

Corso di Analisi Chimico Farmaceutica e Tossicologica I (M-Z)

*Corso di Laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche
Facoltà di Farmacia e Medicina
Anno Accademico 2015/2016*

Dott. Giuseppe La Regina



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

*“Tu, disperato pilota, frangi ora fra gli scogli la mia
barca già stanca e squassata per tante tempeste!
A te accanto, mio amore! Oh schietto farmacista!
Efficace è la tua droga. Con questo bacio io muoio.”
W. Shakespeare. Giulietta e Romeo, Atto 5, Scena 3.*

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Acetato

- CH_3COOH , acido acetico glaciale (98%) e diluito (10%). In soluzione acquosa all'1% è usato come antibatterico topico, essendo attivo nei confronti di vari agenti patogeni.
- Lo ione acetato è il più importante intermedio metabolico, sia per gli organismi animali che per quelli vegetali.
- A livello biologico si trova sotto forma di acetil-coenzima A, il quale deriva dal catabolismo di tutte le molecole combustibili.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Acetato

- L'acetil-coenzima A entra nel ciclo di Krebs per produrre energia ed in alcuni processi anabolici, quali la biosintesi di acidi grassi, del colesterolo, degli ormoni, ecc.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Borato

- H_3BO_3 , *acido borico*. Ha una blanda azione antisettica di tipo batteriostatico e astringente; in soluzione acquosa o come polvere solida può essere impiegato su diverse lesioni cutanee ed anche, in soluzione acquosa al 5%, per uso oftalmico per lavaggi oculari.
- $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, *tetraborato di sodio o borace*. Ha attività batteriostatica, ma in acqua subisce una sensibile idrolisi alcalina.
- L'impiego dell'acido borico e dei borati quali antisettici topici è limitato dalla loro tossicità.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Borato

- L'acido borico può essere assorbito attraverso la cute lesa, provocando effetti tossici generali, analogamente a quanto avviene per ingestione orale.
- L'ingestione di una dose dell'ordine di alcuni grammi provoca dapprima nausea e vomito, quindi spasmi della muscolatura liscia sino a blocco cardiaco.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Borato

- L'azione tossica dei borati sarebbe principalmente dovuta alla capacità dell'anione borato di sottrarre ioni alcalino-terrosi (Ca^{2+} e Mg^{2+}) dai liquidi biologici come sali poco solubili, alterandone così l'equilibrio fisiologico.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

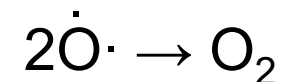
Perborato

- NaBO_3 , *perborato di sodio*. E' un energico antisettico, meno irritante dell'acqua ossigenata, ma dotato di forti proprietà basiche. E' usato in soluzioni antisettiche su piaghe, ulcere e ferite, soprattutto in campo ginecologico.
- In qualità di perossi-sale anche il persolfato di sodio $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ è usato, per uso esterno, come antisettico e disinfettante.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Perborato

- Come tutti i perossocomposti, i perborati sono degli ossidanti e subiscono al riscaldamento decomposizione dismutativa liberando ossigeno:



- Questa proprietà è alla base del potere disinfettante ed anche sbiancante dei perborati.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

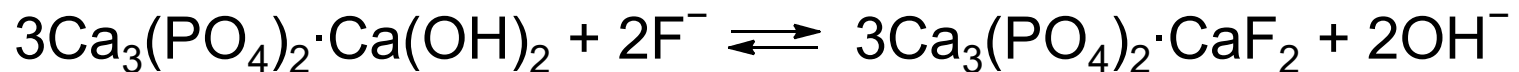
Fluoruro

- SnF_2 , fluoruro di stagno, Na_2FPO_3 , monofluorofosfato di sodio. Fluoruranti usati in alcuni dentifrici.
- Na_2SiF_6 , esafluorosilicato di sodio. E' usato come fluorurante della acque potabili.
- NaF , fluoruro di sodio. Ha proprietà antisettiche, è usato come anticarie ed in alcune bevande fermentate come la birra.
- Il sodio fluoruro Na^{18}F (γ -emittente) è usato come radiotracciante in diagnostica dell'apparato scheletrico ed anche delle attività cardiaca e cerebrale.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Fluoruro

- Il fluoro è un elemento strutturale delle ossa e, sotto forma di fluoroapatite ($3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{CaF}_2$), dello smalto dei denti.
- La somministrazione di fluoruri nella terapia dell'osteoporosi è collegata al fatto che le idrossiapatiti delle ossa incorporano lo ione F^- fissandolo come fluoroapatiti, favorendo così la ritenzione del calcio:



Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Fluoruro

- Una deficienza di fluoruri conduce, pertanto, a fragilità ossea, dentale e a predisposizione alla carie.
- Sia i fluoroderivati usati nei dentifrici che quelli immessi nelle acque potabili, ove consentito dalle norme legislative, hanno quindi uno scopo profilattico contro la carie dentale.
- Lo ione F^- ha anche attività antisettiche ai danni dei microorganismi della saliva, agendo pertanto come antiplacca.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Fluoruro

- Allo stesso tempo, lo ione F^- ha la capacità di disattivare enzimi che presiedono all'ossidazione del saccarosio ad acidi carbossilici evitando così l'attacco chimico all'idrossiapatite della dentina.
- L'azione dello ione fluoruro è tipicamente locale sui denti, in quanto la sua eliminazione per via renale è molto veloce.
- Un suo abuso porta a fluorosi dentale con ingiallimento dello smalto e ad indebolimento del tessuto dentale oltre a irritazione gastro-intestinale.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Cloruro

- *HCl, acido cloridrico.* In soluzioni acquose molto diluite può essere usato come reintegratore gastrico.
- *NaCl, cloruro di sodio, KCl, cloruro di potassio, CaCl₂, cloruro di calcio.* Usati come reintegratori.
- Per altri cloruri inorganici di interesse farmaceutico, l'attività è solitamente riconducibile ai rispettivi cationi.
- Esistono numerose sostanze organiche farmacologicamente attive che vengono utilizzate sotto forma di cloridrati idrosolubili.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Cloruro

- Lo ione cloruro è essenziale per tutte le forme di vita vegetale ed animale.
- Nell'organismo umano, l'HCl è presente in elevata concentrazione nei succhi gastrici cui conferisce un pH = 1,5-3,5 per l'attività degli enzimi digestivi.
- Lo ione Cl^- , particolarmente concentrato nei liquidi extracellulari, accompagna lo ione Na^+ e partecipa ai meccanismi di regolazione della pressione osmotica e di trasmissione dell'impulso nervoso e muscolare.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Cloruro

- Stati carenziali di cloruro portano a crampi muscolari e a fenomeni di tetania.
- Per quanto riguarda la tossicità di HCl, si deve ricordare che i suoi vapori sono molto irritanti per le vie respiratorie causando spasmo della glottide, edema della laringe e seri danni polmonari.
- L'ingestione di HCl provoca danni ai denti, gastralgie, vomito, ulcerazioni delle mucose fino a perforazioni gastriche, peritoniti, emorragie e stato di shock.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Ipoclorito

- *HClO*, acido ipocloroso. Tracce di acido ipocloroso in miscela con NaCl costituiscono soluzioni usate per la disinfezione (amuchina) e la potabilizzazione delle acque.
- *NaClO*, ipoclorito di sodio. E' usato come disinfettante e antisettico in soluzioni molto diluite, diluito per biancheria infantile; concentrato è sbiancante per biancheria (candeggina); è usato come disinfettante di acque di piscine, ma ha lo svantaggio di idrolizzare secondo una reazione alcalina e pertanto va equilibrato con CaCl_2 che dà reazione acida.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

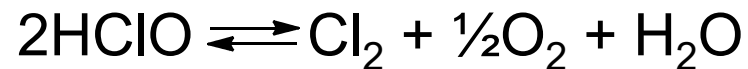
Ipoclorito

- $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, *ipoclorito di calcio*, LiClO , *ipoclorito di litio*. Sono disinfettanti per acque di piscine con reazioni di idrolisi molto più vicine alla neutralità.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

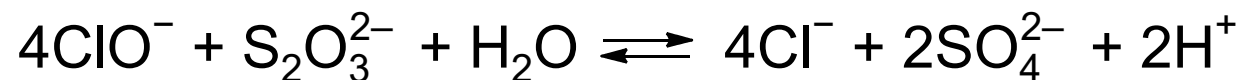
Ipoclorito

- Ipocloriti e acido ipocloroso, a basse concentrazioni, esplicano un'azione antisettica in quanto liberano cloro e ossigeno:



ma diventano tossici se concentrati, specialmente se assunti per via orale.

