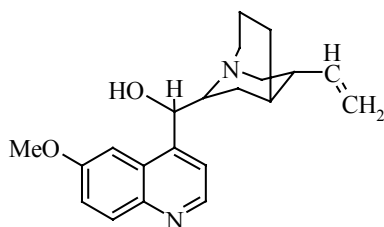


## Attività biologica di Chinoloni Naturali e Sintetici

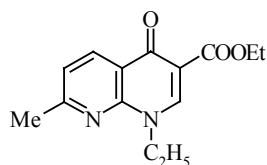
### *Attività antibatterica*

Il primo composto naturale con un nucleo chinolinico estesamente utilizzato come sostanza antipiretica è stato la chinina (di cui è riportata la struttura), alcaloide estratto dalla corteccia di alcune specie del genere *Cinchona* (il cosiddetto albero della china), impiegata come febbrifugo e nella terapia della malaria.

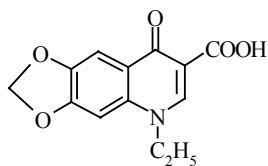


**Chinina**

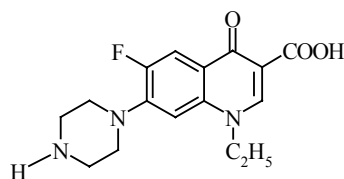
Nell'ambito dello studio delle proprietà farmacologiche di questa classe di molecole, relativamente recente è lo studio dei 4-chinoloni-3-carbossilati<sup>1</sup>, composti di sintesi tra i quali l'acido nalidixico, l'acido



**Acido nalidixico**



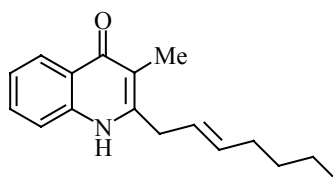
**Acido oxolinico**



**Norfloxacin**

oxolinico e il Norfloxacin sono esempi molto noti.

Questi farmaci, abbinando una potente attività ad un ampio spettro d'azione, sono attualmente tra i più efficaci chemioterapici antibatterici utilizzati. Il 2-eptenilchinolone riportato ha mostrato



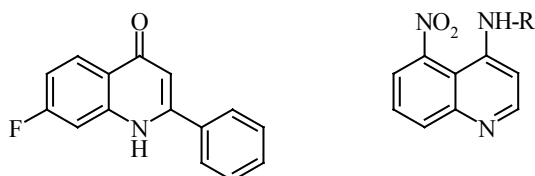
**2-eptenil-3-metil-4-chinolone**

una specifica attività nei confronti dell'*Helicobacter pylori* <sup>2</sup>.

#### *Attività antitumorale*

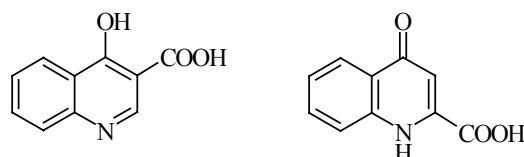
Negli ultimi anni molti derivati chinolonici sono stati sintetizzati e testati come potenziali chemioterapici nella terapia del cancro.

Saggi *in vitro* su alcune linee tumorali, hanno dimostrato che molti di questi composti sono attivi in fasi diverse del metabolismo cellulare.



Il 2-fenil-7-fluoro-4-chinolone è un antimetotico che inibisce, come la vincristina e la vinblastina, la polimerizzazione della tubulina<sup>3a,b</sup>, la proteina responsabile della formazione del fuso mitotico, mentre le nitrochinoline sono attive nel provocare ipossia nelle cellule tumorali<sup>4</sup>.

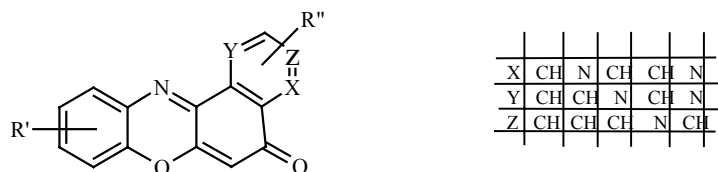
Potenti antimetaboliti sono invece alcuni acidi idrossinaftoici e carbossilchinoloni, inibitori delle deidrogenasi coinvolte nel metabolismo del glucosio, un passaggio metabolico essenziale alla vita cellulare.



