sali di azolio.....	9
1.3.1	Carbeni N-eterociclici .....	9
2	Scopo della tesi.....	9
3	Risultati e discussione.....	10
3.1	Precursore $[\text{Pd}(\mu - \text{Cl})(\text{indenile})]_2$ .....	11
3.2	Sintesi di palladati indenilici con precursori di carbeni N-eterociclici ad anello espanso .....	11
3.3	Sintesi di palladati indenilici con precursori di carbeni N-eterociclici con sostituenti alchilici e arilici stericamente ingombrati .....	13
3.4	Sintesi di palladati indenilici con precursori di carbeni N-eterociclici con sostituenti al fosfonio e tiozuccheri .....	14
3.5	Stabilità cinetica dei palladati in soluzione fisiologica .....	15
4	Parte Sperimentale.....	16
4.1	Materiali e metodi.....	16
4.2	Sintesi del complesso $[(6\text{Mes}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	16
4.3	Sintesi del complesso $[(7\text{Mes}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	17
4.4	Sintesi del complesso $[(\text{IDD}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	18
4.5	Sintesi del complesso $[(\text{SIDD}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	18
4.6	Sintesi del complesso $[(o\text{-OMe NHC}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	19
4.7	Sintesi del complesso $[(\text{IPr}^*\text{tol}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	19
4.8	Sintesi del complesso $[(\text{tiosugar-SIPr}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	20
4.9	Sintesi del complesso $[(\text{phosphonium-NHC}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$ .....	20
5	Conclusione.....	21
6	Bibliografia .....	22

# 1 Introduzione

## 1.1 Composti di metalli di transizione come antitumorali

Negli anni '60 Dr. Barnett Rosenberg studiava gli effetti di un campo elettrico sulla crescita dei batteri. Lui e i suoi collaboratori stavano cercando un modo per inibire la riproduzione batterica tramite l'applicazione di un campo elettrico per controllare la divisione cellulare<sup>1</sup>; durante gli esperimenti si accorsero che usando elettrodi di platino si inibiva la divisione cellulare, cosa che non succedeva con elettrodi di grafite. Incuriosito da questa scoperta Rosenberg cercò di capire perché il platino, conosciuto per la sua inerzia, stava agendo in quel modo. Osservarono che il platino rilasciava ioni nel tampone ammoniacale del sistema e che questo generava una serie di composti di Pt(II), tra cui il cisplatino. Proprio a questo composto è stata attribuita l'attività antiproliferativa osservata.

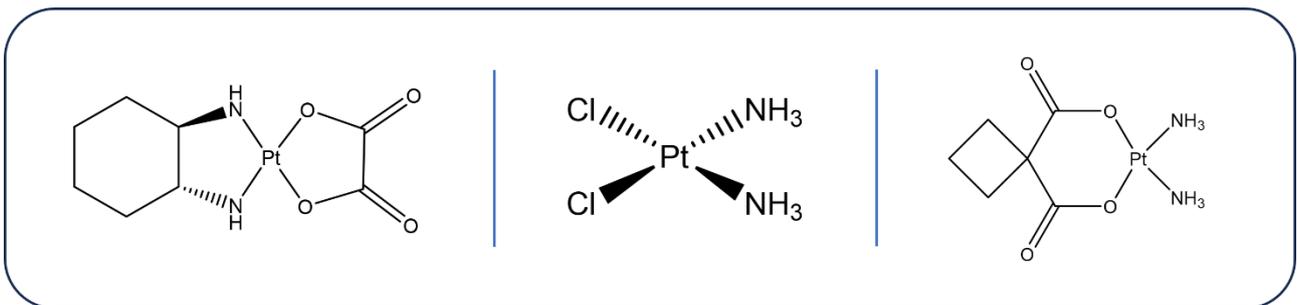


Figura 1.1: I tre farmaci antitumorali usati in medicina. A sinistra l'oxaliplatino, al centro il cisplatino e a destra il carboplatino

Nel 1978 la *Food and Drug Administration* (FDA) approvò il cisplatino come farmaco antitumorale per trattare tumori testicolari e, in seguito, per il trattamento di altri tipi di tumori come ovarico, della vescica e del polmone. La scoperta delle proprietà antitumorali del cisplatino ha aperto le porte allo studio di composti di coordinazione e composti organometallici come potenziali agenti antineoplastici. Questi ultimi sono composti in cui il centro metallico è legato ad almeno un frammento organico. La presenza del legame carbonio-metallo è essenziale: in quanto legame forte conferisce stabilità al complesso e inoltre non consente al metallo di essere presente liberamente in ambiente fisiologico che causerebbe una grave tossicità. Nonostante la ricerca però il cisplatino rimane il farmaco inorganico antitumorale più efficace e, assieme ai suoi derivati, l'unico in commercio. Tuttavia, il suo uso è limitato in quanto causa gravi effetti collaterali al cervello, al fegato e allo stomaco e, contemporaneamente, molti ceppi tumorali sono resistenti intrinsecamente o acquisiscono resistenza al farmaco. Assieme al cisplatino esistono altri due principali derivati ovvero il carboplatino e l'oxaliplatino. Essi non danneggiano gravemente il fegato come nel caso del cisplatino ma hanno comunque degli effetti collaterali, per questo i tre vengono spesso utilizzati in combinazione in chemioterapia in modo tale da massimizzare l'efficacia del farmaco. I grossi limiti di questi farmaci hanno indotto gli scienziati a ricercare altri tipi di farmaci a base di metalli di transizione come oro e rutenio. Alcuni hanno mostrato grande potenziale come agenti antitumorali, tra questi sono presenti l'Auranofin, un farmaco a base di oro usato principalmente contro l'artrite che ha mostrato potenziali proprietà antitumorali, NAMI-A e (N)KP1339, entrambi composti a base di rutenio che hanno dimostrato una promettente attività antimetastatica. Nonostante questi promettenti risultati però gli unici farmaci inorganici antitumorali sul mercato sono i tre sopracitati a base di platino.

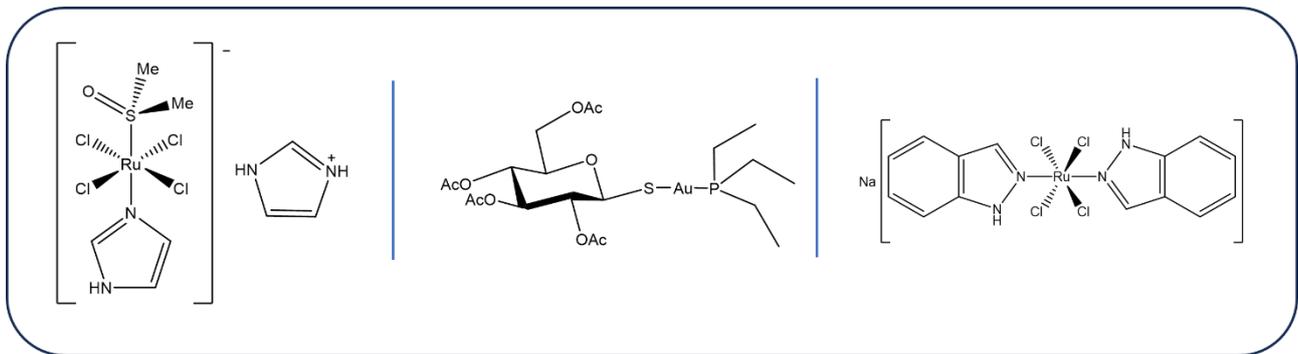


Figura 1.2: NAMI-A a sinistra, Auranofin in centro, (N)KP1339 a destra

## 1.2 Composti organometallici di palladio

Spinti dalla somiglianza con il platino, alcuni scienziati hanno recentemente diretto le loro ricerche verso i complessi del palladio. Quest'ultimo possiede una chimica di coordinazione molto simile al platino appartenendo allo stesso gruppo: entrambi preferiscono la configurazione  $nd^8$  (stato d'ossidazione +2) e formano quasi esclusivamente complessi quadrato planari. Nonostante le notevoli somiglianze tra i due elementi ci sono anche importanti differenze che hanno inizialmente scoraggiato lo studio del palladio. Infatti, i complessi del palladio sono molto più reattivi alle reazioni di sostituzione rispetto agli omologhi del platino ( $10^4$ - $10^5$  più veloci). La grande labilità dei leganti rende la reazione di idrolisi in ambiente fisiologico favorita, la quale comporta la formazione di specie di palladio più reattive che sono incapaci di raggiungere il target biologico all'interno delle cellule tumorali.

Per ovviare a queste criticità è necessario scegliere con cura i leganti in modo tale da rendere il legame con il palladio il più forte possibile. In particolar modo è stato visto che l'uso di leganti polidentati o monodentati stericamente ingombrati e/o un forte legame palladio-carbonio risolve il problema della labilità dei complessi<sup>2</sup>. Per questo motivo i complessi organometallici di palladio hanno ricevuto sempre più attenzione in questo ambito. Studi recenti hanno dimostrato una promettente citotossicità sia *in vivo* che *in vitro* per diversi ceppi tumorali. Il fatto che agissero anche su tumori resistenti al cisplatino e derivati ha aumentato l'interesse verso i complessi del palladio. Questo fatto evidenzia come i complessi di palladio abbiano un diverso meccanismo di azione sui tumori rispetto ai farmaci a base di platino. Questi ultimi agiscono direttamente sul DNA legandosi direttamente ad un *pattern* di basi azotate specifico, solitamente due guanine attaccate oppure una guanina e un'adenina vicine. Nel caso della formazione dell'addotto con due guanine adiacenti viene indotta una distorsione dell'angolo tra le due basi e quindi un parziale svolgimento dell'elica. La distorsione conformazionale viene riconosciuta da proteine che hanno il compito di riparare il danno o, sperabilmente, di portare la cellula ad apoptosi.

I complessi di palladio che hanno mostrato proprietà antitumorali interessanti hanno una formula molecolare del tipo  $L_2PdX_2$  dove due siti di coordinazione X sono occupati dal frammento organico; questa parte assieme al palladio compone il frammento organometallico ed è responsabile del meccanismo di azione del composto, mentre i due siti di coordinazione L sono occupati da leganti ancillari che hanno la funzione, solitamente, di aiutare il composto ad arrivare al target biologico o di modularne la reattività.

È stato visto come i due frammenti organometallici che conferiscono le proprietà più promettenti come antitumorali siano il palladio allile e il palladaciclopentadienile<sup>2</sup>.

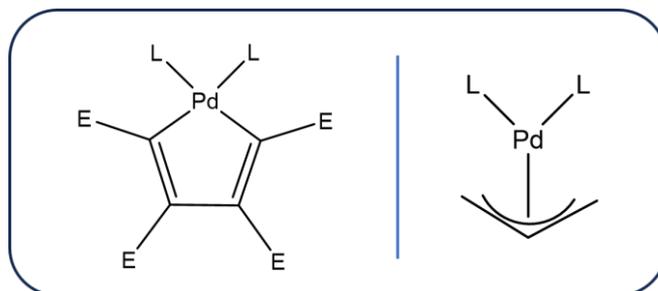


Figura 1.3: Frammenti organometallici che hanno mostrato una promettente attività antitumorale. A sinistra il palladaciclopentadienile e a destra il palladio allile

Per quanto riguarda il palladaciclopentadienile la reattività era ben conosciuta in catalisi ma nell'ambito biologico non era ancora stata esplorata. I leganti ancillari impiegati sono forti elettron-donatori come carbeni *N*-eterociclici (NHC) e fosfine (PPh<sub>3</sub> e PTA) oppure isonitrili. Questi leganti hanno l'obiettivo di formare complessi molto stabili che resistano anche in condizioni fisiologiche.

