



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI

SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE E TECNOLOGIE CHIMICHE
INDIRIZZO SCIENZE CHIMICHE

SINTESI E SVILUPPO DI COMPLESSI DI ORO CON
POTENZIALI APPLICAZIONI IN CAMPO
FARMACOLOGICO E NELLA CATALISI.

Tesi di Dottorato di
Dr.ssa Laura Maiore

Tutor
Prof.ssa Maria Agostina Cinellu

Direttore
Prof. Giuseppe Baldovino Suffritti

XXIII° ciclo (2007-2010)

*Meglio essere ottimisti ed avere torto
piuttosto che pessimisti ed avere ragione.*

Albert Einstein

Ringraziamenti.

Ce l'abbiamo fatta!! Dopo tanto scrivere quasi mi mancano le parole. In questa pagina ci sarà scritta la parola grazie più di quanto compaia la parola "oro" in tutta questa tesi!!

La prima persona che vorrei ringraziare è certamente la Prof.ssa Tina Cinellu, non solo per tutto quello che continua ad insegnarmi, per l'opportunità che mi ha dato di portare avanti questo lavoro e per la sua perenne disponibilità e pazienza: non ci sono parole per descrivere quanto sia bello poter lavorare in un ambiente così sereno e stimolante come quello che ho conosciuto in questi ultimi anni!

Un ringraziamento a tutto il gruppo di ricerca, in particolare al Prof. Giovanni Minghetti, al Prof. Sergio Stoccoro ed al Dr. Antonio Zucca per tutta la loro disponibilità, i consigli, l'aiuto ed i caffè mattutini che fanno iniziare sempre bene la giornata! Grazie a tutti coloro con cui ho condiviso questi ultimi anni qui al secondo piano: Fabio, Giuseppe, Ricciolo, Frency, Fabrizio, Luca e tutti coloro che sono stati qua anche solo di passaggio.

Grazie alla Dr.ssa Maria Serratrice (in arte *Marihaus*, ma è solo uno dei suoi tanti nomi) per il suo prezioso contributo nella sintesi di una parte dei complessi studiati. Ma soprattutto per le risate in laboratorio e le sue favolose coreografie di *lab dance* insieme al Dr. Ciulu (si, proprio tu, ora lo sapranno tutti!!! Eheheh). Grazie anche a te Ciuly, soprattutto in questi giorni sei stato l'informatore perfetto!!!

Grazie a tutto gruppo di ricerca del Prof. Luigi Messori dell'Università di Firenze, per avermi accolto tra loro per ben due volte ed avermi insegnato tanto nel settore dei metalli in medicina, regalandomi una bellissima esperienza di studio, grazie alla Dr.ssa Chiara Gabbiani e la Dr.ssa Annalisa Guerri, per tutto l'aiuto quando mi trovavo a Firenze, e per il loro importante contributo a questo lavoro. È stato bellissimo poter lavorare con voi! Grazie anche alla Dr.ssa Ida Landini ed il prof. Enrico Mini dell'Istituto di Farmacologia clinica e pre-clinica di Firenze, per aver eseguito i test biologici.

Grazie anche al Dr. Massimiliano Arca per avermi ospitato a Cagliari per i test di voltammetria, ed un ringraziamento particolare alla Dr.ssa Anna Pintus, compagna di

avventure e di viaggio per tutti i congressi e le scuole, nonché impeccabile insegnante per l'utilizzo del famigerato Pedro (il potenziostato)!!

Grazie al Prof. Alberto Mariani ed alla Dr.ssa Valeria Alzari per il loro contributo nella caratterizzazione dei polimeri, e un doppio grazie a Valeria, compagna di studi sin dal primo anno e cara amica, grazie davvero Vale, per tutto!!!!

Un ringraziamento speciale va a tutta la mia famiglia. Non esiste ancora una parola che possa rendere tutta la gratitudine verso i miei genitori e mie sorelle, grazie per tutto, non sarebbe stato lo stesso senza di voi!!! Grazie anche alle mie nonne, ed un pensiero va ai miei nonni che non ci sono più, chissà cosa avrebbero detto oggi!! Grazie a tutti i miei zii e cugini, un grazie gigante a Irene, praticamente la mia terza sorella! A tutte le persone che hanno diviso con me questi anni e queste fatiche, Grazie a Betta, la mia agente immobiliare di fiducia a Firenze, come avrei fatto senza di te!! Grazie anche a tutti coloro che ho dimenticato di scrivere, non perché meno importanti, ma solo perché quando si arriva a scrivere questa pagina in genere si è reduci da una settimana particolare, eheheh!

Dulcis in fundo, un ringraziamento speciale a te Marco, per tutto, per aver vissuto con me i miei “momenti si” così come i “momenti no”, per essermi stato vicino in ogni cosa, per avermi ascoltato ed appoggiato in ogni momento, perché ci sono cose che non si possono esprimere a parole. Questa tesi è dedicata a te ☺ !!

Indice

Introduzione.....	pag 6
Stato dell'arte.....	pag 16
Risultati e Discussione.....	pag 32
Sintesi e caratterizzazione dei complessi.....	pag 33
Studi Biologici.....	pag 59
Sezione Sperimentale.....	pag 86
Bibliografia.....	pag 144

1. Introduzione.

L'oro è un metallo nobile della terza serie di transizione, avente caratteristiche fisiche e chimiche che lo hanno reso uno dei più noti ed apprezzati sin dall'antichità. È l'elemento più duttile e malleabile. In natura si trova all'interno di rocce e sedimenti, sotto forma di pepite, grani e pagliuzze, quasi sempre associato a pirite o quarzo dai quali viene estratto con metodi meccanici e complessazione con lo ione cianuro. Si stima che la crosta terrestre ne contenga circa 0.03 ppm e fino a oggi ne sono state estratte circa 160000 tonnellate. La sua resistenza all'attacco di altre sostanze lo ha reso particolarmente adatto per l'utilizzo in diversi campi quali, ad esempio, la gioielleria, l'elettronica e l'odontoiatria. Non viene infatti intaccato da acidi o da ossidanti in condizioni normali, basti pensare che è possibile scioglierlo solo utilizzando una miscela, nota come *acqua regia*, formata da acido nitrico e cloridrico in rapporto volumetrico 1:3. È inoltre alla base del sistema economico mondiale.

Questo metallo, simbolo Au, ha numero atomico 79 e la sua massa atomica è di circa 196.97 dalton. Il suo unico isotopo naturale stabile è ^{197}Au . Tra le sue proprietà fisiche, si ricordano le elevate temperature di fusione 1060 °C ed ebollizione 2860 °C. È inoltre uno dei metalli più densi, basti ricordare che 1 cm³ di oro pesa circa 19.3 g. Presenta elevate energie di prima e seconda ionizzazione (889.3 kJ mol⁻¹ e 1980.0 kJ mol⁻¹, rispettivamente), ed un valore di elettronegatività di 2.54, caratteristiche che giustificano la sua chimica per lo più covalente. Il valore di affinità elettronica è di circa 222.75 kJ mol⁻¹, un valore piuttosto elevato, paragonabile a quello dello iodio, ma raro per un metallo!

La sua configurazione elettronica, $[\text{Xe}]4f^{14}5d^{10}6s^1$, è infatti responsabile di alcuni effetti relativistici che hanno come conseguenza la peculiarità della sua chimica rispetto agli altri metalli¹:

- La contrazione degli orbitali 6s e 6p spiega la forte stabilità dello stato metallico e la facilità con cui si forma lo ione monoatomico Au⁺ per dare composti salini noti come *aururi*; inoltre, il raggio covalente è più corto di circa 0.09(1) Å rispetto all'argento,

come confermato dalle strutture dei complessi isomorfi $[M(\text{PMes}_3)_2]\text{BF}_4$ ($M = \text{Ag}, \text{Au}$; Mes = mesitile) ²;

· La destabilizzazione degli orbitali 5d rende invece più semplice il raggiungimento di stati di ossidazione più alti, come ad esempio +III e +V, che sono più difficili o inesistenti per l'argento;

· Il suo caratteristico colore è dovuto al fatto che assorbe la radiazione a partire da 2.4 eV, energia attribuita alla transizione dalla banda completamente occupata 5d alla banda 6s (livello di Fermi). Questo ha come conseguenza il forte assorbimento nel blu e nel violetto, mentre la luce rossa e gialla vengono riflesse;

· Il fatto di avere una configurazione chiusa $5d^{10}$ non è causa di inerzia chimica, bensì l'oro può interagire con altri atomi di oro per formare cluster. Anche Au(I) presenta la configurazione *closed shell*, e può interagire con altri atomi di oro aventi uguale carica con distanze di legame anche più corte rispetto a quelle che si osservano nell'oro metallico. A questo effetto Schmidbaur diede il nome di *aurofilicità* ³ (*vide infra*).

· La modesta differenza di energia tra gli orbitali s, p e d, consente la formazione di complessi di Au(I) dicoordinati e lineari, a differenza dell'argento che, nello stesso stato di ossidazione, tende a formare complessi tri- e tetraordinati;

I calcoli teorici hanno avuto un ruolo di fondamentale importanza per capire le origini di tutte queste differenze tra oro e argento.

Gli stati di ossidazione possibili per l'oro vanno da -I sino a +V.

Lo stato di ossidazione -I è estremamente difficile da riscontrare con i metalli, e l'oro è l'unico tra i metalli di transizione a formare *aururi*, tra cui, ad esempio, vi sono l'aururo di cesio (CsAu) e rubidio (RbAu), noti da più di mezzo secolo ⁴, e l'aururo di tetrametilammonio (Me_4NAu), il primo avente un catione non metallico ⁵.

Lo stato di ossidazione +II (paramagnetico) è anch'esso poco comune e stabile per l'oro, a causa della non favorevole energia dell'elettrone spaiato nell'orbitale $d_{x^2-y^2}$, che ha come conseguenza la disproporzione ad Au(I) ed Au(III). La formazione di legami Au-Au in queste specie paramagnetiche porta una maggiore stabilità rendendo favorita la formazione di specie dinucleari.

In condizioni drastiche e con reattivi energici questo metallo può assumere anche lo stato +V con leganti piccoli e molto elettronegativi. Un esempio è il pentafluoruro di

oro, AuF₅, dimero allo stato solido⁶, ed anioni [AuF₆]⁻ che formano sali con diversi cationi⁷.

I più comuni stati in ambiente acquoso sono invece 0, +I e +III, e sono ormai molti i complessi riportati in letteratura.

L'oro metallico, Au(0), forma principalmente degli aggregati noti come *clusters*. Tra essi il più famoso e meglio caratterizzato, anche dal punto di vista strutturale, è [Au₃₉Cl₆(PPh₃)₁₄]Cl₂.⁸

Se i cluster hanno dimensioni comprese nel range tra 1 nm ed 1 μm, prendono il nome di nanoparticelle. Questo tipo di materiali, conosciuti sin dall'antichità, hanno conosciuto un boom negli ultimi anni, e sono utili ormai in diversi settori (*vide infra*).

Au(I), termodinamicamente più stabile di Au(III), è un acido *soft* ed ha una particolare affinità per molecole quali tioli, fosfine e carbeni, ma sono noti anche composti con leganti azotati e ciclometallati. Forma complessi di-coordinati con geometria lineare e, in qualche caso, tri-coordinati, con geometria trigonale o polimerici, e tetracoordinati, con geometria tetraedrica. Alcuni di questi composti mostrano, allo stato solido, delle peculiari interazioni intermolecolari Au...Au dovute ad effetti relativistici. Questo fenomeno strutturale in cui gli atomi di Au(I) di-coordinati appartenenti a diverse molecole si trovano ad una distanza inferiore al doppio del raggio di van der Waals (3.7 Å), prende il nome di *aurofilicità*⁹, e consente la formazione sia di specie polimeriche, del tipo (LAuX)_n (L = in genere una fosfina, X = in genere un alogeno), che di non usuali composti plurinucleari del tipo [E(AuPR₃)_n]^{m+} (E = C, n = 4, 5, 6; N, n = 4, 5; O, n = 3, 4). Generalmente si osservano distanze di legame intorno ai 3 Å, ed in alcuni casi favorevoli anche di "soli" 2.7 Å, a cui sono associate energie di legame piuttosto piccole, ma comunque più alte rispetto alle classiche interazioni tipo van der Waals. Gli esempi più eclatanti di composti polinucleari sono i tetraaurometani C(AuL)₄, composti tetraedrici piuttosto instabili che tendono a riarrangiare la struttura a piramidale quadrata con distanze intramolecolari Au...Au abbastanza corte (2.7-2.8 Å). In questa forma sono basi così forti da essere facilmente protonate, anche in presenza di ammine, per dare le rare specie cationiche [HC(AuL)₄]⁺ in cui il carbonio risulta pentavalente¹⁰.

I complessi di Au(I) sono noti, inoltre, per le loro proprietà catalitiche e farmacologiche (*vide infra*).

Au(III), anch'esso *soft* ma meno marcatamente di Au(I), lega preferenzialmente donatori all'azoto, al carbonio e, in minor misura, all'ossigeno, dando prevalentemente complessi tetracoordinati con geometria quadrato-planare. Tra gli esempi più classici di questi composti vi sono gli alogenuri NaAuCl_4 ed AuCl_3 , ma anche complessi di coordinazione con leganti organici mono e bidentati con i quali può formare anche specie plurinucleari o ipercoordinate. La coppia Au(III)/Au(0) presenta un potenziale standard di riduzione pari a 1.50 V, un valore molto elevato ed indicativo della sua tendenza a comportarsi da ossidante, ben più di Au(I).

La chimica dei complessi di oro offre spunti interessanti per applicazioni in diversi campi, ed al mondo diversi gruppi di ricerca, sia di base sia applicata, si occupano di studiare la reattività dei suoi derivati per applicazioni a livello sia industriale sia biologico e medico. Nel capitolo successivo verranno illustrati alcuni esempi di complessi di Au(I) ed Au(III) con proprietà farmacologiche.

1.1 Chimica applicata: l'oro in catalisi e nanotecnologie.

Inizialmente considerato un metallo inerte ed inattivo, oggi è noto che l'oro ed i suoi derivati sono in grado di fungere da catalizzatori o precursori di specie cataliticamente attive in reazioni sia in fase eterogenea sia in fase omogenea¹¹. Il campo delle applicazioni industriali è stato inizialmente, e lo è tuttora, dominato dalla catalisi eterogenea, dove trova spazio anche la chimica di Au(0). Il primo esempio risale al 1973, quando Bond *et al.* riportarono i risultati ottenuti nella reazione di idrogenazione di olefine catalizzata da particelle di oro supportate¹². Successivamente, negli anni '80, Haruta *et al.* riportarono uno studio sull'ossidazione del monossido di carbonio a bassa temperatura¹³ e, quasi contemporaneamente, Hutchings *et al.* ottennero degli ottimi risultati nella reazione di idroclorurazione dell'acetilene a vinil cloruro¹⁴.

La catalisi omogenea dell'oro si è sviluppata in tempi più recenti ma sta riscuotendo un notevole successo. Una grande e variegata quantità di reazioni possono essere catalizzate sia da semplici sali, in genere alogenuri, che da vari complessi di Au(I) ed Au(III). Fra gli esempi più notevoli troviamo: l'idrogenazione di alcheni, l'addizione, sia inter- che intramolecolare, di nucleofili a doppi e tripli legami C-C a dare nuovi legami C-E (E = C, N, O, S), l'attivazione di legami C-H e varie reazioni di riarrangiamento di derivati ciclici¹⁵. Recentemente è stato riportato anche un primo esempio di polimerizzazione di olefine catalizzata da complessi di Au(III) in cui il precursore catalitico è un derivato carbenico¹⁶.

Il gruppo di ricerca presso il quale è stato svolto questo lavoro di tesi, si occupa da diversi anni della sintesi di ossocomplessi dinucleari a ponte con bipyridine sostituite (bipy^R), aventi formula generale $[\text{Au}(\text{bipy}^{\text{R}})(\mu\text{-O})]_2[\text{PF}_6]_2$, che sono in grado di dare reazioni di trasferimento di ossigeno con olefine lineari e cicliche a dare composti organici ossigenati e derivati olefinici di oro(I)¹⁷. Sebbene la reazione non sia catalitica, ha permesso di isolare e caratterizzare un importante intermedio di reazione, un auroossetano, che costituisce un importante modello per l'ossidazione di olefine catalizzata da metalli delle ultime serie di transizione, compreso l'oro.

In questi ultimi anni lo studio sulle possibili applicazioni delle nanoparticelle di oro sta riscuotendo un notevole interesse in tutto il mondo, ma il primo caso applicazione dell'oro alle nanotecnologie risale al IV° secolo d.c., ed è la famosa coppa di Licurgo, un vaso di vetro di fattura romana caratterizzato da particolarissime proprietà cromatiche: esposto alla luce assume una colorazione verde, ma in trasparenza è di un colore rosso rubino molto intenso. Venne realizzato per addizione di polvere di oro (Porpora di Cassio) al vetro fuso. Si è poi scoperto che questa caratteristica cromatica è dovuta proprio alla presenza dell'oro, all'interno della struttura vetrosa, sotto forma di nanoparticelle dalle dimensioni variabili tra 5 e 20 nm.

Più recentemente, esse trovano utilizzo anche nella fabbricazione di dispositivi led con colorazioni particolari e sono piuttosto recenti i risultati in campo medico: se opportunamente funzionalizzate trovano potenziale applicazioni sia nella diagnostica sia nella terapia dei tumori¹⁸.

1.3 Applicazioni in campo medico.

Le proprietà farmacologiche dell'oro sono note da tempi antichissimi¹⁹ ed i primi utilizzi sembrano risalire al 2500 a.C. in Cina. Nel medioevo si preparavano delle soluzioni di oro colloidale noto come “oro potabile”, considerato una panacea, e la sua assunzione garantiva, secondo gli alchimisti, la preservazione dall'invecchiamento. Più tardi, nel 1600 Nicholas Culpepper ne propose l'utilizzo come antidepressivo ed in generale come farmaco per la terapia di malattie mentali, mentre verso la fine del 1800 venne utilizzato nel trattamento della sifilide sotto forma di una miscela di cloruro di oro e cloruro di sodio, $\text{Na}[\text{AuCl}_4]$, nota al tempo come “muriato di oro e soda”. Nel 1890, il tedesco Robert Koch scoprì che il complesso $\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$ era batteriostatico nei confronti del bacillo della tubercolosi e, poichè si supponeva che esso fosse responsabile anche dell'artrite reumatoide, negli anni '60 si pensò di utilizzare gli stessi farmaci per la cura di artrite psoriatice, artrite giovanile, reumatismi palindromici, eritema da lupus, malattie infiammatorie della pelle (orticaria, psoriasi, pemphigus), determinando così gli albori della *crisoterapia* (dal greco $\chi\eta\rho\psi\sigma\sigma$, oro). Nel 1972 ci fu poi la grande scoperta di Sutton e Waltz che, negli Stati Uniti d'America, sperimentano l'utilizzo di complessi fosfinici di Au(I) a somministrazione orale per la cura delle artriti reumatoidi. Il farmaco, *Auranofin*, venne approvato nel 1985 dalla Food and Drug Administration ed è tuttora utilizzato nella terapia dei casi più gravi di artrite reumatoide insieme ad una serie di derivati analoghi (Myocrysin, Solganol, Sanocrysin, Allocrysin limière). Gli studi sulla chimica in soluzione di questi derivati hanno mostrato che il legante tiolato risulta labile rispetto alla fosfina, ed è sempre più accreditata l'ipotesi che il metabolismo del farmaco preveda reazioni di scambio del legante tiolato con proteine carrier che trasportano solo il frammento Au-PR_3 ²⁰. Dall'analisi del comportamento redox si è visto che questi composti presentano potenziali di riduzione piuttosto alti, il che comporta una certa facilità del metallo a ridursi irreversibilmente in presenza di agenti riducenti quali glutazione e vari tioli presenti nell'ambiente cellulare.

Oltre ai tanti benefici portati dal farmaco sono stati riscontrati anche effetti indesiderati, di non poca importanza, causati dalla tossicità di questi complessi: l'oro tende infatti ad accumularsi nel timo, nel fegato, nella milza, nell'ipotalamo e nei reni, provocando danni spesso irreversibili.

Nei pazienti in terapia con *Auranofin* è stato possibile osservare le proprietà antistaminiche del farmaco, scoperta che aprì la strada alla ricerca di complessi con attività analoga e portatori di minore tossicità, aventi potenzialità terapeutiche anche per la cura di tumori, virus HIV (aurotiomalato di sodio, aurotioglucosio), asma bronchiale (DSMARDS), parassiti, malaria, leishmaniosi, malattia del sonno, psoriasi. La tossicità può essere repressa con l'utilizzo di agenti chelanti che coordinano il metallo facilitandone l'escrezione dall'organismo.

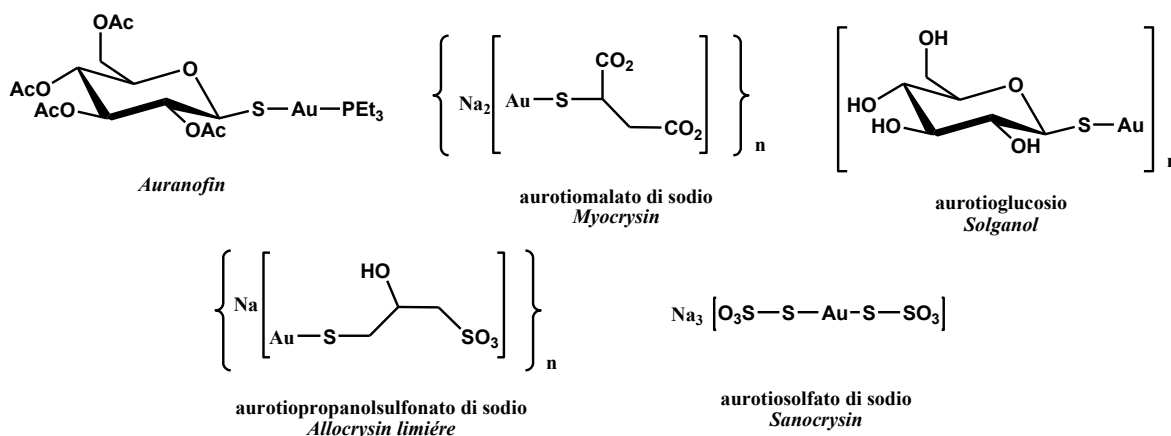


Figura 1. Complessi di Au(I) usati nella terapia delle artriti reumatoidi.

Più recentemente sono apparsi in letteratura studi su complessi di oro con attività antimalarica. Questa malattia, una parassitosi causata dal protozoo *Plasmodium falciparum*, causa circa due milioni di morti l'anno e si stima ne siano affette circa cinquecento milioni di persone nel mondo. Il vettore della malattia sono le zanzare del genere *anopheles*. Attualmente *Artemisinin* è il farmaco più potente disponibile, con valori di IC₅₀ nel basso range nanomolare. Piuttosto recentemente è stato riportato che il farmaco *Auranofin* mostra importanti effetti inibitori sul plasmodio²¹ con valori di IC₅₀ nel range nanomolare (142 nM), aprendo così la frontiera allo sviluppo di farmaci

antimalarici a base metallica. Sembra inoltre che l'uso combinato di *Auranofin* ed *Artemisinin* porti a migliori risultati lasciando intendere che possa esserci un effetto additivo. I possibili meccanismi di azione per i complessi di Au(I) prevede o l'induzione di un forte stress ossidativo, a cui il plasmodio è sensibile, oppure l'interazione diretta del centro metallico con specifici target molecolari del parassita (es., tioredossina riduttasi e falcipan, proteasi cisteinica). Test esplorativi su ossocomplessi di oro(III) con le bipyridine²² hanno dato anch'essi ottimi risultati, ma sembra che il carattere più *soft* dell'oro(I) possa dare effetti significativamente maggiori.

2. Farmaci a base metallica per la chemioterapia.

Tra i farmaci utilizzati in medicina ne esistono molti in cui la specie attiva è un metallo, tra cui il litio (sindrome maniaco-depressiva), il bismuto (anti-ulcera), l'argento ed il mercurio (antimicrobici).

Tra i metalli di transizione sono di particolare interesse complessi di platino, rutenio e oro per la loro potenziale attività antimetastatica.

2.1 Platino.

Il farmaco più potente per la chemioterapia del cancro è tuttora il *cis*-diamminodichloroplatino(II), comunemente noto come *cisplatino*, che venne sintetizzato per la prima volta nel 1844 da Michel Peyrone. Fu però alla fine degli anni '60 che Barnett Rosenberg ne scoprì casualmente le proprietà antitumorali²³, e nel 1978 fu approvato dalla *Food and Drug Administration* come farmaco da impiegare nella chemioterapia di alcuni tipi di tumore.

Si stima che il cancro a breve diventerà la prima causa di morte nel mondo. Oggi in molti casi può essere curato attraverso diverse tecniche che prevedono sia la somministrazione di farmaci sia l'asportazione chirurgica del tessuto interessato, ma non esiste la certezza della guarigione e l'aspettativa di vita è purtroppo, ancora in molti casi, non favorevole.

Nei casi più gravi la terapia farmacologica è la più praticata, e si utilizza una miscela di farmaci a base di Pt(II). Questa serie di complessi risulta attiva nei confronti di diversi tumori, ad esempio dei testicoli, ovaie, vescica, testa e collo, esofago, cellule piccole e non piccole del polmone, linfoma non-Hodgkin e neoplasmi trofoblastici. Una miscela di questi farmaci viene utilizzata nel trattamento di circa il 70% dei pazienti²⁴, in genere attraverso somministrazione per via intravenosa per circa un'ora e per un numero variabile di cicli.

In realtà, queste molecole (Figura 2) sono i precursori (*pro-drugs*) della specie attiva, che si forma per idrolisi dei legami platino-legante. Il *cisplatino* ha come prodotto di idrolisi il frammento $cis-[(NH_3)_2Pt]^{2+}$ che è in grado di danneggiare irreversibilmente il DNA formando ponti intra- ed inter-filamento provocando distorsioni tali da distruggere la doppia elica, causando così la morte della cellula interessata ed impedendone la replicazione. Purtroppo, il farmaco non è in grado di distinguere le cellule sane da quelle tumorali, ed essendo inoltre fortemente insolubile in ambiente acquoso tende ad accumularsi in alcuni tessuti provocando così tutta una serie di effetti collaterali tra i quali danni renali, diminuzione dei livelli di magnesio, potassio e calcio nel sangue, nausea e vomito, alterazione del gusto (sensazione di gusto metallico dei cibi), sensazione di formicolio delle mani e/o dei piedi, diminuzione dei globuli rossi, oltre che alterazioni nel normale sviluppo del feto se assunto da donne in stato di gravidanza. Un'altra problematica sull'utilizzo di questi farmaci riguarda fenomeni di resistenza, sia indotta dalla terapia sia intrinseca al tipo di tumore. Da qui nasce l'esigenza di cercare nuovi composti aventi una maggiore attività, possibilmente tale da ovviare al problema della resistenza, e magari con tossicità ridotta.

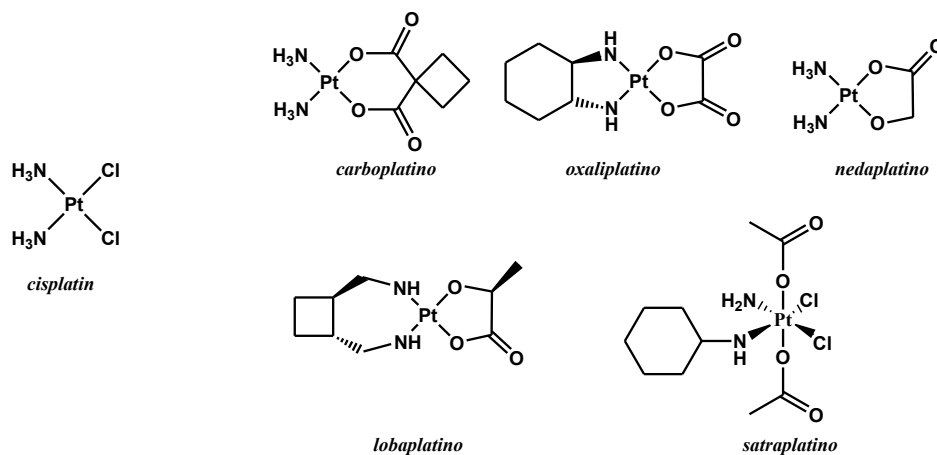


Figura 2. Complessi di Pt(II) e Pt(IV) usati in chemioterapia.

Oltre ai complessi di platino(II), vari complessi di platino(IV) sono oggetto di studio e fra questi uno, il *Satraplatin* (Fig. 2), è già in fase di sperimentazione clinica. Questo è il primo chemioterapico di platino a somministrazione orale, ed è attivo nei confronti del tumore della prostata in pazienti che non rispondono alla più comune terapia farmacologica²⁵. È in genere ben tollerato e risulta attivo anche verso tumore ovarico e polmonare, con un meccanismo di azione che sembra analogo a quello dei derivati di Pt(II).

2.2 Rutenio.

I composti di rutenio sono oggi tra i più interessanti, ed alcuni di essi hanno dato dei risultati eccellenti²⁶. I derivati noti come NAMI-A e KP 1019, sono dei complessi ottaedrici anionici di Ru(III) in fase di sperimentazione clinica²⁷. NAMI-A è un antimetastatico, ideato e sviluppato a Trieste, che agisce sul meccanismo di proliferazione di cellule metastatiche riducendo così la malignità del tumore, specialmente quello polmonare. KP 1019 sembra invece indurre apoptosi cellulare caspasi dipendente, ed ha dato risultati eccellenti nei confronti del tumore coloretale.

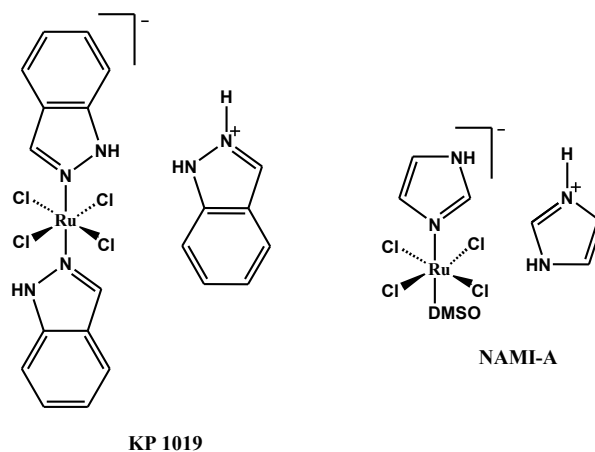


Figura 3. Complessi di rutenio in fase di sperimentazione clinica.

3. Complessi di oro con attività antitumorale: stato dell'arte.

L'oro è normalmente presente nei tessuti animali ed umani in quantità estremamente piccole, ma non è nota alcuna sua funzione biologica. Molti suoi composti sono altamente tossici a causa dell'alto potenziale ossidante (es., HAuCl_4 ed i suoi sali), ma è possibile minimizzare la tossicità utilizzando leganti appropriati in grado di stabilizzare il centro metallico. In generale, dai risultati ottenuti sinora si possono trarre le seguenti regole generali che correlano struttura e natura del complesso alla sua attività ed alla tossicità:

- stato di ossidazione, natura dei leganti coordinati e geometria di coordinazione sono di primaria importanza nel determinare la tendenza a dare reazioni di scambio dei leganti con substrati biologici, oltre che solubilità, stabilità e tossicità;
- attività e tossicità dei complessi dipendono fortemente dal carattere idrofilo/lipofilo che deve essere ben bilanciato, in modo da avere una solubilità sufficiente in ambiente

fisiologico e una lipofilicità tale da consentire l'ingresso della molecola all'interno delle cellule;

· la coordinazione esalta l'attività di leganti biologicamente attivi;

Attualmente, le proprietà antitumorali dei complessi di oro stanno suscitando sempre più interesse, ed i primi studi sulle loro proprietà antitumorali risalgono agli anni '80. Inizialmente vennero fatti dei test su *Auranofin* ed i suoi analoghi che mostrarono una potente attività *in vitro* con valori di IC₅₀ nel range 1-10 μM, ma la limitata attività *in vivo* precluse lo sviluppo come agenti antineoplastici.

3.1 Studi sui complessi di Au(I).

Au(I) è termodinamicamente più stabile e meno ossidante di Au(III), risultando così meno tossico per l'organismo. Proprio per questo motivo i primi studi si sono concentrati sui complessi di Au(I) con tioli e fosfine, leganti classicamente utilizzati per la loro capacità di stabilizzare il metallo in questo stato di ossidazione.

Le proprietà citotossiche del complesso sono fortemente correlate alla sua struttura: i composti più attivi sono quelli mononucleari aventi struttura generica P-Au-S. Di fondamentale importanza si è dimostrata inoltre la natura del legante, dal momento che modulando i sostituenti è possibile conferire una maggiore idrofilicità o lipofilicità all'intero complesso migliorando così le potenzialità come carrier per il centro metallico. In generale si è preferito utilizzare tioli biologicamente attivi la cui citotossicità aumenta con la coordinazione, ma è stato ampiamente dimostrato che la specie attiva rimane, in questi casi, il metallo.

In seguito ai primi test eseguiti su *Auranofin*, sono stati condotti diversi studi sui possibili meccanismi di azione. Poiché Au(I) coordina preferenzialmente leganti con donatori allo zolfo, è certo che le proteine siano i target critici *in vivo*: prima che la specie attiva possa entrare nelle cellule viene trasportata da proteine ed enzimi. Lo studio delle interazioni tra *Auranofin* e proteine modello, quali albumina serica e metallotioneina, ha permesso di ottenere informazioni utili per l'interpretazione del meccanismo di trasporto. In particolare si è osservato che l'albumina serica (principale proteina extracellulare del sangue) lega tra 80-95% di Au e trasporta la specie attiva

sino al sito interessato. Il metabolismo del farmaco è abbastanza rapido e procede attraverso reazioni di scambio dei leganti in cui la specie si modifica, motivo per il quale tali farmaci vengono meglio definiti come *pro-drugs*: la specie attiva si forma in situ ed i leganti coordinati in origine hanno la sola funzione di esaltare la reattività e la selettività nell'azione del farmaco. Si pensa, invece, che l'affinità della metallotioneina per Au(I) possa essere la causa della resistenza delle cellule tumorali al farmaco. Laib *et al.* hanno osservato che nella reazione del frammento Zn^{II}_7MT della metallotioneina con *Myocrysin* (aurotiomalato, AuSTm), un eccesso di proteina provoca la formazione del complesso $Au^I(SCys)_2$ dovuto allo scambio del legante tiomalato con il residuo tiolato. Un eccesso di AuSTm porta invece alla formazione dell'addotto di coordinazione STm-Au^ISCys con ritenzione del tiomalato e preservazione della specie attiva²⁸. Studi più recenti, condotti mediante spettrometria di massa, hanno rivelato che il meccanismo di reazione con cui il metallo si lega alla metallotioneina è simile a quello riportato per la formazione di nanoclusters di oro²⁹.

Interazioni con il DNA sono invece più difficili da verificarsi proprio in virtù della scarsa affinità di Au(I) verso i donatori all'azoto e sono note solo alcune eccezioni.

Di seguito vengono riportati alcuni esempi di complessi di Au(I) sinora testati.

3.1.1 *Complessi con fosfine*³⁰.

Tra i complessi con fosfine monodentate, uno dei primi ad essere testati è stato $[Et_3P-Au-Cl]$ che *in vitro* ha rivelato una potente attività antiproliferativa ma *in vivo* risulta essere meno citotossico persino di *Auranofin*. Diversamente da quest'ultimo è però in grado di dare interazioni con il DNA, seppur in condizioni particolari (pH 9.5) ed in misura inferiore rispetto al *cisplatino*. Ulteriori studi hanno poi dimostrato che il complesso è un inibitore dei complessi enzimatici I e II della catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri di epatociti, confermando l'ipotesi di un meccanismo di azione diverso rispetto a quello dei complessi a base di Pt.

Utilizzando una fosfina chelante quale ad esempio la bis-1,2-bis(difenilfosfino)etano (dppe), è stato successivamente testato $[Au(dppe)_2]Cl$, più stabile e meno reattivo del precedente. La citotossicità osservata *in vitro* è stata confermata dai buoni risultati ottenuti *in vivo*, soprattutto nei confronti di alcuni tipi di tumori resistenti al *cisplatino*.

Questa maggiore attività è probabilmente dovuta alla maggiore lipofilicità conferita dal legante che però comporta anche una maggiore tossicità per l'organismo. Anche in questo caso sembra che il target sia da ricercare all'interno del mitocondrio.

Per migliorare il rapporto attività/tossicità del complesso, è stato preparato l'addotto con la bis-1,2-bis(di-n-piridilfosfino)etano (dnpype), $[\text{Au}(\text{dnpype})_2]\text{Cl}$, in cui la sostituzione dei fenili con n-piridili in diverse posizioni permette un migliore bilanciamento tra idrofilicità e lipofilicità³¹. Pertanto questi complessi risultano un po' più solubili in acqua rispetto a quelli con dppe con idrofilicità che varia a seconda della posizione del sostituito py. In particolare con d2pype si forma una specie dimerica 1:2 in cui ogni centro metallico è legato ad un legante bidentato ed a due leganti a ponte con la formazione di un anello a 10 termini sul metallo, mentre con i leganti d3pype e d4pype si formano specie monomeriche 1:2. Questi complessi risultano fortemente attivi e selettivi verso alcuni tipi di tumore (es., carcinoma ovarico) con valori di IC_{50} nel range 0.1-1500 μM . Il complesso con lipofilicità intermedia (d3pype) mostra una significativa attività antitumorale con minori dosi limite di tossicità e si riscontra una più alta concentrazione di Au nel plasma. Anche in questo caso sembra che il target sia interno al mitocondrio, ma ancora non è del tutto chiaro quale sia il meccanismo di azione.

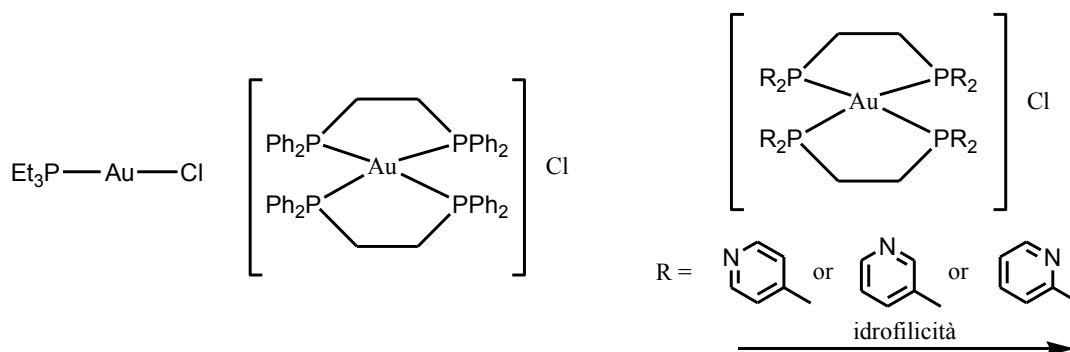


Figura 4. Alcuni complessi fosfinici di Au(I) testati.