E' noto, infatti, che molti tumori solidi, sia animali sia umani, presentano una lenta proliferazione, e non rispondono al trattamento con inibitori della sintesi del DNA poiché la maggior parte di cellule tumorali è, nell'*interfase*, in fase stazionaria ( $G_0$ ), senza produzione di DNA<sup>5</sup>.

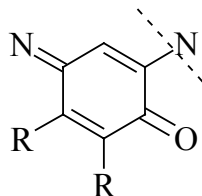
Su tali cellule, che devono comunque utilizzare fonti di energia (come il glucosio) per il loro metabolismo, si esplica l'attività di questi composti.

Andando a considerare lo sviluppo di nuovi chemioterapici, sono da citare le notevoli proprietà antiproliferative di una larga serie di benzo- e pirido-fenossazinoni in precedenza sintetizzati e caratterizzati nel laboratorio in cui ho svolto il mio lavoro di tesi, che hanno come target il DNA, agendo come intercalanti<sup>6</sup>.



Studi QSAR (relazione quantitativa attività-struttura), effettuati su tali molecole, hanno evidenziato come l'attività antineoplastica di questi composti sia in relazione con la presenza di un nucleo strutturale

imminochinonico (farmacoforo **I**) appartenente ad una struttura

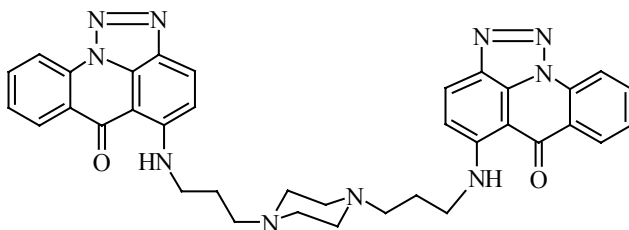


**Farmacoforo I**

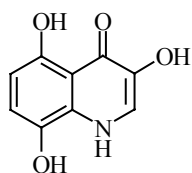
planare<sup>7</sup> e strettamente correlato a quello presente nei derivati chinolonici visti in precedenza.

#### *Attività anti HIV*

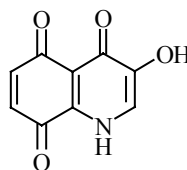
Parallelamente alla sperimentazione di molecole con nuclei chinolonici nella terapia antineoplastica, nuovi interessi sono stati suscitati dalla scoperta della potente attività inibitoria, di alcuni congeneri, nei confronti di alcuni gruppi di HIV. In particolare, i migliori risultati si sono ottenuti con la sintesi di derivati dimerici, caratterizzati da un ponte di tipo alchilpiperazिनico<sup>8</sup>.



Notevoli proprietà inibitorie nei confronti delle RT (trascrittasi inverse) dell'HIV di tipo 1 e 2 hanno inoltre dimostrato il poli-idrossichinolone uranidina<sup>9</sup> e il suo derivato chinonico, composti naturali isolati in tempi recenti da alcune specie di spugne appartenenti al genere *Verongia* (o *Aplysina*)<sup>10</sup>.

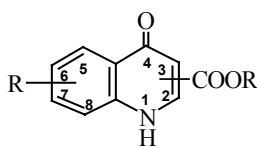


**Uranidina**

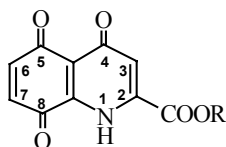


**1,4,5,8-Tetraidro-3-idrossi-  
-4,5,8-trioxochinolina**

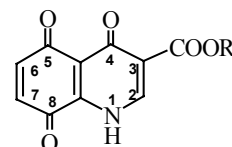
Sulla scorta delle conoscenze relative alla struttura, alla chimica, alle attività farmacologiche dei derivati chinolonici e chinolonchinonici, ed in considerazione della difficoltà di ottenere grandi quantità di prodotti da fonti naturali, si è deciso di sintetizzare strutture di tipo I, II e III.



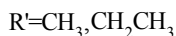
I



II



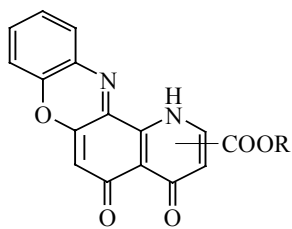
III



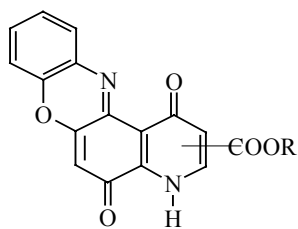
Tali composti sono stati preparati a partire da arilammine, fenilendiammine, *orto*- e *meta*-amminofenoli con dimetil acetilendicarbossilato (ADCM) o dietil etossimetilenmalonato (DEEM).