- Un antidoto contro l'avvelenamento per via orale da ipoclorito può essere un tiosolfato alcalino che riduce il cloro a Cl^- :



Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Bromuro

- *KBr, bromuro di potassio, NaBr, bromuro di sodio, LiBr, bromuro di litio, MgOHBr, bromuro basico di magnesio, NH₄Br, bromuro di ammonio.* Hanno proprietà sedative ed antiepilettiche; sono deprimenti sessuali, ma, per i loro effetti collaterali, sono in larga parte caduti in disuso.
- I bromuri hanno la proprietà di agire a livello del sistema nervoso centrale provocando una depressione generale, particolarmente evidente a carico della funzione motoria.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Bromuro

- Trattamenti prolungati possono produrre effetti tossici di accumulo con quadro clinico che va sotto il nome di bromismo caratterizzato da depressione mentale, perdita della memoria, debolezza muscolare, cefalea, eruzioni cutanee nonché ipersalivazione, ipersecrezione nasale e lacrimale, ecc.
- L'azione depressiva dei bromuri a livello del sistema nervoso centrale sarebbe riconducibile alla loro capacità di sostituirsi ai cloruri nel tessuto cerebrale.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Ioduro

- *KI, ioduro di potassio, NaI, ioduro di sodio.* Vengono impiegati nelle disfunzioni tiroidee ed anche quali espettoranti, mucolitici, antitosse.
- Lo ioduro di sodio (^{131}I γ -emittente) viene usato come tracciante radioattivo nello studio della funzionalità tiroidea.
- Grazie alle forti capacità di assorbimento dei raggi X da parte dell'atomo di iodio, alcuni composti iodo-organici sono usati nella diagnostica radiografica-X per molti organi ed apparati.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Ioduro

- Lo ione ioduro viene utilizzato dall'organismo per la sintesi degli ormoni tiroidei.
- Un insufficiente apporto di iodio nella dieta provoca ingrossamento della ghiandola tiroidea ed è la causa del gozzo endemico che si verifica nelle popolazioni che vivono in zone povere di questo elemento.
- Lo ione I^- è utile nel trattamento dell'ipertiroidismo in quanto, in tali condizioni, ha la capacità di ridurre la produzione di ormoni tiroidei.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Ioduro

- Lo iodismo è un effetto tossico secondario alla somministrazione di iodio e rappresenta una reazione allergica che si manifesta con dermatiti ed una sintomatologia che assomiglia a quella del raffreddore.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Nitrato

- NaNO_3 , *nitrato di sodio*, KNO_3 , *nitrato di potassio*. Sono usati come conservanti nelle carni insaccate, grazie al loro potere ossidante e quindi antibatterico.
- Lo ione nitrato in elevate concentrazioni porta a metaemoglobinemia, consistente nell'ossidazione di $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ con conseguente incapacità di legare l'ossigeno.
- Lo ione nitrato inibisce la funzione tiroidea interferendo con lo ione ioduro nel meccanismo di captazione della ghiandola.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Nitrato

- La nitroglicerina è l'estere nitrico della glicerina e viene impiegato come vasodilatatore grazie alla capacità di liberare NO.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Nitrito

- *NaNO₂, nitrito di sodio, KNO₂, nitrito di potassio.* Somministrati in soluzione acquosa e per via endovenosa, sono usati come antidoti contro l'avvelenamento da cianuro.
- Analogamente ai nitrati, vengono, inoltre, impiegati come conservanti delle carni alimentari, soprattutto insaccate; oltre ad avere un effetto antibatterico, questi sali conferiscono alle carni una stabile colorazione rosso viva.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

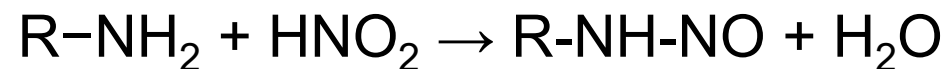
Nitrito

- Ciò è dovuto alla ossidazione emoglobina-Fe(II)-metaemoglobina-Fe(III) ed al successivo legame dello ione ferrico con il nitrito in eccesso oltre che al monossido di azoto prodotto.
- *Nitrito di amile* e *nitrito di allile* sono due nitriti organici usati come dilatatori delle coronarie.
- La principale attività farmacologica dello ione nitrito è quella di essere un dilatatore delle coronarie.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Nitrito

- Lo ione nitrito utilizzato nei sistemi alimentari carnei è attivo per il suo potere moderatamente ossidante in maniera analoga al nitrato; tuttavia, nello stomaco si forma acido nitroso libero, il quale può reagire con i gruppi aminici liberi delle proteine per dare nitrosamine cancerogene:

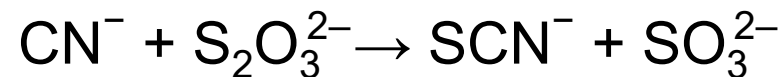


- L'impiego dei nitriti nell'avvelenamento da cianuro è dovuto alla sua capacità di ossidare $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Nitrito

- Lo ione ferrico diviene così disponibile a legare potenzialmente 2 ioni cianuro e tale fenomeno consente di legare stabilmente ioni cianuro a livello ematico impedendo loro di bloccare gli enzimi respiratori Fe/Cu-citocromi del sistema nervoso centrale.
- La somministrazione di sodio tiosolfato converte il cianuro in tiocianato, reazione catalizzata dalla rodanasi:



- Il tiocianato molto meno tossico viene eliminato con le urine.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico (Bi)Solfato

- $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, solfato di sodio o sale di Glauber, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, solfato di magnesio o sale inglese. Sono usati come purganti.
- In essi lo ione solfato è un idratante delle masse fecali per azione osmotica.

Anioni di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

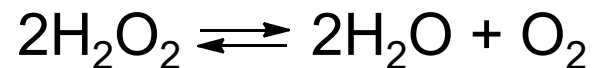
Silicato

- SiO_2 , *silice amorfa, colloidale o precipitata*. Trova impiego in formulazioni farmaceutiche solide come eccipiente inerte.
- I silicati alcalini provocano lesioni dei capillari sanguigni; intossicazioni croniche professionali si riscontrano nell'industrie dell'amianto, dell'asbesto, del talco, dei semiconduttori e causano calcolosi a base di trisilicato di magnesio, pneumoconiosi, silicosi, nonché tumori bronchiali.

Sostanze di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Acqua ossigenata

- L'*acqua ossigenata* o *perossido di idrogeno* è un liquido molto denso leggermente azzurro.
- Allo stato puro può decomporsi con esplosione e viene perciò usata normalmente in soluzione acquosa.
- Tuttavia, anche in soluzione acquosa può decomporsi:



Sostanze di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

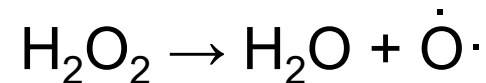
Acqua ossigenata

- Tale reazione è favorita da alcuni tipi di catalizzatori, quali polveri metalliche di Cr, Fe, Cu; hanno, invece, funzioni stabilizzanti sostanze come urea, canfora, etere etilico, alcol etilico, ecc.
- Il titolo in volumi per le soluzioni acquose di H_2O_2 è rappresentato dal volume di O_2 (a condizioni normali) potenzialmente sviluppabile da 1 litro di soluzione.
- La soluzione concentrata (120 volumi, 36% p/p) è molto irritante e caustica della pelle.