In seguito alla scoperta della citotossicità dei derivati del ferrocene, si è pensato di modificare la dppe utilizzando un'unità $[(\text{Cp})_2\text{Fe}]$ come spaziatore tra i due atomi di fosforo³², è stata così ottenuta una serie di complessi che sono stati testati su alcune

linee cellulari tra le quali carcinoma del colon e della vescica. In generale si è osservata un'attività paragonabile o solo lievemente superiore al *cisplatino* ma, in altri, questa modifica sul legante ha drammaticamente alterato l'attività rispetto al derivato con la dppe.

Sono stati sintetizzati inoltre alcuni complessi con fosfine chirali ma senza ottenere risultati molto diversi in termini di citotossicità, mentre i complessi tetraedrici con leganti al fosforo risultano abbastanza attivi soprattutto se utilizzati in combinazione con il *cisplatino*. Sembra comunque che la chiralità in un complesso di Au non porti differenze significative in termini di citotossicità.

Complessi fosfinici lineari con struttura P-Au-N, in cui il legante azotato è un derivato del 5-fluorouracile, una molecola biologicamente attiva, hanno rivelato una maggiore attività rispetto al legante libero³³. In alcuni casi si è però osservata una elevata tossicità *in vivo*.

3.1.2 Complessi con tioli³².

Con alcuni tiolati bidentati, ad esempio 1,4-dimercaptobutano-2,3-diolo e 1,3,4-tiodiazolo-2,5-ditiolo, sono stati ottenuti dei complessi che, nonostante i buoni risultati in termini di attività, si sono rivelati tossici e quindi non utilizzabili. Hanno invece portato buoni risultati gli studi condotti su complessi contenenti tioli biologicamente attivi che per via della coordinazione del metallo risultano meno tossici sia rispetto al legante libero sia rispetto al *cisplatino*: in particolare, i complessi di oro con la 6-mercaptapurina e con la 6-tioguanina risultano attivi contro le leucemie.

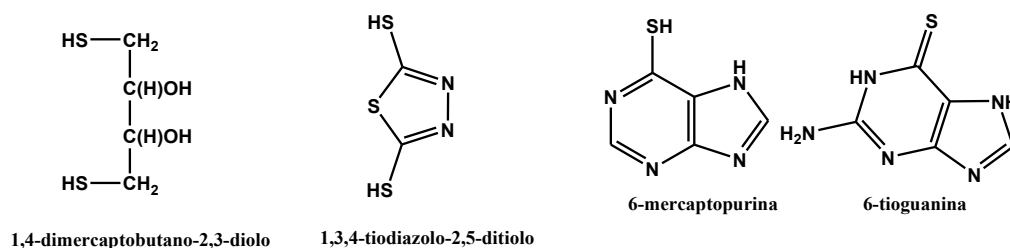


Figura 5. Tioli bidentati utilizzati come leganti per complessi di Au(I).

3.1.2 Complessi carbenici.

I complessi di Au(I) con leganti carbenici *N*-eterociclici³⁴ hanno mostrato promettenti proprietà citotossiche accompagnate da interessanti pattern di selettività. I derivati $[(^i\text{Pr}_2\text{Im})_2\text{Au}]\text{Cl}$ e $[(^i\text{Pr}_2\text{Im})\text{AuCl}]$ sono entrambi attivi nei confronti di alcune linee cellulari. Studi recenti hanno dimostrato che il derivato cationico inibisce la crescita delle cellule tumorali ma non di quelle sane, a differenza del derivato neutro che non discrimina tra le due. Questi risultati permettono di formulare ipotesi sul ruolo di carica e lipofilità del complesso. Si è inoltre osservato che essi sono inibitori della tioredossina riduttasi e della tirosina fosfatasi, ed danno reazioni di scambio del legante con i gruppi tiolo e selenolo di cisteina e selenocisteina.

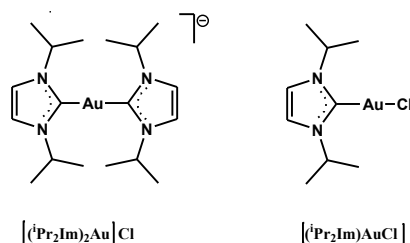


Figura 6. Complessi carbenici con leganti imidazolici.

3.2 Studi sui complessi di Au(III).

Au(III) coordina preferenzialmente leganti con donatori all'azoto, all'ossigeno ed al carbonio. A causa del suo potere ossidante e dell'elevata velocità di idrolisi dei suoi complessi, risulta più tossico e meno stabile in condizioni fisiologiche rispetto ad Au(I). Per questo motivo la sua potenziale attività farmacologica è stata inizialmente trascurata fino alla seconda metà degli anni '90. Utilizzando dei leganti appropriati, come ad esempio chelanti con donatori all'azoto, è possibile abbassare il potenziale di riduzione e stabilizzare il centro metallico evitando così che esso venga ridotto ad Au(I) o Au(0) prima di raggiungere il sito desiderato esprimendo tutta la sua tossicità. Le proprietà antitumorali di questi complessi sono molto incoraggianti: essi sono altamente citotossici verso differenti tipi di tumori e alcuni di questi sono attivi anche verso quelli resistenti al *cisplatino*.

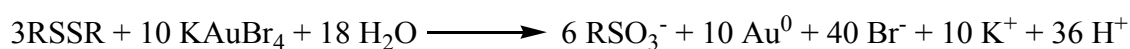
I complessi di Au(III) hanno mostrato una maggiore attività rispetto a quelli di Au(I), e la letteratura è ricca di esempi. La maggiore attività non stupisce, dal momento che il metallo in questo stato di ossidazione è isoelettronico ed isostrutturale al Pt(II). Il

meccanismo di azione sembra però essere profondamente diverso da quello del *cisplatino*. Secondo le ipotesi più accreditate, nonostante siano possibili interazioni con il DNA, il target critico sembra essere il selenoenzima tioredossina reduttasi mitocondriale³⁵, enzima chiave nella regolazione dei processi redox intracellulari, la cui inibizione provoca un forte stress ossidativo che scatena l'apoptosi cellulare. Pratesi *et al.*³⁶ hanno recentemente pubblicato uno studio in cui viene riportata l'interazione tra alcuni complessi di Au(I) ed Au(III) attivi *in vitro* ed il tetrapeptide Ac-Gly-[Cys-Sec]-Gly-NH₂, modello che riproduce il frammento C-terminale del selenoenzima. Attraverso uno studio ESI MS, hanno osservato che Auranofin lega debolmente il peptide a livello della selenocisteina, perdendo il legante tioglucosio-acetato e legandosi come frammento Au-fosfina. I complessi di Au(III), l'ossocomplesso dinucleare a ponte [Au(bipy^{2Me})(μ-O)]₂[PF₆]₂ ed NaAuCl₄, danno entrambi la conversione quantitativa del peptide in due specie che indicano una marcata reattività dei composti. Si formano infatti due prodotti costituiti da un addotto dinucleare peptide-oro, in cui il metallo si lega come Au(I) dando un ciclo macrochelato, e dal prodotto di ossidazione in cui due molecole del peptide si legano attraverso ponti disolfuro. L'ipotesi più plausibile sembra essere quella che prevede la coordinazione di Au(I) al gruppo selenolo come evento cruciale nell'inibizione dell'enzima.

Lo studio delle interazioni tra Au(III) e proteine risultano molto utili per lo studio del meccanismo di azione. I test *in vitro* sono per lo più indicativi ed *in vivo* è certo che l'oro possa interagire con proteine ed enzimi presenti nelle cellule, provocando anche effetti negativi. Gli amminoacidi più utilizzati per indagare sulle reazioni con le proteine sono cisteina (tiolo) e metionina (tioetere). La reazione di NaAuCl₄ con la cisteina³⁷ provoca l'ossidazione dell'amminoacido e la formazione dei ponti disolfuro, con riduzione di Au(III) ad Au(I):



Anche ponti disolfuro possono ridurre KAuBr₄ con la formazione di oro metallico attraverso la scissione del legame S-S e formazione dei corrispondenti acidi solfonici³⁸:



L'alta reattività mostrata con questo residuo aminoacidico può essere una delle cause di effetti negativi riscontrabili in vivo. L'insulina, ad esempio, è composta da due catene peptidiche unite da ponti disolfuro che possono essere ossidati da sali di Au(III) provocando la distruzione della struttura secondaria e terziaria della proteina provocando così danni gravissimi.

L'amminoacido metionina può essere anch'esso ossidato da Au(III) a metioninsolfossido a bassi valori di pH.

Di seguito vengono riportati alcuni esempi di complessi di Au(III) dei quali è stata verificata l'attività citotossica.

3.2.1 Complessi con leganti azotati.

Le poliammine sono una classe di chelanti classici che conferiscono stabilità in ambiente fisiologico. I complessi mononucleari con ammine bi-, ter- e tetra dentate, quali etilendiammina (en), dietilenammina (dien) e 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecane (cyclam), hanno mostrato una discreta stabilità in ambiente fisiologico, dovuta alla chelazione, nonché interessante attività citotossica *in vitro* con valori di IC₅₀ nel range micromolare³⁹. Studi elettrochimici hanno inoltre dimostrato che questi leganti sono in grado di stabilizzare fortemente il centro metallico rispetto alla riduzione ad Au(0) persino in presenza di un agente fortemente riducente quale l'ascorbato di sodio. Con il legante 1,4,7-triazaciclononano (TACN), sono stati invece ottenuti dei complessi dei quali solo l'addotto [Au(TACN)Cl₂]Cl risulta in alcuni casi più attivo del *cisplatino*⁴⁰.

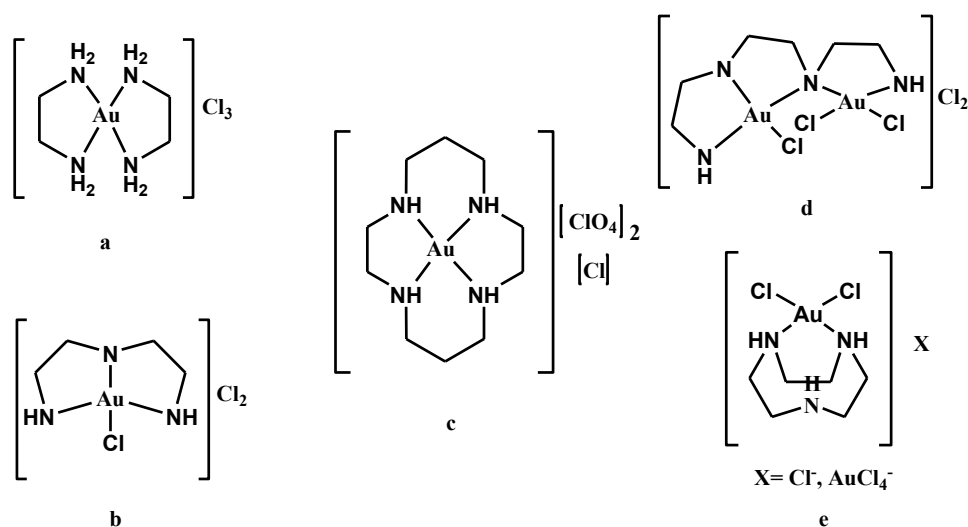


Figura 7. Alcuni esempi di complessi di oro(III) con poliammine

Un altro legante capace di stabilizzare fortemente Au(III) è, ad esempio, la *meso*-tetraarilporfirina (TPP), i cui complessi sono stati riportati da Che *et al.*⁴¹ nel 2003. Questi particolari derivati con porfirine sostituite, aventi formula generale [Au(*p*-Y-TPP)]Cl (Y = H, Me, MeO, Br, Cl), sono altamente stabili in soluzione acquosa grazie alla tetracoordinazione. Lo stato di ossidazione +III è fortemente stabilizzato anche in presenza di glutatione, il più importante agente riducente intracellulare. Mostrano eccellente attività antiproliferativa *in vitro* con valori di IC₅₀ compresi nel range 0.01-1.5 µM nei confronti di linee cellulari di tumori umani quali carcinoma dell'epitelio cervicale ed alcuni tipi di carcinoma nasofaringeo. Il meccanismo con cui inducono citotossicità sembra essere, anche in questo caso, profondamente diverso rispetto a quello ipotizzato per il *cisplatino*, dal momento che le interazioni osservate con il DNA sono di tipo non-covalente. Studi recenti hanno mostrato che l'apoptosi cellulare è indotta dalle alterazioni provocate su proteine ed enzimi essenziali per la proliferazione cellulare, con particolare selettività verso le cellule tumorali, entro 24 ore dall'esposizione al farmaco, con meccanismo sia caspasi-dipendente sia caspasi-indipendente⁴². Questi derivati risultano inoltre inibitori del virus HIV-1.

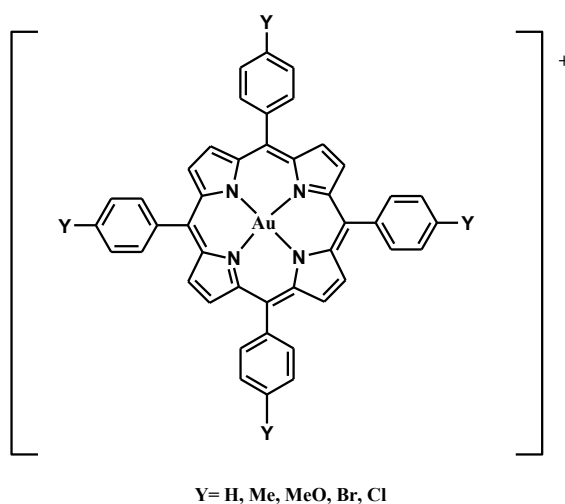


Figura 8. Complessi di oro(III) con porfirine sostituite

Le polipiridine costituiscono una classe di leganti molto importanti nella chimica di coordinazione grazie alla loro straordinaria capacità coordinativa, che conferisce alta

stabilità e solubilità ai centri metallici. Variando i sostituenti è, inoltre, possibile modulare le caratteristiche steriche ed elettroniche dei derivati. A questa classe di leganti appartengono i dipiridili, con i quali sono stati ottenuti dei complessi tra cui $[\text{Au}(\text{bipy})(\text{OH})_2][\text{PF}_6]$ e $[\text{Au}(\text{bipy}^{\text{dmb}}\text{-H})(\text{OH})][\text{PF}_6]$ (dmb = dimetilbenzile), sintetizzati dal gruppo di ricerca presso il quale è stato svolto anche questo lavoro⁴³, che hanno mostrato un'attività molto interessante. Sono entrambi abbastanza stabili in condizioni fisiologiche e mostrano citotossicità superiore al *cisplatino*, in particolar modo il complesso ciclometallato. Da alcuni studi preliminari risulta che sono in grado di legarsi solo debolmente con il DNA ma formano complessi con alcune proteine modello⁴⁴. Sempre con le biperidine sono stati ottenuti i primi ossocomplessi dinucleari a ponte⁴⁵, di formula generale $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N})(\mu\text{-O})_2][\text{X}]_2$, che mostrano importanti effetti antiproliferativi *in vitro*⁴⁶. La presenza di più centri metallici conferisce proprietà importanti su carica del complesso, cinetica di idrolisi e particolare reattività nei confronti dei target biologici. Questi derivati sono stabili in condizioni fisiologiche e presentano valori di IC_{50} nel range 1.79-25.4 μM . Studi sulle interazioni con alcune proteine modello (albumina serica, citocromo C, ubiquitina) e con DNA, hanno rivelato che in alcuni casi essi formano legami reversibili mentre in altri si verificano reazioni redox che provocano danni alle strutture. Piuttosto recentemente, è stato riportato uno studio in cui si evidenzia la correlazione tra potere ossidante ed effetti antiproliferativi di questi particolari derivati⁴⁷.

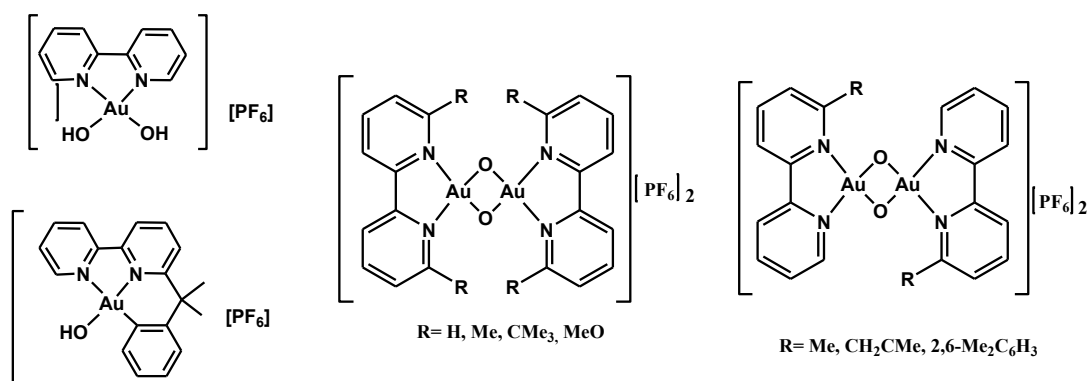


Figura 9. Complessi mono e dinucleari con dipiridili sostituiti.

Il complesso di oro(III) con la terpiridina³⁹ ha mostrato più alta citotossicità *in vitro* rispetto al *cisplatino*, e proprio con questo derivato è stato osservato uno dei primi

esempi di interazioni con DNA intracellulare *in vitro*. Queste interazioni sono favorite dalla planarità della struttura, dalla carica positiva e dall'assenza di l'ingombro sterico. Purtroppo la tendenza a reagire con le proteine è generalmente alta e può compromettere la ritenzione dell'attività *in vivo*, il che costituisce un problema nello sviluppo come farmaci.

La fenantrolina (phen) è anch'esso un legante bidentato molto utilizzato. Forma complessi di Au(I) ed Au(III) che in alcuni casi sono ipercoordinati, tricoordinati quelli di Au(I)⁴⁸ e pentacoordinati quelli di Au(III)⁴⁹. Tra questi ultimi, ve ne sono alcuni noti per le loro proprietà luminescenti⁵⁰ ma anche citotossiche⁵¹. L'addotto [Au(phen)Cl₂]Cl è apprezzabilmente stabile anche in condizioni fisiologiche, e mostra soddisfacente attività *in vitro* con valori di IC₅₀ nel range micromolare³⁹.

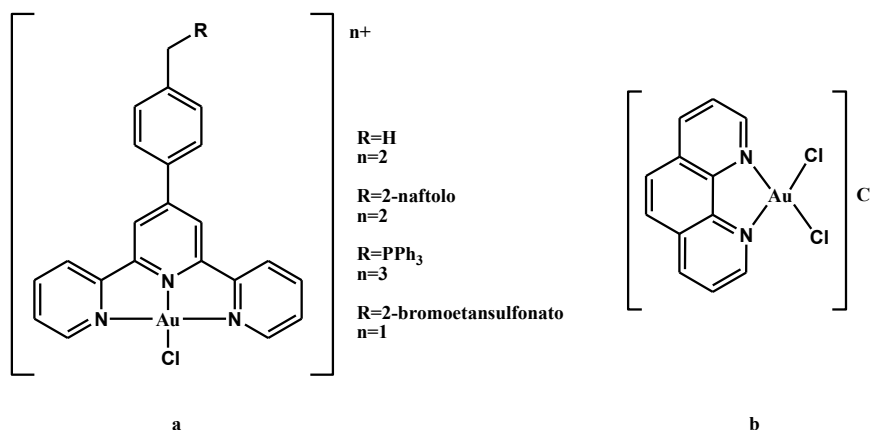


Figura 10. Complessi di oro(III) con polipiridine e fenantrolina.

Tra i chelanti terdentati utilizzati per questi scopi vi sono anche le 8-amminochinoline. Queste coordinano il metallo formando due anelli a cinque termini piuttosto stabili. Sono risultati di particolare interesse i complessi riportati da Yang et al. nel 2003⁵². Tra essi il derivato con la N-(8-chinolil)piridina-2-carbossammide risulta fino a tre volte più attivo del *cisplatino* nei confronti dell'adenocarcinoma polmonare.

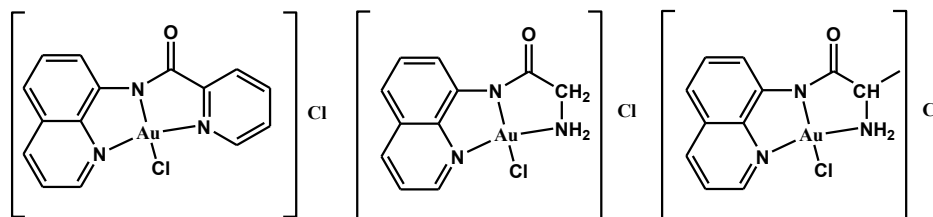


Figura 11. Complessi con chinoline terdentate (N[^]N[^]N).

3.2.2 Complessi ciclometallati.

I derivati organometallici di oro(III) sono, in genere, piuttosto stabili alla riduzione e all'idrolisi. Ancor di più lo sono i ciclometallati in cui, oltre al legame s Au-C, vi è uno o più legami coordinativi con eteroatomi come azoto, fosforo o zolfo. I derivati ciclometallati di oro(III) più studiati sono quelli in cui l'eteroatomo è l'azoto⁵³. Questi possono essere del tipo Au(C[^]N), Au(C[^]N[^]N), Au(C[^]N[^]C) e Au(N[^]C[^]N). Di alcuni di questi sono state studiate le proprietà citotossiche.

I primi ad essere studiati, e ai quali si deve un rilancio dei derivati di oro(III) in questo campo, sono alcuni complessi del tipo [Au(C[^]N)X₂], in cui il legante ciclometallato è l'anione del dimetilammino-metilbenzene (DAMP), sufficientemente solubili in ambiente acquoso e con citotossicità paragonabile a quella del *cisplatino*⁵⁴. I più attivi sono quelli in cui la coordinazione è completata da X = acetato o malonato. Da studi sulle interazioni con proteine è emerso che questi composti inibiscono irreversibilmente la catepsina B, un enzima contenuto nei lisosomi e sovraespresso nelle cellule tumorali, e che interviene nei processi di autolisi provocando la scissione dei costituenti proteici cellulari in peptidi e aminoacidi.

Derivati ciclometallati neutri del tipo [Au(N[^]C)(N[^]N)], in cui N[^]CH è la benzilpiridina ed N[^]N è un benzoimidazolo sostituito, sono molto solubili in acqua e hanno attività antitumorale maggiore rispetto al *cisplatino* specialmente nei confronti di alcuni tipi di leucemie⁵⁵.

Utilizzando come legante N[^]C la benzilpiridina o la DAMP, sono stati sintetizzati e testati anche dei ciclometallati di tipo [Au(N[^]C)(N)(N)] in cui N è un legante imidato monodentato labile che conferisce alta reattività, dal momento che almeno uno di questi può essere facilmente spostato compromettendo così il raggiungimento del

target biologico. Per i complessi con il legante (C^N) benzilpiridina si osserva una buona attività con valori di IC₅₀ nel range 5-10 μM, mentre quelli con il legante DAMP sono sorprendentemente poco solubili in condizioni fisiologiche⁵⁶.

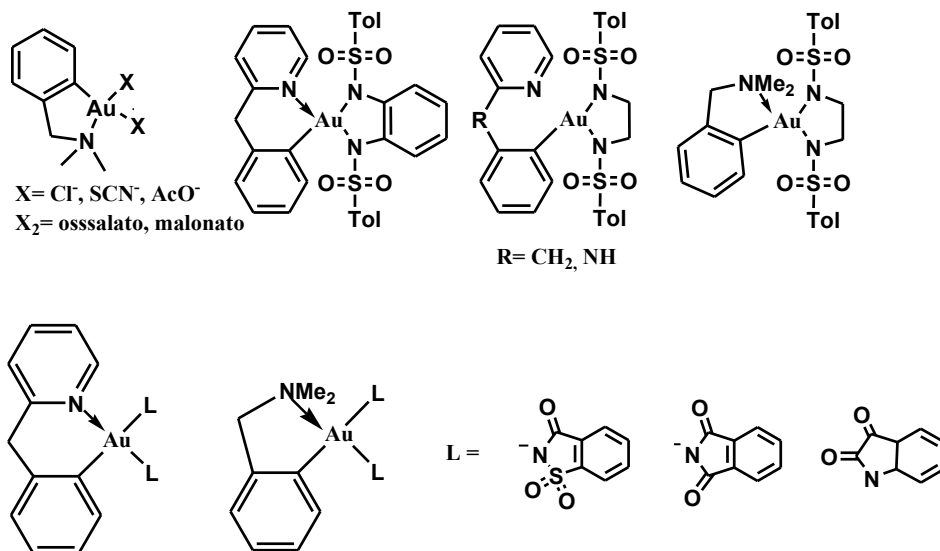


Figura 12. Ciclom metallati (N^C).

Altri esempi di ciclometallati (C^N) e (C^N^N) sono riportati in figura 13. Questi complessi mostrano un'interessante attività citotossica nei confronti della linea cellulare A2780, in particolar modo l'idrosso-complesso che, rispetto agli altri, è moderatamente solubile in acqua. Questi derivati hanno mostrato citotossicità fino a due volte maggiore rispetto al *cisplatino* nei confronti della linea cellulare resistente⁵⁷. Inoltre, interagiscono solo debolmente con gli acidi nucleici mentre formano facilmente addotti con le proteine. Questi risultati sembrano a favore dell'ipotesi di un diverso meccanismo di azione rispetto ai complessi di platino.

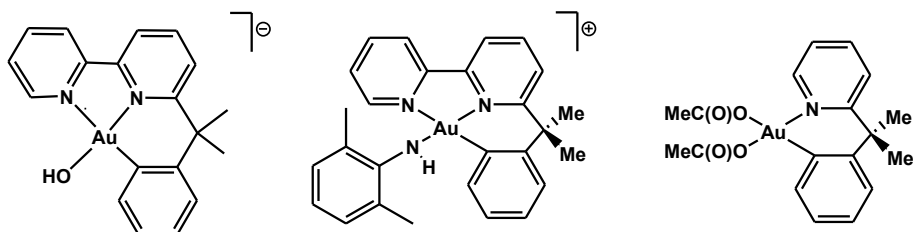


Figura 13. Esempi di ciclometallati [Au(C^N)(OAc)₂] e [Au(C^N^N)X]⁺.

Ciclometallati pincer tipo [Au(C^N^C)(L)]⁺ con la 2,6-difenil-piridina ed un legante L azotato, ad esempio una piridina, mostrano attività intermedia tra quella del *cisplatino*

e dei complessi porfirinici di Au, con valori di IC_{50} nel range 1.5-84 μM ⁵⁸. Si osservano interazioni forti con il DNA attraverso intercalazioni nella doppia elica, ed il complesso è un potenziale inibitore della telomerasi, enzima molto più attivo nelle cellule tumorali che in quelle sane, che costituisce un buon target. Se invece il legante L è una fosfina, come ad esempio dppe, si forma un complesso dinucleare non molto stabile in condizioni fisiologiche. È comunque altamente citotossico con valori di IC_{50} nel range 0.04-4.3 μM , ma a differenza del precedente interagisce solo debolmente con il DNA.

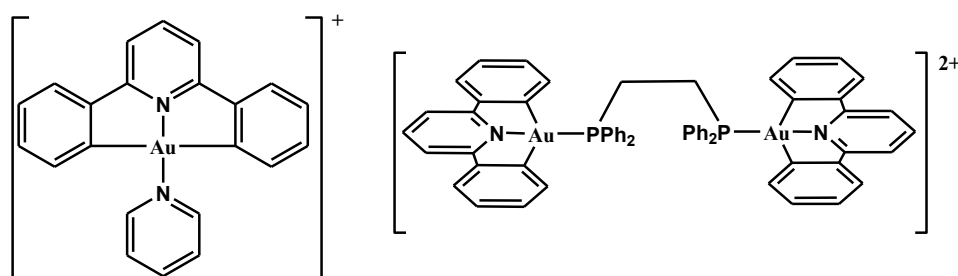


Figura 14. Pincer (C^NC).

3.2.3 Complessi con leganti allo zolfo.

I ditiocarbammati sono leganti contenenti due atomi di zolfo come donatori, che stabilizzano fortemente lo stato di ossidazione del centro metallico attraverso chelazione ed elettrodonazione. I complessi studiati da Fregona *et al.*⁵⁹ sono derivati tipo $[Au(S^{\wedge}S)X_2]$ ($X = Cl, Br$), in cui $S^{\wedge}S$ è il legante N,N-dimetilditiocarbammato (DMDT), etilsarcosinditiocarbammato (ESDT) ed il metilsarcosinditiocarbammato (MSDT). La citotossicità osservata *in vitro* è da 1 a 4 volte superiore a quella del *cisplatino*, anche verso linee tumorali resistenti di osteosarcoma, tumore ovarico e del colon. Hanno grande affinità per il DNA a cui si legano velocemente, e causano inoltre emolisi immediata (70-100% in 15') dose dipendente. In condizioni fisiologiche il complesso con DMDT idrolizza a diidrosso complesso rimandando però in soluzione senza che il metallo venga ridotto. Il complesso con ESDT idrolizza molto più velocemente con conseguente precipitazione del diidrosso complesso giallo insolubile, e già dopo 24h si forma la specie dimerica solubile $[Au(ESDT)]_2$ attraverso un

processo redox con il quale Au(III) viene ridotto ad Au(I). Purtroppo non sono solubili in acqua.

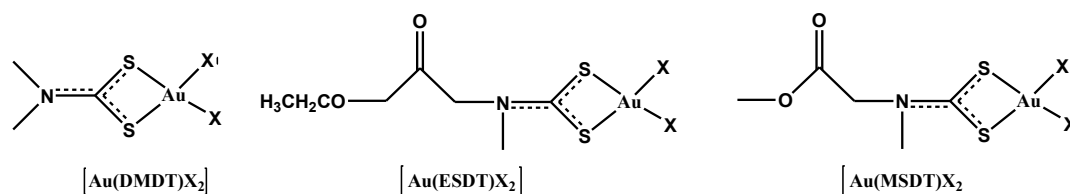


Figura 15. Complessi di oro con ditiocarbammati.

3.2.4 Complessi con dipeptidi.

Un esempio di questa classe di composti, è il complesso con la glicilistidina⁶⁰. La coordinazione del dipeptide porta alla formazione di un complesso monomero $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]\text{Cl}$ in cui il legante previene la riduzione, sia ad Au(I) sia ad Au(0), in ambiente fisiologico. Tuttavia, in queste condizioni si è osservata una marcata tendenza della specie a dare il corrispondente tetramero. È stata testata l'attività su tumori ovarici, sia sensibili che resistenti al *cisplatino*, con risultati molto buoni su entrambe le linee cellulari con valori di IC_{50} nel range micromolare. Dal momento che questo dipeptide non è citotossico si ha un'ulteriore dimostrazione del fatto che l'attività sia ascrivibile al centro metallico. Infine è stato osservato che la forza delle interazioni con il DNA dipende dalle concentrazioni relative.

3.2.5 Complessi con leganti biologicamente attivi.

In generale, è stato osservato che l'attività di leganti biologicamente attivi risulta aumentata in seguito alla coordinazione del metallo. A titolo di esempio, si possono ricordare i complessi con derivati imidazolici e di benzossazoli sostituiti, $[\text{Au}(\text{L})\text{Cl}_3]$ (L = metilimidazolo, metil-benzossazolo), che hanno mostrato una significativa citotossicità sia *in vitro* sia *in vivo*, con valori di IC_{50} inferiori rispetto al legante libero nei confronti di linee cellulari di tumore ovarico umano e leucemia³².

Visti i numerosi ed incoraggianti risultati ottenuti negli ultimi anni in questo settore della ricerca, e tenendo conto della necessità di trovare dei composti che soddisfino i requisiti di alta attività e minore tossicità, questo lavoro di tesi si propone di sviluppare e studiare nuovi complessi di oro con potenziale attività antitumorale.

In Figura 16 sono rappresentati i leganti scelti per questo lavoro. Sono tutte molecole eterocicliche azotate contenenti, in alcuni casi, più eteroatomi donatori in grado di conferire stabilità al centro metallico, in particolar modo per Au(III). Per i complessi di oro(I) sono state utilizzate anche fosfine come leganti ancillari. La scelta dei leganti da utilizzare è stata dettata dall'esigenza di ottenere complessi stabili e possibilmente solubili e non tossici. Purtroppo non è semplice conciliare queste tre esigenze per lo sviluppo di un farmaco, ma in generale è già soddisfacente riuscire a trovare un buon compromesso. Con questi leganti sono stati preparati e caratterizzati complessi di Au(I) ed Au(III), mono- e dinucleari, dei quali abbiamo studiato il comportamento in ambiente fisiologico, l'attività citotossica *in vitro*, valutata principalmente sulla linea cellulare A2780 (tumore ovarico umano), e la reattività con proteine modello. Su alcuni dei complessi sintetizzati è stata testata *in vitro* anche l'attività antiplasmodica nei confronti del *Plasmodium falciparum*, responsabile della forma più mortale della malaria.

Uno dei complessi di Au(III) ottenuti ha inoltre mostrato una reattività molto interessante con stireni, con i quali sono stati fatti dei test preliminari di catalisi.

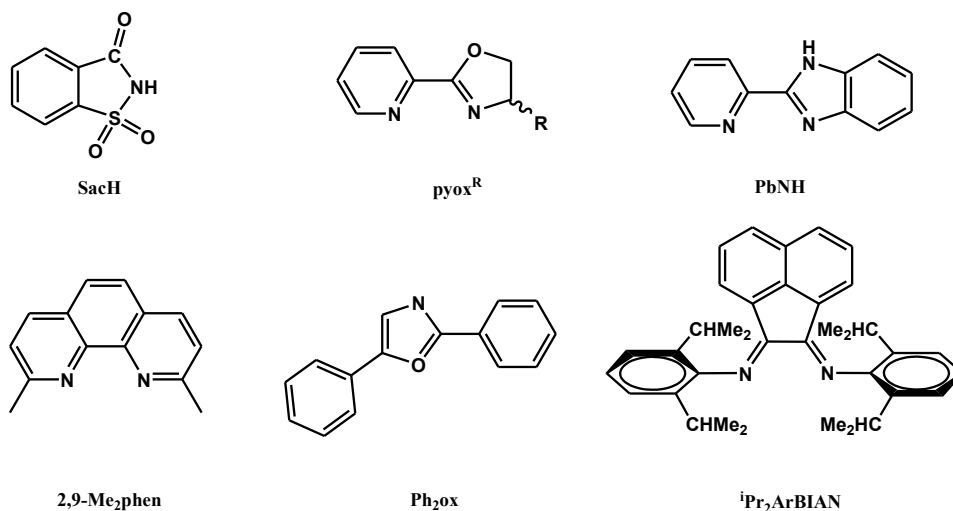


Figura 16. Leganti eterociclici azotati scelti per questo studio.

Risultati e Discussione.

Sintesi, Caratterizzazione e Studio della Reattività del Complessi.

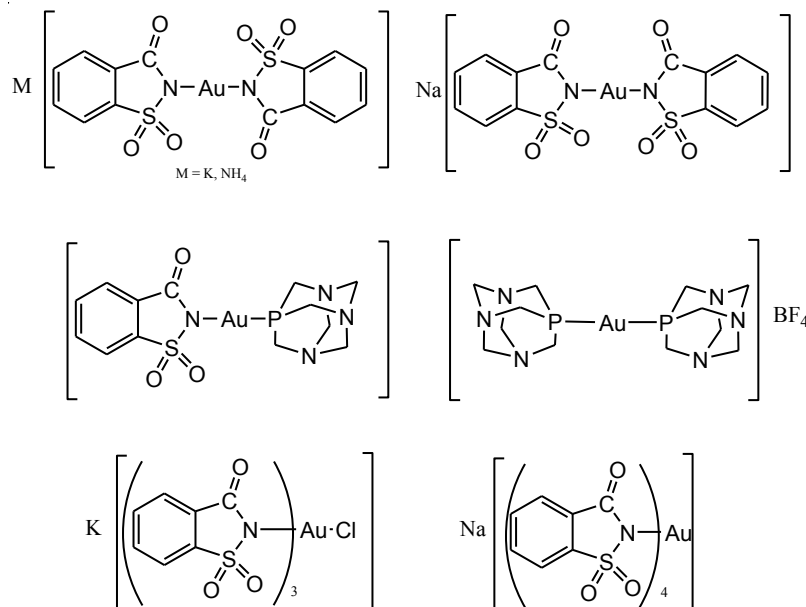
Complessi con lo ione saccarinato e la TPA.

Sintesi e caratterizzazione strutturale.

La saccarina (SacH) è una molecola comunemente utilizzata come dolcificante e, da qualche anno, il suo impiego come additivo negli alimenti è permesso in quasi tutto il mondo dal momento che mostra fenomeni di tossicità solo in dosi elevate⁶¹. Funge da legante monodentato anionico e coordina il metallo attraverso l'atomo di azoto formando complessi sia di Au(I) sia di Au(III) che mostrano una moderata ma sufficiente solubilità in ambiente acquoso. Per i complessi di Au(I) è stato scelto come legante ancillare una fosfina, 1,3,5-triaza-fosfadamantano (TPA), legante comunemente utilizzato per conferire una maggiore solubilità in acqua ai complessi dei metalli di transizione.

Con il legante saccarinato (SacH) sono stati preparati e caratterizzati tre disaccarinati omolettici di Au(I), $M[Au(Sac)_2]$, **1-M**, ($M = K^+, Na^+, NH_4^+$), un complesso eterodilettrico ed uno omolettico di Au(I) con il legante 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano (TPA), $[(TPA)Au(Sac)]$, **2**, e $[(TPA)_2Au][BF_4]$, **3-BF₄**, due saccarinati di Au(III), $K[Au(Sac)_3Cl]$, **4**, e $Na[Au(Sac)_4]$, **5** (Schema 1).⁶²

Schema 1.



I saccarinati omolettici **1-M** sono stati preparati facendo reagire l'addotto [(THT)AuCl] con l'appropriato sale della saccarina. Per lenta diffusione di dietil etere nella soluzione acetonica sono stati ottenuti i cristalli dai quali è stato possibile risolvere la struttura ai raggi X (Figura 17).

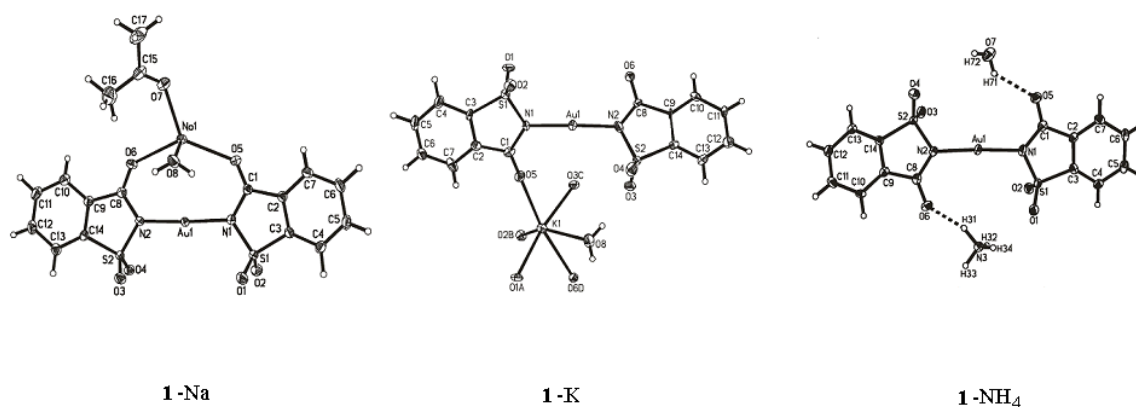


Figura 17. Ortep dei tre saccarinati omolettici di Au(I).