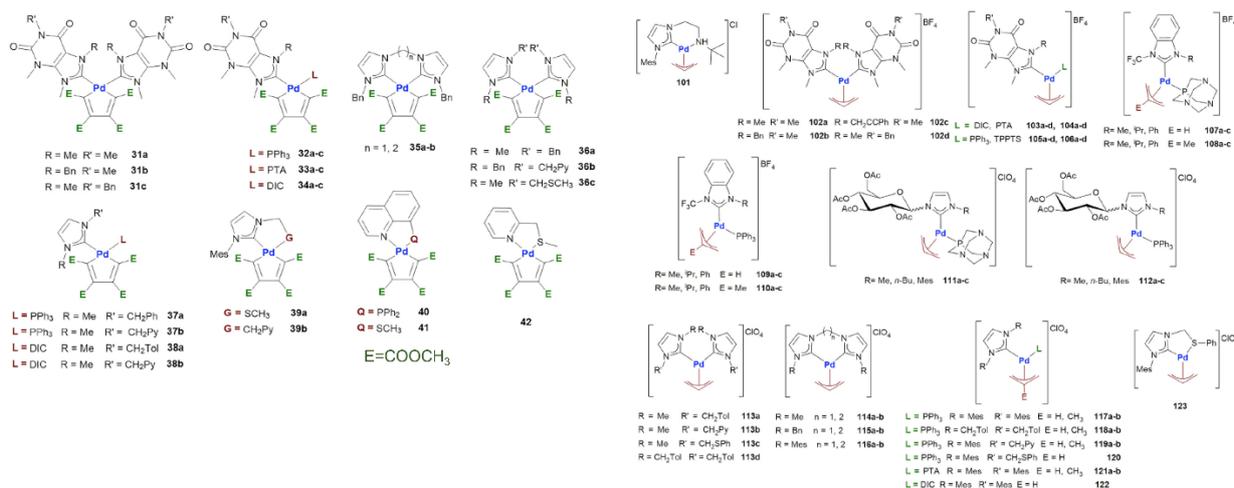


Figura 1.4: I composti più promettenti di palladio come antitumorali sebbene non siano le uniche due classi di composti. A sinistra ci sono i palladaciclopentadienile, mentre a destra complessi con il frammento palladio allile<sup>2</sup>

Sono state impiegate anche varianti di NHC con un frammento purinico in modo tale da rendere ancora più compatibili i complessi con l'ambiente cellulare. Questi tipi di composti hanno mostrato un'attività antitumorale comparabile o addirittura migliore del cisplatino verso due ceppi tumorali diversi ([A2780] e [A2780cis]) di cui uno resistente al cisplatino. I composti con leganti poco ingombrati come PTA o DIC (rispettivamente composti 33 e 34 in Figura 1.4) hanno mostrato la migliore reattività e, inoltre, tutti i composti hanno un valore di IC<sub>50</sub> simile tra di loro il che suggerisce un meccanismo di azione diverso da quello del cisplatino. Oltre a ciò, i composti contenenti PTA hanno mostrato una tendenza a indurre apoptosi ed essere selettivi verso le cellule tumorali rispetto alle cellule sane<sup>2</sup>.

D'altra parte, sono stati condotti studi più approfonditi su complessi recanti NHC chelanti e monodentati, NHC/PPh<sub>3</sub>, NHC/DIC, leganti allo zolfo e all'azoto più o meno labili. Sono stati tutti testati su sei diversi tipi di ceppi tumorali e i complessi con leganti ancillari saldamente legati al centro metallico sono quelli che si sono rivelati più promettenti<sup>2</sup>.

Similmente sono stati testati complessi derivati da Pd(II)-η<sup>3</sup>-allile conosciuti soprattutto per la loro attività catalitica nelle reazioni di cross-coupling. Sono stati testati composti che recavano almeno un legante NHC e, in particolare, complessi con PTA o PPh<sub>3</sub> come co-

leganti sono risultati essere i più promettenti rimanendo inattivi verso le cellule sane<sup>2</sup>. Grazie a questi risultati incoraggianti si è iniziato ad indagare approfonditamente sul meccanismo e ricercare nuovi promettenti frammenti organici.

### 1.2.1 Frammento indenilico

Visti i risultati promettenti dei complessi allilici di palladio, si è esplorata un'altra classe di composti organometallici il cui frammento organico è l'indenile. Vista la somiglianza di indenile ed allile si può presumere che la reattività sia simile. L'indenile si riferisce ad una specie anionica derivata dall'indene, quest'ultimo è un idrocarburo biciclico aromatico composto da un anello benzenico fuso ad un ciclopentene. L'indenile (Ind) è un legante aromatico a 6 elettroni come il ciclopentadienile (Cp) ed ha suscitato interesse dal 1969 per le proprietà che esso conferisce al complesso, proprietà solitamente migliori del suo analogo sopraccitato ciclopentadienile. In generale, è stato visto che, per quanto riguarda la cinetica di sostituzione dei leganti, i complessi  $\text{IndML}_n$  subiscono uno scambio di legante L ad una velocità maggiore rispetto ai complessi  $\text{CpML}_n$ <sup>3</sup>.

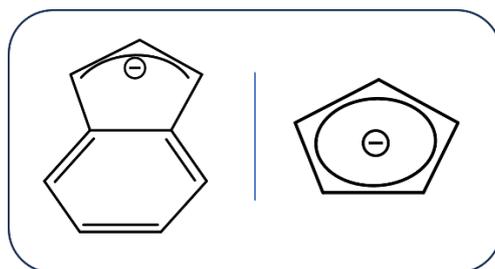


Figura 1.5: I due frammenti organici trattati in questo paragrafo a confronto. A sinistra l'indenile e a destra il ciclopentadienile

Le prime evidenze di questo fenomeno furono portate da Mawby e Hart-Davis nel 1969, si accorsero che, nella reazione di  $(\text{Cp/Ind})\text{Mo}(\text{CO})_3\text{Me}$  con  $\text{PR}_3$ , il processo decorreva con una velocità maggiore di uno o due ordini di grandezza maggiore rispetto all'analogo ciclopentadienilico. La reazione segue un meccanismo associativo in quanto  $\Delta S^\ddagger$  è negativo e la velocità dipende dalla concentrazione di  $\text{PR}_3$ , il frammento indenilico facilita la reazione grazie ad un cambio di apticità da  $\eta^5$  a  $\eta^3$  il che libera un sito di coordinazione del centro metallico aiutando l'attacco del legante entrante. Ulteriori esperimenti posero in evidenza come molte reazioni di sostituzione erano facilitate dalla presenza del frammento indenilico il quale promuove sia il meccanismo dissociativo che associativo con quest'ultimo più favorito di circa 5 ordini di grandezza<sup>3</sup>.

Il meccanismo dissociativo è favorito dal fatto che l'intermedio  $\text{IndML}_{n-1}$  viene stabilizzato dalla donazione elettronica dell'indenile, maggiore rispetto al ciclopentadienile. D'altra parte, il meccanismo associativo viene attribuito alla propensione dell'indenile a cambiare apticità. In questo senso l'associazione di un legante entrante con un centro metallico saturo viene stabilizzata da una diminuzione di coordinazione dell'indenile, in questo modo viene diminuita la donazione elettronica dell'indenile verso il centro metallico. La destabilizzazione dovuta all'abbassamento di apticità viene compensata dal guadagno energetico delle re-aromatizzazione dell'anello benzenico. Questo fenomeno è conosciuto con il nome di effetto indenilico ed è maggiormente pronunciato in sostituzioni associative che coinvolgono complessi a 18 elettroni. Tutte queste proprietà rendono l'indenile un legante molto interessante in chimica organometallica.

### 1.2.2 Palladio indenile

I complessi organometallici derivati da Pd(II)-indenile trovano numerose applicazioni, soprattutto in catalisi. Le proprietà uniche del frammento indenilico e la versatilità del palladio rendono questi composti estremamente preziosi in molte aree. La loro abilità di attivare e funzionalizzare il legame C-H consente loro di formare legami C-C o C-X, per questo sono utilizzati in molte reazioni di arilazione o alchilazione e anche come catalizzatori in reazioni di polimerizzazione e coupling Mizoroki-Heck<sup>4</sup>.

Recentemente è stata sintetizzata una serie di precatalizzatori, [PdCl(NHC)(1-<sup>t</sup>Bu-indenile)] con un ampio catalogo di NHC (carbeni N-eterociclici), che si sono mostrati efficienti nelle reazioni di Buchwald-Hartwig e Suzuki-Miyaura in diversi solventi. Il frammento 1-<sup>t</sup>Bu-indenile gioca un ruolo fondamentale nell'indurre la formazione di specie attive di Pd(0) e sfavorire la produzione di dimeri inattivi di Pd(I)<sup>5</sup>.

Recentemente sono stati studiati anche complessi cationici del palladio-indenile, una classe di composti che rimane comunque poco esplorata se si pensa alle importanti applicazioni dei complessi allilici analoghi, essenziali nel ciclo catalitico Tsuji-Trost<sup>4</sup>. Usando fosfine come leganti ancillari, l'indenile subisce facilmente un attacco nucleofilo da parte di molti leganti. Inoltre, è stata esplorata anche la loro attività in ambiente biologico, mostrando una buona efficacia verso cellule tumorali, con valori di IC<sub>50</sub> comparabili o addirittura minori del cisplatino verso tumori ovarici (OVCAR-5, A2780 e A2780cis).

È importante sottolineare che il metodo di coordinazione dell'indenile non è mai puramente  $\eta^3$ , piuttosto è una coordinazione intermedia tra  $\eta^3$  e  $\eta^5$ , la quale si può quantificare attraverso parametri strutturali e spettroscopici ben definiti.

### 1.2.3 Palladati

Tra tutti i composti organometallici del palladio quelli che hanno almeno un legante carbenico N-eterociclico (NHC) e il frammento Pd(II)- $\eta^3$ -allile hanno mostrato un valore di IC<sub>50</sub> basso anche contro linee tumorali resistenti al cisplatino. Di questi derivati di Pd(II)-allile recentemente sono stati studiati una classe particolare, ovvero palladati del tipo [NHC·H][PdCl<sub>2</sub>(R-allile)]<sup>6</sup>. Essi sono stati isolati per la prima volta nel 2017 e sono intermedi essenziali per la produzione di precatalizzatori importanti del tipo [Pd(NHC)Cl(R-allile)]. Infatti, facendo reagire il composto [Pd( $\mu$ -Cl)(R-allile)]<sub>2</sub> con un sale di imidazolio in presenza di una base debole si forma come intermedio il palladato. Questa via sintetica rappresenta il modo più semplice ed ecosostenibile per ottenere complessi metallo-NHC ed è conosciuta come "*weak base route*". I palladati di questo tipo possono essere sintetizzati anche per via mecanochimica semplicemente macinando il sale di imidazolio e il precursore di palladio. Vista l'analogia con il frammento allilico, anche i palladati indenilici del tutto simili possono essere sintetizzati, anche se la loro reattività non è stata esplorata approfonditamente come la controparte allilica.

