



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato di Ricerca in Scienze Molecolari e Biomolecolari
Dipartimento Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche (STEBICEF)
CHIM/08 - Chimica farmaceutica

SINTESI DI NUOVI DERIVATI 1,2,5-OSSADIAZOLICI DELLA REBECCAMICINA AD
ATTIVITÀ ANTITUMORALE.

IL DOTTORE
PASQUALE REFORGIATO

IL COORDINATORE
Ch.mo Prof. PATRIZIA DIANA

IL TUTOR
Ch.mo Prof. GIROLAMO CIRRINCIONE

IL CO TUTOR
Dott.ssa BARBARA PARRINO

CICLO XXX
ANNO ACCADEMICO 2017-2018

I INTRODUZIONE	pag. 1
II SINTESI	pag. 34
III RISULTATI BIOLOGICI	pag. 49
IV PARTE SPERIMENTALE	pag. 56
V BIBLIOGRAFIA	pag. 104

I. INTRODUZIONE

La notevole discrepanza dimensionale tra l'estensione dei genomi procariotici ed eucariotici rilassati e gli spazi cellulari entro i quali quest'ultimi devono essere confinati ne ha imposto l'organizzazione in una struttura terziaria in grado di garantire l'opportuno livello di compattazione. Sia negli eucarioti che nei procarioti, l'impacchettamento comporta la formazione di superavvolgimenti dovuti all'aggregazione del DNA a proteine in grado di piegare e avvolgere lo stesso in un livello crescente di condensazione.

Nelle cellule eucariotiche, il livello primario di compattazione è basato sul nucleosoma, l'unità strutturale di base della cromatina, costituito da un doppio filamento di DNA lungo 147 paia di basi avvolto 1,7 volte con andamento sinistrorso su un ottamero di istoni, due dimeri H2A-H2B con un tetramero H3-H4. I nucleosomi sono separati da una regione di DNA *linker* che spazia da poche paia di basi a circa 80, in media si ripetono ogni 200 paia di basi, una cellula umana diploide caratterizzata da $6,4 \times 10^9$ coppie di basi conterrà quindi 30 milioni di nucleosomi. La struttura conseguente a filo di perle è ulteriormente compattata in una fibra di cromatina da 30 nm a struttura solenoidale grazie all'intervento dell'istone *linker* H1 che consente lo stretto l'assemblamento di sei nucleosomi, "guidando" la curvatura del DNA in uscita dal core proteico. Ulteriori step di compattazione, coinvolgenti le proteine non istoniche dello *scaffold* nucleare, consentono dei ripiegamenti ad anse e il raggiungimento del massimo livello di condensazione che si realizza nei cromosomi metafasici caratterizzati da un *packaging ratio* pari a 10000 (**Figura 1**). [98JCB975] [02BMC4] [02PNASU15855] [04CSDSA20] [04JBC5118] [06PBL966] [08CRBMB393] [08JB145] [09BMDC224] [13NRG191] [15CR2255] [15FL2914] [15MBSDGP182]

La struttura terziaria del genoma procariotico presenta un livello di condensazione inferiore a quello eucariotico e prevede il coinvolgimento delle NAPs, le proteine associate al nucleotide (come ad esempio Lpr, HU, HIF, HNS, Fis), che consentono l'architettura di una struttura tridimensionale plectonemica, anche se il meccanismo d'azione risulta ancora non perfettamente chiaro. [08CRBMB393] [10NRM185] [11S1445] [13NRG191]

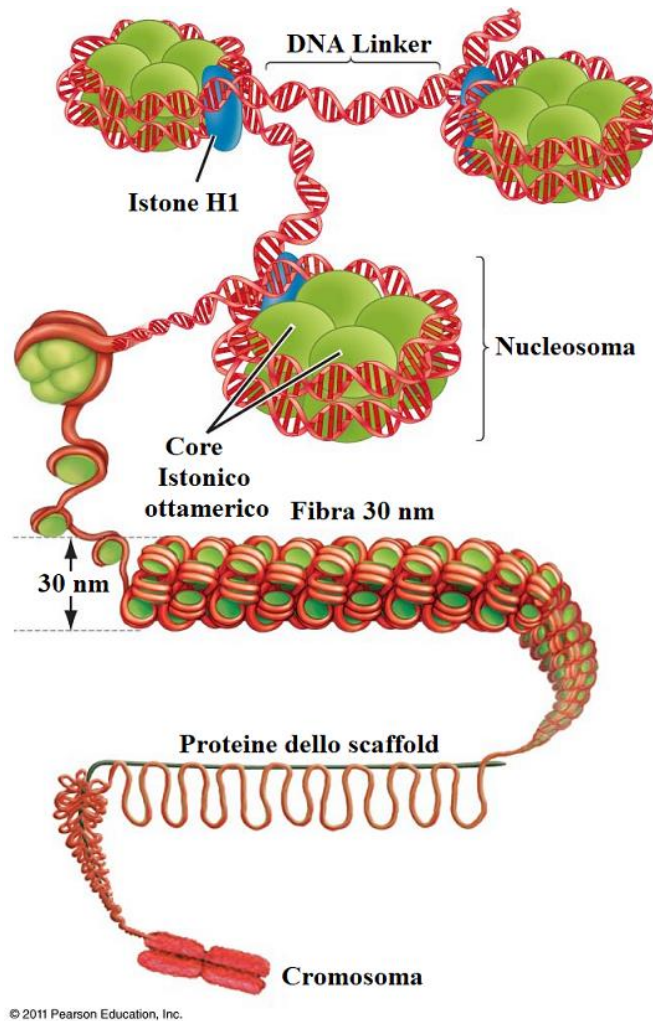


Figura 1. Compattazione del genoma eucariotico dal nucleosoma al cromosoma

Le strutture solenoidali e le strutture plectonemiche (**Figura 2**) sono sinistrorse, sono infatti avvolte nel senso opposto al senso di avvolgimento della doppia elica che nella conformazione B è destrorsa, ad esse è attribuito per convenzione segno negativo. Alla luce di quanto detto, ciò significa che in natura gran parte del DNA è superavvolto negativamente.

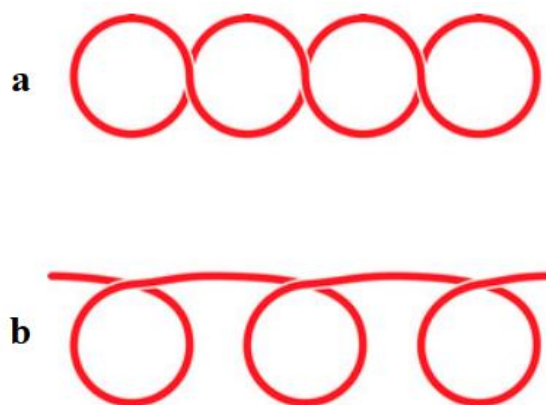


Figura 2. Superavvolgimento plectonemico (a) e solenoidale (b). [01ELS1]

Per meglio comprendere l'importanza dei superavvolgimenti negativi, bisogna considerare che sia il DNA circolare procariotico che il DNA lineare eucariotico associati a proteine costituiscono dei domini topologici a causa della mancata libera rotazione delle estremità. Il DNA è topologicamente definito dal *Linking Number* (Lk), un parametro in grado di definirne il grado di superavvolgimento. Il Lk è un invariante topologico ed è quindi indipendente dalla conformazione del DNA, è costante se il dominio topologico non viene intaccato da interruzioni nei filamenti, è sempre un numero intero ed è dato dalla somma di due componenti: il *twisting number* (Tw), e il *writhing number* (Wr). Il Tw rappresenta il numero di volte che un filamento di un duplex si avvolge intorno all'altro, ha segno positivo se l'avvolgimento è destrorso e viceversa. La maggior parte del DNA nelle cellule è presente nella conformazione destrorsa B, di conseguenza il Tw è un numero positivo. Il Wr quantifica invece il numero di avvolgimenti della doppia elica attorno al proprio asse, intuitivamente corrisponde al superavvolgimento, segue la stessa attribuzione dei segni associata al senso di rotazione del Tw . [94BJ681] [01ELS1] [02B27] [05DT31] [06PBL959] [09BMBE2] Al fine di esemplificare i parametri topologici discussi, per semplicità bisogna tenere in considerazione un DNA circolare batterico rilassato, vista l'analogia conformazionale con le strutture ad ansa del genoma eucariotico. Nel DNA circolare in **figura 3** si verifica la condizione $Lk = Tw$, visto che Wr è nullo in seguito alla mancata presenza di avvolgimenti del duplex attorno al proprio asse. Il disavvolgimento di due giri della doppia elica, previo clivaggio di uno dei filamenti e successivo rinsaldamento, comporta una transizione topoisomerica all'interno del dominio topologico. Il nuovo topoisomero è contraddistinto da un Lk inferiore conseguentemente al decremento del Tw di due unità. A causa del discostamento dal valore ottimale del numero di basi per giro d'elica, il nuovo topoisomero evolverà in un riarrangiamento tridimensionale atto a colmare la diminuzione del Tw rispetto al DNA rilassato, ciò comporterà l'introduzione di due *writhe* sinistrorsi, di due superavvolgimenti negativi. [94DSF102] [07CG315] [08QRB41] [10C519]

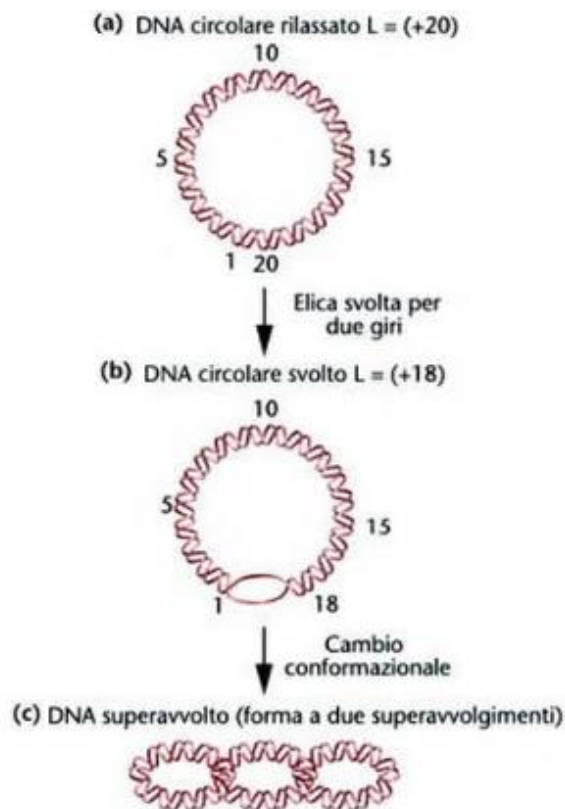


Figura 3. Transizione topoisomerica e formazione di una struttura superavvolta. [07CG315]

Nella nuova conformazione, che non rappresenta una transizione topoisomerica in quanto non avviene rottura di alcun filamento, il superavvolgimento negativo introdotto ha permesso l'impacchettamento del genoma mantenendo il numero di coppie di basi per giro ottimale. In realtà, il reale vantaggio del superavvolgimento negativo non è insito nella relazione tra impacchettamento e mantenimento dell'ottimale valore del numero di coppie di basi per giro, poiché anche il superavvolgimento positivo consente il mantenimento di questa corrispondenza. Considerando infatti lo stesso genoma circolare di riferimento ed immaginando di effettuare una transizione topoisomerica introducendo due giri d'elica destrorsi, si assisterà ad un aumento del Lk di due unità dovuto esclusivamente all'aumento del Tw . Anche in questo caso verrà ripristinato numero di coppie di basi per giro ottimale, attraverso però l'introduzione di un superavvolgimento positivo. [94DSF103] La struttura terziaria privilegia il superavvolgimento negativo in quanto rappresenta in potenza il DNA rilassato in uno stato di parziale disavvolgimento, più adatto alla denaturazione necessaria durante alcuni processi della vita cellulare. [02B27] [06PBL961] [10NAR2119] [14COGD15] Diversamente, i superavvolgimenti positivi rappresentano in potenza una forma di DNA rilassato sovravvolto; sono presenti nei batteri termocidofili e costituiscono un vantaggio rispetto alle drastiche condizioni ambientali che impongono una struttura terziaria in grado di ostacolare la denaturazione del DNA. [94DSF104] [08QRB41] [11BST58]

Dalla complessa struttura terziaria sorgono inevitabilmente delle criticità di carattere topologico rispetto a tutti gli eventi della vita cellulare in cui il DNA è coinvolto ed un ruolo apicale nella risoluzione di queste problematiche è svolto dalle DNA topoisomerasi.

Le topoisomerasi rappresentano gli strumenti regolatori in grado di controllare lo stato topologico del DNA variandone il Lk e indirizzandolo verso transizioni topoisomeriche funzionali alle più favorevoli condizioni energetiche e all'accessibilità informazionale. L'attività enzimatica si esercita calibrando il grado di superavvolgimento e, a tal uopo, si estrinseca attraverso l'introduzione di rotture transitorie a singolo o doppio filamento, seguite dal ripristino dell'integrità previo passaggio dei filamenti interrotti rispettivamente attraverso un singolo filamento o una doppia elica. Il ruolo di rilievo occupato da questa classe enzimatica emerge marcatamente nei processi della vita cellulare che richiedono l'accesso alle informazioni depositate nel genoma, come trascrizione e replicazione, nei quali la separazione temporanea o permanente dei due filamenti e il movimento dei complessi macromolecolari lungo la doppia elica determina la formazione di superavvolgimenti potenzialmente in grado di arrestare la processività enzimatica (**Figura 4**). Oltre al caso testé esaminato, le DNA topoisomerasi sono comunque implicate in quasi tutte le dinamiche della vita cellulare in cui il DNA è coinvolto come la segregazione cromosomica, la ricombinazione e il rimodellamento della cromatina. [96ARB635] [01ARB369] [06NRC789] [16NRMCB703]

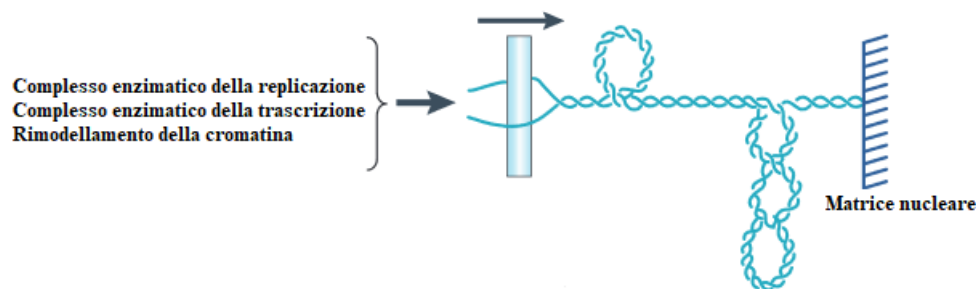


Figura 4. Formazione di superavvolgimenti positivi in seguito al movimento di complessi macromolecolari lungo il DNA [06NRC789]

Il capostipite di questa classe di enzimi è stato parzialmente purificato da estratti cellulari di *Escherichia coli* da James C. Wang nel 1971. Il clivaggio del filamento di DNA da parte di tutte le topoisomerasi avviene attraverso la formazione di un legame fosfodiesterico transitorio tra un residuo tirosinico dell'enzima e un gruppo fosfato che consente l'ancoraggio ad una delle estremità del filamento interrotto. Il ripristino dell'integrità del/dei filamento/i avviene attraverso una transesterificazione inversa. La classificazione riconosce due tipologie di topoisomerasi: le topoisomerasi di tipo I, che agiscono mediante rottura transitoria a singolo filamento e consentono la

variazione del Lk di una unità, e le topoisomerasi di tipo II che agiscono mediante rottura transitoria a doppio filamento e consentono la variazione del Lk di due unità. Gli enzimi del tipo I sono sottoclassificati in topoisomerasi del sottotipo IA, IB e IC; gli enzimi del tipo II in topoisomerasi del sottotipo IIA e IIB. [96ARB635] [01ARB369] [04ARBBS95] [06CBT1600] [09BM1467] [09NAR693] [15B1652] [15EP1] [17CCP1]

Il genoma umano codifica sei topoisomerasi appartenenti ai sottotipi IA, le due isoforme TOPIII α e TOPIII β , IB, TOP1 e la sua versione mitocondriale e TOP1mt, e IIA, TOPII α e TOPII β . Le isoforme delle topoisomerasi IA e IIA sono localizzate sia a livello nucleare che a livello mitocondriale, le isoforme delle topoisomerasi IB invece hanno localizzazione esclusiva. [09CR2894] [16NRMCB703] [17CCP1]

Il ruolo chiave occupato dalle topoisomerasi all'interno delle dinamiche del metabolismo del DNA ha catalizzato l'interesse della ricerca in ambito chimico-farmaceutico. Uno dei target verso i quali è stata indirizzata la chemioterapia antineoplastica diretta all'inibizione delle topoisomerasi è costituito dalla topoisomerasi IB.

La topoisomerasi umana IB è un enzima coinvolto nel rilassamento di superavvolgimenti positivi e negativi, si tratta di un monomero dal peso di 91 kDa costituito da 765 residui amminoacidici e suddivisibile in 4 domini: un dominio amminotermineale scarsamente conservato, un dominio core suddivisibile in tre subdomini, un dominio *linker* scarsamente conservato e un dominio carbossiterminale all'interno del quale è presente un residuo tirosinico in posizione 723 fondamentale per l'attività catalitica (**Figura 5**). [96JBC7602] [99COSB29] [00B6832] [00CMC39] [00JBC41107] [01ARB369] [02JBC35932] [08QRB41]



Figura 5. Organizzazione dei domini della topoisomerasi IB umana. [08QRB41]

Il dominio amminotermineale, dal peso di 24 kDa, è costituito da circa 214 amminoacidi e possiede caratteristiche idrofiliche in quanto altamente carico, contiene infatti pochi amminoacidi idrofobici, il 90% dei residui è polare e il 72% è carico. Si tratta di un dominio sensibile alle proteasi, caratterizzato da segnali di localizzazione nucleare e siti di interazione con altre proteine come la nucleolina, la p53, la proteina WRN (Werner) e le TAFs ovvero le TATA *binding protein associated factors*, proteine coinvolte nell'iniziazione della trascrizione mediata da TFIID (fattore di trascrizione

IID). La presenza di questo dominio non è fondamentale per l'attività di rilassamento, tant'è vero che la forma tronca dell'enzima, in assenza cioè del dominio amminoterminale, presenta, in vitro, la stessa attività della forma integra; nonostante ciò l'importanza non è trascurabile in vivo, in quanto è stata stabilita la possibilità che possa incidere sul legame enzima-oligonucleotide. [98S1504] [98S1534]

Il dominio *core*, dal peso di 54 kDa, è responsabile dell'interazione con il DNA e contiene quattro dei cinque residui del sito attivo.

Nel dettaglio, il subdominio *core I* è compreso tra i residui amminoacidici 215-232 e 320-433 ed è costituito da due α eliche e nove foglietti β , i residui amminoacidici 233-319 delimitano invece il subdominio *core II* che è costituito da cinque α eliche e due foglietti β . Questi subdomini sono caratterizzati da due eliche *nose cone*, l'elica $\alpha 5$ del subdominio *core II* e l'elica $\alpha 6$ del subdominio *core I*, unite a formare una V a 25 Å di distanza dal corpo della molecola. Il subdominio *core III*, compreso tra i residui 434-635, è caratterizzato da dieci α eliche e tre foglietti β , contiene i residui amminoacidici del sito attivo: Arg488, Arg590, Lys532, His632. Due *loops* denominati *lips* consentono l'interazione tra i subdomini *core I* e *III* mediante sei residui amminoacidici: His367, Pro368 e Lys369 del primo, e Glu497, Thr498 e Ala499 del terzo; l'unico contatto diretto è rappresentato dal ponte salino tra Lys369 e Glu497.

Il dominio *linker*, carico positivamente e dal peso di 7 kDa, connette il dominio *core* al dominio carbossiterminale attraverso un andamento antiparallelo, estendendosi a 50 Å dal corpo dell'enzima; è compreso tra il residuo 636 e il residuo 712 e non è necessario in vitro sebbene influenzi la processività enzimatica. Il dominio carbossiterminale, dal peso di 6,3 kDa, confinato tra residui 713 e 765, è caratterizzato da cinque α eliche e contiene l'ultimo residuo del sito attivo ovvero la tirosina catalitica in posizione 723 che forma il legame fosfodiesterico con il fosfato, legandosi covalentemente all'estremità 3' del filamento interrotto. Il dominio *core* entra in contatto con il dominio carbossiterminale attraverso le α eliche 8, 16 e 17 del subdominio *core III* (**Figura 6**). [97JMB355] [98S1504] [98S1534]

La topoisomerasi IB è una proteina bilobata che avvolge il DNA, è organizzata in un lobo superiore denominato CAP, costituito dai subdomini *core I* e *II*, e in un lobo inferiore che "culla" il DNA, rappresentato dal dominio catalitico costituito dal subdominio *core III* e dal dominio carbossiterminale. I due lobi sono uniti da un lato mediante una cerniera, detta *Hinge*, costituita dalle α eliche 8 e 9 del subdominio *core III*, dall'altro attraverso le interazioni amminoacidiche tra i due *lips* dei subdomini *core I* e *III* (**Figura 6**). [98S1504] [98S1534] [08QRB41]

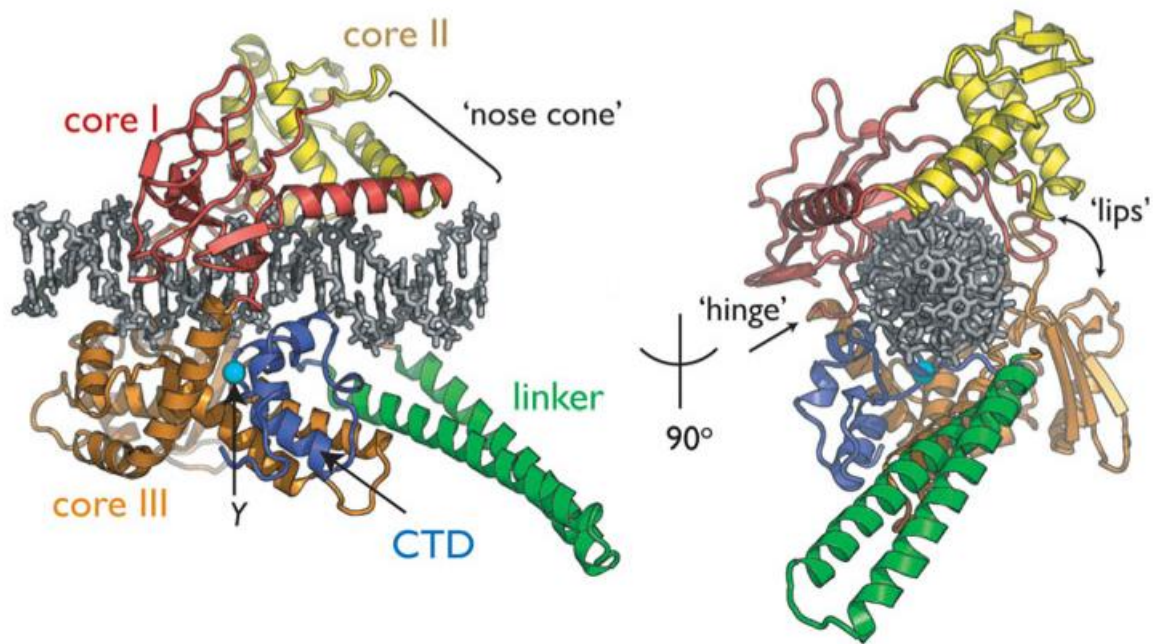


Figura 6. Struttura della Topoisomerasi IB in un complesso non covalente con il DNA [08QRB41]

La struttura bilobata può esistere in una conformazione aperta e in una conformazione chiusa, quest'ultima è caratterizzata da un poro, del diametro compreso tra 15 e 20 Å, contraddistinto dalla presenza di 15 residui lisinici e 8 residui arginini che contribuiscono a definirne l'elevato potenziale elettrostatico positivo. [98S1504] [98S1534]

Il primo step del processo di rilassamento comporta l'apertura della struttura enzimatica al fine di accogliere il DNA, ciò avviene mediante le interruzioni delle interazioni tra i due *lips* e comporta il sollevamento del lobo superiore, il CAP, dal dominio catalitico costituente il lobo inferiore. Il cardine che permette l'apertura della struttura enzimatica è costituito dalle α eliche 8 e 9 del subdominio *core* III che consentono la necessaria flessibilità affinché un dominio possa muoversi sull'altro.

L'enzima costituisce quindi una morsa che avvolge il DNA in una cavità centrale carica positivamente. Da analisi comparative dei differenti siti di clivaggio è stata stabilita la sequenza ottimale necessaria per il legame al DNA e il clivaggio (**Figura 7**). Benché questa regione si presenti con una sufficiente elevata frequenza, la topoisomerasi IB non è caratterizzata da specificità nel riconoscimento della stessa. [10RJBC269]



Figura 7. Sequenza frequente in corrispondenza del sito di clivaggio

La topoisomerasi circonda una regione di DNA di circa 20 paia di basi, entrando in contatto con un segmento lungo 14 paia di basi. Le posizioni a monte del sito di clivaggio, per convenzione, vengono identificate con il segno negativo, quelle a valle con il segno positivo: l'interazione spazia quindi dalla posizione -5 alla posizione +9. Da studi riguardanti complessi covalenti e non covalenti tra il DNA, un oligonucleotide di 22 paia di basi, e l'enzima privo del dominio amminoterminale, è stato possibile comprenderne le modalità d'interazione sia in termini qualitativi che quantitativi. Il complesso non covalente è caratterizzato da 41 interazioni a distanza inferiore di 3,5 Å coinvolgenti 35 residui amminoacidici, gran parte delle quali prevedono la partecipazione dei gruppi fosfato del DNA e degli atomi d'azoto amidici della catena amminoacidica. L'unico contatto base-specifico si realizza in corrispondenza del *minor groove* e si tratta di un legame idrogeno, 2.6-2.9 Å, tra l'ε-amino gruppo della Lys532 e l'ossigeno carbonilico in posizione 2 della timina, base generalmente presente sul filamento scissile in posizione -1 rispetto al sito di clivaggio. La timina è l'unica base azotata con un accettore di legami idrogeno liberamente disponibile nella posizione d'interesse in corrispondenza del *minor groove* e l'unica base azotata che presenta un ossigeno carbonilico non coinvolto nei legami idrogeno con la base azotata complementare; l'interazione base-specifica razionalizza quindi la frequente presenza della timina in posizione -1 rispetto al sito di clivaggio. Nel 92% dei casi, la posizione -1 del filamento scissile è occupata dalla timina, nel restante 8% è presente la citosina che sebbene presenti un ossigeno carbonilico in posizione 2, quest'ultimo instaura un legame idrogeno con l'azoto in posizione 2 dell'amino gruppo della guanina, limitando la propria disponibilità. Considerando la sequenza oligonucleotidica frequente ma non specifica già vista, nelle interazioni con le basi a livello del *minor groove* è coinvolta l'arginina in posizione 364 attraverso l'interazione tra il gruppo guanidinico con:

- L'azoto in posizione 3 della guanina in posizione +2 del filamento scissile nel complesso non covalente

- L'azoto in posizione 3 dell'adenina in posizione -1 del filamento scissile nel complesso covalente

L'arginina 364 interagisce altresì con gli atomi di ossigeno del ribosio in posizione +2 e +3 del filamento scissile.

Nonostante le eliche *nose cone* rivolgano un'ampia interfaccia carica positivamente in corrispondenza del *major groove*, solo un'arginina in posizione 316 interagisce con il fosfato tra la posizione +5 e +6 del filamento scissile. Anche il dominio *linker* si interfaccia al DNA in maniera non proporzionale all'area carica positivamente esposta al DNA, contatta infatti l'oligonucleotide in corrispondenza del fosfato interposto tra le posizioni +9 - +10 del filamento scissile mediante la lisina in posizione 650, e il fosfato interposto tra le posizioni +7 - +8 del filamento integro attraverso l'arginina in posizione

708. Complessivamente quindi, all'interno del complesso non covalente, 37 contatti riguardano i gruppi fosfato, le rimanenti 4 interazioni DNA-proteina derivano da due residui amminoacidici che si proiettano in corrispondenza del *minor groove* instaurando interazioni con le basi azotate e gli atomi di ossigeno del ribosio. La maggior parte dei contatti, 29 per l'esattezza, coinvolge le 5 paia di basi comprese tra le posizioni -1 e -5, le restanti 12 interazioni riguardano le 9 paia di basi comprese tra la posizioni +1 e +9 (**Figura 8**). [98S1504] [98S1534] [99COSB29] [00B6832] [01ARB369] [01BJ490] [01JBC677] [05N671] [07IJB91]

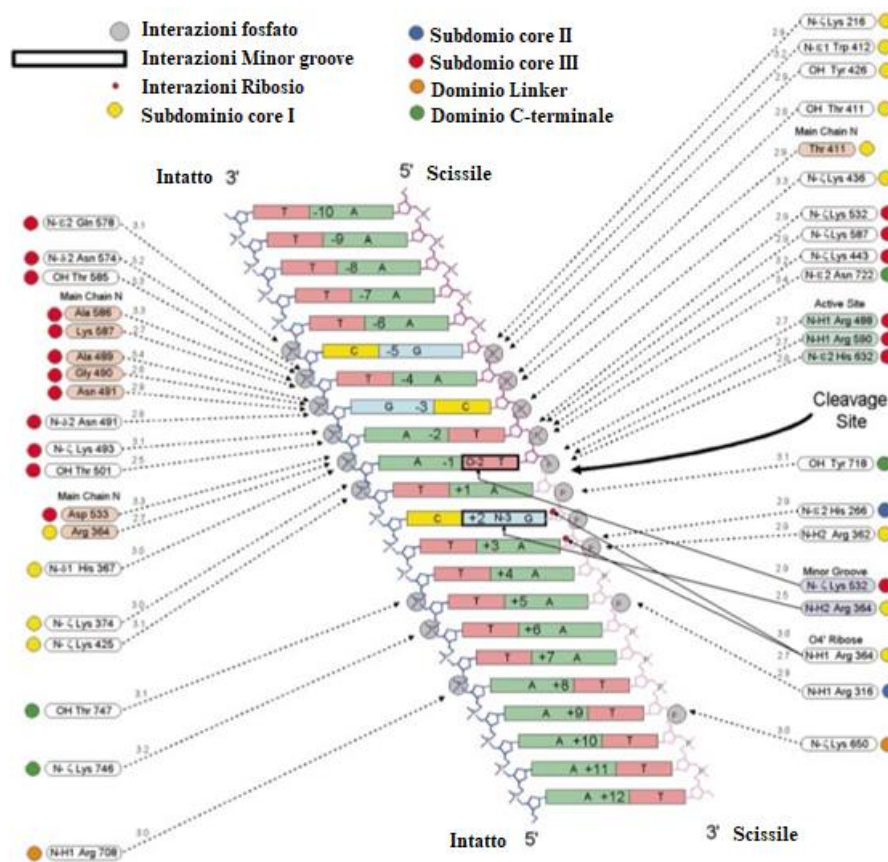


Figura 8. Interazioni DNA-toposimerasi IB nel complesso non covalente [98S1534]

Alla formazione del complesso non covalente segue la formazione dell'intermedio covalente attraverso l'interruzione di un filamento del duplex, il sito attivo responsabile del clivaggio è costituito dai cinque residui che abbiamo già visto: Arg488, Arg590, Lys532, His632 e Tyr723.

La rottura del filamento comprende due importanti stadi:

- Nel primo, i due residui arginini e il residuo istidinico contribuiscono alla stabilizzazione dello stato di coordinazione del fosfato, consentendo la coplanarità tra l'ossigeno del fosfato

al terminale 5' e l'ossidrilico del residuo tirosinico in posizione 723 (**Figura 9**). La Lys532, in questo stadio, è responsabile solo del contatto base specifico enzima-DNA.

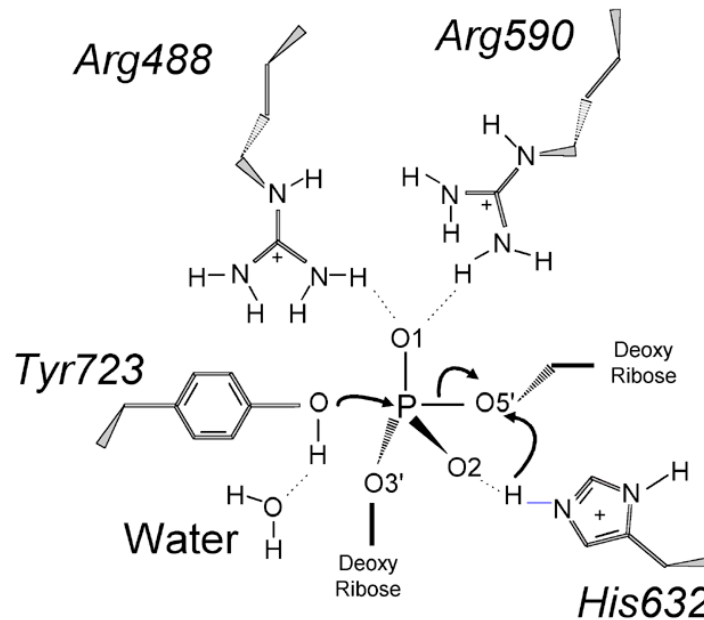


Figura 9. Sito attivo della Topoisomerasi IB umana [98S1534]

- Nel secondo, si assiste ad una rotazione di 75° del fosfato, ciò comporta il coinvolgimento della Lys532 in una interazione idrogeno con uno degli atomi di ossigeno liberi del fosfato. L'Arg590, ormai troppo lontana da entrambi gli atomi di ossigeno liberi, instaura una doppia interazione idrogeno con l'ossidrilico tirosinico (una diretta e una mediata da una molecola d'acqua) abbassandone il pKa e favorendone quindi l'attacco nucleofilo sul fosfato. L'His632, oltretutto continuare a garantire la stabilizzazione dello stato di coordinazione mediante interazione idrogeno con il secondo atomo di ossigeno libero del fosfato, favorisce la protonazione dell'ossigeno del fosfato al 5'. Quanto descritto comporta la formazione del cosiddetto *Cleavable complex* in cui l'ossigeno tirosinico è legato al terminale 3' (**Figura 10**).