Le strutture dei complessi presentano l'atomo di oro coordinato alle due saccarine con la classica geometria lineare. Il complesso **1-Na** è l'unico in cui le due molecole di saccarina coordinate hanno un'orientazione *cis*, con il catione Na^+ coordinato dai due carbonili dei leganti. Nelle strutture dei complessi con $M = \text{K}^+, \text{NH}_4^+$ le saccarine presentano invece un'orientazione *trans*. In particolare lo ione potassio è coordinato ad uno dei carbonili ed a cinque molecole di acqua, mentre lo ione ammonio forma un legame a idrogeno con uno dei carbonili. Le misure di conducibilità di questi complessi suggeriscono che anche in soluzione ci sia una forte associazione tra ioni di carica opposta. I valori di conducibilità massima (misurati sia in acqua sia in acetone) sono, infatti, circa il 50% rispetto a quelli attesi per elettroliti 1:1.

Le principali distanze (Å) e gli angoli di legame (deg) in questi tre complessi sono mostrate in Tabella 1.

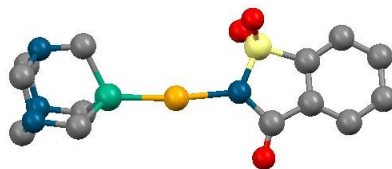
	1-Na		1-K		1-NH₄
Au(1)-N(1)	1.994(2)	Au(1)-N(1)	2.013(8)	Au(1)-N(1)	2.001(3)
Au(1)-N(2)	1.998(2)	Au(1)-N(2)	2.010(9)	Au(1)-N(2)	2.000(3)
Na(1)-O(5)	2.435(2)	K(1)-O(1)A ^{#2}	2.691(8)		
Na(1)-O(4)A ^{#1}	2.370(2)	K(1)-O(2)B ^{#3}	2.855(8)		
Na(1)-O(6)	2.419(2)	K(1)-O(3)C ^{#4}	2.718(9)		
Na(1)-O(7)	2.353(2)	K(1)-O(5)	2.689(9)		
Na(1)-O(8)	2.320(2)	K(1)-O(6)D ^{#5}	2.920(9)		
		K(1)-O(8)	2.658(8)		
S(1)-O(1)	1.438(2)	S(1)-O(1)	2.1429(8)	S(1)-O(1)	1.435(3)
S(1)-O(2)	1.435(2)	S(1)-O(2)	1.440(8)	S(1)-O(2)	1.421(3)
S(2)-O(3)	1.441(2)	S(2)-O(3)	1.441(10)	S(2)-O(3)	1.434(3)
S(2)-O(4)	1.441(2)	S(2)-O(4)	1.430(9)	S(2)-O(4)	1.431(3)
C(1)-O(5)	1.223(3)	C(1)-O(5)	1.214(15)	C(1)-O(5)	1.228(5)
C(8)-O(6)	1.219(3)	C(8)-O(6)	1.221(14)	C(8)-O(6)	1.222(5)
C(15)-O(7)	1.214(4)				
N(1)-Au(1)-N(2)	176.28(8)	N(1)-Au(1)-N(2)	178.00(8)	N(1)-Au(1)- N(2)	176.59(15)
O(5)-Na(1)-O(6)	135.34(8)	O(5)-K(1)-O(8)	99.90(3)		
O(7)-Na(1)-O(8)	89.90(9)	O(5)-K(1)-O(6)D ^{#5}	170.70(2)		
S(2)-O(4)- Na(1')	128.61(12)	O(1')-K(1)-O(3)C ^{#4}	169.60(3)		

Tabella 1. Principali distanze (Å) e gli angoli di legame (deg) per i complessi **1-M**.

Il complesso omolettico con la TPA, **3-BF₄**, è stato preparato seguendo la metodica riportata in letteratura per [(TPA)₂Au]Cl⁶³ e successiva sostituzione dello ione cloruro per reazione con un equivalente di AgBF₄.

Per reazione del complesso **3-BF₄** con un equivalente di **1-Na** è stato ottenuto il complesso **2**, che cristallizza per lenta diffusione di dietil etere nella soluzione in diclorometano. Di quest'ultimo è stata risolta la struttura ai raggi X, che evidenzia la

classica coordinazione lineare per il centro metallico, legato alla molecola di saccarina attraverso l'azoto anionico ed all'atomo di fosforo della TPA.

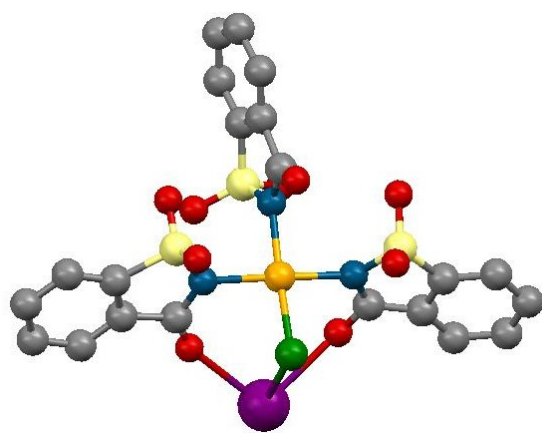


Principali distanze (Å) e gli angoli di legame
(deg)

Au(1)-N(1)	2.063(10)
Au(1)-P(1)	2.215(3)
N(1)-Au(1)-P(1)	172.10(3)

Figura 18. Ortep e principali dati strutturali per il complesso **2**.

I complessi di Au(III) sono stati preparati per reazione del sale NaAuCl₄ con sei equivalenti di saccarinato (KSac oppure NaSac) in acqua a ricadere. Solo per il complesso **4** è stato possibile ottenere dei cristalli, ma i dati strutturali non sono buoni a causa della coordinazione dello ione potassio che crea un'infinita serie all'interno del reticolo cristallino (geminazione). È stato comunque possibile stabilire la geometria di coordinazione e la natura del complesso. Il centro metallico presenta la classica geometria quadrato-planare ed è coordinato a tre molecole di saccarinato ed un cloruro. In particolare, si osserva che entrambi i gruppi SO₂ dei saccarinati in *trans* giacciono sopra il piano di coordinazione, mentre il gruppo SO₂ della saccarina in *trans* al cloruro giace dall'altra parte del piano.



Principali distanze (Å) e gli angoli di legame (deg)

Au-Cl	2.237(12)	N(1)-Au-Cl	175.9(9)
Au-N(1)	2.090(3)	N(2)-Au-Cl	90.6(5)
Au-N(2)	2.026(16)	N(3)-Au-Cl	90.1(7)
Au-N(3)	2.026(16)	N(1)-Au-N(3)	91.6(10)
		N(2)-Au-N(3)	174.8(7)

Figura 19. Ortep e principali dati strutturali per il complesso **4**.

Complessi con il 2-(piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazolo.

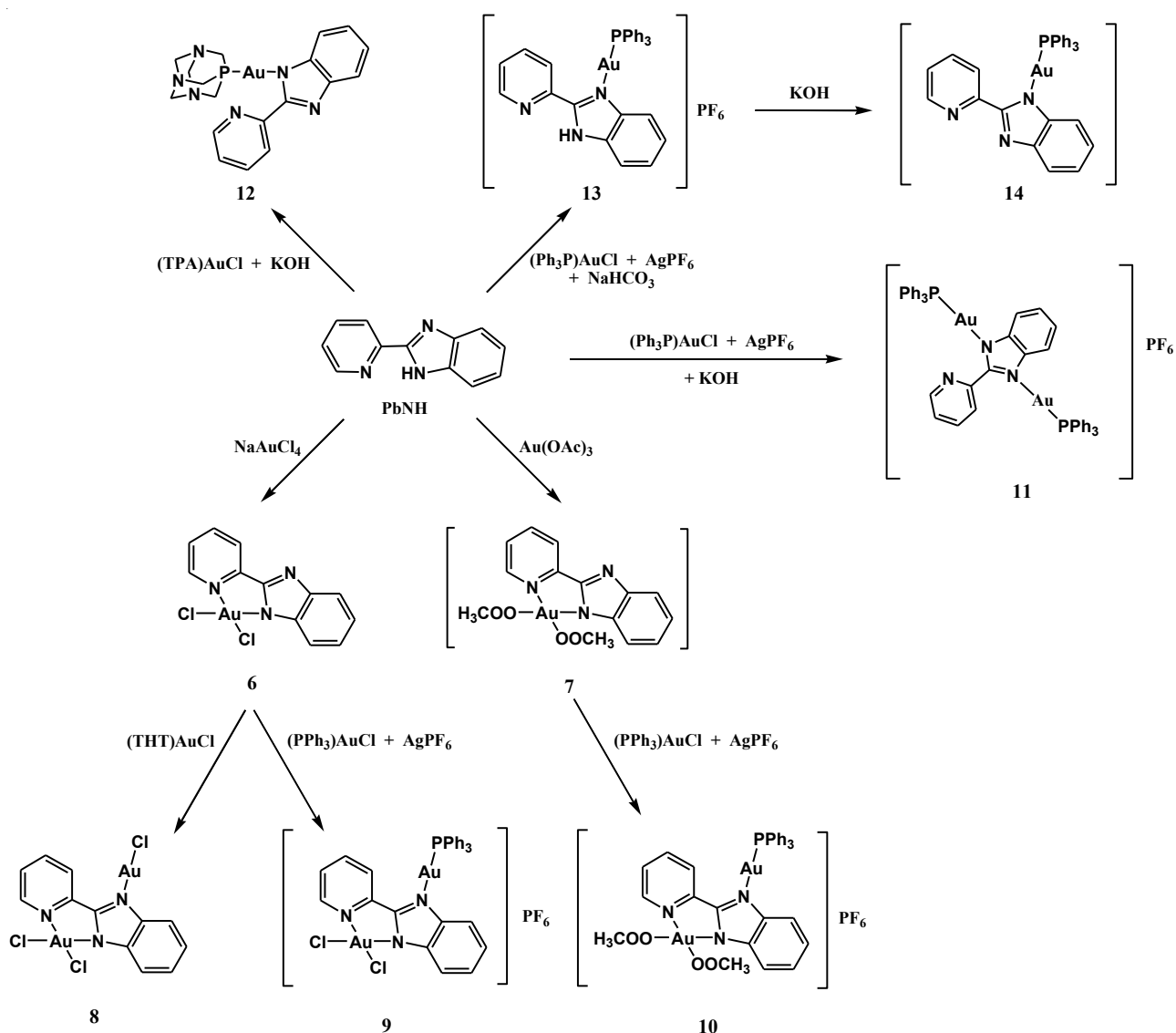
Sintesi e caratterizzazione strutturale.

Il legante 2-(piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazolo, PbNH, mostra attività biologica come inibitore enzimatico ed antibatterico⁶⁴ ed i suoi derivati sono noti avere proprietà anti-infiammatorie⁶⁵. Sono inoltre già noti di suoi complessi di Pt(II) e Pd(II), che risultano essere mutageni e citotossici nei confronti di diverse linee cellulari⁶⁶.

Il legante è stato preparato, seguendo la metodica riportata in letteratura, per condensazione dell'acido picolinico con *o*-fenilendiammina in acido polifosforico⁶⁷.

Contiene tre atomi di azoto come possibili donatori, in particolare due azoti imminici ed un azoto amminico che può essere facilmente deprotonato. Esso agisce da chelante tramite l'atomo di azoto piridinico e quello amminico deprotonato nei confronti dell'oro(III), mentre nei complessi di Au(I) la coordinazione avviene attraverso uno dei due atomi di azoto imidazolici formando derivati neutri o cationici. Essendo presenti più atomi donatori è stato possibile preparare anche complessi dinucleari di Au(III) ed Au(I)⁶⁸.

Schema 2.



Complessi di Au(III).

L'addotto **6** è stato preparato per reazione del legante PbNH con un equivalente di NaAuCl₄ in miscela MeCN-H₂O a temperatura ambiente. La specie neutra si ottiene anche conducendo la reazione in presenza di KPF₆. In questo derivato il legante funge da bidentato e coordina il metallo attraverso l'azoto piridinico e quello amminico deprotonato dell'anello imidazolico, completano la coordinazione quadrato-planare due ioni cloruro. La formazione della specie neutra è stata confermata dall'assenza del segnale del protone amminico nello spettro ¹H NMR. I segnali degli altri protoni risultano tutti a campi più bassi. Questa specie ha una solubilità molto scarsa nei comuni solventi, probabilmente a causa della planarità che rende possibili interazioni π tra gli anelli aromatici del legante ed eventuali deboli interazioni Au...Au causando l'impilamento (stacking) delle molecole.

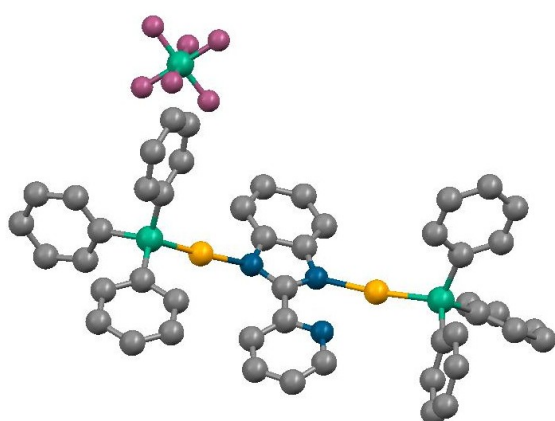
Utilizzando un equivalente di [Au(OAc)₃] come sale di partenza si ottiene invece il derivato **7**, molto più solubile del dicloruro. Anche in questo caso il legante coordina attraverso la piridina e l'azoto amminico deprotonato formando la specie neutra con i due leganti acetato. Lo spettro ¹H NMR mostra i segnali dei protoni metilici dei due leganti acetato a 2.14 e 2.23 ppm, rispettivamente; i segnali del PbN sono shiftati a campi più bassi rispetto al dicloruro.

Complessi di Au(I).

Addotti mononucleari sono stati ottenuti anche per reazione del legante PbNH con i complessi fosfinici di oro(I) PR₃AuCl, o con intermedi solvato [(PR₃)Au(solvo)]⁺ generati *in situ* per reazione del cloruro con sali d'argento. Nel complesso [(PbNH)Au(PPh₃)]⁺[PF₆]⁻, **13**-PF₆, ottenuto per reazione di PbNH e [(Ph₃P)Au(solvo)]⁺[PF₆]⁻ in presenza di NaHCO₃, il frammento PPh₃Au⁺ risulta legato all'azoto imminico dell'anello imidazolico. Questo complesso può essere facilmente convertito nella specie neutra [(PbN)Au(PPh₃)], **14**, deprotonando l'azoto amminico con un equivalente di KOH in MeOH. Il complesso **13**-PF₆ è caratterizzato, nello spettro IR, dalla presenza degli stiramenti a 3322 cm⁻¹ (stiramento N-H), 1105 cm⁻¹ (PPh₃) ed 840 cm⁻¹ (PF₆⁻). Nello spettro ¹H NMR i segnali relativi ai protoni aromatici risuonano a campi più bassi rispetto al legante libero e si osserva un segnale a 11.7 ppm attribuito al gruppo N-H, mentre nello spettro ³¹P NMR si osservano un multipletto a -142.8 ppm, relativo allo ione PF₆⁻, e un singoletto a 32.3 ppm, relativo alla PPh₃; il valore di

chemical shift è in accordo con un atomo di azoto in *trans* alla fosfina. Il complesso **14** è invece caratterizzato, nello spettro IR, dalla banda della fosfina a 1101 cm⁻¹ e dall'assenza di quelle relative allo ione PF₆⁻ ed al legame N-H, mentre nello spettro ¹H NMR si nota la scomparsa del segnale relativo alla risonanza del protone amminico. Nello spettro ³¹P NMR si osserva un leggero shift del segnale della fosfina, che cade a 33.8 ppm, rispetto all'analogia specie cationica.

Se invece la reazione tra il legante e la solvato specie [(Ph₃P)Au(solvo)][PF₆] viene condotta in presenza di KOH si forma direttamente il complesso dinucleare [(PPh₃)Au(PbN)Au(PPh₃)]⁺[PF₆]⁻, **11**-PF₆, in cui i due frammenti [Au(PPh₃)]⁺ sono legati ciascuno ad un atomo di azoto dell'anello imidazolico. Questo derivato si forma anche operando con un rapporto PbNH: Au(I) = 1:1. Lo spettro ¹H NMR mostra un rapporto di integrazione tra i protoni della fosfina e quelli del PbN di 2:1. Nello spettro ³¹P NMR, oltre al multipletto a -143.4 ppm relativo allo ione PF₆⁻, si osserva un unico segnale a 32.7 ppm per le fosfine coordinate, indicando l'equivalenza dei due atomi di azoto dovuta alla risonanza. La struttura del complesso dinucleare **11**-PF₆ è stata confermata da una analisi strutturale ai raggi-X.

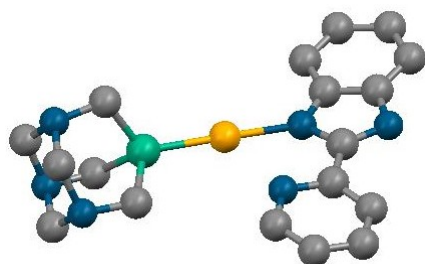


Distanze (Å) ed angoli di legame (°)	
Au(1)-N(1)	2.092(6)
Au(1)-P(1)	2.222(2)
Au(2)-N(2)	2.066(5)
Au(2)-P(2)	2.237(2)
P(1)-Au(1)-N(1)	173.7(2)
P(2)-Au(2)-N(2)	175.0(2)

Figura 20. Ortep e principali dati strutturali per il complesso **11**-PF₆.

Come si può osservare nella figura, entrambi i centri metallici presentano la classica coordinazione pressoché lineare. Il piano contenente il benzoimidazolo e quello contenente l'anello piridinico non sono coplanari e presentano un angolo diedro di 18.2(4)°. È interessante osservare anche che le linee definite dai frammenti P(1)-Au(1)-N(1) e P(2)-Au(2)-N(2) formano un angolo di 50.2(2)°.

Per reazione del legante con il complesso [(TPA)AuCl] in presenza di KOH in MeCN-H₂O è stato ottenuto il derivato neutro **12**, in cui il legante coordina l'oro attraverso l'azoto amminico deprotonato. Nello spettro ¹H NMR si osserva che anche per questa specie di Au(I) i segnali sono shiftati a campi più bassi rispetto al legante. I segnali della TPA sono in rapporto 1:1 con quelli del PbN, in accordo con la formulazione del mononucleare neutro. Nello spettro ³¹P NMR il segnale della TPA è a -65.1 ppm, compatibile con un atomo di azoto in *trans* alla fosfina. Per confronto: la risonanza della TPA non coordinata è a -96.7 ppm mentre quella della TPA in (TPA)AuCl è a -51.4 ppm. La struttura del composto è stata risolta mediante diffrazione dei raggi-X.



Distanze (Å) ed angoli di legame (°)

Au(1)-N(1)	2.063(10)
Au(1)-P(1)	2.205(4)
P(1)-Au(1)-N(1)	177.6(3)

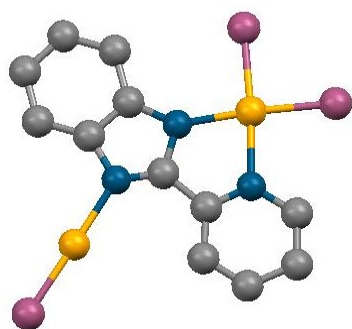
Figura 21. Ortep e principali dati strutturali per il complesso **12**.

Anche in questa struttura l'anello piridinico e il benzoimidazolo non sono coplanari: l'angolo diedro fra i due piani è di 12.7(5)°. L'oro, legato all'azoto amminico dell'imidazolo e all'atomo di fosforo della TPA, presenta l'usuale coordinazione lineare.

Complessi dinucleari misti Au(I)Au(III).

Considerato che nei complessi di oro(III) **6** e **7** è presente un atomo di azoto non impegnato nella coordinazione, si è pensato di utilizzarli come “leganti” neutri monodentati nei confronti di derivati di oro(I). Per reazione del composto **6** con [(THT)AuCl] e [(Ph₃P)Au(solvent)][PF₆] si sono così ottenute, rispettivamente, le specie dinucleari [ClAu^I(PbN)Au^{III}Cl₂], **8**, e [(PPh₃)Au(PbN)AuCl₂][PF₆], **9**-PF₆, mentre per reazione di **7** con

$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{solv})][\text{PF}_6]$ è stato ottenuto il complesso cationico $[(\text{PPh}_3)\text{Au}(\text{PbN})\text{Au}(\text{OAc})_2][\text{PF}_6]$, **10**- PF_6 , nei quali l'oro è presente negli stati di ossidazione +I e +III. Il derivato **8** è, come il suo precursore **6**, scarsamente solubile in quasi tutti i solventi, probabilmente a causa dello stacking. Lo spettro ^1H NMR mostra i segnali del PbN a campi più alti rispetto all'addotto di partenza, con l'unica eccezione del protone in 4' adiacente all'azoto coordinato all' AuCl . Per questo composto è stato possibile risolvere la struttura ai raggi-X (Figura 22). Il centro di oro(III) presenta una coordinazione quadrato-planare leggermente distorta mentre il centro di oro(I) mostra geometria lineare. Le distanze $\text{Au}(1)\text{-N}(1)$ e $\text{Au}(2)\text{-N}(2)$ sono coincidenti mentre il legame $\text{Au}(3)\text{-N}(3)$ risulta leggermente allungato; le tre distanze Au-Cl sono anche queste coincidenti.



Principali distanze (Å) ed angoli di legame (°)

$\text{Au}(1)\text{-Cl}(1)$	2.24(2)	$\text{Au}(1)\text{-N}(1)$	2.02(3)
$\text{Au}(1)\text{-Cl}(2)$	2.28(2)	$\text{Au}(1)\text{-N}(2)$	2.00(4)
$\text{Au}(2)\text{-Cl}(3)$	2.24(1)	$\text{Au}(2)\text{-N}(3)$	2.10(4)
$\text{Cl}(1)\text{-Au}(1)\text{-N}(1)$	96.7(1)	$\text{Cl}(1)\text{-Au}(1)\text{-Cl}(2)$	88.3(1)
$\text{N}(1)\text{-Au}(1)\text{-N}(2)$	78.8(1)	$\text{Cl}(2)\text{-Au}(1)\text{-N}(2)$	96.2(1)
$\text{Cl}(1)\text{-Au}(1)\text{-N}(2)$	175.5(1)	$\text{Cl}(2)\text{-Au}(1)\text{-N}(1)$	174.2(1)
		$\text{Cl}(3)\text{-Au}(2)\text{-N}(3)$	178.3(1)

Figura 22. Ortep e principali dati strutturali per il complesso **8**.

Il complesso cationico **9**- PF_6 risulta, invece, un po' più solubile rispetto al mononucleare di partenza. Nello spettro ^1H NMR i segnali del PbN risultano a campi più bassi rispetto a quelli dell'addotto di partenza. Nello spettro ^{31}P NMR si osserva un segnale a 32.7 ppm della fosfina coordinata e la risonanza dello ione PF_6^- a -143.5 ppm.

Lo spettro ^1H NMR del composto **10**- PF_6 mostra, oltre ai segnali del PbN e dei due gruppi acetato a 2.29 e 2.34 ppm, rispettivamente, i segnali relativi ai protoni della PPh_3 con un rapporto di integrazione 1:1 rispetto al PbN.

Nonostante i vari tentativi, sia a partire dal derivato di oro(III) **7** che da quello di oro(I) **12**, non è stato possibile ottenere alcun derivato dinucleare con il frammento $[(\text{TPA})\text{Au}]^+$.

Studi preliminari di voltammetria ciclica.

Su alcuni dei complessi sintetizzati sono state fatte delle analisi con tecniche voltammetriche volti a studiarne il comportamento redox. La tecnica scelta è quella della voltammetria ciclica, una metodica elettrochimica potenziodinamica basata sull'applicazione di un potenziale a forma di onda triangolare a un elettrodo stazionario immerso in una soluzione non agitata in modo da indurre prima l'ossidazione e poi la riduzione (e viceversa) di una specie elettroattiva.

Purtroppo la scarsa solubilità ($<1 \cdot 10^{-4}$ M) dei complessi analizzati, nelle condizioni di lavoro provate sinora, non ha permesso ancora di ottenere dati certi e, soprattutto, di facile interpretazione, per cui non è ancora possibile attribuire i segnali con precisione e certezza. Il solvente con il quale sono stati ottenuti i voltammogrammi migliori è il diclorometano con $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{BF}_4]$ (0.1 M) come elettrolita di supporto. L'elettrodo di lavoro e quello di riferimento utilizzati sono rispettivamente di Pt ed Ag-AgCl.

Di seguito vengono riportati i voltammogrammi ottenuti per i 4 complessi analizzati.

$[\text{Au}(\text{PbN})\text{Cl}_2]$, **6**.

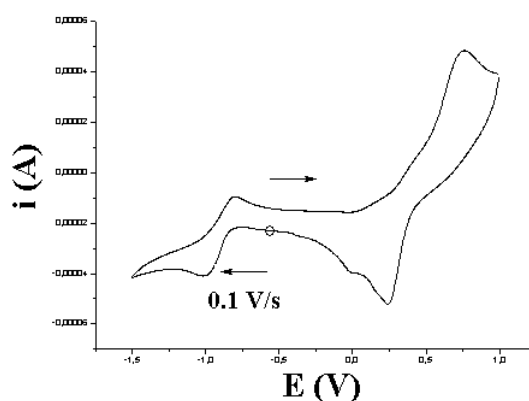


Figura 23. Voltammogramma registrato per il complesso **6**, CH_2Cl_2 , $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{BF}_4]$ (0.1 M).

Nel voltammogramma registrato per il complesso **6**, si osserva un segnale attribuibile alla deposizione di $\text{Au}(0)$ a -245 mV. A potenziali negativi si osserva un processo reversibile ($E_{1/2} = -967$ mV), in cui è coinvolto un solo elettrone, a carico del piridile del legante. Si

osservano inoltre un'altra riduzione a -80 mV (imidazolo del legante) e un'ossidazione a potenziali positivi (767 mV) che potrebbe anche essere relativa alla ri-ossidazione di Au(0) ad Au(III).

$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}^{\text{I}}(\text{PbN})\text{Au}^{\text{III}}\text{Cl}_2][\text{PF}_6]$, **9-PF₆**.

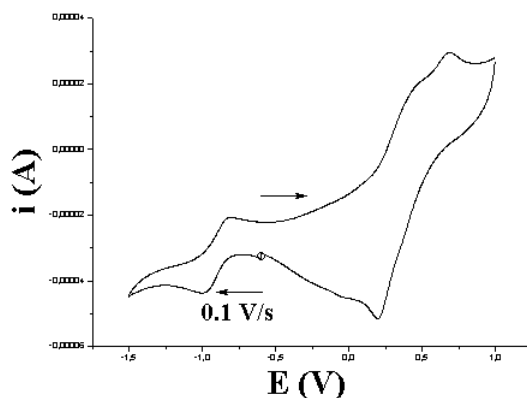


Figura 24. Voltammogramma registrato per il complesso **9-PF₆**, CH₂Cl₂, [Bu₄N][BF₄] (0.1 M).

Si osserva un segnale attribuibile alla deposizione di Au(0) a 230 mV. A potenziali negativi si osserva anche in questo caso un processo reversibile ($E_{1/2} = -900$ mV) in cui è coinvolto un solo elettrone (piridile). Molto vicino, ed in parte coperto, risulta il picco di riduzione a carico dell'imidazolo, e un'evidente ossidazione a 620 mV vicino ad un picco poco pronunciato di ossidazione a ≈ 500 mV. Di questi uno può essere attribuito ad una possibile ri-ossidazione di Au(0) ad Au(III) e l'altro all'ossidazione di Au(I) ad Au(III).

$(\text{Ph}_3\text{PAu})_2(\text{PbN})][\text{PF}_6]$, **11-PF₆**.

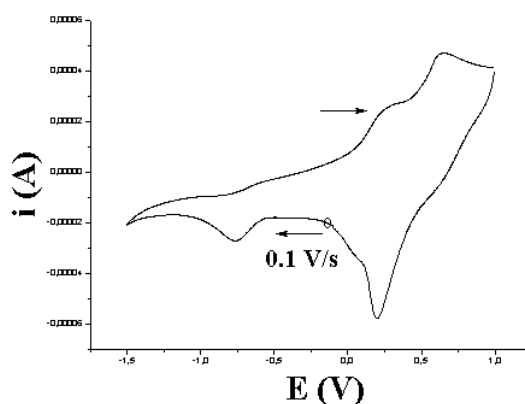


Figura 25. Voltammogramma registrato per il complesso **11-PF₆**, CH₂Cl₂, [Bu₄N][BF₄] (0.1 M).

Si osserva un segnale attribuibile alla deposizione di Au(0) a 203 mV. Si osservano 2 processi di ossidazione a potenziali positivi (330 mV e 632 mV) attribuibili ai due centri metallici separati oppure uno alla ri-ossidazione di Au(0) a Au(I) o a Au(III) e l'altro all'ossidazione di un Au(I) ad Au(III): ancora non siamo in grado di stabilire quale delle ipotesi sia la più plausibile. Si osserva inoltre una riduzione a -766 mV, probabilmente a carico del legante.

[(TPA)Au(PbN)], **12**.

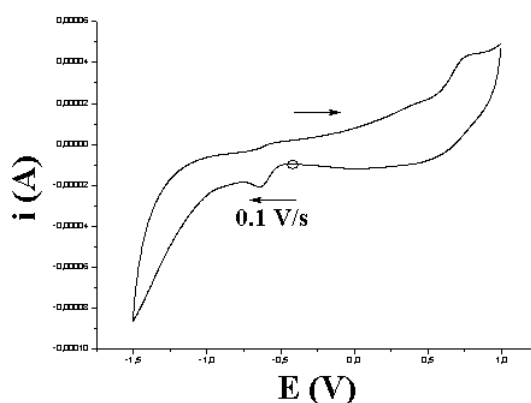


Figura 26. Voltammogramma registrato per il complesso **12**, CH₂Cl₂, [Bu₄N][BF₄] (0.1 M).

Per questo complesso non si osserva un segnale attribuibile alla deposizione di Au(0) nemmeno in altri solventi o con diversi elettroliti di supporto. Sono visibili invece una riduzione a -627 mV (legante) ed un picco di ossidazione a ≈ 750 mV attribuibile al centro metallico. Alcuni dei segnali osservati per i complessi con PbN sono attribuibili a processi di riduzione a carico del legante che in CH₂Cl₂ (1·10⁻¹M Bu₄NPF₆) mostra un processo reversibile a $E_{1/2} = -1.04$ V assegnato alla riduzione del piridile ed uno quasi-reversibile a -0.03 V assegnato invece ad un processo di riduzione sull'imidazolo⁶⁹, in cui $E_{1/2}$ è la media dei potenziali di picco anodico e catodico.

Le prospettive per il proseguimento di questo studio sono quelle di trovare un sistema solvente/elettrolita di supporto migliore, che consenta di raggiungere concentrazioni maggiori degli analiti in soluzione ed integrare lo studio con altre tecniche quali DPV (differential pulse voltammetry), coulombmetria ed eventualmente calcoli DFT, in modo da poter attribuire i segnali osservati.

Complessi con piridinil-ossazoline chirali.

Sintesi e caratterizzazione strutturale.

Le piridinil-ossazoline (pyox^R) fungono da chelanti attraverso i due donatori imminci e formano dei complessi soddisfacentemente stabili. Generalmente si è osservato che questa classe di leganti coordina il metallo con i due atomi di azoto piuttosto che con l'ossigeno. I derivati con Pt(II) e Pd(II) sono già noti, sia per la loro attività biologica e capacità di dare interazioni con il DNA, sia per l'attività dei (complessi di Pd(II)) in catalisi asimmetrica⁷⁰, ma sono pochi i complessi di oro(III) con derivati ossazolinici riportati sinora in letteratura⁷¹. Sono stati sintetizzati e caratterizzati una serie di addotti di Au(III) con piridinil ossazoline chirali⁷², in particolare, con i leganti (*S*)-4-*R*-2-(piridin-2-il)-4,5-diidroossazolo, [R = CHMe₂ (^{*i*}Pr), CH₂Ph (Bn)] e (*R*)-4-Ph-2-(piridin-2-il)-4,5-diidroossazolo (pyox^R) (Figura 27).

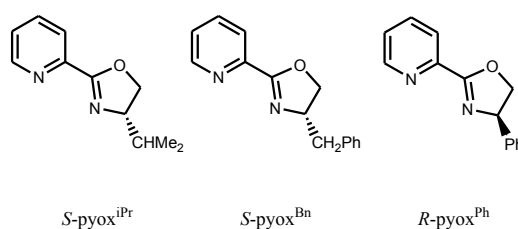


Figura 27. Leganti pyox^R .

I leganti sono stati preparati a partire dalla 2-ciano-piridina e dal corrispondente amminoalcol secondo la metodica riportata in letteratura⁷³. Per reazione di pyox^{iPr} con un equivalente di NaAuCl₄ in presenza di un eccesso di KPF₆ è stato ottenuto il corrispondente addotto cationico [Au(pyox^{iPr})Cl₂][PF₆], **15**-PF₆, in cui la piridinil ossazolina coordina il metallo attraverso i due eteroatomi di azoto, come osservato in precedenza con questo tipo di leganti. Con gli altri due leganti, la stessa reazione porta alla formazione degli addotti cationici [Au(N[^]N)Cl₂][AuCl₄]_x[PF₆]_{1-x}, dove N[^]N = pyox^{Bn} , **16**⁺, e pyox^{Ph} , **17**⁺. Con il legante pyox^{Bn} è stato possibile ottenere la specie [Au(pyox^{Bn})Cl₂][PF₆], **16**-PF₆, per reazione di NaAuCl₄ con il legante in presenza di due equivalenti di AgPF₆. L'addotto **15**-AuCl₄ è stato invece ottenuto senza aggiungere KPF₆ alla miscela di reazione.

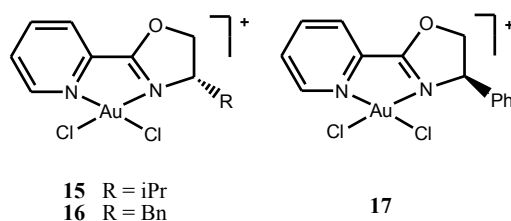


Figura 28. Addotti cationici con i leganti pyox^R.

Degli addotti **15**-AuCl₄ e **17**-[AuCl₄]_x[PF₆]_{1-x} è stato possibile ottenere i cristalli adatti per l'analisi strutturale ai raggi X. Per entrambi si ha conferma che il legante funge da bidentato e coordina il metallo attraverso i due donatori all'azoto. La struttura di **15**-AuCl₄ consiste nell'impaccamento di cationi **15** ed anioni [AuCl₄]⁻ in rapporto 1:1, in cui il centro metallico mostra la classica geometria quadrato planare. La struttura del complesso **17**-[AuCl₄]_x[PF₆]_{1-x} consiste invece nell'impaccamento del catione **17** e dei due anioni, [AuCl₄]⁻ e [PF₆]⁻, in rapporto 2:1:1. Anche in questo caso si osserva la geometria di coordinazione approssimativamente quadrato planare.



Figura 29. Ortep e dati strutturali per gli addotti **15**[AuCl₄] e **17**[AuCl₄]_{0.5}[PF₆]_{0.5}.

Principali distanze (Å) ed angoli (°) di legame

	15 [AuCl ₄]	17 [AuCl ₄] _{0.5} [PF ₆] _{0.5}
Au(1)-Cl(1)	2.255(2)	2.256(2)
Au(1)-Cl(2)	2.245(2)	2.250(2)
Au(1)-N(1)	2.047(6)	2.055(4)
Au(1)-N(11)	2.002(6)	2.030(4)
Cl(1)-Au(1)-Cl(2)	89.4(1)	90.6(1)
Cl(1)-Au(1)-N(1)	94.5(2)	93.9(1)
Cl(1)-Au(1)-N(11)	175.3(2)	174.1(1)
Cl(2)-Au(1)-N(1)	176.1(2)	175.2(1)
Cl(2)-Au(1)-N(11)	95.1(2)	95.3(1)
N(1)-Au(1)-N(11)	81.0(2)	80.3(2)

Reattività degli addotti.

Con l'intento di studiare la reattività degli addotti sintetizzati, sono state condotte alcune reazioni esplorative, con particolare attenzione al complesso **15**-PF₆.

Abbiamo osservato che la reazione di sostituzione dei leganti cloruro con sali di argento porta ad una miscela non identificata di prodotti che non è stato possibile separare ed identificare, oltre che alla formazione di oro metallico. Dalla reazione con MeONa in MeOH è stato ottenuto il derivato [Au(pyox^{iPr})Cl(OMe)][PF₆], **18**-PF₆, come miscela 1:5 dei due isomeri geometrici, ossia il derivato il cui il gruppo metosso è coordinato in *trans* all'azoto piridinico e quello in cui è in posizione *trans* rispetto all'azoto ossazolinico (criterio ¹H NMR). L'esperimento NOE condotto sul campione suggerisce che l'isomero più abbondante è quello con il gruppo MeO in *trans* all'ossazolina. La sostituzione del secondo cloruro non è stata osservata neppure con un forte eccesso di MeONa.

Un'altra reazione interessante è quella di idrolisi dei legami Au-Cl con AcONa in H₂O-MeCN, che per i derivati con le 2,2'-bipiridine porta alla formazione di ossocomplessi a ponte dinucleari del tipo [Au(bipy^R)(μ-O)]₂[PF₆]₂. Con l'intento di ottenere un derivato analogo con questi leganti, gli addotti sono stati fatti reagire con due equivalenti di AcONa in presenza di un eccesso di KPF₆ in H₂O/MeCN a ricadere. La reazione degli addotti **15**-PF₆ ed **17**[AuCl₄]_{0.5}[PF₆]_{0.5} non ha portato alla formazione di ossocomplessi, bensì a due nuove specie neutre derivanti dall'apertura dell'anello ossazolinico ed alla formazione dei derivati **19** e **20**, con formula generale [Au(N[^]N[^]O)Cl], in cui N[^]N[^]O è il legante "aperto" deprotonato *N*-(1-idrossi-3-*R*-2-il)piridinil-2-carbossammide, N,NH,OH, risultante dalla rottura del legame C-O nell'anello ossazolinico ad opera di ioni idrossido.