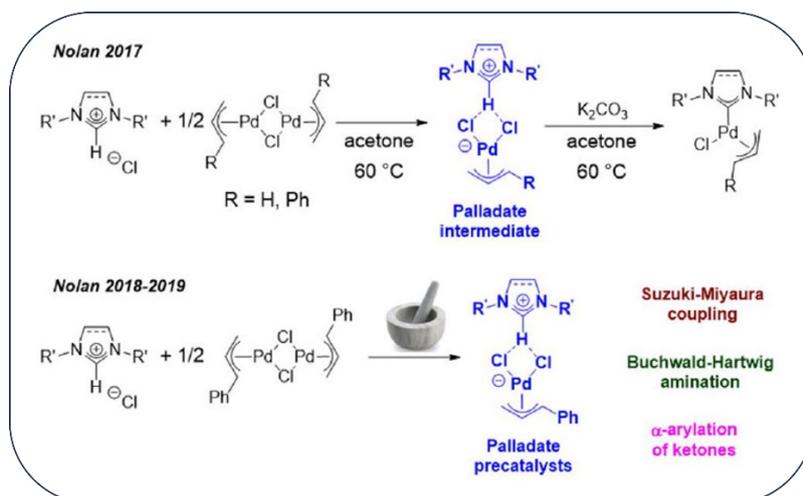


Figura 1.6: I due metodi di sintesi per ottenere i palladati, entrambi messi a punto da Nolan e collaboratori.<sup>6</sup>

Data la semplicità e l'ecosostenibilità della sintesi e la stabilità in ambiente fisiologico, questi composti sono degli ottimi candidati per test biologici. I composti hanno mostrato una buona attività antitumorale con valori di  $IC_{50}$ , in molti casi, minori del cisplatino. I risultati mostrano che la citotossicità dei complessi allilici e indenilici è pressoché simile, i valori variano molto in base alla struttura del frammento imidazolico. L'attività antiproliferativa viene incrementata secondo tre fattori principali: i complessi con sali di azolio insaturi risultano avere un'attività maggiore rispetto alla controparte satura; la presenza di gruppi elettron attrattori o gruppi stericamente ingombrati nei gruppi R dei sali di azolio aumenta la citotossicità verso i tumori.

Dei composti analizzati nell'articolo, sette sono risultati più efficaci del cisplatino in tutti i ceppi tumorali ovarici testati; due di questi sono palladati indenilici. Vista l'efficacia dei composti verso cellule tumorali resistenti al cisplatino si evidenzia il diverso meccanismo di azione rispetto a quest'ultimo. Precedentemente è stato dimostrato che composti cationici del tipo  $[Pd(NHC)(PTA)(allyl)]X$  hanno come target biologico i mitocondri all'interno delle cellule tumorali; infatti, le cellule trattate mostravano una disfunzione mitocondriale iniziale che induceva all'attivazione del processo di apoptosi.

Complex	A2780	A2780cis	OVCAR5
<b>Cisplatin</b>	<b>0.3 ± 0.1</b>	<b>20 ± 3</b>	<b>3.4 ± 0.9</b>
[IPr·H][PdCl <sub>2</sub> (allyl)] (2 a)	0.33 ± 0.08	2.04 ± 0.06	0.6 ± 0.4
[IMes·H][PdCl <sub>2</sub> (allyl)] (2 b)	0.08 ± 0.03	0.7 ± 0.2	1.7 ± 0.2
[SIPr·H][PdCl <sub>2</sub> (allyl)] (2 c)	3.9 ± 0.3	16 ± 6	> 100
[SiMes·H][PdCl <sub>2</sub> (allyl)] (2 d)	0.04 ± 0.01	0.79 ± 0.06	5.30 ± 0.09
[IPr <sup>Cl</sup> ·H][PdCl <sub>2</sub> (allyl)] (2 e)	0.12 ± 0.04	0.17 ± 0.06	0.5 ± 0.1
[IPr*·H][PdCl <sub>2</sub> (allyl)] (2 f)	0.19 ± 0.07	0.2 ± 0.1	0.08 ± 0.02
[IPr·H][PdCl <sub>2</sub> (indenyl)] (3 a)	0.55 ± 0.02	0.78 ± 0.02	6 ± 1
[IMes·H][PdCl <sub>2</sub> (indenyl)] (3 b)	0.3 ± 0.1	3 ± 2	9 ± 1
[SIPr·H][PdCl <sub>2</sub> (indenyl)] (3 c)	1.4 ± 0.1	2.9 ± 0.1	4.2 ± 0.7
[SiMes·H][PdCl <sub>2</sub> (indenyl)] (3 d)	1.5 ± 0.2	21 ± 5	> 100
[IPr <sup>Cl</sup> ·H][PdCl <sub>2</sub> (indenyl)] (3 e)	0.17 ± 0.06	0.24 ± 0.04	0.8 ± 0.2
[IPr*·H][PdCl <sub>2</sub> (indenyl)] (3 f)	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.02 ± 0.01

Figura 1.7: Tutti i complessi sintetizzati nell'articolo con i loro valori di  $IC_{50}$  contro i vari ceppi tumorali.<sup>6</sup>

Considerata l'efficacia dei palladati allilici anionici è stata testata la loro reattività come potenziali inibitori della tioredossina reduttasi (TrxR). La riduzione della tioredossina è di fondamentale importanza nel ciclo metabolico cellulare, la tioredossina è sovraespressa nelle cellule tumorali per compensare il loro metabolismo inefficiente, il quale preferisce la fermentazione lattica rispetto alla respirazione aerobica come fonte di energia. In questo modo la cellula tumorale riesce a produrre solo 2 molecole di ATP per molecola di glucosio

contro le 38 molecole prodotte dalla respirazione aerobica. Questa “disfunzione” del metabolismo porta ad una maggiore richiesta di glucosio da parte delle cellule tumorali conosciuto come effetto Warburg.

Dai risultati dell'articolo emerge che l'attività inibitoria dei palladati allilici è maggiore rispetto a quella dell'Auronafin e dei complessi di oro(I) e NHC usati come riferimento. Il valore di EC<sub>50</sub> mostra un trend crescente anche tra i vari complessi di palladio, in particolare segue il seguente andamento [NHC·H][PdCl<sub>2</sub>(allile)] > [Pd(NHC)(PTA)(allile)]BF<sub>4</sub> > [Pd(NHC)Cl(allile)], in accordo con la loro attività *in vitro*.

### 1.3 Sali di azolio

I sali di azolio sono derivati dall'alchilazione degli atomi di azoto di un anello azolico, e sono spesso dei liquidi ionici, ovvero sali che fondono a meno di 100 °C. Vengono usati come elettroliti o come solventi green grazie alla loro bassa tensione di vapore e alta stabilità chimica. Sono noti soprattutto come diretti precursori dei carbeni N-eterociclici (NHC): un tipo di legante usato molto in chimica organometallica.

#### 1.3.1 Carbeni N-eterociclici

I carbeni N eterociclici sono una classe di composti largamente usata in chimica organometallica grazie alle proprietà uniche del legame con il metallo. L'esistenza di NHCs stabili è stata ipotizzata sin dagli anni '60 ma solamente 31 anni dopo vengono isolati da Arduengo, il quale isola un NHC basato sull'anello imidazol-2-ilidene e con gruppi adamantile come sostituenti sugli atomi di azoto. L'ingombro sterico dovuto ai gruppi adamantili impedisce al composto di dimerizzare e quindi il composto risulta stabile, non è vero però che l'ingombro sterico è l'unico motivo di stabilità degli NHCs. Infatti, dopo la scoperta di Arduengo, sono stati sintetizzati numerosi esempi di NHCs privi di sostituenti ingombrati ma stabili grazie alla stabilizzazione elettronica del carbonio carbenico.

Gli NHCs fanno un legame molto forte con metalli di transizione per tre contributi al legame, innanzitutto sono ottimi donatori  $\sigma$  e quindi riescono a donare densità elettronica all'orbitale d vuoto del metallo. Inoltre, c'è un contributo di retrodonazione  $\pi$  al legame da parte del centro metallico e, infine, è presente una donazione  $\pi$  dell'NHC. Questi tre contributi conferiscono una grande stabilità al legame NHC-metallo.

Un metodo per sintetizzare questi tipi di complessi che ha riscosso successo negli ultimi tempi è la via della base debole accennata precedentemente. È sufficiente mettere una base debole come K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in presenza del precursore metallico e del sale di azolio per sintetizzare facilmente molte classi di complessi carbenici. La reazione, nel caso dei complessi di Au(I), viene condotta all'aria a 60 °C in acetone, il che la rende una reazione sostenibile dal punto di vista ambientale.

Questo metodo può essere trasposto anche in assenza di solvente, semplicemente per via mecanochimica. Mettendo nel mortaio il sale di azolio e il precursore metallico e macinando si ottiene il prodotto in rese quantitative e senza dover separarlo dal solvente.