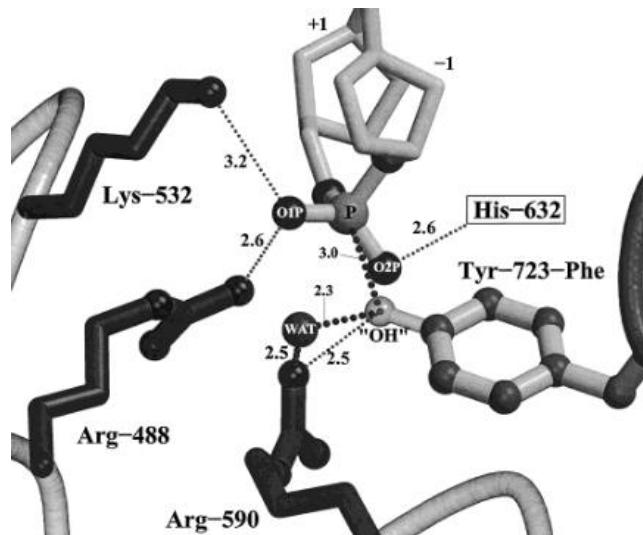


Figura 10. Formazione del cleavable complex [00B6832]

Dopo la formazione del complesso covalente, il meccanismo noto come “rotazione controllata” consente il rilassamento del superavvolgimento [96JBC7602] [98S1534] [99COSB29] [00B6832] [00CMC39] [01ARB369] [01JBC677] [05N671]; si tratta di un moto rotatorio del duplex sottostante al sito di clivaggio attorno ad un asse passante attraverso i gruppi fosfato dell’adenina in posizione -1 e dell’adenina in posizione +10 del filamento integro. Il meccanismo di rotazione è caratterizzato da due distinti riarrangiamenti conformazionali dell’enzima, entrambi convergenti verso l’allontanamento dei due lobi, che consentono una diversificazione nella dinamica del processo rilassamento dei superavvolgimenti positivi e negativi. [05NAR6621]

Il rilassamento dei superavvolgimenti positivi comporta la graduale apertura dell’enzima attraverso la separazione dei due *lips*, i superavvolgimenti negativi vengono invece rilassati attraverso lo stiramento della regione *Hinge* in posizione diametralmente opposta rispetto ai due *lips*, senza il significativo cambiamento della loro relativa posizione. La rotazione che comporta l’allentamento della tensione del superavvolgimento è quindi associata a movimenti di apertura della struttura bilobata dell’enzima strettamente correlati alla natura del superavvolgimento stesso (**Figura 11**). [05NAR6621] [10BJ869] [11DTC58]

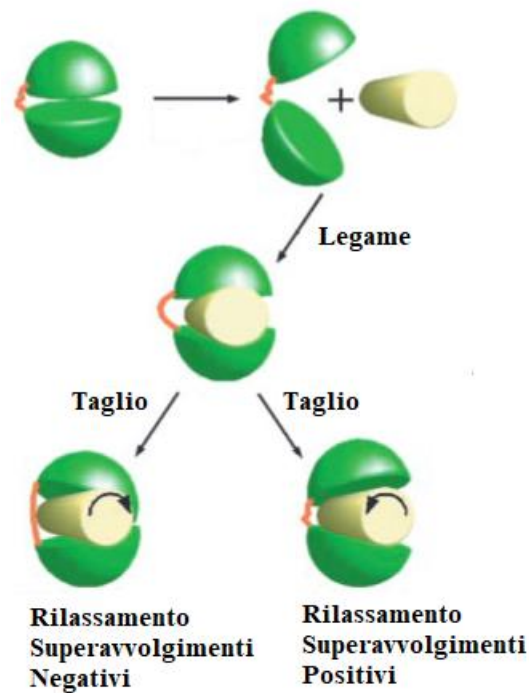


Figura 11. Caricatura del processo di rilassamento del superavvolgimento [05NAR6621]

La realizzazione del controllo dei due moti rotatori di rilassamento avviene grazie ad interazioni elettrostatiche tra i residui amminoacidici carichi positivamente delle α eliche *nose cone* e del dominio *linker* e il DNA a valle del sito di clivaggio. Dallo studio dell'energia di interazione in funzione del grado di rotazione associato al rilassamento dei superavvolgimenti negativi e positivi, emergono i ruoli dominanti del dominio *linker* e dell' α elica *nose cone* del subdominio *core II* nel controllo della rotazione nel caso dei superavvolgimenti positivi. L' α elica *nose cone* del subdominio *core I* occupa invece un ruolo cruciale nel controllo della rotazione associata al rilassamento dei superavvolgimenti di segno opposto. [05NAR6621] [13JMGM286]

Le α eliche *nose cone* governano il controllo della rotazione impartendo una spinta ai domini circostanti in base alle caratteristiche del superavvolgimento, nel dettaglio l' α elica *nose cone* del subdominio *core II* regola il moto rotatorio imponendo una pressione sul lato destro del CAP dell'enzima con l'allontanamento, come già visto, dei due *lips*; l' α elica *nose cone* del subdominio *core I* induce un movimento del CAP che provoca una spinta a carico dei domini sul lato sinistro e lo stiramento della regione cerniera (**Figura 12**). [05NAR6621] [13JMGM286]

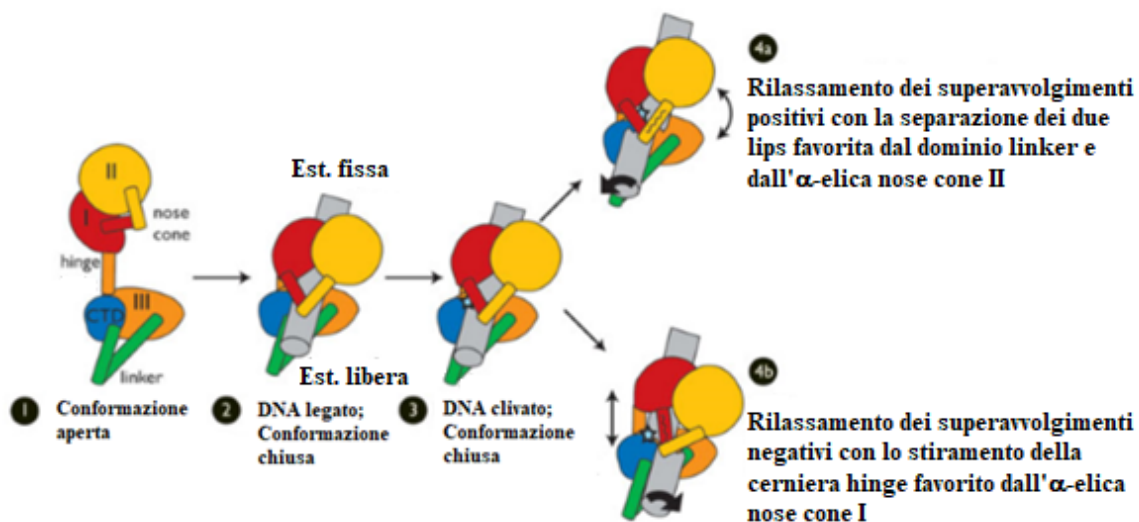


Figura 12. Schematizzazione della rotazione controllata [08QRB41]

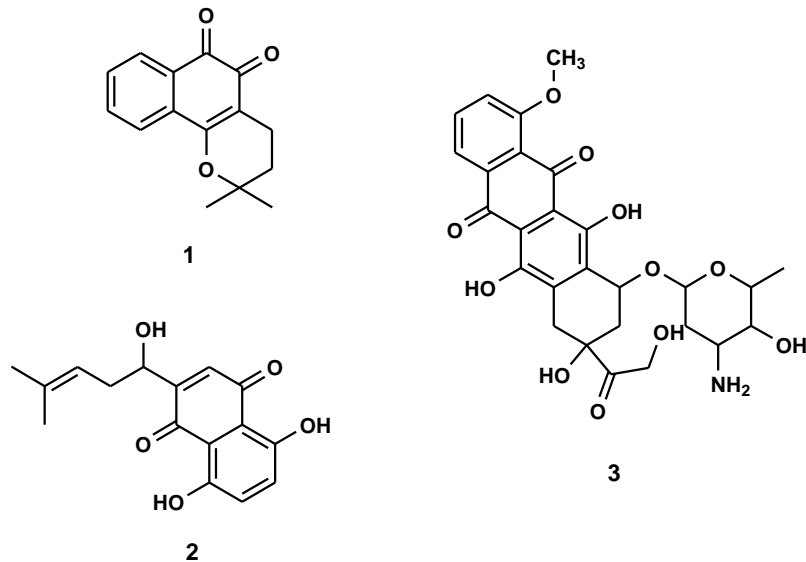
Dopo la rotazione, il *cleavable complex* va incontro a scissione, con il conseguente ripristino dell'integrità del filamento interrotto, mediante una transesterificazione inversa favorita anche dall'energia torsionale rilasciata dal superavvolgimento.

Visto il ruolo chiave occupato dalla Topoisomerasi I all'interno delle dinamiche della vita cellulare, sono state isolate e sviluppate diverse molecole con attività inibitoria, molte delle quali in grado stabilizzare l'enzima in un complesso covalente con il DNA. [99B8605] [99BMCL145] [01BMC357] [03BMC679] [03BMC4871] [15B1652]

Gli inibitori della topoisomerasi IB si suddividono in:

- Inibitori catalitici (*Suppressor*) che agiscono inibendo la formazione del *cleavable complex* bloccando l'attività fosfodiesterasica dell'enzima.
- Veleni (*Poison*) che agiscono mediante inibizione dell'attività ligasica dell'enzima attraverso la stabilizzazione del *cleavable complex*.

Gli inibitori catalitici legano il DNA non complessato impedendone l'interazione con l'enzima, o l'enzima libero impedendo il processo di clivaggio. In genere sono caratterizzati da una bassa specificità e non hanno contribuito ad un rilevante sviluppo clinico di farmaci antineoplastici. Molecole come il β-Lapachone **1** e la Shikonina **2**, legano direttamente l'enzima libero; agenti intercalanti come la Doxorubicina **3** e gli analoghi inibiscono la topoisomerasi IB ad alte concentrazioni ostacolandone l'accesso alla doppia elica. [98B255] [00CMC39] [00CMC1189] [03CTMC305] [06SDBA46] [12CMC1238]



I veleni sono in grado di bloccare l'enzima nel complesso covalente con il DNA attraverso tre possibili meccanismi:

- L'inibitore forma un complesso con il DNA che lega successivamente l'enzima
- L'inibitore lega un complesso già formato enzima-DNA
- L'inibitore forma un complesso con l'enzima che lega successivamente il DNA. [06SDBA46]

In tutti e tre i casi si assiste comunque alla formazione di un complesso ternario enzima-DNA-inibitore che stabilizza il *cleavable complex*, la cui collisione con i complessi macromolecolari di replicazione e trascrizione comporta il danneggiamento del DNA. La collisione con la forcella replicativa è responsabile del danno primario che provoca la formazione di rotture a doppio filamento da replicazione (RepDSB), il filamento *leading* è allungato fino all'ultimo nucleotide all'estremità 5' del *cleavable complex*. L'eventuale ripristino dell'integrità del *cleavable complex* è bloccato dall'appaiamento tra il filamento *template* e il filamento *leading*, l'accumulo di RepDSB induce la conseguente apoptosi (**Figura 13**). [06NRC789] [11NRR733] [15B1652]

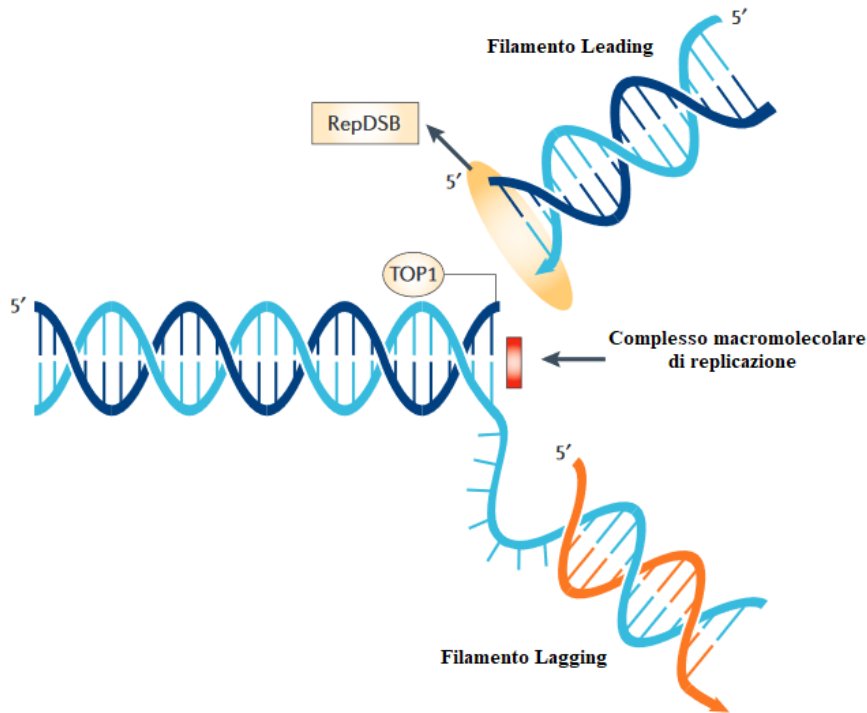


Figura 13. Formazione di rotture a doppio filamento in seguito alla collisione tra forcella replicativa e *cleavable complex* stabilizzato dall'inibitore. [06NRC789]

La stabilizzazione del *cleavable complex* durante la trascrizione rappresenta un meccanismo di danno secondario al DNA. La collisione tra *cleavable complex* stabilizzato e l'RNA polimerasi comporta l'arresto della trascrizione, il duplex DNA-RNA inibisce il reintegro della struttura originaria del DNA con l'accumulo di superavvolgimenti negativi che promuovono la formazione di *R-loop*, strutture a tre filamenti costituite da un duplex DNA-RNA e un filamento di DNA non *template*. La collisione tra forcella replicativa ed *R-loop* può comportare, come nel caso della replicazione, la formazione di rotture a doppio filamento (**Figura 14**). [06NRC789] [12MC115] [15TCB514]

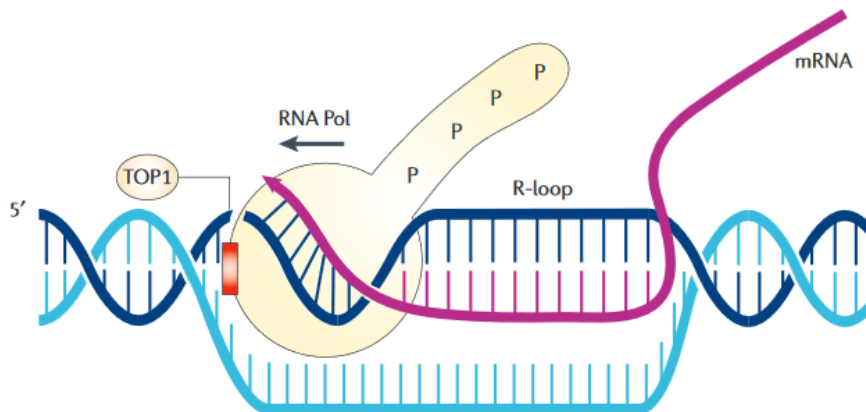
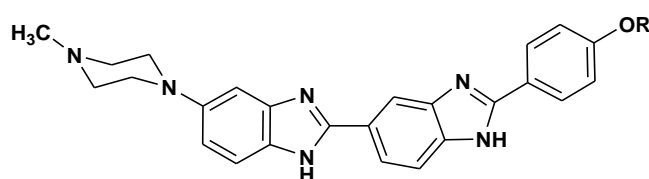


Figura 14. Formazione di *R-loop* in seguito alla presenza del *cleavable complex* durante la trascrizione [06NRC789]

I veleni possono essere suddivisi in due sottocategorie i *Minor groove binders* e gli intercalanti; in entrambi i casi la stabilizzazione del complesso covalente, e quindi l'inibizione, si estrinseca attraverso il disallineamento tra l'ossigeno tirosinico legato al terminale 3' e l'ossigeno idrossilico al terminale 5' che interferisce con la transesterificazione inversa che dovrebbe consentire il ripristino dell'integrità del filamento interrotto. [00CMC39] [00CMC1189] [03CTMC305] [12CMC1238]

Nel caso dei *Minor groove binders*, il disallineamento dipende da una curvatura del duplex indotta in seguito al legame dell'inibitore in corrispondenza di sequenze ricche di AT in a livello del *minor groove*, tra la posizione +2 e +3 rispetto al sito di clivaggio. Esempi sono costituiti dalle molecole a struttura bis-benzimidazolica come Hoechst 33258 **4** e Hoechst 33342 **5**. [00CMC39] [03CTMC305]

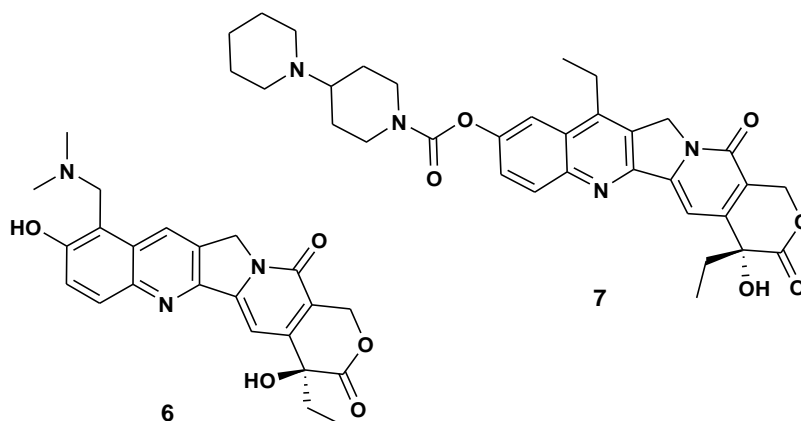


4-5

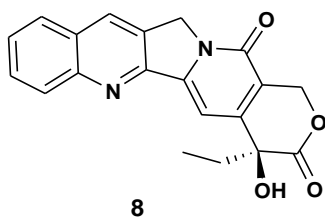
4 R= H

5 R= -CH₂CH₃

Per gli intercalanti si parla di inibizione interfacciale mediante intercalazione tra la posizione +1 e -1 rispetto al sito di clivaggio. Quest'ultima sottocategoria è la più importante visto che di questa fanno parte il topotecano **6** e l'irinotecano **7**, le uniche due uniche molecole utilizzate in terapia come inibitori selettivi della topoisomerasi IB. [03CTMC305] [06NRC789] [12CMC1238]



L'irinotecano e il topotecano sono due analoghi dell'alcaloide Campotecina **8**, estratto dalla corteccia di *Camptotheca acuminata*, caratterizzati da una maggiore solubilità in acqua.



Le molecole a struttura campotecino-simile, le campotecine, sono farmacologicamente uniche per tre ragioni:

- L'esclusiva selettività rispetto alla topoisomerasi IB, cellule di lievito private del gene della topoisomerasi IB diventano resistenti alle campotecine.
- Garantiscono un'interazione stereospecifica, vengono inattivate in seguito all'inversione del centro chirale in posizione 20.
- La ristretta finestra temporale che ne consente un preciso controllo a causa della rapida formazione e dissociazione del complesso ternario. In seguito alla bassa affinità devono infatti essere somministrate a concentrazioni micromolari per una rilevabile inibizione; sono più importanti per la selettività che per la potenza.

Alle ragioni che ne sottolineano l'unicità si contrappongono le limitazioni che comprendono:

- La reversibilità del complesso ternario che, sebbene possa rappresentare uno strumento di controllo degli effetti, richiede infusione continua affinché l'effetto si traduca in danno al DNA
- Lo spettro ristretto
- I *side effect* (leucopenia, diarrea) che ne limitano la dose e quindi l'effetto
- Il riconoscimento da parte delle proteine di resistenza multifarmaco ABCB1, ABCC4 e ABCG2
- L'apertura del ciclo lattonico a pH fisiologico che ne comporta l'inattivazione e il legame alle siero albumine. [94JMC40] [03CTMC305] [03JMC3275] [06NRC789] [07BMCL5673] [08BMC1493] [09CR2894] [09EOTP555] [11CMC4389] [12CMC1238] [13CPB631] [13JMC7458]

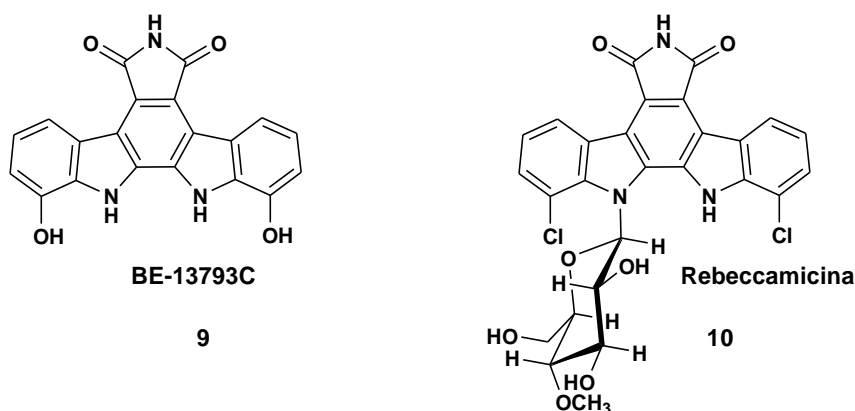
Il tentativo di superare i limiti riguardanti le campotecine ha rappresentato una notevole spinta verso la ricerca di nuovi agenti intercalanti a struttura non campotecino-simile in grado stabilizzare il *cleavable complex* attraverso inibizione interfacciale.

Tutti gli intercalanti che agiscono mediante stabilizzazione del *cleavable complex* sono caratterizzati da cinque caratteristiche comuni: [97B3917] [99B8605] [02B1428] [02D2039] [02PNAS15387]

[03JMC3275] [05JMC2336] [06MCT287] [06NRC789] [07BMCL5673] [08BMC1493]
[09JMC3225] [10JMC1979] [10PO10934] [11CMC4389] [11JMC4937] [11PO24314]
[12BIOP134] [12CMC1238] [12PO51354] [13JMC7458] [13TCA1379]

- La presenza di un cromoforo planare che si intercala.
- La presenza di un accettore di legami idrogeno in grado di interagire con un residuo di arginina in posizione 364 in corrispondenza del *minor groove*.
- La presenza di sostituenti in corrispondenza del *major groove*, in alcuni dei derivati delle tre classi, che si proiettano verso l'Asn352.
- Interazioni π -stacking, con le basi azotate, spazialmente conservate in corrispondenza del versante del filamento integro e variabili in corrispondenza del versante del filamento interrotto.
- La capacità di interagire, in base ai sostituenti presenti, con gli stessi residui amminoacidici chiave: Asn352, Arg364, Glu356, Asp533 e Asn722.

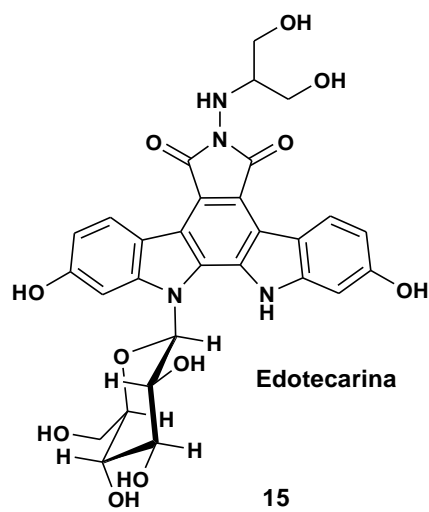
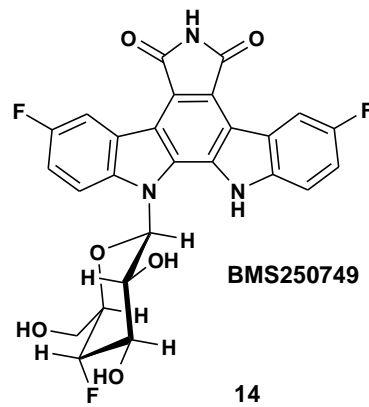
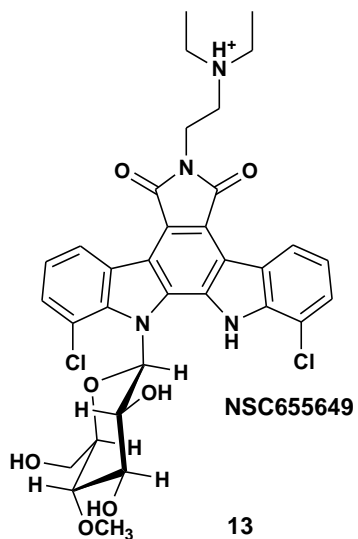
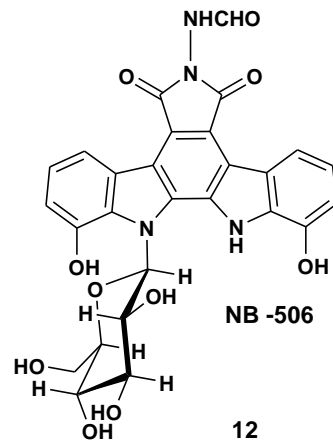
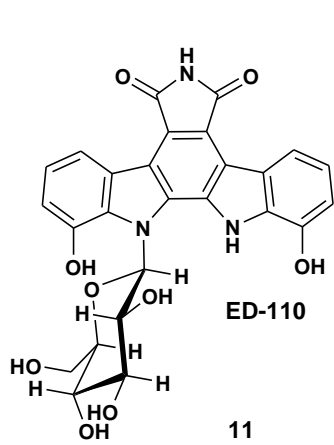
I metaboliti microbici a struttura indolocarbazolica come BE-13793C **9** e la Rebeccamicina **10**, isolati da colture di *Streptovercillum mobaranense* e *Saccharotrix aerocolonigenes* rispettivamente nel 1985 e nel 1991, hanno catalizzato l'attenzione mostrando una potente attività inibitoria sulla Topoisomerasi I a concentrazioni nel range dal micromolare al nanomolare [98BMC1597] [99BMCL145] [99JMC584] [00CMC1189] [03EJMC123] così come una interessante attività antiproliferativa, a concentrazioni nel range dal micromolare al nanomolare, a carico di diverse linee cellulari murine (B16, P388, L1210) ed umane (A549, HT29, MKN-45, OVCAR-3, K-562). [97JMC3456] [99JMC584] [03EJMC123]



I vari tentativi di ottenere composti più attivi e meno tossici hanno condotto all'ottenimento di ED-110 **11** ed NB-506 **12**, derivati di BE13793C, di NSC655649 **13** e BMS250749 **14**, derivati della

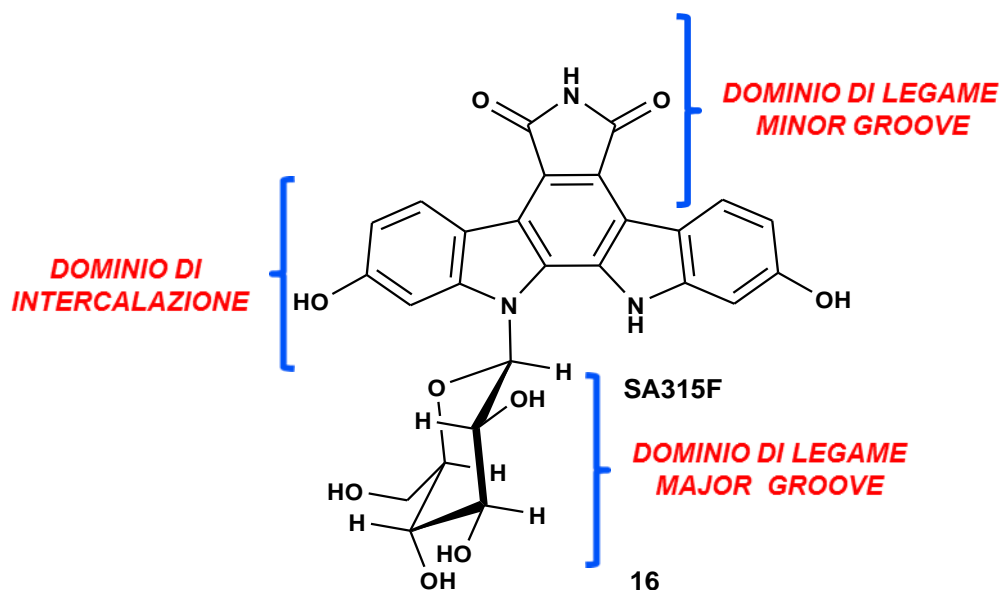
Rebeccamicina, e dell'Edotecarina **15**, un derivato di NB506, in fase di sperimentazione clinica.

[12BMCL5013]



Sulla base di uno studio cristallografico riguardante l'SA315F **16**, analogo della Rebeccamicina, con un complesso DNA-topoisomerasi IB, all'interno della struttura indolocarbazolica glicosilata possono essere distinti tre domini di legame: [97B3917] [99MP377] [05JMC2336] [12CMC1238]

- Un dominio di legame al *major groove* costituito dalla porzione zuccherina
- Un dominio di legame al *minor groove* costituito dal nucleo maleimidico
- Un dominio di intercalazione costituito dalla porzione ciclica planare

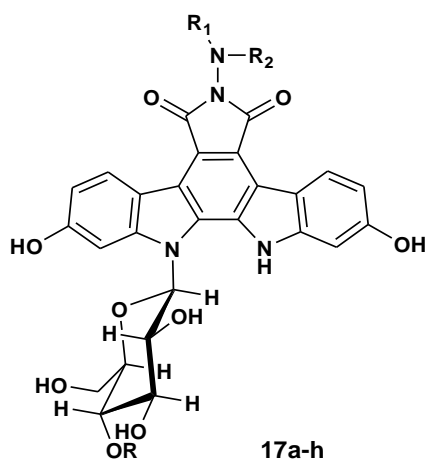


Ad oggi, centinaia di analoghi della rebeccamicina **10** sono stati sintetizzati e le modifiche effettuate comprendono:

- La sostituzione della porzione zuccherina [00BMCL419] [01EJMC887] [03EJMC123]
- La sostituzione del nucleo indolico con nucleo 7-azaindolico a carico di una o entrambe le porzioni indoliche [03BMC679] [03EJMC123] [03JMC609]
- L'inserimento di nuovi sostituenti in corrispondenza della porzione zuccherina [97JMC3465] [03EJMC123] [12BMCL5013]
- L'inserimento di nuovi sostituenti in corrispondenza del nucleo indolico [96JMC4471] [03BMC4871] [03EJMC123] [08ML1620]
- L'inserimento di nuovi sostituenti in corrispondenza dell'azoto maleimidico [96JMC4471] [97JMC3465] [00CMC1189] [03EJMC123] [08ML1620]

Nello studio del 2012 di F.Animati et al. [12BMCL5013], sono stati sintetizzati i derivati del tipo **17a-h** della rebeccamicina **10**, caratterizzati dalla struttura diidrossicarbazolica dell'edotecarina **15**, da modifiche a carico della porzione zuccherina e dall'inserzione di sostituenti in corrispondenza

dell'azoto immidico (**Tabella 1**), e ne è stata valutata l'attività citotossica a carico delle linee cellulari tumorali umane A2780 (carcinoma ovarico), H460 (carcinoma polmonare) e GLC-4 (carcinoma polmonare a piccole cellule), utilizzando la campotecina **8** e l'edotecarina **15** come composti di riferimento.



Prodotto	R	R₁	R₂
17a	H		H
17b	H		H
17c	H		-
17d	H		H
17e	H		H
17f			H
17g			H
17h			H

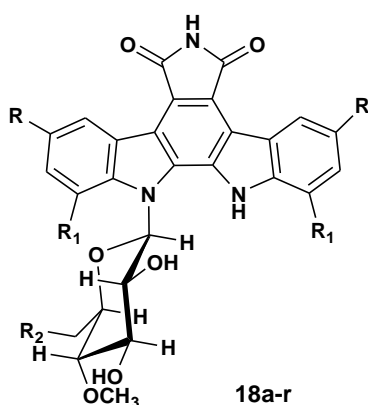
Tabella 1. Strutture dei composti **17a-h**

Tra i monosaccaridi, i composti **17b** e **17d** hanno mostrato una maggiore attività citotossica rispetto all'edotecarina, in particolare il composto **17b**, portante un anello 1-3 diossolanico legato all'azoto immidico, è risultato essere dieci volte più potente sulla linea cellulare A2780 ed equipotente sulla linea cellulare GLC-4. I disaccaridi **17f-h** hanno invece tutti mostrato minore attività citotossica (Tabella 2).

Prodotto	A2780	H460	GLC-4
Edotecarina	6.5 ± 0.4	193 ± 145	0.8 ± 0.1
Campotecina	7 ± 6	5 ± 4	10 ± 8
17b	0.7 ± 0.1	>250	0.7 ± 0.3
17d	1.7 ± 1.1	>1000	0.8 ± 0.4

Tabella 2. Attività citotossica dei composti più attivi della serie **17a-h** (IC₅₀ in nM)

C. Marminon et al, in un lavoro del 2008 [08MF1620], hanno testato nuovi derivati della rebeccamicina del tipo **18a-r** caratterizzati da inserzioni di nuovi sostituenti in corrispondenza delle posizioni 3 e 9 associate a diverse modifiche a livello della porzione zuccherina.

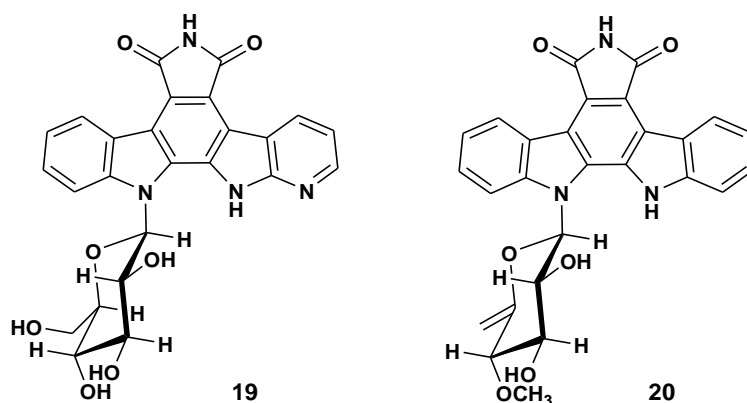


R=H; Br; CHO; CH₂OH; COOCH₃; NH₂; NO₂; OH

R₁= H; Cl

R₂= H; Cl; I; NH₂, HCl; NHCH₃, HCl; N(CH₃)₂, HCl; , HCl; N₃

Sono stati altresì sintetizzati i derivati **19** e **20**.



L'attività citotossica rispetto alla rebeccamicina **10** è stata valutata sulle linee cellulari tumorali umane A549 (carcinoma polmonare) e HT29 (carcinoma del colon), i composti più attivi su entrambe le linee cellulari sono risultati essere i composti **18a-d** portanti una catena alchilamminica in corrispondenza della porzione zuccherina (**Tabella 3**).

Prodotto	R	R₁	R₂
18a	H	H	NH ₂ , HCl
18b	H	H	NHCH ₃ , HCl
18c	H	H	N(CH ₃) ₂ , HCl
18d	Br	H	H

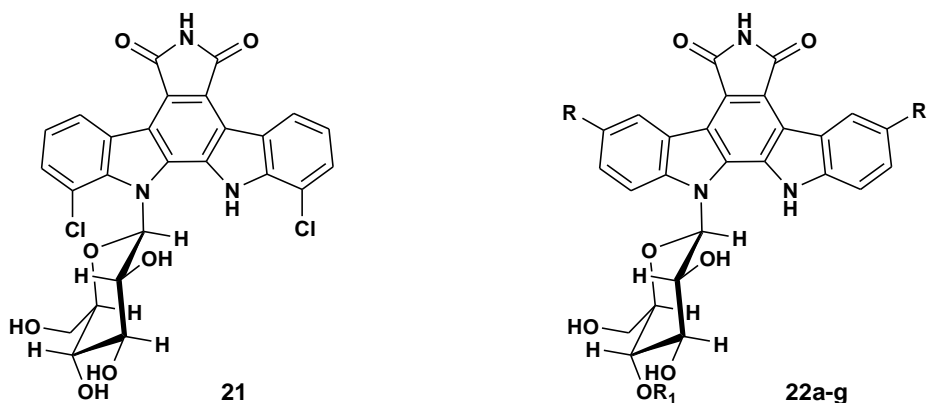
Tabella 3. Composti più attivi della serie **18a-r**

Nel dettaglio i composti **18a-d** hanno mostrato maggiore attività citotossica sulla linea cellulare HT29, i composti **18b-c** hanno altresì mostrato maggiore attività sulla linea cellulare A549 (**Tabella 4**).

Prodotto	A549	HT29
Rebeccamicina	0.3	0.253
18a	<1	0.1
18b	<0.1	<0.1
18c	<0.1	<0.1
18d	0.37	0.14

Tabella 4. Attività citotossica dei composti **18a-d** (IC₅₀ in μM)

L'attività antiproliferativa degli otto derivati **21**, **22a-g** (Tabella 5) della rebeccamicina **10** con diversi sostituenti in corrispondenza delle posizioni 3 e 9 è stata valutata su otto linee cellulari tumorali umane: IgROV (carcinoma ovarico), SK-N-MC (neuroblastoma), HT29 (carcinoma del colon), A549 (carcinoma polmonare), NCI-H69 (carcinoma polmonare a piccole cellule), A431 e KB-3-1 (carcinoma epidermico), K-562 (leucemia umana). [03BMC4871]



Prodotto	R	R ₁
22a	H	CH ₃
22b	diCHO	CH ₃
22c	diCH ₂ OH	CH ₃
22d	diNO ₂	CH ₃
22e	diNH ₂	CH ₃
22f	diOH	CH ₃
22g	diCOOCH ₃	CH ₃

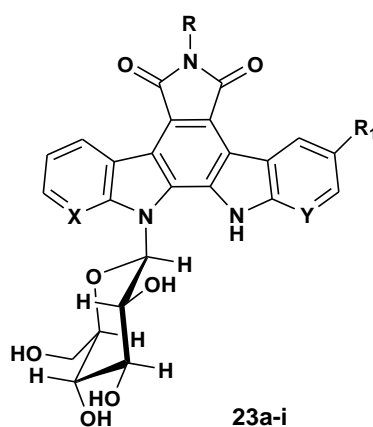
Tabella 5. Strutture dei composti **22a-g**

Attività citotossiche maggiori rispetto alla rebeccamicina sono state riscontrate sulla linea A431 nel caso del composto **22d** e sulla linea cellulare K-562 nel caso dei composti **21**, **22a**, **22d** e **22f** (Tabella 6); in tutti gli altri casi sussiste equipotenza o attività citotossica minore.

Prodotto	A431	K-562
Rebeccamicina	0.25	0.2
21	1	0.1
22a	3.8	<0.1
22d	0.1	<0.1
22f	>10	0.1

Tabella 6. Attività citotossica dei composti **21**, **22a**, **22d**, **22f** (IC_{50} in μM).

L'effetto della sostituzione di una o entrambe le porzioni indoliche con unità 7-azaindoliche della serie **23a-i** è stata valutata sulle linee cellulari tumorali umane: IgROV (carcinoma ovarico), SK-N-MC (neuroblastoma), HT29 (carcinoma del colon), A549 (carcinoma polmonare), NC1-H69 (carcinoma polmonare a piccole cellule), A431 e KB-3-1 (carcinoma epidermico), K-562 (leucemia umana). [03BMC679] [03JMC609] [03EJMC123]



Le strutture portanti una porzione 7-azaindolica legante il glucopiranosio ed una porzione indolica hanno mostrato i migliori risultati (**Tabella 7**).