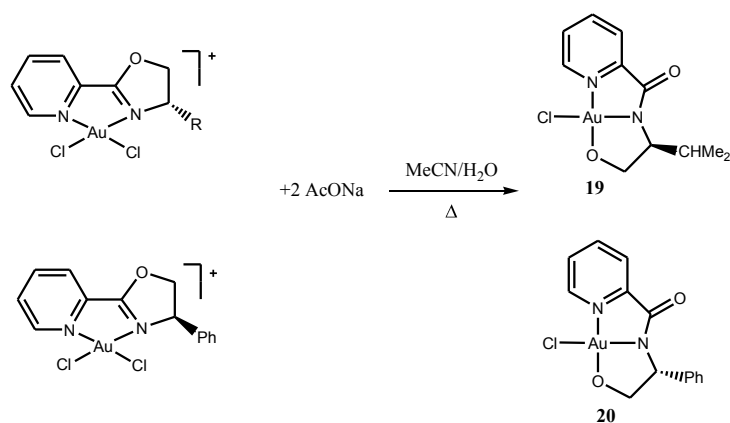
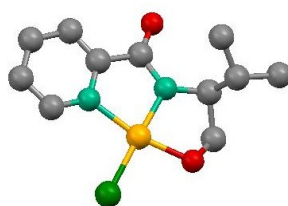


Figura 30. Reazione di idrolisi dei legami Au-Cl sui complessi **15**[PF₆] ed **17**[AuCl₄]_{0.5}[PF₆]_{0.5}.

Il derivato **19** è il più stabile, sia allo stato solido che in soluzione. I cristalli sono stati ottenuti per lenta diffusione di dietil etere nella soluzione in diclorometano.



Principali distanze (Å) ed angoli (°) di legame

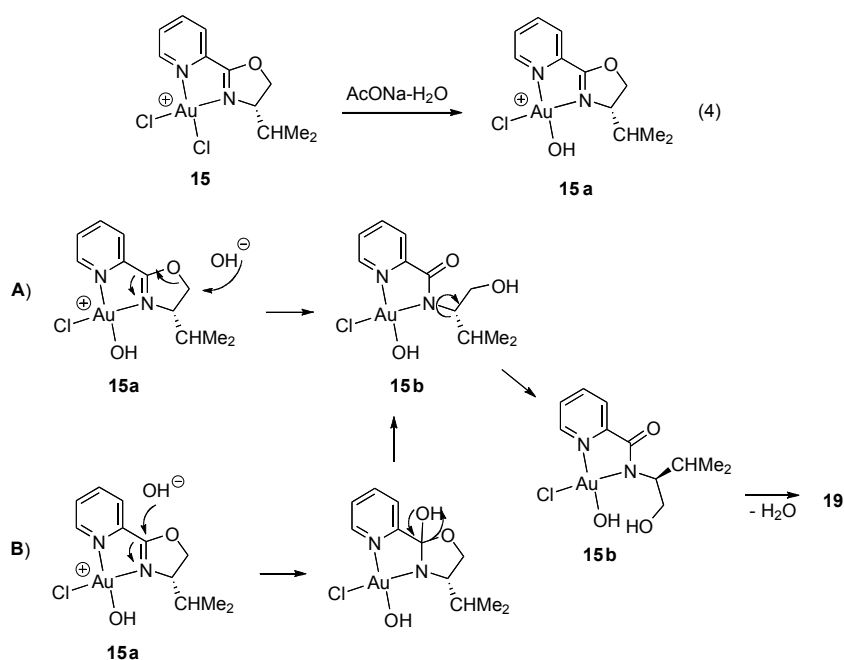
Au-Cl	2.283(4)	Au-O(2)	1.954(8)
Au-N(1)	2.036(9)	Au-N(11)	1.929(11)
C(1)-C(11)	1.484(20)	C(11)-O(1)	1.218(16)
C(11)-N(11)	1.410(19)	C(13)-O(2)	1.427(16)
Cl-Au-O(2)	95.7(3)	Cl-Au-N(1)	97.8(3)
Cl-Au-N(11)	178.9(4)	O(2)-Au-N(1)	166.6(4)
O(2)-Au-N(11)	83.3(4)	N(1)-Au-N(11)	83.3(5)
N(11)-C(11)-O(1)	124.4(14)	C(1)-C(11)-O(1)	124.4(14)

Figura 31. Principali dati strutturali per il derivato **19**.

Questa classe di leganti subisce facilmente idrolisi per dare le corrispondenti N-β-idrossietilcarbossammidi anche per esposizione all'aria per qualche settimana⁷⁴. La reazione sul legante coordinato è già stata precedentemente osservata con complessi di Pd(II)⁷⁵ ed è comunemente utilizzata per fini sintetici⁷⁶. Nel caso dell'addotto **15**, il meccanismo di reazione più probabile prevede un primo step di idrolisi in cui si forma il derivato idrossi-cloruro [Au(pyox^{iPr})Cl(OH)]⁺ (già osservato nella reazione con AcONa degli addotti analoghi della 2,2'-bipiridina). Successivamente, questo intermedio subisce un attacco nucleofilo da parte di ioni ossidrilici, che può avvenire o sulla posizione 5 (Meccanismo A) o sul carbonio imminico dell'anello ossazolinico (Meccanismo B), per poi dare il derivato **19** con un successivo riarrangiamento e perdita di una molecola di acqua (Schema 3).

Schema 3.

Meccanismo di reazione ipotizzato per la formazione del derivato **19**.



La reazione di apertura dell'anello è stata effettuata anche sul legante non coordinato nelle stesse condizioni menzionate sopra. Il derivato **19** è stato ottenuto con una migliore resa per sintesi diretta a partire dalla forma aperta del legante N[^]NH[^]OH con la quantità equimolare

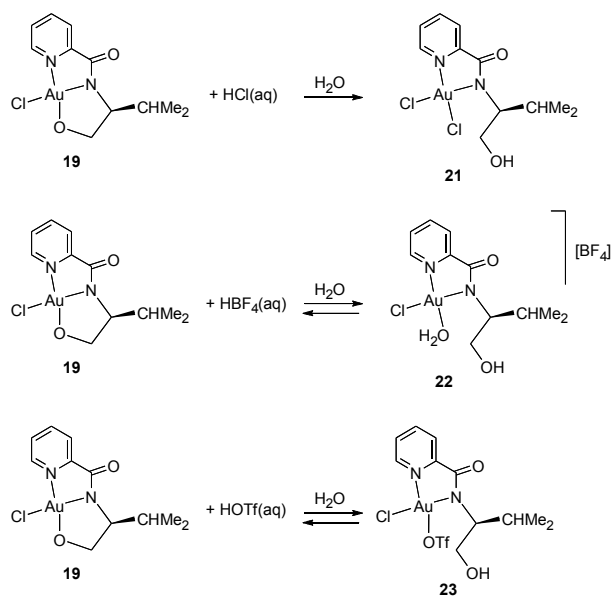
di NaAuCl_4 , ed in presenza di due equivalenti di AcONa , nelle stesse condizioni di reazione. In assenza della base, si ottiene invece una miscela contenente il derivato **19**, in piccola parte, e l'analogo $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{OH})\text{Cl}_2]$, **21**, ottenuto anche per reazione di **19** con acido cloridrico (*vide infra*).

Reattività del derivato 19: reazioni con acidi protici.

I complessi **19** ed **20** possono essere derivati utili come precursori catalitici, e sono già riportati in letteratura studi condotti su derivati simili in cui i leganti coordinano come bidentati $\text{N}^{\wedge}\text{O}^{77}$, come terdentati $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O}^{78}$ o come tetradentati $\text{O}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O}^{78,79}$. Per questo motivo, abbiamo pensato di studiare la reattività con acidi protici HX aventi anioni con diversa capacità coordinante, in modo da protonare l'ossigeno legato al centro metallico e creare una vacanza coordinativa. Gli acidi scelti per questo studio sono HCl , acido trifluorometansulfonico (HOTf) ed HBF_4 , in cui la capacità coordinante varia secondo $\text{Cl}^- > \text{OTf}^- > \text{BF}_4^-$. Le reazioni sono state condotte in ambiente acquoso. Per reazione di **19** con HCl la protonazione porta alla rottura del legame Au-O ed alla creazione di una posizione libera nella sfera di coordinazione che viene poi occupata dallo ione cloruro per dare il derivato **21** con una resa elevata. Come atteso, dalla reazione con gli altri due acidi si recupera quasi tutto il derivato di partenza, il che suggerisce che le reazioni siano reversibili. Tuttavia i prodotti di reazione, ottenuti in piccola quantità, sono stati caratterizzati in soluzione mediante spettroscopia ^1H NMR. In particolare, per reazione con HBF_4 è stato ottenuto l'acqua complesso $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{OH})\text{Cl}(\text{OH}_2)]\text{BF}_4$, **22**. Questo è stato identificato all' ^1H NMR (d_6 -acetone) per la presenza di un segnale largo a 5.80 ppm, con integrale 2, consistente con una molecola di acqua coordinata. In accordo con quanto detto, tale segnale scompare per aggiunta di D_2O e si osserva la comparsa di uno nuovo a 4.04 ppm indicativo di DHO. Per reazione con HOTf i dati ottenuti dalla registrazione degli spettri ^1H NMR, in cui si osserva lo shift dei segnali del legante pyox, suggeriscono invece la formazione del derivato $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{OH})\text{Cl}(\text{OTf})]$, **23**. Tuttavia, non essendo riusciti ad isolare il complesso, non è stato possibile caratterizzare completamente la specie formatasi.

Schema 4.

Reazioni con acidi protici HX (X = Cl⁻, BF₄⁻, OTf⁻)



La struttura del complesso **21** è stata invece risolta mediante diffrazione dei raggi-X su cristallo singolo. Nel complesso il centro metallico mostra geometria quadrato planare con una lieve distorsione tetraedrica (Figura 32). Le distanze ed angoli di legame sono abbastanza normali e confrontabili con quelle osservate per i complessi **15** e **17**.

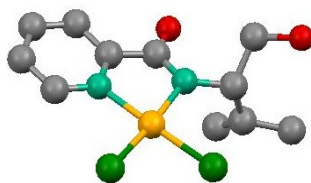


Figura 32. Ortep e principali dati strutturali del derivato **19**.

Principali distanze (Å) ed angoli (°) di legame			
Au-Cl(1)	2.277(3)	Au-Cl(2)	2.274(3)
Au-N(1)	2.001(8)	Au-N(11)	2.043(8)
C(1)-C(11)	1.462(11)	C(11)-O(1)	1.250(12)
C(11)-N(11)	1.340(12)		
Cl(1)-Au-Cl(2)	87.9(1)	Cl(1)-Au-N(1)	94.8(3)
Cl(1)-Au-N(11)	175.5(2)	Cl(2)-Au-N(1)	177.0(3)
Cl(2)-Au-N(11)	96.3(2)	N(1)-Au-N(11)	81.0(3)
N(11)-C(11)-O(1)	123.0(7)	C(1)-C(11)-O(1)	120.8(8)

Test preliminari sull'attività catalitica del derivato 19.

Sono stati condotti alcuni test esplorativi sulla reattività del derivato **19** con olefine modello, tra le quali stirene (Sty), *p*-metossi-stirene, (*p*-MeOSty) ed etilene, con l'intento di verificare se il complesso sia in grado di attivare questo tipo di legami. Per attivare la specie abbiamo pensato a due tipi di approcci. Il primo prevede la creazione di una vacanza coordinativa mediante astrazione del legante cloruro con sali d'argento. La molecola di solvente nel risultante complesso solvato $[\text{Au}(\text{N},\text{N},\text{O})(\text{solv})]^+$, essendo debolmente coordinata, rende facilmente disponibile questa posizione per il substrato, mentre rimane intatta la coordinazione del legante. Effettivamente, abbiamo osservato che questo derivato è in grado di fungere da iniziatore di polimerizzazione per Sty e *p*-MeOSty (5 mol %, solvente CH_2Cl_2 o MeCN, 25 °C). In particolare, con il *p*-MeOSty si osserva il 100% di conversione in meno di 15 minuti, con una reazione fortemente esotermica. Con questa procedura non si recupera, tuttavia, il catalizzatore, il che lascia pensare che il centro metallico, una volta esaurito il substrato, venga ridotto ad Au(0). Il polimero ottenuto presenta, infatti, una colorazione viola chiaro molto uniforme ad indicare la presenza di oro finemente disperso. Nel caso dello stirene la resa è inferiore. Si osservano gli stessi risultati utilizzando come scavenger per il cloruro il sale di Brookhart, $\text{Na}[\text{BAR}_4']$, nelle stesse quantità, tuttavia, in questo caso non si ha decomposizione del catalizzatore. La stessa reazione con etilene invece non ha avuto successo a causa della decomposizione immediata del complesso.

Il secondo approccio è stato quello di generare *in situ* un diverso complesso solvato per protonazione dell'ossigeno coordinato con $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ e successiva aggiunta dell'olefina (4-0.9 mol %, **19** + H^+ 1:1, CH_2Cl_2 , 25 °C). La polimerizzazione è istantanea e fortemente esotermica nel caso del *p*-MeOSty, mentre lo Sty non viene polimerizzato in queste condizioni. Con questa procedura il derivato **19** viene recuperato quantitativamente.

I polimeri ottenuti sono stati caratterizzati sia con misurazioni al DSC (Differential Scanning Calorimetry), attraverso le quali sono state registrate le temperature di transizione vetrosa che corrispondono a quelle riportate in letteratura, sia attraverso spettroscopia NMR. In particolare, gli spettri ^{13}C NMR suggeriscono che il poli-*p*-MeOSty, ottenuto attraverso le due diverse procedure, non è stereo regolare, così come il polistirene ottenuto attivando l'iniziatore con sale di argento. Da quanto risulta dallo stato dell'arte, questo è il secondo esempio riportato di polimerizzazione di olefine catalizzata da complessi di oro in condizioni omogenee¹⁶.

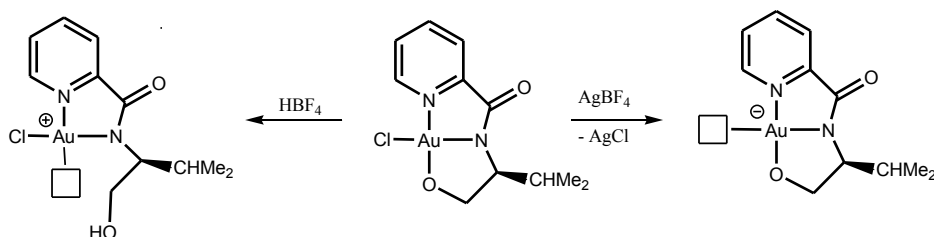


Figura 33. Rappresentazione delle solvato specie utilizzate nella polimerizzazione di stireni.

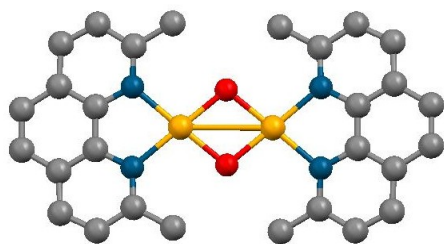
Un risultato molto interessante è stato ottenuto con la reazione del complesso solvato $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{OH})(\text{solv})\text{Cl}]^{\oplus}$ ed etilene. La reazione è stata condotta utilizzando quantità variabili dei componenti in CH_2Cl_2 a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Il prodotto organico ottenuto sembra essere l'etil emiacetale dell'acetaldeide (criterio ^1H NMR); il derivato **19** viene recuperato quantitativamente. Monitorando la reazione all'NMR si osserva che già durante la prima ora si forma acetaldeide. Tuttavia, questo è il risultato di uno studio del tutto preliminare e la metodica richiede ulteriori miglioramenti nonché una caratterizzazione più approfondita del prodotto ottenuto.

Complessi con la 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina.

Sintesi e caratterizzazione strutturale.

La 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (2,9-Me₂phen), legante comunemente utilizzato nella chimica di coordinazione, è anch'esso dotato di due donatori imminici con cui può coordinare fortemente il metallo. Con questo legante è già noto l'addotto neutro di oro $[\text{Au}(2,9\text{-Me}_2\text{phen})\text{Cl}_3]^{\text{80}}$ la cui struttura presenta il centro metallico pentacoordinato con geometria piramidale quadrata, in cui un atomo di azoto e i tre atomi di cloro si trovano sullo stesso piano e il secondo atomo di azoto al vertice della piramide, con una distanza Au-N (2.58 Å) maggiore di quella che si trova nel piano (2.09 Å). La formazione di questo tipo di addotti è stata osservata anche con leganti analoghi quali le 2,2'-bipiridine sostituite in posizione 6,6'. La reazione dell'addotto neutro con due equivalenti di AcONa in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ a riflusso per circa 3 ore porta alla formazione dell'ossocomplesso dinucleare a ponte $[\text{Au}_2(2,9\text{-Me}_2\text{phen})_2(\mu\text{-O})_2][\text{PF}_6]_2$, **24**- $[\text{PF}_6]_2$ con elevate rese. La scarsa solubilità di questo derivato può essere aumentata per sostituzione dell'anione esafluorofosfato con l'anione di Brookhart, $[\text{BAR}'_4]^-$ ($\text{Ar}' = \text{C}_6\text{H}_3(\text{CF}_3)_2\text{-3,5}$), che rende il

derivato solubile anche in solventi clorurati. Questo ha consentito di ottenere cristalli adatti per la caratterizzazione ai raggi X.



Principali distanze (Å) ed angoli di legame (°)

Au(1) Au(2)	3.019(1)
O(1) O(2)	2.493(2)
Au(1)-O(1)	1.960(2)
Au(1)-O(2)	1.956(2)
Au(1)-N(1)	2.071(2)
Au(1)-N(2)	2.057(2)
Au(1)-O(1)-Au(2)	100.88(8)
O(1)-Au(1)-O(2)	79.12(6)
O(1)-Au(1)-N(1)	176.89(5)
O(1)-Au(1)-N(2)	99.38(7)
O(2)-Au(1)-N(1)	100.30(6)
O(2)-Au(1)-N(2)	176.65(7)
N(1)-Au(1)-N(2)	81.04(7)

Figura 34. Ortep e dati strutturali del complesso **24**-[PF₆]₂.

La struttura evidenzia la coordinazione quadrato-planare per ciascun atomo di oro, e l'intero catione è pure perfettamente planare. Le distanze e gli angoli di legame osservati per questo complesso sono paragonabili a quelle riscontrate per altri ossocomplessi dinucleari supportati da 2,2'-dipiridili⁸¹, in particolare con il derivato del 6,6'-dimetil-2,2'-dipiridile, data la maggiore similitudine.

La rottura dei ponti Au-O può essere provocata attraverso l'utilizzo di basi di Lewis quali ad esempio fosfine PR₃. In particolare, abbiamo visto che per reazione con due equivalenti di trifenilfosfina si forma il derivato di Au(I) [Au(2,9-Me₂phen)(PPh₃)] [PF₆], **25**[PF₆], mentre la fosfina viene convertita quantitativamente nell'ossido. Questa reazione di trasferimento di ossigeno è stata studiata anche con olefine cicliche quali stireni e norbornene, portando a risultati del tutto analoghi a quelli osservati per gli analoghi derivati dei 2,2'-dipiridili sostituiti in 6(6'), ossia complessi π-olefinici di Au(I), ossametallacicli e prodotti organici ossigenati⁸². Il derivato di Au(I) ottenuto dalla reazione con trifenilfosfina è stato caratterizzato attraverso spettroscopia NMR. Lo spettro protonico mostra un solo set di segnali per i protoni della Me₂phen, questo può

essere dovuto o ad un rapido scambio, nella scala di tempo NMR, delle due posizioni di coordinazione, o alla coordinazione di entrambi gli atomi di azoto a dare un complesso di oro(I) tricoordinato.

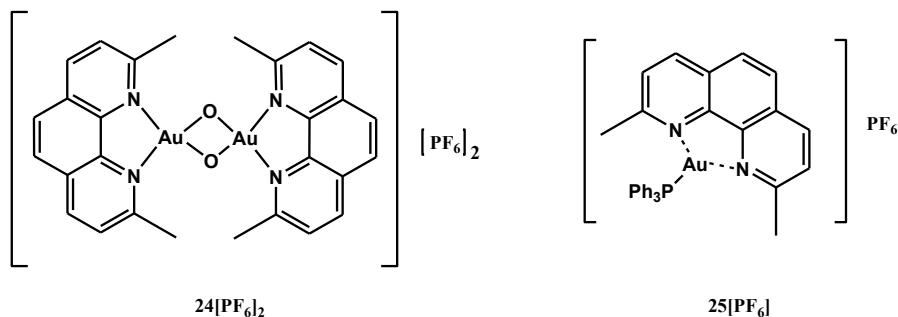


Figura 35. Complessi **24**- $[\text{PF}_6]_2$ e **25**- $[\text{PF}_6]$.

Altri complessi di oro(III)

Complessi con il 2,5-difenilossazolo.

Il 2,5-difenil-ossazolo (Ph_2ox) è una molecola già utilizzata in scintigrafia. Alcuni suoi derivati sono inibitori di fosfatasi⁸³ e manifestano attività antitumorale *in vivo*⁸⁴. Il legante possiede due eteroatomi donatori ma coordina l'oro solo attraverso l'atomo di azoto fungendo da monodentato.

Dalla reazione di questo legante con un equivalente di NaAuCl_4 in $\text{H}_2\text{O-MeCN}$ a temperatura ambiente è stato ottenuto l'addotto neutro $[\text{Au}(\text{Ph}_2\text{ox})\text{Cl}_3]$, **26**, in cui il legante coordina attraverso l'atomo di azoto dell'anello ossazolinico.

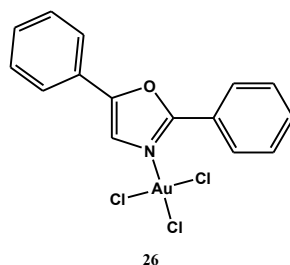


Figura 39. Addotto neutro $[\text{Au}(\text{Ph}_2\text{ox})\text{Cl}_3]$.

Nello spettro ^1H NMR gli 11 protoni risuonano tutti a campi più bassi rispetto al legante libero, mentre all'IR si osservano le bande a 370 e 266 cm^{-1} relative agli stiramenti dei legami Au-Cl. Da questo addotto si voleva ottenere un derivato ortometallato ma, nonostante i vari tentativi, non è stato possibile attivare il legame C-H del sostituente fenilico in 2.

Complessi con il legante (o,o'-diisopropilfenil-imino)acenaftene.

Il legante (o,o'-diisopropilfenil-imino)acenaftene ($^i\text{Pr-ArBIAN}$) è stato preparato per condensazione della 2,6-diisopropilanilina e acenaftenechinone a ricadere in acido acetico secondo la metodica riportata in letteratura⁸⁵. La presenza dei due donatori all'azoto consente alla molecola di coordinare il metallo come chelante e sono già noti i complessi con Pd⁸⁶ e Pt⁸⁷, studiati per applicazioni in reazioni catalitiche.

L'addotto $[\text{Au}(^i\text{PrArBIAN})\text{Cl}_2][\text{AuCl}_4]$, **27**, è stato preparato per reazione del legante con la quantità stechiometrica di NaAuCl_4 ed un eccesso di KPF_6 a caldo. Purtroppo, la specie cationica ottenuta ha come controione il tetracloroaurato e, nonostante i diversi tentativi, non è stato possibile isolare la specie avente come controione l'esafluorofosfato. Il complesso ottenuto è cristallino, ma i cristalli sono troppo piccoli e non è stato possibile ottenere dei buoni dati dalle polveri.

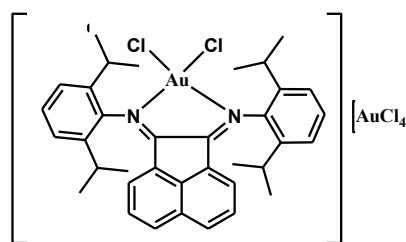


Figura 37. Struttura proposta per l'addotto cationico **27**.

Studi Biologici sui complessi di Au(I) e Au(III).

Sui complessi preparati sono stati condotti degli studi volti a determinare l'attività biologica. In particolare è stata prima valutata la stabilità in ambiente fisiologico, monitorando le soluzioni in buffer fosfato a pH 7.4 attraverso spettrofotometria UV-visibile. Questo metodo consente di stabilire se, in queste condizioni, le specie sono stabili alla riduzione e se subiscono idrolisi dei legami Au-legante che modificano la specie. Su uno di essi, il derivato dinucleare con la 2,9-Me₂phen è stato possibile studiare il comportamento anche attraverso studi ¹H NMR in soluzione, che hanno consentito di formulare ipotesi sulle specie che si formano.

Per valutare inoltre la tendenza alla riduzione del metallo in ambiente fisiologico, che comporta la degradazione del complesso, è stato aggiunto ascorbato di sodio (10 equivalenti) alle soluzioni in buffer che sono state poi monitorate per due ore sempre attraverso spettrofotometria UV-visibile.

Una volta accertato che i complessi sotto esame sono abbastanza stabili per consentire lo svolgimento dei test di citotossicità, sono state preparate le soluzioni per questo studio immediatamente prima della somministrazione alle cellule preparate precedentemente. Il metodo seguito per questi test viene descritto in dettaglio nella Sezione sperimentale.

Lo studio della reattività con proteine è stato portato avanti seguendo un protocollo, già validato, che prevede l'identificazione dei prodotti di reazione attraverso spettrometria di massa con sorgente ESI. La scelta del modello è ricaduta sulle due proteine Citocromo C (horse heart Cytochrome C, Cyt C) e lisozima (hen egg white lysozyme, Hewl). Queste hanno infatti una massa abbastanza contenuta e pochi siti superficiali disponibili per l'interazione con il metallo, caratteristiche che le rendono particolarmente adatte per questo tipo di studio. Inoltre è stato possibile monitorare le soluzioni durante il periodo di incubazione. Per quest'ultima analisi la spettrofotometria UV-visibile costituisce un buon metodo, dal momento che queste proteine presentano bande di assorbimento caratteristiche. Il Citocromo C, ad esempio, contiene anche un gruppo eme che assorbe nella zona tra 300 e 600 nm, e dalla forma delle bande, è possibile stabilire se tale gruppo si trova nello stato ossidato oppure ridotto. L'analisi degli spettri di assorbimento ci consente quindi di valutare se nella reazione con i complessi di oro avvenga una reazione redox con il gruppo eme.

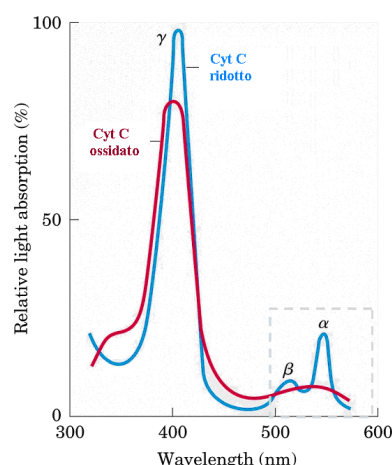


Figura 38. Spettro di assorbimento del Citocromo C nelle forme ossidato (rosso) e ridotto (blu).

Anche il lisozima presenta una banda di assorbimento caratteristica a 280 nm, per cui anche in questo caso è stato possibile evidenziare la presenza di interazioni.

Alcuni complessi sono stati scelti per test preliminari contro il plasmodio della malaria.

Complessi di Au(I).

Stabilità in soluzione.

In genere, sia lo ione saccarinato sia la TPA sono leganti che conferiscono ai complessi una discreta solubilità in ambiente acquoso. Tuttavia, per questi derivati le solubilità in acqua a temperatura ambiente sono piuttosto modeste. In particolare, per i complessi **1-M** varia tra 0.67 mg ml^{-1} ($M = \text{NH}_4^+$) e 1.25 mg ml^{-1} ($M = \text{K}^+$), ma aumenta sino a 9.0 mg ml^{-1} a 60°C . I complessi con la TPA sono invece più solubili a temperatura ambiente, con valori di 0.50 mg ml^{-1} per il complesso **2** e 9.0 mg ml^{-1} per il complesso **3**.

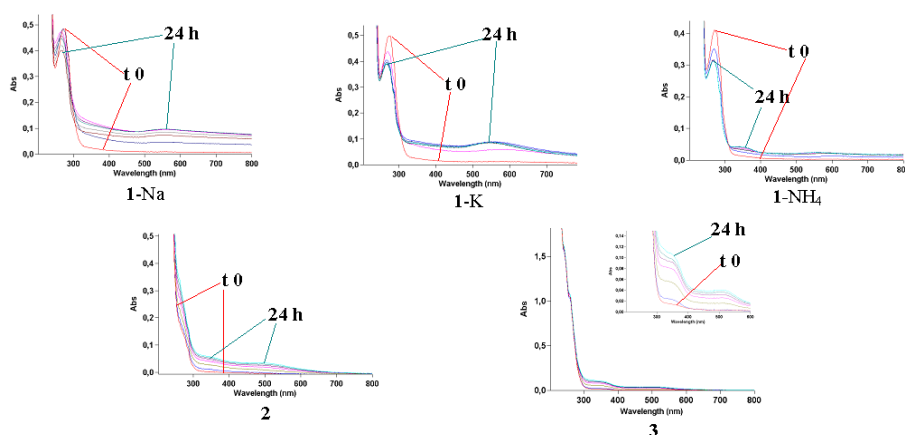


Figura 39. Spettri di assorbimento per i complessi omodiletici ed eterodiletici con saccarina e TPA.

I complessi **1-M** sono caratterizzati da una banda di assorbimento piuttosto intensa a circa 270 nm che mostra un leggero blu shift durante le prime 5 ore. Successivamente, per **1-Na** and **1-K**, si osserva la formazione di una nuova banda a circa 550 nm che evidenzia la presenza di Au(0) in sospensione. Il complesso **1-NH₄** mostra invece una nuova banda a 350 nm e sembra essere il più stabile alla riduzione.

Il complesso **2** non presenta una banda di assorbimento ben definita, ma durante le prime 10 ore compaiono due nuove bande a circa 360 e 550 nm. La prima suggerisce la formazione della specie Au(TPA)⁺, osservata anche nello spettro del complesso **3** che inizialmente mostra solo due spalle a circa 242 e 258 nm.

Nella serie successiva di spettri sono riportate le cinetiche registrate per i complessi di Au(I) con il legante PbNH. Tra questi, il derivato **12** risulta fortemente stabile nell'arco di tempo indagato ed è caratterizzato da un assorbimento molto intenso a 306 nm. I complessi **13** e **14** si differenziano solo per la posizione in cui è legato il frammento [Au(PPh₃)]⁺, che conferisce una carica positiva o neutra alla specie. Questo frammento è l'analogo isolobale dello ione H⁺ e quest'analogia è la causa dell'equilibrio che si viene a creare tra queste due specie: dagli spettri UV-vis riportati in Figura 40 si osserva come il complesso **14** tenda a convertirsi nel derivato **13** già durante le prime 15 ore: **14** è infatti caratterizzato da una banda di assorbimento a circa 340 nm, mentre quello neutro assorbe a 308 nm. Si può osservare come nello spettro del derivato **14** la principale banda tenda a diminuire gradualmente in intensità a favore della nuova banda a 307 nm caratteristica proprio del complesso cationico, rimanendo poi stabile durante le ore successive.

Il dinucleare **11** presenta invece i due assorbimenti a 247 e 326 nm, che progressivamente diventano meno intensi sino a non essere più visibili alla fine del periodo.

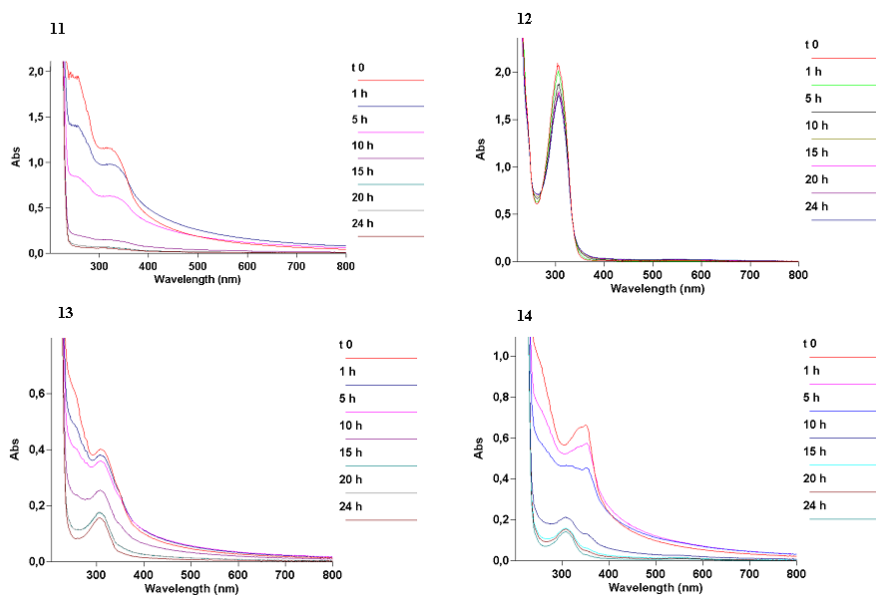


Figura 40. Spettri di assorbimento per i complessi mono e dinucleari di Au(I) con il legante PbNH.

Il complesso **25** con 2,9-Me₂phen è caratterizzato da una banda di assorbimento a 271 nm che diminuisce progressivamente in intensità, e nelle prime cinque ore inizia a diventare più evidente una spalla a 295 nm. Non si osserva riduzione del centro metallico. Trascorse le prime 15 ore le scansioni successive risultano sovrapponibili tra loro.

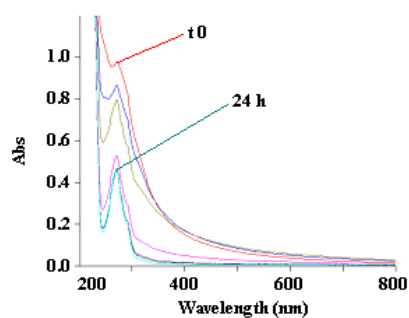


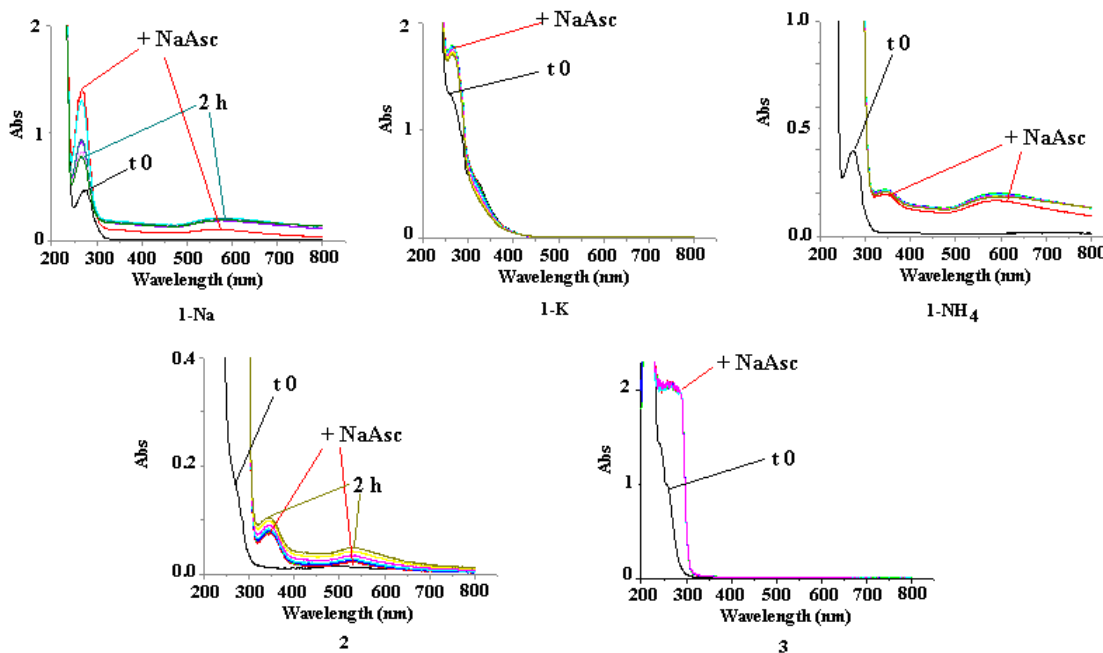
Figura 41. Spettro di assorbimento del complesso **25**.

In generale tutti i composti sono sufficientemente stabili durante le prime ore, ed utilizzabili per i test di citotossicità. Le variazioni osservate negli spettri nelle ore successive indicano che i complessi subiscono delle trasformazioni in ambiente simile a quello fisiologico ed, in alcuni casi, è stato possibile identificare le specie.

Stabilità in ambiente fortemente riducente.

I complessi con saccarina e TPA sono soddisfacentemente stabili in presenza di ascorbato di sodio, specialmente i derivati **1-K** e **3**, come evidenziato dall'assenza della banda a circa 550 nm. Per gli altri, invece, vi è una maggiore tendenza alla formazione di oro metallico, ma senza che avvenga la completa degradazione del complesso.

Negli spettri registrati per i derivati con il PbNH si osserva come in presenza di dieci equivalenti di ascorbato di sodio ci sia una maggiore tendenza alla riduzione del centro metallico oltre che una maggiore velocità nelle reazioni di idrolisi dei legami Au-legante. Diversamente da tutti gli altri, il complesso **12** risulta essere molto stabile anche in queste condizioni, così come **25**.



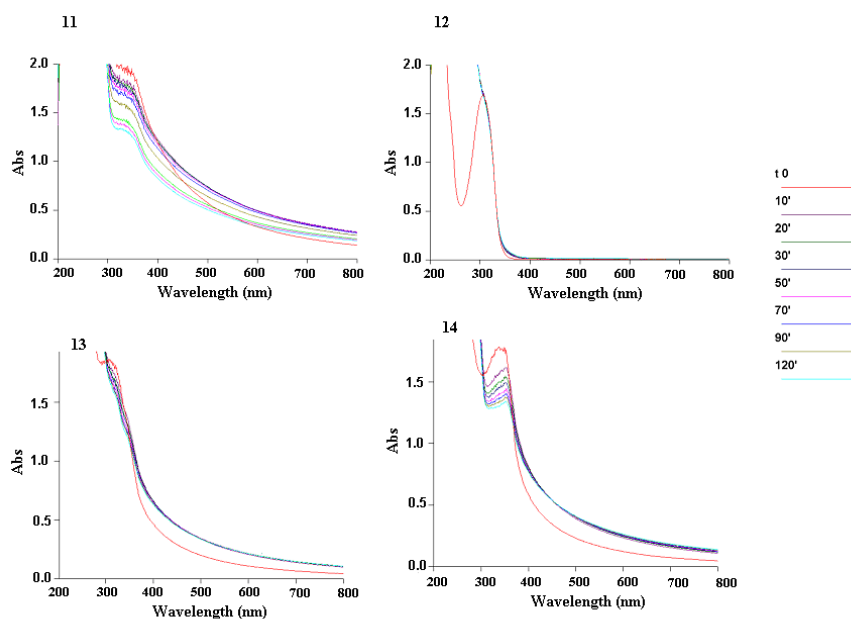


Figura 42. Spettri di assorbimento dei complessi di Au(I) in presenza di dieci equivalenti di ascorbato di sodio NaAsc, buffer fosfato 10 mM, pH 7.4.

Test di citotossicità sulla linea A2780.

I complessi risultano tutti generalmente attivi nei confronti della linea cellulare scelta. I risultati presentati in tabella si riferiscono ad una media di tre esperimenti, ad eccezione di alcuni di cui vengono invece presentati i risultati di uno screening preliminare. I valori di IC_{50} misurati cadono nel range micro molare e, nella metà dei casi, sono paragonabili od inferiori a quelli del *cisplatino*. Per alcuni di essi, il valore misurato è affetto dalla citotossicità del solvente (DMSO), ma in generale l'effetto è abbastanza piccolo e può essere trascurato.