Sostanze di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Acqua ossigenata

- La soluzione diluita (10 volumi, 3% v/v) è usata come disinfettante e antisettico in virtù delle forti capacità ossidanti dell'ossigeno nascente liberato dalla molecola di H_2O_2 :



a cui si devono le proprietà disinfettanti, antisettiche e sbiancanti.

- Particolarmente sensibili all'azione dell'acqua ossigenata risultano ovviamente i batteri anaerobici; è, inoltre, l'unico disinfettante ad essere attivo sulle spore del tetano.

Sostanze di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Carbone

- Il carbone vegetale si ottiene per combustione parziale di legni, specialmente di tipo dolce (es., tiglio, pioppo, salice) e contiene l'80% di carbonio.
- Specialmente allo stato di carbone attivo, e cioè sottoposto ad opportuno riscaldamento in atmosfera povera di ossigeno, questo composto possiede notevoli capacità adsorbenti di sostanze, che ne consente l'impiego in alcuni disturbi gastro-intestinali (es., aerofagia) e come antidoto in caso di intossicazioni e avvelenamenti.

Sostanze di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Iodio

- I preparati a base di iodio (I_2/KI) di uso farmaceutico sono rappresentati da: *soluzione alcolica di iodio* o *tintura di iodio (7%)*, *alcol iodato (2%)* e *soluzione glicerica di iodio (2%)*, oltre a numerosi sostanze *iodo-organiche* (es., iodopovidone).
- Lo iodio possiede azione germicida, fungicida, amebicida e virulicida.
- Agisce probabilmente con un duplice meccanismo, iodurante e ossidante, interferendo con gli enzimi e coagulando le proteine.

Sostanze di Interesse Farmaceutico e Tossicologico

Zolfo

- Lo zolfo per usi farmaceutici può essere preparato in vari modi:
 - *zolfo sublimato*, ottenuto per sublimazione dello zolfo grezzo, trova impieghi per uso esterno come parassitocida dermatologico.
 - *zolfo precipitato* (magistero di zolfo), ottenuto per precipitazione dei polisolfuri in ambiente acido, trova impieghi per uso interno come disinfettante intestinale, vermifugo e blando purgante;
 - *zolfo colloidale*, preparato per acidificazione di una soluzione di tiosolfato alcalino, trova impiego come antireumatico, disinfettante delle vie respiratorie e antiacne.

New Indole Tubulin Assembly Inhibitors with Stable Arrest of Mitotic Progression, Enhanced Stimulation of Natural Killer Cell Cytotoxic Activity and Repression of Hedgehog-Dependent Cancer



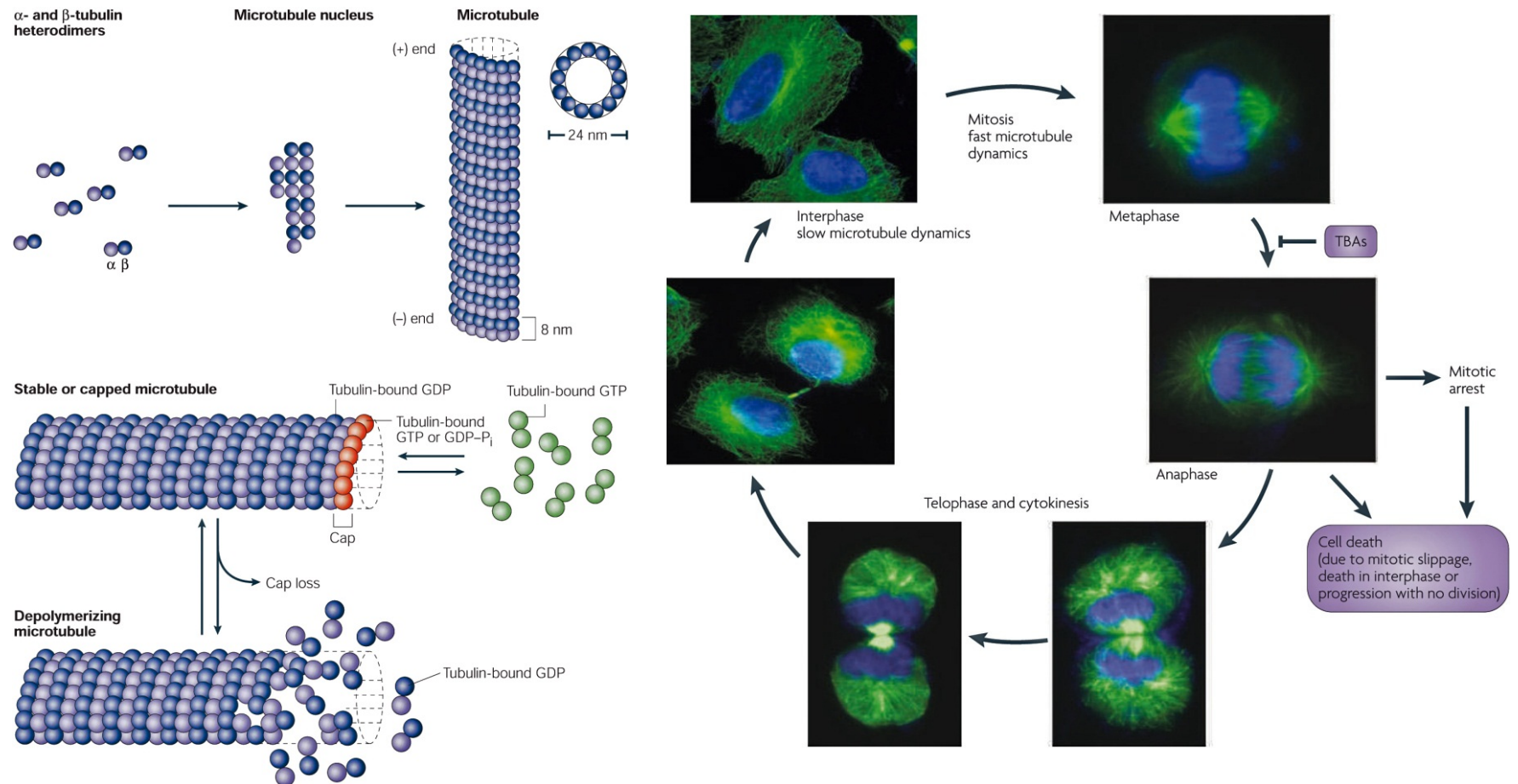
SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Giuseppe LA REGINA

Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco
Sapienza Università di Roma
Piazzale Aldo Moro 5, I-00185, Rome, Italy
giuseppe.laregina@uniroma1.it

Introduction

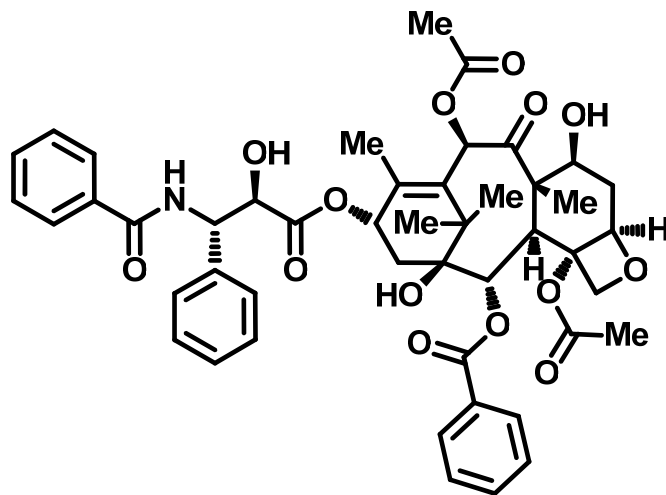
Tubulin and microtubules



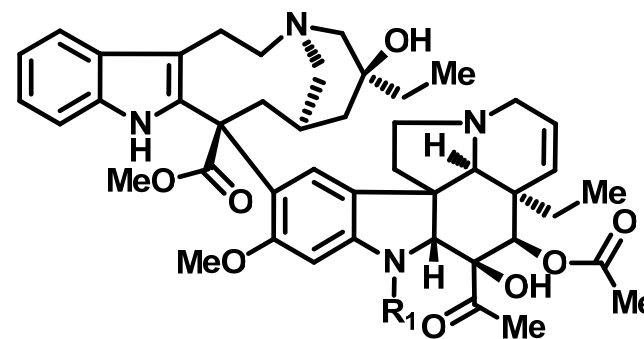
Dumontet, C. et al. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, 9, 790-803. Kavallaris, M. *Nat. Rev. Cancer* **2010**, 10, 194-204.