Prodotto	X	Y	R	R₁
23a	N	N	H	H
23b	N	N	CH ₃	H
23c	CH	N	CH ₃	H
23d	N	CH	H	H
23e	N	CH	CH ₃	H
23f	N	CH	H	Br
23g	N	CH	CH ₃	Br
23h	N	CH	H	NO ₂
23i	CH	N	H	H

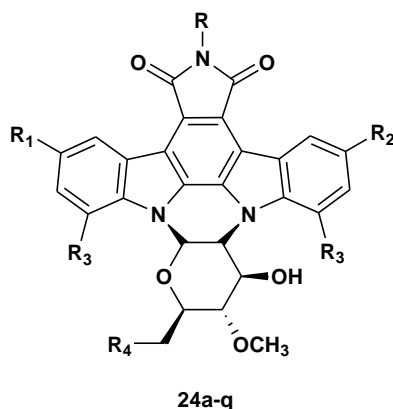
Tabella 7. Dettagli dei sostituenti delle strutture dei composti della serie **23a-i**

In particolare, maggiore attività rispetto alla rebeccamicina è stata riscontrata nel caso dei composti **23d**, **23f** e **23g** sulle linee cellulari SK-N-MC e A431. Gli stessi derivati, con il composto **23h**, hanno altresì manifestato maggiore attività sulla linea cellulare NCI-H69; il composto **23e** è risultato più attivo sulle linee cellulari A431 e KB-3-1. Tra le due strutture contraddistinte da due porzioni 7-azaindoliche, il composto **23c** è risultato essere più attivo sulla linea cellulare A431 (**Tabella 8**).

Prodotto	SK-N-MC	A431	NCI-H69	KB-3-1
Rebeccamicina	<0.1	0.25	<0.1	0.3
23c	0.28	0.062	0.31	24.3
23d	0.059	0.238	0.01	2.56
23e	0.18	0.012	0.11	0.11
23f	0.018	0.229	0.007	0.93
23g	0.041	0.053	0.043	1.2
23h	-	10	0.017	0.552

Tabella 8. Attività citotossica dei composti 23c-h (*IC*₅₀ in μ M).

Ulteriori analoghi del tipo **24a-q**, caratterizzati da uno zucchero a ponte tra i due atomi di azoto indolici, sono stati sintetizzati a partire dalla rebeccamicina **10** mediante tosilazione della posizione 2' del piranoso e successiva sostituzione nucleofila, previa deprotonazione dell'azoto indolico, con azoturo di sodio. Gli analoghi sono stati testati su tre linee cellulari tumorali umane: HT29 (carcinoma del colon), A549 (carcinoma polmonare) e K-562 (leucemia umana). [02JMC1330]



R=H; CH₃; OH; -(CH₂)₂-NEt₂;
R₁=H; Br; CHO; CH₂OH; NH₂; NO₂; OH;
R₂=H; Br; CHO; CH₂OH; NH₂; NO₂; OH;
R₃=H; Cl
R₄= Cl; NH₂, HCl; N₃;OH

I derivati più attivi rispetto alla rebeccamicina sono risultati i **24a-c** (Tabella 9).

Prodotto	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
24a	-(CH ₂) ₂ -NEt ₂	H	H	H	OH
24b	H	Br	Br	H	OH
24c	H	H	H	H	NH ₂ , HCl

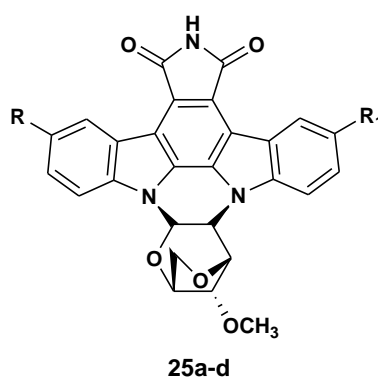
Tabella 9. Derivati più attivi della serie **24a-q**

In particolare il derivato **24b** ha mostrato maggiore attività su tutte e tre le linee cellulari, i derivati **24a** e **24c** sono risultati più attivi sulla linea cellulare HT29 e rispettivamente sulle linee K-562 e A549. (Tabella 10).

Prodotto	HT29	A549	K-562
Rebeccamicina	0.3	0.3	0.2
24a	0.2	0.3	<0.1
24b	0.1	0.2	<0.1
24c	0.2	0.2	0.2

Tabella 10. Attività citotossica dei composti **24a-c** (IC_{50} in μM).

Nello stesso lavoro, quattro anidro-3',6' derivati del tipo **25 a-d** (**Tabella 11**) sono stati saggiati sulle stesse linee cellulari.



Prodotto	R	R₁
25a	H	H
25b	NO ₂	NO ₂
25c	H	NO ₂
25d	NO ₂	H

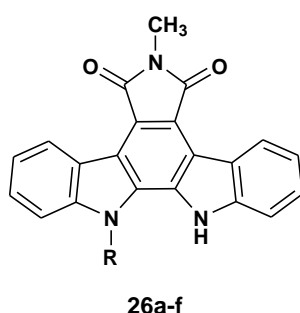
Tabella 11. Dettagli dei sostituenti delle strutture dei composti della serie **25a-d**

Il prodotto **25b** ha mostrato maggiore attività rispetto alla rebeccamicina su tutte e tre le linee cellulari (**Tabella 12**).

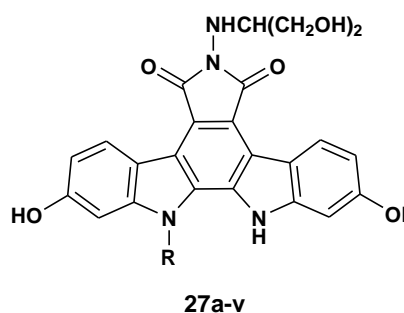
Prodotto	HT29	A549	K-562
Rebeccamicina	0.3	0.3	0.2
25b	<0.1	0.1	0.1

Tabella 12. Attività citotossica del composto **25b** (IC_{50} in μM)

In uno studio di M. Prudhomme del 2003, è stata valutata l'attività inibitoria a carico della topoisomerasi IB e l'attività citotossica sulla linea cellulare murina P388 (leucemia) da parte delle strutture indolocarbazoliche del tipo **26a-f** e **27a-v** sostituite con diverse porzioni zuccherine in corrispondenza di uno degli atomi di azoto indolici.



R= α - e β -Glucopiranosio;
 α - e β -Galattopiranosio;
 α - e β -Fucopiranosio;



R= α - e β -Allopiranosio;
 α - e β -Arabinofuranosio;
 α - e β -Glucopiranosio;
 α - e β -Mannopiranosio;
 α - e β -Ribofuranosio
 α - e β -Xilofuranosio;
 α - e β -2-Deossiglucopiranosio
 β -Allofuranosio;
 β -Galattopiranosio;
 β -Glucofuranosio;
 β -Maltosio;
 β -Xilopiranosio;
 β -6-Deossiglucopiranosio

Per quanto concerne i composti della serie **26a-f**, il prodotto caratterizzato dalla presenza del β -Galattopiranosio è risultato il più attivo sulla topoisomerasi IB con una MIC di 0,6 μM , l'attività citotossica dei sei composti invece è piuttosto livellata con valori di IC_{50} compresi tra 6 e 6,2 μM .

Il composto più attivo sulla topoisomerasi IB della serie **27a-v** è risultato il derivato portante il β -ribofuranosio con una EC_{50} di 0,008 μM , l'analogo caratterizzato dal β -xilofuranosio ha invece mostrato la maggiore attività citotossica con una IC_{50} di 0,00096 μM .

La maggior parte degli analoghi sono stati sintetizzati dalla rebeccamicina **10**, o dall'aglicone della stessa. Diversi sono stati gli approcci sintetici per la sintesi della rebeccamicina **10**, Kaneko et al. hanno utilizzato due vie sintetiche differenti che convergono verso la sintesi dell'aglicone successivamente glicosilato. Il primo approccio è basato sulla reazione tra un reattivo di Grignard del 7-cloroindolo e una N-benzilossidibromomaleimide seguita da una fotociclizzazione; il secondo approccio prevede una reazione di Diels-Alder tra la N-benzilossimaleimide e il 2-2' bisindolo, seguita dalla perdita di acido acetico e dalla deidratazione. La glicosilazione avviene attraverso il metodo di Koenigs Knorr, in presenza di 1-bromo-2,3,6-tri-O-acetil-4-O-metilglucosio. Faul et al. hanno invece sintetizzato lo scheletro indolocarbazolico attraverso la reazione tra il metil indolo-3-glicosilato e la 7-cloroindolo-3-acetamide precedentemente accoppiata alla porzione zuccherina (**Figura 15**). [03EJMC123]

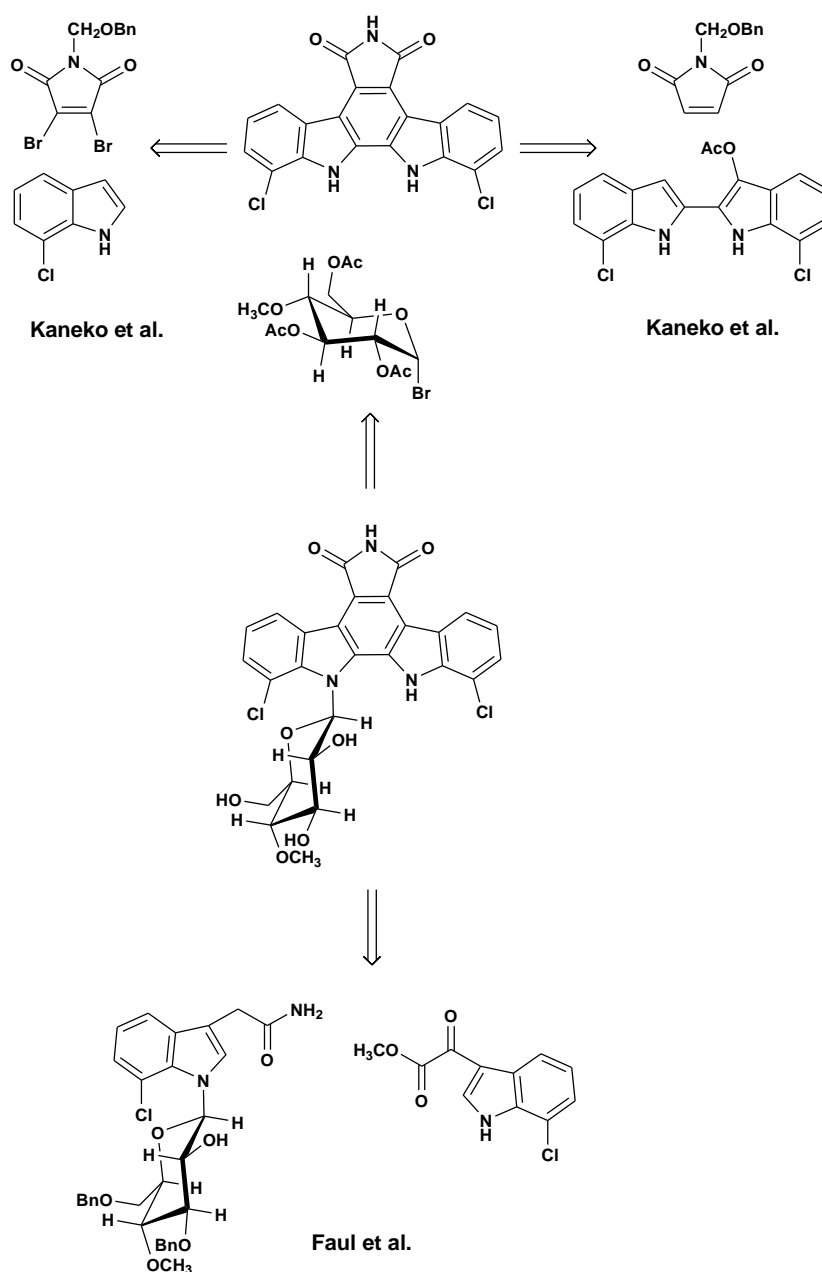
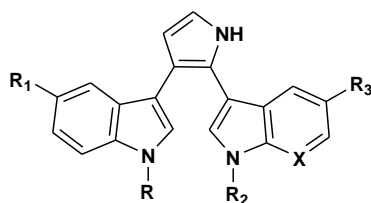


Figura 15. Vie sintetiche per l'ottenimento della rebeccamicina **10**

Alcuni derivati possono essere ottenuti a partire dagli indoli o 7-azaindoli seguendo in linea generale la prima via sintetica di Kaneko con delle opportune variazioni in base all'eventuale presenza di asimmetria tra le porzioni indoliche o 7-azaindoliche. Oltre al metodo di Koenigs Knorr, la glicosilazione può essere effettuata attraverso una reazione di Mitsunobu in presenza di uno piranosio tetrabenzilato o tetracetilato, o mediante l'approccio di Danishefsky attraverso una reazione coinvolgente un'1,2-androzucchero dibenzilato ottenuto dall'epossidazione di un glicale. [03EJMC123]

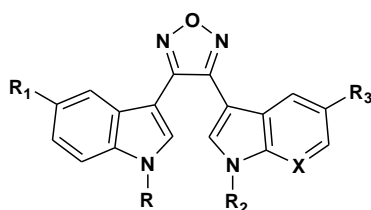
Considerata la notevole attività inibitoria mostrata dai *lead compound* indolocarbazolici, e dai loro analoghi, e la mancanza di derivati caratterizzati dalla sostituzione del ciclo maleimidico con un

anello pentatomico aromatico, obiettivo del mio progetto di ricerca è stato quello di sintetizzare nuovi derivati agliconici della rebeccamicina **10** a struttura bis-indolil pirrolica del tipo **28-31** e bis-indolil-1,2,5-ossadiazolica o indolil-7-aza-indolil-1,2,5-ossadiazolica del tipo **32-39** attraverso una via sintetica in parte sovrapponibile basata sulla sintesi di un 1,2 dichetone. Sui derivati ottenuti è stata successivamente valutata l'attività antiproliferativa a carico di 60 linee cellulari tumorali umane.



28-31

R=H;CH₃ R₁=H; Br; F; OCH₃; R₂=H; CH₃; R₃=H; Br; F; OCH₃; X=CH; N

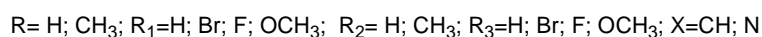
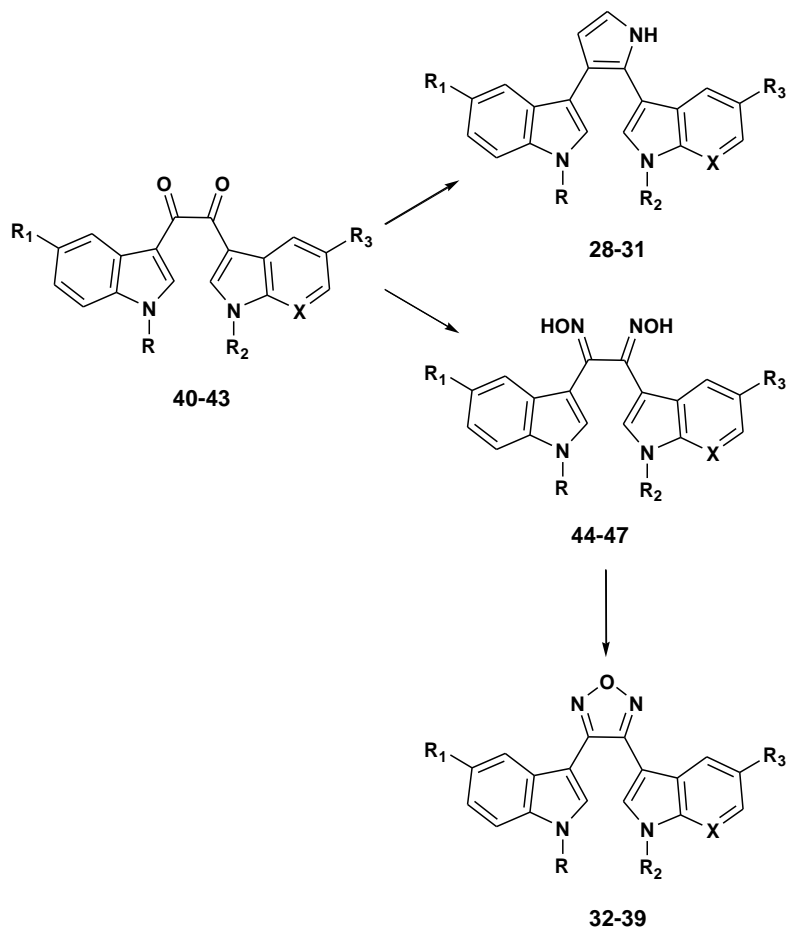


32-39

R=H; CH₃; COOCH₂CH₃; R₁=H; Br; F; OCH₃; R₂=H; CH₃; COOCH₂CH₃; R₃=H; Br; F; OCH₃; X=CH;N

II. SINTESI

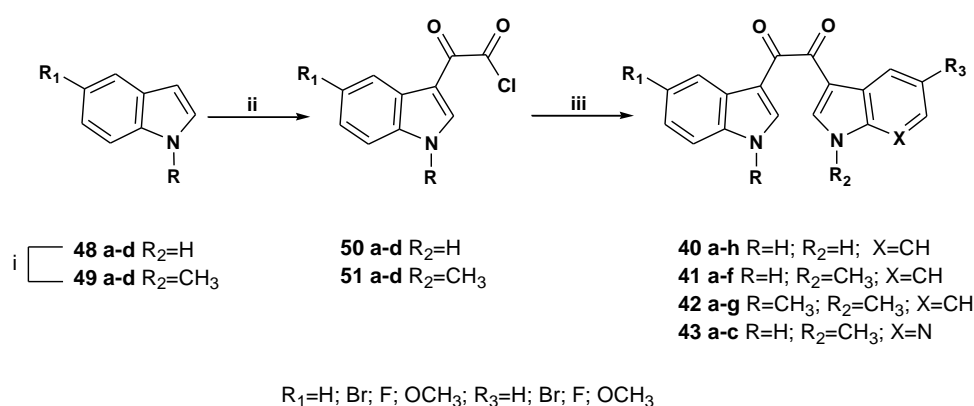
Il primo obiettivo del lavoro è stato focalizzato sulla sintesi degli 1,2 dichetoni del tipo **40-43**, intermedi comuni per entrambe le vie sintetiche dei due *ring system* d'interesse. Nel caso dei pirroli del tipo **28-31**, gli 1,2 dichetoni costituiscono l'intermedio chiave per la chiusura del ciclo, nel caso invece degli 1,2,5-ossadiazoli **32-39** consentono la sintesi delle diossime **44-47** che rappresentano gli intermedi chiave per la successiva ciclizzazione (**Schema 1**).



Schema 1.

I composti 1,2-dichetonici del tipo **40**, **43** sono stati sintetizzati a partire dai rispettivi indoli commerciali **48** o dai loro derivati metilati **49** che sono stati preparati seguendo il procedimento riportato in [13JMC7060], attraverso l'utilizzo dello iodometano come agente alchilante, previa formazione dell'anione mediante l'ausilio del *terz*butilato di potassio come base, in presenza di TDA-1 come catalizzatore, in toluene a temperatura ambiente. Gli indoli **48**, **49**, ottenuti in rese comprese

tra 96-98%, sono stati posti a reagire in dietilere, sotto atmosfera d'azoto, con un eccesso di ossalilcloruro a 0 °C, ciò ha consentito l'ottenimento degli α -ossoacetilcloruri **50**, **51** che sono stati utilizzati senza ulteriore purificazione vista l'estrema sensibilità dei cloruri acilici. Gli α -ossoacetilcloruri **50**, **51**, ottenuti in rese comprese tra 79-96%, hanno consentito l'ottenimento degli 1,2-dichetoni **40-43**, con rese comprese tra 30-95%, attraverso un'acilazione di Friedel Crafts a carico degli indoli **48**, **49** e del 7-azaindolo metilato **52** ottenuto mediante la stessa metodica utilizzata per la metilazione degli indoli. L'acilazione è stata condotta con un eccesso di triclورو d'alluminio, vista la presenza di due gruppi carbonilici potenzialmente coordinabili con l'acido di Lewis, in una miscela diclorometano-eptano al fine di diminuire l'energia di solvatazione (**Schema 2**).

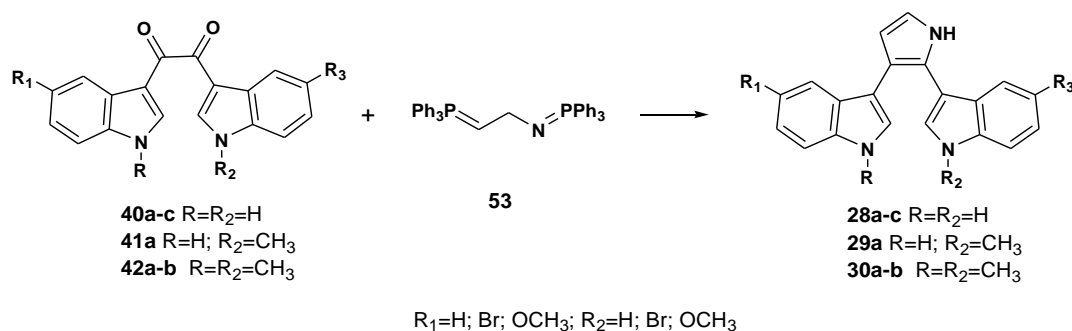


Schema 2. *i*: 1) *t*-BuOK, TDA-1, toluene, rt, 1-24 h; 2) MeI, rt, 0.5-1 h; *ii*: ClCOCOCl, (Et)₂O, 3h 0 °C → 1h rt; *iii*: 1) AlCl₃, DCM/eptano, rt; 2) **48**, **49**, **52***, rt, 1-2 h.

* 7-azaindolo metilato ottenuto attraverso procedimento *i*.

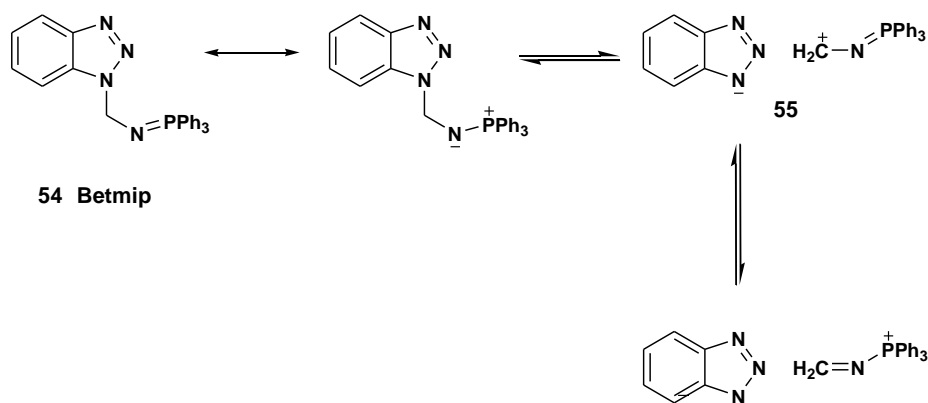
Il *work-up* è basato sulla decompressione degli ossigeni carbonilici mediante la distruzione del triclورو d'alluminio con una miscela acqua-ghiaccio, la filtrazione della sospensione risultante, la triturazione del solido ottenuto in metanolo o la purificazione del grezzo mediante colonna cromatografica. Gli 1,2-dichetoni **43**, portanti una porzione indolica e una 7-azaindolica, sono stati sintetizzati utilizzando esclusivamente α -ossoacetilcloruri caratterizzati da porzioni indoliche posti a reagire con il 7-azaindolo **52**, questa è stata la combinazione che ha garantito le rese migliori.

I composti 1,2 dichetonici **40a-c**, **41a**, **42a-b** sono stati utilizzati al fine di ottenere i derivati bis-indolil-pirrolici del tipo **28a-c**, **29a** e **30a-b** attraverso una reazione di Wittig/AzaWittig con l'1-aza-1,3-bis(trifenilfosforalidene) propano **53** (**Schema 3**), un equivalente sintetico del sintone =CHCH₂N=, preventivamente sintetizzato *in situ* con l'ausilio di un reattivo denominato betmip. [93JOC1987] [94JOC4551] [96JFPK684] [07T523] [10CR1564]



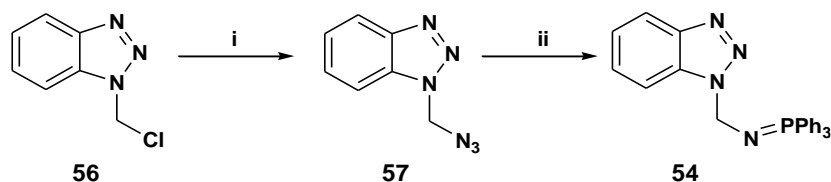
Schema 3. Sintesi dei derivati bis-indolil pirrolici attraverso una reazione Wittig/AzaWittig

Il betmip **54** (acronimo di benzotriazolo metilene immino fosfina) è un reattivo derivato dal benzotriazolo, si tratta di un fosfazene sintetizzato alla fine degli anni ottanta da Katrizky e utilizzato come nuovo equivalente sintetico del sintone $^+\text{CH}_2\text{NH}_2$ per la sintesi delle ammine primarie. [89TL3303] La peculiare caratteristica del betmip **54** consiste nella facile sostituzione della porzione benzotriazolica in seguito all'effetto elettrondonatore dell'azoto sul metilene, con conseguente agevole formazione della coppia ionica **55** (Schema 4). [90S565] [93JOC1987] [96JFPK684]



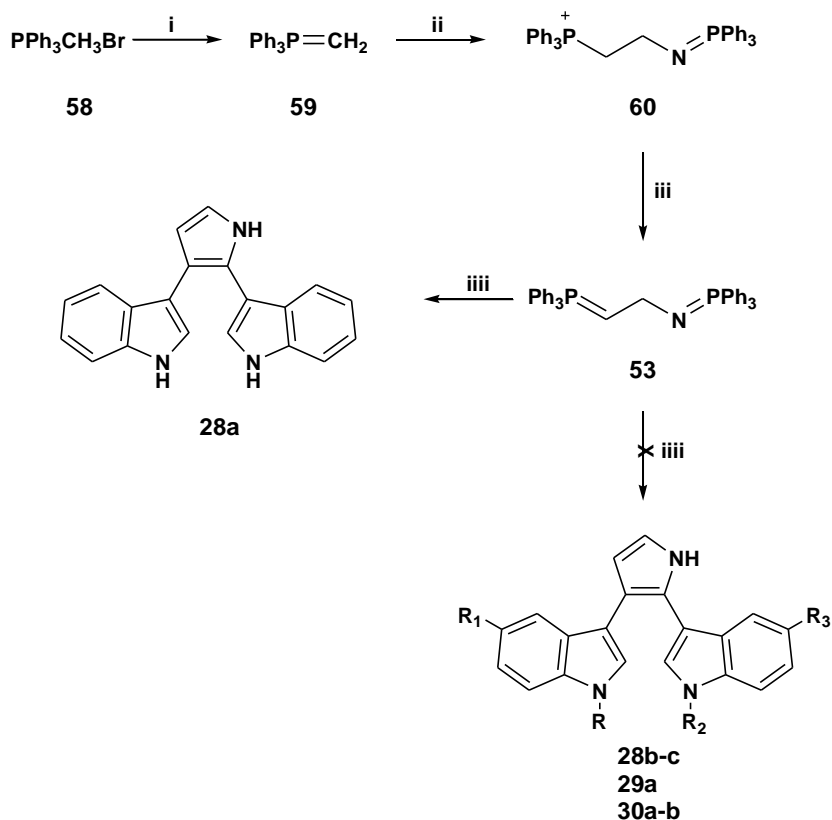
Schema 4. Formazione della coppia ionica **55** a partire dal betmip **54**

Il costo esoso del betmip **54** ne ha imposto la sintesi, secondo la procedura riportata in [87JCSPT781], a partire dall'1-clorometilbenzotriazolo commerciale **56** mediante reazione con sodio azide in DMSO a temperatura ambiente, ciò ha consentito l'ottenimento dell'1-azidometilbenzotriazolo **57** poi convertito in betmip **54**, seguendo la procedura riportata in [89TL3303], mediante reazione con trifenilfosfina in toluene a temperatura ambiente. Entrambi gli step sono caratterizzati da rese alte e *work-up* abbastanza semplici e veloci (Schema 5).



Schema 5. *i*: NaN_3 , DMSO, rt, overnight; *ii*: PPh_3 , Toluene, rt, 2h

L'1-Aza-1,3-bis(trifenilfosforalidene) propano **53** è stato sintetizzato *one pot* in tre stage, seguendo la procedura riportata in [94JOC4551], a partire dal metiltrifenilfosfonio bromuro **58** il quale è stato posto a reagire in tetraidrofurano, sotto atmosfera d'argon, a -78°C con il butillitio. Alla miscela di reazione contenente l'instabile metilenetritifenilfosforano **59**, mantenendo le condizioni di reazione del passaggio precedente, è stato aggiunto il betmip **54** e ciò ha consentito l'ottenimento del sale di fosfonio **60** che è stato convertito nell' 1-aza-1,3-bis(trifenilfosforalidene)propano **34** mediante trattamento con butillitio a -78°C . La miscela di reazione a questo punto è stata portata a -30°C ed aggiunto l'opportuno composto 1,2-dichetonico **40a-c**, **41a** e **42a-b**, dopodiché, seguendo la metodica di riferimento, è stata lasciata agitare a temperatura ambiente overnight. Come già indicato nello **schema 3**, i tentativi di chiusura sono stati effettuati con gli 1,2-dichetoni **40a-c**, **41a** e **42a-b**, sfortunatamente tutti i tentativi sono stati caratterizzati dalla permanenza del prodotto di partenza senza tangibili cambiamenti al tlc. A questo punto si è pensato di porre a riflusso e lasciare *overweek* e, nonostante la continua permanenza del prodotto di partenza in tutti i tentativi, nel caso del dichetone **40a** è stato possibile ottenere il bis-indolil pirrolo **28a** ma con una resa del 2% (**Schema 6**).



Schema 6. *i*: BuLi, -78°C, 2h; *ii*: Betmip, -78 °C \longrightarrow rt, overnight ; *iii*: BuLi, -78°C, 2h \longrightarrow -30°C, 0,5h; *iiii*: 40a, 40b, 40c, 41a, 42a, 42b, -30°C \longrightarrow riflusso, overweek

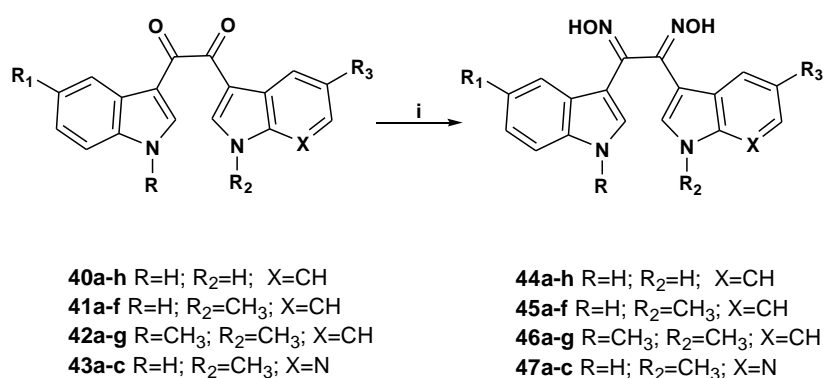
A questo punto sono state poste in essere tutte quelle modifiche in grado di forzare la reazione cercando di spostare l'equilibrio verso destra per incrementare la resa del **28a** e per favorire la conversione degli 1,2-dichetoni **40b, c, 41a** e **42a,b** nei rispettivi bis-indolil pirroli. Le modifiche, elencate in **tabella 13**, comprendono l'incremento di rapporti stechiometrici, tempi di reazione e l'aggiunta di cosolventi, in grado di garantire un aumento della temperatura di riflusso, aggiunti dopo la sintesi del **53** come la 1',N,N,N,N'-tetrametiletilendiammina (TMEDA).

Solvente	Cosolvente	Rapporto Solv/Cosolv	Rapporti Stechiometrici	Temperatura	Tempo di reazione
THF	/	/	1:1	riflusso	overweek
THF	/	/	1:2	riflusso	overweek
THF	/	/	1:3	riflusso	overweek
THF	/	/	1:3	riflusso	overweek
THF	TMEDA	1:1	1:3	riflusso (90°C)	overweek
THF	TOLUENE	1:1	1:3	riflusso (78°C)	overweek
THF	TOLUENE	1:2	1:3	riflusso (86°C)	overweek

Tabella 13.

I risultati non hanno avuto riscontro positivo e dati i molteplici tentativi effettuati, è stato deciso di focalizzare l'impegno sui derivati 1,2,5-ossadiazolici.

Gli intermedi chiave per la chiusura del ciclo 1,2,5-ossadiazolico sono stati ottenuti ponendo a reagire gli 1,2-dichetoni **40-43** con un eccesso di idrossilammina cloridato. L'ottenimento delle diossime prevede due diverse metodiche in base ai prodotti di partenza, nel caso degli 1,2-dichetoni **40-42** si utilizza un rapporto stechiometrico 1:6 con l'idrossilammina cloridato e la piridina come solvente, nel caso dei dichetoni **43** si utilizza un rapporto stechiometrico 1:67 e una miscela metanolo-piridina 3:1 come solvente (**Schema 7**).



R= H; CH₃; R₁=H; Br; F; OCH₃; R₂= H; CH₃; R₃=H; Br; F; OCH₃; X=CH; N

Schema 6. X= CH *i*: NH₂OH · HCl, Piridina, riflusso, overnight; X=N *i*: NH₂OH · HCl, Metanolo-Piridina 3:1, riflusso, overweek

Le diossime del tipo **44-47** sono state ottenute in rese comprese tra il 35% e il 100%, tali rese sono state calcolate sul grezzo, considerato il fatto che le diverse macchie presenti al tlc sono imputabili alla presenza dei diversi stereoisomeri della diossima. Ogni diossima può infatti esistere in 4 conformazioni: *E,E* (*anti*), *E,Z* (*amphi*), *Z,Z* (*syn*), *Z,E* (*amphi*) (**Figura18**).

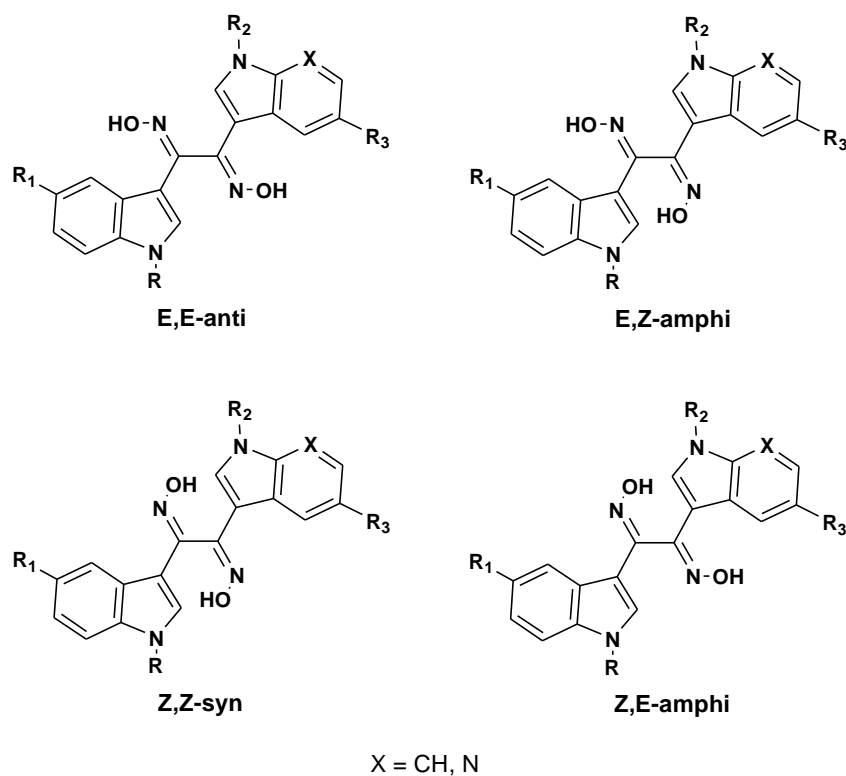


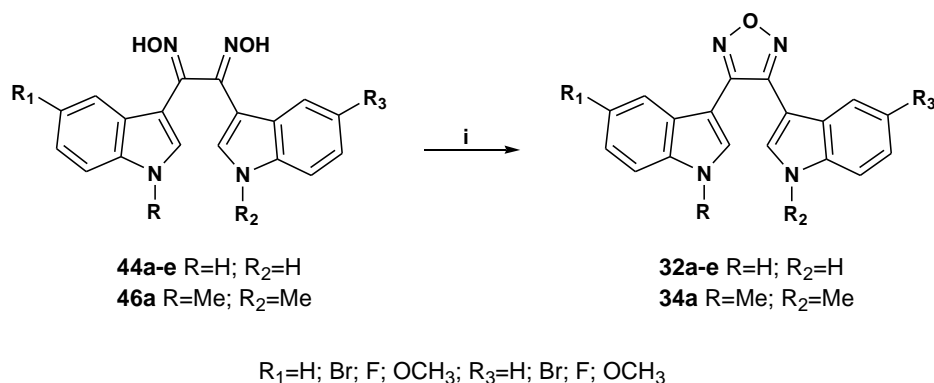
Figura 18. Stereoisomeri delle diossime

In particolare nel caso delle diossime caratterizzate da due porzioni indoliche, in genere sono presenti due macchie teoricamente corrispondenti a due stereoisomeri; mentre nel caso delle diossime caratterizzate da una porzione indolica e da una porzione 7-azaindolica sono presenti quattro macchie teoricamente corrispondenti a tutti e quattro gli stereoisomeri. Per quanto concerne le diossime caratterizzate da due porzioni indoliche, gli studi presenti in letteratura ipotizzano la possibile formazione dei due stereoisomeri *E,E* e *Z,Z* dei tre possibili (*E,E*; *E,Z=Z,E*; *Z,Z*) nel caso di diossime simmetriche o dei quattro possibili (*E,E*; *E,Z*; *Z,E*; *Z,Z*) nel caso di diossime asimmetriche. [07AP13]

In realtà, nel caso della diossima del tipo **46a**, con l'isolamento dei due prodotti è stata possibile stabilire la formazione degli stereoisomeri *E,E* (*anti*), nella percentuale del 73%, e *Z,E* o *E,Z* (*amphi*), nella percentuale del 27%, attraverso risonanza magnetica nucleare del protone. Si osserva infatti, simmetria nel caso dell'*E,E* (*anti*), con un segnale corrispondente agli OH e cinque segnali

corrispondenti ai protoni aromatici indolici, e asimmetricità nel caso di *E,Z* (*amphi*), con due diversi segnali corrispondenti agli OH e dieci segnali corrispondenti ai protoni aromatici indolici.