Per la serie dei saccarinati omolettici **1-M** si osserva un'attività comparabile, da cui si può dedurre che la differenza nella struttura non porta alcuna modifica sull'attività. Questi sono poco attivi nei confronti di entrambe le sublinee. La sostituzione di uno ione saccarinato con la fosfina porta invece un aumento di attività per il complesso **2**, che mostra valori molto simili a quelli del *cisplatino*. Nel complesso **3**, in cui l'atomo di oro è invece coordinato a due molecole di TPA, si osserva una netta diminuzione dell'attività.

I complessi con il legante PbN sono invece più attivi. Anche in questo caso la coordinazione della TPA rende il derivato **12** meno attivo rispetto a quelli con la trifenilfosfina che mostrano valori di IC₅₀ anche inferiori a 1 µM. È interessante notare che il derivato neutro **14** risulta il più attivo su entrambe le linee cellulari, con valori di IC₅₀ inferiori rispetto all'analogo cationico **13**, lasciando intendere che anche la carica del complesso possa avere un ruolo importante nel determinare l'attività. Il derivato **25** è anch'esso molto attivo e mostra valori molto simili al complesso **14**.

Complesso	A2780/S		A2780/R	
	IC ₅₀ (µM)	Effetto DMSO*	IC ₅₀ (µM)	Effetto DMSO*
1 -Na	48.85	0%	54.32	1.46%
1 -K	52.53	1.30%	45.25	0%
1 -NH ₄	54.18	3.36%	45.06	0%
2	5.90	9.05%	16.04	0%
3 [#]	17.70	17.80%	43.60	9.80%
11 [#]	0.60	0%	3.57	0%
12 [#]	13.30	0%	28.83	0%
13 [#]	1.29	6.24%	1.81	3.89%
14 [#]	0.59	4.40%	0.66	2.75%
25 [#]	0.59	4.46%	0.88	3.51%
<i>cisplatino</i>	2.10	0%	15.95	0%

Tabella 2. Valori di IC₅₀ osservati, * % di inibizione della crescita cellulare causata dal DMSO alla corrispondente IC₅₀, [#] i valori indicati sono il risultato di un singolo screening e sono tuttora in corso ulteriori test di conferma.

Reattività con proteine modello: citocromo C e lisozima.

Citocromo C.

L'indagine è stata condotta attraverso il protocollo ESI MS, ormai validato ed ampiamente descritto in letteratura, ed in alcuni casi sono state monitorate le soluzioni attraverso spettroscopia UV-visibile. I campioni sono stati analizzati alla massa successivamente a 24 ore di incubazione a 37 °C.

Durante le prime 24 ore i saccarinati della serie **1-M** mostrano una elevata reattività, con formazione di quattro addotti con la proteina che lega da uno a quattro atomi di metallo. In particolare, si può notare come l'addotto tetranucleare sia quello più abbondante. Nella reattività di questi tre addotti si può osservare però una piccola differenza: si è visto che per gli **1-K** ed **1-NH₄** negli spettri compaiono anche dei piccoli segnali che vengono attribuiti alla coordinazione del frammento (Sac)Au⁺ da parte della proteina, non presenti nello spettro del complesso **1-Na**. Questo potrebbe essere dovuto alle diverse orientazioni delle due molecole di saccarina coordinate che potrebbe aver favorito, in piccola parte, il rilascio di un solo legante nella reazione. Il complesso misto **2** risulta essere estremamente poco reattivo, con la formazione dell'addotto con un solo frammento (TPA)Au⁺ solo in tracce. Non si osservano cambiamenti nello spettro di massa neppure in seguito a 120 ore di incubazione. Per il derivato omodiletico con la TPA invece è stata monitorata la soluzione allo spettrofotometro UV-visibile nelle 24 ore (Figura 43), ed anche in questo caso si nota una scarsa reattività nei confronti del citocromo.

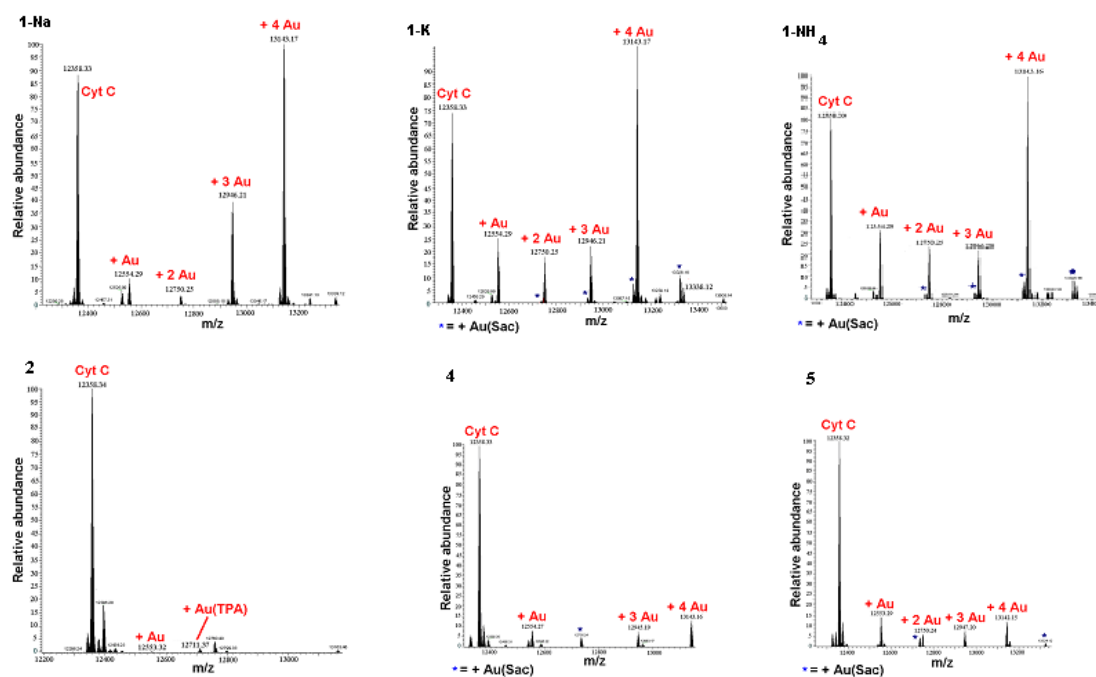


Figura 43. Spettri ESI MS, CytC/Au 1:3, buffer TMAA 25 mM pH 7.5, 24 h, 37 °C.

I complessi con il PbNH hanno una discreta tendenza a reagire con il Cyt C. Il derivato **12** sembra reagire istantaneamente con il citocromo, ma non si osserva alcun cambiamento nelle bande del gruppo eme. Gli altri derivati sembrano più reattivi, ed in particolare si osserva che

non appena viene aggiunto il complesso alla soluzione del citocromo aumenta l'intensità sia nella zona tra 200 e 400 nm, sia quella della banda a circa 540 nm per poi diminuire gradualmente nel tempo e tornare sovrapponibile a quella registrata per la sola proteina. Si può pensare che il complesso reagisca reversibilmente con il Cyt C.

Il derivato di Au(I) con la fenantrolina mostra, durante le prime due ore, delle variazioni spettrali per quasi tutte le bande di assorbimento del citocromo, lasciando intendere che il complesso reagisce nel tempo formando addotti con la proteina. Tuttavia, negli intervalli di tempo successivi sino alle 24 ore, si osserva che lo spettro appare nuovamente sovrapponibile a quello del citocromo tranne nella zona intorno ai 250-300 nm. E' possibile che inizialmente si formi una specie non stabile che riarrangia nelle 24 h.

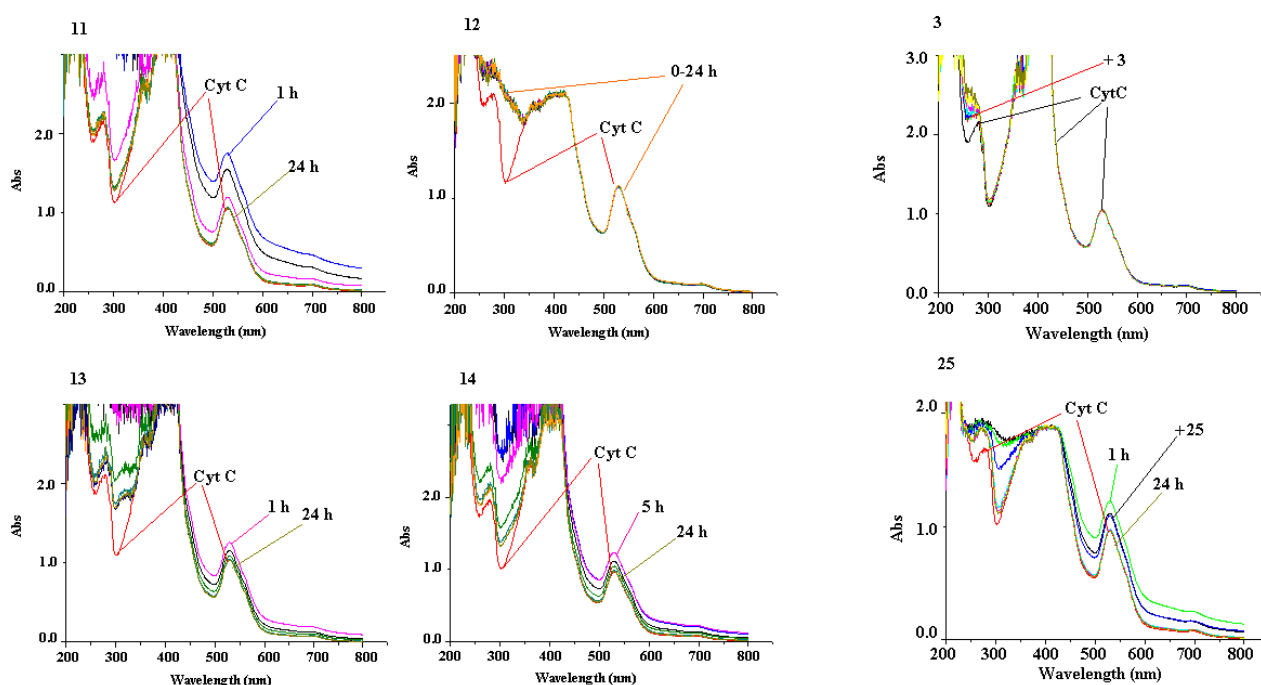


Figura 44. Cinetiche delle soluzioni complesso/Cyt C in incubazione per 24 h.

Lisozima.

Con il lisozima i complessi hanno una generale scarsa tendenza a reagire. Dagli spettri riportati in Figura 45 si può osservare che la reattività dei saccharinati 1-Na ed 1-NH₄ è decisamente

inferiore rispetto a quella riscontrata con il citocromo. Essi formano unicamente mono- e di-metallati insieme agli addotti con il frammento (Sac)Au⁺ che sono però presenti solo in tracce.

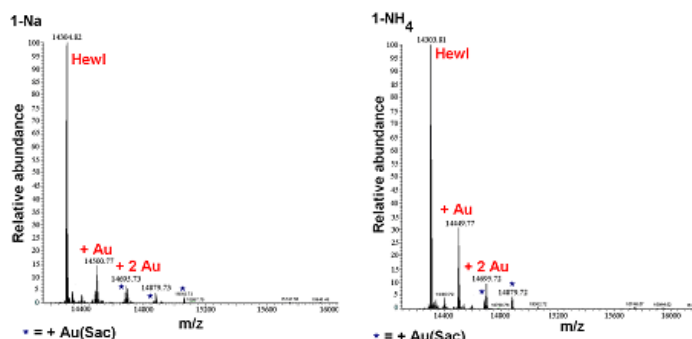


Figura 45. Spettri ESI MS, Hewl/Au 1:3, buffer TMAA 25 mM pH 7.5, 24 h, 37 °C.

Complessi di Au(III).

Stabilità in soluzione.

I complessi di Au(III) con la saccarina sono entrambi modesta solubilità in acqua (0.44 mg ml^{-1}) che risulta inferiore a quella degli analoghi di Au(I). Rispetto a questi ultimi mostrano un comportamento diverso in soluzione, ed il risultato di questo studio suggerisce che entrambi tendano a formare la stessa specie neutra $[\text{Au}(\text{Sac})_3(\text{H}_2\text{O})]$. Nel caso del complesso **4** si osserva infatti la progressiva diminuzione di intensità della banda a circa 330 nm, ascrivibile all' idrolisi del legante cloruro, ed alla fine delle 24 ore rimane evidente solo la banda a circa 260 nm con una piccola spalla. Per il complesso **5** si osserva inizialmente una banda poco intensa a circa 260 nm la cui intensità aumenta accompagnata da una nuova banda poco intensa a circa 320 nm. La specie neutra $[\text{Au}(\text{Sac})_3(\text{H}_2\text{O})]$ è già nota in letteratura⁸⁸.

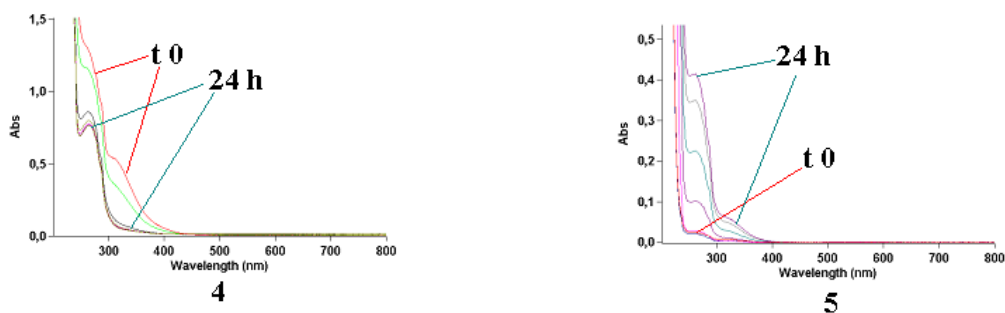


Figura 46. Saccarinati di Au(III), Buffer fosfato 10 mM (pH 7.4).

I complessi di Au(III) con il legante PbN sono generalmente poco solubili persino in DMSO. Come si può osservare in Figura 47 i due complessi mononucleari di Au(III), **6** e **7**, sembrano abbastanza stabili alla riduzione a pH fisiologico. In particolare, il primo è caratterizzato da una intensa banda di assorbimento a 343 nm, accompagnata da una piccola spalla. La qualità dello spettro risente della presenza di solido non completamente solubilizzato, ma l'intensità di questa banda non diminuisce sensibilmente durante le 24 h. Il complesso **7** invece è caratterizzato dalla presenza di una banda piuttosto intensa a 352 nm ed una meno intensa a 287 nm che progressivamente diminuiscono in intensità già a partire dalle prime cinque ore sino alla quasi totale scomparsa della banda meno intensa ed un leggero shift di quella principale. Queste variazioni possono essere riconducibili all'idrolisi del/i legame/i Au-acetato.

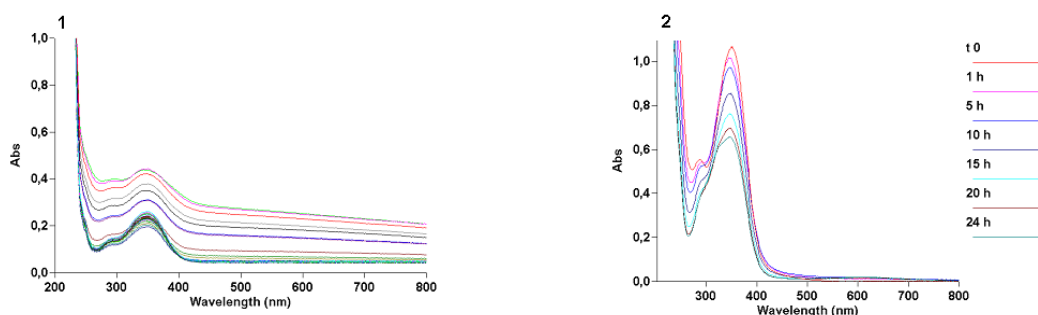


Figura 47. Complessi **6** e **7**, profili in soluzione durante 24 h, buffer fosfato 10 mM (pH 7.4).

I complessi **15**[PF₆], **16**[PF₆], **19** e **20** con le piridinilossazoline sono anch'essi scarsamente solubili in acqua a temperatura ambiente, ma sono altamente solubili in DMSO. I quattro composti hanno mostrato una accettabile stabilità alla riduzione in ambiente fisiologico, in particolar modo il derivato **19** risulta essere il più stabile durante le 24 ore.

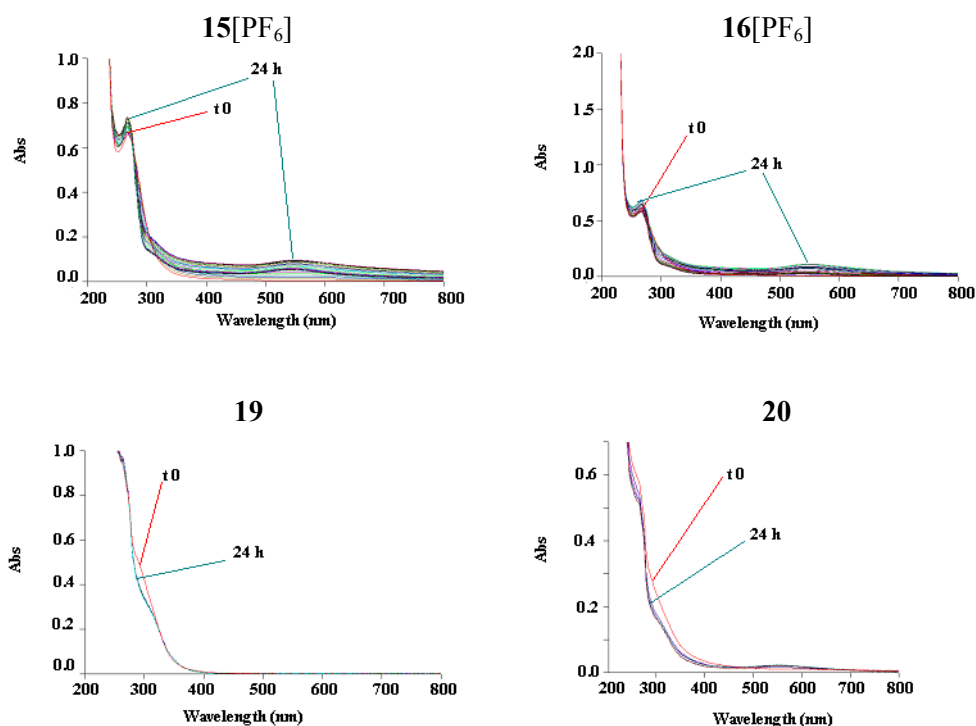


Figura 48. Complessi **19** e **20**, buffer fosfato 10 mM (pH 7.4).

Lo spettro dell'addotto **15**[PF₆] è caratterizzato dalla presenza di una banda a 267 nm la cui intensità aumenta gradualmente di 0.1 unità nelle prime 10 ore, accompagnata dalla comparsa della banda poco intensa a 555 nm diagnostica della presenza di Au(0) in sospensione. Trascorso questo periodo lo spettro rimane poi invariato. Un comportamento analogo si riscontra per l'addotto **16**[PF₆], caratterizzato dalla banda di assorbimento a 266 nm la cui intensità aumenta leggermente durante le prime cinque ore accompagnata dalla nuova banda poco intensa a 555 nm. Si distinguono invece i due derivati **19** ed **20**, che a differenza degli addotti cationici non presentano una banda di assorbimento caratteristica. In particolare, **19** mostra solo un lieve cambiamento ascrivibile al rilascio del legante cloruro e non si osserva la formazione di Au(0) nelle 24 ore. Il derivato **20** mostra un comportamento abbastanza simile ma si riscontra la formazione di una quantità, seppur minima, di Au(0).

Il dinucleare **24** con la 2,9-Me₂phen è poco solubile nei solventi comunemente usati, specialmente in acqua, ma è possibile scioglierlo in DMSO e proseguire per diluizione in buffer. Lo spettro mostra una banda di assorbimento con due massimi molto vicini a 272 e 280 nm. Durante le 24 ore si osservano delle piccole ma significative variazioni consistenti in variazioni

nella forma della banda e leggero blu-shift, dovuti probabilmente alla rottura dei ponti Au-O. Tuttavia, il processo è abbastanza lento e consente di testare il complesso con una certa tranquillità. Nel tentativo di identificare la specie formatasi in ambiente fisiologico, abbiamo pensato di monitorare la soluzione attraverso spettroscopia ^1H NMR. Da questo studio è emerso che già durante le prime 5 ore si forma la nuova specie, sembra si tratti dell'idrosso derivato, che tende a trasformarsi progressivamente in una seconda specie, che ancora non è stato possibile identificare, e che diviene quella predominante già dopo le prime 48 ore. La formazione dell'idrosso derivato è suggerita dalla comparsa del nuovo segnale a 7.61 ppm, nello spettro in CD_3CN , accompagnata dallo shift del segnale dei metili e degli aromatici a campi più alti rispetto all'ossocomplesso di partenza.

Il complesso **26** con il difenilossazolo è sufficientemente stabile alla riduzione durante le 24 ore, e si osserva la presenza di oro metallico in sospensione solo dopo circa 15 ore ed in piccola quantità.

Presenta una banda di assorbimento a circa 320nm che progressivamente cambia forma e mostra uno shift a 308 nm insieme alla comparsa di una seconda banda poco intensa che lentamente scompare. La banda principale continua poi a diminuire di intensità per tutto il tempo. I cambiamenti nello spettro potrebbero essere attribuiti all'idrolisi dei legami Au-Cl.

Il complesso **27** con il BIAN non presenta una banda di assorbimento caratteristica, ma solo una spalla nella zona tra 250 e 300 nm. Questa tende a diminuire gradualmente nell'arco delle 24 h mostrando, inoltre, la comparsa della banda intorno a 550 nm (molto poco intensa) che indica la presenza di una piccola quantità di Au(0) in sospensione che potrebbe derivare dalla riduzione del metallo coordinato al legante o, molto probabilmente, a quello presente nel controione.

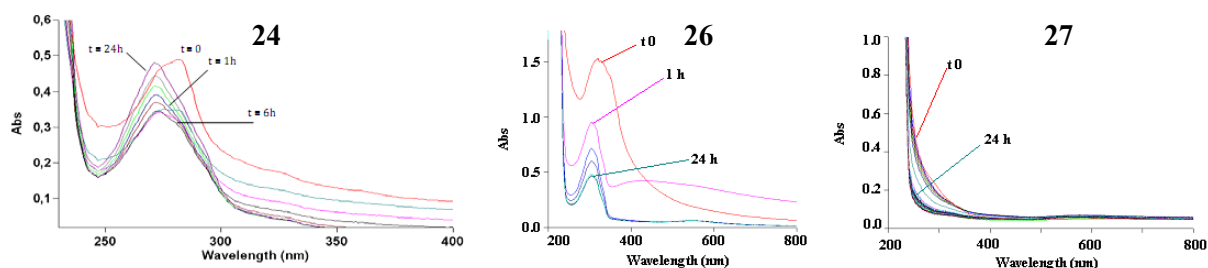


Figura 49. Cinetiche dei complessi **24**, **26**, **27** in buffer fosfato 10 mM (pH 7.4).

Stabilità in ambiente fortemente riducente.

Gli addotti di Au(III) con la saccarina mostrano, in presenza di dieci equivalenti di ascorbato di sodio, una maggiore tendenza alla formazione di oro metallico, che avviene istantaneamente. Negli spettri registrati per gli addotti con il PbNH si osserva un comportamento simile oltre che una maggiore velocità nelle reazioni di idrolisi dei legami Au-legante.

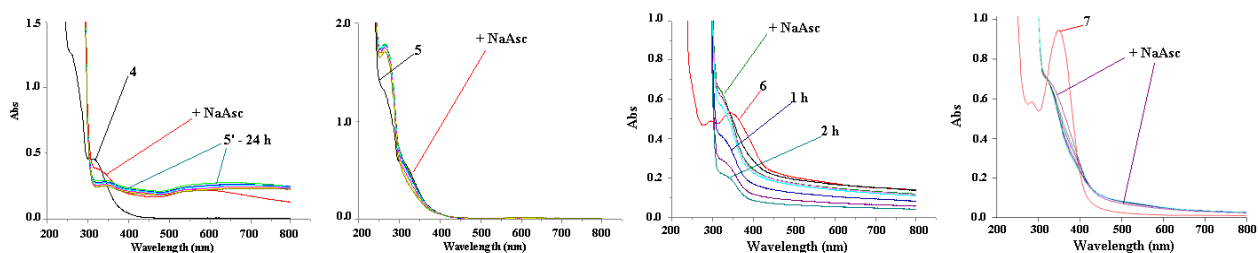


Figura 50. Cinetiche complessi 4-7 in buffer fosfato 10 mM, pH 7.4, ascorbato di sodio 10:1.

In figura 51 si può osservare come i derivati **15**[PF₆], **16**[PF₆] e **20** con le piridinilossazoline siano meno stabili alla riduzione non appena viene aggiunto l'agente riducente. Nel caso del derivato **19** non si osserva la formazione di Au(0), ma solo una progressiva diminuzione di intensità della banda di assorbimento dell'ascorbato. Questo suggerisce che in soluzione avvenga una qualche reazione che però non porta alla riduzione Au(III)-Au(0), verso la quale questo derivato sembra eccezionalmente stabile.

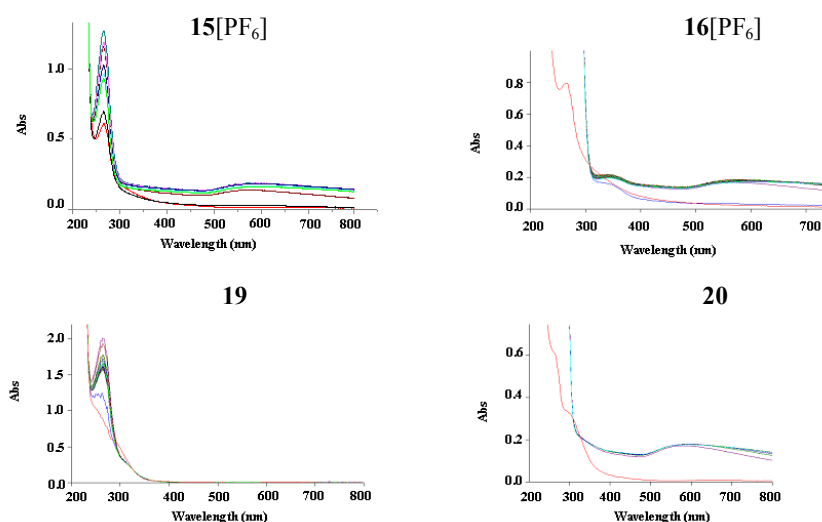


Figura 51. Complessi di Au(III) con piridinil-ossazoline in soluzione con 10 equivalenti di ascorbato di sodio.

In queste condizioni, il derivato con il difenilossazolo mostra l'immediata scomparsa della banda di assorbimento caratteristica del complesso, ma non compare quella indicativa della riduzione del metallo, il che suggerisce che ci sia qualche trasformazione a carico della specie (ad esempio idrolisi dei legami Au-Cl) che non comporta tuttavia la decomposizione del complesso. Per aggiunta di 10 equivalenti di ascorbato di sodio alla soluzione del complesso con il BIAN si osserva invece immediata precipitazione di metallo dalla soluzione, e si ottiene lo stesso risultato diminuendo le quantità di riducente sino ad un rapporto Au/ascorbato 1:1. Questa instabilità può essere verosimilmente ascritta alla presenza dello ione tetracloroaurato.

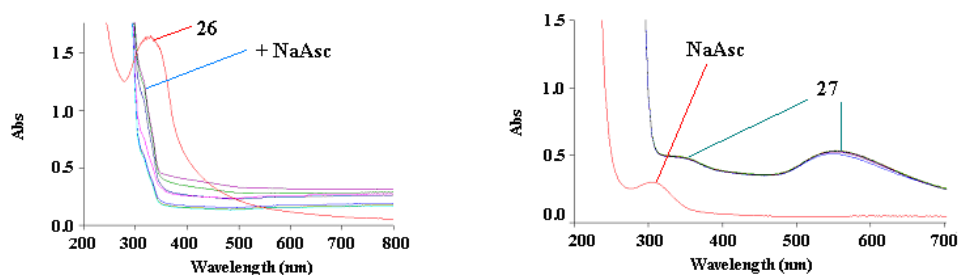


Figura 52. Complesso **26**/ascorbato 1:10 e complesso **27**/ascorbato 1:1, buffer fosfato 10 mM (pH 7.4).

Test di citotossicità sulla linea A2780.

I saccarinati di Au(III) risultano più attivi rispetto agli analoghi di Au(I), differenza ascrivibile o alla presenza di processi redox concomitanti o alla ridotta reattività con proteine come verrà illustrato in seguito. In particolare, il derivato **5** mostra citotossicità paragonabile a quella del *cisplatino* nei confronti della linea ad esso resistente.

I derivati con il legante PbN mostrano attività interessante, e si può osservare come la sostituzione dei leganti cloruri con gli ioni acetato (che conferiscono una maggiore solubilità) porti con sé una maggiore attività nei confronti della linea sensibile.

Anche per i complessi con le piridinilossazoline, i valori di IC₅₀ cadono tutti nel range micromolare. In particolare, si può osservare come, per la stessa sublinea, i due addotti **15**[PF₆] e **16**[PF₆] presentino valori abbastanza simili tra loro. Il derivato **19** è risultato essere il più attivo con IC₅₀ quasi coincidenti per le due sublinee ed inferiori a quelli del *cisplatino*. Il fatto che, per quest'ultimo, non si osserva discriminazione tra una sublinea e l'altra potrebbe costituire un'ulteriore conferma del diverso meccanismo di azione tra essi. Il derivato **20**, in cui il legante funge da bidentato, mostra un'attività minore rispetto al "genitore" **19** in cui il legante coordina come terdentato. Questo effetto potrebbe essere dovuto alla minore stabilità.

I due derivati con difenilossazolo, **26**, e BIAN, **27**, hanno invece una scarsa attività nei confronti delle linee cellulari scelte. I valori di IC₅₀ cadono sempre nel range micro molare, ma sembra che la citotossicità sia dovuta più al DMSO che ai complessi di Au.

Complesso	A2780/S		A2780/R	
	IC ₅₀ (μM)	Effetto DMSO*	IC ₅₀ (μM)	Effetto DMSO*
4	21.80	22.03%	40.74	7.53%
5	15.43	25.23%	17.60	0%
6	6.60	8.73%	5.31	0%
7 [#]	1.84	2.56%	6.27	8.84%
15 [PF ₆]	6.18	0%	8.71	0%
16 [PF ₆]	5.09	19.74%	7.54	9.69%
19	1.43	5.19%	1.59	0%
20 [#]	4.98	7.51%	10.86	4.02%
26 [#]	11.97	32.43%	47.46	43.77%
27	1.08	54.81%	1.80	67.06%
<i>cisplatino</i>	2.10	0%	15.95	0%

Tabella 3. Valori di IC₅₀ osservati, * % di inibizione della crescita cellulare causata dal DMSO alla corrispondente IC₅₀, [#] i valori indicati sono il risultato di un solo screening e sono tuttora in corso ulteriori test di conferma.

L'ossocomplesso dinucleare con la 2,9Me₂phen, che ha precedentemente mostrato risultati eccellenti nei test preliminari, è stato oggetto di uno studio più approfondito⁸⁹, ed in particolare è stato testato su un pannello di 36 linee cellulari tumorali umane attraverso la procedura sviluppata dall'Institute for Experimental Oncology (Freiburg, Germania)⁹⁰ mostrando inoltre una marcata selettività. Esso è infatti particolarmente attivo nei confronti di tumori polmonare (linea 1121L), ovarico (1619L) e alcune linee di tumore alla prostata (22RV1, LNCAP, DU145, PC3M), mentre risulta meno attivo verso i tumori del rene.

È stata poi condotta un'ulteriore analisi volta ad ottenere informazioni sull'eventuale meccanismo di azione. Il test comparativo (Compare Analysis) prevede l'utilizzo di un algoritmo⁹¹ che correla i rapporti IC₅₀/IC₇₀ ottenuti per il composto in esame ai valori IC₅₀/IC₇₀ di 110 farmaci standard nei confronti delle stesse linee cellulari, esprimendo il risultato come coefficiente di correlazione di Spearman (ρ)⁹². Si è osservata una elevata correlazione con vari inibitori della istone deacetilasi (HDAC), con ρ nel range tra 0.72 e 0.61, che suggerisce che questi possano costituire un buon target per Au(III). Questi enzimi sono delle proteine nucleari coinvolte nella regolazione dell'istone la cui inibizione provocherebbe il blocco della crescita e promuoverebbe la differenziazione cellulare. Non si è osservata invece correlazione significativa tra l'ossocomplesso e la classe di chemioterapici del *cisplatino*.

Linea Cellulare	IC ₅₀ (µg/ml)	IC ₇₀ (µg/ml)	Linea Cellulare	IC ₅₀ (µg/ml)	IC ₇₀ (µg/ml)
1218L	0.013	0.562	276L	0.042	>10.000
T24	0.062	0.263	394NL	0.020	0.048
498NL	0.032	0.067	462NL	0.060	3.162
SF268	0.024	0.064	514L	0.039	0.070
HCT116	0.052	0.100	520L	0.010	0.045
HT29	0.040	0.077	1619L	0.007	0.025
251L	0.036	0.562	899L	0.117	0.610
536L	0.046	0.083	OVCAR3	0.040	1.333
1121L	0.003	0.006	1667L	0.077	4.328
289L	0.072	0.428	PANC1	0.044	2.511
526L	0.042	0.080	22RV1	0.020	0.050
529L	0.024	0.060	DU145	0.017	0.044
629L	0.053	0.237	LNCAP	0.006	0.022
H460	0.066	0.200	PC3M	0.044	0.074
401NL	0.023	0.087	1752L	0.408	3.030
MCF7	0.043	0.080	1781L	0.092	10.000
1138L	0.015	0.040	393NL	0.058	0.533
			486L	0.068	3.433
			944L	0.062	>10.000
Media	IC₅₀ 0.036		IC₇₀ 0.245		

Tabella 4. Valori di IC₅₀ ed IC₇₀ registrati sulle 36 linee cellulari, media di 3 esperimenti.

Reattività con proteine modello: citocromo C e lisozima.

Citocromo C.

I saccarinati di Au(III) mostrano una reattività intermedia: si formano i quattro addotti da mono- a tetranucleare per il complesso **5**, mentre manca il dinucleare nel caso del complesso **4**. Le rese sono notevolmente inferiori rispetto a quelle osservate per gli analoghi di Au(I), tuttavia per entrambi si osserva la presenza del segnale relativo alla formazione dell'addotto con il frammento (Sac)Au⁺, seppur in piccola quantità.

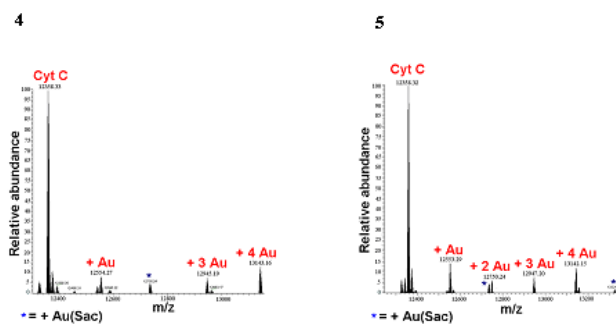


Figura 53. Spettri deconvoluti ESI MS, complessi **4**, **5** con Cyt C, buffer TMAA.

Tra i derivati con il PbNH, i due addotti **5** e **6** sono scarsamente reattivi. Per il primo si osserva la formazione dell'addotto mononucleare con la proteina in cui il centro metallico si lega come Au(I). L'abbondanza relativa di questo prodotto è di poco superiore al 5% in 120 h ore. La reattività del bis-acetato è stata invece monitorata all'UV mostrando un risultato molto simile. Non si osservano infatti variazioni di rilievo nelle bande del citocromo.

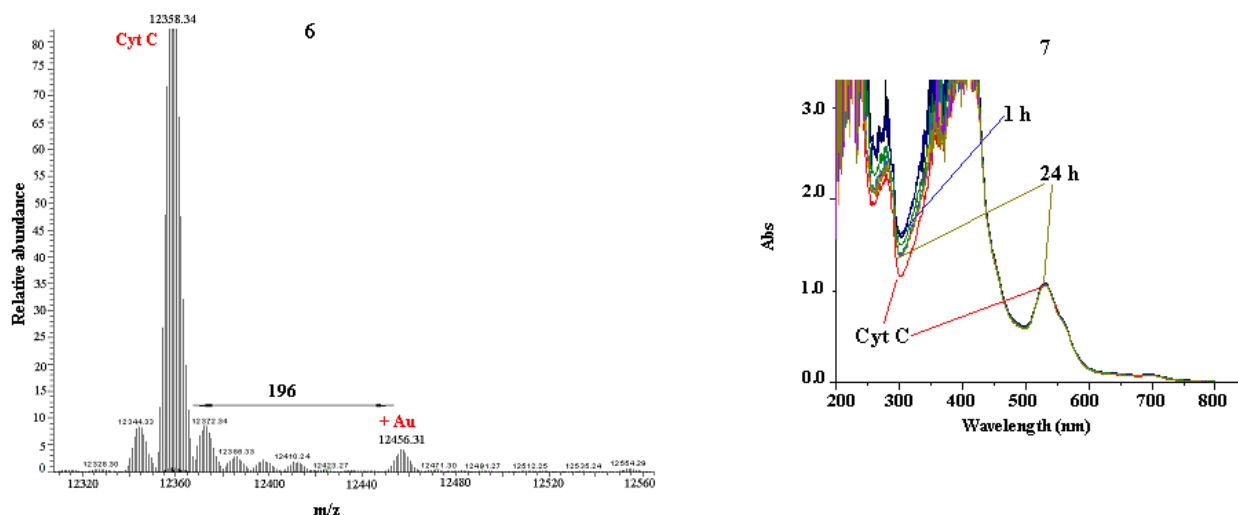


Figura 54. Spettro deconvoluto ESI MS, complesso **6**, Cinetica UV-visibile complesso **7** con Cyt C, buffer TMAA.

Nella Figura 55 sono riportati gli spettri di massa deconvoluti registrati per i complessi con le piridinilossazoline. Per i due addotti **15**[PF₆] e **16**[PF₆] si può osservare una certa abbondanza di segnali che suggerisce un'alta reattività. Per entrambi si osserva che l'oro tende a perdere tutti i leganti e a legarsi alla proteina formando addotti da mono- a tetra-nucleari, questi ultimi più

abbondanti. Inoltre, si osserva la riduzione del centro metallico che si lega alla proteina come Au(I).