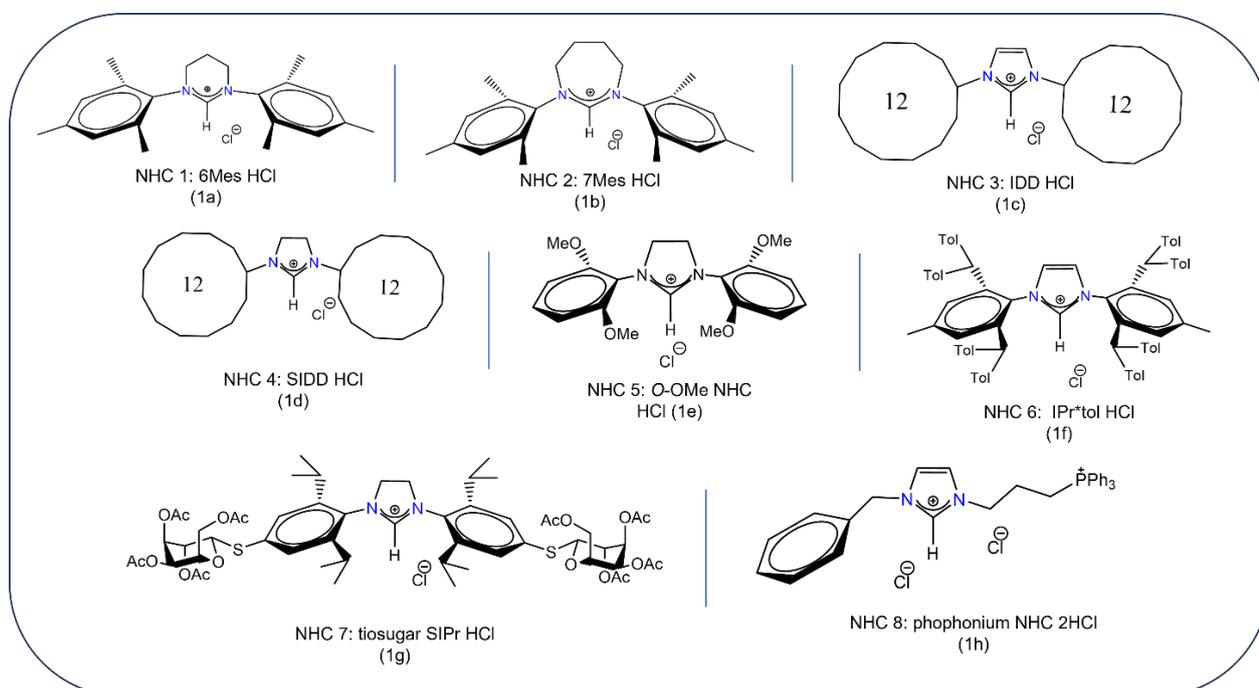
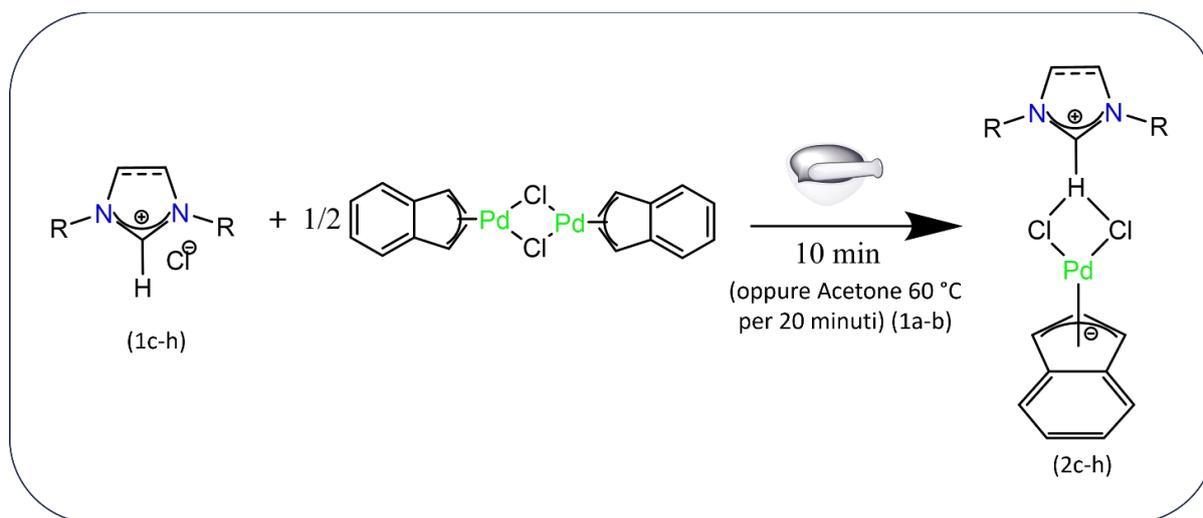
## 2 Scopo della tesi

Considerata la promettente attività antitumorale dimostrata dai palladati indenilici e vista la scarsa ricerca fatta riguardo questi complessi, nonché la versatilità dei frammenti azolici, in questo lavoro si propone la sintesi per via mecanochimica di palladati indenilici del tipo [NHC·H][PdCl<sub>2</sub>(indenile)]. In primo luogo, sono stati utilizzati sali azolici ad anello espanso a 6 e 7 termini con l'obiettivo di verificare la loro diversa reattività rispetto a sali azolici con anello a 5 termini. In secondo luogo, sono stati utilizzati sali di azolio con sostituenti sia alchilici sia arilici stericamente ingombrati. I primi sono stati utilizzati perché la reattività dei palladati con frammenti alchilici non è stata studiata. Nel secondo caso invece sono stati utilizzati frammenti arilici ingombrati perché, come si è visto in precedenza, l'ingombro

sterico è uno dei fattori che influenza l'attività tumorale. Infine, sono stati utilizzati sali azolici con sostituenti al fosfonio e tiozuccheri. Questi si pensa che abbiano la capacità di aumentare la selettività del composto verso le cellule tumorali a discapito di quelle sane. Ogni composto viene caratterizzato tramite  $^1\text{H}$  NMR e viene testata la stabilità in soluzione di DMSO e acqua fisiologica

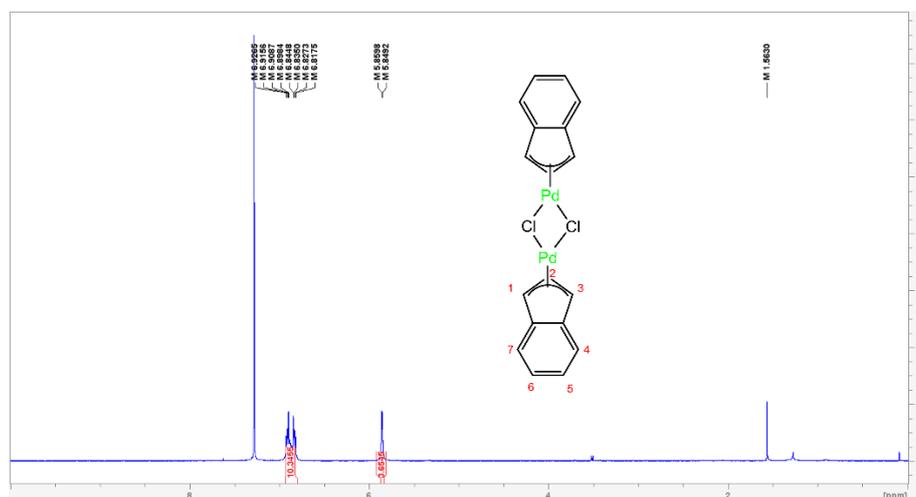
### 3 Risultati e discussione

Come visto precedentemente i palladati indenilici hanno mostrato una buona attività verso le cellule tumorali di vari ceppi. Vista la scarsa abbondanza di questi composti, in questo lavoro vengono sintetizzati otto nuovi palladati indenilici. La sintesi avviene seguendo il protocollo elaborato da Nolan nel 2017, ovvero per semplice macinazione del precursore di palladio  $[\text{Pd}(\mu\text{-Cl})(\text{Ind})]_2$  e del sale di azolio. In soli due casi la macinazione non è stata possibile a causa della consistenza dei reagenti e quindi la reazione è stata condotta in acetone a  $60^\circ\text{C}$  per 20 minuti.



### 3.1 Precursore $[\text{Pd}(\mu\text{-Cl})(\text{indenile})]_2$

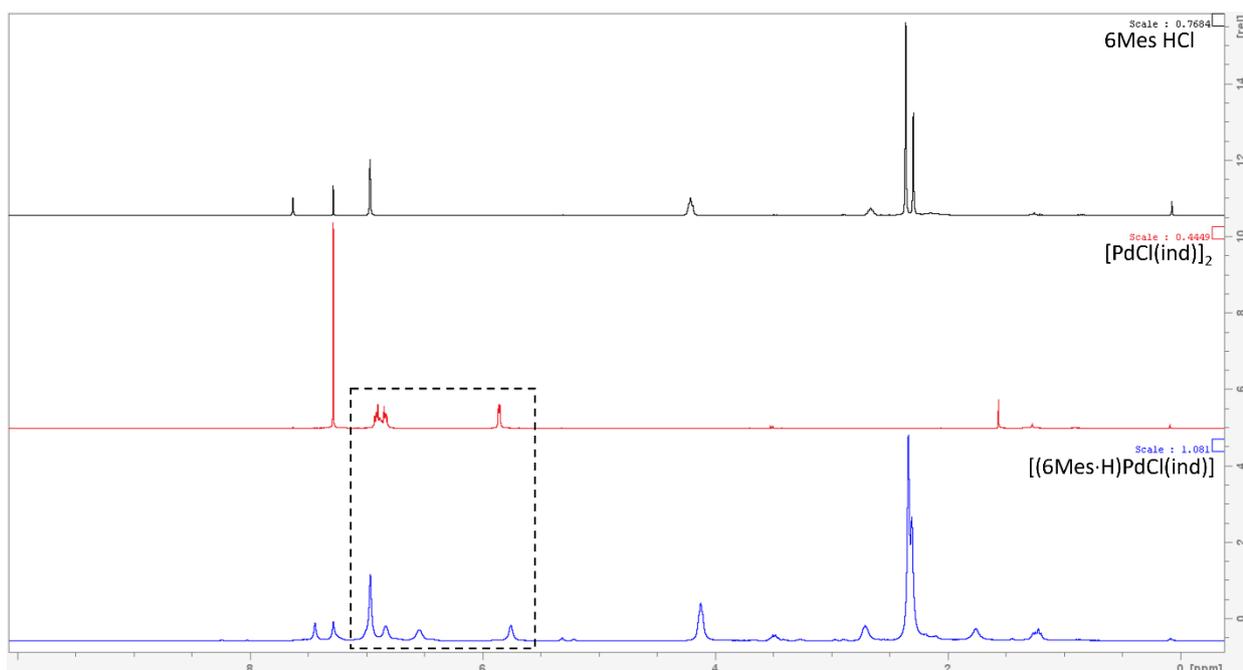
Prima di iniziare la discussione riguardo i complessi sintetizzati è opportuno dare una breve spiegazione riguardo allo spettro NMR del precursore. Lo spettro è caratterizzato da un doppietto di area 4 a circa 5.85 ppm che si attribuisce ai protoni  $\text{H}^{1-3}$ , mentre tra 6.93 e 6.80 ppm è presente un multipletto di area 10 che comprende i restanti protoni. Il multipletto di area 10 cambia drasticamente nello spettro dei complessi: in generale il protone  $\text{H}^2$  è quello che si sposta in modo più vistoso, mentre il multipletto solitamente si separa in due multipletti diversi. Generalmente anche il doppietto relativo ai protoni  $\text{H}^{1-3}$  viene leggermente shiftato.



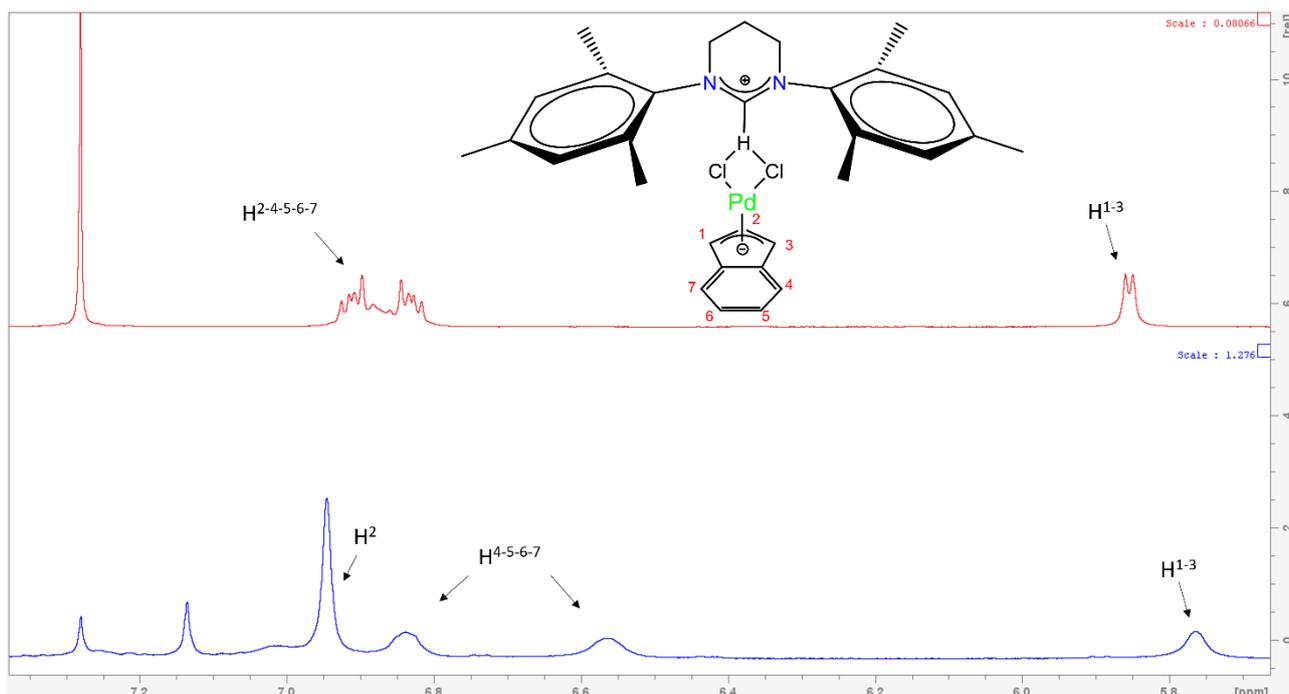
### 3.2 Sintesi di palladati indenilici con precursori di carbeni N-eterociclici ad anello espanso