Originariamente, la chiusura del ciclo 1,2,5-ossadiazolico è stata effettuata attraverso una disidratazione degli intermedi **44a-e** e **46a** con anidride succinica. Si tratta di una reazione in assenza di solvente in cui i due reattivi vengono posti a reagire alla temperatura di 180°C, temperatura che consente la fusione dell'anidride succinica (115°C) all'interno del pallone di reazione (**Schema 8**).



Schema 7. i: Anidride Succinica, 180°C

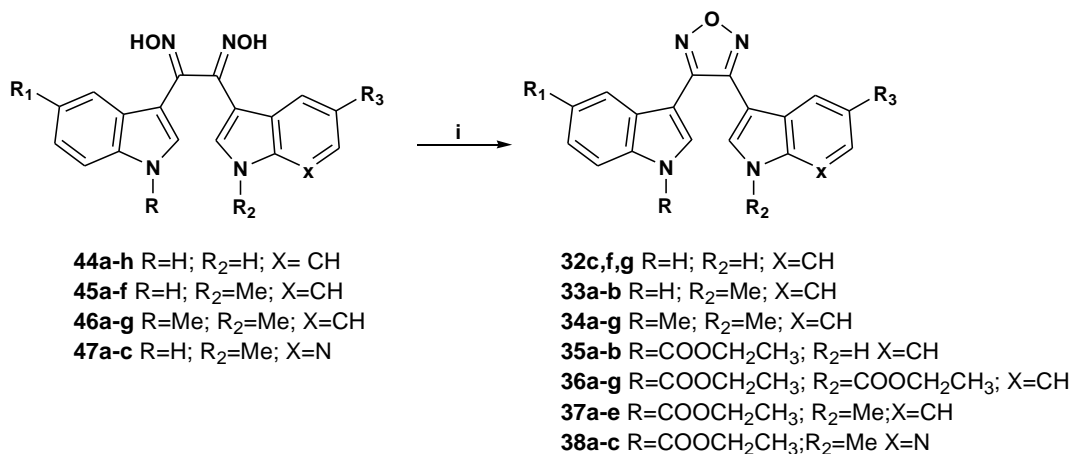
Viene a formarsi una miscela di reazione di consistenza collosa che comporta una non semplice monitoraggio; la reazione risulta completa in circa 15 minuti ed a temperatura ambiente riprende un corpo solido di dura consistenza sul fondo del pallone che complica notevolmente il *work-up*, ciò ha consentito l'ottenimento di solo sei prodotti con rese non soddisfacenti (**Tabella 14**).

Prodotto	R	R₁	R₂	R₃	Resa
32a	H	H	H	H	5%
32b	H	Br	H	Br	5%
32c	H	OCH ₃	H	OCH ₃	15%
32d	H	F	H	F	11%
32e	H	Br	H	H	9%
34a	CH ₃	H	CH ₃	H	8%

Tabella 14. Derivati 1,2,5-ossadiazolici ottenuti mediante disidratazione con anidride succinica.

Allo scopo di superare, in prima istanza, le problematiche legate alle rese, sono state apportate delle modifiche a carico della temperatura, dei rapporti stechiometrici e di entrambi i parametri contemporaneamente, senza però avere alcun riscontro sensibile. A questo punto si è pensato di introdurre il solvente, utilizzando toluene, ma le tempistiche di reazione si dilatavano notevolmente, senza, peraltro, fornire alcuna sensibile variazione a carico delle rese. A tal uopo, viste le problematiche riscontrate, nonostante in letteratura l'anidride succinica fosse l'agente disidratante d'elezione, sono stati provati altri agenti disidratanti come l'anidride acetica ma senza tangibili miglioramenti.

Allo scopo di superare l'*empasse*, è stata presa in considerazione una ciclizzazione basata sulla reazione di Mitsunobu, scoperta da Oyo Mitsunobu nel 1967 e messa a punto nel corso degli anni con notevoli nuove applicazioni sulla base dell'ampliamento dei gruppi funzionali utilizzabili e ottenibili, che consente l'accoppiamento di un alcol primario o secondario (occasionalmente terziario) con un nucleofilo, mediato da una combinazione redox tra una trialchil- o triarilfosfina e un dialchilazodicarbossilato. In genere il nucleofilo, o pronucleofilo, è un composto relativamente acido portante un gruppo -OH, -SH o -NH con un pKa intorno a 15, preferibilmente al di sotto di 11, alcuni esempi sono costituiti da acidi carbossilici, fenoli, immidi, tioli e idrossamati. Nel caso di specie, alle diossime del tipo **44-47**, sospese in toluene, viene aggiunta a 0°C la trifenilfosfina seguita dal DEAD. La miscela di reazione viene successivamente posta a riflusso, con tempi di reazione che spaziano dai 15 minuti ad 1 un'ora e 30 minuti portando all'ottenimento dei composti del tipo **32-38** attraverso una reazione intramolecolare in cui la diossima è strutturalmente correlabile ad un diolo (**Schema 9**). La conformazione ottimale della diossima richiesta per la ciclizzazione, come indicato nei lavori di riferimento, è la *Z,Z* (*syn*), ma l'utilizzo del toluene a refluxo permette l'interconversione degli altri stereoisomeri in quello più idoneo alla ciclizzazione. [05JMC3260]



R₁=H; Br; F; OCH₃; R₃=H; Br; F; OCH₃

Schema 8. i: PPh₃, DEAD, Toluene, 0°C → *reflusso*; 15 min-1h

La chiusura del ciclo 1,2,5-ossadiazolico è stata contraddistinta dall'utilizzo di rapporti stechiometrici variabili al fine di ottimizzarne le rese; in particolare i derivati **32c,f,g**, **33a-b**, **34a-g**, **35a-b** e **36a** sono stati ottenuti utilizzando due equivalenti di DEAD e di trifenilfosfina per ogni equivalente di diossima, rispettando i rapporti stechiometrici riportati nel lavoro di riferimento presente in letteratura [05JMC3260] (**Tabella 15**).

Prodotto	R	R₁	R₂	R₃	Resa
32c	H	OCH ₃	H	OCH ₃	27%
32f	H	Br	H	F	55%
32g	H	Br	H	OCH ₃	37%
33a	H	Br	CH ₃	OCH ₃	26%
33b	H	H	CH ₃	Br	60%
34a	CH ₃	H	CH ₃	H	35%
34b	CH ₃	Br	CH ₃	Br	10%
34c	CH ₃	F	CH ₃	F	37%
34d	CH ₃	H	CH ₃	OCH ₃	29%
34e	CH ₃	H	CH ₃	F	23%
34f	CH ₃	Br	CH ₃	H	36%
34g	CH ₃	OCH ₃	CH ₃	OCH ₃	35%
35a	COOCH ₂ CH ₃	F	H	F	25%
35b	COOCH ₂ CH ₃	H	H	H	34%
36a	COOCH ₂ CH ₃	H	COOCH ₂ CH ₃	H	59%

Tabella 15. Derivati 1,2,5-ossidiazolici ottenuti utilizzando un rapporto stechiometrico 1:2.

Lo scopo originario dell'utilizzo della reazione di Mitsunobu è stato quello di indirizzare le diossime verso la ciclizzazione e il conseguente ottenimento dei derivati 1,2,5-ossidiazolici. In alcuni casi però la reazione di chiusura ha portato all'ottenimento di derivati 1,2,5-ossidiazolici caratterizzati dalla presenza di un gruppo estereo in corrispondenza di uno o entrambi gli atomi di azoto indolici, strutture non preventivate correlabili alla probabile sostituzione nucleofila acilica a carico del dietilazodicarbossilato o del dietilidrazodicarbossilato, sottoprodotto della reazione di Mitsunobu.

Nel caso della diossima, **44a** ad esempio, la reazione di Mitsunobu ha consentito l'ottenimento dei due derivati, il **35b** e il **36a**, caratterizzati rispettivamente da una e da due catene etilcarbossiliche; diversamente, dalla diossima **44d** è stato ottenuto esclusivamente il prodotto **35a** portante una sola catena etilcarbossilica.

Al fine di ridurre la variabilità dei prodotti ottenibili per singola reazione di chiusura da diossime caratterizzate da NH indolici liberi, è stato deciso di incrementare i rapporti stechiometrici allo scopo di forzare la reazione verso l'ottenimento di prodotti chiusi portanti le catene etilcarbossiliche, per poi effettuare, in un secondo momento, una idrolisi basica in modo da ottenere unicamente i prodotti chiusi senza catene in corrispondenza degli NH indolici; nel dettaglio, è stato utilizzato un rapporto stechiometrico 1:4 per singolo NH indolico libero.

Sulla base di quanto detto, a partire dalle diossime **45b-f** e **47a-c**, portanti una sola porzione indolica caratterizzata da un NH libero, sono stati ottenuti i derivati **37a-e** e **38a-c** utilizzando un rapporto stechiometrico 1:4, con tempi di reazione di 15 minuti (**Tabella 16**).

Prodotto	R	R₁	R₂	R₃	X	Resa
37a	COOCH ₂ CH ₃	Br	CH ₃	Br	CH	75%
37b	COOCH ₂ CH ₃	F	CH ₃	Br	CH	79%
37c	COOCH ₂ CH ₃	H	CH ₃	H	CH	26%
37d	COOCH ₂ CH ₃	H	CH ₃	Br	CH	50%
37e	COOCH ₂ CH ₃	F	CH ₃	OCH ₃	CH	15%
38a	COOCH ₂ CH ₃	H	CH ₃	H	N	31%
38b	COOCH ₂ CH ₃	Br	CH ₃	H	N	22%
38c	COOCH ₂ CH ₃	F	CH ₃	H	N	23%

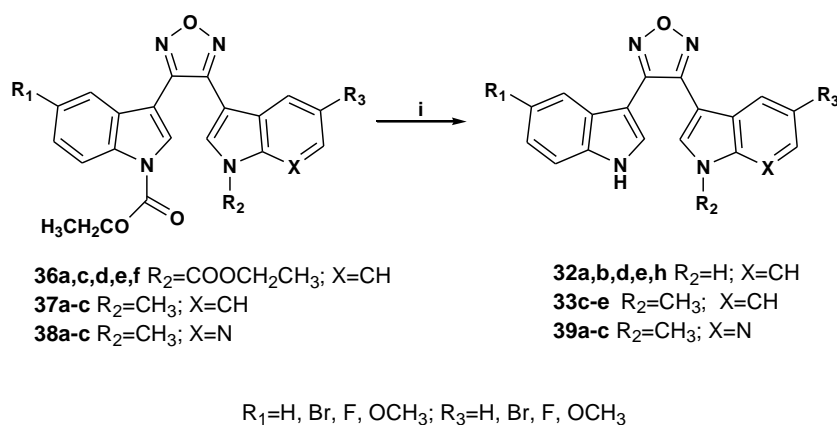
Tabella 16. Derivati 1,2,5-ossdiazolici ottenuti utilizzando un rapporto stechiometrico 1:4.

Per le diossime **44b** e **44d-h**, contraddistinte dalla presenza di due NH indolici liberi, è stato utilizzato un rapporto stechiometrico 1:8 con il conseguente ottenimento dei derivati **36b-g**, con tempi di reazione di 15 minuti (**Tabella 17**).

Prodotto	R	R ₁	R ₂	R ₃	X	Resa
36b	COOCH ₂ CH ₃	Br	COOCH ₂ CH ₃	OCH ₃	CH	38%
36c	COOCH ₂ CH ₃	Br	COOCH ₂ CH ₃	H	CH	43%
36d	COOCH ₂ CH ₃	OCH ₃	COOCH ₂ CH ₃	F	CH	65%
36e	COOCH ₂ CH ₃	Br	COOCH ₂ CH ₃	Br	CH	53%
36f	COOCH ₂ CH ₃	F	COOCH ₂ CH ₃	F	CH	53%
36g	COOCH ₂ CH ₃	Br	COOCH ₂ CH ₃	F	CH	50%

Tabella 17. Derivati 1,2,5-ossadiazolici ottenuti con un rapporto stechiometrico 1:8.

Una idrolisi basica in presenza di idrossido di sodio in una miscela etanolo-acqua 4:1 a riflusso (**Schema 10**) ha consentito il rapido ottenimento dei prodotti **32a-b** dai **36a** e **36e**, dei **32d-e** dai **36f** e **36c**, del **32h** dal **36d**, del **33c** dal **37a**, del **33d** dal **37c**, del **33e** dal **37b** e dei **39a-c** dai **38a-c**, con rese comprese tra il 74% e il 100% (**Tabella 18**); in particolare è stato utilizzato un rapporto stechiometrico 1:1,2 per le molecole caratterizzate da una catena etilcarbossilica e un rapporto stechiometrico 1:2,4 per le molecole portanti due catene etilcarbossiliche.



Schema 9. i: NaOH, EtOH/H₂O 4:1, riflusso; 15-20 min

Prodotto	R₁	R₂	R₃	X	Resa
32a	H	H	H	CH	89%
32b	Br	H	Br	CH	100%
32d	F	H	F	CH	91%
32e	Br	H	H	CH	84%
32h	OCH ₃	H	F	CH	86%
33c	Br	CH ₃	Br	CH	74%
33d	H	CH ₃	H	CH	89%
33e	F	CH ₃	Br	CH	84%
39a	H	CH ₃	H	N	80%
39b	Br	CH ₃	H	N	83%
39c	F	CH ₃	H	N	87%

Tabella 18. Derivati 1,2,5-ossadiazolici ottenuto attraverso idrolisi della/e catena/e etilcarbossilica/e.

Le modifiche effettuate a carico del *lead compound* comprendono quindi la sostituzione dell'anello maleimidico con un anello 1,2,5-ossadiazolico, l'inserzione di nuovi sostituenti in corrispondenza delle porzioni indoliche, la sostituzione di un ciclo indolico con uno 1-metil-7-azaindolico, l'inserzione di metili o gruppi esterei in corrispondenza degli atomi di azoto indolici. Nel dettaglio sono state ottenute otto serie (**Figura 16**).

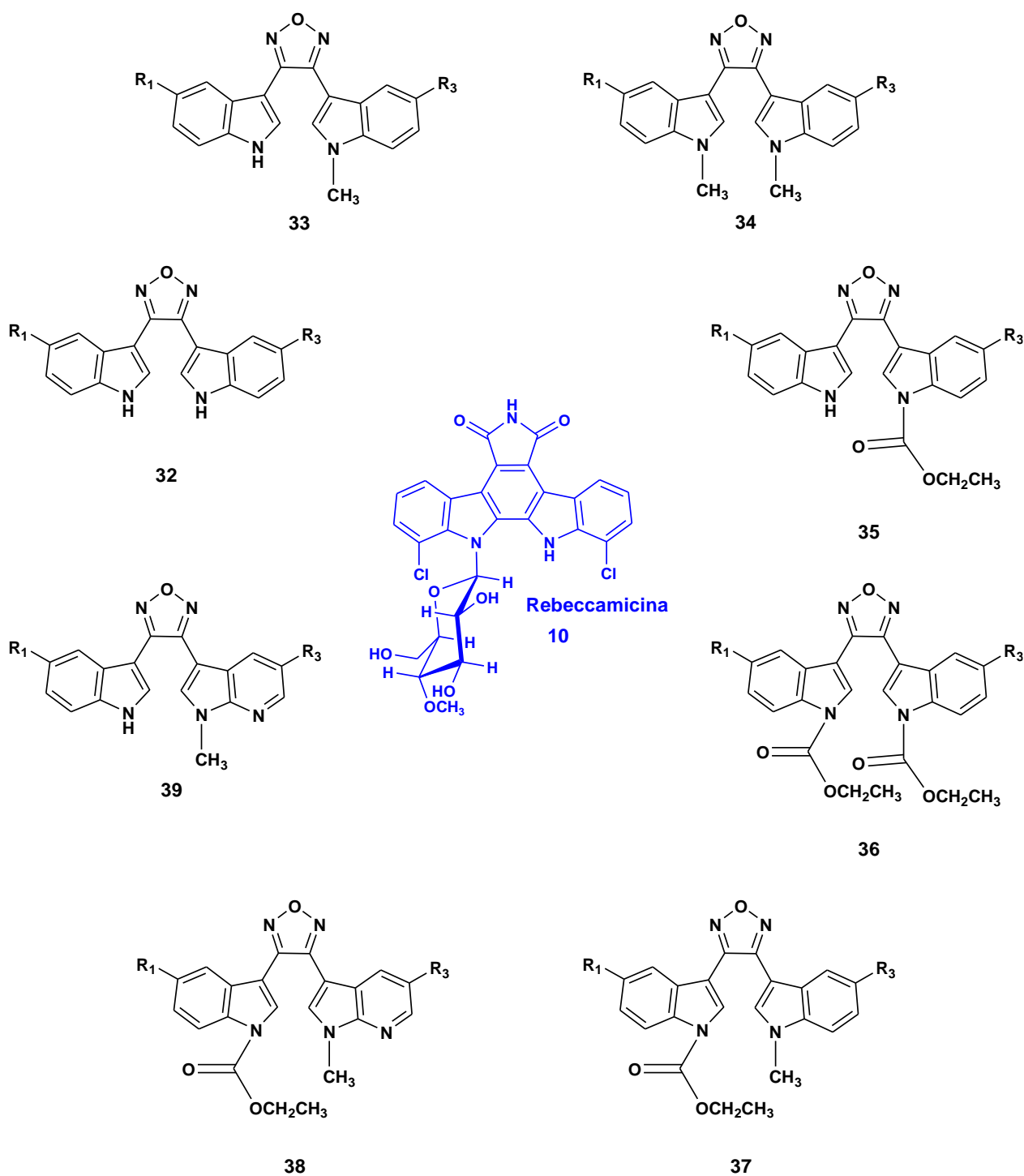


Figura 16.

III. RISULTATI BIOLOGICI

I composti **32a-h**, **33a-e**, **34a, f, g**, **35b**, **36a-g** e **37a-e** sono stati sottomessi presso il National Cancer Institute (NCI, Bethesda MD) allo scopo di valutare la loro attività antitumorale. Secondo il protocollo NCI, i derivati sono stati inizialmente testati *in vitro* alla dose di 10^{-5} M nei confronti di 60 linee cellulari tumorali appartenenti a 9 forme tumorali umane differenti, raggruppati in sub-panel quali leucemia, carcinoma polmonare non a piccole cellule, cancro al colon, cancro al sistema nervoso centrale, melanoma, cancro ovarico, cancro renale, cancro alla prostata e alla mammella. Per tutti i composti, nei confronti di ogni linea cellulare esposta all'azione dei composti, è stata quindi valutata la percentuale di crescita cellulare (Growth Percent, GP) e calcolato il relativo valore medio sulle 60 linee (**Tabella 19**).

Prodotto	GP	Prodotto	GP
32a	78.10	34g	37.92
32b	85.21	35b	63.09
32c	77.73	36a	92.26
32d	57.41	36b	84.32
32e	41.12	36c	79.00
32f	22.52	36d	83.06
32g	44.53	36e	96.57
32h	60.42	37f	92.40
33a	41.94	36g	82.19
33b	37.32	37a	94.76
33c	35.97	37b	78.70
33d	13.28	37c	36.45
33e	46.64	37d	82.51
34a	24.90	37e	77.35
34f	29.34		

Tabella 19. Valore medio percentuale di crescita (GP) dei composti sulle 60 linee cellulari.

Dall'analisi dei risultati mostrati in **tabella 19**, è possibile osservare che i quattro composti **32f**, **33d**, **34a** e **34f** hanno mostrato significativa attività antiproliferativa con valori medi di percentuale di crescita cellulare inferiori al 30% e, in particolare, compresi tra 29.34% e 13.28%.

Da una attenta analisi dei loro *one-dose mean graph* (**Figure 17-20**) è possibile osservare che tutti e quattro i derivati hanno mostrato significativa attività antitumorale nei confronti della linea cellulare NCI-H522 del carcinoma polmonare non a piccole cellule con valori di percentuale di crescita di -20.53, 8.18, -5.43 e -12.12, rispettivamente.

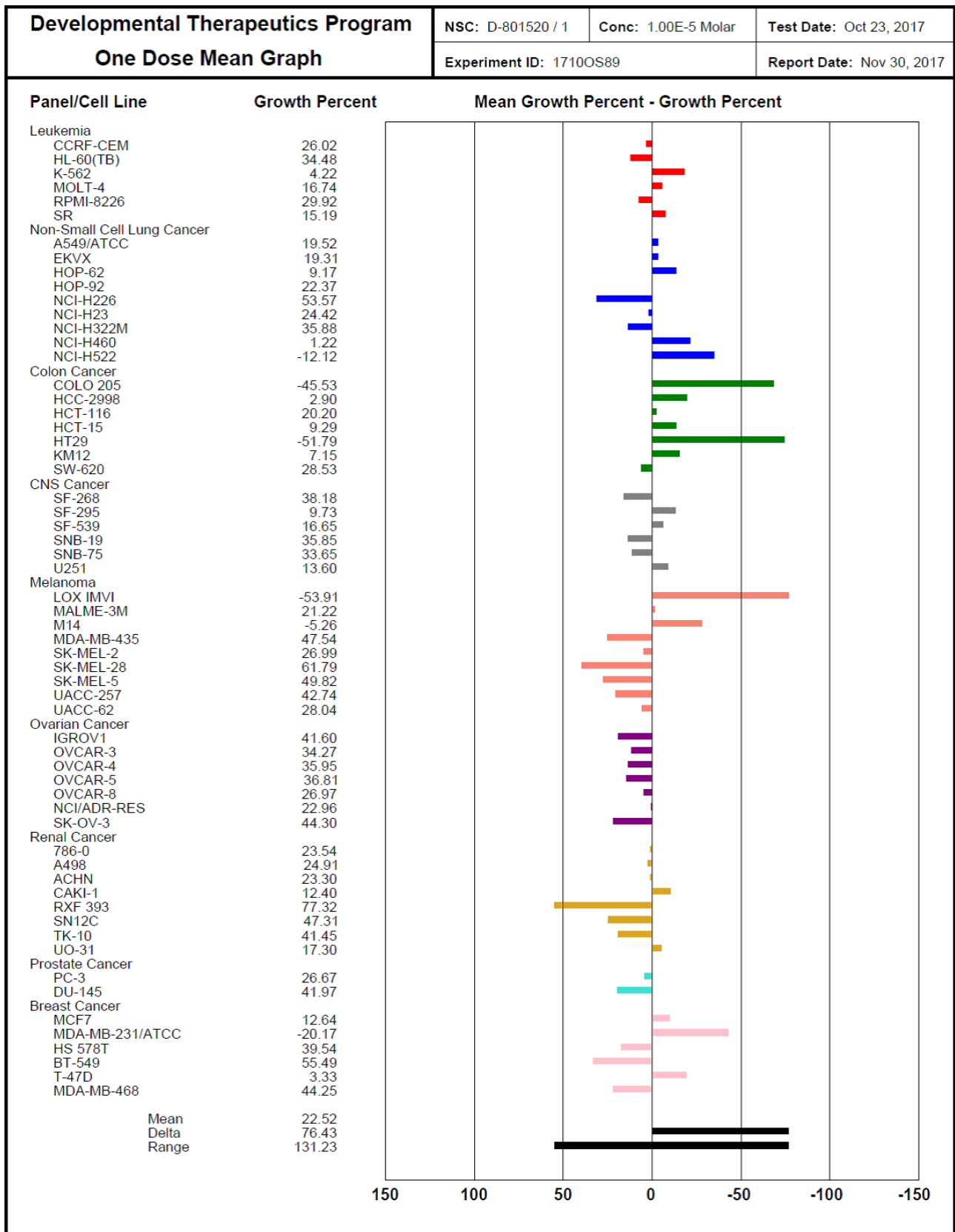


Figura 17. One-dose mean graph del derivato 32f.

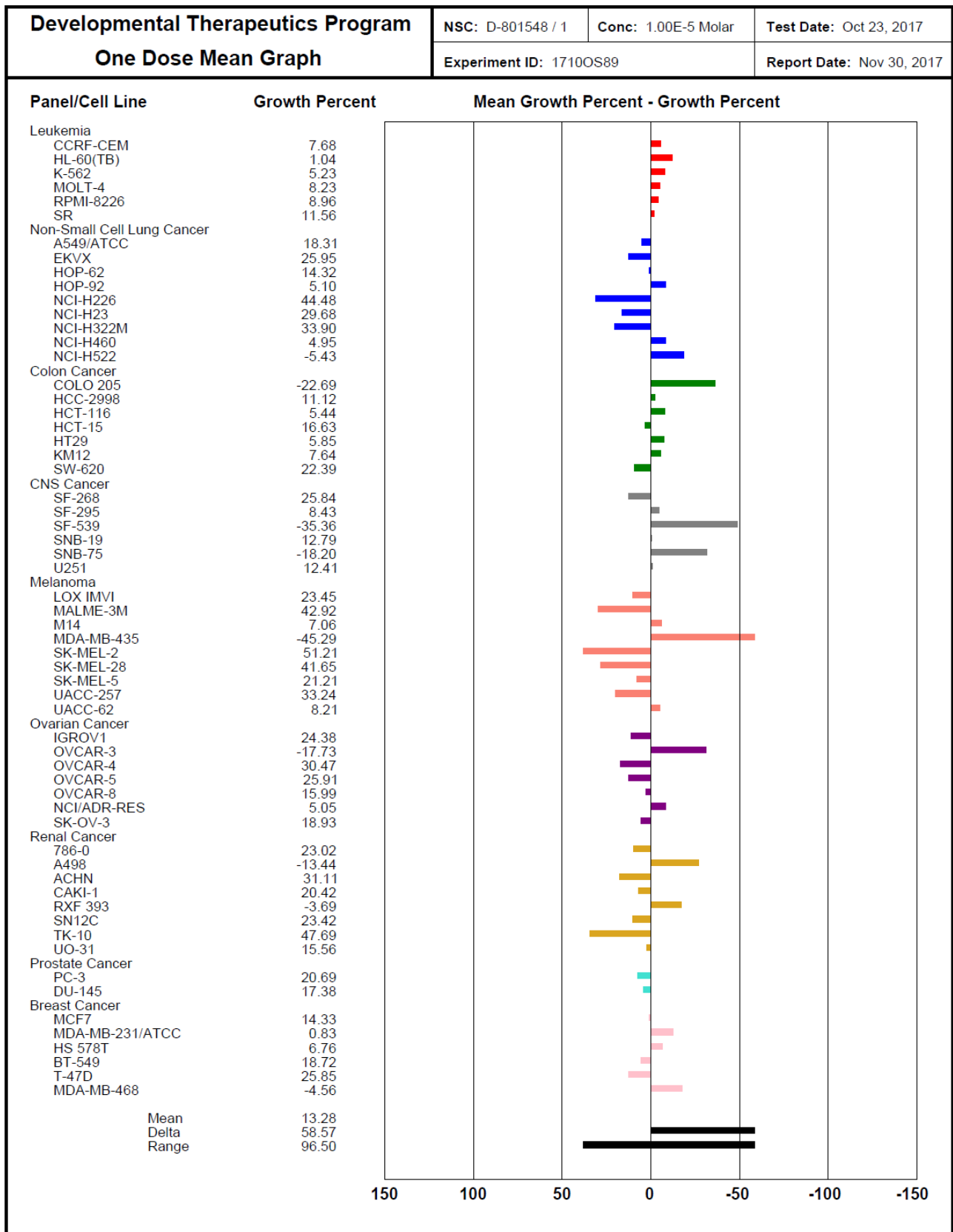


Figura 18. One-dose mean graph del derivato 33d.

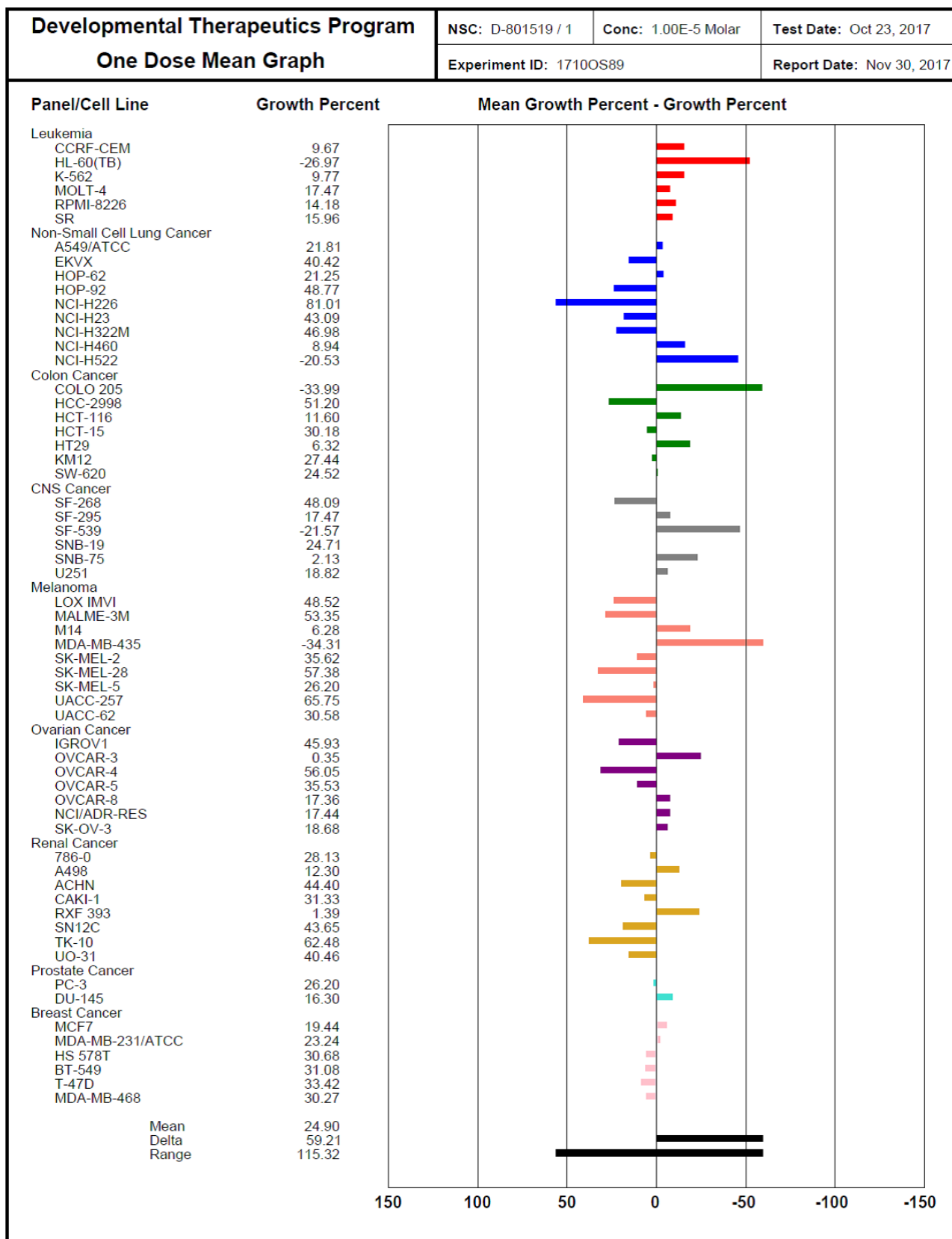


Figura 19. One-dose mean graph del derivato 34a.

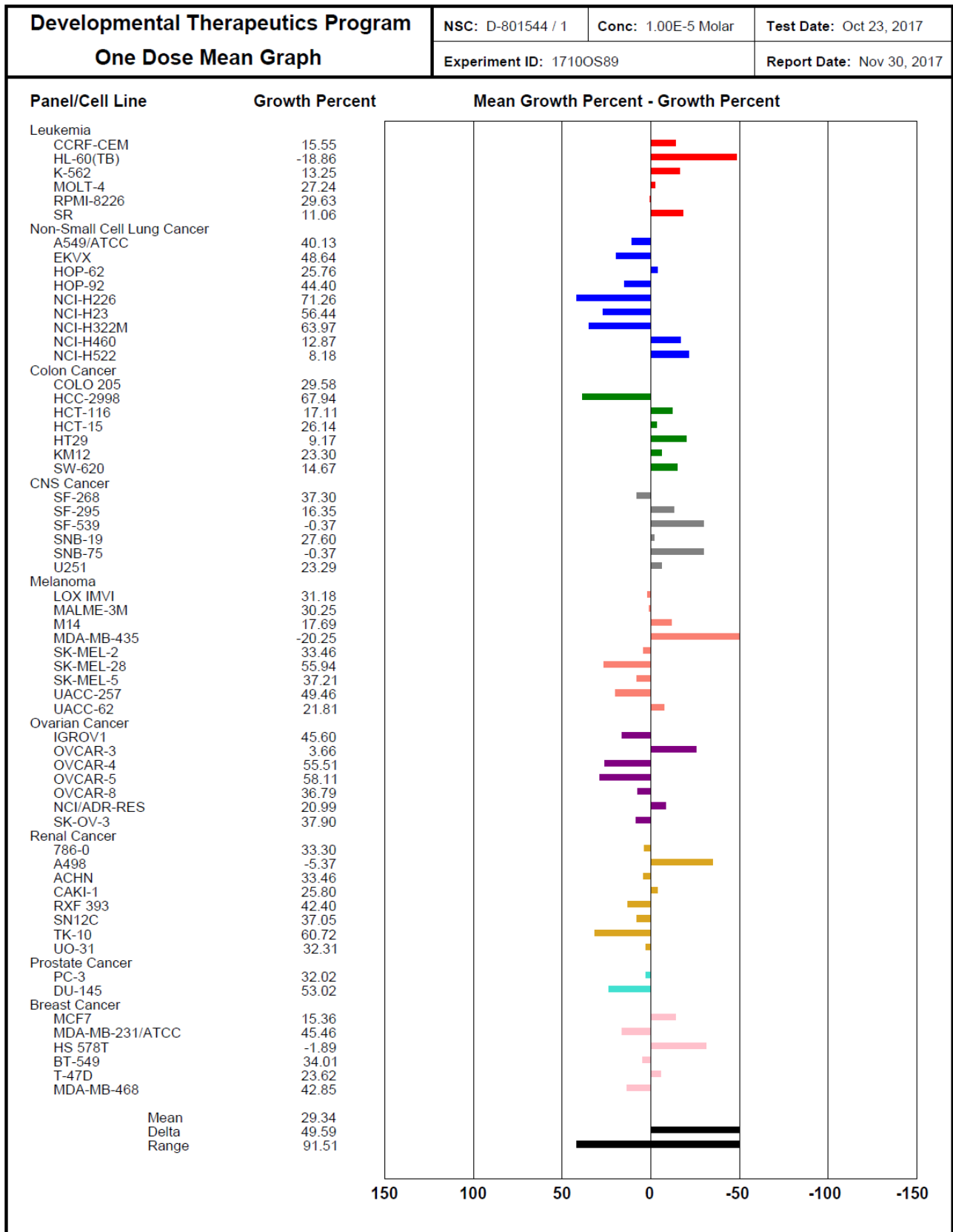


Figura 20. One-dose mean graph del derivato 34f.

I composti **33d**, **34a** e **34f** hanno inoltre mostrato una significativa selettività nei confronti del subpanel leucemico ed in particolare nei confronti della linea cellulare HL-60 per la quale sono stati registrati valori percentuali di crescita di -26.97, -18.86 e 1.04, rispettivamente. Gli stessi tre derivati hanno inoltre mostrato selettività nei confronti del subpanel del cancro al sistema nervoso centrale ed in particolare nei confronti delle linee SF-539 (con valori percentuali di -21.57, -0.37 e -35.36, rispettivamente) e SNB-75 (con valori percentuali di 2.13, -0.37 e -18.20, rispettivamente) e della linea MDA-MB-435 del melanoma (valori di percentuale di crescita di -34.31, -20.25, -45.29, rispettivamente).

Il derivato più attivo è risultato essere il composto **33d** (valore medio percentuale di crescita cellulare di 13.28, **Figura 18**) il quale ha mostrato, oltre alla significativa attività antiproliferativa già esposta, significativa attività antitumorale nei confronti della linea cellulare COLO 205 del cancro al colon (percentuale di crescita -22.69), OVCAR-3 del cancro ovarico (percentuale di crescita -17.73), le linee A498 e RXF393 del cancro al rene (percentuale di crescita di -13.44 e -3.69, rispettivamente) e la linea MDA-MB-468 del tumore alla mammella (percentuale di crescita di -4.56)

Alla luce dei risultati sopra esposti, i derivati **32f**, **33d**, **34a** e **34f** sono stati selezionati dal NCI per lo screening a cinque diverse concentrazioni sulle 60 linee cellulari, attualmente in corso.