Per l'addotto **15**[PF₆] è stata fatta la stessa analisi dopo sole 20 ore di incubazione, e si osserva una quantità di segnali decisamente inferiore. Il derivato **19** mostra invece un comportamento molto diverso da quello che in genere si osserva con i complessi di oro: la presenza di tre donatori sul legante rende così forte la coordinazione che l'unico legante ad essere perso è il cloruro, e l'intero frammento [Au(N[^]N[^]O)]⁺ si lega alla proteina formando gli addotti 1:1 (il più abbondante), 1:2 ed 1:3. Questo complesso risulta essere anche il più attivo tra quelli con le pyox, fornando un'ulteriore conferma sull'inversa proporzionalità generalmente riscontrata tra reattività con Cyt C ed attività citotossica dei composti. Si nota inoltre un piccolo segnale (abbondanza circa 4%) attribuito alla formazione del monometallato.

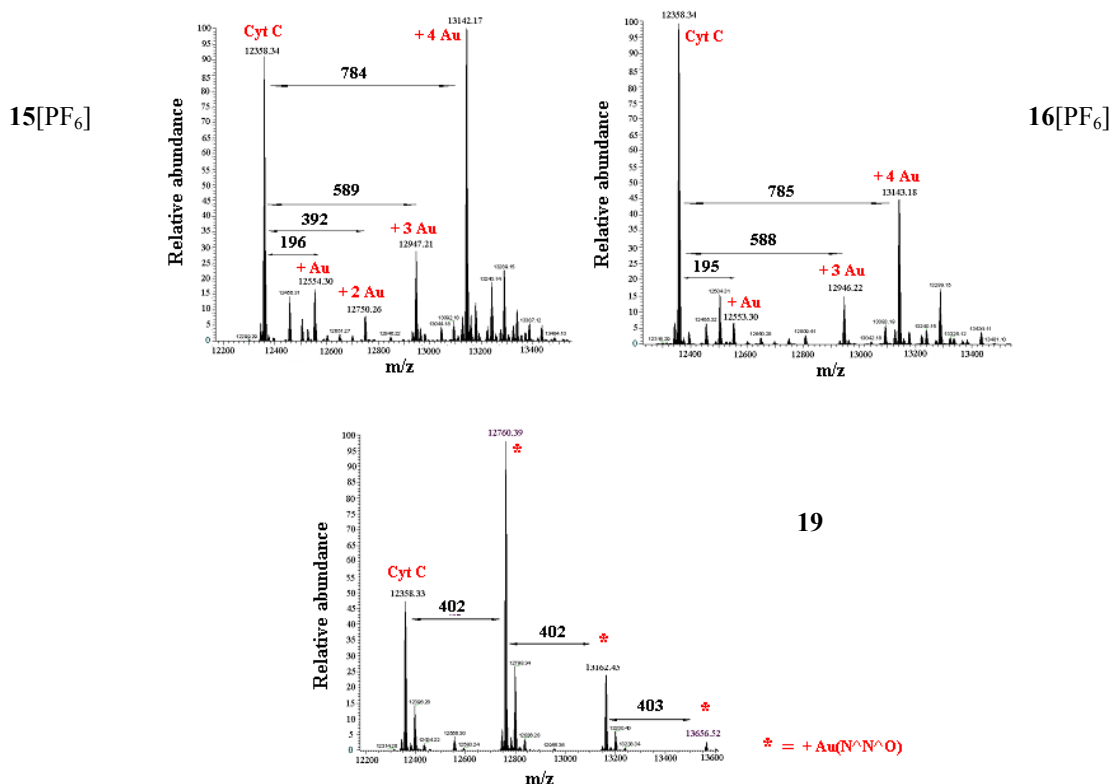


Figura 55. Spettri deconvolti ESI MS, complessi **15**-PF₆, **16**-PF₆, **19** con Cyt C, buffer TMAA.

Le soluzioni dei derivati **19** e **20** sono state monitorate all'UV durante 24 ore di incubazione (Figura 56). Come si può osservare in figura, non appena viene aggiunto il complesso alla soluzione di Cyt C si notano dei cambiamenti nella zona tra 200 e 400 nm, mentre le scansioni successive sono pressoché sovrapponibili, suggerendo che la reazione sia istantanea. Negli spettri si osserva inoltre che non vi è alcuna reazione redox che coinvolge il gruppo eme della proteina.

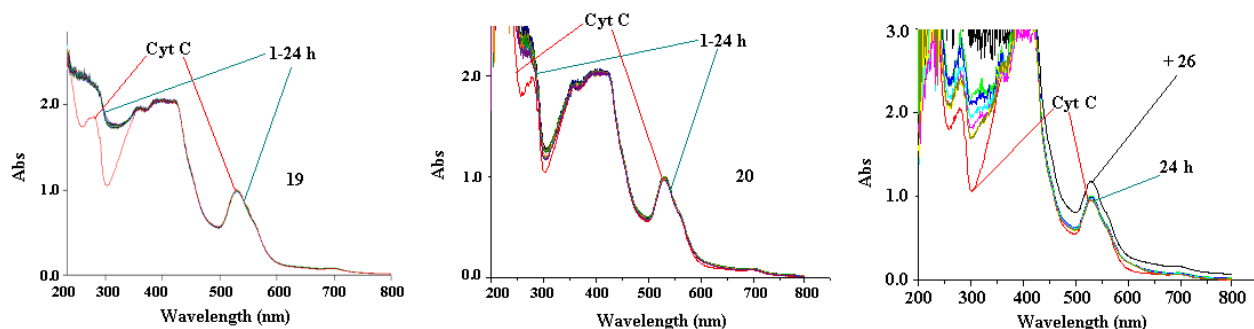


Figura 56. Cinetica UV-visibile complessi **19**, **20**, **26** con Cyt C, buffer TMAA.

Il complesso **26** con il difenilossazolo si comporta in modo abbastanza simile agli altri. Nello spettro si può osservare come all'aggiunta dell'addotto aumenti l'intensità di tutte le bande caratteristiche del citocromo indicando che avviene una reazione con la proteina. Trascorse le 24 ore persistono le variazioni nella zona tra 200 e 400 nm mentre la banda del gruppo eme torna sovrapponibile alla prima scansione.

Per l'ossocomplesso è stato scelto un mix contenente tre proteine modello, ubiquitina (ubi), citocromo C (Cyt C) e superossido dismutasi (SOD), e le interazioni sono state studiate attraverso la tecnica ESI MS. Lo studio della reattività con il mix delle tre proteine ha rivelato una certa selettività del complesso che lega quasi esclusivamente la SOD, mentre si osserva una reattività molto scarsa con le altre due proteine. Si osserva la formazione degli addotti mono- e di-nucleare, con quest'ultimo che mostra un segnale molto più intenso rispetto a quello della proteina libera, in cui il centro metallico si lega come Au(I) dopo aver perso i leganti. Questo comportamento è abbastanza verosimile in ambiente riducente come quello cellulare.

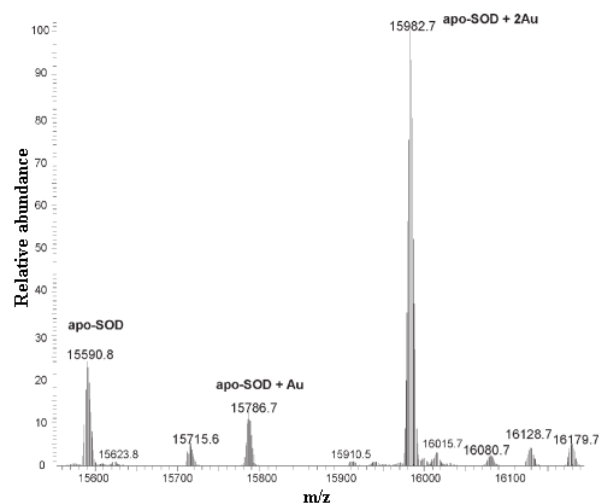


Figura 57. Spettro ESI MS, mix proteine ubi+Cyt C+SOD con l'ossocomplesso dinucleare.

Liozima.

Con il liozima si osserva, anche per i complessi di Au(III), una minore reattività. Nello spettro riportato in Figura 58 si può osservare che il saccarinato **5** forma solo il monometallato e tracce dell'addotto con il frammento (Sac)Au⁺. Il complesso **6** mostra una reattività ancora inferiore. Considerando l'effetto del solido in sospensione che si deposita durante la prima ora, non si osservano variazioni né nella banda di assorbimento della proteina né in quella dell'addotto.

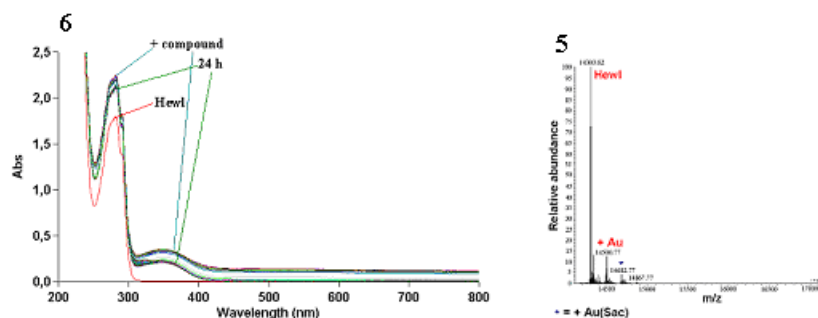


Figura 58. Cinetica UV-visibile complesso **6** con Hewl, e spettro deconvoluto ESI MS, complesso **5**, buffer TMAA.

Complessi dinucleari misti Au(I)-Au(III).

Studi di stabilità in soluzione.

I tre derivati dinucleari Au(III)-Au(I) mostrano un profilo piuttosto simile. Come si può osservare nello spettro, il complesso **8** risulta essere estremamente poco solubile. È caratterizzato dall'assorbimento a 365 nm che progressivamente diminuisce d'intensità e compare una nuova banda poco intensa che ha l'aspetto di una spalla. Trascorse le prime dieci ore lo spettro inizia a somigliare molto a quello della specie mononucleare **6**, lasciando intendere che il frammento Au(I)-Cl possa essersi staccato. Nello stesso arco di tempo compare una banda poco intensa e larga intorno a 550 nm che indica la presenza di Au(0) in sospensione, che potrebbe derivare dalla riduzione del centro metallico sul frammento che si è separato. Un comportamento molto simile è mostrato dal complesso **9**, caratterizzato inizialmente dalla presenza della banda a 349 nm che con il passare delle ore somiglia maggiormente a quello del complesso **6**, ma senza riduzione del metallo. Il dinucleare **10** presenta inizialmente una sola banda a 347 nm e si comporta in modo del tutto analogo ai due precedentemente descritti.

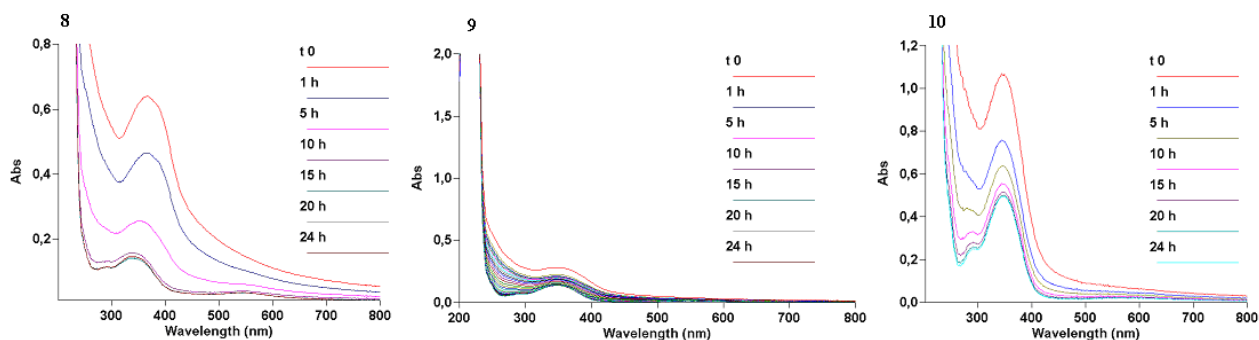


Figura 59. Cinetiche complessi **8-10**, buffer fosfato 10 mM (pH 7.4), 24 h.

Stabilità alla riduzione in presenza di ascorbato di sodio.

Analogamente agli altri complessi mononucleari con il PbNH si osserva come, in presenza di ascorbato di sodio, ci sia una maggiore tendenza alla riduzione del centro metallico oltre che una maggiore velocità nelle reazioni di idrolisi dei legami Au-legante.

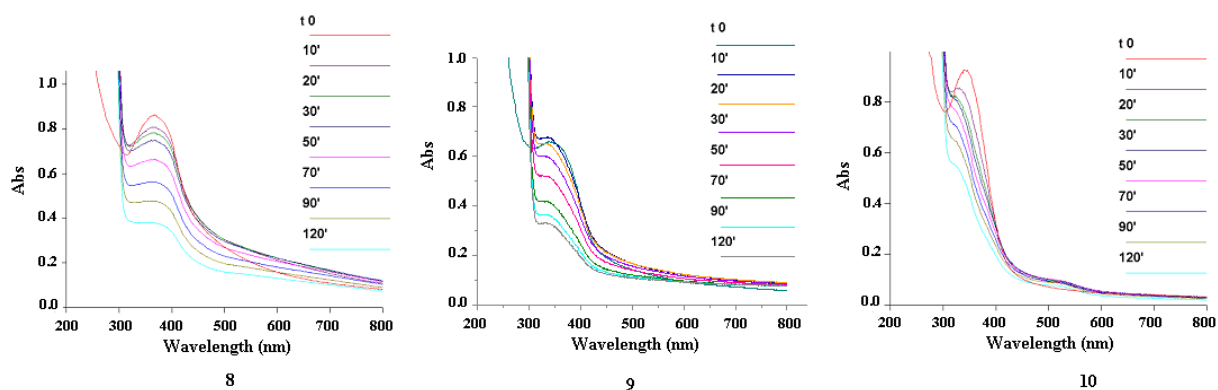


Figura 60. Cinetiche complessi **8-10**, buffer fosfato 10 mM (pH 7.4) con 10 equivalenti di ascorbato di sodio.

Test di citotossicità sulla linea A2780.

Come atteso, i dinucleari risultano tutti più attivi rispetto ai mononucleari, in particolare quelli contenenti il frammento AuPPh_3^+ .

Complesso	A2780/S		A2780/R	
	IC ₅₀ (μM)	Effetto	IC ₅₀ (μM)	Effetto
3[#]	1.91	8.46%	12.96	9.61%
4	0.64	2.08%	1.23	3.35%
5[#]	0.57	4.21%	1.58	3.77%
<i>cisplatino</i>	2.10	0%	15.95	0%

Tabella 5. Valori di IC₅₀ osservati, * % di inibizione della crescita cellulare causata dal DMSO alla corrispondente IC₅₀, [#] i valori indicati sono il risultato di un solo screening e sono tuttora in corso ulteriori test di conferma.

Reattività con proteine modello: citocromo C e lisozima.

Citocromo C.

L'analisi ESI MS su **9**, ha rivelato la scarsa reattività di questo complesso. Trascorse le prime 24 ore si osserva solo il segnale del Cyt C non reagito, e si inizia ad intravedere la formazione di

qualche prodotto solo tra le 48 e le 120 ore di incubazione a 37 °C (figura 61). Il derivato **9** mostra una maggiore tendenza a reagire con la proteina formando i quattro addotti, da mono- a tetra-nucleare, con il metallo nello stato di ossidazione +I. Anche in questo caso l'abbondanza dei prodotti è molto bassa anche dopo 24 h, un ulteriore esempio della relazione che intercorre tra reattività con il citocromo ed attività citotossica nei confronti della linea A2780.

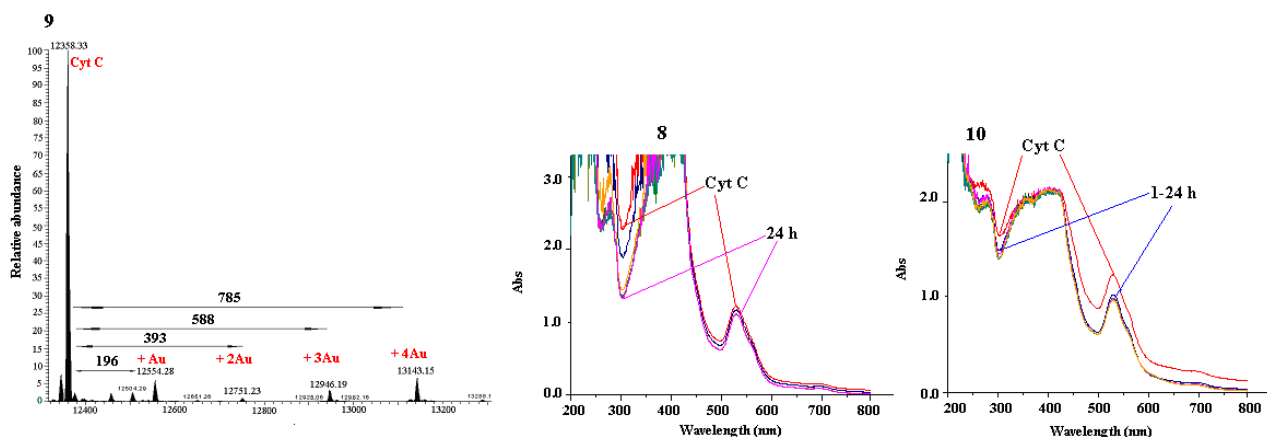


FIGURA 61. Spettri di massa ed assorbimento UV dei complessi **8-10** con Cyt C.

Gli altri derivati dinucleari Au(III)-Au(I) hanno un comportamento diverso tra loro. Per il complesso **8** le variazioni spettrali si osservano prevalentemente nella zona tra 200 e 400 nm, mentre l'altra banda rimane pressoché invariata nelle 24 h. Il complesso **10** reagisce istantaneamente con la proteina, come evidenziato dai cambiamenti su tutte le bande del citocromo, e le scansioni successive alla prima risultano sovrapponibili, lasciando presupporre la formazione di addotti stabili.

Lisozima.

Per lo studio della reattività con il lisozima (hen egg white lysozyme, Hewl) è stato scelto solo il dinucleare misto **9**. Durante un periodo di 24 ore, dall'analisi dello spettro sembra che ci sia una qualche interazione tra proteina e complesso, evidenziata dai cambiamenti spettrali apparsi in seguito all'aggiunta del campione. In particolare si osserva la graduale diminuzione di intensità delle bande del complesso che scompaiono alla fine delle 24 h.

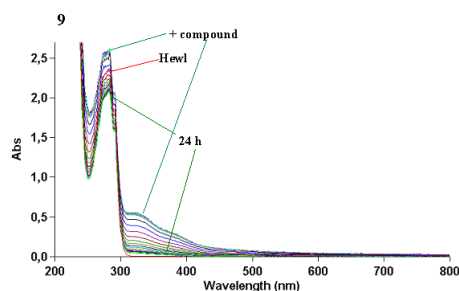


Figura 62. Cinetica complesso **9** e lisozima, 24 h di incubazione, buffer TMAA.

Test preliminari sull'attività antiplasmodica.

I composti scelti per questo studio preliminare sono sia complessi di Au(I) che Au(III), mono e dinucleari. In tabella 6 sono riportati i risultati ottenuti. I valori di IC_{50} cadono tutti nel range micromolare, e l'inibizione della falcipaina (FP-2, proteasi cisteinica), riportata per una concentrazione di farmaco 20 μ M, mostra valori interessanti e più alti per i complessi contenenti Au(I). La falcipaina contiene un gruppo tiolo nel sito attivo, facilmente accessibile. Centri metallici tiofilici, come Au(I), sono in grado di inibire l'enzima.

Complessi	IC_{50} (μ M)	Inibizione (%) (FP-2 20 μ M)
1-K	4.82	66.15
2	5.16	24.10
4	2.26	–
6	2.02	46.20
9	1.32	96.35
15[PF₆]	5.11	59.15
16[PF₆]	4.51	54.40
19	1.33	43.15
24	–	68.35
27	2.34	–

Tabella 6. Valori di IC_{50} ed inibizione della falcipaina FP-2.

Tutti i complessi testati hanno mostrato un'attività interessante, specialmente i dinucleari, tra i quali il più attivo sembra essere il dinucleare misto **9**. Il complesso **2** con la TPA sembra essere invece il meno attivo. Non esiste, tuttavia, una correlazione diretta tra l'inibizione della falcipaina e l'attività antiplasmodica, per cui non si esclude che l'inibizione di questo enzima possa essere uno dei meccanismi attraverso i quali i complessi di Au causano questa pronunciata attività antiproliferativa del *P. falciparum*.

Sezione Sperimentale.

Materiali e metodi.

I leganti sono stati acquistati o preparati secondo le usuali procedure riportate in letteratura. I buffer sono stati preparati, poco prima dell'utilizzo, sciogliendo 275.8 mg di NaH_2PO_4 (buffer fosfato 10 mM, pH 7.4) o 665.6 mg di $\text{CH}_3\text{COON}(\text{Me})_4$ (buffer tetrametilammonio acetato 25 mM, pH 7.5) in 200 ml di acqua totali portando a pH con NaOH acquoso, e conservati in frigo. Le analisi elementari (C, H, N) sono state effettuate dal Sig. A. Canu con un analizzatore Perkin-Elmer 240B. Gli spettri ^1H NMR sono stati registrati, a temperatura ambiente, con uno spettrofotometro Varian VXR 300 operante a 300 MHz (^1H) e 74.5 MHz (^{13}C). I chemical shifts, espressi in ppm, sono relativi al riferimento interno TMS. Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrofotometro Jasco FTIR 480 Plus in emulsione con Nujol. Le misure di conducibilità, riportate come Λ_M , espresse in $\Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$, sono state effettuate con un conduttimetro Philips PW 9505. Gli spettri di massa per lo studio della reattività con proteine sono stati registrati con uno spettrometro LTQ-Orbitrap ad alta risoluzione (Thermo, San Jose, CA, USA), equipaggiato con una sorgente ESI convenzionale. Per i complessi di oro è stato invece utilizzato uno spettrometro VG 7070EQ, equipaggiato con un data system PDP11-250J ed operante in condizioni FAB, ioni positivi, con 3-nitrobenzilalcol come matrice. I punti di fusione sono stati determinati in capillare con un apparecchio Buchi mod. 530. I solventi sono stati anidrificati e distillati secondo le usuali procedure di laboratorio. Gli spettri UV-visibile sono stati registrati con uno spettrofotometro Varian Cary 50 UV-Vis. I voltammogrammi sono stati registrati con un potenziostato Metrohm Autolab PGSTAT 10 interfacciato con il software General Purpose Electrochemical System Software package (GPES). Le scansioni sono state effettuate a diverse velocità ($50\text{--}1000 \text{ mV s}^{-1}$) in solventi anidri in una cella voltammetrica Metrohm utilizzando un elettrodo di riferimento standard Ag/AgCl ed un elettrodo combinato di riferimento e di lavoro in platino. I dati riportati sono riferiti alla coppia reversibile Fc^+/Fc .

Preparazione dei campioni per la registrazione delle cinetiche.

Si preparano delle soluzioni 10^{-2} M in DMSO che vengono conservate in freezer sino al momento dell'utilizzo. La soluzione per l'analisi viene preparata direttamente nelle cuvette in quarzo (1 ml) diluendo 10 μl di soluzione in 990 μl di buffer fosfato (10 mM, pH 7.4).

Successivamente si procede con la registrazione degli spettri impostando le scansioni (200-800 nm) secondo due cicli. Il primo prevede una scansione ogni 10 minuti durante la prima ora, il secondo una scansione ogni 60 minuti per le successive 23 ore. La temperatura di lavoro è 25 °C. Per lo studio della stabilità in ambiente riducente le soluzioni vengono preparate in cuvetta. Si diluiscono 10 µl della soluzione 10^{-2} M del complesso in DMSO con 980 µl di buffer fosfato. Dopo aver registrato il primo spettro si aggiungono 10 µl soluzione di ascorbato di sodio 10^{-1} M in acqua e si fanno partire immediatamente le scansioni. Anche in questo caso lo strumento è stato impostato per seguire due cicli, il primo con una scansione ogni cinque minuti per la prima ora, il secondo con una sola scansione ogni 10 minuti per l'ora successiva.

Reazioni con proteine.

Preparazione dei campioni per la registrazione degli spettri di massa.

Si preparano delle soluzioni contenenti complesso e proteina in rapporto 3:1 in buffer tetrametilammonio acetato (TMAA, 25 mM, pH 7.5) diluendo 6 µl di soluzione del complesso 10^{-2} M in DMSO con 174 µl di buffer ed aggiungendo 20 µl di soluzione acquosa 10^{-3} M di citocromo (o 20 µl di soluzione acquosa 10^{-3} M di lisozima), ottenendo una concentrazione finale del complesso di $3 \cdot 10^{-4}$ M (200 µl) Si lascia poi la miscela in incubazione per 24 ore (ove non specificato diversamente) in bagno termostato a 37 °C. Trascorso il periodo, si prepara il campione per la massa immediatamente prima dell'iniezione nello strumento, diluendo ulteriormente la soluzione con buffer TMAA sino ad una concentrazione finale di $5 \cdot 10^{-6}$ M del complesso. Si esegue l'analisi dopo aver acidificato con l'aggiunta dello 0.1% di acido formico.

Preparazione dei campioni per la registrazione delle cinetiche all'UV.

I campioni vengono preparati nelle cuvette immediatamente prima dell'analisi per diluizione di 30 µl della soluzione 10^{-2} M del complesso in 870 µl di buffer fosfato e successiva aggiunta di 100 µl di soluzione acquosa 10^{-3} M di citocromo (o 100 µl di soluzione acquosa 10^{-3} M di lisozima), in modo che proteina e complesso risultino in rapporto 1:1.

Test di citotossicità.

Procedura sperimentale Per linee cellulari in monolayer.⁹³

Tale metodica valuta il numero di cellule sulla base della determinazione quantitativa delle proteine cellulari totali in seguito a colorazione con SRB.

Le cellule vengono inoculate nelle piastre a 96 pozzetti a fondo piatto ad una densità di 5×10^4 cellule/pozzetto, in un volume di 200 μL finali 24 ore prima dell'esposizione ai farmaci; i farmaci vengono aggiunti disciolti in terreno di coltura 1640 o in PBS ad una concentrazione 10x rispetto a quella finale. Le soluzioni dei farmaci vengono preparate per diluizione con PBS (phosphate buffered-saline) di soluzioni madre in DMSO, a diverse concentrazioni. Per ogni linea cellulare scelta vengono somministrati 10 μL di soluzione dei complessi a diverse concentrazioni.

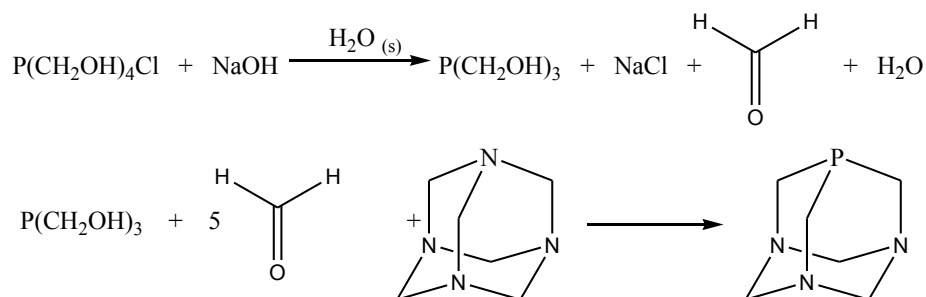
Al termine del periodo di incubazione, dopo aver eliminato il surnatante presente nei pozzetti, le cellule vengono fissate con acido tricloroacetico (TCA) al 10% (100 μL /pozzetto) e lasciate per un'ulteriore ora a 4°C. Successivamente le micropiastre vengono lavate con acqua per 5-6 volte e lasciate asciugare all'aria. Le cellule così fissate vengono quindi colorate aggiungendo 75 μL /pozzetto della soluzione di SRB 0.4% in acido acetico 1% e mantenute a temperatura ambiente per 30 minuti. Il colorante non legato viene eliminato mediante lavaggio con una soluzione di acido acetico 1% e quello residuo (legato alle proteine) solubilizzato con una soluzione di TRIS base (tris-idrossimetil-amminometano, 10 mM, 150 μL /pozzetto).

Le micropiastre così trattate vengono infine analizzate ad un lettore automatico per micropiastre interfacciato con il software Microplate Manager/PC versione 4.0 (Bio-Rad Laboratories, Milano, Italia) per l'analisi automatizzata dei dati, ad una lunghezza d'onda di 540 nm corrispondente al valore massimo di assorbimento della SRB.

Rappresentando graficamente su scala semilogaritmica la crescita cellulare espressa come percentuale dei controlli (asse delle ordinate) rispetto alla concentrazione di farmaco impiegata (asse delle ascisse), si estrapola il valore della concentrazione di farmaco necessaria per inibire la crescita cellulare del 50% rispetto al controllo (IC_{50}).

Sintesi dei leganti.

1,3,5-triaza-fosfadamantano (TPA).



In un beker contenente ghiaccio (5.55 g) e tetrakis-idrossietil fosfonio cloruro (THPC, 10.0 ml, sol. acquosa 80%, 56 mmol) si aggiunge molto lentamente una soluzione acquosa di NaOH (2.23 g, 56 mmol) e si agita manualmente. Terminata l'aggiunta e una volta raggiunta la temperatura ambiente vengono aggiunte, in successione, formaldeide (21.00 g, sol. acquosa 40%, 280 mmol) e l'esametilen-tetraammina (EMTA, 6.26 g, 45 mmol). La soluzione risultante viene lasciata sotto agitazione durante la notte. Trascorso il periodo si trasferisce la soluzione in un cristallizzatore a base larga e si lascia cristallizzare il prodotto per 48 ore. Si filtra il solido bianco e si lava con abbondante etanolo freddo in modo da eliminare i sali inorganici e l'ammina in eccesso. Si ricristallizza da CHCl_3 .

Resa: 57%

Peso Molecolare: 157.15 g/mol

Punto di fusione: $>260^\circ\text{C}$

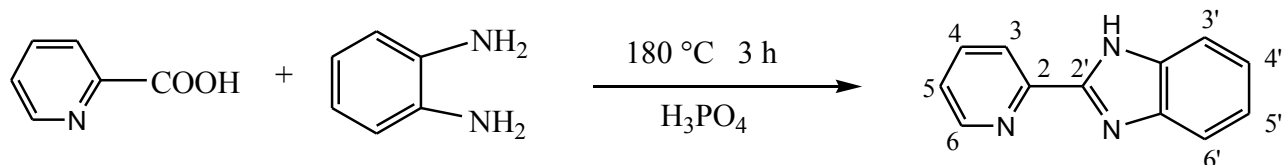
Formula: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_3\text{P}$ Cone Angle: 130° ;

$^1\text{HNMR (D}_2\text{O)}$:

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
3.90	d	[6H]		PCH_2N
4.43	ps	[6H]	9.0	NCH_2N

^{31}P NMR (D_2O): δ -98.3 s

2-(2-piridil)benzimidazolo (PbNH).



Si aggiunge una quantità stechiometrica di o-fenilendiammina (0,879 g, 8,13 mmol) ad 1g di acido picolinico con l'aggiunta di acido polifosforico (2,16 g). Si lascia a ricadere per tre ore e, trascorso il periodo, si neutralizza l'acido con ammoniaca e si nota la formazione di un precipitato bianco. Si filtra il solido su buchner, si solubilizza con EtOH caldo, si aggiunge carbonio attivo alla soluzione e si lascia sotto agitazione per qualche minuto. Si filtra la soluzione, si concentra a piccolo volume e si completa la precipitazione con esano.

Resa: 75%

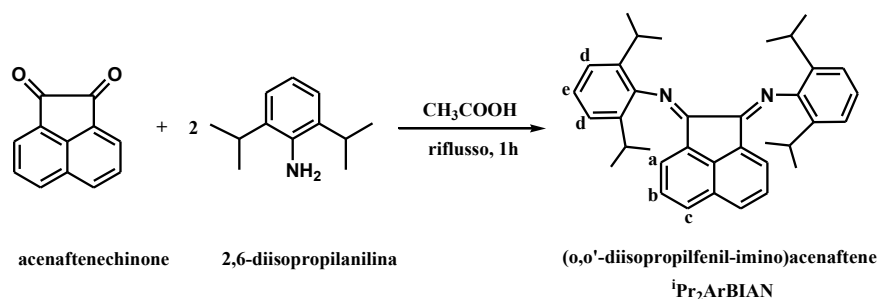
Peso molecolare: 195.22 g/mol

Punto di fusione= $226\text{ }^\circ\text{C}$

Formula: $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3$

^1H NMR (CDCl_3):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.31	m	[2H]		H^4+H^5
7.39	ddd	[1H]	7.5, 4.8, 0.9	$\text{H}^{5'}$
7.51	m (broad)	[1H]	4.8	$\text{H}^{6'}/\text{H}^{3'}$
7.85	s (broad)	[1H]		$\text{H}^{3'}/\text{H}^{6'}$
7.87	td	[1H]	7.8, 1.7	H^4
8.43	d	[1H]	7.9	H^3
8.65	d	[1H]	4.8	H^6

(*o,o'*-diisopropilfenil-imino)acenaftene (ⁱPr₂ArBIAN).

Alla sospensione dell'acenaftenechinone in acido acetico (2.01 g, 11.0 mmol, 30 ml) si aggiunge la 2,6-diisopropilanilina (4.6 ml, 24.4 mmol). Si lascia a ricadere per circa un'ora e successivamente si lascia raffreddare sino al raggiungimento della temperatura ambiente. Il solido giallo viene filtrato su buchner e lavato con CH₃COOH (10 ml) ed esano (4x20 ml). Il prodotto si lascia seccare bene all'aria.

Resa: 89%

Peso molecolare: 500.72 g/mol

Punto di fusione: 276°-277°C

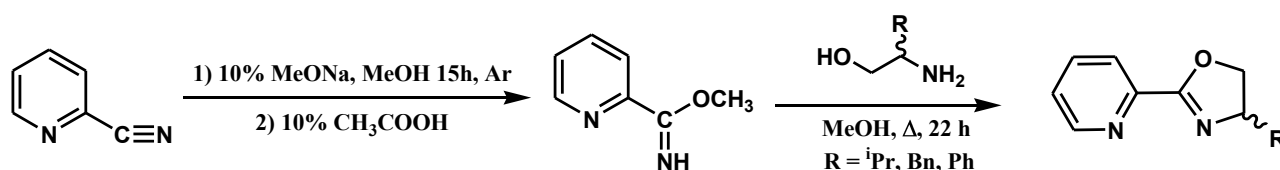
Formula: C₃₆H₄₀N₂

¹HNMR (CDCl₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
0.97	d	[12H]	6.9	CH ₃
1.23	d	[12H]	6.9	CH ₃
3.03	sept	[4H]	6.9	(CH ₃) ₂ CH
6.63	d	[2H]	7.2	H ^a
7.30	m	[6H]		H ^d + H ^e
7.36	t	[2H]	7.8	H ^b
7.87	d	[2H]	8.4	H ^c

2-piridinil-2-ossazoline (pyox^R).

I leganti chirali (*S*)-4-*R*-2-(piridin-2-yl)-4,5-dihydrooxazole [R = CHMe₂ (iPr), CH₂Ph (Bz)] ed (*R*)-4-Ph-2-(piridin-2-yl)-4,5-dihydrooxazole sono stati preparati per reazione dell'intermedio comune carbossi imidato con l'opportuno amminoalcol chirale: (L)-(+)-valinolo per R = CHMe₂ (iPr), L-(+)-fenilalaninolo per R = CH₂Ph (Bn) oppure (R)-(-)-2-fenilglicinolo per R = Ph.



Alla soluzione metanolica della cianopiridina (6.25 g, 60.0 mmol, 100 ml), sotto atmosfera di Ar, si aggiunge la soluzione di MeONa preparata di fresco sciogliendo Na (0.17 g, 7.3 mmol, 50 ml) in MeOH. La risultante soluzione giallo pallido si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente e sotto atmosfera inerte per circa 15h.

Trascorso il periodo si aggiunge CH₃COOH (0.42 ml, 7.3 mmol), per bloccare la reazione, e si lascia sotto agitazione per circa mezzora. Successivamente si concentra la soluzione sino a secchezza e si estrae il residuo con Et₂O distillato. Si filtra la soluzione etere e si concentra la soluzione giallo pallido sino a secchezza per ottenere il carbossiimidato (resa 80%).

Infine, alla soluzione metanolica del carbossiimidato (6.62 g, 48.6 mmol) si aggiunge l'amminoalcol (48.6 mmol) ed una goccia di HCl concentrato. Si lascia a ricadere per 22h. Successivamente si evapora il solvente al rotavapor e si lascia seccare bene il prodotto sotto vuoto.

I leganti pyox^{Ph} e pyox^{Bn} a temperatura ambiente sono degli oli, mentre pyox^{iPr} è un solido bianco che può essere ricristallizzato da dietil etere (25°C → -75°C).

pyox ^R	R = ⁱ Pr	R = Ph	R = Bn
Resa (%)	57	62	60
Peso molecolare (g mol ⁻¹)	190.24	224.26	238.28
Formula	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O

¹H NMR (CDCl₃) : pyox^{iPr}

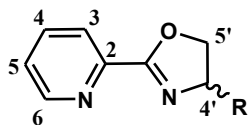
δ	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
0.95	d	[3H]	6.9	CH ₃
1.06	d	[3H]	6.9	CH ₃
1.91	m	[1H]	6.9	CHMe ₂
4.19	m	[2H]		CH-4+ CH-5
4.52	td	[1H]	1.0, 7.8	CH-5 ox
7.39	ddd	[1H]	1.2, 4.8, 7.7	CH-5 py
7.78	td	[1H]	1.9, 7.9	CH-4 py
8.07	td	[1H]	1.0, 7.9	CH-3 py
8.71	ddd	[1H]	1.0, 1.8, 4.8	CH-6 py

¹H NMR (CDCl₃) : pyox^{Ph}

δ	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
4.39	dd	[1H]	8.6	CH-4
4.90	dd	[1H]	8.6, 10.2	CH-5' ox
5.46	dd	[1H]	8.6, 10.2	CH-5 ox
7.37-	m	[5H]		Ph
7.42	ddd	[1H]	1.2, 4.8, 5.9	CH-5 py
7.80	td	[1H]	1.8, 7.7	CH-4 py
8.17	d	[1H]	7.8	CH-3 py
8.74	ddd	[1H]	0.8, 1.5, 4.7	CH-6 py

$^1\text{H NMR (CDCl}_3\text{)} : \text{pyox}^{\text{Bn}}$

δ	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
2.76	dd	[1H]	9.0, 13.7	CHH Bn
3.31	dd	[1H]	5.0, 13.7	CHH Bn
4.23	dd	[1H]	7.8, 8.5	CH-5 ox
4.45	dd	[1H]	8.7, 9.3	CH-5 ox
4.66	m	[1H]		CH-4 ox
7.20-	m	[5H]		Ph
7.41	ddd	[1H]	1.1, 4.7, 7.5	CH-5 py
7.79	td	[1H]	1.7, 7.8	CH-4 py
8.05	pd	[1H]	7.9	CH-3 py
8.71	ddd	[1H]	0.8, 1.6, 4.8	CH-6 py



NH₄[Au(sac)₂], 1-NH₄.

La metodica per la sintesi è simile a quella riportata per Na[Au(Sac)₂], [NH₄][Sac] è stato preparato trattando la saccarina con la quantità equimolare di NH₄OH.