Il primo gruppo di composti che è stato sintetizzato presenta precursori di NHC ad anello espanso a 6 e 7 termini. È noto, infatti, che la reattività dei carbeni cambia di molto in base alla grandezza dell'anello, per testare la differenza sono stati sintetizzati palladati indenilici con anello a 6 e 7 atomi. Non è stato possibile sintetizzarli per via mecano chimica, ma bensì in soluzione di acetone, ottenendo comunque ottime rese. La consistenza poltigliosa della miscela non ha reso possibile la sintesi per macinazione, ma è stata eseguita facilmente in acetone seguendo il protocollo descritto da Nolan e collaboratori nel 2017.

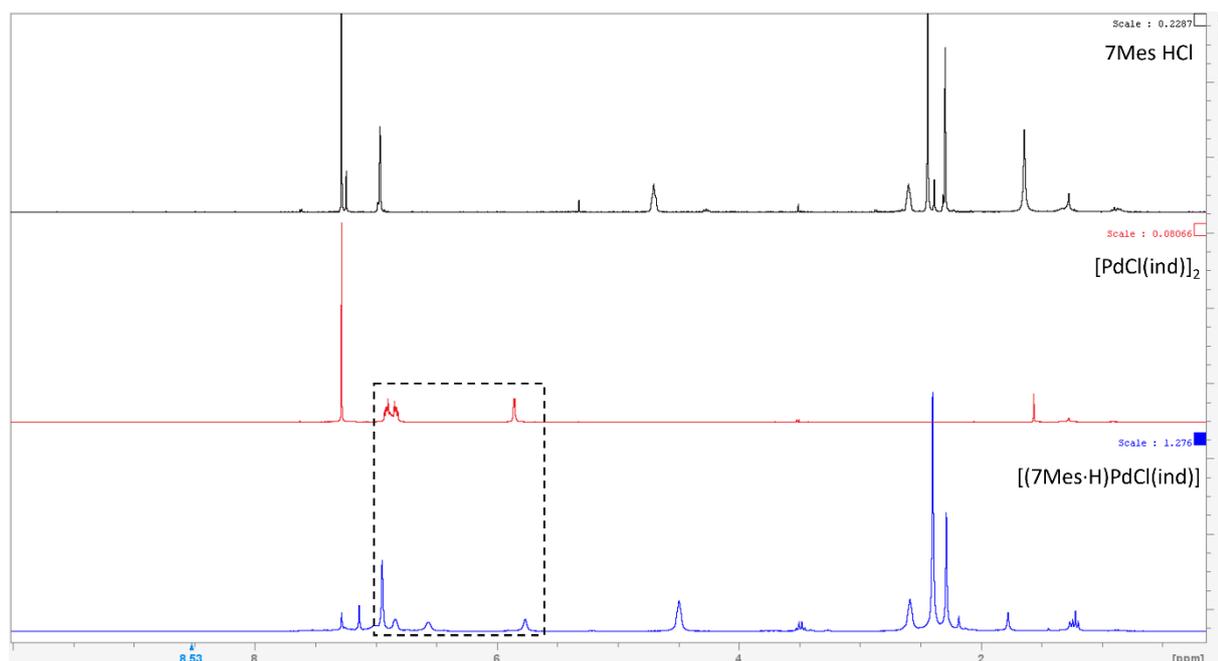
La buona riuscita della sintesi è stata confermata tramite spettroscopia  $^1\text{H}$  NMR, dalla quale si nota un generale spostamento dei segnali, principalmente dell'anello azolico e dell'indenile. In particolare per  $[(6\text{Mes}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$  il protone  $\text{NCHN}$  viene shiftato di 0.18 ppm, tale shift è dovuto alla formazione dell'addotto palladato che in qualche modo scherma la carica positiva dell'anello azolico iniziale.



Si nota maggiormente il cambiamento dello spettro dei protoni indenilici, infatti, se nel precursore i protoni  $H^{1-3}$  si presentano come un doppietto a 5.85 ppm e i restanti protoni sono tutti in un unico multipletto, nel complesso finale i protoni  $H^{1-3}$  vengono shiftati a ppm leggermente inferiori. Inoltre, i protoni dell'anello benzenico si separano in due multipletti distinti e  $H^2$  si sovrappone a uno dei multipletti.



Per quanto riguarda il palladato  $[(7\text{Mes}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$  i cambiamenti sono praticamente analoghi. Anche qui il protone a ponte tra i due frammenti viene shiftato di poco (ca. 0.11 ppm), mentre la differenza maggiore sta nello shift dei protoni indenilici. Da queste osservazioni si può dedurre che la sintesi sia stata portata a termine in entrambi i casi e che siano stati prodotti i composti voluti.



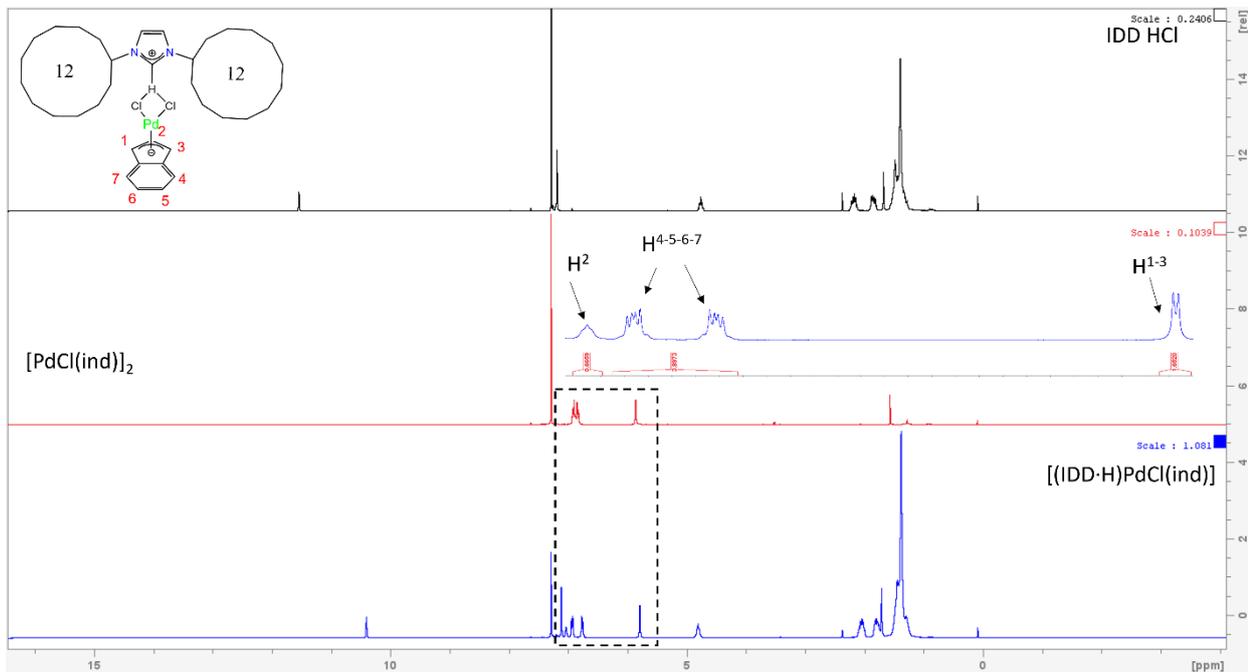
### 3.3 Sintesi di palladati indenilici con precursori di carbeni N-eterociclici con sostituenti alchilici e arilici stericamente ingombrati

La seconda classe di composti esplorata si basa su tre considerazioni: in primo luogo le proprietà dei palladati indenilici con sali azolici portanti frammenti alchilici non sono ancora state esplorate, per questo sono stati sintetizzati due composti, uno con anello saturo e uno con anello insaturo, recanti un sostituito alchilico ciclico C<sub>12</sub>. In secondo luogo, è stato scelto il frammento *o*-OMe NHC in quanto sostituenti con un eteroatomo legato direttamente al fenile non sono stati testati, infine è stato scelto il frammento IPr\**tol* in quanto il composto più promettente come antitumorale testato recava un frammento IPr\*. Il frammento scelto è ancora più ingombrato avendo dei tolii sostituiti e quindi si presume una ancor più promettente attività antitumorale.

Anche in questo caso si nota lo spostamento dei picchi tipici in particolare il segnale dei protoni indenilici e il protone a ponte tra i due atomi di cloro. Nel complesso [(IDD)PdCl<sub>2</sub>(indenile)] lo shift del protone imidazolico sopracitato è il più pronunciato, si passa da 11.53 ppm nel sale imidazolico a 10.39 ppm nel complesso, con un  $\Delta\delta$  di 1.14 ppm. Negli altri complessi lo shift è minore ma comunque apprezzabile:

[(IDD · H)PdCl <sub>2</sub> (indenile)]	$\Delta\delta = 1.14 \text{ ppm}$
[(SIDD · H)PdCl <sub>2</sub> (indenile)]	$\Delta\delta = 1.03 \text{ ppm}$
[( <i>o</i> -OMe NHC · H)PdCl <sub>2</sub> (indenile)]	$\Delta\delta = 0.32 \text{ ppm}$
[(IPr* <i>tol</i> · H)PdCl <sub>2</sub> (indenile)]	$\Delta\delta = 0.52 \text{ ppm}$

Di seguito è proposto lo spettro a titolo esemplificativo di [(IDD·H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)], si può notare il considerevole shift del protone imidazolico NCHN ma anche il cambiamento della zona indenilica che passa dall'essere un unico multipletto a dividersi in due multipletti distinti, questo cambiamento può essere apprezzato anche negli altri complessi. Queste due osservazioni ci confermano la buona riuscita della sintesi dei complessi voluti.



In figura si vede che il protone  $H^2$  si discosta dal multipletto di partenza ed è presente come tripletto con  $J=3$  Hz in accordo con la costante di accoppiamento del doppietto relativo ad  $H^{1-3}$ . I protoni dell'anello benzilico vengono separati in due multipletti come nei precedenti casi.