Introduction

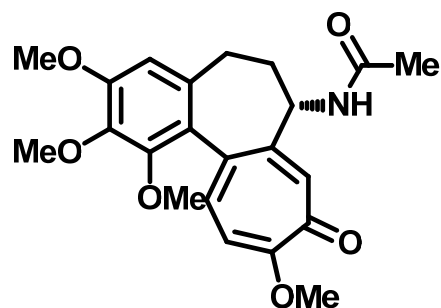
Tubulin inhibitors



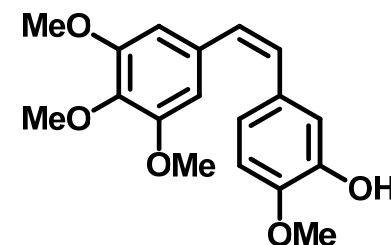
Taxol



R₁ = CHO, Vincristine
R₁ = Me, Vinblastine



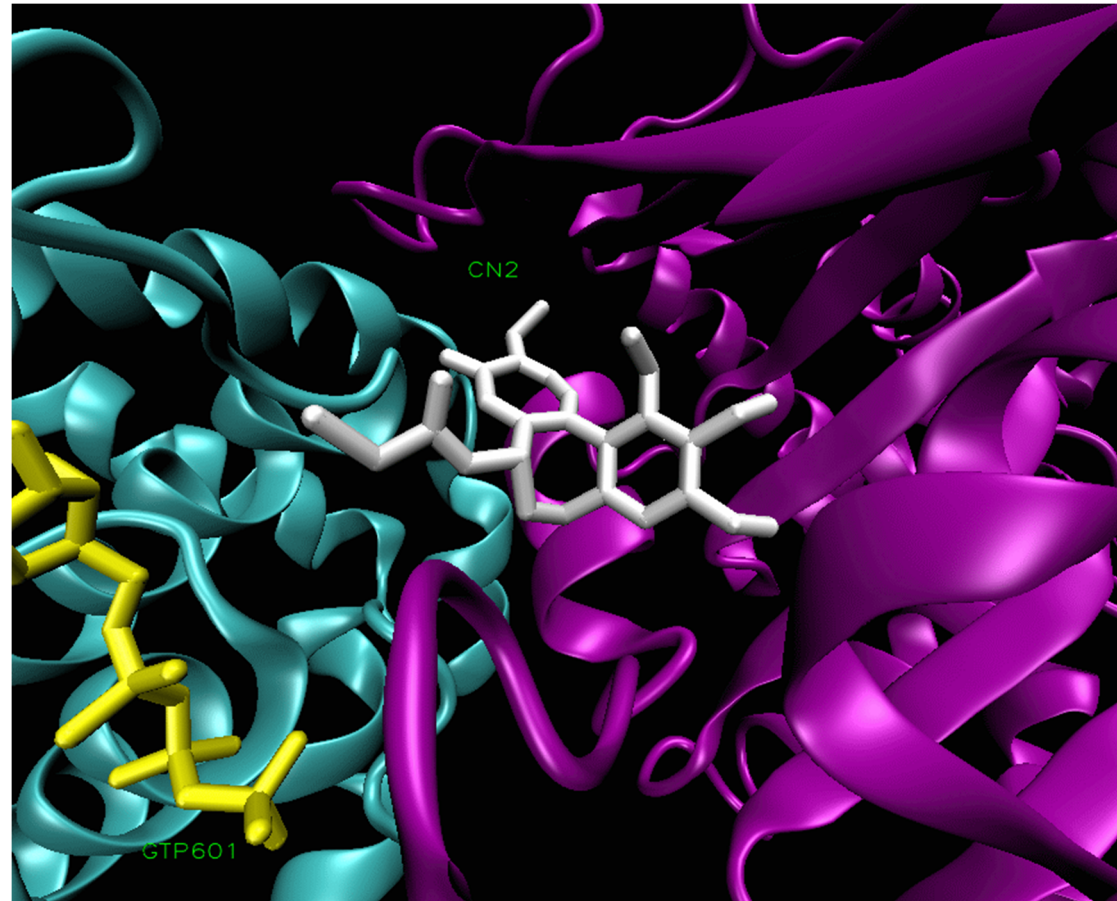
Colchicine



Combretastatin A4

Introduction

Tubulin binding sites



α, β Tubulin dimer

Lo Ravigne, B. et al. *Nature* 2004, 428, 459-467 (PDB code: 1SA5).

giuseppe.laregina@uniroma1.it

New Colchicine Site Binding Agents Screening at National Cancer Institute

ChemBioFinder - [RSLab5_Database.cfx]

File Edit View Text Search Record Scripts Window Help

DRUG DESIGN AND SYNTHESIS CENTER
Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco
Sapienza Università di Roma
P.le Aldo Moro 5, 00185 Roma
Tel 06 49913404 - Fax 06 49913133

RS
01259

Laboratory Book

Molecular Formula
C₁₇H₁₅NO₄S

Molecular Weight
329,37

Look
White solid

Crystallization Solvent
Toluene/Cyclohexane

Melting Point
148-149 °C

Yield
75%

Chemical Structure

Chemical Name
ethyl 3-(phenylsulfonyl)-1H-indole-2-carboxylate

ADD QRY at 1 of 1 db 3044

T

giuseppe.laregina@uniroma1.it

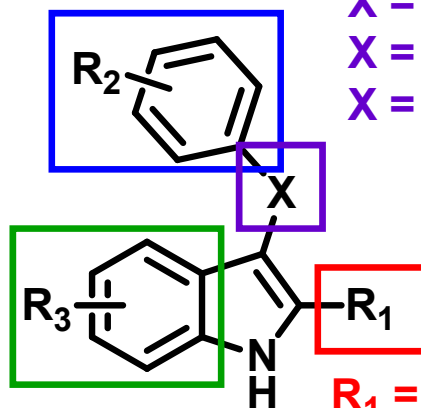
Arylthioindoles and Aroylindoles

Structure-activity relationships

$R_2 = 3,4,5\text{-(OMe)}_3$: *preferred*

$R_2 = 3,5\text{-(OMe)}_2, 2\text{-OMe}, 3\text{-OMe}$: *good*

$R_2 = 4\text{-OMe}, 3,5\text{-Me}_2$: *bad*



$X = S, CO$: *preferred*

$X = CH_2$: *good*

$X = CHOH, SO, SO_2, CH_2CH_2, COCH_2, COCO$: *bad*

$R_3 = 5\text{-H}, 5\text{-Cl}, 5\text{-Br}, 5\text{-OMe}$: *preferred*

$R_3 = 5\text{-F}, 5\text{-I}, 5\text{-Me}, 5\text{-OH}, 5\text{-OEt}$: *good*

$R_3 = 4\text{-OMe}, 5\text{-NO}_2, 5\text{-NH}_2, 5\text{-OR}(C \geq 3), 6\text{-OMe}, 5,6\text{(OMe)}_2$: *bad*