IV. PARTE SPERIMENTALE

I punti di fusione sono stati determinati con un apparecchio Buchi B-540. Gli spettri IR sono stati determinati in bromoformio con uno spettrofotometro Shimadzu FT/IR 8400S. Gli spettri NMR ^1H e ^{13}C sono stati registrati a 200 e 50.3 MHz in $\text{DMSO-}d_6$ o CDCl_3 , usando uno spettrometro Bruker AC 200 MHz (TMS come standard interno). L'analisi elementare (C, H, N) è stata condotta considerando $\pm 0.4\%$ dei valori teorici ed eseguita con un analizzatore elementare VARIO EL III. Le colonne cromatografiche sono state fatte usando gel di silice MERK 230-400 mesh ASTM e BIOTAGE FLASH40i cromatografia.

I composti **42c**, **44a-h**, **45a-f**, **46b-g** e **47a-c** non sono stati caratterizzati in quanto utilizzati come grezzi.

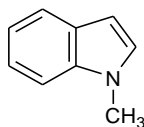
I composti **34b-c**, **35a-c**, **36b-g**, **37a-e**, **38a-c**, **40f**, **41f**, **42d** e **43c**, sono stati caratterizzati solo mediante spettri ^1H NMR, a causa della loro scarsa solubilità non è stato possibile eseguire gli spettri ^{13}C NMR.

I due stereoisomeri della diossima **46a** sono stati caratterizzati solo mediante ^1H NMR.

Procedura generale per la preparazione degli N-(metil)indoli 52a-b

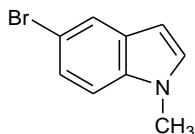
Ad una soluzione dell'opportuno indolo (5 mmoli) in toluene anidro (50 ml) si aggiunge terz-butilato di potassio (6.8 mmoli, 763 mg) e TDA-1 (1-2 gocce). Si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente per 1-2 ore. Quindi si aggiunge goccia a goccia ioduro di metile (5 mmoli, 0,3 ml) e si lascia ad agitare a temperatura ambiente fino a scomparsa del prodotto di partenza. Dopo aver allontanato il solvente si dibatte con acqua e si filtra o si estrae in DCM.

1-metil-1H-indolo (48a)



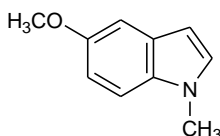
Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: estrazione; Resa: 96%; olio giallo; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ : 3.86 (3H s, CH_3), 6.67-6.69 (1H, m, H-3), 7.17 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-2), 7.29-7.35 (1H, m, H-5), 7.39-7.49 (2H, m, H-6 ed H-7), 7.83-7.86 (1H, m, H-4); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ : 32.8 (q), 100.9 (d), 109.3 (d), 119.3 (d), 120.9 (d), 121.6 (d), 128.6 (s), 128.9 (d), 136.8 (s); Composizione elementare calcolata per $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}$ (PM: 131.17): C, 82.41; H, 6.92; N, 10.68%; Trovata: C, 82.59; H, 6.80; N, 10.77%.

5-bromo-1-metil-1H-indolo (48b)



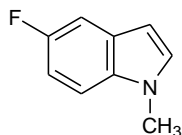
Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: estrazione; Resa: 96%; olio giallo; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ : 3.47 (3H s, CH_3), 6.29 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-3), 6.84 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-2), 6.94 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 7.17 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, H-6), 7.65 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-4); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ : 32.6 (q), 100.2 (d), 110.5 (d), 121.2 (s), 122.9 (d), 123.9 (d), 127.6 (s), 129.8 (d), 135.1 (s); Composizione elementare calcolata per $\text{C}_9\text{H}_8\text{BrN}$ (PM: 210.07): C, 51.46; H, 3.84; N, 6.67%; Trovata: C, 51.62; H, 3.78; N, 6.89%.

5-metossi-1-metil-1H-indolo



Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: estrazione; Resa: 98%; solido arancione; p.f.: 84 °C; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ : 3.67 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, CH_3), 6.38 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-3), 6.87 (1H, dd, $J = 8.8, 2.9$ Hz, H-6), 6.96 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-4), 7.07 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-2), 7.17 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ : 32.8 (q), 55.8 (q), 100.3 (d), 102.4 (d), 109.8 (d), 111.8 (d), 128.7 (s), 129.2 (d), 132.1 (s), 153.9 (s); Composizione elementare calcolata per $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}$ (PM: 161.08): C, 74.51; H, 6.88; N, 8.69%; Trovata: C, 74.76; H, 6.84; N, 8.43%.

5-fluoro-1-metil-1H-indolo

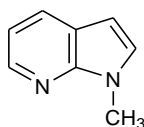


Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: estrazione; Resa: 98%; solido giallo chiaro; p.f.: 55-56 °C; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ : 3.72 (3H, s, CH_3), 6.41 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-3), 6.89-7.05 (2H, m, H-4 ed H-6), 7.15-7.28 (2H, m, H-2 ed H-7); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ : 33.0 (q), 100.7 (d, $J_{\text{C3-F}} = 4.9$

Hz), 105.4 (d, $J_{C7-F} = 5.6$ Hz), 109.6 (d, $J_{C4-F} = 23.3$ Hz), 109.9 (d, $J_{C6-F} = 10.8$ Hz), 130.3 (d), 130.4 (s x 2), 157.8 (d, $J_{C5-F} = 233.0$ Hz); Composizione elementare calcolata per C_9H_8FN (PM: 149.16): C, 72.47; H, 5.41; N, 9.39%; Trovata: C, 72.82; H, 5.21; N, 9.12%.

Procedura per la preparazione deil 1-metil-1H-7-azaindolo 52a

Ad una soluzione del 7-azaindolo (2.5 mmol) in toluene (25 ml), si aggiunge terz-butilato di potassio (3.4 mmol) e TDA-1 (1-2 gocce) a 0 °C. La miscela viene lasciata agitare a temperatura ambiente per 3 ore. Si aggiunge quindi iodometano (2.5 mmol) e si lascia agitare a temperatura ambiente per un' ora. Si tira a secco e il solido risultante viene sospeso in acqua ed estratto in DCM. Si effettua una colonna DCM/EtOAc 9:1.

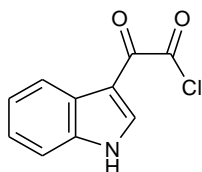


Resa: 96%; Olio giallo; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.87 (3H, s, CH_3), 6.43 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, H-3), 7.03 (1H, dd, $J = 7.8, 4.8$ Hz, H-5), 7.15 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, H-2), 7.88 (1H, dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, H-4), 8.33 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 31.1 (q), 99.1 (d), 115.3 (d), 120.4 (s), 128.6 (d), 128.9 (d+s), 142.6 (d); Composizione elementare calcolata per $C_8H_8N_2$ (PM: 132.16): C, 72.70; H, 6.10; N, 21.20%; Trovata: C, 72.82; H, 6.21; N, 21.12%.

Procedura generale per la sintesi degli 1H-indol-3-il(osso)acetil cloruri 50a-d, 51a-d

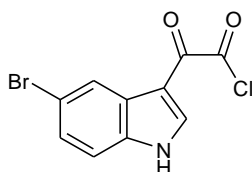
Ad una soluzione dell'opportuno indolo del tipo **48a-d**, **49a-d** (10 mmol) in etere dietilico anidro (20 ml), viene aggiunto, goccia a goccia a 0°C, il cloruro di ossalile (11.16 mmol). La miscela di reazione viene lasciata agitare a 0°C per 3 ore e successivamente viene portata a 23 °C per 1 ora. Il prodotto solido risultante è stato raccolto attraverso filtrazione sottovuoto, lavato con etere dietilico anidro a freddo (3 ml) ed essiccato sotto vuoto per 24 ore. Il prodotto è stato utilizzato senza ulteriore purificazione.

1*H*-indol-3-il(osso)acetil cloruro (50a)



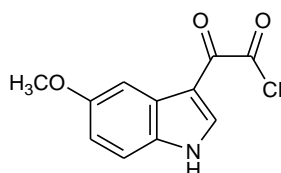
Resa: 96%, solido giallo; p.f.: 133.4-134.4 °C; IR (cm⁻¹): 3211 (NH), 1785 (CO), 1618 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.22–7.32 (2H, m, H-5 ed H-6), 7.53–7.57 (1H, m, H-7), 8.16–8.20 (1H, m, H-4), 8.43 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H-2), 12.44 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 112.2 (s), 112.7 (d), 121.1 (d), 122.6 (d), 123.6 (d), 125.5 (s), 136.6 (s), 137.9 (d), 165.1 (s), 180.6 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₀H₆ClNO₂ (PM: 207,61): C, 57.85; H, 2.91; N, 6.75%; Trovata: C, 57.72; H, 2.84; N, 6.91%.

(5-bromo-1*H*-indol-3-il)(osso)acetil cloruro (50b)



Resa: 96%, solido giallo; p.f.: 213.4-214.4 °C; IR (cm⁻¹): 3178 (NH), 1782 (CO), 1628 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.43 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.0 Hz, H-6), 7.54 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-7), 8.30 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-4), 8.49 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H-2), 12.62 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 111.7 (s), 114.8 (d), 115.4 (s), 123.2 (d), 126.2 (d), 127.4 (s), 135.4 (s), 138.9 (d), 164.7 (s), 180.6 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₀H₅BrClNO₂ (PM: 286.51): C, 41.92; H, 1.76; N, 4.89%; Trovata: C, 41.83; H, 1.81; N, 4.97%.

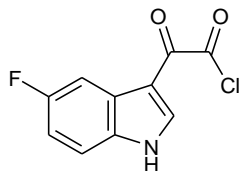
(5-metossi-1*H*-indol-3-il)(osso)acetil cloruro (50c)



Resa: 93%, Solido arancione; p.f.: 124.5-125.5 °C; IR (cm⁻¹): 3194 (NH), 1778 (CO), 1617 (CO) in accordo con [11A94]; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.80 (3H, s, OCH₃), 6.91 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, H-6), 7.45 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7), 7.68 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-4), 8.34 (1H, d, *J* = 3.4 Hz, H-2) 12.34 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 55.2 (q), 103.0 (d), 112.1 (s), 113.2 (d),

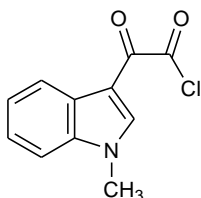
113.4 (d), 126.5 (s), 131.4 (s), 137.8 (d), 156.0 (s), 165.2 (s), 180.5 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{11}H_8ClNO_3$ (PM: 237.64): C, 55.60; H, 3.39; N, 5.89%; Trovata: C, 55.73; H, 3.25; N, 5.93%.

(5-fluoro-1H-indol-3-il)(osso)acetil cloruro (50d)



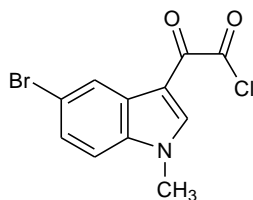
Resa: 86%, solido giallo; p.f.: 165.3-166.3 °C; IR (cm^{-1}): 3200 (NH), 1770 (CO), 1718 (CO); Dati spettroscopici in accordo con [09BMC6073]: 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.14 (1H, td, $J = 9.3, 9.2, 2.6$ Hz, H-6), 7.57 (1H, dd, $J = 9.2, 4.5$ Hz, H-7), 7.84 (1H, dd, $J = 9.3, 2.6$ Hz, H-4), 8.48 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-2), 12.55 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 106.5 (d, $J_{C4-F} = 24.8$ Hz), 112.2 (d, $J_{C6-F} = 25.5$ Hz), 112.9 (s, $J_{C7a-F} = 4.2$ Hz), 114.5 (d, $J_{C7-F} = 9.7$ Hz), 126.8 (s, $J_{C3a-F} = 11.0$ Hz), 133.7 (s), 139.7 (d), 159.5 (s, $J_{C5-F} = 235.7$ Hz), 165.4 (s), 181.0 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{10}H_5ClFNO_2$ (PM: 225.60): C, 53.24; H, 2.23; N, 6.21%; Trovata: C, 53.12; H, 2.29; N, 6.38%.

(1-metil-1H-indol-3-il)(osso)acetil cloruro (51a)



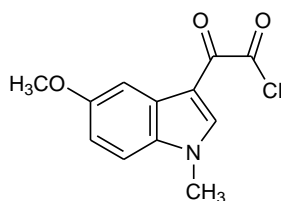
Resa: 79%, solido giallo; P.f.: 110.8-111.8 °C; IR (cm^{-1}): 1787 (CO), 1657 (CO); 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.93 (3H, s, CH_3), 7.28-7.41 (2H, m, H-5 ed H-6), 7.59-7.64 (1H, m, H-7), 8.18-8.23 (1H, m, H-4), 8.50 (1H, s, H-2); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 33.4 (q), 111.1 (s), 111.2 (d), 121.2 (d), 123.1 (d), 123.7 (d), 126.0 (s), 137.35 (s), 141.3 (d), 165.1 (s), 180.0 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{11}H_8ClNO_2$ (PM: 221,64): C, 59.61; H, 3.64; N, 6.32%; Trovata: C, 59.69; H, 3.70; N, 6.18%.

(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)(osso)acetil cloruro (51b)



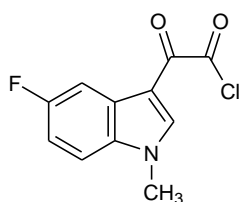
Resa: 88%; solido giallo; p.f.: 134.4-135.4 °C; IR (cm⁻¹): 1791 (CO), 1642 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.92 (3H, s, CH₃), 7.50 (1H, dd, *J* = 8.7, 1.9 Hz, H-6), 7.61 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-7), 8.31 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-4) 8.55 (1H, s, H-2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 33.6 (q), 110.6 (s), 113.4 (d), 115.9 (s), 123.3 (d), 126.2 (d), 127.7 (s), 136.2 (s), 142.2 (d), 164.6 (s), 179.9 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₁H₇BrClNO₂ (PM: 300.54): C, 43.96; H, 2.35; N, 4.66%; Trovata: C, 44.14; H, 2.29; N, 4.78%.

(5-metossi-1-metil-1*H*-indol-3-il)(osso)acetil cloruro (51c)



Resa: 80%, Solido arancione; p.f.: 132.6-133.6 °C; IR (cm⁻¹): 1771 (CO), 1636 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.89 (3H, s, CH₃), 6.98 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, H-6), 7.52 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-7), 7.70 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-4), 8.42 (1H, s, H-2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 33.5 (q), 55.3 (q), 103.2 (d), 110.9 (s), 112.0 (d), 113.1 (d), 127.0 (s), 132.2 (s), 141.0 (d), 156.4 (d), 165.3 (s), 180.0 (s) Composizione elementare calcolata per C₁₂H₁₀ClNO₃ (PM: 251.67): C, 57.27; H, 4.01; N, 5.57%. Trovata: C, 57.19; H, 4.12; N, 5.37%.

(5-fluoro-1-metil-1*H*-indol-3-il)(osso)acetil cloruro (51d)

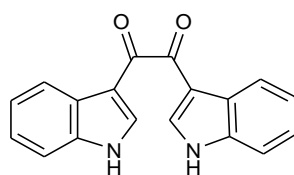


Resa: 93%, solido giallo; p.f.: 142.3-143.0 °C; IR (cm⁻¹): 1771 (CO), 1648 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.93 (3H, s, CH₃), 7.22 (1H, td, *J* = 9.6, 9.2, 2.6 Hz, H-6), 7.64 (1H, dd, *J* = 9.2, 4.4 Hz, H-7), 7.86 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.6 Hz, H-4), 8.55 (1H, s, H-2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 33.7 (q), 106.2 (d, *J*_{C4-F} = 24.8 Hz), 111.1 (s, *J*_{C7a-F} = 4.4 Hz), 111.7 (d, *J*_{C6-F} = 25.7 Hz), 112.7 (d, *J*_{C7-F} = 9.8 Hz), 126.7 (s, *J*_{C3a-F} = 11.2 Hz), 134.0 (s), 142.4 (d), 159.3 (s, *J*_{C5-F} = 234.3 Hz), 166.4 (s), 181.2 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₁H₇ClFNO₂ (PM: 239.63): C, 55.13; H, 2.94; N, 5.85%; Trovata: C, 54.98; H, 3.01; N, 5.69%.

Procedura generale per la preparazione dei di(1H-indol-3-il)etano-1,2-dioni 40a-h, 41a-f e 42a-g

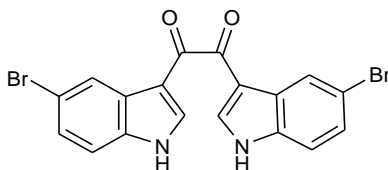
Ad una sospensione di tricloruro d'alluminio (10.84 mmol) in una miscela DCM/eptano 2:1 (7.2 ml), posta ad agitare sotto atmosfera d'azoto, viene aggiunto l' α -ossoacetilcloruro **50a-d**, **51a-d** (2.41 mmol) a spatolate in un intervallo di tempo di 3/5 minuti. Si lascia agitare per qualche minuto e successivamente si aggiunge, goccia a goccia, una soluzione del corrispondente indolo **48a-d**, **49a-d** (3.98mmol) in DCM (2.4ml). La miscela di reazione viene lasciata agitare a temperatura ambiente per 1-2 ore. Si aggiungono cubetti di ghiaccio fino alla totale distruzione del tricloruro d'alluminio che si manifesta con la cessazione dell'effervescenza, la sospensione risultante viene filtrata sottovuoto. Il grezzo di reazione viene triturato con metanolo o incolonnato.

di(1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (40a)



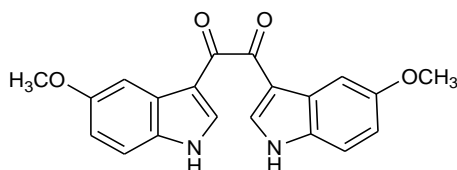
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50a**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna DCM/EtOAc 95:5; Resa: 35%; solido giallo; p.f.: 272.8-273.8 °C; IR (cm⁻¹): 3301 (NH), 1601 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.32-7.38 (4H, m, H-5, H-5', H-6 ed H-6'), 7.58-7.62 (2H, m, H-7 ed H-7'), 8.28-8.35 (4H, m, H-2, H-2', H-4 ed H-4'), 12.32 (2H, s, NH ed NH'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 112.4 (s), 112.5 (d), 121.3 (d), 122.4 (d), 123.4 (d), 125.6 (s), 136.7 (s), 137.3 (d), 188.8 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₂N₂O₂ (PM: 288.30) C, 74.99; H, 4.20; N, 9.72%; Trovata: C, 74.71; H, 4.35; N, 9.69%.

bis(5-bromo-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (40b)



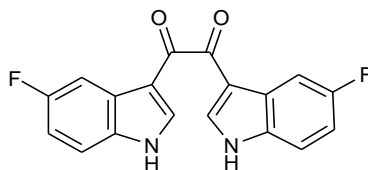
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 74%; solido giallo; p.f.: 267.1-268.1 °C; IR (cm⁻¹): 3173 (NH), 1718 (CO), 1625 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.44 (2H, dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, H-6 ed H-6'), 7.53 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-7 ed H-7'), 8.35 (2H, s, H-2 ed H-2'), 8.43 (2H, d, *J* = 1.9 Hz, H-4 ed H-4'), 12.47 (2H, s, NH x 2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 111.7 (s), 114.7 (d), 115.2 (s), 123.4 (d), 126.1 (d), 127.4 (s), 135.5 (s), 138.6 (d), 187.8 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₀Br₂N₂O₂ (PM: 446.09) C, 48.46; H, 2.26; Br, 35.82; N, 6.28%. Trovata: C, 48.54; H, 2.19; Br, 35.94; N, 6.47%.

bis(5-metossi-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (40c)



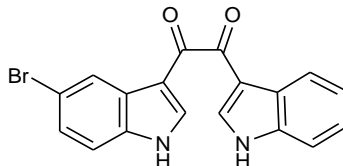
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50c**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 67%; solido grigio; p.f.: 302.8-303.8 °C; IR (cm⁻¹): 3186 (NH), 1608 (CO), 1598 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.84 (6H, s, OCH₃ x 2), 6.92 (2H, dd, *J* = 8.8, 2.5 Hz, H-6 ed H-6'), 7.44 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7 ed H-7'), 7.80 (2H, d, *J* = 2.5 Hz, H-4 ed H-4'), 8.18 (2H, s, H-2 ed H-2'), 12.15 (2H, s, NH x 2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 55.24 (q), 103.0 (d), 112.3 (s), 113.2 (d), 113.3 (d), 126.5 (s), 131.4 (s), 137.3 (d), 155.8 (s), 188.7 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₆N₂O₄ (PM: 348.35) C, 68.96; H, 4.63; N, 8.04%; Trovata: C, 68.74; H, 4.71; N, 8.14%.

bis(5-fluoro-1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (40d)



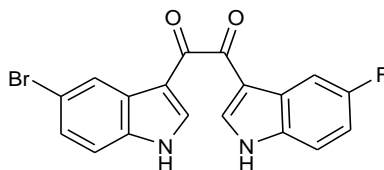
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50d**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 32%; solido marrone; p.f.: 391.5-392.5 °C; IR (cm⁻¹): 3207 (NH), 1608 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.17 (2H, td, *J* = 9.3, 9.1, 2.6 Hz, H-6 ed H-6'), 7.57 (2H, dd, *J* = 9.1, 4.5 Hz, H-7 ed H-7'), 7.96 (2H, dd, *J* = 9.8, 2.6 Hz, H-4 ed H-4'), 8.40 (2H, d, *J* = 3.2 Hz, H-2 ed H-2'), 12.40 (2H, s, NH x 2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 106.2 (d, *J*_{C4-F} = 24.9 Hz), 111.6 (d, *J*_{C6-F} = 26.2 Hz), 112.4 (s, *J*_{C7a-F} = 4.4 Hz), 113.9 (d, *J*_{C7-F} = 10.1 Hz), 126.3 (s, *J*_{C3a-F} = 11.1 Hz), 133.3 (s), 138.9 (d), 158.9 (s, *J*_{C5-F} = 235.6 Hz), 188.0 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₀F₂N₂O₂ (PM: 324.28) C, 66.67; H, 3.11; N, 8.64%; Trovata: C, 66.57; H, 3.31; N, 8.73%.

1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-2-(1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (40e)



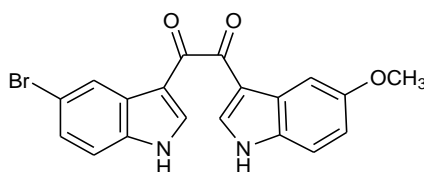
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna DCM/EtOAc 8:2; Resa: 38%; solido giallo; p.f.: 312.9-313.9 °C; IR (cm⁻¹): 3307 (NH x 2 b.s.), 1623 (CO), 1602 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.30-7.39 (2H, m, H-5' ed H-6'), 7.48 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, H-6), 7.56-7.64 (2H, m, H-7' ed H-7), 8.28- 8.40 (3H, m, H-4', H-2' ed H-2), 8.48 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-4), 12.35 (1H, s, NH'), 12.47 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : ¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ : 111.9 (s), 112.3 (s), 112.6 (d), 114.6 (d), 115.2 (s), 121.3 (d), 122.5 (d), 123.5 (d x 2), 125.6 (s), 126.0 (d), 127.4 (s), 135.5 (s), 136.7 (s), 137.6 (d), 138.4 (d), 188.1 (s), 188.5 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₁BrN₂O₂ (PM: 367.20): C, 58.88; H, 3.02; N, 7.63%; Trovata: C, 58.94; H, 3.11; N, 7.65%.

1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-2-(5-fluoro-1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (40f)



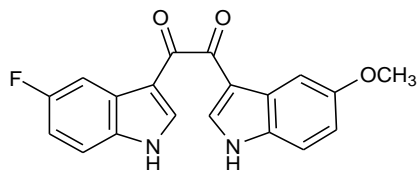
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa 95%; solido giallo; p.f.: decomposizione 354.5-355.5 °C; IR (cm⁻¹): 3307 (NH x 2 b.s.), 1604 (CO), 1512 (CO) ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.17 (1H, td, $J = 9.2, 9.1, 2.6$ Hz, H-6'), 7.45 (1H, dd, $J = 8.6, 1.9$ Hz, H-6), 7.51-7.60 (2H, m, H-7 ed H-7'), 7.95 (1H, dd, $J = 9.7, 2.6$ Hz, H-4') 8.34-8.37 (2H, m, H-2 ed H-2'), 8.43 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-4), 12.44 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, NH'); 12.48 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, NH); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₀BrFN₂O₂ (PM: 385.19): C, 56.13; H, 2.62; N, 7.27%. Trovata: C, 56.20; H, 2.51; N, 7.12%.

1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-2-(5-metossi-1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (40g)



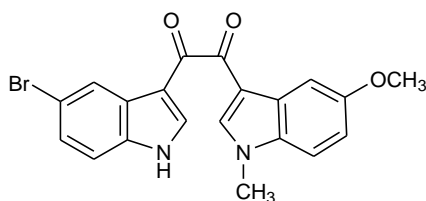
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna DCM/EtOAc 7:3; Resa: 51%; solido giallo; p.f.: 314.8-315.8 °C; IR (cm⁻¹): 3279 (NH x 2 b.s.), 1599 (CO), 1512 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.84 (3H, s, OCH₃), 6.93 (1H, dd, $J = 8.8, 2.5$ Hz, H-6'), 7.41-7.47 (2H, m, H-6 ed H-7'), 7.53 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-7), 7.80 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-4'), 8.20 (1H, s, H-2'), 8.33 (1H, s, H-2), 8.43 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-4), 12.19 (1H, s, NH'), 12.43 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 55.3 (q), 103.1 (d), 111.9 (s), 112.1 (s), 113.2 (d), 113.3 (d), 114.6 (d), 115.1 (s), 123.4 (d), 126.0 (d), 126.5 (s), 127.4 (s), 131.4 (s), 135.4 (s), 137.6 (d), 138.4 (d), 155.9 (s), 188.0 (s), 188.5 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₃BrN₂O₃ (PM: 397.22): C, 57.45; H, 3.30; N, 7.05%; Trovata: C, 57.31; H, 3.54; Br, 20.30; N, 7.15%.

1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-2-(5-metossi-1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (40h)



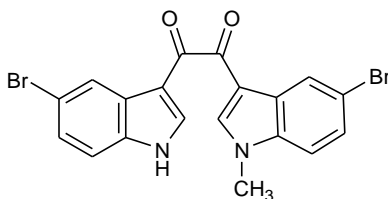
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50c**; Tempo di reazione: 1 ora e 20 minuti; Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 65%; solido marrone; p.f.: 312.8-313.8 °C; IR (cm⁻¹): 3261 (NH), 3187 (NH), 1610 (CO), 1599 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.83 (3H, s, OCH₃), 6.92 (1H, dd, $J = 8.8, 2.5$ Hz, H-6'), 7.16 (1H, td, $J = 9.2, 9.2, 2.6$ Hz, H-6), 7.45 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7'), 7.57 (1H, dd, $J = 9.2, 4.6$ Hz, H-7), 7.80 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-4'), 7.95 (1H, dd, $J = 9.8, 2.6$ Hz, H-4), 8.19 (1H, s, H-2'), 8.33 (1H, s, H-2), 12.31 (2H, s, NH x 2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 55.2 (q), 103.1 (d), 106.2 (d, $J_{C4-F} = 25.3$ Hz), 111.5 (d, $J_{C6-F} = 26.7$ Hz), 112.2 (s), 112.5 (s, $J_{C7a-F} = 4.5$ Hz), 113.2 (d), 113.3 (d), 113.9 (d, $J_{C7-F} = 10.6$ Hz), 126.3 (s, $J_{C3a-F} = 11.1$ Hz), 126.5 (s), 131.4 (s), 133.3 (s), 137.5 (d), 138.7 (d), 155.9 (s), 158.9 (s, $J_{C5-F} = 235.3$ Hz), 188.0 (s), 188.5 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₃FN₂O₃ (PM: 336.32): C, 67.85; H, 3.90; N, 8.33; %; Trovata: C, 67.65; H, 3.92; N, 8.36%.

1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-2-(5-metossi-1-metil-1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (41a)



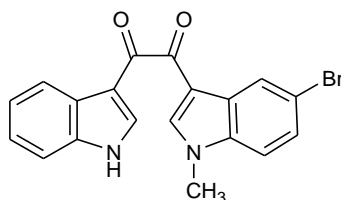
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 50%; solido giallo; p.f.: 273.3-274.3 °C; IR (cm⁻¹): 3210 (NH), 1629 (CO), 1601 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.86 (1H, s, CH₃), 6.99 (1H, dd, $J = 8.9, 2.5$ Hz, H-6'), 7.41-7.55 (3H, m, H-6, H-7 ed H-7'), 7.81 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-4'), 8.26 (1H, s, H-2'), 8.33 (1H, s, H-2), 8.44 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-4), 12.45 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 33.41 (q), 55.3 (q), 103.2 (d), 110.8 (s), 111.9 (s), 112.0 (d), 113.1 (d), 114.7 (d), 115.2 (s), 123.4 (d), 126.0 (d), 127.0 (s), 127.4 (s), 132.3 (s), 135.4 (s), 138.4 (d), 141.0 (d), 156.3 (s), 187.4 (s), 188.5 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₅BrN₂O₃ (PM: 411.25): C, 58.41; H, 3.68; N, 6.81%; Trovata: C, 58.54; H, 3.76; N, 6.94%.

1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-2-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (41b)



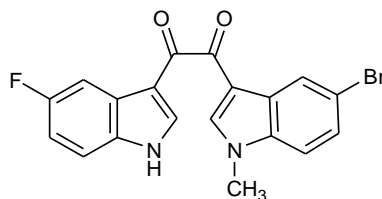
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 60%; solido giallo chiaro; p.f.: 336.1-337.1 °C; IR (cm⁻¹): 3317 (NH), 1622 (CO), 1611 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.89 (3H, s, CH₃), 7.44 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, H-6), 7.48-7.55 (2H, m, H-6' ed H-7), 7.62 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-7'), 8.35 (1H, d, *J* = 3.2 Hz, H-2), 8.41-8.44 (3H, m, H-4, H-4' ed H-2'), 12.49 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 33.5 (q), 110.5 (s), 111.7 (s), 113.3 (d), 114.7 (d), 115.2 (s), 115.8 (s), 123.4 (d), 123.5 (d), 126.0 (d), 126.1 (d), 127.4 (s), 127.8 (s), 135.5 (s), 136.2 (s), 138.7 (d), 142.0 (d), 187.3 (s), 187.8 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₂Br₂N₂O₂ (PM: 460.12): C, 49.60; H, 2.63; N, 6.09%; Trovata: C, 49.74; H, 2.51; N, 6.15%.

1-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-2-(1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (41c)



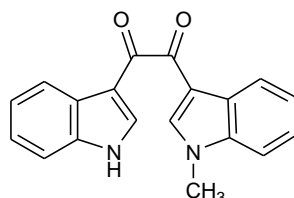
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50a**; Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: Colonna DCM/EtOAc 9:1; Resa: 69%; solido giallo chiaro; p.f.: 261.4-262.4 °C; IR (cm⁻¹): 3204 (NH), 1629 (CO), 1607 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.89 (3H, s, CH₃), 7.25-7.34 (2H, m, H-5', H-6'), 7.48-7.64 (3H, m, H-6, H-7 ed H-7'), 8.26-8.30 (2H, m, H-2' ed H-4'), 8.38 (1H, s, H-2), 8.42 (1H, d, H-4), 12.31 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 33.4 (q), 110.7 (s), 112.2 (s), 112.6 (d), 113.3 (d), 115.7 (s), 121.2 (d), 122.5 (d), 123.5 (d), 125.6 (s), 126.0 (d), 126.1 (d), 127.8 (s), 136.2 (s), 137.7 (d), 136.7 (s), 141.7 (d), 188.0 (s), 188.1 (s); Composizione elementare calcolata C₁₉H₁₃BrN₂O₂ (PM: 381,22): C, 59.86; H, 3.44; N, 7.35%; Trovata: C, 59.78; H, 3.57; N, 7.31%.

1-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-2-(5-fluoro-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (41d)



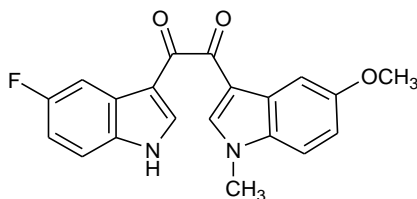
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50d**; Tempo di reazione: 1,5 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa 71%; solido arancione; p.f.: 293.8-294.8 °C; IR (cm⁻¹): 3244 (NH), 1640 (CO), 1606 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.89 (3H, s, CH₃), 7.16 (1H, td, $J = 9.4, 9.1, 2.6$ Hz, H-6'), 7.48-7.64 (3H, m, H-6, H-7' ed H-7), 7.95 (1H, dd, $J = 9.7, 2.6$ Hz, H-4'), 8.35-8.44 (3H, m, H-4, H-2' ed H-2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 33.5 (q), 106.2 (d, $J_{C4-F} = 24.5$ Hz), 110.6 (s), 111.6 (d, $J_{C6-F} = 26.2$ Hz), 112.3 (s, $J_{C7a-F} = 4.6$ Hz), 113.3 (d), 113.9 (d, $J_{C7-F} = 10.4$ Hz), 115.7 (s), 123.5 (d), 126.0 (d), 126.3 (s, $J_{3a-F} = 11.1$ Hz), 127.8 (s), 133.3 (s), 136.2 (s), 139.0 (d), 141.8 (d), 158.9 (s, $J_{C5-F} = 235.7$ Hz), 187.5 (s), 187.8 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₂BrFN₂O₂ (MW: 399.21): C, 57.16; H, 3.03; N, 7.02%; Trovata: C, 57.20; H, 3.12; N, 7.13%.

1-(1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (41e)



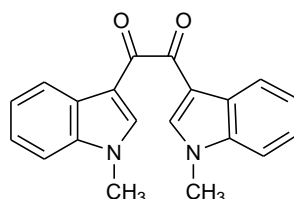
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50a**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna Cicloesano/EtOAc 1:1; Resa: 33%; solido giallo; p.f.: 226.4-227.4 °C; IR (cm⁻¹): 3255 (NH), 1624 (CO), 1607 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.89 (3H, s, CH₃), 7.27-7.41 (4H, m, H-5, H-5', H-6 ed H-6'), 7.53-7.64 (2H, m, H-7 ed H-7'), 8.23-8.32 (4H, m, H-2, H-2', H-4 ed H-4'), 12.28 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 33.3 (q), 99.5 (d), 111.0 (d), 111.3 (s), 112.6 (d), 121.2 (s), 121.4 (d), 122.4 (s), 122.5 (d), 122.8 (d), 123.5 (d), 125.5 (s), 126.0 (s), 137.0 (s), 137.3 (d), 137.4 (s), 140.7 (d), 188.2 (s), 188.7 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₄N₂O₂ (PM: 302.33): C, 75.48; H, 4.67; N, 9.27%. Trovata: C, 75.38; H, 4.73; N, 9.12%.

1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-2-(5-metossi-1-metil-1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (41f)



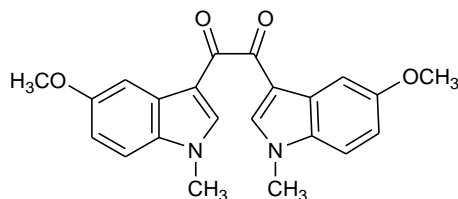
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50d**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna Cicloesano/EtOAc 1:1; Resa: 33%; solido marrone chiaro; p.f.: 246.6-247.6 °C; IR (cm⁻¹): 3199 (NH), 1640 (CO), 1602 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, CH₃), 6.99 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, H-6'), 7.16 (1H, td, *J* = 9.0, 9.0, 2.3 Hz, H-6), 7.50-7.60 (2H, m, H-7' ed H-7), 7.81 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-4'), 7.95 (1H, dd, *J* = 9.8, 2.3 Hz, H-4), 8.25 (1H, s, H-2'), 8.33 (1H, d, *J* = 3.1 Hz, H-2), 12.37 (1H, s, NH); Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₅FN₂O₃ (PM: 350.34): C, 68.57; H, 4.32; N, 8.00%; Trovata: C, 68.51; H, 4.47; N, 7.84%

1,2-bis(1-metil-1H-indol-3-il)etano-1,2-dione (42a)



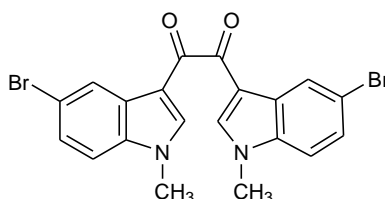
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51a**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna DCM/EtOAc 95:5; Resa: 47%; solido giallo; p.f.: 266.5-267.5 °C; IR (cm⁻¹): 1625 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.89 (6H, s, CH₃ x 2), 7.31- 7.41 (4H, m, H-5, H-5', H-6 ed H-6'), 7.58-7.64 (2H, m, H-7 ed H-7'), 8.29- 8.33 (4H, m, H-2, H-2', H-4 ed H-4'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 33.2 (q), 111.0 (d), 111.2 (s), 121.4 (d), 122.8 (d), 123.5 (d), 126.0 (s), 137.4 (s), 140.8 (d), 188.2 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₆N₂O₂ (PM: 316.35): C, 75.93; H, 5.10; N, 8.86; %. Trovata: C, 76.04; H, 5.15; N, 8.94%.