### 3.4 Sintesi di palladati indenilici con precursori di carbeni N-eterociclici con sostituenti al fosfonio e tiozuccheri

L'ultima classe di sali azolici usati ha l'obiettivo di facilitare il riconoscimento del target biologico da parte del potenziale farmaco. Il gruppo fosfonio è stato introdotto in quanto i target cellulari principali dei palladati sono i mitocondri, introducendo quindi una carica positiva al complesso si presume che la barriera mitocondriale venga penetrata più facilmente. Il mitocondrio è la centrale energetica della cellula perché ha il compito di generare energia sottoforma di ATP tramite la fosforilazione ossidativa. La membrana mitocondriale interna contiene complessi proteici coinvolti nella catena di trasporto elettronico (ETC) che è responsabile della generazione di un gradiente protonico. Questo gradiente consiste in una maggiore concentrazione di protoni nello spazio intermembrana rispetto alla matrice mitocondriale. Il gradiente elettrochimico che si crea serve come forza per vari tipi di molecole, inclusi ioni carichi positivamente. Questi sono attratti dalla matrice carica negativamente e inoltre, vista l'alta concentrazione di  $H^+$  nello spazio intermembrana, vengono spostati per gradiente di concentrazione. Si presume quindi che maggiore sia la carica del complesso migliore sia la diffusione all'interno della matrice mitocondriale.

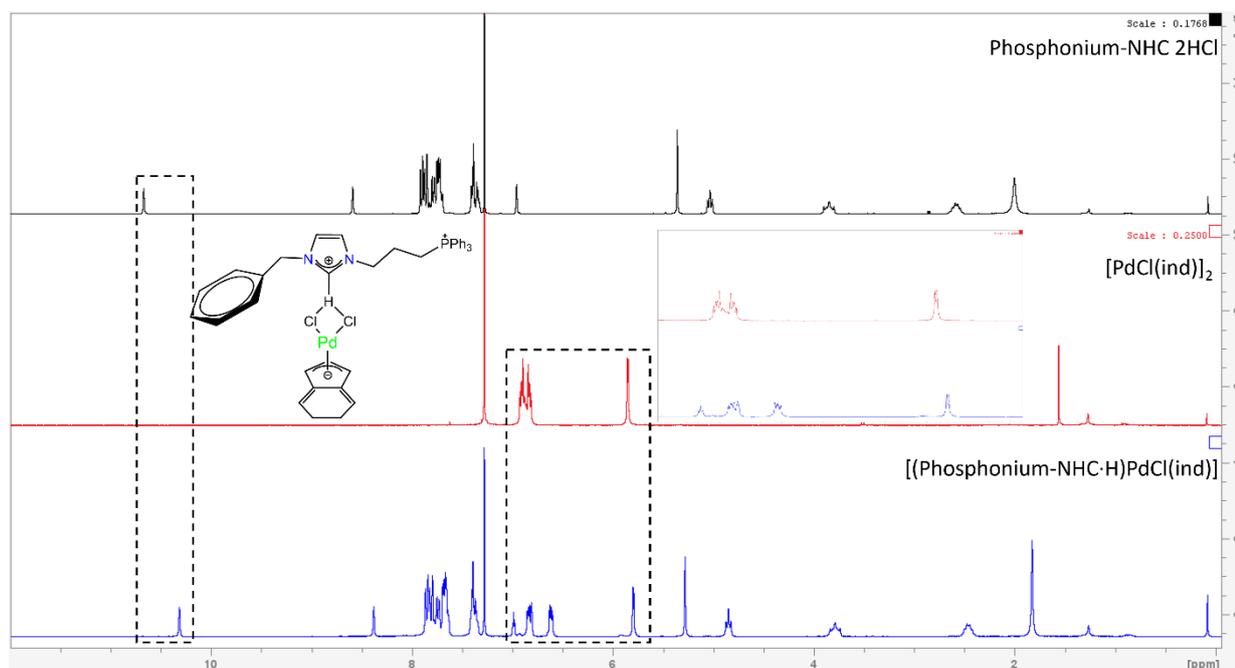
Il tiozucchero come sostituito ha il compito di sfruttare l'effetto Warburg, a causa del quale le cellule tumorali assimilano più facilmente zuccheri rispetto alle cellule sane. Questo avviene perché le cellule tumorali hanno un metabolismo alterato; infatti, esse preferiscono la respirazione anaerobica rispetto a quella aerobica anche in presenza di ossigeno. Questo porta le cellule tumorali ad avere a disposizione meno ATP per cellula di glucosio assunta. La cellula tumorale preferisce quindi produrre ATP solamente dalla glicolisi producendone solamente 2 molecole rispetto alle 38 prodotte dalla fosforilazione ossidativa. Questo avviene perché la glicolisi è un processo più veloce e quindi potrebbero trarre beneficio dalla rapida produzione di ATP visto che crescono rapidamente. Inoltre, l'accumulo di acido lattico come prodotto della respirazione lattacida crea un ambiente acido attorno alle cellule

tumorali, aiutando quest'ultime a combattere il sistema immunitario.

Per questi due motivi sono stati sintetizzati due tipi di complessi, uno a base glucidica e uno contenente un gruppo fosfonio. La sintesi è stata condotta senza difficoltà per via mecanochimica e i prodotti sono stati caratterizzati tramite spettroscopia NMR.

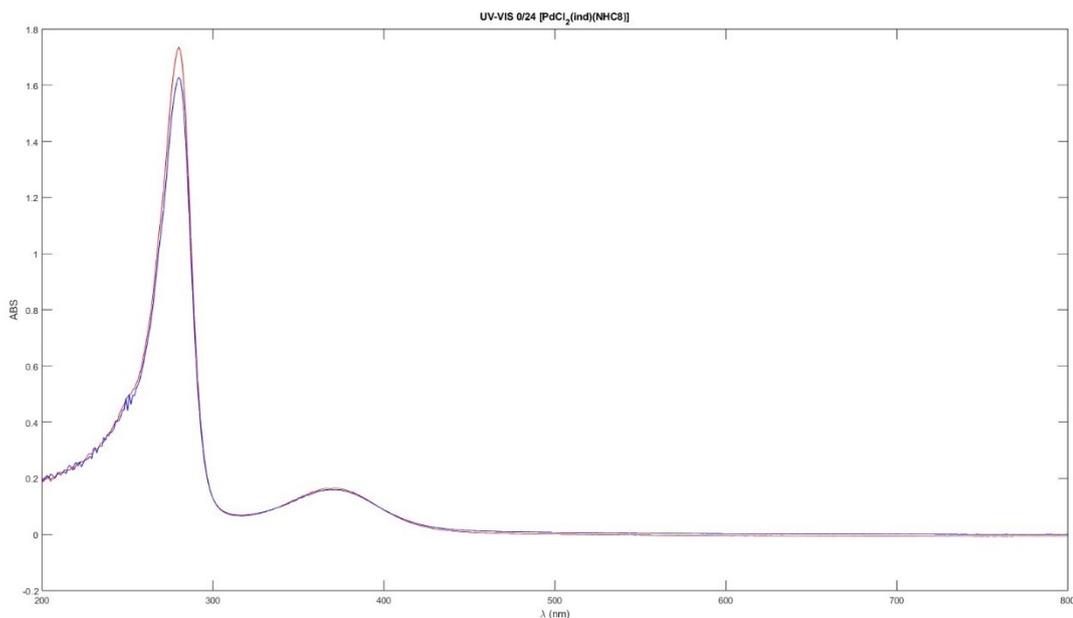
Anche in questo caso gli spettri sono caratterizzati dallo shift del protone NCHN e dal cambiamento della zona relativa ai protoni indenilici. Nel caso di [(phosphonium-NHC·H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)] è stato eseguito un <sup>31</sup>P NMR per confermare il fatto che il frammento palladio-indenile interagisca con l'anello imidazolico e non con il frammento <sup>+</sup>PPh<sub>3</sub>, in effetti il picco del fosforo non è shiftato significativamente.

Lo shift del protone imidazolico, nel caso del fosfonio, è di circa 0.36 ppm. La differenza più significativa però è nei protoni indenilici che, come negli altri casi, il multipletto si sdoppia, inoltre i protoni H<sup>1</sup> e H<sup>3</sup> dell'indenile shiftano leggermente (ca 0.10 ppm).



### 3.5 Stabilità cinetica dei palladati in soluzione fisiologica

Oltre alla caratterizzazione tramite spettroscopia <sup>1</sup>H NMR si è misurata la stabilità dopo un giorno dei composti in una soluzione che mimava l'ambiente fisiologico. In particolare, è stata eseguita una spettroscopia UV-VIS di una soluzione 5·10<sup>-5</sup> M in 1.5 mL di DMSO e 15 mL di acqua fisiologica (NaCl 100mM) del complesso in esame.



Come si vede dalla figura non si nota nessun sostanziale spostamento dei picchi relativi al complesso dopo 24h. Questo accade per ogni complesso esaminato e quindi si può dedurre che tutti i composti sintetizzati siano stabili in tale soluzione.

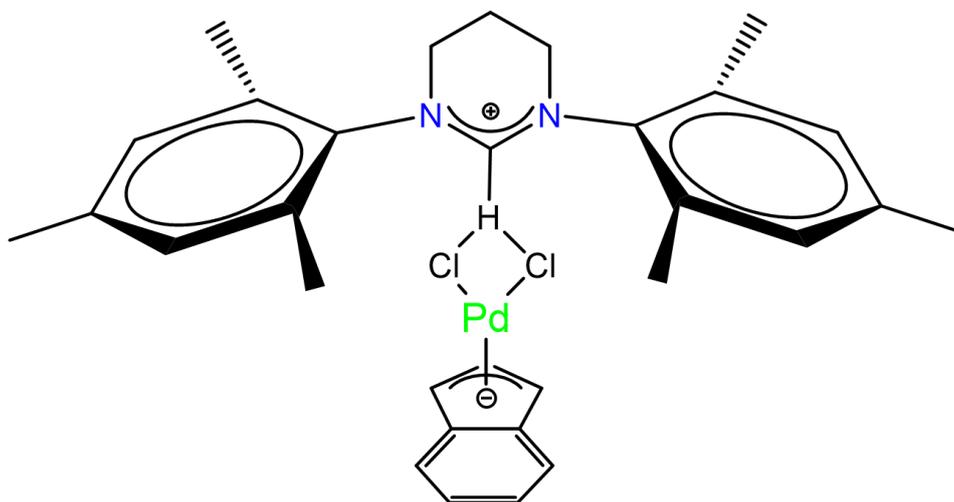
## 4 Parte Sperimentale

### 4.1 Materiali e metodi

Tutti i sali di azolio usati e il precursore  $[\text{Pd}(\mu\text{-Cl})(\text{ind})]_2$  erano già disponibili nel laboratorio di tesi. Sono tutti stati utilizzati senza ulteriore purificazione e la maggior parte sono disponibili commercialmente.

Tutte le reazioni sono state condotte all'aria e senza l'uso di solventi anidri. Tutti i composti sono stati caratterizzati attraverso spettroscopia NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) utilizzando lo spettrometro Bruker da 300 MHz disponibile in dipartimento. Per la spettroscopia UV-VIS è stato usato lo spettrofotometro Varian Cary 100 Bio.