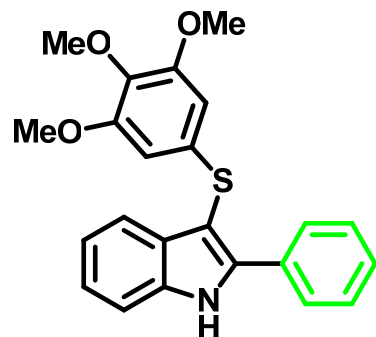
$R_1 = COOMe, COOEt, 5\text{- and }6\text{-membered heterocyclyl}$: *preferred*

$R_1 = H, Me, phenyl, substituted phenyl, cycloalkyl(C=4,5), benzofused heterocyclyl$: *good*

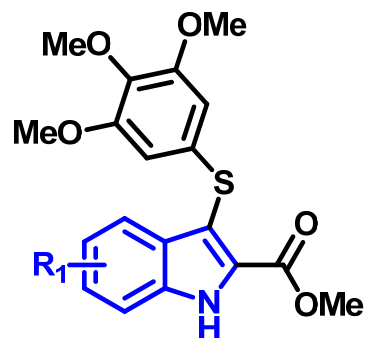
$R_1 = COOH, COONH_2, COOR(C \geq 3), naphthyl, biphenyl, cycloalkyl(C=6)$: *bad*

La Regina, G. et al.: (a) *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6120–6123. (b) *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 947–954. (c) *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 2865–2874. (d) *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 7512–7527. (e) *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 8394–8406. (f) *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 123–149.

New Arylthioindoles and Arylindoles Design

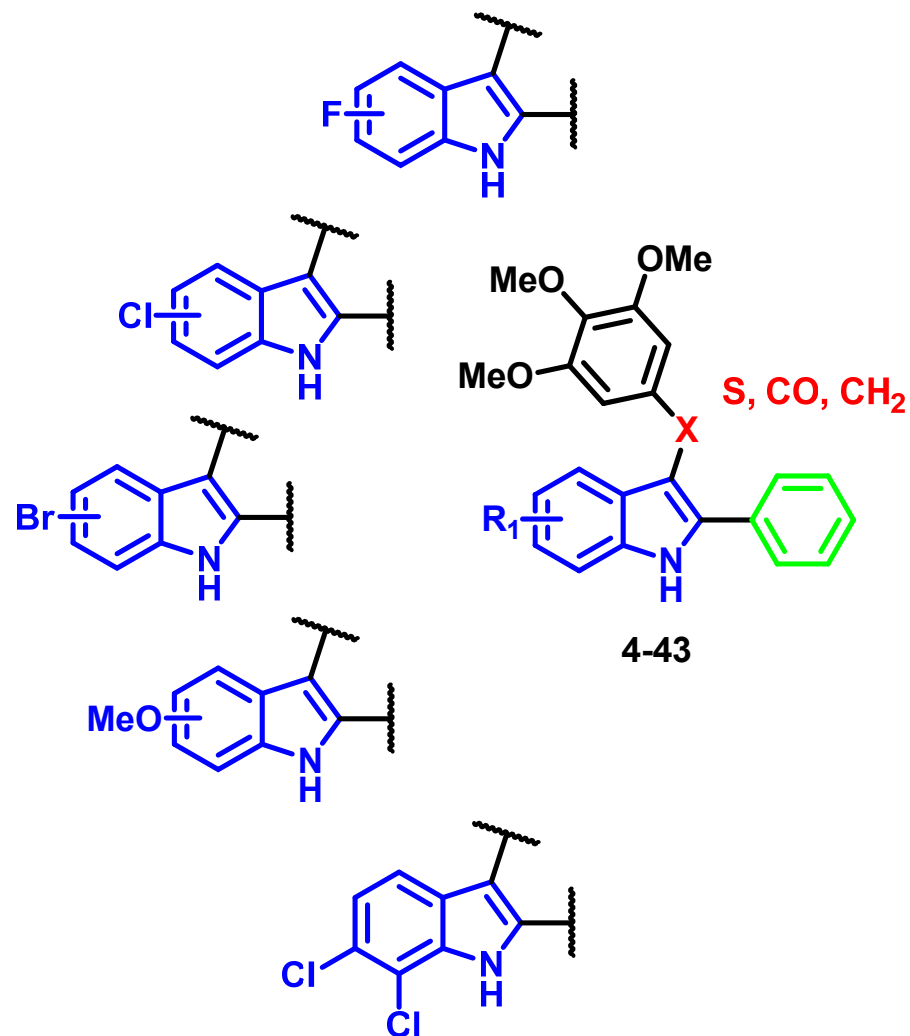
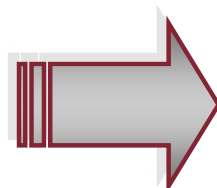


1 Tub $IC_{50} = 3.3 \pm 0.1 \mu M$
MCF-7 $IC_{50} = 52 \pm 7 \text{ nM}$



2 $R_1 = 5\text{-Cl}$ Tub $IC_{50} = 2.5 \pm 0.3 \mu M$
MCF-7 $IC_{50} = 42 \pm 10 \text{ nM}$

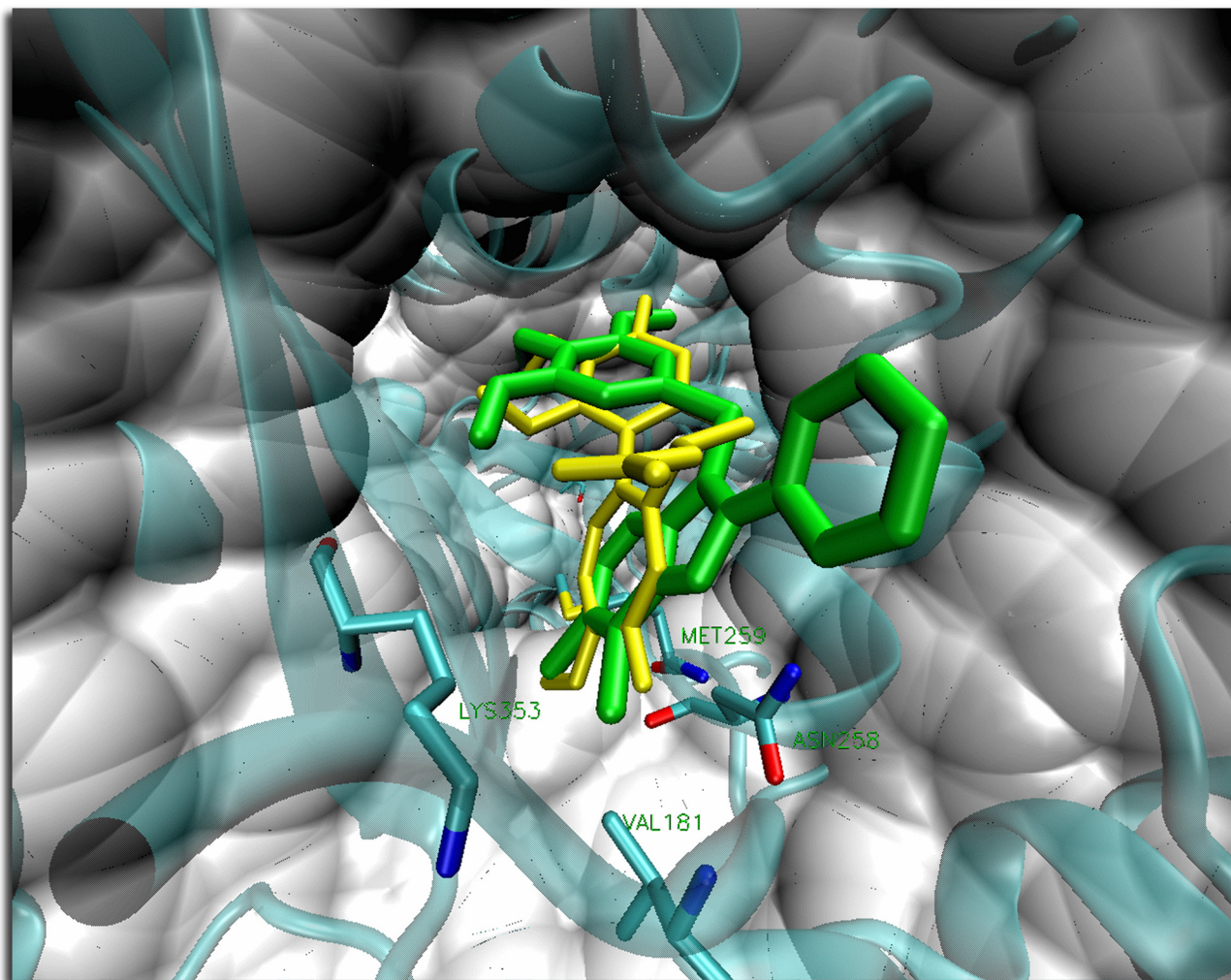
3 $R_1 = 5\text{-OMe}$ Tub $IC_{50} = 2.0 \pm 0.2 \mu M$
MCF-7 $IC_{50} = 13 \pm 3 \text{ nM}$



La Regina, G. et al. *J. Med. Chem.* **2015**, just accepted.