La sintesi ha richiesto uno studio della reazione di addizione di arilammine sui sistemi acetilenico ed etilenico<sup>11</sup> e delle condizioni che conducono ai prodotti desiderati.

I chinolonchinoni II e III così ottenuti saranno utilizzati per la sintesi di derivati piridofenossazinonici IV e V.



IV

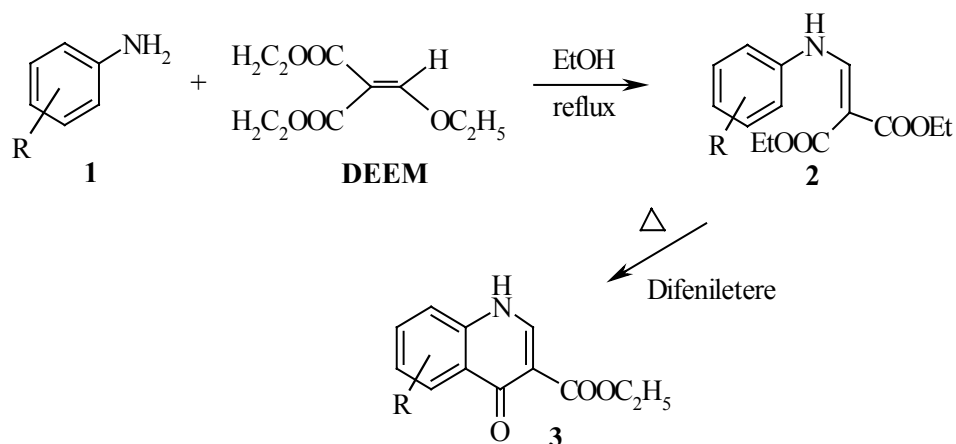


V

## Sintesi di chinoloni

La sintesi di strutture chinoloniche si ottiene attraverso due reazioni note: la reazione di Gould e Jacobs<sup>12</sup>, a partire da arilammine e dietil etossimetilenmalonato (**DEEM**), e la reazione di Conrad e Limpach<sup>13</sup>, a partire da arilammine e dimetil acetilendicarbossilato (**ADCM**). Queste due procedure portano rispettivamente alla formazione di metil 4-chinoloni-2-carbossilati ed etil 4-chinoloni-3-carbossilati.

### Reazione di Gould e Jacobs



### Formazione degli addotti arilammina-DEEM

Per lo studio della reazione col dietil etossimetilenmalonato è stata usata una serie di ammine aromatiche, ottenendo i composti di addizione con buone rese (85-90%).

Maggiore quantità di sottoprodotti si è osservata nella reazione con *o*-fenilendiammina, con cui si ottengono composti dovuti a mono- e di-addizione. Lo stesso andamento si riscontra per altre diammine utilizzate. La Tabella 1 riporta le rese di reazione per le arilammine usate.

**Tabella 1**

<b>Ammine 1</b>	<b>Rese % di addotto 2</b>
2-metossianilina	86
2,5-dimetossianilina	81
4-acetil-2-metossianilina	79
5-ammino-8-idrossichinolina	82
8-amminoisochinolina	85
4,5-diamminopirimidina	65
2-(4-amminofenil)-6-metilbenzotiazolo	70
2,5-bis-(4-amminofenil)-1,3,4-ossadiazolo	60
<i>meta</i> -nitrofenolo	91
<i>meta</i> -amminofenolo	87
<i>orto</i> -amminofenolo	90
2-ammino-5-metil-fenolo	86
2-ammino-5-nitro-fenolo	89

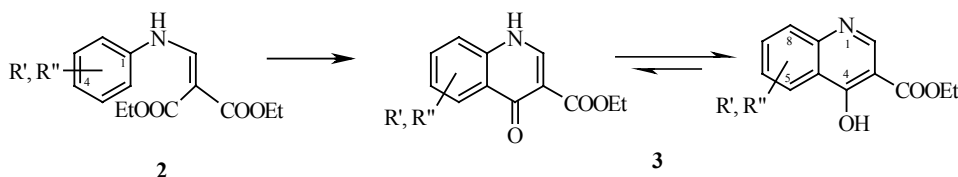


Anche per la reazione con amminofenoli si ottengono rese quasi quantitative sia per l'*orto*- sia per il *meta*-amminofenolo.