1,2-bis(5-metossi-1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (42b)



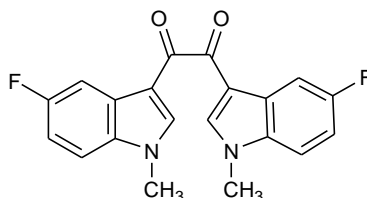
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51c**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna DCM/EtOAc 9:1; Resa: 30%; solido giallo; p.f.: 243.6-244.6 °C; IR (cm⁻¹): 1612 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.85 (6H, s, OCH₃ x 2), 3.86 (6H, s, CH₃ x 2), 6.99 (2H, dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, H-6 ed H-6'), 7.52 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-7 ed H-7'), 7.82 (2H, d, *J* = 2.5 Hz, H-4 ed H-4'), 8.25 (2H, s, H-2 ed H-2'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 33.4 (q), 55.3 (q), 103.1 (d), 111.0 (s), 111.9 (d), 113.1 (d), 127.0 (s), 132.3 (s), 140.7 (d), 156.2 (s), 188.0 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₂H₂₀N₂O₄ (PM: 376.41): C, 70.20; H, 5.36; N, 7.44%. Trovata: C, 70.33; H, 5.14; N, 7.68%.

1,2-bis(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (42c)



Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51b**; Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: La triturazione con metanolo; Resa 30%; solido giallo.

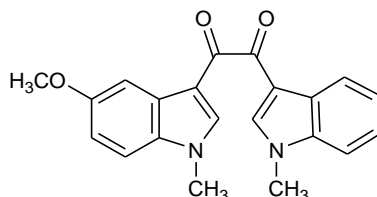
1,2-bis(5-fluoro-1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (42d)



Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51d**; Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: triturazione con metanolo; Resa 72%; solido giallo; p.f.: 312.0-313.0 °C; IR (cm⁻¹): 1621 (CO); ¹H NMR (200

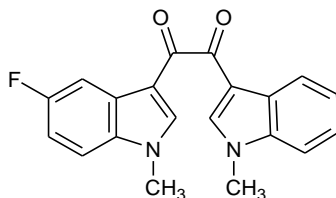
MHz, DMSO- d_6) δ : 3.90 (6H, s, CH₃ x 2), 7.24 (2H, td, J = 9.2, 9.2, 2.6 Hz, H-6 ed H-6'), 7.66 (2H, dd, J = 9.2, 4.5 Hz, H-7 ed H-7'), 7.96 (2H, dd, J = 9.7, 2.6 Hz, H-4 ed H-4'), 8.40 (2H, s, H-2 ed H-2'); Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₄F₂N₂O₂ (PM: 352.33): C, 68.18; H, 4.01; N, 7.95%. Trovata: C, 68.20; H, 4.05; N, 7.86%.

1-(5-metossi-1-metil-1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (42e)



Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51a**; Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: colonna DCM/etilacetato 9:1; Resa: 64%; solido arancione; p.f.: 195.8-196.8 °C; IR (cm⁻¹): 1613 (CO), 1520 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.84 (6H, s, OCH₃ x 2), 3.85 (3H, s, CH₃), 3.89 (3H, s, CH₃), 6.99 (1H, dd, J = 8.9, 2.5 Hz, H-6), 7.33-7.41 (2H, m, H-5' ed H-6'), 7.52 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-7), 7.59-7.63 (1H, m, H-7'), 7.82 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-4), 8.23 (1H, s, H-2), 8.28-8.32 (2H, m, H-4' ed H-2'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 33.2 (q), 33.4 (q), 55.3 (q), 103.2 (d), 110.9 (s), 111.0 (d), 111.2 (s), 111.9 (d), 113.1 (d), 121.4 (d), 122.8 (d), 123.5 (d), 126.0 (s), 127.0 (s), 132.3 (s), 137.4 (s), 140.7 (d), 140.8 (d), 156.2 (s), 188.0 (s), 188.2 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₁H₁₈N₂O₃ (PM: 346.38): C, 72.82; H, 5.24; N, 8.09%. Trovata: C, 72.90; H, 5.14; N, 7.98%.

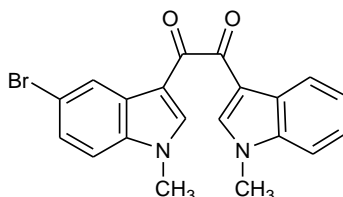
1-(5-fluoro-1-metil-1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (42f)



Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51a**; Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: colonna cicloesano/etilacetato 6:4; Resa 51%; solido giallo; p.f.: 273.0-274.0 °C; IR (cm⁻¹): 1616 (CO), 1607 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.95 (6H, s, CH₃ x 2), 7.24- 7.46 (3H, m, H-6, H-5' ed H-6'), 7.65- 7.75 (2H, m, H-7 ed H-7'), 8.02 (1H, dd, J = 9.7, 2.6 Hz, H-4), 8.33- 8.44 (3H, m, H-4', H-2 ed H-2'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 33.2 (q), 33.5 (q), 106.3 (d, J_{C4-F} = 24.8 Hz), 111.1 (s),

111.1 (d), 111.2 (s, $J_{C7a-F} = 4.7$ Hz), 111.5 (d, $J_{C6-F} = 26.3$ Hz), 112.6 (d, $J_{C7-F} = 9.9$ Hz), 121.4 (d), 122.9 (d), 123.5 (d), 126.0 (s), 126.7 (s, $J_{C3a-F} = 11.0$ Hz), 134.1 (s), 137.4 (s), 141.0 (d), 142.0 (d), 159.2 (s, $J_{C5-F} = 236.3$ Hz), 187.7 (s), 187.9 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{20}H_{15}FN_2O_2$ (PM: 334.34): C, 71.85; H, 4.52; N, 8.38%. Trovata: C, 71.64; H, 4.61; N, 8.14%.

1-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-dione (42g)

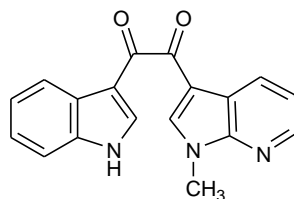


Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **51b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: colonna DCM/EtOAc 9:1; Resa 44%; solido giallo; p.f.: 274.0-275.0 °C; IR (cm^{-1}): 1628 (CO), 1610 (CO); 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.89 (6H, s, $CH_3 \times 2$), 7.31-7.41 (2H, m, H-5' ed H-6'), 7.51 (1H, dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, H-6), 7.60-7.65 (2H, m, H-7' ed H-7), 8.28-8.34 (2H, m, H-4' ed H-2'), 8.38 (1H, s, H-2), 8.45 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-4); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 33.3 (q), 33.5 (q), 99.7 (s), 110.6 (s), 111.0 (d), 111.1 (d), 113.3 (d), 115.7 (s), 121.4 (d), 122.9 (d), 123.3 (d), 123.6 (d), 126.0 (s), 126.0 (d), 127.7 (s), 136.2 (s), 137.4 (s), 141.1 (d), 187.5 (s), 187.9 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{20}H_{15}BrN_2O_2$ (PM: 395.25): C, 60.78; H, 3.83; N, 7.09%; Trovata: C, 60.89; H, 3.79; N, 7.13%.

Procedura generale per la preparazione dei 1-(1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3il)etano-1,2-dioni 43a-c.

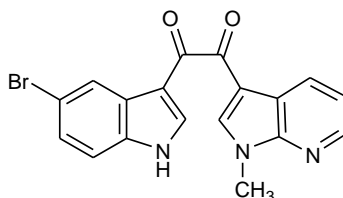
Ad una sospensione di tricloruro d'alluminio (10.84 mmol) in una miscela DCM/eptano 2:1 (7.2 ml), posta ad agitare sotto atmosfera d'azoto, viene aggiunto l' α -ossoacetilcloruro **50a,b,d**, (2.41 mmol) a spatolate in un intervallo di tempo di 3/5 minuti. Si lascia agitare per qualche minuto e successivamente si aggiunge, goccia a goccia, una soluzione del corrispondente 7-azaindolo **52** (2.41 mmol) in DCM (2.4 ml). La miscela di reazione viene lasciata agitare a temperatura ambiente per 1-2 ore. Si aggiungono cubetti di ghiaccio fino alla totale distruzione del tricloruro d'alluminio che si manifesta con la cessazione dell'effervescenza, la sospensione risultante viene filtrata sottovuoto. Il grezzo di reazione viene triturato con metanolo o incolonnato.

1-(1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3il)etano-1,2-dione (43a)



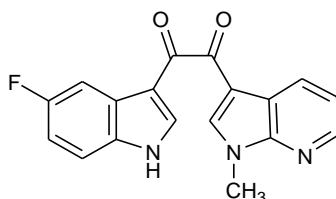
Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50a**; Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: triturazione con metanolo; Resa 56%; solido marrone; p.f.: 230.4-231.4 °C; IR (cm⁻¹): 3240 (NH), 1635 (CO), 1597 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.90 (3H, s, CH₃), 7.28-7.43 (3H, m, H-5, H-6 ed H-5'), 7.53-7.58 (1H, m, H-7), 8.27-8.31 (2H, m, H-2 ed H-4), 8.45-8.47 (1H, m, H-4'), 8.54-8.60 (2H, m, H-2' ed H-6'), 12.33 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 31.6 (q), 109.8 (s), 112.2 (s), 112.6 (d), 118.4 (s), 118.9 (d), 121.3 (d), 122.5 (d), 123.5 (d), 125.5 (s), 129.9 (d), 136.7 (s), 137.7 (d), 140.9 (d), 144.6 (d), 148.2 (s), 187.9 (s), 188.1 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₃N₃O₂ (PM: 303.31): C, 71.28; H, 4.32; N, 13.85%; Trovata: C, 71.36; H, 4.40; N, 13.61%.

1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3il)etano-1,2-dione (43b)



Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50b**; Tempo di reazione: 2 ore; Work-up: triturazione con metanolo; Resa 76%; solido marrone; Temperatura di decomposizione: 236.0 °C; IR (cm⁻¹): 3212 (NH), 1635 (CO), 1616 (CO) ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.90 (3H, s, CH₃), 7.37-7.56 (3H, m, H-6, H-7, H-5'), 8.34-8.59 (5H, m, H-2, H-4, H-4', H-2', H-6'), 12.53 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 31.7 (q), 109.6 (s), 111.7 (s), 114.7 (d), 115.3 (s), 118.4 (s), 119.0 (d), 123.4 (d), 126.1 (d), 127.4 (s), 129.8 (d), 135.5 (s), 138.6 (d), 141.4 (d), 144.6 (d), 148.2 (s), 187.5 (s), 187.7 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₂BrN₃O₂ (PM: 382.21): C, 56.56; H, 3.16; N, 10.99%; Trovata: C, 56.39; H, 3.29; N, 10.87%.

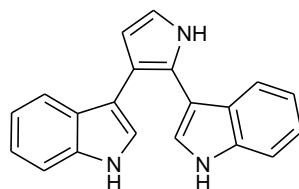
1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-2-(1-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-il)etano-1,2-dione (43c)



Condizioni: α -ossoacetilcloruro di partenza **50d**; Tempo di reazione: 1 ora; Work-up: triturazione con metanolo; Resa 76%; solido marrone; p.f.: 278.9-279.9 °C; IR (cm⁻¹): 3307 (NH), 1634 (CO), 1619 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.90 (3H, s, CH₃), 7.16 (1H, td, *J* = 9.4, 9.1, 2.6 Hz, H-6), 7.48-7.64 (2H, m, H-6', H-7, H-5'), 7.95 (1H, dd, *J* = 9.7, 2.6 Hz, H-4), 8.35-8.44 (3H, m, H-4', H-2' ed H-2); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₂FN₃O₂ (PM: 321.31): C, 67.29; H, 3.76; N, 13.08%; Trovata: C, 67.31; H, 3.84; N, 13.12%.

Procedura per la preparazione del 3,3'-(1H-pirrolo-2,3-diil)bis(1H-indolo) 28a

Ad una sospensione di metiltrifenilfosfonio bromuro **58** (1,92 mmol) in THF (9 ml), sotto atmosfera d'argon e a -78 °C, viene aggiunto il butillitio (2 mmol, soluzione 1,6 M in esano) e si lascia agitare per 2 ore alla stessa temperatura. Alla soluzione gialla formatasi, viene aggiunto il betmip **54** (2 mmol), sintetizzato in accordo con il lavoro di riferimento [89TL3303], e si lascia agitare overnight a temperatura ambiente. Alla sospensione ottenuta, a -78 °C viene aggiunto il butillitio (2 mmol) e si lascia agitare per 2 ore alla stessa temperatura e per 30 minuti a -30 °C. Si aggiunge l'1,2-dichetone **40a** (1.72 mmol) e la miscela di reazione viene posta a riflusso overnight. Si effettua il quenching con acqua (9 ml) e si estrae con dietilere (3 x 10 ml), la fase organica viene successivamente sciacquata con NaOH 3N (2 x 7 ml). Si tira a secco e si effettua una colonna in DCM.



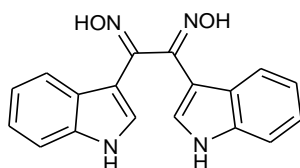
Resa: 2%; olio rossastro; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.34 (1H, td, *J* = 7.4, 1.0 Hz), 6.57 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.0 Hz), 6.75-7.02 (5H, m), 7.25-7.29 (4H, m), 7.53 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 10.71 (2H, m, NH x 2), ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 111.2 (d x 2), 114.7 (d), 116.1 (d), 117.8 (d x 2), 118.6 (s x 2), 119.0 (d), 120.5 (d x 2), 122.2 (d), 124.6 (s), 126.0 (d), 126.6 (s x 2), 129.1 (d), 136.4 (s x 2),

146.1 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₅N₃ (PM: 297.35) C, 80.78; H, 5.08; N, 14.13%; Trovata: C, 80.92; H, 5.02; N, 14.19%.

Procedura generale per la preparazione delle *N,N'*-diidrossi-1,2-di(1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimine 44a-h, 45a-f, 46a-g

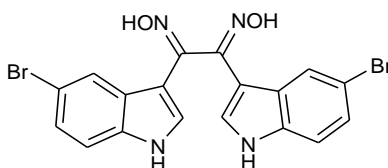
Ad una sospensione dell'opportuno chetone **40a-h**, **41a-f**, **42a-g** (3 mmol) in piridina (16 ml), viene aggiunta l'idrossilammina cloridrato (18 mmol). La miscela di reazione viene posta a refluxo overnight. Si lascia raffreddare a temperatura ambiente, si versa in un becker contenente un fondo di ghiaccio e acido cloridrico concentrato (16 ml), si aggiunge acqua e si filtra sottovuoto. Il solido viene lavato con acqua fredda (10 ml), solubilizzato in etilacetato (250 ml) ed estratto con una soluzione satura di bicarbonato (250 ml). La fase organica viene lavata con tre aliquote di acqua (100 ml) e tirata a secco. Il grezzo viene utilizzato senza ulteriore purificazione.

***N,N'*-diidrossi-1,2-di(1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (44a)**



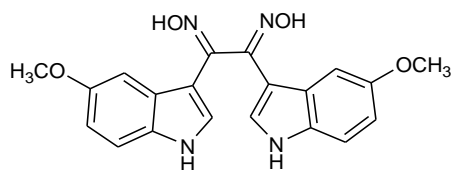
Resa: 100%; solido rosa

1,2-bis(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossietano-1,2-diimina (44b)



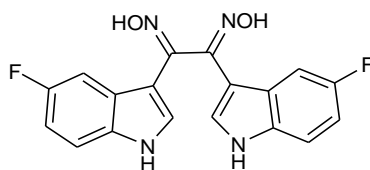
Resa: 92%; solido marrone

***N,N'*-diidrossi-1,2-bis(5-metossi-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (44c)**



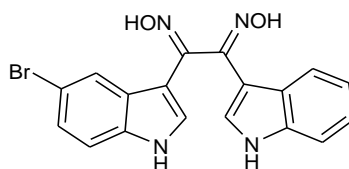
Resa: 83%; solido marrone

1,2-bis(5-fluoro-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossietano-1,2-diimina (44d)



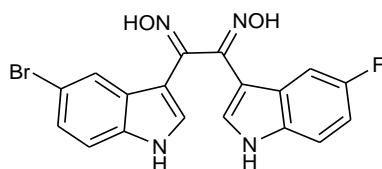
Resa: 100%; solido marrone

1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossi-2-(1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (44e)



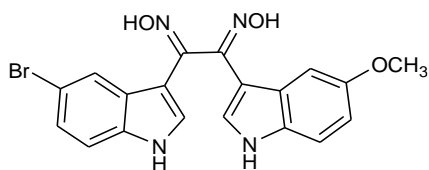
Resa: 50%; solido marrone

1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-2-(5-fluoro-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossietano-1,2-diimina (44f)



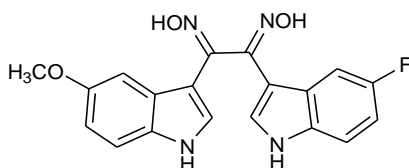
Resa: 60%; solido marrone

1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-N,N'-diidrossi-2-(5-metossi-1H-indol-3-il)etano-1,2-diimina (44g)



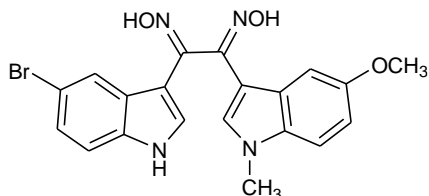
Resa: 51%; solido marrone

1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-N,N'-diidrossi-2-(5-metossi-1H-indol-3-il)etano-1,2-diimine (44h)



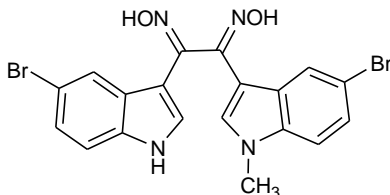
Resa: 54%; solido marrone

1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-N,N'-diidrossi-2-(5-metossi-1-metil-1H-indol-3-il)etano-1,2-diimina (45a)



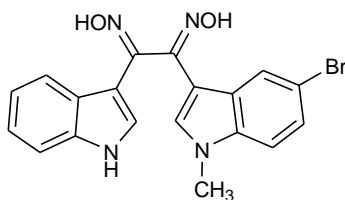
Resa: 45%; solido arancione

1-(5-bromo-1H-indol-3-il)-2-(5-bromo-1-metil-1H-indol-3-il)-N,N'-diidrossietano-1,2-diimina (45b)



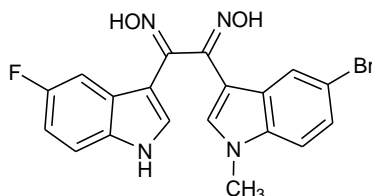
Resa: 70%; solido arancione

1-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossi-2-(1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (45c)



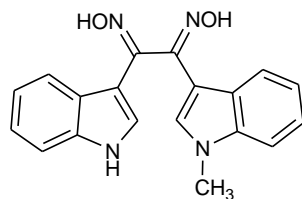
Resa: 48%; solido giallo

1-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-2-(5-fluoro-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossietano-1,2-diimina (45d)



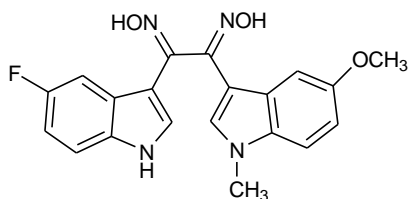
Resa: 70%; solido arancione

***N,N'*-diidrossi-1-(1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (45e)**



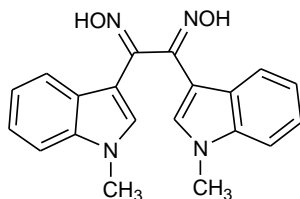
Resa: 83%; solido marrone

1-(5-fluoro-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossi-2-(5-metossi-1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (45f)



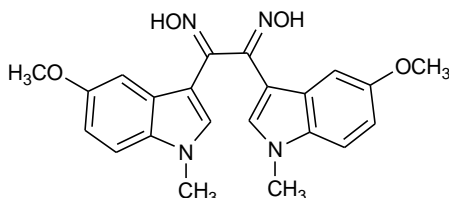
Resa: 60%; solido marrone

***N,N'*-diidrossi-1,2-bis(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (46a)**



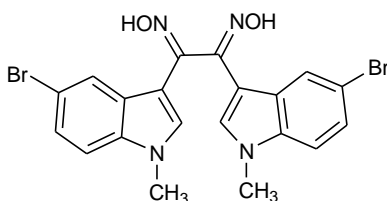
Resa: 70%; solido arancione; Stereoisomero *E,E* (*anti*): $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.72 (6H, s, $\text{CH}_3 \times 2$), 7.13-7.29 (6H, m, H-5, H-5', H-6, H-6', H-7 ed H-7'), 7.45 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-4 ed H-4'), 8.18- 8.22 (2H, m, H-2, H-2'), 10.60 (2H, s, OH $\times 2$); Stereoisomero *E,Z* (*amphi*) $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.71 (3H, s, CH_3), 3.87 (3H, s, CH_3), 6.85 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.06-7.29 (4H, m, 4 x Ar-H), 7.41- 7.47 (2H, m, 2 x Ar-H), 7.61 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 8.24 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, Ar-H), 8.57 (1H, s, Ar-H), 10.60 (1H, s, OH), 11.44 (1H, s, OH); Composizione elementare calcolata per $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ (PM: 346.38): C, 69.35; H, 5.24; N, 16.17%; Trovata: C, 69.55; H, 5.02; N, 16.19%.

***N,N'*-diidrossi-1,2-bis(5-metossi-1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (46b)**



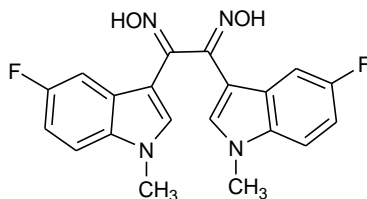
Resa: 35%; solido marrone;

1,2-bis(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossietano-1,2-diimina (46c)



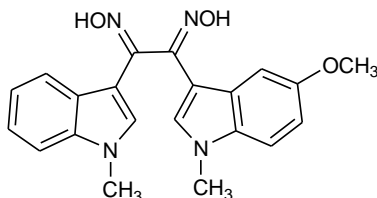
Resa: 60%; solido marrone

1,2-bis(5-fluoro-1-metil-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossietano-1,2-diimina (46d)



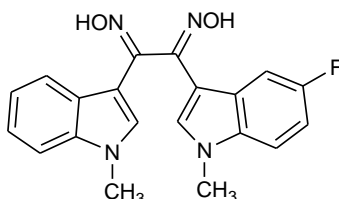
Resa: 75%; solido giallo

***N,N'*-diidrossi-1-(5-metossi-1-metil-1*H*-indol-3-il)-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (46e)**



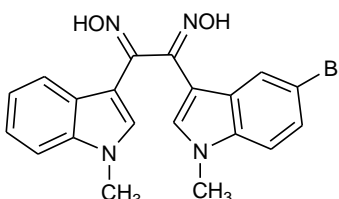
Resa: 83%; solido marrone

1-(5-fluoro-1-metil-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossi-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (46f)



Resa: 55%; solido giallo

1-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossi-2-(1-metil-1*H*-indol-3-il)etano-1,2-diimina (46g)

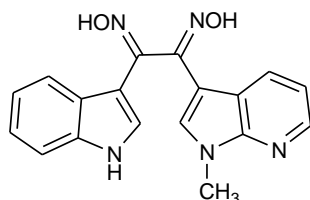


Resa: 84%; solido marrone

Procedura generale per la preparazione delle *N,N'*-diidrossi-1-(1*H*-indol-3-il)-2-(1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)etano-1,2-diimine 47a-c

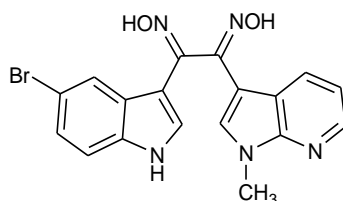
Ad una sospensione dell'opportuno 1,2-dichetone **43a-c** (3 mmol) in una miscela metanolo-piridina 3:1 (26 ml), viene aggiunta l'idrossilammina cloridrato (201 mmol). La miscela di reazione viene posta a refluxo overweek. Si lascia raffreddare a temperatura ambiente, si allontana il metanolo attraverso evaporazione a pressione ridotta, si aggiungono ghiaccio e acido cloridrico concentrato (6,5 ml). Si diluisce con acqua e si effettua un'estrazione con etil acetato (250 ml), la fase organica viene stratta con una soluzione satura di bicarbonato (250 ml), lavata con tre aliquote di acqua (100 ml) e tirata a secco. Il grezzo viene utilizzato senza ulteriore purificazione.

***N,N'*-diidrossi-1-(1*H*-indol-3-il)-2-(1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)etano-1,2-diimina (47a)**



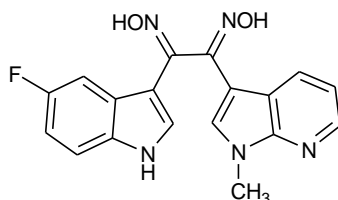
Resa: 68%; solido marrone

1-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-*N,N'*-diidrossi-2-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)etano-1,2-diimina (47b)



Resa: 74%; solido marrone

1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-N,N'-diidrossi-2-(1-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-il)etano-1,2 diimina (47c)

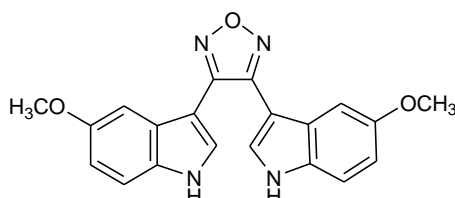


Resa: 82%; solido marrone

Procedura generale per la preparazione dei 3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(1H-indoli) 32c, 32f, g, dei 3-[4-(1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1H-indoli 33a, b, dei 3,3'-(1,2,5-ossadiazol-3,4-diil)bis(1-metil-1H-indoli) 34a-g, degli Etil 3-[4-(1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1H-indolo-1-carbossilati 35a, b e del Dietil 3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)di(1H-indolo-1-carbossilato 36a.

Ad una sospensione dell'opportuna diossima **44a,c,d,f,g, 45a,c e 46a-g** (3 mmol) in toluene anidro (21 ml), posta ad agitare a 0 °C, viene aggiunta la trifenilfosfina (6 mmol). La miscela di reazione viene lasciata agitare a 0 °C per 5 minuti dopodiché viene aggiunto il DEAD (6 mmol) goccia a goccia e si lascia agitare a 0 °C per 10 minuti. La miscela di reazione viene portata a temperatura ambiente e posta successivamente a riflusso per 15-60 min. Dopo aver allontanato il solvente, si effettua una purificazione mediante colonna cromatografica.

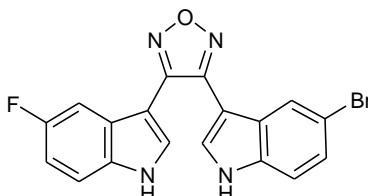
3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-metossi-1H-indolo) (32c)



Condizioni: 1h a riflusso; Work-up: colonna DCM/EtOAc 95:5; Resa 27%; solido color panna; p.f.: 255.9-256.9 °C; IR (cm⁻¹): 3410 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.70 (6H, s, OCH₃ x 2), 6.88 (2H, dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, H-6 e H-6'), 7.20 (2H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4 e H-4'), 7.43 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7 e H-7'), 7.63 (2H, s, H-2 e H-2'), 11.61 (2H, s, NH x 2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ:

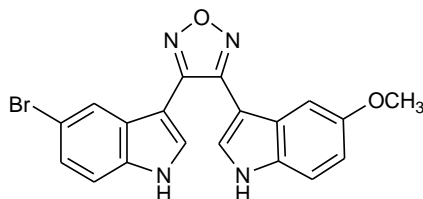
55.1 (q), 99.8 (s), 101.4 (d), 112.8 (d), 113.0 (d), 125.9 (s), 127.6 (d), 131.1 (s), 149.1 (s), 154.4 (s);
Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₆N₄O₃ (PM: 360.37): C, 66.66; H, 4.48; N, 15.55%;
Trovata: C, 66.84; H, 4.38; N, 15.52%.

3-[4-(5-bromo-1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-5-fluoro-1H-indolo (32f)



Condizioni: 1h a refluxo; Work-up: colonna DCM; Resa 55%; solido bianco; p.f.: 289.0-290.0°C;
IR (cm⁻¹): 3346 (NH), 3296 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.11 (1H, td, *J* = 9.2, 9.2, 2.5 Hz, H-6), 7.38 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, H-6'), 7.43-7.59 (3H, m, H-4, H-7 ed H-7'), 7.75-7.80 (2H, m, H-2 ed H-2'), 7.93 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4'), 11.89 (1H, s, NH), 11.95 (1H, s, NH'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- *d*₆) δ: 99.6 (s), 100.1 (s, *J*_{C7a-F} = 4.5 Hz), 104.8 (d, *J*_{C4-F} = 24.5 Hz), 110.9 (d, *J*_{C6-F} = 26.8 Hz), 113.2 (s), 113.5 (d, *J*_{C7-F} = 9.6 Hz), 114.4 (d), 122.2 (d), 125.2 (d), 125.8 (s, *J*_{C4a-F} = 10.8 Hz), 127.2 (s), 128.8 (d), 129.1 (d), 132.9 (s), 134.9 (s), 148.5 (s), 148.7 (s), 157.7 (s, *J*_{C5-F} = 233.7);
Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₀BrFN₄O (PM: 397.20): C, 54.43; H, 2.54; N, 14.11;
Trovata: C, 54.37; H, 2.61; N, 14.08%.

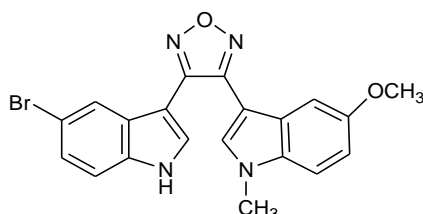
3-[4-(5-bromo-1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-5-metossi-1H-indolo (32g)



Condizioni: 15 min a refluxo; Work-up: colonna DCM; Resa: 37%; solido color panna; p.f.: 275.9-276.9 °C; IR (cm⁻¹): 3307 (NH x 2 b.s.); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.70 (3H, s, OCH₃), 6.89 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, H-6), 7.21 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 7.37 (1H, dd, *J* = 8.7, 1.9 Hz, H-6'), 7.44 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7), 7.53 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-7'), 7.65 (1H, d, *J* = 2.8 Hz, H-2), 7.76 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-2'), 7.93 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-4'), 11.65 (1H, s, NH), 11.95 (1H, s, NH'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- *d*₆) δ: 55.2 (q), 99.6 (s), 99.8 (s), 101.5 (d), 112.8 (d), 113.1 (d), 113.1 (s),

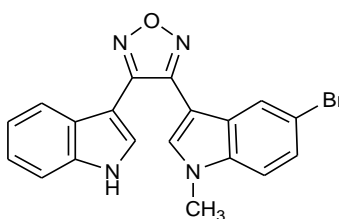
114.3 (d), 122.2 (d), 125.1 (d), 125.9 (s), 127.2 (s), 127.6 (d), 128.8 (d), 131.1 (s), 134.9 (s), 148.5 (s), 149.0 (s), 154.4 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{19}H_{13}BrN_4O_2$ (PM: 409.24): C, 55.76; H, 3.20; N, 13.69%; Trovata: C, 55.52; H, 3.31; N, 13.57%.

3-[4-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-5-metossi-1-metil-1*H*-indolo (33a)



Condizioni: 1h a refluxo; Work-up: colonna DCM; Resa: 26%, solido bianco; p.f.: 252.8-253.8 °C; IR (cm^{-1}): 3370 (NH); 1H NMR (200 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 3.69 (3H, s, OCH_3), 3.83 (3H, s, CH_3), 6.94 (1H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, H-6), 7.17 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 7.38 (1H, dd, $J = 8.6, 1.9$ Hz, H-6'), 7.49-7.55 (2H, m, H-7 ed H-7'), 7.78 (2H, s, H-2 ed H-2'), 8.00 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-4'), 11.94 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 33.0 (q), 55.2 (q), 98.4 (s), 99.72 (s), 101.7 (d), 111.5 (d), 112.7 (d), 113.2 (s), 114.3 (d), 122.3 (d), 125.2 (d), 126.3 (s), 127.2 (s), 128.9 (d), 131.3 (d), 131.9 (s), 134.9 (s), 148.5 (s), 148.7 (s), 154.6 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{20}H_{15}BrN_4O_2$ (PM: 423.26): C, 56.75; H, 3.57; N, 13.24%. Trovata: C, 56.61; H, 3.64 N, 13.29%.

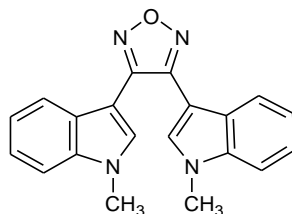
5-bromo-3-[4-(1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-indolo (33b)



Condizioni: 1h a refluxo; Work-up: colonna DCM; Resa: 46%, solido color panna; p.f.: 215.0-215.9 °C; IR (cm^{-1}): 3421 (NH); 1H NMR (200 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 3.84 (3H, s, CH_3), 7.14-7.30 (2H, m, H-5' ed H-6'), 7.44 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 7.52-7.63 (2H, m, H-7 ed H-7'), 7.74 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-2'), 7.82-7.92 (3H, m, $J = 1.6$ Hz, H-2, H-4 ed H-4'), 11.77 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 33.1 (q), 98.8 (s), 99.8 (s), 112.2 (d), 112.9 (d), 113.5 (s), 120.1 (d), 120.6 (d), 122.4 (d), 122.6 (d), 125.1 (d), 125.4 (s), 127.4 (d), 127.5 (s), 132.4 (d), 135.6 (s), 136.2 (s), 148.2 (s),

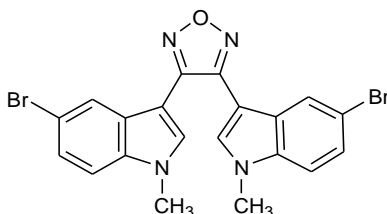
148.9 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{19}H_{13}BrN_4O$ (PM: 393.24): C, 58.03; H, 3.33; N, 14.25%; Trovata: C, 58.14; H, 3.27 N, 14.39%.

3,3'-(1,2,5-ossadiazol-3,4-diil)bis(1-metil-1*H*-indolo) (34a)



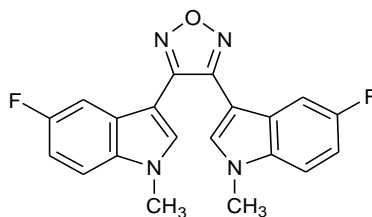
Condizioni: 1h a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 35%; solido giallo; p.f.: 237.5-238.5 °C; 1H NMR (200 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 3.85 (6H, s, $CH_3 \times 2$), 7.17-7.25 (2H, m, H-5 ed H-5'), 7.29-7.37 (2H, m, H-6 ed H-6'), 7.61 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-7 ed H-7'), 7.82-7.85 (4H, m, H-2, H-2', H-4 ed H-4'); ^{13}C NMR (50 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 32.9 (q), 98.9 (s), 110.6 (d), 120.3 (d), 120.8 (d), 122.6 (d), 125.8 (s), 131.2 (d), 136.7 (s), 148.6 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{20}H_{16}N_4O$ (PM: 328.37): C, 73.15; H, 4.91; N, 17.06%; Trovata: C, 73.21; H, 4.87; N, 17.13%.

3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-bromo-1-metil-1*H*-indolo) (34b)



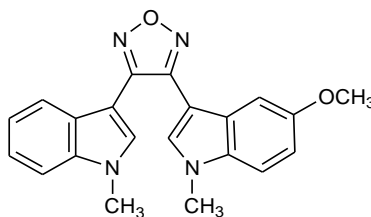
Condizioni: 15 min a riflusso; Work-up: colonna DCM; solido color panna; Resa: 10%; p.f.: 253.4-254.4 °C; 1H NMR (200 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 3.86 (6H, s, $CH_3 \times 2$), 7.45 (2H, dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, H-6 ed H-6'), 7.62 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7 ed H-7'), 7.94 (2H, s, H-2 ed H-2'), 7.97 (2H, d, $J = 1.9$ Hz, H-4 ed H-4'); Composizione elementare calcolata per $C_{20}H_{14}Br_2N_4O$ (PM: 486.16): C, 49.41; H, 2.90; N, 11.52; Trovata: C, 49.46; H, 2.74; N, 11.43%.

3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-fluoro-1-metil-1*H*-indolo) (34c)



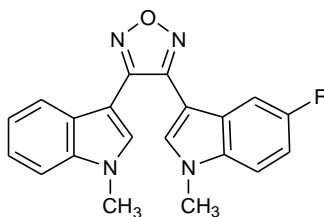
Condizioni: 15 min a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 37%; solido bianco; p.f.: 234.5-235.5 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.86 (6H, s, CH₃ x 2), 7.19 (2H, td, *J* = 9.2, 9.2, 2.5 Hz, H-6 ed H-6'), 7.53 (2H, dd, *J* = 9.8, 2.5 Hz, H-4 ed H-4'), 7.64 (2H, dd, *J* = 9.2, 4.5 Hz, H-7 ed H-7'), 7.92 (2H, s, H-2 ed H-2'); Composizione elementare calcolata per C₂₀H₁₄F₂N₄O (PM: 364.35): C, 65.93; H, 3.87; N, 15.38%; Trovata: C, 65.87; H, 3.94; N, 15.21%.