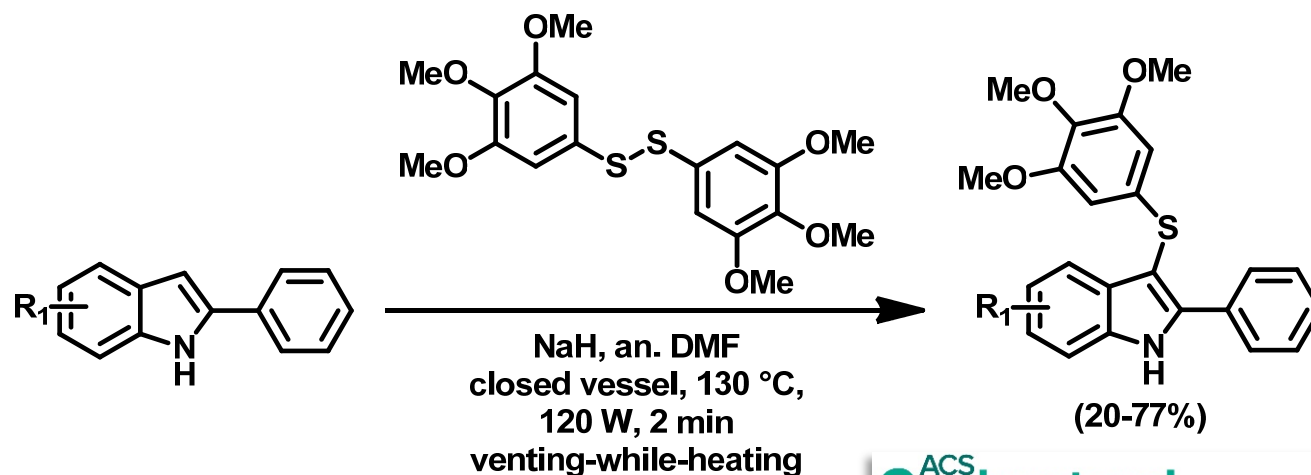
giuseppe.laregina@uniroma1.it

New Arylthioindoles and Aroylindoles Design



New Arylthioindoles and Arylindoles

Synthesis: sulphur derivatives



ACS
Combinatorial
Science

Letter

pubs.acs.org/acscmbsci

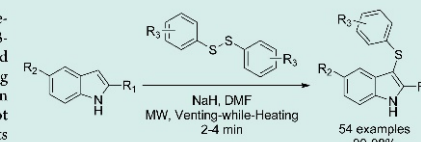
Venting-while-Heating Microwave-Assisted Synthesis of 3-Arylthioindoles

Giuseppe La Regina,* Valerio Gatti, Valeria Famigliini, Francesco Piscitelli, and Romano Silvestri

Istituto Pasteur-Fondazione Cenci Bolognetti, Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro 5, I-00185, Rome, Italy

Supporting Information

ABSTRACT: We report the first example of venting-while-heating microwave-assisted synthesis of a small library of 3-arylthioindoles. Compounds were prepared in excellent isolated yields (90–98%) within 4 min in a closed vessel by treating indoles with disulfides in the presence of sodium hydride in anhydrous *N,N*-dimethylformamide. The method was not affected by electron-donating and -withdrawing substituents both on 3-arylthio moiety and at 2- and 5-positions of the indole nucleus.



$R_1 = \text{H, Me, Ph, COOH, COOEt}$; $R_2 = \text{H, Cl, OMe}$; $R_3 = \text{H, Cl, OMe, 2,4-Cl}_2, 2,5\text{-OMe}_2, 3,4,5\text{-OMe}_3$

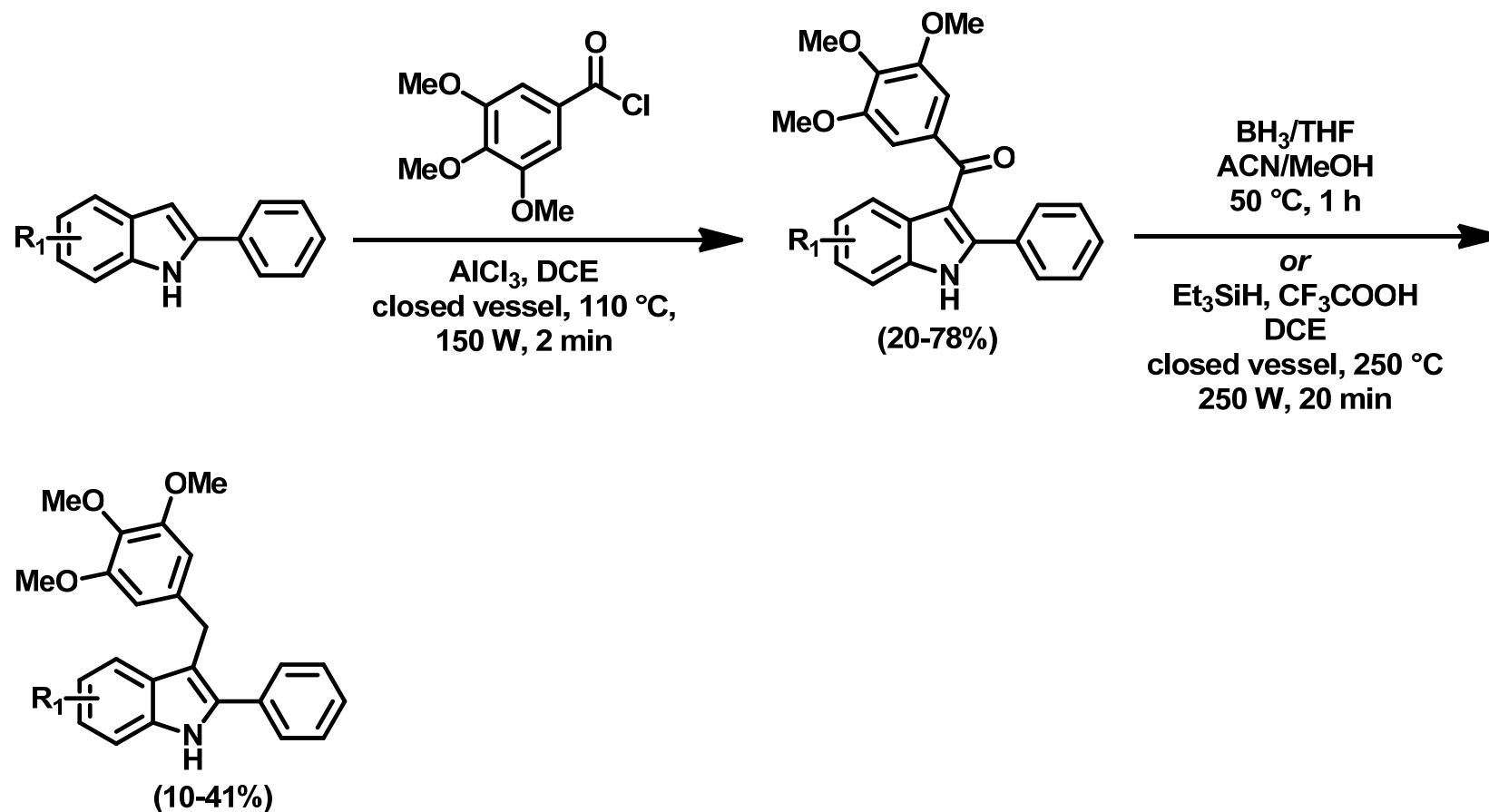
KEYWORDS: microwave-assisted organic synthesis, dielectric heating, venting while heating, sulfenylation, 3-arylthioindoles, indole