Per i prodotti ottenuti da diammine, le rese si riferiscono agli addotti ammina/DEEM 1:2.

### *Ciclizzazione degli addotti*

La ciclizzazione dei prodotti **2** a chinoloni **3** procede ad alta temperatura (~260°C) in difeniletere o Dowtherm A (miscela azeotropica di difeniletere e bifenile).



E' da notare che per i 3-etossicarbonilchinoloni la forma tautomerica predominante in soluzione, come si evince dagli spettri NMR, è quella chinolinica, con l'ossidrile in posizione 4, che è stabilizzata da un ponte idrogeno tra il protone fenolico e l'ossigeno carbonilico adiacente.

Anche se rese soddisfacenti di chinolone si possono ottenere portando ad ebollizione soluzioni di **2** in difeniletere, l'aggiunta controllata di **2** in difeniletere aumenta le rese. Ciò perché l'alta diluizione favorisce la ciclizzazione intramolecolare<sup>14</sup>, ed evita la formazione di prodotti di policondensazione.

Nella reazione con gli *o*-amminofenoli si ottiene la 3-etossicarbonil-4,8-diidrossichinolina in ottime rese, e con tempi di reazione nell'ordine dei 10 minuti, mentre la ciclizzazione dell'addotto ottenuto dal *m*-amminofenolo, oltre a produrre una miscela di 4,5- e 4,7-diidrossichinoline, procede più lentamente e con rese più basse rispetto al caso precedente. Nonostante l'impiego di tempi di reazione più lunghi, infatti, si recupera una certa quantità di prodotto **2** non reagito. Aumentare troppo il tempo di reazione provoca poi la formazione di notevoli quantità di sottoprodotti non identificati e la formazione di sostanze pecciose. Un tempo ottimale sembra essere dell'ordine dei 30 minuti.

**Tabella 2.** Chinoloni **3** ottenuti per ciclizzazione di **2** in difenilettere a 260 °C.

(Le rese sono riferite ai reagenti iniziali).

<b>2</b>		<b>3</b>	<b>Resa %</b>
R'	R''		
2-OH	H	4,8-diidrossi-chinolina-3-carbossilato	45
2-OH	4-Me	4,8-diidrossi-6-metilchinolina-3-carbossilato	42
2-OH	4-NO <sub>2</sub>	4,8-diidrossi-6-nitrochinolina-3-carbossilato	40
3-OH	H	4,5-diidrossi-chinolina-3-carbossilato	10
		4,7-diidrossi-chinolina-3-carbossilato	15
3-NO <sub>2</sub>	H	4-idrossi-7-nitrochinolina-3-carbossilato	70

### *Meccanismo della reazione di Gould e Jacobs*

Il prodotto **3** potrebbe formarsi o per attacco nucleofilo del fenile sul carbonile estereo, o attraverso una reazione termica appartenente alla classe delle reazioni elettrocicliche, o ciclizzazione “aza-esatrienica”, con eliminazione di una molecola di etanolo<sup>15</sup>. Tali reazioni termiche avvengono con un processo in due stadi, il primo dei quali consiste in una ciclizzazione disrotatoria, reversibile.

L'irreversibilità della reazione potrebbe dipendere dalla successiva eliminazione del gruppo uscente etossido.

Nel corso delle nostre indagini su questa reazione, abbiamo osservato che un sostituente elettron-attrattore come il nitro gruppo in posizione 3 del fenile sul composto **2** accelera la reazione e rende la resa quantitativa. Il gruppo ossidrilico in 3 rallenta notevolmente la reazione e abbassa le rese mentre in posizione 2 accelera la reazione e innalza la resa.

Questo risultato sembra escludere la possibilità che la reazione di chiusura possa essere dovuta ad un attacco nucleofilo dell'anello fenilico sul carbonile estereo e avvalora l'ipotesi di una chiusura elettrociclica attraverso una cicloaddizione termica disrotatoria in cui la successiva aromatizzazione avviene per *trans* eliminazione di EtO<sup>-</sup> e H<sup>+</sup>. L'equilibrio tra le forme tautomere permette la via di *trans* eliminazione. Il distacco del protone può essere influenzato dal sostituente presente sull'anello fenilico. Lo schema del meccanismo di reazione è riportato nella pagina successiva.

*Ipotesi di meccanismo per la reazione di Gould e Jacobs*