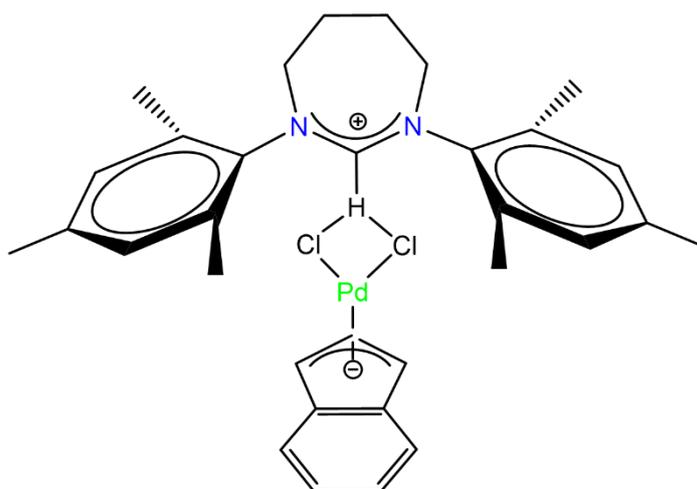
### 4.2 Sintesi del complesso $[(6\text{Mes}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$



44.9 mg di 6Mes HCl (0.13 mmol, 1eq) e 32.3 mg di  $[\text{Pd}(\mu\text{-Cl})(\text{ind})]_2$  (0.06 mmol, 0.5 eq) sono stati disciolti in una vial con 10 mL di acetone e 2 mL di metanolo. Si lascia reagire il tutto per 20 minuti a 60 °C sotto agitazione. Una volta trascorso il tempo si tira a secco al rotavapor, poi si aggiunge una piccola aliquota di diclorometano e si tira di nuovo a secco. Infine, si aggiunge dietilere e si tira di nuovo a secco. Una volta ottenuto il prodotto, che appare come un solido marrone, se ne preleva un po' per l'NMR. Sono stati ottenuti 74.6 mg di prodotto (0.12 mmol, resa 91%).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.44 (s, 1H, NCHN), 6.96 (s, 5H,  $\text{C}_6\text{Me}_3\text{H}_2$  + indenil), 6.83 (s, 2H, *H*-indenil), 6.54 (s, 2H, *H*-indenil), 5.75 (s, 2H, *H*<sub>2</sub>-indenyl), 4.12 (t,  $^3J_{\text{HH}}=5.1$  Hz, 4H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.70 (t,  $^3J_{\text{HH}}=5.28$ , 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.33 (s, 12H, *o*-Me- $\text{C}_6\text{Me}_3\text{H}_2$ ), 2.30 (s, 6H, *p*-Me- $\text{C}_6\text{Me}_3\text{H}_2$ )

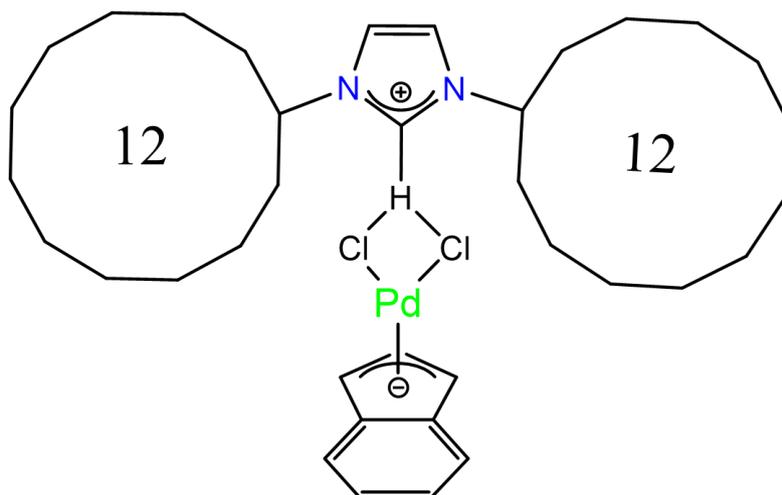
#### 4.3 Sintesi del complesso $[(7\text{Mes}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$



Questo complesso è stato sintetizzato con un processo analogo al precedente. Sono stati utilizzati 40.1 mg di 7Mes HCl (0.11 mmol, 1 eq) e 28.1 mg di  $[\text{Pd}(\mu\text{-Cl})(\text{ind})]_2$  (0.05 mmol, 0.5 eq). Anche per questo prodotto è stato eseguito il medesimo metodo di separazione dal solvente e purificazione al rotavapor. Si sono ottenuti 63.1 mg di prodotto (0.10 mmol, resa 89%).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.13 (s, 1H, NCHN), 6.94 (s, 5H,  $\text{C}_6\text{Me}_3\text{H}_2$  + *H*-indenil), 6.83 (s, 2H, *H*<sub>2</sub>-Ar), 6.56 (s, 2H, *H*<sub>2</sub>-Ar), 5.76 (s, 2H, *H*<sub>2</sub>-indenil), 4.49 (t,  $^3J_{\text{HH}}=5.3$  Hz, 4H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.58 (quint,  $^3J_{\text{HH}}=2.7$  Hz, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.39 (s, 12H, *o*-Me- $\text{C}_6\text{Me}_3\text{H}_2$ ), 2.28 (s, 6H, *p*-Me- $\text{C}_6\text{Me}_3\text{H}_2$ )

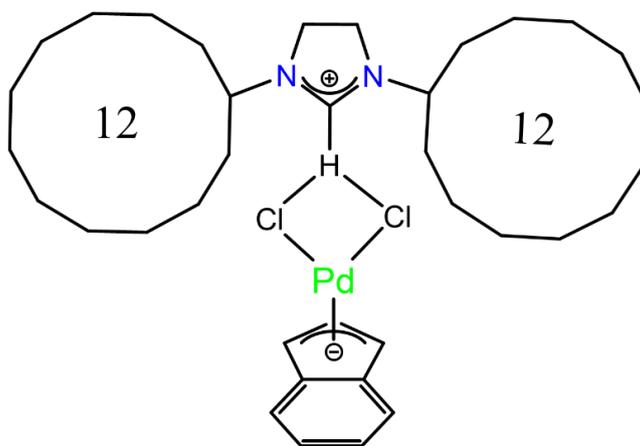
#### 4.4 Sintesi del complesso [(IDD·H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)]



68.7 mg di IDD HCl (0.16 mmol, 1 eq) sono stato inseriti in un mortaio assieme a 40.4 mg di [Pd( $\mu$ -Cl)(ind)]<sub>2</sub> (0.08 mmol, 0.5 eq) e sono stati macinati per 10 minuti. Trascorso tale tempo il solido di colore marrone scuro è stato trasferito in una vial ed il residuo rimasto nel mortaio è stato usato per caratterizzare il complesso tramite <sup>1</sup>H NMR. La resa del processo è da considerarsi quantitativa.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  10.39 (t, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub>=1.5 Hz, 1H, NCHN), 7.10 (d, J=1.5 Hz, 2H, NC<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), 7.02 (t, J=3.1 Hz, 1H, H-indenil), 6.84 (dq, J<sub>HH</sub>=52.3-2.79 Hz, 4H, H<sub>4</sub>-Ar-indenil), 5.78 (d, J=2.9 Hz, 2H, H<sub>2</sub>-indenil), 4.86-4.73 (m, 2H, C<sub>12</sub>), 2.10-1.98 (m, 4H, C<sub>12</sub>), 1.83-1.73 (m, 4H, C<sub>12</sub>), 1.55-1.20 (m, 38H, C<sub>12</sub>)

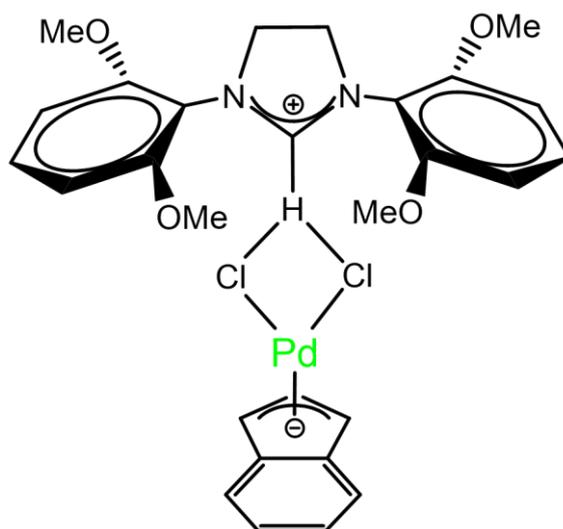
#### 4.5 Sintesi del complesso [(SIDD·H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)]



Sono stati macinati in un mortaio 67.0 mg di SIDD HCl (0.15 mmol, 1 eq) e 39.4 mg di [Pd( $\mu$ -Cl)(ind)]<sub>2</sub> (0.08 mmol, 0.5 eq) per 10 minuti, alla fine dei quali il complesso marrone ottenuto è stato trasferito in una vial. Il composto rimasto nel mortaio alla fine della macinazione è stato usato per <sup>1</sup>H NMR. La resa si considera quantitativa.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  9.00 (s, 1H, NCHN), 7.01 (s, 1H, H-indenil), 6.91 (t, J=3.96 Hz, 2H, H<sub>2</sub>-Ar), 6.74 (t, J=3.90 Hz, 2H, H<sub>2</sub>-Ar), 5.75 (d, J=2.22 Hz, 2H, H<sub>2</sub>-indenil), 3.96 (quint, J=6.29 Hz, 2H, CH-C<sub>12</sub>), 3.85 (s, 4H, NC<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), 1.80-1.61 (m, 9H, C<sub>12</sub>), 1.34 (s, 39H, C<sub>12</sub>)

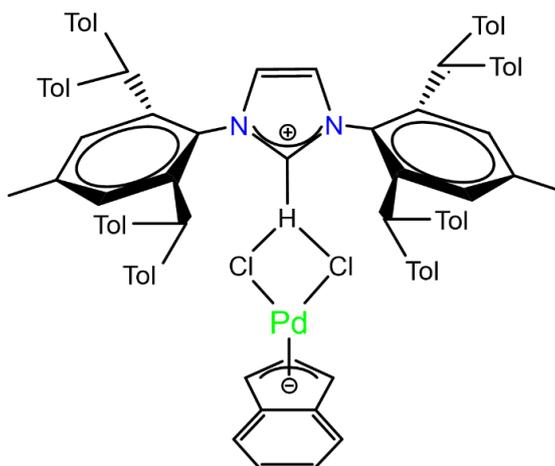
#### 4.6 Sintesi del complesso [(*o*-OMe NHC·H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)]



Anche questo complesso è stato sintetizzato per via mecanochimica, ovvero macinando 105.0 mg di *o*-OMe NHC HCl (0.28 mmol, 1 eq) e 66.4 mg di [Pd( $\mu$ -Cl)(ind)]<sub>2</sub> (0.13 mmol, 0.5 eq) per 10 minuti. Il prodotto di color marrone ottenuto è stato riposto in una vial e i residui sul mortaio sono stati usati per <sup>1</sup>H NMR. La resa viene considerata quantitativa.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.99 (s, 1H, NCHN), 7.35 (t, J=8.49 Hz, 2H, *p*-*H*-Ph), 6.86 (s, 3H, *H*-indenil, *H*<sub>2</sub>-Ar), 6.66 (d, J=8.52 Hz, 6H, *m*-*H*-Ph, *H*<sub>2</sub>-Ar), 5.75 (s, 2H, *H*<sub>2</sub>-indenil), 4.57 (s, 4H, NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), 3.93 (s, 12H, OCH<sub>3</sub>)