dx.doi.org/10.1021/cz200165j | ACS Comb. Sci. 2012, 14, 258–262

giuseppe.laregina@uniroma1.it

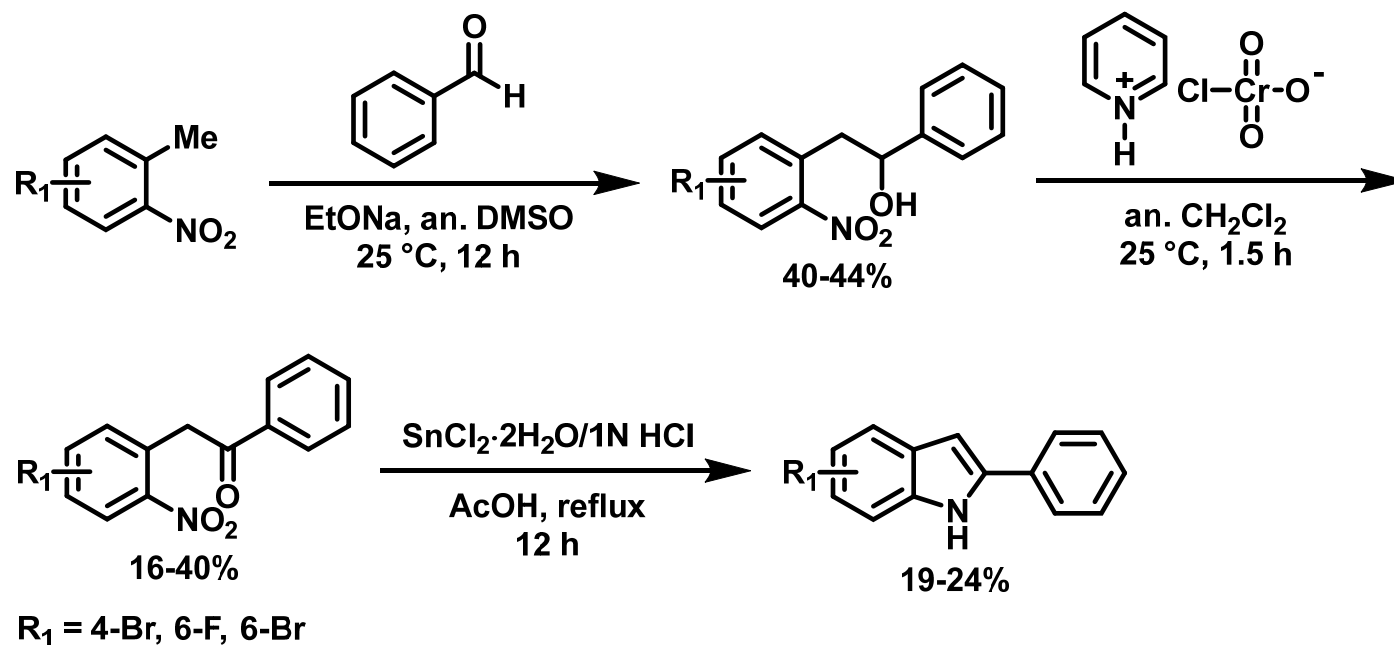
New Arylthioindoles and Aroylindoles

Synthesis: methanone and methylene derivatives



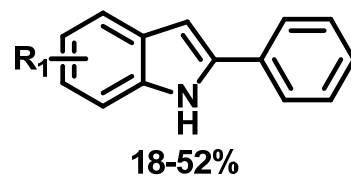
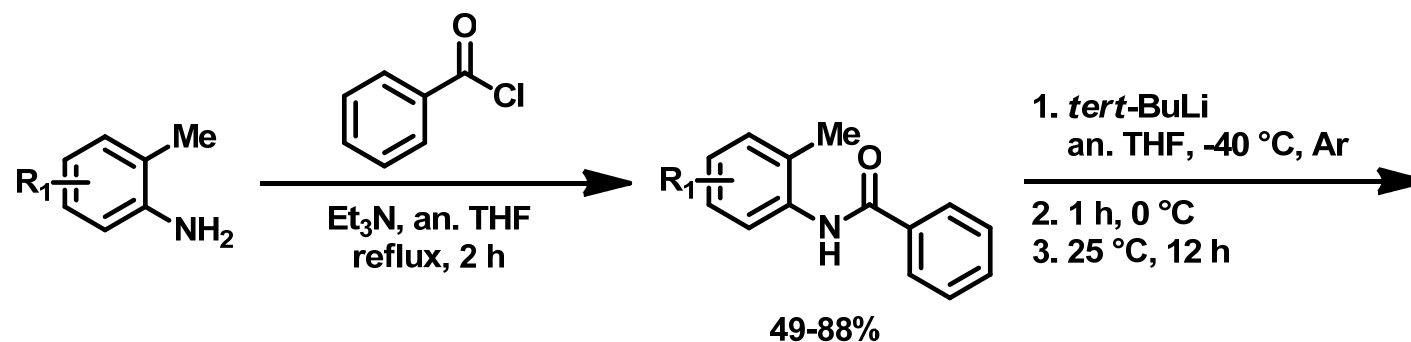
New Arylthioindoles and Aroylindoles

Synthesis: phenylindoles



New Arylthioindoles and Aroylindoles

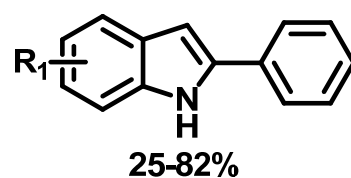
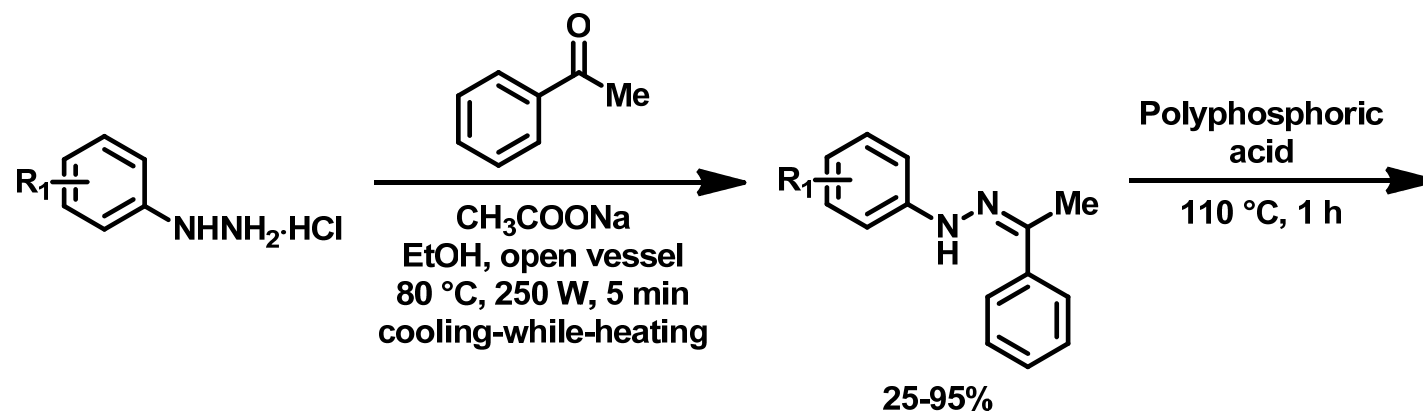
Synthesis: phenylindoles