Resa: 90%
Peso Molecolare: 579.36 g mol⁻¹
Punto di fusione: 225 °C (con decomposizione)

Conducibilità, Λ_{MAX} (Ω⁻¹cm²mol⁻¹) (H₂O, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 64.0
(acetone, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 70.0

Analisi: Calcolato per C₁₄H₁₄AuN₃O₇S₂ (monoidrato) C 28.15% H 2.36% N 7.03%
Trovato C 27.97% H 2.36% N 7.06%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1679 (s), 1294 (s), 1156 cm⁻¹ (s)

¹H NMR (CD₃COCD₃): δ 7.79-7.94 m [8H]

[(TPA)Au(Sac)], 2.

Una sospensione contenente Na[Au(Sac)₂] (292.5 mg, 0.5 mmol) e [(TPA)₂Au]Cl (273.7 mg, 0.5 mmol) in 80 ml di H₂O viene lasciata sotto agitazione per due ore a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. Trascorso il periodo si filtra il solido bianco e si lava con piccole aliquote di H₂O, EtOH, Et₂O. Si ricristallizza da CH₂Cl₂/Et₂O per ottenere 120.8 mg di prodotto.

Resa: 23%
Peso Molecolare: 536.30 g mol⁻¹
Punto di fusione: 221-222 °C (con decomposizione)

Conducibilità, Λ_{MAX} ($\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$) (H₂O, $5 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³): 64.0
(acetone, $5 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³): 70.0

Analisi: Calcolato per C₁₃H₁₆AuN₄O₃PS C 29.11% H 3.01% N 10.45%
Trovato C 29.66% H 2.60% N 10.18%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1678 (s), 1288 (s), 1253 (s), 1165 (s), 1011 (s), 971 (m), 947 (m)

¹H NMR (CD₃COCD₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.80-7.90	m	[8H]		saccarina
4.48	d	[3H]	13.0	NCH ₂ N eq or ax
4.59	s	[6H]		NCH ₂ P
4.72	d	[3H]	13.0	NCH ₂ N eq or ax

[Au(TPA)₂]BF₄, 3-BF₄.

Alla soluzione del complesso [Au(TPA)₂]Cl () in 50 ml di MeCN si aggiunge un equivalente di AgBF₄ e si lascia sotto agitazione al riparo dalla luce per cinque ore. Successivamente si filtra la soluzione per eliminare AgCl utilizzando una colonna impaccata con celite, si concentra a piccolo volume e si completa la precipitazione per addizione di dietilere per ottenere il prodotto come solido bianco cristallino.

Resa: 66.98%
Peso Molecolare: 598.07 g mol⁻¹
Punto di fusione: 210°C (con decomposizione)

Conducibilità, Λ_{MAX} ($\Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) (acetone, $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$): 108.0

Analisi: Calcolato per C₁₂H₂₄AuBF₄N₆P₂ C 24.10% H 4.04% N 14.05%
Trovato C 23.99% H 3.85% N 13.79%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1039 (s broad, BF₄⁻)

¹H NMR (D₂O):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
4.47	s	[12H]		NCH ₂ P
4.52	s	[6H]		NCH ₂ N eq or ax
4.66	d	[6H]	13.0	NCH ₂ N eq or ax

Na[Au(Sac)₄]**·2NaCl, 5.**

La metodica per la sintesi è simile a quella riportata per K[Au(Sac)₃Cl], utilizzando il sale sodico della sacarina.

Resa: 69%

Peso Molecolare: 1065.55 g mol⁻¹

Punto di fusione: >270 °C

Conducibilità, Λ_{MAX} ($\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$)

(H₂O, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 214.0

(acetone, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 104.0

Analisi: Calcolato per C₂₈H₁₆AuCl₂N₄Na₃O₁₂S₄ C 31.56% H 1.51% N 5.26%

Trovato C 31.79% H 1.95% N 5.36%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1703 (s), 1324 (s), 1244 (m), 1180 (s), 971 (m), 751 (m), 675 (m)

¹H NMR (CD₃COCD₃): δ 7.61-7.97 m [16H]

[Cl₂Au(PbN)AuCl], 8

Una sospensione di **6** (230.2 mg, 0.35 mmol) in 50 ml di CH₃CN viene lasciata reagire con [(THT)AuCl] (112.2 mg, 0.35 mmol) per 24 ore a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. Trascorso il periodo, si filtra l'addotto non reagito (insolubile) e si concentrano le acque madri sino ad ottenere un piccolo volume di soluzione. Per addizione di dietil etere precipita il prodotto come solido arancione.

Resa: 57%
Peso Molecolare: 692.91 g mol⁻¹
Punto di fusione: 193-195 °C

Analisi: Calcolato per C₁₂H₈Au₂Cl₃N₃ C 20.75% H 1.16% N 6.05%
Trovato C 20.54% H 0.98% N 5.95%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1599 (w), 1564 (w), 943 (w), 787 (m), 746 (s), 688 (w), 552 (s), 345 (s)

¹H NMR (DMSO-d₆):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.41	dd	[2H]	3.2, 6.1	H ^{4'} +H ^{5'}
7.66	dd	[1H]	5.1, 6.2	H ⁴
7.74	dd	[2H]	3.2, 6.2	H ^{3'} +H ^{6'}
8.12	td	[1H]	7.8	H ⁵
8.37	d	[1H]	7.8	H ³
8.83	d	[1H]	4.4	H ⁶

[Cl₂Au(PbN)Au(PPh₃)] [PF₆], 9- PF₆.

Si prepara una soluzione acetonica di [(Ph₃P)AuCl] (247.4 mg, 0.5 mmol, 30 ml) e si addiziona AgPF₆ (127.0 mg, 0.5 mmol) notando l'immediata precipitazione di AgCl. Si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa 30 minuti. Successivamente si rimuove AgCl e la soluzione filtrata viene aggiunta ad una sospensione acetonica di **6** (230.0 mg, 0.5 mmol, 20 ml). Si lascia reagire per ulteriori due ore notando un graduale e lento cambiamento del colore da marrone ad arancione. Trascorso il periodo, si filtra il solido e si ricristallizza da CH₃CN/Et₂O.

Resa: 37%
Peso Molecolare: 922.34 g mol⁻¹
Punto di fusione: 225 °C

Analisi: Calcolato per C₃₀H₂₃Au₂Cl₂F₆N₃P₂ C 33.79% H 2.17% N 3.94%
Trovato C 30.32% H 2.04% N 4.78%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1698 (s), 1608 (w), 1103 (m, PPh₃), 841 (s, PF₆⁻), 750 (m), 694 (m), 558 (s), 547 (s), 380 (w)

¹H NMR (CD₃CN):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.32	m	[2H]		H ^{4'} / H ^{5'}
7.61-7.66	m	[15H]		PPh ₃
7.87-7.92	m+m	[2H]		H ⁵ +H ^{6'} / H ^{3'}
8.33	t	[1H]	7.2	H ⁴
8.46	d	[1H]	7.8	H ³
8.64	dm	[1H]		H ^{3'} / H ^{6'}

9.29 d [1H] 5.4 H⁶

³¹P NMR (CD₃COCD₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Attribuzione
32.70	s	<i>PPh</i> ₃
-143.50	m	<i>PF</i> ₆ ⁻

7.87	d	[1H]	7.0	H ⁵
8.48	dd	[2H]	4.8, 5.5	H ³ +H ⁴
8.73	d	[1H]	7.5	H ⁶

[(Ph₃PAu)₂(PbN)][PF₆], 11-PF₆.

Si prepara una soluzione acetonica di [(Ph₃P)AuCl] (247.4 mg, 0.5 mmol, 30 ml) e si aggiunge AgPF₆ (127.0 mg, 0.5 mmol) notando l'immediata precipitazione di AgCl. Si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa 30 minuti. Successivamente si rimuove AgCl e la soluzione filtrata viene aggiunta ad una soluzione preparata di fresco contenente PbNH (97.6 mg, 0.5 mmol, 10 ml CH₃CN) e KOH (26.5 mg, 0.5 mmol, 20 ml H₂O). Immediatamente dopo l'aggiunta si osserva la comparsa di un solido bianco. La sospensione viene lasciata sotto agitazione per ulteriori 12 ore a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. Trascorso il periodo si elimina il solvente sino a secchezza e si ricristallizza da CH₂Cl₂/Et₂O per dare un solido bianco.

Resa: 34%

Peso Molecolare: 1257.10 g mol⁻¹

Punto di fusione: 240 °C

Analisi:	Calcolato per	C ₄₈ H ₃₈ Au ₂ F ₆ N ₃ P ₃	C 45.84% H 3.05% N 3.34%
	Trovato		C 46.02% H 3.44% N 3.31%

FT IR (nujol, cm⁻¹): (s, PPh₃), 841 (s, PF₆⁻), 749 (s), 693 (s), 558 (s), 546 (s), 511 (m)

¹H NMR (CD₂Cl₂):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.43	dd	[2H]	3.2, 6.0	H ^{4'} + H ^{5'}
7.51	ddd	[1H]	1.1, 4.8, 7.5	H ⁴
7.57-7.70	m	[30H]		PPh ₃
7.78	td	[1H]	1.8, 7.8	H ⁵
8.01	dd	[2H]	3.1, 6.0	H ³ +H ⁶
8.41	d	[1H]	4.3	H ³

8.93 d [1H] 7.6 H⁶

³¹P NMR (CD₂Cl₂):

δ (ppm)	Molteplicità	Attribuzione
32.60	s	<i>PPh</i> ₃
-143.40	m	<i>PF</i> ₆ ⁻

[(TPA)Au(PbN)], 12.

Ad una sospensione acquosa di [(TPA)AuCl] (195.0 mg, 0.5 mmol, 20 ml) viene addizionata una soluzione acquosa, precedentemente preparata, contenente PbNH (97.61 mg, 0.5 mmol, 3 ml CH₃CN) e KOH (26.5 mg, 0.5 mmol, 20 ml H₂O). La sospensione risultante viene lasciata sotto agitazione per 24 ore a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. Trascorso il periodo, si filtra il solido bianco su buchner e lo si lava con H₂O, EtOH, Et₂O. Si ricristallizza da acetone/Et₂O.

Resa: 36%

Peso Molecolare: 750.28 g mol⁻¹

Punto di fusione: 235 °C

Analisi:	Calcolato per	C ₁₈ H ₂₀ AuN ₆ P	C 39.43% H 3.68% N 15.33%
		Trovato	C 39.23% H 3.28% N 15.09%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1590 (m), 1281 (s), 1241 (m), 1094 (w), 1011 (m), 970 (s), 949 (m), 738 (s), 585 (s)

¹H NMR (CD₃COCD₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
4.58	s	[6H]		N-CH ₂ -N TPA
4.67	dd (parte AB di ABX)	[6H]		N-CH ₂ -P TPA
7.03	dd	[2H]	3.2, 6.0	H ^{4'} +H ^{5'}
7.40	ddd	[1H]	1.2, 4.8, 7.5	H ⁴
7.59	dd	[2H]	3.2, 6.0	H ^{3'} +H ^{6'}
7.88	td	[1H]	1.8, 7.4	H ⁵
8.43	dt	[1H]	1.2, 7.9	H ³
8.62	ddd	[1H]	0.9, 1.8, 4.8	H ⁶

^{31}P NMR (CD_3COCD_3):

δ (ppm)	Molteplicità	Attribuzione
-65.14	s	TPA

$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{PbNH})][\text{PF}_6]$, 13-PF₆.

Una soluzione di diclorometano contenente $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{AuCl}]$ (247.4 mg, 0.5 mmol, 40 ml) ed AgPF_6 (127.0 mg, 0.5 mmol) viene lasciata sotto agitazione sino alla completa precipitazione di AgCl . La soluzione filtrata viene poi addizionata alla soluzione del legante PbNH (97.6 mg, 0.5 mmol, 15 ml CH_2Cl_2) e lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa due ore. Trascorso il periodo si addiziona una piccola quantità di NaHCO_3 e si lascia reagire per un'ulteriore ora. Successivamente si filtra la soluzione per eliminare i sali inorganici, si concentra sino ad ottenere un piccolo volume ed infine si completa la precipitazione del prodotto solido bianco con dietil etere.

Resa: 55%

Peso Molecolare: $799.10 \text{ g mol}^{-1}$

Punto di fusione: $160 \text{ }^\circ\text{C}$

Analisi:	Calcolato per	$\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{AuF}_6\text{N}_3\text{P}_2$	C 45.07% H 3.03% N 5.26%
	Trovato		C 45.26% H 2.93% N 5.02%

FT IR (nujol, cm^{-1}): 3323 (m, NH), 1105 (s, PPh_3), 841 (s, PF_6^-), 748 (s), 694 (s), 557 (s), 548 (s), 505 (s)

^1H NMR (CDCl_3):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.43	dd	[2H]	3.2, 6.0	$\text{H}^{4'} + \text{H}^{5'}$
7.51	ddd	[1H]	1.1, 4.8, 7.5	H^4
7.57- 7.70	m	[30H]		PPh_3
7.78	td	[1H]	1.8, 7.8	H^5
8.01	dd	[2H]	3.1, 6.0	$\text{H}^{3'} + \text{H}^{6'}$
8.41	d	[1H]	4.3	H^3
8.93	d	[1H]	7.7	H^6
11.71	s	[1H]		NH

^{31}P NMR (CDCl_3):

δ (ppm)	Molteplicità	Attribuzione
32.30	s	PPh_3
-142.81	m	PF_6^-

[(Ph₃P)Au(PbN)], **14**

Una soluzione metanolica del complesso **13** (191.0 mg, 0.24 mmol, 50 ml) viene lasciata reagire con KOH (14.0 mg, 0.24 mmol) per circa un'ora a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. Successivamente si concentra sino a secchezza e si ricristallizza il residuo da CH₂Cl₂/Et₂O per ottenere un solido bianco.

Resa: 69%

Peso Molecolare: 665.13 g mol⁻¹

Punto di fusione: 110 °C

Analisi:	Calcolato per	C ₃₀ H ₂₃ AuN ₃ P	C 55.14% H 3.55% N 6.43%
	Trovato		C 54.37% H 3.78% N 5.89%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1101 (s, PPh₃), 739 (s), 694 (s), 546 (s), 509 (m)

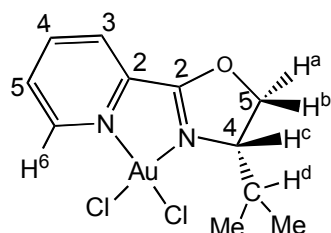
¹H NMR (CDCl₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.19	dd	[2H]	3.2, 6.0	H ^{4'} +H ^{5'}
7.24	dd	[1H]	4.8, 7.7	H ⁵
7.49-7.59	m	[9H]		<i>m+p</i> PPh ₃
7.71	ddd	[6H]	1.8, 8.1, 13.0	<i>o</i> PPh ₃
7.79	dd	[1H]	1.8, 8.1	H ⁴
7.84	dd	[2H]	3.2, 5.9	H ^{3'} +H ^{6'}
8.20	dd	[1H]	0.9, 4.8	H ³
8.57	d	[1H]	8.1	H ⁶

³¹P NMR (CDCl₃):

^1H NMR (CD_3COCD_3):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
1.03	d	[3H]	7.0	CH_3
1.08	d	[3H]	7.0	CH_3
2.73	m	[1H]	7.0, 3.2	H^{d}
4.99	ddd	[1H]	9.9, 5.3, 3.2	H^{c}
5.45	t	[1H]	9.9, 9.7	H^{b}
5.58	dd	[1H]	9.7, 5.3	H^{a}
8.54	ddd	[1H]	7.8, 5.9, 1.8	$\text{H}^5\text{-py}$
8.64	dd	[1H]	7.7, 1.1	$\text{H}^3\text{-py}$
8.94	td	[1H]	7.8, 1.3	$\text{H}^4\text{-py}$
9.62	dd	[1H]	5.8, 0.8	$\text{H}^6\text{-py}$



Esperimento NOE difference (CD_3COCD_3): irradiando il segnale a δ 5.45 ppm (t, H^{b}) si osserva effetto NOE sui segnali a δ 4.99 ppm (ddd, H^{c}), δ 1.08 ppm (d, Me) and δ 1.03 ppm (d, Me); irradiando a δ 1.08 ppm (d, Me) si ha effetto NOE sui segnali δ 4.99 ppm (ddd, H^{c}) and δ 5.58 ppm (dd, H^{a}).

$[\text{Au}(\text{pyox}^{\text{iPr}})\text{Cl}_2][\text{AuCl}_4]$, $15[\text{AuCl}_4]$.

L'addotto cationico è stato preparato con lo stesso metodo ma senza l'aggiunta di KPF_6 . Cristalli del complesso sono stati ottenuti per lenta diffusione di dietil etere nella soluzione acetonica.

[Au(pyox^{Bn})Cl₂][PF₆], 16[PF₆].

Una soluzione di AgPF₆ (503.7 mg, 2.0 mmol) in 20 ml di CH₃CN viene aggiunta ad una soluzione di NaAuCl₄·2H₂O (397.8 mg, 1.0 mmol, 40 ml). Si nota l'immediata precipitazione di AgCl. La sospensione viene lasciata sotto agitazione per circa un'ora a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. Successivamente, si elimina AgCl filtrando su Celite ed il filtrato si addiziona ad una soluzione di pyox^{Bn} (238.1 mg, 1.0 mmol) in 10 ml di CH₃CN. Trascorse circa due ore, si filtra per eliminare NaPF₆ e si concentra la soluzione sino a secchezza. Si lava il residuo con CH₂Cl₂ ed infine si ricristallizza da acetone/dietil etere.

Resa: 60%
Peso Molecolare: 651.12 g mol⁻¹
Punto di fusione: 189 °C

Conducibilità, Λ_{MAX} (Ω⁻¹cm²mol⁻¹) (acetone, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 138

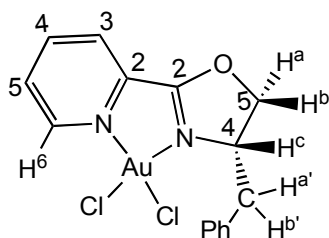
Analisi: Calcolato per [C₁₅H₁₄AuCl₂F₆N₂OP]·0.5Et₂O C 29.67% H 2.78% N 4.07%
Trovato C 29.78% H 2.71% N 4.06%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1639 (m), 1587 (m), 839 (vs), 375 (s), 358 (s)

¹H NMR (CD₃COCD₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
3.22	dd	[1H]	13.8, 9.9	H ^a o H ^b
3.72	dd	[1H]	13.8, 3.2	H ^a o H ^b
5.25	m	[1H]	9.9, 3.2, 8.7, 5.5	H ^c
5.41-5.48	m	[5H]	9.3	H ^a + H ^b
7.30-7.50	m	[1H]		Ph
8.57	ddd	[1H]	7.8, 5.9, 1.7	H ⁵ -py

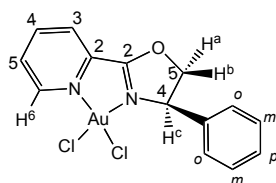
8.63	dd	[1H]	7.8, 1.5	H ³ -py
8.95	dt	[1H]	7.8, 1.3	H ⁴ -py
9.65	dd	[1H]	5.9, 1.1	H ⁶ -py



Esperimento NOE difference (CD_3COCD_3): irradiando il segnale a δ 3.72 ppm (dd, CH^aH^b) si osserva effetto NOE sul segnale a δ 3.22 ppm (dd, CH^eH^f).



La metodica per la sintesi di questo addotto è analoga a quella riportata per $[\text{Au}(\text{pyox}^{\text{iPr}})\text{Cl}_2][\text{PF}_6]$. Il prodotto ottenuto si lava con abbondante CH_2Cl_2 e si ricristallizza da acetone/dietil etere.



[Au(pyox^{iPr})Cl(OMe)][PF₆], 18.

Alla sospensione dell'addotto [Au(pyox^{iPr})Cl₂][PF₆] in MeOH (602.5 mg, 1.0 mmol, 30 ml) si aggiunge MeONa (161.9 mg, 3.0 mmol) in MeOH (20 ml): il colore della sospensione cambia rapidamente da giallo a rosso. Si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa 45 minuti sino ad ottenere una soluzione. Successivamente si filtra su Celite e si elimina il solvente sino a secchezza. Si recupera il residuo sciogliendolo in CH₂Cl₂, si filtra nuovamente su Celite, si concentra sino ad ottenere un piccolo volume di soluzione e si completa la precipitazione con dietil etere per ottenere un solido giallo che risulta essere una miscela dei due isomeri (A:B = 7:1, criterio NMR).

Resa: 47%

Peso Molecolare: 598.66 g mol⁻¹

Punto di fusione: 110-111 °C

Analisi:	Calcolato per C ₁₂ H ₁₇ AuClF ₆ N ₂ O ₂ P	C 24.08%	H 2.86%	N 4.68%
	Trovato	C 23.91%	H 2.78%	N 4.53%

Conducibilità, Λ_{MAX} (Ω⁻¹cm²mol⁻¹) (acetone, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 130

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1650 (m), 1597 (m), 1026 (s), 847 (vs) and 359 (s)

¹H NMR (CD₃COCD₃):

δ	Molteplicità	Integrale	<i>J</i> (Hz)	Attribuzione
0.99	d	[3H]	6.8	CH ₃ A
1.03	d	[3H]	7.0	CH ₃ B
1.04	d	[3H]	7.1	CH ₃ A
1.08	d	[3H]	7.3	CH ₃ B
2.67	m	[1H]	7.1, 3.4	H ^d A
2.71	broad m	[1H]		H ^d B
3.11	s	[3H]		OCH ₃ B
3.19	s	[3H]		OCH ₃ A
4.77	m	[1H]	9.7, 6.0,	H ^c A
4.96	broad m	[1H]		H ^c B
5.34	t	[1H]	9.7	H ^b A
5.43	dd	[1H]	9.7, 6.0	H ^a A
8.41	m	[1H]		H ⁵ B
8.55	m	[2H]		H ⁵ +H ³ A
8.80	td	[1H]	7.8, 1.3	H ⁴ B
8.85	td	[1H]	7.8, 1.3	H ⁴ A
9.34	dd	[1H]	6.2, 1.2	H ⁶ A
9.42	d	[1H]	6.0	H ⁶ B

[Au(N,N',O^{iPr})Cl], 19

Ad una sospensione dell'addotto [Au(pyox^{iPr})Cl₂][PF₆] (602.0 mg, 1.0 mmol) in 3 ml di CH₃CN si aggiunge una soluzione acquosa di AcONa (164.1 mg, 2.0 mmol, 30 ml) e si lascia a ricadere per circa tre ore. Dopo aver lasciato raffreddare, si filtra il solido giallo su buchner e si lava con H₂O, EtOH e dietil etere. Si ricristallizza da CHCl₃/Et₂O. I cristalli sono stati ottenuti per lenta diffusione di dietil etere in una soluzione acetonica del complesso.

Resa: 46%

Peso Molecolare: 438.66 g mol⁻¹

Punto di fusione: 185 °C

Conducibilità, Λ_{MAX} (Ω⁻¹cm²mol⁻¹) (acetone, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 14

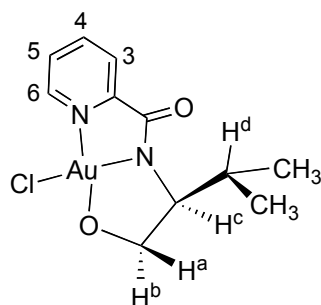
Analisi:	Calcolato per	C ₁₁ H ₁₄ AuClN ₂ O ₂	C 30.12%	H 3.22%	N 6.39%
	Trovato		C 30.25%	H 2.98%	N 6.34%

MS (FAB+): 439 [M+ H] 100 %.

FT IR (nujol, cm⁻¹) : 1649 (vs), 1602 (s), 1011 (s) and 357 (s)

^1H NMR (CD_3COCD_3):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
1.04	d	[3H]	6.8	CH_3
1.10	d	[3H]	6.8	CH_3
2.43	m	[1H]	6.8	H^d
3.25	dd	[1H]	11.3, 1.5	H^a
3.43	ddd	[1H]	6.8, 5.1, 1.5	H^c
4.50	dd	[1H]	11.3, 5.1	H^b
8.00	dd	[1H]	7.8, 1.8	$\text{H}^3\text{-py}$
8.06	ddd	[1H]	7.3, 5.6, 1.7	$\text{H}^5\text{-py}$
8.55	td	[1H]	7.8, 1.5	$\text{H}^4\text{-py}$
8.95	dd	[1H]	5.6, 1.5	$\text{H}^6\text{-py}$



Metodo B)

Alla soluzione del legante $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{OH}$ in CH_3CN (206.6 mg, 1.0 mmol, 3 ml) si aggiungono una soluzione acquosa di $\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (397.8 mg, 1.0 mmol, 40 ml) ed AcONa (168.3 mg, 2.0 mmol). La risultante sospensione gialla si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa 24 ore. Trascorso il periodo, si filtra il solido giallo e si lava con piccole aliquote di H_2O , EtOH e dietil etere. Si ricristallizza da $\text{CHCl}_3/\text{Et}_2\text{O}$ per ottenere 289.6 mg di prodotto (resa 66%).

Sintesi di [Au(N,N',O^{Ph})Cl], 20.

Si addiziona una soluzione acquosa di AcONa (131.7 mg, 1.6 mmol, 20 ml) ad una sospensione dell'addotto (305.2 mg, 0.4 mmol) in 5 ml di CH₃CN. La risultante sospensione viene lasciata a ricadere per circa tre ore durante le quali si ottiene una soluzione gialla. Una volta lasciato raffreddare, si filtra su Celite e si elimina il solvente sino a secchezza. Successivamente si estrae il residuo con CH₂Cl₂, si filtra la soluzione e si concentra a piccolo volume. Per addizione di dietil etere precipita il solido giallo.

Resa: 43%
Peso Molecolare: 472.68 g mol⁻¹
Punto di fusione: 119 °C

Analisi: Calcolato per C₁₄H₁₂AuClN₂O₂ C 35.57% H 2.56% N 5.93%
Trovato C 35.48% H 2.40% N 5.83%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1707 (m, sharp), 1649 (vs), 1604 (vs) and 357 (s, broad)

¹H NMR (CD₃COCD₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
3.55	dd	[1H]	11.1, 3.1	H ^b
4.67	dd	[1H]	11.1, 5.2	H ^a
4.80	dd	[1H]	5.2, 3.1	H ^c
7.26- 7.37	m	[3H]		H ^{m,p} Ph
7.67	d	[2H]	7.0	H ^o Ph
7.97	dd	[1H]	7.9, 1.2	H ³ -py
8.08	ddd	[1H]	7.4, 5.6,	H ⁵ -py

			1.5	
8.55	td	[1H]	7.8, 1.3	H ⁴ -py
9.00	d	[1H]	5.5	H ⁶ -py

REATTIVITÀ DI DI 19 CON ACIDI PROTICI

Reazione con HCl: [Au(N[^]N[^]OH)Cl₂], 21.

Ad una sospensione del complesso **19** (219.0 mg, 0.5 mmol) in 20 ml di H₂O si aggiunge una soluzione acquosa di HCl (0.1 M, 5 ml) e si osserva il graduale cambiamento di colore da giallo ad arancione. La sospensione viene lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa 3 ore. Trascorso il periodo, si filtra il solido arancione su buchner e si lava con H₂O, EtOH e dietil etere. Per ricristallizzazione da CHCl₃/esano si ottengono 107.1 mg di una miscela 12:1 del prodotto protonato e del complesso di partenza (criterio ¹H NMR). Per lenta diffusione di esano nella soluzione cloroformica della miscela, si ottengono due tipi di cristalli, gialli ed arancioni, che vengono separati al microscopio ottico consentendo di isolare il composto puro.

Resa: 66%

Peso Molecolare: 475.12 g mol⁻¹

Punto di fusione: 179 °C

Analisi: Calcolato per C₁₁H₁₅AuCl₂N₂O₂ C 27.81% H 3.18% N 5.90%

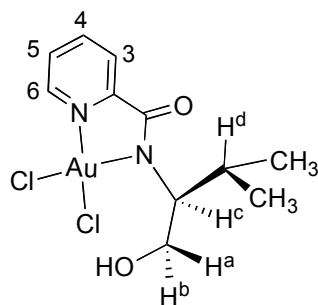
Trovato C 27.68% H 3.06% N 5.87%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 3500 (w, sh), 3385 (m), 1638 (vs), 1605 (s), 373 (s), 352 (vs)

$^1\text{H NMR}$ (CD_3COCD_3):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
1.00	d	[3H]	6.7	CH_3
1.03	d	[3H]	6.7	CH_3
2.56	m	[1H]	9.9, 6.7, 3.2	H^{d}
3.78	broad m	[1H]	8.2, 5.2	H^{a}
3.90-4.20	broad unres. m	[3H]		$\text{H}^{\text{b}} + \text{H}^{\text{c}} + \text{OH}$
8.08	d	[1H]	7.8	$\text{H}^{\text{3-py}}$
8.13	ddd	[1H]	7.8, 5.8, 1.6	$\text{H}^{\text{5-py}}$
8.63	td	[1H]	7.8, 1.3	$\text{H}^{\text{4-py}}$
9.49	d	[1H]	5.8	$\text{H}^{\text{6-py}}$

Per addizione di D_2O il segnale a 3.78 appare come dd ($J_{\text{H-H}} = 11.1, 3.0$ Hz), mentre quello centrato a circa 4.05 integra per 2H ed è solo parzialmente risolto; appare un nuovo segnale a δ 3.49 ppm.



Sintesi di 21: Metodo B).

Ad una soluzione del legante $\text{N,N}'\text{H}_2\text{OH}$ in CH_3Cn (206.6 mg, 1.0 mmol, 3 ml) si aggiunge una soluzione acquosa di $\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (397.8 mg, 1.0 mmol, 40 ml). Si lascia sotto agitazione a

temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per 24 h notando la formazione di un precipitato arancione. Trascorso il periodo, si filtra il solido, si lava con H₂O, EtOH e dietil etere. Si ricristallizza da CHCl₃/esano. Resa 78%.

Reazione con HBF₄: [Au(N,N',OH)(H₂O)Cl][BF₄], 22.

Ad una sospensione del complesso **19** (110.3 mg, 0.25 mmol) in 20 ml di H₂O si aggiunge una soluzione acquosa di HBF₄ (0.1 M, 2.5 ml) e si lascia a ricadere per tre ore. Trascorso il periodo, si lascia raffreddare e si filtra il solido giallo. Si recuperano le acque madri e concentrano sino a secchezza. Il residuo si estrae con CHCl₃ e si filtra la soluzione su Celite. La soluzione viene quindi concentrata a piccolo volume ed infine si addiziona esano per completare la precipitazione di 17.5 mg del prodotto solido giallo consistente in una miscela circa 1:1 dell'acquo-complesso [Au(N,N',OH)(H₂O)Cl] e del complesso di partenza (¹H NMR criterio).

¹H NMR (CD₃COCD₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
0.99	d	[3H]	6.7	CH ₃
1.03	d	[3H]	6.7	CH ₃
2.55	m	[1H]	9.5, 6.7, 2.8	H ^d
3.79	dd	[1H]	11.4, 3.6	H ^a
3.90-4.30	Broad unres. m	[3H]		H ^b + H ^c + OH
5.80	s	[2H]		H ₂ O
—				H ³ sovr a 19
8.13	ddd	[1H]	7.7, 5.6, 1.2	H ⁵ -py
8.62	td	[1H]	7.7, 1.2	H ⁴ -py
9.49	d	[1H]	5.6	H ⁶ -py

Reazione con HOTf: [Au(N,N',OH)(OTf)Cl], 23.

Ad una sospensione del complesso **19** (84.8 mg, 0.19 mmol) in 15 ml di H₂O si aggiunge HOTf (0.017 ml, 0.19 mmol, ρ 1.696 g/ml) e si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 22 ore. Trascorso il periodo, si filtra il solido giallo e si concentrano le acque madri sino a secchezza. Si estrae il residuo semi-solido con CHCl₃, si filtra su Celite e si concentra sino a secchezza per ottenere un solido giallo consistente in una miscela circa 2:1 di [Au(N,N',OH)(OTf)Cl] e del complesso di partenza (¹H NMR criterio).

¹H NMR (CDCl₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
0.99	pseudo t	[6H]	6.7	2 CH ₃
2.59	broad m	[1H]	6.7	H ^d
3.86	d	[1H]	10.1	H ^a
4.05	broad d	[2H]	8.3	H ^b + H ^c
7.82	ddd	[1H]	7.4, 5.8, 1.4	H ⁵ -py
8.06	d	[1H]	7.5	H ³ -py
8.32	t	[1H]	7.7	H ⁴ -py
9.46	d	[1H]	5.8	H ⁶ -py

[Au(2,9-Me₂phen) (μ-O)]₂[PF₆]₂, 24[PF₆]₂.

Ad una sospensione dell'addotto [Au(2,9-Me₂phen)Cl₃] (511.7 mg, 1.0 mmol) in 3 ml di CH₃CN si aggiungono una soluzione acquosa di AcONa (164.9 mg, 2.0 mmol) ed infine di KPF₆ (552.2 mg, 3.0 mmol). La sospensione viene lasciata a ricadere per 3 ore e si nota il graduale cambiamento di colore da arancione a rosa. Successivamente si lascia raffreddare e, una volta portato a temperatura ambiente, si filtra la sospensione sotto vuoto e si lava il precipitato con H₂O, EtOH ed Et₂O. Si lava il prodotto con abbondante CHCl₃ per eliminare l'addotto non reagito ed infine si ricristallizza il solido rosa da CH₃CN/Et₂O.

Resa : 65%

Peso molecolare : 1132.38 g mol⁻¹

Punto di fusione : 204°C

Conducibilità, Λ_{MAX} (Ω⁻¹cm²mol⁻¹): (5·10⁻⁴ M in CH₃CN) 246.60

Analisi: Calcolato per C₂₈H₂₄Au₂F₁₂N₄O₂P₂ C 29.70% H 2.14% N 4.95%
Trovato C 29.84% H 1.89% N 4.98%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 842 (s), 687 (m), 669 (m), 557 (s)

¹H NMR (CD₃CN) :

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
3.22	s	[6H]		CH ₃
7.97	d	[2H]	8.2	H ³ + H ⁸
8.18	s	[2H]		H ⁵ + H ⁶
8.82	d	[2H]	8.2	H ⁴ + H ⁷

Scambio anionico con il sale di Brookhart.

Ad una sospensione dell'ossocomplesso (100.7 mg, 0.09 mmol) in CH₂Cl₂ (50 ml) si aggiunge una soluzione del sale di Brookhart (157.8 mg, 0.18 mmol) in CH₂Cl₂. La sospensione si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente per circa 30 minuti e si osserva la quasi completa solubilizzazione del solido. Si filtra quindi su celite per eliminare il sale NaPF₆ che si forma e si concentra la soluzione filtrata per poi precipitare con Et₂O. Si ottiene il prodotto cristallino rosa **24**[BAr₄']₂.

Resa: 74%
Peso molecolare: 2568.90 g mol⁻¹
Punto di fusione : 142°C

Conducibilità, Λ_{MAX} ($\Omega^{-1}cm^2mol^{-1}$): (5·10⁻⁴ M in CH₃COCH₃) 169.94

Analisi: Calcolato per C₉₂H₄₈Au₂B₂F₄₈N₄O₂ C 43.01% H 1.88% N 2.18%
Trovato C 42.94% H 1.69% N 2.34%

FT IR (nujol, cm⁻¹) : 682 (m), 670 (m), 550 (s)

¹H NMR (CD₃COCD₃) :

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
3.43	s	[6H]		CH ₃
7.67	s	[8H]		CH-4 BAr ₄ ' ⁻
7.79	t	[16H]		CH-2 + CH-5 BAr ₄ ' ⁻
8.25	d	[2H]	8.4	H ³ + H ⁸
8.41	s	[2H]		H ⁵ + H ⁶
9.13	d	[2H]	8.4	H ⁴ + H ⁷

[Au(Ph₂ox)Cl₃], 26.

Ad una soluzione del legante (397,9 mg, 1,0 mmol) in CH₃CN (5 ml) si aggiunge una soluzione acquosa di NaAuCl₄·2H₂O (397,9 mg, 1 mmol). Si lascia sotto agitazione per 24 ore a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce. Successivamente si filtra su buchner il solido giallo, si lava con H₂O, EtOH, Et₂O e si ricristallizza da CH₂Cl₂/Et₂O.

Resa: 73%

Peso Molecolare: 523.22 g mol⁻¹

Punto di fusione: 210 °C

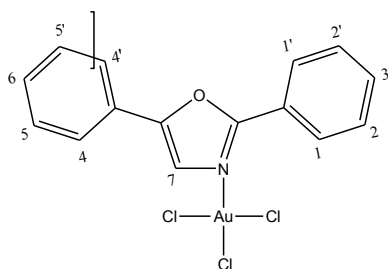
Analisi: Calcolato per C₁₅H₁₁AuCl₃NO C 34.34% H 2.11% N 2.67%

Trovato C 34.51% H 2.46% N 2.89%

FT IR (nujol, cm⁻¹): 1463 (s), 700 (m), 370 (s), 266 (s)

¹H NMR (CD₂Cl₂):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
7.57-7.62	m	[3H]		H ⁵ +H ^{5'} +H ⁶
7.85-7.72	m	[6H]		
8.43	dd	[2H]	7.0, 1.5	H ¹ +H ^{1'}



[Au(¹PrArBIAN)Cl₂][AuCl₄], 27.

Alla sospensione del legante (501.0 mg, 1.0 mmol) in 3 ml di CH₃CN si aggiunge la soluzione acquosa di NaAuCl₄·2H₂O (380.1 mg, 1.0 mmol, 50 ml) ed infine il KPF₆ (553.4 mg, 3.0 mmol). Si lascia a ricadere per circa 3 ore osservando una variazione del colore del solido da giallo-arancio a rosso. Trascorso il periodo, si lascia raffreddare a temperatura ambiente e si filtra il precipitato lavando con H₂O, EtOH, ed abbondante Et₂O per eliminare il legante libero ancora presente. Il solido rosso e cristallino si ricristallizza da CHCl₃/Et₂O.

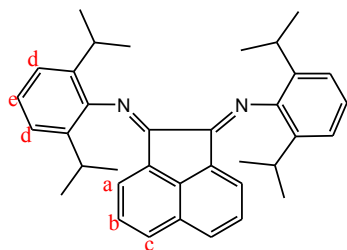
Resa: 44%
Peso Molecolare: 1107.37 g mol⁻¹
Punto di fusione: 214 °C

Conducibilità, Λ_{MAX} (Ω⁻¹cm²mol⁻¹) (acetone, 5·10⁻⁴ mol dm⁻³): 118.0

Analisi: Calcolato per C₃₆H₄₀Au₂Cl₆N₂ C 39.05% H 3.64% N 2.53%
Trovato C 39.77% H 3.84% N 2.48%

¹HNMR (CDCl₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
1.13	d	[12H]	6.3	CH ₃
1.48	d	[12H]	6.6	CH ₃
3.40	sept	[2H]	6.3	Me ₂ CH
6.82	d	[2H]	7.2	H ^a
7.52	d	[6H]	7.5	H ^d + H ^e
7.73	t	[2H]	7.2	H ^b
8.48	d	[2H]	8.4	H ^c



Polimerizzazione di stireni con [Au(N[^]N[^]O)Cl]: test preliminari di catalisi omogenea.