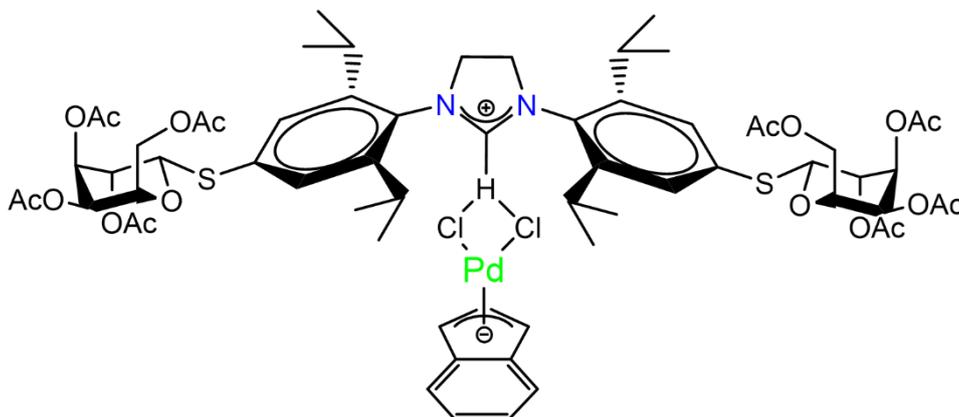
#### 4.7 Sintesi del complesso [(IPr\**tol*·H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)]



Sono stati macinati per 10 minuti 5.9 mg di [Pd( $\mu$ -Cl)(ind)]<sub>2</sub> e 24.2 mg di IPr\**tol* ed è stato ottenuto un prodotto marrone. Questo è stato messo in una vial e ne è stato prelevato un po' per la caratterizzazione tramite <sup>1</sup>H NMR.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  12.13 (s, 1H, NCHN), 7.07 (quart, J=7.4 Hz, 16H, tol), 6.96 (s, 2H, *H*-indenile), 6.84 (d, J=6.9 Hz, 11H, tol + *H*-indenile), 6.73 (s, 4H, *m*-*H*-Ph), 6.63 (d, J=7.0 Hz, 8H, tol), 5.67 (s, 2H, *H*<sup>1-3</sup>-indenile), 5.56 (s, 2H, NC<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), 5.26 (s, 4H, *CH*-tol<sub>2</sub>), 2.28 (d, J=12.8 Hz, 24H, *CH*<sub>3</sub>-tol), 2.19 (s, 6H, *p*-*CH*<sub>3</sub>-Ph).

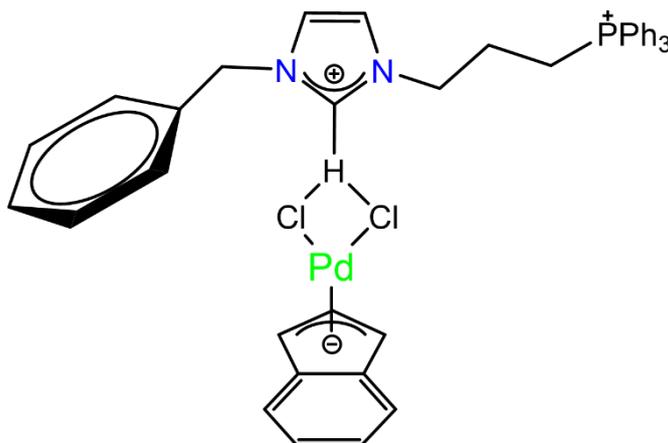
#### 4.8 Sintesi del complesso [(tiosugar-SIPr-H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)]



Si pesano 26.6 mg di tiosugar-SIPr NHC e si macinano in un mortaio assieme a 5.9 mg di  $[\text{Pd}(\mu\text{-Cl})(\text{ind})]_2$  per 10 minuti. Il prodotto ottenuto assume una colorazione marrone e viene trasferito in una vial. La resa viene considerata quantitativa e si preleva un po' di prodotto per caratterizzarlo tramite  $^1\text{H}$  NMR.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.61 (s, 1H, NCHN), 7.44 (d,  $J=1.7$  Hz, 2H,  $H$  - anello azolico), 7.38 (d,  $J=2.0$  Hz, 2H,  $H$  - anello azolico), 6.93-6.77 (m, 3H,  $H^2 + H^{\text{fenile}}$  -indenile), 6.64-6.48 (m, 2H,  $H^{\text{fenile}}$  -indenile), 6.03 (s, 2H,  $H^{1-3}$  indenile), 5.25 (t,  $J=9.4$  Hz, 2H, tiosucchero), 5.06 (t,  $J=9.8$  Hz, 2H, tiosucchero), 4.96-4.70 (m, 8H, tiosucchero), 4.35 (dd,  $J=12.6, 4.7$  Hz, 2H, tiosucchero), 4.16 (d,  $J=12.1$  Hz, 2H, tiosucchero), 3.86-3.78 (m, 2H, tiosucchero), 3.17-2.90 (m, 4H, tiosucchero), 2.14-1.96 (m, 24H, tiosucchero), 1.47-1.37 (m, 12H, tiosucchero), 1.32-1.22 (m, 12H, tiosucchero)

#### 4.9 Sintesi del complesso [(phosphonium-NHC-H)PdCl<sub>2</sub>(indenile)]



Analogamente agli altri questo complesso è stato sintetizzato per macinazione di 69.8 mg di phopshonium-NHC 2HCl e 33.4 mg di  $[\text{Pd}(\mu\text{-Cl})(\text{ind})]_2$  per circa 10 minuti. Alla fine della macinazione il prodotto è stato trasferito in una vial e i residui nel mortaio sono stati utilizzati per la caratterizzazione. La resa si considera quantitativa.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.31 (t,  $J=1.48$  Hz, 1H, NCHN), 8.38 (t,  $J=1.68$  Hz, 1H, NCHCN), 7.89-7.61 (m, 15H,  $\text{PPh}_3$ ), 7.44-7.31 (m, 5H, arom-benzile), 6.98 (t,  $J=3.08$  Hz,

$^1\text{H}$ , NCHCN), 6.86-6.79 (m, 3H, indenile), 6.64-6.59 (m, 2H), 5.79 (d,  $J=2.97$  Hz, 2H, indenile), 5.28 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -benzile), 4.85 (t,  $J=7.00$  Hz, 2H  $\text{CH}_2$ - fosfonio), 3.85-3.72 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ - fosfonio), 2.53-2.39 (m, 2H  $\text{CH}_2$ - fosfonio).

$^{31}\text{P}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  24.48 (s, 1P,  $\text{PPh}_3$ )

## 5 Conclusione

In conclusione, sono stati sintetizzati otto nuovi composti del tipo  $[(\text{NHC}\cdot\text{H})\text{PdCl}_2(\text{indenile})]$  con varie classi di sali di azolio (Figura 3.2: composti 1a-h). Quest'ultimi sono stati scelti sulla base dei risultati ottenuti precedentemente dai palladati indenilici come antitumorali. È stato visto infatti che l'attività antitumorale è maggiore all'aumentare dell'ingombro sterico, oltre a ciò, anche il grado di insaturazione dell'anello sembra influenzare la reattività, in particolar modo è migliore per anelli insaturi. Inoltre, alcuni dei frammenti utilizzati non sono mai stati usati in composti di questo tipo, come nel caso del frammento con un eteroatomo direttamente legato al fenile (2e).

Il composto 2g è stato sintetizzato con l'obiettivo di sfruttare l'effetto Warburg, ovvero il fatto che le cellule tumorali hanno bisogno di più zuccheri rispetto alle cellule sane in quanto traggono energia solamente dalla glicolisi. Per questo motivo come sostituito dell'anello azolico è stato scelto un tiozucchero. Questo serve per aumentare la selettività verso le cellule tumorali poiché i palladati indenilici hanno una certa tossicità anche per le cellule sane.

Il composto 2h reca invece una carica positiva, dovuta al fosfonio, che ha il compito di facilitare il trasporto della molecola verso il suo target biologico. Quest'ultimo infatti sono i mitocondri delle cellule, i quali sono caratterizzati da un gradiente di carica tra membrana mitocondriale e matrice. Per questo motivo molecole cariche positivamente sono facilitate nella diffusione all'interno del mitocondrio.

Sono stati ottenuti quasi tutti per via meccanochimica, ovvero per semplice macinazione dei sali di azolio con il precursore di palladio-indenile (composti 2c-h). Solamente due non hanno permesso la sintesi in questo modo a causa della loro consistenza gelatinosa e sono stati sintetizzati in semplice acetone (2a-b). Entrambe le vie sono risultate efficaci e tutti i composti sono stati sintetizzati con successo.

Dagli spettri NMR emerge che lo spettro del composto finale non è in nessuno degli otto casi la sovrapposizione degli spettri dei due reagenti, il che conferma la buona riuscita della sintesi. Infatti, in tutti i composti si può notare uno *shift*, più o meno importante a seconda dei casi, del protone azolico che si lega direttamente ai due atomi di cloro. Il cambiamento maggiore, però, riguarda i protoni indenilici i quali, in tutti i composti, vengono *shiftati* notevolmente rispetto al precursore.

I complessi sono tutti stabili sia all'aria sia in soluzione fisiologica (NaCl 100mM) e DMSO, il che li rende facilmente testabili successivamente come potenziali farmaci antitumorali. A questo proposito tutti i composti verranno in futuro testati per valutarne l'eventuale attività antitumorale *in vitro*.

## 6 Bibliografia

- (1) Muggia, F. M.; Bonetti, A.; Hoeschele, J. D.; Rozenzweig, M.; Howell, S. B. Platinum Antitumor Complexes: 50 Years Since Barnett Rosenberg's Discovery. *J. Clin. Oncol.* **2015**, *33* (35), 4219–4226.
- (2) 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.
- (3) Zargarian, D. Group 10 Metal Indenyl Complexes. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *233–234*, 157–176.
- (4) Bortolamiol, E.; Fama, F.; Zhang, Z.; Demitri, N.; Cavallo, L.; Caligiuri, I.; Rizzolio, F.; Scattolin, T.; Visentin, F. Cationic Palladium(II)-Indenyl Complexes Bearing Phosphines as Ancillary Ligands: Synthesis, and Study of Indenyl Amination and Anticancer Activity. *Dalton Trans.* **2022**, *51* (29), 11135–11151.
- (5) Liu, Y.; Scattolin, T.; Gobbo, A.; Beliš, M.; Van Hecke, K.; Nolan, S. P.; Cazin, C. S. J. A Simple Synthetic Route to Well-Defined [Pd(NHC)Cl(1-TBu-Indenyl)] Pre-Catalysts for Cross-Coupling Reactions. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2022**, *2022* (1), e202100840.
- (6) Scattolin, T.; Pessotto, I.; Cavarzerani, E.; Canzonieri, V.; Orian, L.; Demitri, N.; Schmidt, C.; Casini, A.; Bortolamiol, E.; Visentin, F.; Rizzolio, F.; Nolan, S. P. Indenyl and Allyl Palladate Complexes Bearing *N*-Heterocyclic Carbene Ligands: An Easily Accessible Class of New Anticancer Drug Candidates. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2022**, *2022* (16).