5-metossi-1-metil-3-[4-(1-metil-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo (34d)



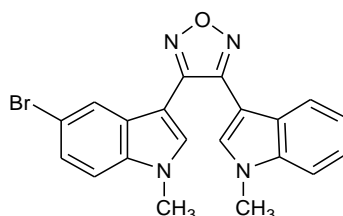
Condizioni: 15 min a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 29%; solido giallo chiaro p.f.: 166.5-167.5; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.73 (3H, s, OCH₃), 3.80 (3H, s, CH₃), 3.86 (3H, s, CH₃'), 6.95 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, H-6), 7.17-7.36 (3H, m, H-5', H-6' ed H-4), 7.50 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-7), 7.61 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-7'), 7.75-7.86 (3H, m, H-2, H-2' ed H-4'); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 32.9 (q), 33.0 (q), 55.2 (q), 98.6 (s), 99.0 (s), 101.9 (d), 110.6 (d), 111.5 (d), 112.8 (d), 120.2 (d), 120.7 (d), 122.6 (d), 125.9 (s), 126.3 (s), 131.1 (d), 131.3 (d), 131.9 (s), 136.7 (s), 148.5 (s), 148.8 (s), 154.7 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₁H₁₈N₄O₂ (PM: 358.39): C, 70.38; H, 5.06; N, 15.63%; Trovata: C, 70.41; H, 5.35; N, 15.74%.

5-fluoro-1-metil-3-[4-(1-metil-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo (34e)



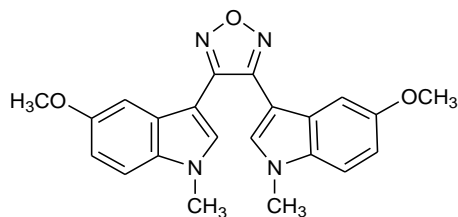
Condizioni: 15 min a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 23%; solido beige; p.f.: 204.0-205.0 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.84 (3H, s, CH $_3$ '), 3.86 (3H, s, CH $_3$), 7.14-7.37 (3H, m, H-5', H-6', H-6), 7.52-7.67 (3H, m, H-4, H-7' ed H-7), 7.80-7.89 (3H, m, H-4', H-2' ed H-2); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 32.9 (q), 33.2 (q), 98.8 (s), 99.1 (s, $J_{C7a-F} = 4.6$ Hz), 99.5 (s), 105.1 (d, $J_{C4-F} = 24.8$ Hz), 110.8 (d, $J_{C6-F} = 27.0$ Hz), 112.1 (d, $J_{C7-F} = 9.9$ Hz), 120.3 (d), 120.76 (d), 122.6 (d), 125.8 (s), 126.2 (s, $J_{C4a-F} = 10.8$ Hz), 131.1 (d), 132.8 (d), 133.5 (s), 136.7 (s), 148.4 (s), 148.5 (s), 158.0 (s, $J_{C5-F} = 234.3$ Hz); Composizione elementare calcolata per C $_{20}$ H $_{15}$ FN $_4$ O (PM: 346.36): C, 69.35; H, 4.37; N, 16.18%; Trovata: C, 69.44; H, 4.29; N, 16.37%.

5-bromo-1-metil-3-[4-(1-metil-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo (34f)



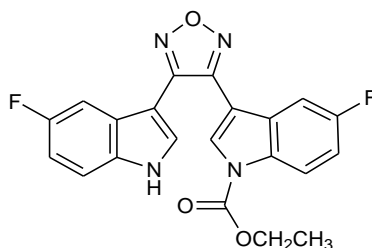
Condizioni: 20 min a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 36%; solido bianco; p.f.: 202.7-203.7 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.84 (3H, s, CH $_3$ '), 3.87 (3H, s, CH $_3$), 7.17-7.25 (1H, m, H-5'), 7.29-7.37 (1H, m, H-6'), 7.45 (1H, dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, H-6), 7.61 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7' ed H-7), 7.80 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-4'), 7.87 (1H, s, H-2'), 7.88 (1H, s, H-2), 7.99 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-4); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 32.9 (q), 33.2 (q), 98.7 (s), 98.7 (s), 110.6 (d), 112.8 (d), 113.5 (s), 120.3 (d), 120.8 (d), 122.5 (d), 122.6 (d), 125.2 (d), 125.8 (s), 127.5 (s), 131.2 (d), 132.5 (d), 135.5 (s), 136.8 (s), 148.2 (s), 148.5 (s); Composizione elementare calcolata per C $_{20}$ H $_{15}$ BrN $_4$ O (PM: 407.26): C, 58.98; H, 3.71; N, 13.76%. Trovata: C, 58.76; H, 3.84; N, 13.66%.

3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-metossi-1-metil-1H-indolo) (34g)



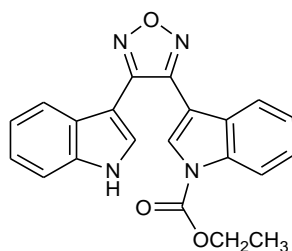
Condizioni: 15 min a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 35%; solido color panna; p.f.: 174.8-175.8 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.72 (6H, s, OCH₃ x 2), 3.82 (6H, s, CH₃ x 2), 6.94 (2H, dd, J = 8.9, 2.4 Hz, H-6 ed H-6'), 7.25 (2H, d, J = 2.4 Hz, H-4 ed H-4'), 7.50 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-7 ed H-7'), 7.78 (2H, s, H-2 ed H-2'); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ : 33.1 (q), 55.2 (q), 98.6 (s), 101.7 (d), 111.5 (d), 112.4 (d), 126.4 (s), 131.3 (d), 131.9 (s), 148.7 (s), 154.7 (s); Composizione elementare calcolata per C₂₂H₂₀N₄O₃ (PM: 388.42): C, 68.03; H, 5.19; N, 14.42%; Trovata: C, 68.11; H, 5.25; N, 14.51%.

Etil 5-fluoro-3-[4-(5-fluoro-1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1H-indolo-1-carbossilato (35a)



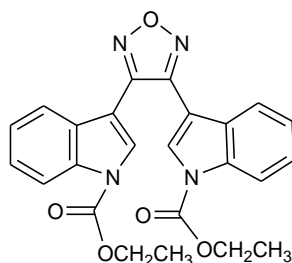
Condizioni: 1h a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 25%; solido bianco; p.f.: 232.4 °C; IR (cm⁻¹): 3323 (NH), 1737 (CO); ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.34 (3H, t, J = 7.1 Hz, CH₃), 4.43 (2H, q, J = 7.1 Hz, CH₂), 7.12 (1H, td, J = 9.1, 9.3, 2.4 Hz, H-6'), 7.34 (1H, td, J = 9.2, 9.2, 2.6 Hz, H-6), 7.47-7.60 (3H, m, H-4', H-7' ed H-4), 7.76 (1H, s, H-2'), 8.14- 8.23 (2H, m, H-2 ed H-7), 11.89 (1H, s, NH); Composizione elementare calcolata per C₂₁H₁₄F₂N₄O₃ (PM: 408.36): C, 61.77; H, 3.46; N, 13.72%; Trovata: C, 61.84; H, 3.23; N, 13.54%.

Etil 3-[4-(1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilato (35b)



Condizioni: 1h a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 34%; solido color panna; p.f.: 214.0-214.8 °C; IR (cm⁻¹): 3364 (NH), 1732 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.34 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 4.43 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 7.15-7.32 (2H, m, H-5' ed H-6'), 7.36-7.40 (1H, m, H-5), 7.45-7.55 (2H, m, H-6 ed H-7'), 7.66 (1H, s, H-2'), 7.75 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-4'), 7.86-7.90 (1H, m, H-7), 8.09 (1H, s, H-2), 8.23 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-4), 11.77 (1H, s, NH); Composizione elementare calcolata per C₂₁H₁₆N₄O₃ (PM: 372.38): C, 67.73; H, 4.33; N, 15.05%; Trovata: C, 67.68; H, 4.51; N, 15.18%.

Diethyl 3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)di(1*H*-indolo-1-carbossilato) (36a)

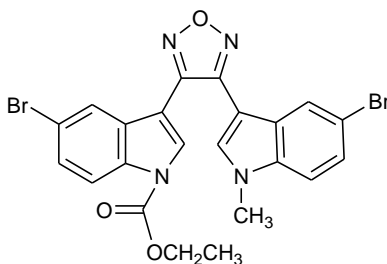


Condizioni: 1h a riflusso; Work-up: colonna DCM; Resa: 59%; solido arancione chiaro; p.f.: 160.7-161.7 °C; IR (cm⁻¹): 1749 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.33 (6H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃ x 2), 4.41 (4H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂ x 2), 7.37-7.56 (4H, m H-5, H-5', H-6 ed H-6'), 7.88 (2H, d, *J* = 7.4 Hz, H-7 ed H-7'), 8.06 (2H, s, H-2 ed H-2'), 8.22 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-4 ed H-4'); Composizione elementare calcolata per C₂₄H₂₀N₄O₅ (PM: 444.44): C, 64.86; H, 4.54; N, 12.61%; Trovata: C, 64.76; H, 4.52; N, 12.48%.

Procedura generale per la preparazione degli Etil 3-[4-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1H-indolo-1-carbossilati 37a-e

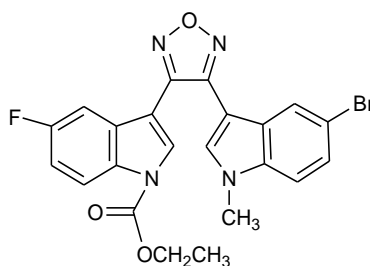
Ad una sospensione dell'opportuna diossima **45b-f** (3 mmol) in toluene anidro (57 ml), posta ad agitare a 0 °C, viene aggiunta la trifenilfosfina (12 mmol). La miscela di reazione viene lasciata agitare a 0 °C per 5 minuti, dopodiché viene aggiunto il DEAD (12 mmol), goccia a goccia, e si lascia agitare a 0 °C per 10 minuti. La miscela di reazione viene portata a temperatura ambiente e posta successivamente a riflusso per 20 minuti. Dopo aver allontanato il solvente, il grezzo viene purificato mediante triturazione con metanolo o colonna cromatografica.

Etil 5-bromo-3-[4-(5-bromo-1-metil-1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1H-indolo-1-carbossilato (37a)



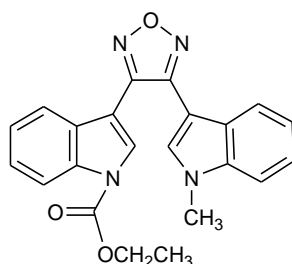
Work-up: colonna DCM; Resa: 75%; solido panna; p.f.: 233.5-234.5.0 °C; IR (cm⁻¹): 1749 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.35 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 3.83 (3H, s, CH₃), 4.44 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 7.46 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.9 Hz, H-6'), 7.59-7.68 (2H, m, H-6 ed H-7'), 7.90 (1H, s, H-2'), 7.95 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4'), 8.02 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-4), 8.13-8.18 (2H, m, H-7 ed H-2); Composizione elementare calcolata per C₂₂H₁₆Br₂N₄O₃ (PM: 544.20): C, 48.56; H, 2.96; N, 10.30; Trovata: C, 48.47; H, 2.68; N, 10.12%.

Etil 3-[4-(5-bromo-1-metil-1H-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-5-fluoro-1H-indolo-1-carbossilato (37b)



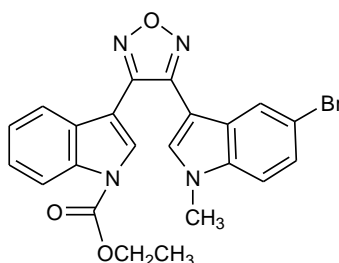
Work-up: triturazione con metanolo; Resa 79%; solido bianco; p.f.: 166.0-166.5 °C; IR (cm⁻¹): 1748 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.35 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 3.82 (3H, s, CH₃), 4.45 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 7.35 (1H, td, *J* = 9.2, 9.2, 2.7 Hz, H-6), 7.46 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.8 Hz, H-6'), 7.54 (1H, dd, *J* = 9.1, 2.7 Hz, H-4), 7.61 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7'), 7.88 (1H, s, H-2'), 8.03 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4'), 8.18- 8.27 (2H, m, H-2 ed H-7); Composizione elementare calcolata per C₂₂H₁₆BrFN₄O₃ (PM: 483.29): C, 54.67; H, 3.34; N, 11.59%; Trovata: C, 54.76; H, 3.18; N, 11.49%.

Etil 3-[4-(1-metil-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilato (37c)



Work-up: colonna DCM; Resa: 26 %; solido bianco; p.f.: 123.5-124.5 °C; IR (cm⁻¹): 1737 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.33 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 3.82 (3H, s, CH₃), 4.43 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 7.20-7.42 (3H, m, H-5, H-5' ed H-6'), 7.51 (1H, m, H-6), 7.61 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-7'), 7.81-7.89 (3H, m, H-7, H-4' ed H-2'), 8.10 (1H, s, H-2), 8.24 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-4); Composizione elementare calcolata per C₂₂H₁₈N₄O₃ (PM: 386.40): C, 68.38; H, 4.70; N, 14.50%; Trovata: C, 68.16; H, 4.85; N, 14.52%.

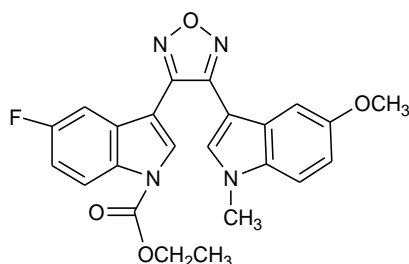
Etil 3-[4-(5-bromo-1-metil-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilato (37d)



Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 50%; solido arancione; p.f.: 184.9-185.9 °C; IR (cm⁻¹): 1747 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.36 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 3.80 (3H, s, CH₃), 4.45 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 7.33-7.54 (3H, m, H-5, H-6', ed H-6), 7.60 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7'), 7.78 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-7), 7.85 (1H, s, H-2'), 8.03 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4'), 8.11 (1H, s, H-2), 8.23

(1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-4); Composizione elementare calcolata per $C_{22}H_{17}BrN_4O_3$ (PM: 465.30): C, 56.79; H, 3.68; N, 12.04%. Trovata: C, 56.96; H, 3.45; N, 12.18%.

Etil 5-fluoro-3-[4-(5-metossi-1-metil-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilato (37e)

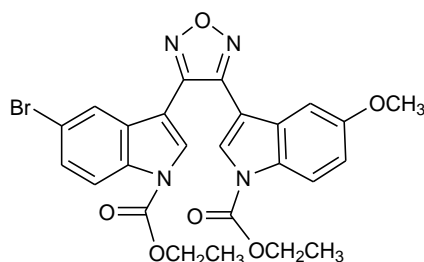


Work-up: colonna DCM; Resa: 15%; solido marrone; p.f.: 179.8-180.8 °C; IR (cm^{-1}): 1749 (CO); 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.33 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 3.73 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, CH₃), 4.43 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, CH₂), 6.96 (1H, dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, H-6'), 7.31-4.1 (2H, m, H-6 ed H-4'), 7.48-7.58 (2H, m, H-4 ed H-7'), 7.75 (1H, s, H-2'), 8.17-8.26 (2H, m, H-2 ed H-7); Composizione elementare calcolata per $C_{23}H_{19}FN_4O_4$ (PM: 434.42): C, 63.59; H, 4.41; N, 12.90%; Trovata: C, 63.63; H, 4.31; N, 13.01%.

Procedura generale per la preparazione dei Dietil 3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(1*H*-indolo-1-carbossilati) 36b-g

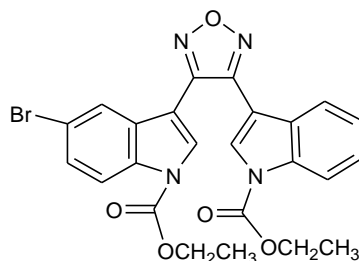
Ad una sospensione dell'opportuna diossima del tipo **44b, 44d-h** (3 mmol) in toluene anidro (57 ml), posta ad agitare a 0 °C, viene aggiunta la trifenilfosfina (24 mmol). La miscela di reazione viene lasciata agitare a 0 °C per 5 minuti dopodiché viene aggiunto il DEAD (24 mmol) goccia a goccia e si lascia agitare a 0 °C per 10 minuti. La miscela di reazione viene portata a temperatura ambiente e posta successivamente a riflusso per 20 minuti. Dopo aver allontanato il solvente, si effettua una purificazione mediante triturazione con metanolo o colonna cromatografica.

Etil 5-bromo-3-{4-[1-(etossicarbonil)-5-metossi-1*H*-indol-3-il]-1,2,5-ossadiazol-3-il}-1*H*-indolo-1-carbossilato (36b)



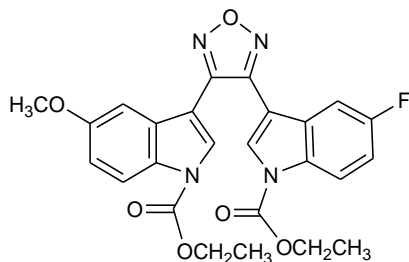
Work-up: colonna DCM; Resa: 38%; solido giallo chiaro; p.f.: 146.3-147.3 °C; IR (cm⁻¹): 1743 (CO), 1735 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.27- 1.36 (6H, m, CH₃ x 2), 3.74 (3H, s, OCH₃), 4.36-4.41 (4H, m, CH₂ x 2), 7.10 (1H, dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, H-6'), 7.30 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4'), 7.64 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.2 Hz, H-6), 8.03- 8.14 (5H, m, H-7', H-7, H-4, H-2' ed H-2); Composizione elementare calcolata per C₂₅H₂₁BrN₄O₆ (PM: 553.36): C, 54.26; H, 3.83; N, 10.12%; Trovata: C, 54.12; H, 3.95; N, 10.31%.

Etil 5-bromo-3-{4-[1-(etossicarbonil)-1*H*-indol-3-il]-1,2,5-ossadiazol-3-il}-1*H*-indolo-1-carbossilato (36c)



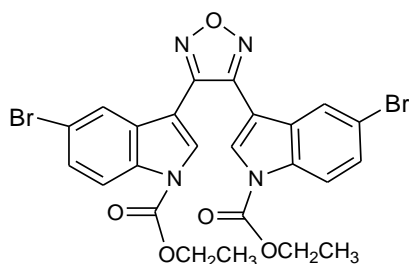
Work-up: colonna DCM; Resa: 43%; solido bianco; p.f.: 144.0-144.8 °C; IR (cm⁻¹): 1754 (CO), 1749 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.25-1.37 (6H, m, CH₃ x 2), 4.34-4.48 (4H, m CH₂ x 2), 7.35- 7.55 (2H, m, H-5' ed H-6'), 7.63 (1H, dd, *J* = 8.9, 1.9 Hz, H-6), 7.83 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-7'), 8.03-8.13 (4H, m, H-2, H-2', H-4 ed H-7), 8.21 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-4'); Composizione elementare calcolata per C₂₄H₁₉BrN₄O₅ (PM: 523.34): C, 55.08; H, 3.66; N, 10.71%; Trovata: C, 55.28; H, 3.74; N, 10.55%.

Etil 3-{4-[1-(etossicarbonil)-5-fluoro-1*H*-indol-3-il]-1,2,5-ossadiazol-3-il}-5-metossi-1*H*-indolo-1-carbossilato (36d)



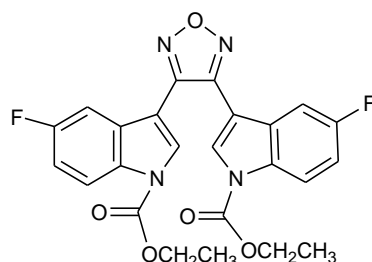
Work-up: triturazione con metanolo; Resa 65%; solido bianco; p.f.: 123.9-124.9 °C; IR (cm⁻¹): 1749 (CO), 1734 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.31 (6H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃ x 2), 3.74 (3H, s, OCH₃), 4.35- 4.47 (4H, m, CH₂ x 2), 7.10 (1H, dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, H-6), 7.31-7.42 (2H, m, H-6' ed H-4), 7.63 (1H, dd, *J* = 9.1, 2.5 Hz, H-4'), 8.00- 8.11 (3H, m, H-7, H-2 ed H-2'), 8.20 (1H, dd, *J* = 9.1, 4.6 Hz, H-7'); Composizione elementare calcolata per C₂₅H₂₁FN₄O₆ (PM: 492.46): C, 60.97; H, 4.30; N, 11.38%; Trovata: C, 60.78; H, 4.22; N, 11.54%.

Dietil 3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-bromo-1*H*-indolo-1-carbossilato) (36e)



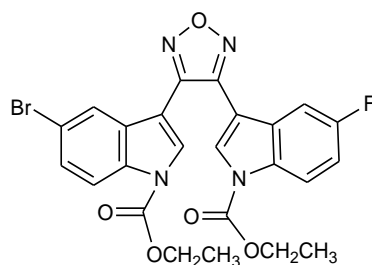
Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 53%; solido bianco; p.f.: 145.6-146.6 °C; IR (cm⁻¹): 1754 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.32 (6H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃ x 2), 4.43 (4H, q, *J* = 7.0 Hz, CH₂ x 2), 7.66 (2H, dd, *J* = 8.9, 1.9 Hz, H-6 ed H-6'), 8.04 (2H, d, *J* = 1.9 Hz, H-4 ed H-4'), 8.11- 8.16 (4H, m, H-7, H-7', H-2 ed H-2'); Composizione elementare calcolata per C₂₄H₁₈Br₂N₄O₅ (PM: 602.23): C, 47.86; H, 3.01; N, 9.30%; Trovata: C, 47.66; H, 3.11; N, 9.54%.

Dietil 3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-fluoro-1H-indolo-1-carbossilato) (36f)



Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 53%; solido bianco; p.f.: 173.7-174.7 °C; IR (cm⁻¹): 1748 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.32 (6H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃ x 2), 4.42 (4H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂ x 2), 7.39 (2H, td, *J* = 9.2, 9.2, 2.6 Hz, H-6 ed H-6'), 7.65 (2H, dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, H-4 ed H-4'), 8.13 (2H, s, H-2 ed H-2'), 8.22 (2H, dd, *J* = 9.2, 4.6 Hz, H-7 ed H-7'); Composizione elementare calcolata per C₂₄H₁₈F₂N₄O₅ (PM: 480.42): C, 60.00; H, 3.78; N, 11.66%; Trovata: C, 60.21; H, 3.52; N, 11.86%.

Etil 5-bromo-3-{4-[1-(etossicarbonil)-5-fluoro-1H-indol-3-il]-1,2,5-ossadiazol-3-il}-1H-indolo-1-carbossilato (36g)

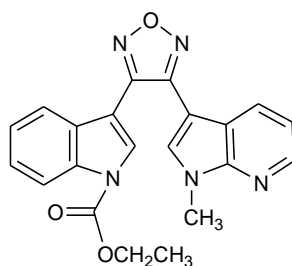


Work-up: triturazione con metanolo; Resa: 60%; solido color panna; p.f.:128.2-129.2 °C; IR (cm⁻¹): 1749 (CO), 1735 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.18-1.37 (6H, m, CH₃ x 2), 4.21-4.49 (4H, m, CH₂ x 2), 7.38 (1H, td, *J* = 9.3, 9.3, 2.6 Hz, H-6'), 7.60-7.69 (2H, m, H-4 ed H-6), 8.05-8.25 (5H, m, H-4, H-2, H-7, H-2' ed H-7'); Composizione elementare calcolata per C₂₄H₁₈BrFN₄O₅ (PM: 541.33): C, 53.25; H, 3.35; N, 10.35%; Trovata: C, 53.41; H, 3.40; N, 10.11%.

Procedura generale per la preparazione degli Etil 3-[4-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilati 38a-c

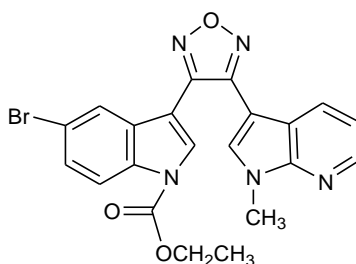
Ad una sospensione dell'opportuna diossima **47a-c** (3 mmol) in toluene anidro (120 ml), posta ad agitare a 0 °C, viene aggiunta la trifenilfosfina (12 mmol). La miscela di reazione viene lasciata agitare a 0 °C per 5 minuti dopodiché viene aggiunto il DEAD (12 mmol) goccia a goccia e si lascia agitare a 0 °C per 10 minuti. La miscela di reazione viene portata a temperatura ambiente e posta successivamente a riflusso per 15 minuti. Dopo aver allontanato il solvente, il grezzo viene incolonnato utilizzando DCM come eluente.

Etil 3-[4-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilato (38a)



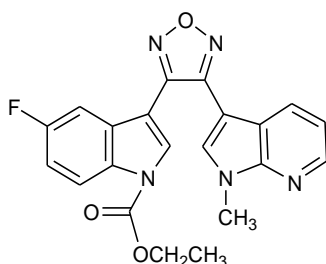
Resa: 31%; solido bianco; p.f.: 148.1-149.1 °C; IR (cm⁻¹): 1744 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.34 (3H, t, *J* = 6.9 Hz, CH₃), 3.84 (3H, s, CH₃), 4.44 (2H, q, *J* = 6.9 Hz, CH₂), 7.26-7.54 (3H, m, H-5', H-5 ed H-6), 7.81 (1H, d, *J* = 6.9 Hz, H-7), 8.03 (1H, s, H-2), 8.11 (1H, s, H-2'), 8.22- 8.26 (2H, m, H-4 ed H-4'), 8.44 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-6'); Composizione elementare calcolata per C₂₁H₁₇N₅O₃ (PM: 387.39): C, 65.11; H, 4.42; N, 18.08%; Trovata: C, 64.90; H, 4.50; N, 18.21%.

Etil 5-bromo-3-[4-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilato (38b)



Resa: 22%; solido beige; p.f.: 188.4-189.4 °C; IR (cm⁻¹): 1736 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.33 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 3.86 (3H, s, CH₃), 4.43 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 7.29 (1H, dd, *J* = 8.0, 4.6 Hz, H-5'), 7.66 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.6 Hz, H-6), 7.98 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-4), 8.08-8.24 (4H, m, H-2', H-7, H-2, H-4'), 8.44 (1H, d, *J* = 4.6 Hz, H-6'); Composizione elementare calcolata per C₂₁H₁₆BrN₅O₃ (PM: 466.29): C, 54.09; H, 3.46; N, 15.02%; Trovata: C, 54.27; H, 3.50; N, 14.96%.

Etil 5-fluoro-3-[4-(1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo-1-carbossilato (38c)

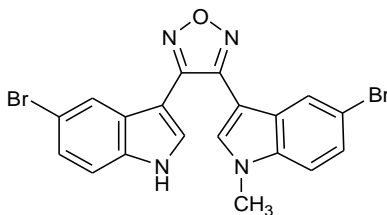


Resa: 23%; solido giallo chiaro; p.f.: 133.2-134.2 °C; IR (cm⁻¹): 1748 (CO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: δ: 1.34 (3H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃), 3.85 (3H, s, CH₃), 4.43 (2H, q, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 7.26-7.42 (2H, m, H-5' ed H-6), 7.56 (1H, dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, H-4), 8.05 (1H, s, H-2'), 8.16 (1H, s, H-2), 8.19-8.25 (2H, m, H-7 ed H-4'), 8.44 (1H, dd, *J* = 4.7, 1.5 Hz, H-6'); Composizione elementare calcolata per C₂₁H₁₆FN₅O₃ (PM: 405.38): C, 62.22; H, 4.69; N, 17.28%; Trovata: C, 62.36; H, 4.50; N, 17.33%.

Procedura generale per la preparazione dei 3-[4-(1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-indoli 33c-e

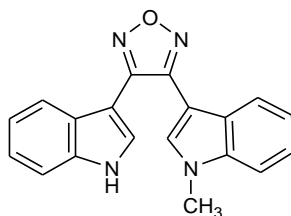
Ad una sospensione dell'opportuno 1,2,5-ossadiazolo **37a-c** (2 mmol) in una miscela etanolo/acqua 4:1 (40 ml) posta ad agitare, viene aggiunto idrossido di sodio (2,4 mmol). La miscela di reazione viene portata a riflusso e lasciata agitare per 15 minuti. Si lascia raffreddare a temperatura ambiente e si aggiunge acqua, il precipitato viene recuperato attraverso filtrazione sottovuoto e lavato con 4 ml d'acqua.

5-bromo-3-[4-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-indolo (33c)



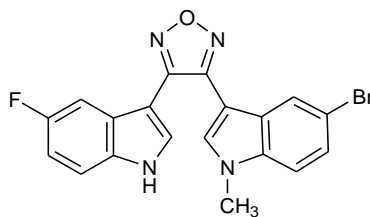
Resa: 74%; solido marrone chiaro; p.f.: 259.2-260.2 °C; IR (cm⁻¹): 3410 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.86 (3H, s, CH₃), 7.36-7.47 (2H, m, H-6' ed H-6), 7.53 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-7'), 7.62 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-7), 7.81 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-2'), 7.89- 7.92 (2H, m, H-2 ed H-4'), 8.00 (1H, s, H-4), 11.97 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- *d*₆) δ: 33.1 (q), 98.5 (s), 99.5 (d), 99.5 (s), 112.9 (d), 113.2 (s), 113.5 (s), 114.3 (d), 122.3 (d), 125.1 (d), 125.2 (d), 127.1 (s), 127.4 (s), 128.8 (d), 132.5 (d), 134.9 (s), 135.6 (s), 148.1 (s), 148.5 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₂Br₂N₄O (PM: 472.13): C, 48.33; H, 2.56; N, 11.87%; Trovata: C, 48.26; H, 2.74; N, 11.94%.

3-[4-(1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-indolo (33d)



Resa: 89%; solido bianco; p.f.: 200.8-201.8 °C; IR (cm⁻¹): 3307 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.85 (3H, s, CH₃), 7.14- 7.36 (4H, m, H-5', H-5, H-6' ed H-6), 7.53 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-7'), 7.61 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-7), 7.67-7.75 (2H, m, H-2' ed H-4'), 7.80 (1H, s, H-2), 7.87 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-4), 11.73 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- *d*₆) δ: 32.9 (q), 99.0 (s), 99.5 (d), 99.9 (s), 110.6 (d), 112.2 (d), 120.2 (d), 120.6 (d), 120.7 (d), 122.5 (d), 122.6 (d), 125.4 (s), 125.8 (s), 127.4 (d), 131.1 (d), 136.1 (s), 136.7 (s), 148.6 (s), 149.0 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₄N₄O (PM: 314.34): C, 72.60; H, 4.49; N, 17.82%; Trovata: C, 72.74; H, 4.36; N, 17.86%.

5-bromo-3-[4-(5-fluoro-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-indolo (33e)

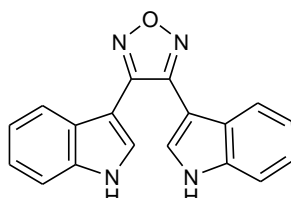


Resa: 84%; solido bianco; p.f.: 216.9-217.9 °C; IR (cm⁻¹): 3370 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.85 (3H, s, CH₃), 7.12 (1H, td, *J* = 9.2, 9.2, 2.5 Hz, H-6'), 7.45 (1H, dd, *J* = 8.7, 1.8 Hz, H-6), 7.52- 7.64 (3H, m, H-4', H-7 ed H-7'), 7.82 (1H, s, H-2'), 7.89-7.90 (2H, m, H-2 ed H-4), 11.87 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 33.1 (q), 98.7 (s), 99.9 (s, *J*_{C7a-F} = 4.6 Hz), 104.8 (d, *J*_{C4-F} = 24.3 Hz), 110.8 (d, *J*_{C6-F} = 25.8 Hz), 112.9 (d), 113.5 (s), 113.7 (d, *J*_{C7-F} = 9.8 Hz), 122.3 (d), 125.1 (d), 125.9 (s, *J*_{C4a-F} = 10.7 Hz), 127.5 (s), 129.5 (d), 132.4 (d), 133.1 (s), 135.6 (s), 148.1 (s), 148.7 (s), 157.7 (s, *J*_{C5-F} = 233.5 Hz); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₂BrFN₄O (PM: 411.23): C, 55.49; H, 2.94; N, 13.62%; Trovata: C, 55.32; H, 2.86; N, 13.53%.

Procedura generale per la preparazione dei 3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)di(1*H*-indoli) 32a-b, 32d-e, 32h

Ad una sospensione dell'opportuno 1,2,5-ossadiazolo **36a, c-f** (2 mmol) in una miscela etanolo/acqua 4:1 (40 ml) posta ad agitare, viene aggiunto idrossido di sodio (4,8 mmol). La miscela di reazione viene portata a riflusso e lasciata agitare per 20 minuti. Si lascia raffreddare a temperatura ambiente e si aggiunge acqua, il precipitato viene recuperato attraverso filtrazione sottovuoto e lavato con 4 ml d'acqua.

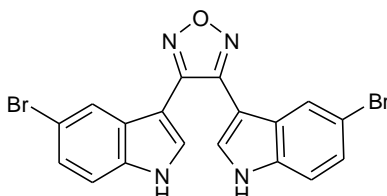
3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)di(1*H*-indolo) (32a)



Resa: 89%; solido color panna; p.f.: 274.3-275.3 °C; IR(cm⁻¹): 3410 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.12-7.29 (4H, m, H-5, H-5', H-6 ed H-6'), 7.52-7.79 (6H, m, H-2, H-2', H-4, H-4', H-7 ed H-7'), 11.74 (2H, d, NH x 2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 100.5 (s), 112.7 (d), 120.6 (d),

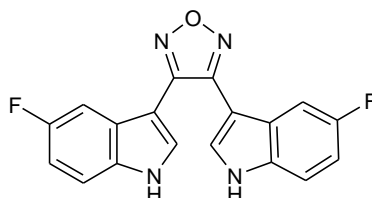
121.0 (d), 123.0 (d), 125.9 (s), 127.8 (d), 136.6 (s), 149.5 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{18}H_{12}N_4O$ (PM: 300.31): C, 71.99; H, 4.03; N, 18.66%; Trovata: C, 80.12; H, 4.24; N, 18.51%.

3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-bromo-1H-indolo) (32b)



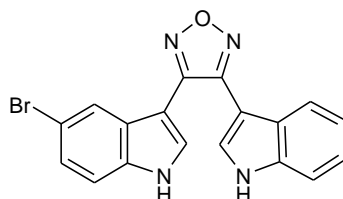
Resa: 100%; solido bianco; p.f.: 315.8-316.8 °C; IR (cm^{-1}): 3296 (NH); 1H NMR (200 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.38 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6 ed H-6'), 7.53 (2H, d, $J = 8.6$, H-7 ed H-7'), 7.77 (2H, s, H-2 ed H-2'), 7.93 (2H, s, H-4 ed H-4'), 11.96 (2H, s, NH x 2); ^{13}C NMR (50 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 99.6 (s), 113.2 (s), 114.4 (d), 122.2 (d), 125.2 (d), 127.2 (s), 128.8 (d), 134.9 (s), 148.5 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{18}H_{10}Br_2N_4O$ (PM: 458.11): C, 47.19; H, 2.20; N, 12.23%; Trovata: C, 47.23; H, 2.32; N, 12.43%.

3,3'-(1,2,5-ossadiazolo-3,4-diil)bis(5-fluoro-1H-indolo) (32d)



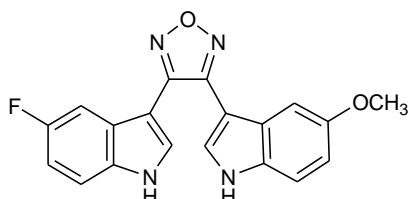
Resa 91%; solido marrone chiaro; p.f.: 272.1-273.1 °C; IR (cm^{-1}): 3455 (NH); 1H NMR (200 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.11 (2H, td, $J = 9.2, 9.2, 2.6$ Hz, H-6 ed H-6'), 7.47 (2H, dd, $J = 9.9, 2.6$ Hz, H-4 ed H-4'), 7.56 (2H, dd, $J = 9.2, 4.6$ Hz, H-7 ed H-7'), 7.77 (2H, s, H-2 ed H-2'), 11.87 (2H, s, NH x 2); ^{13}C NMR (50 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 100.1 (s, $J_{C7a-F} = 4.5$ Hz), 104.8 (d, $J_{C4-F} = 24.4$ Hz), 110.9 (d, $J_{C6-F} = 26.1$ Hz), 113.5 (d, $J_{C7-F} = 9.5$ Hz), 125.8 (s, $J_{C3a-F} = 10.7$ Hz), 129.1 (d), 132.8 (s), 148.6 (s), 157.7 (s, $J_{C5-F} = 233.7$ Hz); Composizione elementare calcolata per $C_{18}H_{10}F_2N_4O$ (PM: 411.23): C, 64.29; H, 3.00; N, 16.66%; Trovata: C, 64.35; H, 3.22; N, 16.87%.