Le analisi elementari (C, H, N) sono state effettuate dal Sig. A. Canu con un analizzatore Perkin-Elmer 240B. Gli spettri ¹H e ¹³C{¹H} NMR sono stati registrati, a temperatura ambiente, con uno spettrofotometro Varian VXR 300 operando a 300.0 e 75.4 MHz, rispettivamente. I chemical shifts, espressi in ppm, sono relativi al riferimento interno TMS per ¹H e ¹³C{¹H}. Le misure DSC sono state effettuate con uno strumento DSC Q100 WATERS TA ed i termogrammi analizzati con il software TA UNIVERSAL ANALYSIS 2000. È stato effettuato un ciclo heat/cool/heat da 20 °C a 450 °C con velocità di riscaldamento di 10 °C/min sotto atmosfera di argon.

I solventi sono stati anidrificati e distillati prima dell'uso secondo le usuali procedure di laboratorio.

Procedura di polimerizzazione del 4-metossi-stirene

Metodo a.

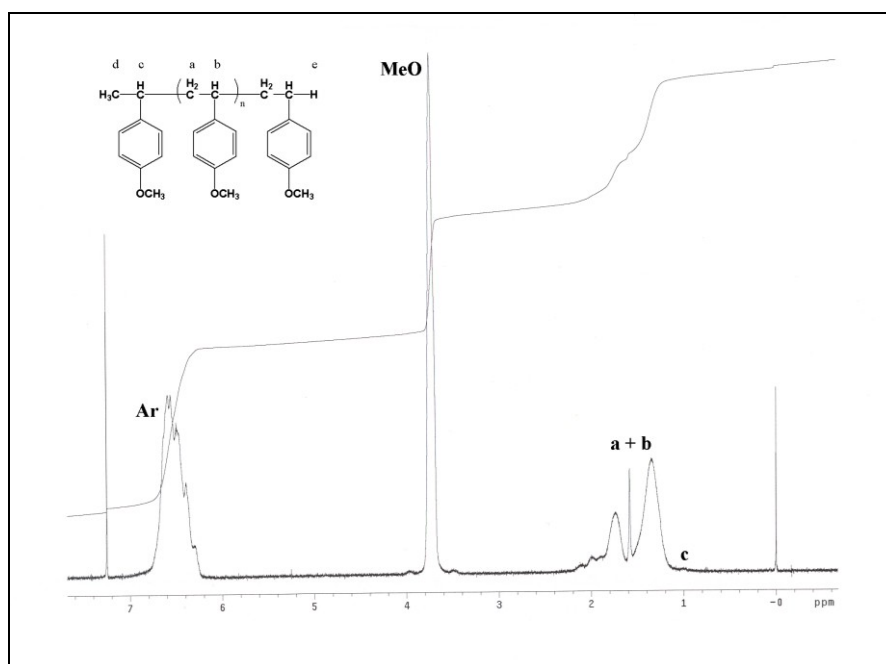
Ad una soluzione del complesso **19** (87.6 mg, 0.2 mmol) in 20 ml di CH₂Cl₂ si aggiunge un equivalente di AgPF₆ (50.6 mg, 0.2 mmol). Si lascia sotto agitazione per circa 20 minuti e si elimina AgCl filtrando su Celite. Successivamente si aggiunge 4-metossi-stirene (0.7 ml, ρ 1.009 g·ml⁻¹, 5.0 mmol) e si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa 15 minuti. Trascorso il periodo si concentra la soluzione sino a secchezza, si lava il residuo con abbondante dietil etere ed infine si lascia seccare sotto vuoto. Si ottiene un polimero viola chiaro in cui il colore è dovuto alla presenza in tracce di oro metallico finemente disperso.

Conversione: 100%

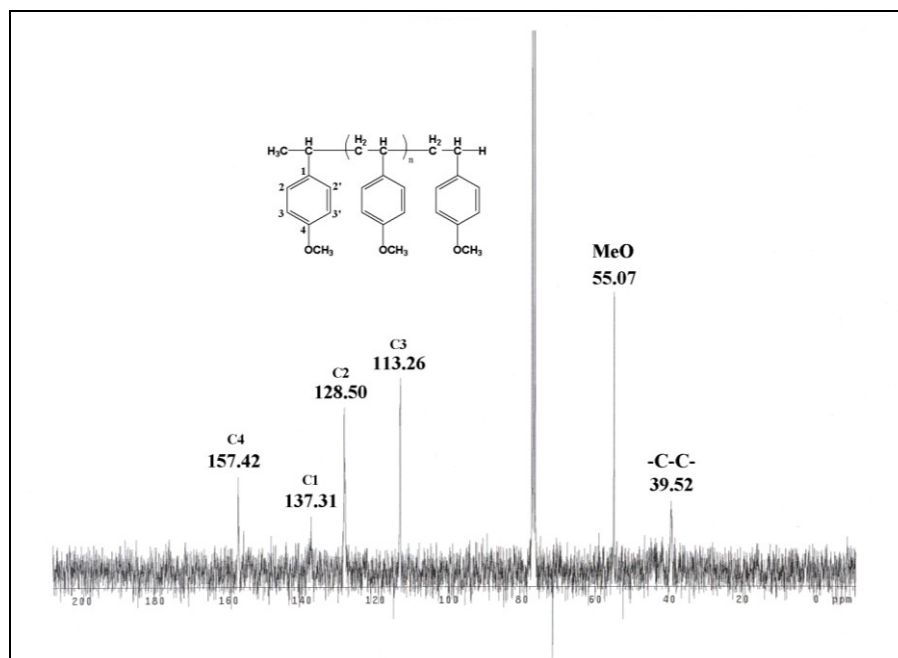
Analisi:	Calcolato per	C ₉ H ₁₀ O	C 80.56% ; H 7.51% ;
	Trovato		C 80.47% ; H 7.47% ;

TG: 110.78 °C

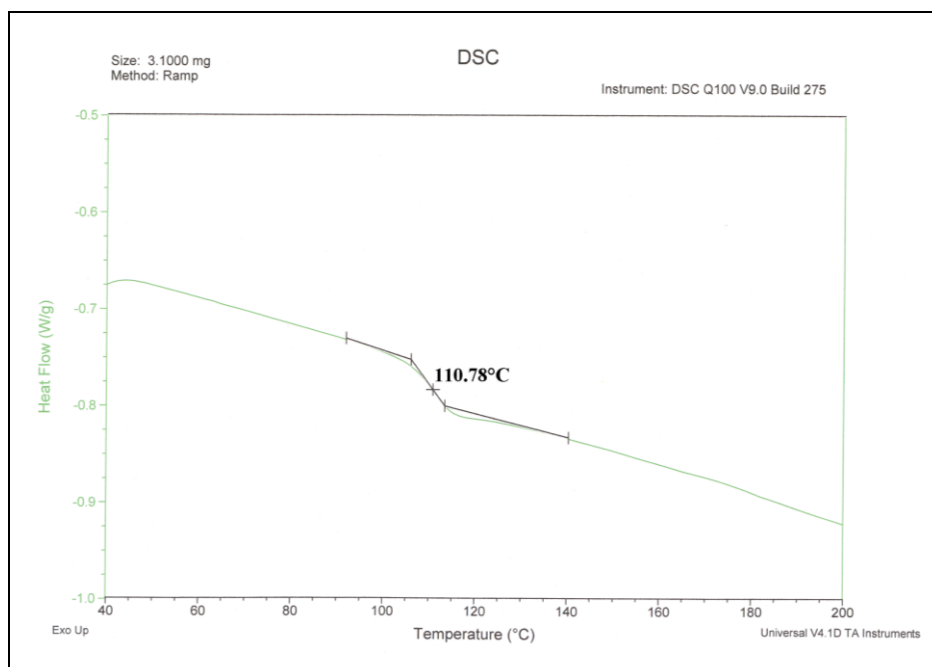
^1H NMR (CDCl_3)



^{13}C NMR (CDCl_3)



Termogramma DSC.



Metodo b.

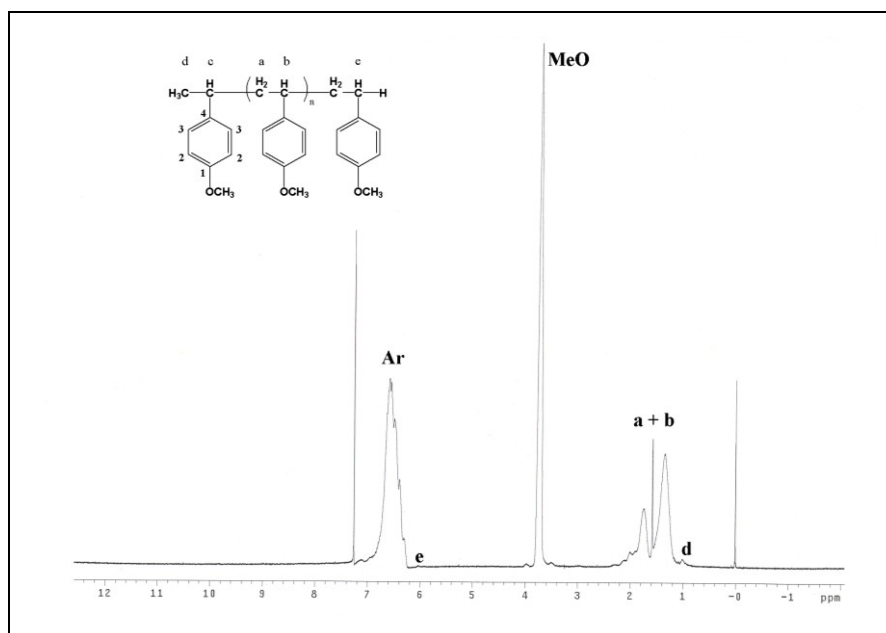
Ad una soluzione del complesso **19** (37.4 mg, 0.08 mmol, 0.9%) in 5 ml di CH_2Cl_2 si aggiunge un equivalente di $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.5 ml, soluzione eterea 0.15 M, 0.08 mmol). Si lascia sotto agitazione per qualche minuto ed infine si aggiunge lentamente l'olefina, notando l'istantanea precipitazione del polimero. La reazione è fortemente esotermica. Si lascia sotto agitazione per ulteriori 10 minuti al riparo dalla luce. Successivamente si aggiunge MeOH (20 ml) per completare la precipitazione del polimero, si filtra il prodotto, si lava con abbondante MeOH ed infine si lascia seccare sotto vuoto. Si recupera il complesso. Si ottiene lo stesso risultato anche utilizzando solo il 5% di HBF_4 rispetto al complesso.

Conversione: 100%

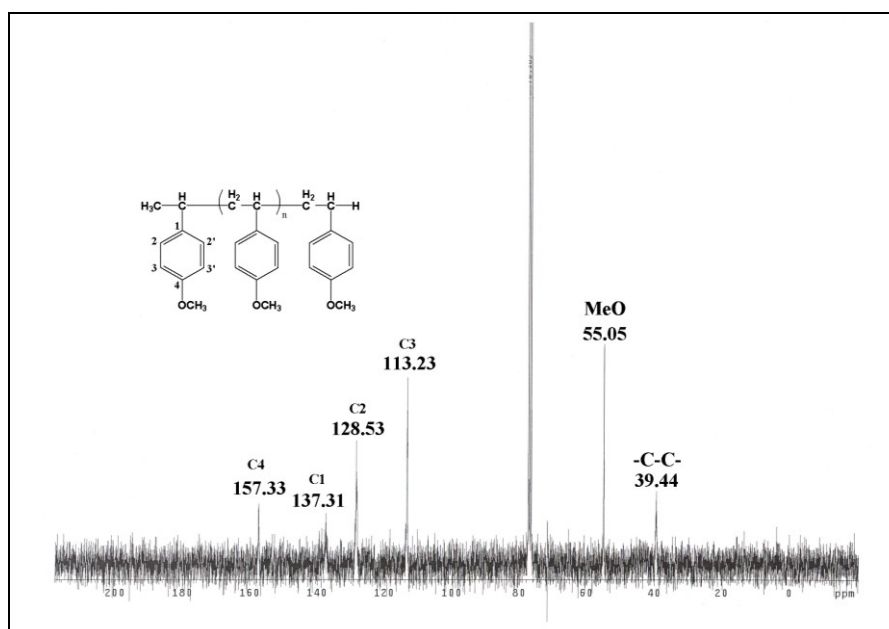
Punto di fusione: 416 °C

TG: 103.74 °C

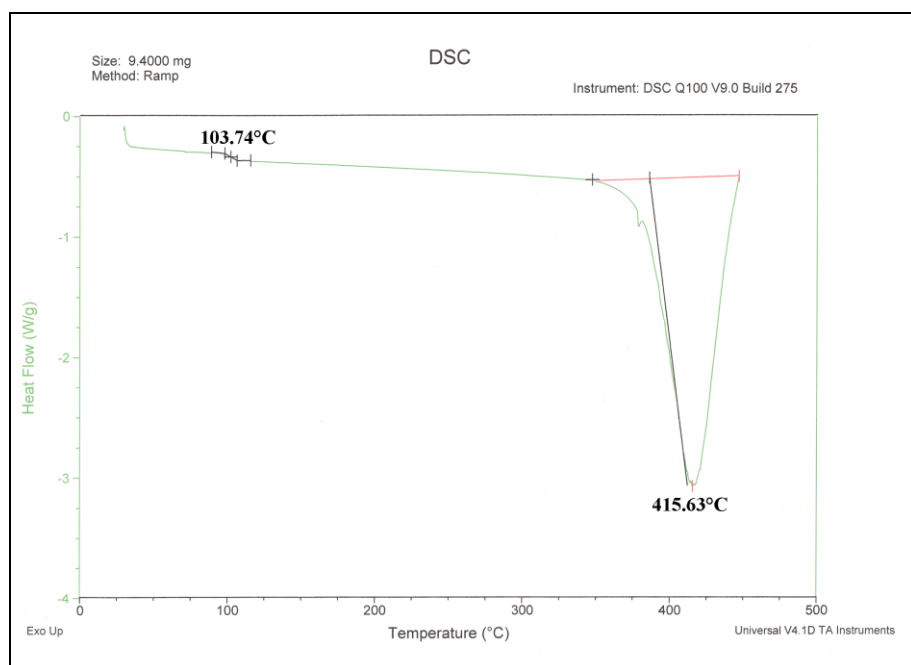
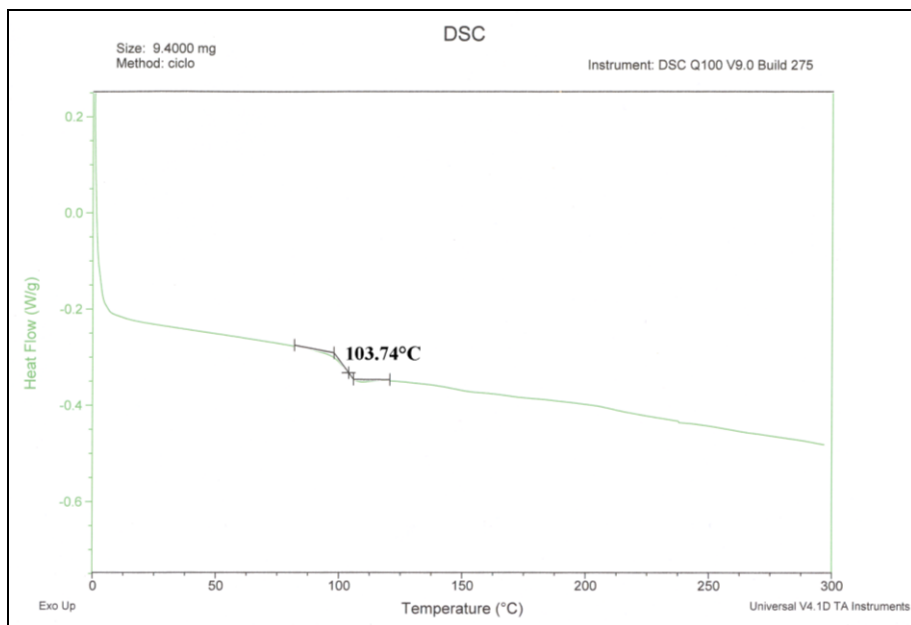
^1H NMR (CDCl_3)



^{13}C NMR (CDCl_3)



Termogrammi DSC.



Metodo c.

Ad una soluzione del complesso **19** (37.6 mg, 0.08 mmol, 0.9%) in 3 ml di CH₂Cl₂ si aggiunge un equivalente del sale Na[BAr'₄] (70.8 mg, 0.08 mmol). Si lascia sotto agitazione per qualche minuto ed infine si aggiunge lentamente l'olefina, notando l'istantanea precipitazione del polimero. Anche in questo caso si osserva che la reazione è fortemente esotermica. Si lascia sotto agitazione per ulteriori 5 minuti al riparo dalla luce. Successivamente si aggiunge MeOH (20 ml) per completare la precipitazione del polimero, si filtra il prodotto, si lava con abbondante MeOH ed infine si lascia seccare sotto vuoto.

Conversione: 100%

Punto di fusione: 415 °C

Procedura di polimerizzazione dello stirene

Metodo a.

Ad una soluzione del complesso **19** (109.6 mg, 0.25 mmol) in 20 ml di CH₂Cl₂ si aggiunge un equivalente di AgPF₆ (75.4 mg, 0.25 mmol). Si lascia sotto agitazione per circa 15 minuti e si elimina AgCl filtrando su Celite. Successivamente si aggiunge lo stirene (0.29 ml, ρ 0.909 g·ml⁻¹, 2.5 mmol) e si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per circa 20 minuti. Trascorso il periodo si concentra la soluzione sino ad ottenere un piccolo volume e si addiziona dietil etere per completare la precipitazione del polimero. Lo spettro ¹³C NMR ed il termogramma DSC (T_g 101.15 àC) suggeriscono la formazione di un polimero atattico.

Conversione: 25%

TG 101.15 °C

Metodo b.

Alla soluzione del complesso **19** (78.2 mg, 0.18 mmol) in 15 ml di CH₂Cl₂ si addiziona HBF₄·Et₂O (0.06 ml, soluzione eterea 0.15 M, 0.009 mmol) ed infine lo stirene (0.21 ml, 1.8 mmol, ρ 0.909 g·ml⁻¹). Si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente ed al riparo dalla luce per 24 ore.

Trascorso il periodo, si osserva che è presente oro metallico in sospensione. Si filtra la soluzione su Celite e si concentra sino a secchezza. Si estrae la frazione organica con dieteletere (3x50 ml) ed il residuo si ricristallizza da CH₂Cl₂/Et₂O. Si recuperano solo i prodotti di partenza. Si ottengono gli stessi risultati lasciando reagire fino a 10 giorni oppure utilizzando un equivalente di HBF₄.

Reazioni con etilene.

Metodo a.

Alla soluzione del complesso **19** (80.5 mg, 0.1 mmol) in CH₂Cl₂ si aggiunge la soluzione eterea di HBF₄·Et₂O (0.06 ml, 0.15 M, 0.009 mol) preparata di fresco. Dopo aver lasciato la soluzione sotto agitazione per circa 20 minuti, si lascia sotto flusso costante di etilene per qualche minuto, ripetendo l'operazione ogni 7-8 ore. Trascorse 24 ore si concentra la soluzione sino a secchezza e si estrae la frazione organica con dietil etere (3x50 ml). Il residuo si ricristallizza da CH₂Cl₂/Et₂O per recuperare il complesso.

La frazione eterea contiene il prodotto organico ossigenato che sembra corrispondere all'acetaldeide etil emiacetale.

¹H NMR (CDCl₃):

δ (ppm)	Molteplicità	Integrale	J (Hz)	Attribuzione
1.18	td	[3H]	0.9, 7.2	CH ₃ ''
1.29	dd	[3H]	0.9, 5.4	CH ₃ '
3.55	m	[1H]	0.8, 7.2, 9.7	CHH
3.81	m	[1H]	0.8, 7.2, 9.7	CHH
4.94	qd	[1H]	0.8, 5.4	CH
9.05	s broad	[1H]		OH

Bibliografia.

- ¹ a) Gimeno M.C., Laguna A., *Gold Bull.*, **2003**, *36*, 83-92; b) Laguna A., *Modern Supramolecular Gold Chemistry*, **2008**, Ed. Laguna A., Wiley-VCH;
- ² Bayler A., Schier A., Bowmaker G.A., Schmidbaur H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 7006-7007;
- ³ Scherbaum F., Grohmann A., Huber B., Krüger C., Schmidbaur H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1988**, *27*, 1544-1546;
- ⁴ a) Biltz W., Weibke F., Ehrhorn H.J., Wedemeyer R., *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **1938**, *236*, 12-23; b) Sommer A., *Nature*, **1943**, *152*, 215-215;
- ⁵ Dietzel P.D.C., Jansen M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **2001**, 2208-2209;
- ⁶ Hwang I.C., Seppelt K., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 3690-3693;
- ⁷ a) Holloway J.H., Schrobilgen G.J., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1975**, 623-624; b) Sokolov V.B., Prusakov V.N., Ryzhkov A.V., Drobyshevskii Y.V., Khoroshev S.S., *Doklady Akademii Nauk SSSR*, **1976**, *229*, 884; c) Vasile M.J., Richardson T.J., Stevie F.A., Falconer W.E., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 351-353;
- ⁸ Teo B.K., Shi X., Zhang H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 4329-4331;
- ⁹ Schmidbaur H., *Gold Bull.*, **2000**, *33*, 3-10;
- ¹⁰ Schmidbaur H., Gabbai F.P., Schier A., Riede J., *Organometallics*, **1995**, *14*, 4969-4971;
- ¹¹ G.C. Bond, C. Louis, D.T. Thompson, *Catalysis by Gold*, Imperial College Press, London, **2006**;
- ¹² Bond G.C., Sermon P.A., Webb G., Buchanan D.A., Wells P.B., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1973**, 444-445;
- ¹³ Haruta M., Kobayashi T., Sano H., Yamada N., *Chem. Lett.*, **1987**, *16*, 405-408;
- ¹⁴ Hutchings G.J., *J. Catal.*, **1985**, *96*, 292-295;
- ¹⁵ a) Hashmi A.S.K., *Gold Bull.*, **2004**, *37*, 51-65; b) Arcadi A., Di Giuseppe S., *Curr. Org. Chem.*, **2004**, *8*, 795-812; c) Hoffmann-Röder A., Krause N., *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 387-391; d) Widenhofer R.A., Han X., *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 4555-4563; e) Hashmi A.S.K., Hutchings G.J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 7896-7936; f) Hashmi A.S.K., *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 3180-3211; g) Fürstner A., Davies P.W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 3410-7449; h) Hashmi A.S.K., Rudolph M., *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, *37*, 1766-1775; i) Li Z., Brouwer C., He C., *Chem Rev.*, **2008**, *108*, 3239-3265; j) Arcadi A., *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 3266-3325; k) Toste D.J.,

Sherry B.D., Toste F.D., *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 3351-3378; l) Fierro-Gonzales J.C., Gates B.C., *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, *37*, 2127-2134;

¹⁶ Urbano J., Hormigo A.J., de Frémont P., Nolan S.P., Díaz-Requejo M.M, Pérez P.J., *Chem. Commun.*, **2008**, 759-761;

¹⁷ Cinellu M.A., Minghetti G., Cocco F., Stoccoro S., Zucca A., Manassero M., *Angew. Chem.*, **2005**, *117*, 7052-7055; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 6892-6895;

¹⁸ a) Giljohann D.A., Seferos D.S., Daniel W.L., Massich M.D., Patel P.C., Mirkin C.A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 3280-3295; b) Riehemann K., Schneider S.W., Luger T.A., Godin B., Ferrari M., Fuchs H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 872-897;

¹⁹ a) Fricker S.P., *Gold Bull.*, **1996**, *29*, 53-60; b) *Metal complexes in cancer chemotherapy*, ed. Keppler B.K., VCH, Weinheim, **1993**;

²⁰ (Crooke S.T., Snyder R.M., Butt T.R., Ecker D.J., Allaudeen H.S., Monia B., Mirabelli C.K., *Biochemical Pharmacology*, **1986**, *35*, 3423-3431;

²¹ Sannella A.R., Casini A., Gabbiani C., Messori L., Bilia A.R., Vincieri F.F., Majori G., Severini C., *FEBS Letters*, **2008**, *582*, 844-847;

²² Gabbiani C., Messori L., Cinellu M.A., Casini A., Mura P., Sannella A.R., Severini C., Majori G., Bilia A.R., F.F.Vincieri, *J. Inorg. Biochem.*, **2009**, *103*, 310-312;

²³ Rosenberg B., VanCamp L., Trosko J.E., Mansour V.H., *Nature*, **1969**, *222*, 385-386;

²⁴ Zhang C.X., Lippard S.J., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2003**, *7*, 481-489;

²⁵ Choy H., Park C., Yao M., *Clin. Canc. Res.*, **2008**, *14*, 1633-1638;

²⁶ Jaouen G., Metzler-Nolte N., *Medicinal Organometallic Chemistry*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2010**;

²⁷ Hartinger C.G., Jakupec M.A., Zorbas-Zeifried S., Groessl M., Egger A., Berger W., Zorbas H., Dyson P.J., Keppler B.K., *Chemistry & Biodiversity*, **2008**, *5*, 2140-2155;

²⁸ Laib J.E., Shaw C.F., Petering D.H., Eidsness M.K., Elder R.C., Garvey J.S., *Biochemistry*, **1985**, *24*, 1977-1986;

²⁹ Mercogliano C.P., DeRosier D.J., *J. Mol. Biol.*, **2006**, *355*, 211-223;

³⁰ McKeage M.J., Maharaj L., Berners-Price S.J., *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, *232*, 127-135;

-
- ³¹ Berners-Price S.J., Bowen R.J., Galettis P., Healy P.C., McKeage M.J., *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, 185–186, 823–836;
- ³² Tiekink E.R.T., *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **2002**, 42, 225-248;
- ³³ Amagai T., Miyamoto T.K., Ichida H., Sasaki Y., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, 62, 1078–1080;
- ³⁴ a) Barnard P.J., Berners-Price S.J., *Coord. Chem. Rev.*, **2007**, 251, 1889-1902; b) Ott I., *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, 253, 1670-1681;
- ³⁵ Nobili S., Mini E., Landini I., Gabbiani C., Casini A., Messori L., *Med. Res. Rev.*, **2010**, 30, 550-580;
- ³⁶ Pratesi A., Gabbiani C., Ginanneschi M., Messori L., *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 7001-7003;
- ³⁷ Shaw C.F., Cancro M.P., Witkiewicz P.L., Eldridge J.E., *Inorg. Chem.*, **1980**, 19, 3198-3201;
- ³⁸ Witkiewicz P.L., Shaw C.F., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1981**, 21, 1111-1114;
- ³⁹ Messori L., Abbate F., Marcon G., Orioli P., Fontani M., Mini E., Mazzei T., Carotti S., O'Connell T., Zanello P., *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 3541-3548;
- ⁴⁰ P.F. Shi, Q. Jiang, J. Lin, M. Zhao, L.P. Lin, Z.J. Guo, *J. Inorg. Biochem.*, **2006**, 100, 939-945;
- ⁴¹ Che C.M., Sun R.W., Yu W.Y., Ko C.B., Zhu N., Sun H., *Chem. Comm.*, **2003**, 14, 1718-1719;
- ⁴² Wang Y., He Q.Y., Sun R.W.Y., Che C.M., Chiu J.F., *Cancer Res.* 2005, 65, 11553-11564;
- ⁴³ a) Cinellu M.A., Minghetti G., Pinna M.V., Stoccoro S., Zucca A., Manassero M., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **2000**, 1261–1265; b) Cinellu M.A., Zucca A., Stoccoro S., Minghetti G., Manassero M., Sansoni M., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 4217-4225;
- ⁴⁴ Marcon G., Carotti S., Coronello M., Messori L., Mini E., Orioli P., Mazzei T., Cinellu M.A., Minghetti G., *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 1672-1677;
- ⁴⁵ Cinellu M.A., Minghetti G., Pinna M.V., Stoccoro S., Zucca A., Manassero M., *Chem. Commun.*, **1998**, 2397-2398;
- ⁴⁶ Gabbiani C., Guerri A., Cinellu M.A., Messori L., *The Open Crystallography Journal*, **2010**, 3, 29-40;
- ⁴⁷ Gabbiani C., Casini A., Messori L., Guerri A., Cinellu M.A., Minghetti G., Corsini M., Rosani C., Zanello P., Arca M., *Inorg. Chem.*, **2008**, 47, 2368-2379;
- ⁴⁸ Vicente J., Arcas A., Jones P.G., Lautner J., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1990**, 451-456;

-
- ⁴⁹ a) Robinson W.T., Sinn E., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1975**, 726-731; b) Uson R., Vicente J., Chicote M.T., Jones P.G., Sheldrick G.M., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1983**, 1131-1136; c) Vicente J., Chicote M.D., Bermúdez M.D., Jones P.G., Fittschen C., Sheldrick G.M., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1986**, 2361-2366;
- ⁵⁰ Chan C.W., Wong W.T., Che C.M., *Inorg. Chem.*, **1994**, *33*, 1266-1272;
- ⁵¹ a) Abbate F., Orioli P., Bruni B., Marcon G., Messori L., *Inorg. Chim. Acta*, **2000**, *311*, 1-5; b) Palanichamy K., Ontko A.C., *Inorg. Chim. Acta*, **2006**, *359*, 44-52;
- ⁵² Yang T., Tu C., Zhang J., Lin L., Zhang X., Liu Q., Ding J., Xuc Q., Guo Z., *Dalton Trans.*, **2003**, 3419-3424;
- ⁵³ Henderson W., *Adv. Organomet. Chem.*, **2006**, *54*, 207-265;
- ⁵⁴ a) Parish R.V., Howe B.P., Wright J.P., Mack J., Pritchard R.G., Buckley R.G., Elsome A.M., Fricker S.P., *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1659-1666; b) Parish R.V., Mack J., Hargreaves L., Wright J.P., Buckley R.G., Elsome A.M., Fricker S.P., Theobald B.R.C., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, 69-74; c) Buckley R.G., Elsome A.M., Fricker S.P., Henderson G.R., Theobald B.R.C., Parish R.V., Howe B.P., Kelland L.R., *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 5208-5214;
- ⁵⁵ Kiplin K.J., Henderson W., Nicholson B.K., *Polyhedron*, **2007**, *26*, 434-447;
- ⁵⁶ Kiplin K.J., Henderson W., Nicholson B.K., *Polyhedron*, **2007**, *26*, 204-213;
- ⁵⁷ Messori L., Marcon G., Cinellu M.A., Coronello M., Mini E., Gabbiani C., Orioli P., *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 6039-6043;
- ⁵⁸ Li C.K.L., Sun R.W.Y., Kui S.C.F., Zhu N., Che C.M., *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 5253-5266;
- ⁵⁹ a) Giovagnini L., Ronconi L., Aldinucci D., Lorenzon D., Sitran S., Fregona D., *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 1588-1595; b) Ronconi L., Marzano C., Zanello P., Corsini M., Miolo G., Macca C., Trevisan A., Fregona D., *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 1648-1657, c) Aldinucci D., Lorenzon D., Stefani L., Giovagnini L., Colombatti A., Fregona D., *Anticanc. Drugs*, **2007**, *18*, 323-332;
- ⁶⁰ Carotti S., Marcon G., Marussich M., Mazzei T., Messori L., Mini E., Orioli P., *Chem. Biol. Interact.*, **2000**, *125*, 29-38;
- ⁶¹ Weihrauch M. R., Diehl V., *Ann. Oncol.*, **2004**, *15*, 1460 – 1465;
- ⁶² a) Cinellu M. A., Maiore L., Schier A., Schmidbaur H., Rossi D. , *Z. Naturforsch.*, **2008**, *63b*, 1027-1034; b) Maiore L., Cinellu M. A., Michelucci E., Moneti G., Nobili S., Landini I., Mini E., Guerri A., Gabbiani C., Messori L., *J Inorg. Biochem*, in press;

-
- ⁶³ Assefa Z., Forward J.M., Grant T.A., Staples R.J., Hanson B.E., Mohamed A.A., Fackler J.P. Jr., *Inorg. Chim. Acta*, **2003**, *352*, 31-45;
- ⁶⁴ Schiffmann R., Neugebauer A., Klein C.D., *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 511-522;
- ⁶⁵ Tsukamoto G., Yoshino K., Kohno T., Ohtaka H., Kagaya H., Ito K., *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 734-738;
- ⁶⁶ a) Gümüs F. , Pamuk I., Özden T., Yıldız S., Diril N., Öksüzog˘lu E., Gür S., Özkul A., *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *94*, 255-262; b) C. Mock, I. Puscasu, M.J. Rauterkus, G. Tallen, J.E.A. Wolff, B. Krebs, *Inorg. Chim. Acta*, **2001**, *319*, 109-116; c) Casas J.S., Castiñeiras A., García-Martínez E., Parajó Y., Pérez-Parallé M.L., Sánchez-González A., Sordo J., *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2005**, *631*, 2258-2264;
- ⁶⁷ Haneda S., Gan Z., Eda K., Hayashi M., *Organometallics*, **2007**, *26*, 6551-6555;
- ⁶⁸ Serratrice M., *Complessi mono e dinucleari di oro(III) e oro(I) con azoli sostituiti: sintesi, caratterizzazione e reattività*, Tesi di Laurea Specialistica in Chimica, **2009**;
- ⁶⁹ Khalil M.M.H., *Transition Metal Chemistry*, **2000**, *25*, 358-360;
- ⁷⁰ a) Dodd D.W., Toews H.E., Trevail M.J., Jennings M.C., Hudson R.H.E., Jones N.D., *Can. J. Chem.*, **2009**, *87*, 321-327; b) Dodd D.W., Toews H.E., Carneiro F.d.S., Jennings M.C., Jones N.D., *Inorg. Chim. Acta*, **2006**, *359*, 2850-2858)
- ⁷¹ Bonnardel P.A., Parish R.V., Pritchard R.G., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 3185-3193;
- ⁷² Cinellu M.A., Maiore L., Minghetti G., Cocco F., Stoccoro S., Zucca A., Manassero M., Manassero C., *Organometallics*, **2009**, *28*, 7015-7024;
- ⁷³ Brunner H., Oberman U., *Chem. Ber.*, **1989**, *122*, 499-507;
- ⁷⁴ Lindsay Smith J.R., Norman R.O.C., Stillings M.R., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1*, **1975**, 1200-1202;
- ⁷⁵ Kazi A.B., Jones G.D., Vicic D.A., *Organometallics*, **2005**, *24*, 6051-6054;
- ⁷⁶ a) Braga A.L., Vargas F., Sehnem J.A., Braga R.C., *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 9021-9024, e riferimenti all'interno; b) Fazio M.J., *J. Org. Chem.*, **1984**, *49*, 4889-4893;
- ⁷⁷ a) Huang X., Zhang L., *J. Organomet. Chem.*, **2009**, *694*, 520-523; b) Hashmi A.S.K., Rudolph M., Siehl H.U., Tanaka M., Bats J.W., Frey W., *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 3703-3708; c) Huang X., Zhang L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 6398-6399; d) Hashmi A.S.K., Salathé Frey W., *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 6991-6996; e) Hashmi, A.S.K., Rudolph M., Weyerauch J.P., Wölfe M., Frey W., Bats J.W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 2798-2801; f) Casado R., Contel M., Laguna P., Romero M., Sanz S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 11925-11935;

-
- ⁷⁸ a) Corma A., González-Arellano C., Iglesias M., Sánchez F., *Chem. Commun.*, **2008**, 6218-6220; b) González-Arellano C., Corma A., Iglesias M., Sánchez F., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2008**, 1107-1115; c) Corma A., González-Arellano C., Iglesias M., Sánchez F., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 7820-7822; d) Corma A., González-Arellano C., Iglesias M., Pérez-Ferreras S., Sánchez F., *Synlett.*, **2007**, *11*, 1771-1774; e) Comas-Vives A., González-Arellano C., Corma A., Iglesias M., Sánchez G., Ujaque F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 4756-4765; f) Carretín S., Corma A., Iglesias M., Sánchez F., *Appl. Catal. A*, **2005**, *291*, 247-252; g) González-Arellano C., Corma A., Iglesias M., Sánchez F., *Chem. Commun.*, **2005**, 1990-1992;
- ⁷⁹ Lo V.K.Y., Kung K.K.Y., Wong M.K., Che C.M., *J. Organomet. Chem.*, **2009**, *694*, 583-591;
- ⁸⁰ Robinson W.T., Sinn E., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1975**, 726-731;
- ⁸¹ a) Cinellu M.A., Minghetti G., Pinna M.V., Stoccoro S., Zucca A., Manassero M., Sansoni M., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1998**, 1735-1742; b) Cinellu M.A., Minghetti G., Pinna M.V., Stoccoro S., Zucca A., Manassero M., *Chem. Commun.*, **1998**, 2397-2398;
- ⁸² Maiore L., *Sintesi, caratterizzazione e reattività di complessi di oro(III) con α -diimine*, Tesi di Laurea in Chimica, **2006**;
- ⁸³ Ducruet A.P., Rice R.L., Tamura K., Yokokawa F., Yokokawa S., Wipf P., Lazo J.S., *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, *8*, 1451-1466;
- ⁸⁴ a) Vogt A., Rice R.L., Settineri C.E., Yokokawa F., Yokokawa S., Wipf P., Lazo J.S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1998**, *287*, 806-813; b) Vogt A., Wang A.S., Johnson C.S., Fabisiak J.P., Wipf P., Lazo J.S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2000**, *292*, 530-537;
- ⁸⁵ van Asselt R., Elsevier C.J., Smeets W.J.J., Spek A.L., Benedix R., *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1994**, *113*, 88-98;
- ⁸⁶ Gasperini M., Ragaini F., Cenini S., *Organometallics*, **2002**, *21*, 2950-2957;
- ⁸⁷ van Asselt R., Elsevier C.J., Amatore C., Jutland A., *Organometallics*, **1997**, *16*, 317-328 e riferimenti all'interno;
- ⁸⁸ Teleb S.M., *J. Argent. Chem. Soc.*, **2004**, *92*, 31-40;
- ⁸⁹ Cinellu M.A., Maiore L., Manassero M., Casini A., Arca M., Fiebig H.H., Kelter G., Michelucci E., Pieraccini G., Gabbiani C., Messori L., *ACS Med. Chem. Lett.*, **2010**, *1*, 336-339;
- ⁹⁰ www.oncotest.de

⁹¹ a) Huang R.L., Wallqvist A., Covell D.G., *Biochem. Pharmacol.*, **2005**, 69, 1009-1039; b) Paull K.D., Shoemaker R.H., Hodes L., Monks A., Scudiero D.A., Rubinstein L., Plowman J., Boys M.R., *J. Natl. Cancer Inst.*, **1989**, 81, 1088-1092;

⁹² Fang L., Shao L., Zhang L., Wang S.M., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2004**, 44, 249-257;

⁹³ Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J.T., Bokesch H., Kenney S., Boyd M.R., *J. Natl. Cancer Inst.*, **1990**, 82, 1107-1112;