5-bromo-3-[4-(1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo (32e)



Resa: 84%; solido bianco; p.f.: 275.0-275.8 °C; IR (cm⁻¹): 3337 (NH), 3302 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.12-7.29 (2H, m, H-5' ed H-6'), 7.38 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, H-6), 7.50- 7.57 (2H, m, H-7' ed H-7), 7.72- 7.76 (3H, m, H-2', H-2 ed H-4'), 7.97 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4), 11.79 (1H, s, NH'), 11.94 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- *d*₆) δ: 99.5 (s), 99.8 (s), 112.3 (d), 113.2 (s), 114.4 (d), 120.0 (d), 120.6 (d), 122.3 (d), 122.5 (d), 125.2 (d), 125.4 (s), 127.2 (s), 127.3 (d), 128.8 (d), 134.9 (s), 136.2 (s), 148.6 (s), 148.9 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₁BrN₄O (PM: 379.21): C, 57.01; H, 2.92; N, 14.77%; Trovata: C, 57.11; H, 2.79; N, 14.99%.

5-fluoro-3-[4-(5-metossi-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1*H*-indolo (32h)

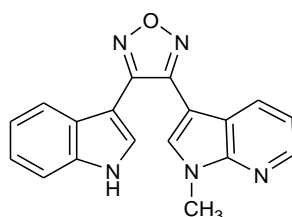


Resa: 86%; solido bianco; p.f.: 212.8-213.8 °C; IR (cm⁻¹): 3410 (NH x 2 b.s.); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.69 (3H, s, OCH₃), 6.86-7.20 (3H, m, H-6', H-4' ed H-6), 7.40-7.76 (5H, m, H-4, H-7', H-7, H-2', H-2); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO- *d*₆) δ: 55.2 (q), 99.7 (s), 100.3 (s, *J*_{C7a-F} = 4.4 Hz), 101.5 (d), 104.8 (d, *J*_{C4-F} = 23.6 Hz), 110.8 (d, *J*_{C6-F} = 26.0 Hz), 112.8 (d), 113.0 (d), 113.4 (s), 113.5 (d, *J*_{C7-F} = 9.7 Hz), 125.8 (s, *J*_{C4a-F} = 9.1 Hz), 127.6 (d), 129.2 (d), 131.1 (s), 132.8 (s), 148.7 (s), 149.0 (s), 154.4 (s), 157.7 (s, *J*_{C5-F} = 233.7 Hz); Composizione elementare calcolata per C₁₉H₁₃FN₄O₂ (PM: 348.33): C, 65.51; H, 3.76; N, 16.08%; Trovata: C, 65.64; H, 3.51; N, 16.18%.

Procedura generale per la preparazione delle 3-[4-(1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridine 39a-c

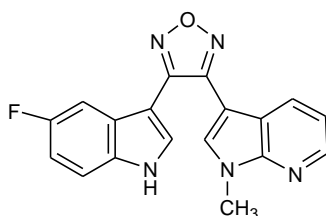
Ad una sospensione dell'opportuno 1,2,5-ossadiazolo **38a-c** (2 mmol) in una miscela etanolo/acqua 4:1 (40 ml) posta ad agitare, viene aggiunto idrossido di sodio (2,4 mmol). La miscela di reazione viene portata a riflusso e lasciata agitare per 15 minuti. Si lascia raffreddare a temperatura ambiente e si aggiunge acqua, il precipitato viene recuperato attraverso filtrazione sottovuoto e lavato con 4 ml d'acqua.

3-[4-(1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridina (**39a**)



Resa: 74%; solido bianco; p.f.: 209.5-210.5 °C; IR (cm⁻¹): 3210 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.88 (3H, s, CH₃), 7.15-7.30 (3H, m, H-5', H-6' ed H-5), 7.54 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-7'), 7.74 (1H, s, H-2'), 7.87 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-4'), 8.05 (1H, s, H-2), 8.10 (1H, dd, *J* = 7.9, 1.3 Hz, H-4), 8.43 (1H, dd, *J* = 4.6, 1.3 Hz, H-6), 11.76 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 31.3 (q), 97.8 (s), 99.7 (s), 112.2 (d), 117.0 (d), 118.2 (s), 120.2 (d), 120.6 (d), 122.6 (d), 125.4 (s), 127.5 (d), 128.8 (d), 131.4 (d), 136.2 (s), 143.9 (d), 147.5 (s), 148.2 (s), 148.9 (s); Composizione elementare calcolata per C₁₈H₁₃N₅O (PM: 315.33): C, 68.56; H, 4.16; N, 22.21%; Trovata: C, 68.68; H, 4.01; N, 22.34%.

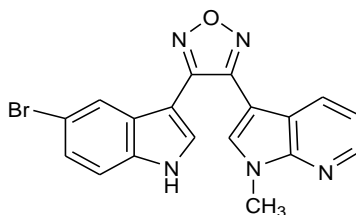
3-[4-(5-fluoro-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridina (**39b**)



Resa: 98%; solido bianco; p.f.: 255.4-256.4 °C; IR (cm⁻¹): 3290 (NH); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.89 (3H, s, CH₃), 7.12 (1H, td, *J* = 9.2, 9.2, 2.6 Hz, H-6'), 7.24 (1H, dd, *J* = 7.9, 4.7 Hz, H-4), 7.52-7.61 (2H, m, H-4' ed H-7'), 7.82 (1H, s, H-2'), 8.06-8.11 (2H, m, H-2 ed H-5), 8.42 (1H, dd, *J* = 4.7, 1.5 Hz, H-6), 11.85 (1H, s, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 31.27 (q), 97.64 (s), 100.03 (s, *J*_{C7a-F} = 4.6 Hz), 104.92 (d, *J*_{C4-F} = 24.4 Hz), 110.95 (d, *J*_{C6-F} = 26.1 Hz), 113.53 (d, *J*_{C7-F} = 9.8 Hz),

116.99 (d), 118.09 (s), 125.82 (s, $J_{C4a-F} = 10.7$ Hz), 128.71 (d), 129.33 (d), 131.34 (d), 132.90 (s), 143.92 (d), 147.50 (s), 148.08 (s), 148.72 (s), 157.81 (s, $J_{C5-F} = 233.8$ Hz); Composizione elementare calcolata per $C_{18}H_{12}FN_5O$ (PM: 333.32): C, 64.86; H, 3.63; N, 21.01%; Trovata: C, 64.64; H, 6.54; N, 21.23%.

3-[4-(5-bromo-1*H*-indol-3-il)-1,2,5-ossadiazol-3-il]-1-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridina (39c)



Resa: 100%; solido marrone chiaro; p.f.: 228.8-229.8 °C; IR (cm^{-1}): 3393 (NH); 1H NMR (200 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 3.90 (3H, s, CH_3), 7.29 (1H, dd, $J = 7.9, 4.7$ Hz, H-5), 7.38 (1H, dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-7'), 7.80 (1H, s, H-2'), 8.03-8.09 (3H, m, H-4', H-4, H-2), 8.41- 8.43 (1H, m, H-6), 11.93 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 31.3 (q), 97.6 (s), 99.5 (s), 113.2 (s), 114.4 (d), 117.0 (d), 118.1 (s), 122.3 (d), 125.2 (d), 127.2 (s), 128.7 (d), 129.1 (d), 131.4 (d), 135.0 (s), 143.9 (d), 147.5 (s), 148.1 (s), 148.6 (s); Composizione elementare calcolata per $C_{18}H_{12}BrN_5O$ (PM: 394.22): C, 54.84; H, 3.07; N, 17.76%; Trovata: C, 54.66; H, 3.12; N, 17.69%.

V. BIBLIOGRAFIA

- [87JCSPT781] A. R. Katritzky, S. Rachwal, K. C. Caster, F. Mahni, K. W. Law e O. Rubio, *The chemistry of N-substituted benzotriazoles. Part 1.1-(Chloromethyl)benzotriazole*, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, **1987**, 781-789.
- [89TL3303] A. R. Katritzky, J. Jiang e L. Urogdi, *N-Triphenylphosphorylidene-1-(benzotriazol-1-yl)methylamine, a Novel Synthone Equivalent to +CH₂NH₂: The preparation of Primary Amines*, Tetrahedron Lett., **1989**, 3303-3306.
- [90S565] A. R. Katritzky, J. Jiang e L. Urogdi, *(1-(Triphenylphosphorylideneaminomethyl) benzotriazole) (BETMIP) a Novel +CH₂N= Synthetic Equivalent: Its Application to the Synthesis of Carbodiimides, Imines, Isothiocyanates, Aziridines, and Secondary Amines*, Synthesis, **1990**, 7, 565-567.
- [93JOC1987] A. R. Katritzky, J. Jiang e J. V. Greenhill, *1,2- and 1,3-Monoazabisylides as Novel Synthons*, J. Org. Chem., **1993**, 58, 1987-1988.
- [94DSF102] R. R. Sinden, *DNA Structure and Function*, Academic Press, **1994**, 102.
- [94DSF103] R. R. Sinden, *DNA Structure and Function*, Academic Press **1994**, 103.
- [94DSF104] R. R. Sinden, *DNA Structure and Function*, Academic Press **1994**, 104.
- [94BJ681] P. M. Watt, I. D. Hickson, *Structure and function of type II DNA topoisomerases*, Biochem. J., **1994**, 303(3), 681-695.
- [94JMC40] T. G. Burke e Z. Mi, *The Structural Basis of Camptothecin Interactions with Human Serum Albumin: Impact on Drug Stability*, J. Med. Chem., **1994**, 37, 40-46.
- [94JOC4551] A. R. Katritzky e J. Jiang, *1-Aza-1,3-bis(triphenylphosphoranylidene) propane: A Novel =CHCH₂N= Synthone*, J. Org. Chem., **1994**, 59, 4551-4555.
- [96ARB635] J. C. Wang, *DNA Topoisomerases*, Annu. Rev. Biochem., **1996**, 65, 635-692.
- [96JBC7602] L. Stewart, G. C. Ireton, e J. J. Champoux, *The Domain Organization of Human Topoisomerase I*, J. Biol. Chem., **1996**, 271(13), 7602-7608.

- [96JFPK684] A. R. Katritzky, *Betmip* (1-(Triphenylphosphorylideneaminomethyl) benzotriazole), *A unique CH₂=NPh₃+X- Equivalent for Organic Synthesis*, J. Prakt. Chem., **1996**, 338(1), 684-686.
- [96JMC4471] E. Rodrigues Pereira, L. Belin, M. Sancelme, M. Prudhomme, M. Ollier, M. Rapp, D. Sevère, J. F. Riou, D. Fabbro e T. Meyer, *Structure-Activity Relationships in a Series of Substituted Indolocarbazoles: Topoisomerase I and Protein Kinase C Inhibition and Antitumoral and Antimicrobial Properties*, J. Med. Chem., **1996**, 39, 4471-4477.
- [97B3917] C. Bailly, J. F. Riou, P. Colson, C. Houssier, E. Rodrigues-Pereira e M. Prudhomme, *DNA Cleavage by Topoisomerase I in the Presence of Indolocarbazole Derivatives of Rebeccamycin*, Biochemistry, **1997**, 36, 3917-3929.
- [97JMB355] L. Stewart, G. C. Ireton e J. J. Champoux, *Reconstitution of Human Topoisomerase I by Fragment Complementation*, J. Mol. Biol., **1997**, 269, 355-372.
- [97JMC3456] F. Anizon, L. Belin, P. Moreau, M. Sancelme, A. Voldoire, M. Prudhomme, M. Ollier, D. Sevère, J.F. Riou, C. Bailly, D. Fabbro, e T. Meyer, *Syntheses and Biological Activities (Topoisomerase Inhibition and Antitumor and Antimicrobial Properties) of Rebeccamycin Analogues Bearing Modified Sugar Moieties and Substituted on the Imide Nitrogen with a Methyl Group*, J. Med. Chem., **1997**, 40, 3456-3465.
- [98B255] Y. Pommier, *Diversity of DNA topoisomerases I and inhibitors*, Biochimie, **1998**, 80, 255-270.
- [98BMC1597] F. Anizon, P. Moreau, M. Sancelme, A. Voldoire, M. Prudhomme, M. Ollier, D. Sevère, J.F. Riou, C. Bailly, D. Fabbro, T. Meyer e A. M. Aubertin, *Syntheses, Biochemical and Biological Evaluation of Staurosporine Analogues from the Microbial Metabolite Rebeccamycin*, Bioorganic Med. Chem., **1998**, 6, 1597-1604.
- [98JCB975] G. Li, G. Sudlow e A. S. Belmont, *Interphase Cell Cycle Dynamics of a Late-Replicating, Heterochromatic Homogeneously Staining Region: Precise Choreography of Condensation/Decondensation and Nuclear Positioning*, J. Cell. Biol., **1998**, 140(5), 975-989.

- [98S1504] M. R. Redinbo, L. Stewart, P. Kuhn, J. J. Champoux, W. G. J. Hol, *Crystal Structures of Human Topoisomerase I in Covalent and Noncovalent Complexes with DNA*, *Science*, **1998**, 279, 1504-1513.
- [98S1534] L. Stewart, M. R. Redinbo, X. Qiu, W. G. J. Hol, J. J. Champoux, *A Model for the Mechanism of Human Topoisomerase I*, *Science*, **1998**, 279, 1534-1541.
- [99B8605] C. Bailly, C. Carrasco, F. Hamy, H. Vezin, M. Prudhomme, A. Saleem ed E. Rubinr, *The Camptothecin-Resistant Topoisomerase I Mutant F361S Is Cross-Resistant to Antitumor Rebeccamycin Derivatives. A Model for Topoisomerase I Inhibition by Indolocarbazoles*, *Biochemistry*, **1999**, 38, 8605-8611.
- [99BMCL145] D. E. Zembower, H. Zhang, J. P. Lineswala, M. J. Kuffel, S. A. Aytes e M. M. Ames, *Indolocarbazole Poisons of Human Topoisomerase I: Regioisomeric Analogues of ED-110*, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9 145-150.
- [99COSB29] M. R. Redinbo, J. J. Champoux e W. G. J. Hol, *Structural insights into the function of type IB topoisomerases*, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1999**, 9, 29-36.
- [99JMC584] P. Moreau, F. Anizon, M. Sancelme, M. Prudhomme, C. Bailly, D. Sevère, J. F. Riou, D. Fabbro, T. Meyer, e A. M. Aubertin, *Syntheses and Biological Activities of Rebeccamycin Analogues. Introduction of a Halogenoacetyl Substituent*, *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 584-592.
- [99MP377] C. Bailly, X. Qu, F. Anizon, M. Prudhomme, J. F. Riou, e J. B. Chaires, *Enhanced Binding to DNA and Topoisomerase I Inhibition by an Analog of the Antitumor Antibiotic Rebeccamycin Containing an Amino Sugar Residue*, *Mol. Pharmacol.*, **1999**, 55, 377-385.
- [00B6832] M. R. Redinbo, J. J. Champoux, e W. G. J. Hol, *Novel Insights into Catalytic Mechanism from a Crystal Structure of Human Topoisomerase I in Complex with DNA*, *Biochemistry*, **2000**, 39, 6832-6840.
- [00BMCL419] M. Ohkubo, T. Nishimura, H. Kawamoto, M. Nakano, T. Honma, T. Yoshinari, H. Arakawa, H. Suda, H. Morishima e S. Nishimura, *Synthesis and Biological Activities of NB-506 Analogues Modified at the Glucose Group*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10, 419-422.

- [00CMC39] C. Bailly, *Topoisomerase I Poisons and Suppressors as Anticancer Drugs*, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, 7, 39-58.
- [00CMC1189] M. Prudhomme, *Recent Developments of Rebeccamycin Analogues as Topoisomerase I Inhibitors and Antitumor Agents*, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, 7, 1189-1212.
- [00JBC41107] Y.Y. Mo, C. Wang e W. T. Beck, *A Novel Nuclear Localization Signal in Human DNA Topoisomerase I*, *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275(52), 41107–41113.
- [01ARB369] J. J. Champoux, *DNA TOPOISOMERASE: Structure, Function, and Mechanism*, *Annu. Rev. Biochem.*, **2001**, 70, 369-413.
- [01BJ490] G. Chillemi, T. Castrignano` e A. Desideri, *Structure and Hydration of the DNA-Human Topoisomerase I Covalent Complex*, *Biophys. J.*, **2001**, 490-500.
- [01BMC357] A. Voldoire, M. Sancelme, M. Prudhomme, P. Colson, C. Houssier, C. Bailly, S. Lèonce e S. Lambel, *Rebeccamycin Analogues from Indolo[2,3-c]carbazole*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9, 357-365.
- [01ELS1] S. M. Mirkin, *DNA Topology: Fundamentals*, *Encyclopedia of Life Sciences*, **2001**, 1-11.
- [01EJMC887] P. Moreau, M. Sancelme, C. Bailly, S. Lèonce, A. Pierre´, J. Hickman, B. Pfeiffer, M. Prudhommea, *Synthesis and biological activities of indolocarbazoles bearing amino acid residues*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2001**, 36, 887–897.
- [01JBC677] Z. Yang e J. J. Champoux, *The Role of Histidine 632 in Catalysis by Human Topoisomerase I*, *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276(1), 677–685.
- [02B27] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Double-Stranded DNA Can Wrap Around Itself to Form Supercoiled Structures*, *Biochemistry*. 5^a ed., New York: W. H. Freeman, **2002**. capitolo 27.3.
- [02B1428] G. S. Laco, J. R. Collins, B. T. Luke, H. Kroth, J. M. Sayer, D. M. Jerina, e Y. Pommier, *Human Topoisomerase I Inhibition: Docking Camptothecin and Derivatives into a Structure-Based Active Site Model*, *Biochemistry*, **2002**, 41, 1428-1435.

- [02BMC4] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, et al. *Chromosomal DNA and Its Packaging in the Chromatin Fiber*, Molecular Biology of the Cell., 4^a ed., New York: Garland Science; **2002**, capitolo 4.
- [02D2039] H. Ulukan, P. W. Swaan, *Camptothecins A Review of Their Chemotherapeutic Potential*, Drugs, **2002**, 62(14), 2039-2057.
- [02JBC35932] M. O. Christensen, H. U. Barthelmes, F. Boege, e C. Mielke, *The N-terminal Domain Anchors Human Topoisomerase I at Fibrillar Centers of Nucleoli and Nucleolar Organizer Regions of Mitotic Chromosomes*, J. Biol. Chem., **2002**, 277(39), 35932–35938.
- [02JMC1330] C. Marminon, F. Anizon, P. Moreau, S. Léonce, A. Pierré, B. Pfeiffer, P. Renard, e M. Prudhomme, *Syntheses and Antiproliferative Activities of New Rebeccamycin Derivatives with the Sugar Unit Linked to Both Indole Nitrogens*, J. Med. Chem., **2002**, 45 (6), 1330–1339.
- [02PNAS15387] B. L. Staker, K. Hjerrild, M. D. Feese, C. A. Behnke, A. B. Burgin, Jr e L. Stewart, *The mechanism of topoisomerase I poisoning by a camptothecin analog*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **2002**, 99(24), 15387–15392.
- [02PNASU15855] A. S. Belmont, *Mitotic chromosome scaffold structure: New approaches to an old controversy*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **2002**, 99(25), 15855–15857.
- [03BMC679] C. Marminon, A. Pierre', B. Pfeiffer, V. Pérez, S. Léonce, P. Renard e M. Prudhomme, *Syntheses and Antiproliferative Activities of Rebeccamycin Analogues Bearing Two 7-Azaindole Moieties*, Bioorg. Med. Chem., **2003**, 11, 679–687.
- [03BMC4871] P. Moreau, N. Gaillard, C. Marminon, F. Anizon, N. Dias, B. Baldeyrou, C. Bailly, A. Pierre', J. Hickman, B. Pfeiffer, P. Renard e M. Prudhomme, *Semi-Synthesis, Topoisomerase I and Kinases Inhibitory Properties, and Antiproliferative Activities of New Rebeccamycin Derivatives*, Bioorg. Med. Chem., **2003**, 11, 4871–4879.
- [03CTMC305] L. H. Meng, Z. Y. Liao e Y. Pommier, *Non-Camptothecin DNA Topoisomerase I Inhibitors in Cancer Therapy*, Curr. Top. Med. Chem., **2003**, 3, 305-320.
- [03EJMC123] M. Prudhomme, *Rebeccamycin analogues as anti-cancer agents*, Eur. J. Med. Chem., **2003**, 38, 123-140.

- [03JMC609] C. Marminon, A. Pierre', B. Pfeiffer, V. Pérez, S. Léonce, A. Joubert,| C. Bailly, P. Renard, J. Hickman e M. Prudhomme, *Syntheses and Antiproliferative Activities of 7-Azarebeccamycin Analogues Bearing One 7-Azaindole Moiety*, J. Med. Chem., **2003**, 46, 609-622.
- [03JMC3275] B. M. Fox, X. Xiao, S. Antony, G. Kohlhagen, Y. Pommier, B.L. Staker, L. Stewart e M. Cushman, *Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Cytotoxic 11-Alkenylindenoisoquinoline Topoisomerase I Inhibitors and Indenoisoquinoline-Camptothecin Hybrids*, J. Med. Chem., **2003**, 46, 3275-3282.
- [04ARBBS95] K. D. Corbett e J. M. Berger, *Structure, molecular mechanisms, and evolutionary relationships in dna topoisomerases*, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., **2004**, 33, 95–118.
- [04CSDSA20] J. Zlatanova, S. H. Leuba, *Chromatin Structure and Dynamics: State-of-the-art*, Elsevier, **2004**, 20-30.
- [04JBC5118] S. Almagro, D. Riveline, T. Hirano, B. Houchmandzadeh, S. Dimitrov, *The Mitotic Chromosome Is an Assembly of Rigid Elastic Axes Organized by Structural Maintenance of Chromosomes (SMC) Proteins and Surrounded by a Soft Chromatin Envelope*, J. Biol. Chem., **2004**, 279(7), 5118 –5126.
- [05DT31] A. D. Bates, A. Maxwell, *DNA Topology*, Oxford University Press, **2005**, 31-41.
- [05JMC2336] B. L. Staker, M. D. Feese, M. Cushman, Y. Pommier, D. Zembower, L. Stewart e A. B. Burgin, *Structures of Three Classes of Anticancer Agents Bound to the Human Topoisomerase I-DNA Covalent Complex*, J. Med. Chem., **2005**, 48, 2336-2345.
- [05JMC3260] G. C. Tron, F. Pagliai, E. Del Grosso, A. A. Genazzani, G. Sorba, *Synthesis and cytotoxic evaluation of combretafurazans*, J. Med. Chem., **2005**, 48, 3260.
- [05N671] D.A. Koster, V.Croquette, C. Dekker, S. Shuman e N. H. Dekker, *Friction and torque govern the relaxation of DNA supercoils by eukaryotic topoisomerase IB*, Nature, **2005**, 434, 671-674.

- [05NAR6621] L. Sari, I. Andricioaei, *Rotation of DNA around intact strand in human topoisomerase I implies distinct mechanisms for positive and negative supercoil relaxation*, *Nucleic Acids Res.*, **2005**, 33(20), 6621-34.
- [06CBT1600] H. Chhatriwala, N. Jafri, R. Salgia, *A review of topoisomerase inhibition in lung cancer*, *Cancer. Biol. Ther.*, **2006**, 5(12), 1600-1607.
- [06MCT287] C. Marchand, S. Antony, K. W. Kohn, M. Cushman, A. Ioanoviciu, B. L. Staker, A. B. Burgin, L. Stewart e Y. Pommier, *A novel norindenisoquinoline structure reveals a common interfacial inhibitor paradigm for ternary trapping of the topoisomerase I-DNA covalent complex*, *Mol. Cancer Ther.*, **2006**, 5(2), 287-295.
- [06NRC789] Y. Pommier, *Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond*, *Nat. Rev. Cancer*, **2006**, 6, 789-802.
- [06PBL959] D. L. Nelson, M. M. Cox, *I principi di biochimica di Lehninger*, Zanichelli, **2006**, 959.
- [06PBL961] D. L. Nelson, M. M. Cox, *I principi di biochimica di Lehninger*, Zanichelli, **2006**, 961.
- [06PBL966] D. L. Nelson, M. M. Cox, *I principi di biochimica di Lehninger*, Zanichelli, **2006**, 966.
- [06SDBA46] M. J. Waring, *Sequence-specific DNA Binding Agents*, Royal Society Chemistry, **2006**, capitolo 2, 46.
- [07AP13] M. R. Yadav, S. T. Shirude, D. S. Puntambekar, P. J. Patel, H. B. Prajapati, A. Parmar, R. Balaraman, R. Giridhar, *Studies in 3,4-diaryl-1,2,5-oxadiazoles and their N-oxides: search for better COX-2 inhibitors*, *Acta Pharm.*, **2007**, 57(1), 13-30.
- [07BMCL5673] H. T. Van, Q. M. Le, K. Y. Lee, E. S. Lee, Y. Kwon, T. S. Kim, T. N. Le, S. H. Lee, W. J. Cho, *Convenient synthesis of indeno[1,2-c]isoquinolines as constrained forms of 3-arylisoquinolines and docking study of a topoisomerase I inhibitor into DNA-topoisomerase I complex*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17, 5763-5767.

- [07CG315] W. S. Klug, C. A. Spencer, M. R. Kummings, *Concetti di Genetica*, Pearson Italia, **2007**, 315-317
- [07IJB91] E. Cretaio, L. Pattarello, Y. Fontebasso, P. Benedetti e C. Losasso, *Human DNA Topoisomerase IB: Structure and Functions*, Ital. J. Biochem., **2007**, 56(2), 91-102.
- [07T523] F. Palacios, C. Alonso, D. Aparicio, G. Rubiales e J. M. de los Santos, *The aza-Wittig reaction: an efficient tool for the construction of carbon–nitrogen double bonds*, Tetrahedron, **2007**, 63, 523–575.
- [08BMC1493] Z. Miao, C. Sheng, W. Zhang, H. Ji, J. Zhang, L. Shao, L. You, M. Zhang, J. Yaoa e X. Chea, *New homocamptothecins: Synthesis, antitumor activity, and molecular modeling*, Bioorg. Med. Chem., **2008**, 16, 1493–1510.
- [08CRBMB393] M. S. Luijsterburg, M. F. White, R. Van Driel, R. T. Dame, *The Major Architects of Chromatin: Architectural Proteins in Bacteria, Archea and Eukaryotes*, Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., **2008**, 43, 393-418.
- [08JB145] K. Maeshima, M. Eltsov, *Packaging the Genome: the Structure of Mitotic Chromosomes*, J. Biochem., **2008**, 143,145–153.
- [08ML1620] C. Marminon, F. Anizon, P. Moreau, B. Pfeiffer, A. Pierre', R. M. Golsteyn, P. Peixoto, M. P. Hildebrand, M. H. David-Cordonnier, O. Lozach, L. Meijer e M. Prudhomme, *Rebeccamycin Derivatives as Dual DNA-Damaging Agents and Potent Checkpoint Kinase 1 Inhibitors*, Mol. Pharmacol., **2008**, 74, 1620–1629.
- [08QRB41] A. J. Schoeffler, J. M. Berge, *DNA topoisomerases: harnessing and constraining energy to govern chromosome topology*, Q. Rev. Biophys., **2008**, 41(1), 41-10.
- [09BM1467] D. V. BugreevG. A. Nevinsky, *Structure and mechanism of action of type IA DNA topoisomerases*, Biochem. (Mosc.), **2009**, 74(13), 1467-1481.
- [09BMBE2] J.E. Deweese, M. A. Osheroff, N. Osheroff, *DNA Topology and Topoisomerases*, Biochem. Mol. Biol. Educ., **2009**, 2-10
- [09BMC6073] C. Aubry, A. J. Wilson, D. Emmerson, E. Murphy, Y. Y. Chan, M. P. Dickens, M. D. García, P. R. Jenkins, S. Mahale, B. Chaudhuri, *Fascaplysin-inspired*

diindolyls as selective inhibitors of CDK4/cyclin D1, *Bioorg Med Chem.*, **2009**, 17(16), 6073-6084.

- [09BMDC224] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Biologia molecolare della cellula*, Zanichelli, **2009**, 224.
- [09CR2894] Y. Pommier, *DNA Topoisomerase I Inhibitors: Chemistry, Biology and Interfacial Inhibition*, *Chem. Rev.*, **2009**, 109(7), 2894-2902.
- [09EOTP555] S. Basili, S. Moro, *Novel camptothecin derivatives as topoisomerase I inhibitors*, *Expert Opin. Ther. Pat.*, **2009**, 19(5), 555-574.
- [09JMC3225] S. Sunami, T. Nishimura, I. Nishimura, S. Ito, H. Arakawa e M. Ohkubo, *Synthesis and Biological Activities of Topoisomerase I Inhibitors, 6-Arylmethylamino Analogues of Edotecarin*, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 3225-3237.
- [09NAR693] N. M. Baker, R. Rajan, A. Mondragón, *Structural studies of type I topoisomerases*, *Nucleic Acids Res.*, **2009**, 37(3), 693-701.
- [10BJ869] J. Wereszczynski, I. Andricioaei, *Free energy calculations reveal rotating-ratchet mechanism for DNA supercoil relaxation by topoisomerase IB and its inhibition*, *Biophys J.*, **2010**, 99(3), 869-78.
- [10C519] D. A. Koster, A. Crut, S. Shuman, M. A. Bjornsti, N. H. Dekker, *Cellular strategies for regulating DNA supercoiling: A single-molecule perspective*. *Cell.*, **2010**, 142(4), 519-530.
- [10CR1564] A. R. Katrizky e S. Rachwal, *Synthesis of Heterocycles Mediated by Benzotriazole. I. Monocyclic Systems*, *Chem. Rev.*, **2010**, 110(3), 1564-1610.
- [10JMC1979] Y. Song, Z. Shao, T. S. Dexheimer, E. S. Scher, Y. Pommier e M. Cushman, *Structure-Based Design, Synthesis and Biological Studies of New Anticancer Norindenoisoquinoline Topoisomerase I Inhibitors*, *J. Med. Chem.*, **2010**, 53 (5), 1979–1989.
- [10NAR2119] G. Witz, A. Stasiak, *DNA supercoiling and its role in DNA decatenation and unknotting*, *Nucleic Acids Res.*, **2010**, 38(7), 2119-2133.
- [10NRM185] S. C. Dillon, C. J. Dorman, *Bacterial nucleoid-associated proteins, nucleoid structure and gene expression*, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2010**, 8, 185-195.

- [10RJBC269] D. V. Bugreevg, G. A. Nevinsky, *The structure and mechanism of the action of type-IB DNA topoisomerases*, Russ. J. Bioorg. Chem., **2010**, 36(3), 269-286.
- [10PO10934] G. Mancini, I. D'Annessa, A. Coletta, N. Sanna, G. Chillemi, A. Desideri, *Structural and Dynamical Effects Induced by the Anticancer Drug Topotecan on the Human Topoisomerase I – DNA Complex*, Plos one, **2010**, 5(6), e10934.
- [11A94] S. Kamila, H. Ankati, E. R. Biehl, *Facile synthesis of biologically important indole based quinoxalines*, Arkivoc, **2011**, 9, 94-104.
- [11BST58] A. Valenti, G. Perugino, M. Rossi, M. Ciaramella, *Positive supercoiling in thermophiles and mesophiles: of the good and evil.*, Biochem. Soc. Trans., **2011**, 39(1), 58-63.
- [11CMC4389] C. Sheng, Z. Miao e W. Zhang, *New Strategies in the Discovery of Novel Non-Camptothecin Topoisomerase I Inhibitors*, Curr. Med. Chem., **2011**, 18, 4389-4409.
- [11DTC58] Y. Pommier, *DNA Topoisomerases and Cancer*, Humana Press, **2011**, capitol 2, 58.
- [11JMC4937] K. E. Peterson, M. A. Cinelli, A. E. Morrell, A. Mehta, T. S. Dexheimer, K. Agama, S. Antony, Y. Pommier e M. Cushman, *Alcohol-, Diol-, and Carbohydrate-Substituted Indenoisoquinolines as Topoisomerase I Inhibitors: Investigating the Relationships Involving Stereochemistry, Hydrogen Bonding, and Biological Activity*, J. Med. Chem., **2011**, 54, 4937–4953.
- [11PO24314] G. S. Laco, *Evaluation of Two Models for Human Topoisomerase I Interaction with dsDNA and Camptothecin Derivatives*, Plos one, **2011**, 6(8), e24314.
- [11S1445] W. Wang, G.W. Li, C. Chen, X.S. Xie , X. Zhuang, *Chromosome organization by a nucleoid-associated protein in live bacteria*, Science, **2011**, 333(6048), 1445-1449.
- [12BIOP134] B. Ivanova, M. Spitteller, *Structure and Properties of Camptothecin Derivatives, Their Protonated Forms, and Model Interaction with the Topoisomerase I–DNA Complex*, Biopolymers, **2012**, 97(2), 134-144.
- [12BMCL5013] F. Animati, M. Berettoni, M. Bigioni, M. Binaschi, A. Cipollone, C. Irrissuto, F. Nardelli, L. Olivieri, *Synthesis and biological evaluation of rebeccamycin*

analogues modified at the imide moiety, Bioorg. Med. Chem. Lett., **2012**, 22, 5013–5017.

- [12CMC1238] G. L. Beretta, V. Zuco, P. Perego e N. Zaffaroni, *Targeting DNA Topoisomerase I with Non-Camptothecin Poisons*, Curr. Med. Chem., **2012**, 19, 1238-1257.
- [12MC115] A. Aguilera, T. García-Muse, *R Loops: From Transcription Byproducts to Threats to Genome Stability*, Mol. Cell., **2012**, 46(2), 115-124.
- [12PO51354] G. Mancini, I. D'Annessa, A. Coletta, G. Chillemi, Y. Pommier, M. Cushman, A. Desideri, *Binding of an Indenoisoquinoline to the Topoisomerase- DNA Complex Induces Reduction of Linker Mobility and Strengthening of Protein-DNA Interaction*, Plos one, **2012**, 7(12), e51354.
- [13CPB631] K. Shou, J. Li, Y. Jin, e Y. Lv, *Design, Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Studies of Quinolone Derivatives as Potential Antitumor Topoisomerase I Inhibitors*, Chem. Pharm. Bull., **2013**, 61(6), 631–636.
- [13JMC7458] S. Taliani, I. Pugliesi, E. Barresi, S. Salerno, C. Marchand, K. Agama, F. Simorini, C. La Motta, A. M. Marini, F. S. Di Leva, L. Marinelli, S. Cosconati, E. Novellino, Y. Pommier, R. Di Santo e Federico Da Settimo, *Phenylpyrazolo[1,5-a]quinazolin-5(4H)-one: A Suitable Scaffold for the Development of Noncamptothecin Topoisomerase I (Top1) Inhibitors*, J. Med. Chem., **2013**, 56, 7458–7462.
- [13JMC7060] A. Carbone, M. Pennati, B. Parrino, Alessia Lopergolo, P. Barraja, A. Montalbano, V. Spanò, S. Sbarra, V. Doldi, M. De Cesare, G. Cirrincione P. Diana e N. Zaffaroni, *Novel 1H-Pyrrolo[2,3-b]pyridine Derivative Nortopsentin Analogues: Synthesis and Antitumor Activity in Peritoneal Mesothelioma Experimental Models*, J. Med. Chem., **2013**, 56(17), 7060-7072.
- [13JMGM286] N. Ucuncuoglu, I. Andricioaei, L. Sari, *Insights from simulations into the mechanism of human topoisomerase I: Explanation for a seeming controversy in experiments*, J. Mol. Graph. Model., **2013**, 44, 286-293.
- [13NRG191] X. Wang, P. Llopis, R. D. Z. Montero, *Organization and segregation of bacterial chromosomes*, Nat. Rev. Genet., **2013**, 14, 191-203.

- [13TCA1379] N. N. Wei, A. Hamza, C. Hao, Z. Xiu, C. G. Zhan, *Microscopic modes and free energies for topoisomerase I-DNA covalent complex binding with non-camptothecin inhibitors by molecular docking and dynamics simulations*, *Theor. Chem. Acc.*, **2013**, 132, 1379-z
- [14COGD15] N. Gilbert, J. Allan, *Supercoiling in DNA and chromatin*, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **2014**, 25(100), 15-21.
- [15B1652] X. Yang, H. Chengtao, *Inhibition of Topoisomerase (DNA) I (TOP1): DNA Damage Repair and Anticancer Therapy*, *Biomolecules*, **2015**, 5(3), 1652-1670.
- [15CR2255] R. K McGinty, S. Tan, *Nucleosome Structure and Function*, *Chem. Rev.*, **2015**, 115(6), 2255-2273
- [15EP1] N. G. Bush, K. Evans-Roberts, e A. Maxwell, *DNA Topoisomerases*, *EcoSal Plus.*, **2015**, 6(2), 1-34.
- [15FL2914] A. R. Cutter, J. J. Hayes, *A brief review of nucleosome structure*, *FEBS Lett.*, **2015**, 589, 2914- 2922.
- [15MBSDGP182] J. Zlatanova, K. E. Van Holde, *Molecular Biology: Structure and Dynamics of Genomes and Proteomes*, Garland Science, **2015**, 182.
- [15TCB514] J. Sollier, K. A. Cimprich, *Breaking bad: R-loops and genome integrity*, *Trends Cell. Biol.*, **2015**, 25(9), 514-22.
- [16NRMCB703] Y. Pommier, Y. Sun, S. N. Huang, J. L. Nitiss, *Roles of eukaryotic topoisomerases in transcription, replication and genomic stability*, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **2016**, 17(11), 703-721.
- [17CCP1] S.M. Cuya, M.A. Bjornsti, R. C.A.M. Van Waardenburg, *DNA topoisomerase-targeting chemotherapeutics: what's new?*, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2017**, 80, 1-14.