$\text{R}_1 = 4\text{-F, 4-Cl, 4-OMe, 6-Cl, 6-OMe, 7-OMe}$

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Synthesis: phenylindoles



$\text{R}_1 = 5\text{-F, 5-Cl, 5-Br, 7-F, 7-Br, 6,7-Cl}_2$

ACS
Combinatorial
Science

LETTER

pubs.acs.org/acscombsci

Open Vessel and Cooling while Heating Microwave-Assisted Synthesis of Pyridinyl *N*-Aryl Hydrazones

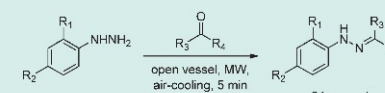
Giuseppe La Regina,* Valerio Gatti, Francesco Piscitelli, and Romano Silvestri

Istituto Pasteur, Fondazione Cenci Bolognetti, Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro 5, I-00185, Rome, Italy

Supporting Information

ABSTRACT: We reported the first example of open vessel and cooling while heating microwave-assisted synthesis of pyridinyl *N*-aryl hydrazones. Compounds were prepared in excellent isolated yields (88–98%) in only 5 min, by reacting 4- and 2,4-(di)substituted phenylhydrazines, bearing both electron-donating (4-CH₃, 4-OCH₃) and -withdrawing (4-Cl, 4-Br, 4-CF₃, 4-NO₂, 2,4-Cl₂) groups with 2-, 3-, and 4-acetylpyridine. The method was successfully extended to other carbonyl compounds.

KEYWORDS: hydrazones, microwave synthesis, cooling while heating, open vessel



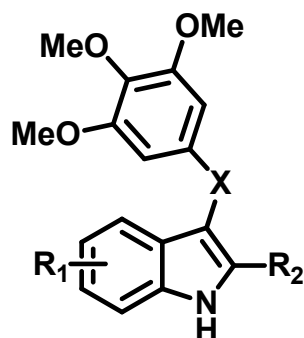
$\text{R}_1 = \text{H, Cl, R}_2 = \text{H, CH}_3, \text{OCH}_3, \text{Cl, Br, CF}_3, \text{NO}_2, \text{R}_3 = \text{H, CH}_3;$
 $\text{R}_4 = \text{phenyl, naphthalen-2-yl, pyrrol-2-yl, furan-2-yl, thiophen-2-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl}$

dx.doi.org/10.1021/co100015u | ACS Comb. Sci. 2011, 13, 2-6

giuseppe.laregina@uniroma1.it

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: tubulin, MCF-7 and [³H]colchicine

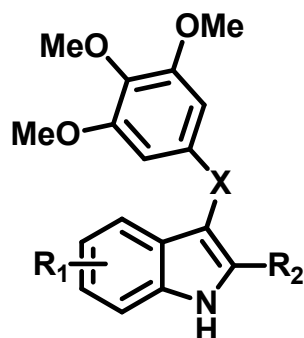


compd	R ₁	R ₂	X	Tubulin ^a IC ₅₀ ± SD (μM)	MCF-7 ^b IC ₅₀ ± SD (nM)	Colchicine binding ^c (% ± SD)
4	4-Br	Ph	S	2.4 ± 0.1	400 ± 70	33 ± 2
5	4-Br	Ph	CO	>20	430 ± 100	nd ^d
6	4-Cl	Ph	S	1.6 ± 0.07	290 ± 50	48 ± 5
7	4-Cl	Ph	CO	3.6 ± 0.2	260 ± 50	38 ± 3
8	4-Cl	Ph	CH ₂	17 ± 0.2	>5000	nd
9	4-F	Ph	S	1.7 ± 0.07	80 ± 30	80 ± 0.4
10	4-F	Ph	CO	1.6 ± 0.08	65 ± 7	63 ± 1
11	4-OMe	Ph	S	>20	1400 ± 300	nd
12	4-OMe	Ph	CO	>20	>5000	nd
COL ^e	-	-	-	3.2 ± 0.4	5.0 ± 1	nd
CSA4 ^f	-	-	-	1.0 ± 0.1	13 ± 3	98 ± 0.6
1	H	Ph	S	3.3 ± 0.1	52 ± 7	nd
2	5-Cl	COOMe	S	2.5 ± 0.3	42 ± 10	57 ± 2
3	5-OMe	COOMe	S	2.0 ± 0.2	13 ± 3	90 ± 1

^aInhibition of tubulin polymerization (monitored by turbidimetry at 350 nm). Tubulin was at 10 μM in the assembly assay. ^bInhibition of growth of MCF-7 human breast carcinoma cells (sulforhodamine B assay, incubation time 48 h). ^cInhibition of [³H]colchicine binding (diethylaminoethyl cellulose filter method). Tubulin was at 1 μM. Both [³H]colchicine and inhibitor was at 5 μM. ^dNd, no data. ^eCOL, colchicine. ^fCSA4, combretastatin A4.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: tubulin, MCF-7 and [³H]colchicine

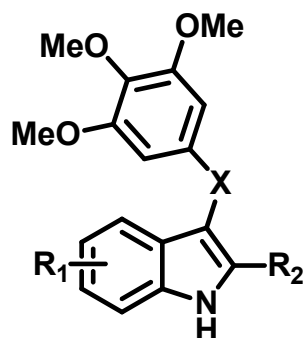


compd	R ₁	R ₂	X	Tubulin ^a IC ₅₀ ± SD (μM)	MCF-7 ^b IC ₅₀ ± SD (nM)	Colchicine binding ^c (% ± SD)
😊 13	5-Br	Ph	S	1.3 ± 0.1	320 ± 100	39 ± 3
14	5-Br	Ph	CO	>40	530 ± 100	nd ^d
15	5-Br	Ph	CH ₂	4.0 ± 0.5	700 ± 300	31 ± 2
😊 16	5-Cl	Ph	S	1.5 ± 0.2	280 ± 70	49 ± 5
17	5-Cl	Ph	CO	>20	330 ± 100	nd
18	5-Cl	Ph	CH ₂	4.4 ± 0.8	310 ± 10	38 ± 3
😊 19	5-F	Ph	S	1.5 ± 0.1	300 ± 0	61 ± 4
20	5-F	Ph	CO	13 ± 0.4	240 ± 90	nd
😊 21	5-OMe	Ph	S	2.1 ± 0.01	200 ± 80	58 ± 0.5
22	5-OMe	Ph	CO	8.3 ± 1	170 ± 60	nd
23	5-OMe	Ph	CH ₂	3.5 ± 0.4	100 ± 0	41 ± 0.9
COL ^e	-	-	-	3.2 ± 0.4	5.0 ± 1	nd
CSA4 ^f	-	-	-	1.0 ± 0.1	13 ± 3	98 ± 0.6
1	H	Ph	S	3.3 ± 0.1	52 ± 7	nd
2	5-Cl	COOMe	S	2.5 ± 0.3	42 ± 10	57 ± 2
3	5-OMe	COOMe	S	2.0 ± 0.2	13 ± 3	90 ± 1

^aInhibition of tubulin polymerization (monitored by turbidimetry at 350 nm). Tubulin was at 10 μM in the assembly assay. ^bInhibition of growth of MCF-7 human breast carcinoma cells (sulforhodamine B assay, incubation time 48 h). ^cInhibition of [³H]colchicine binding (diethylaminoethyl cellulose filter method). Tubulin was at 1 μM. Both [³H]colchicine and inhibitor was at 5 μM. ^dNd, no data. ^eCOL, colchicine. ^fCSA4, combretastatin A4.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: tubulin, MCF-7 and [³H]colchicine

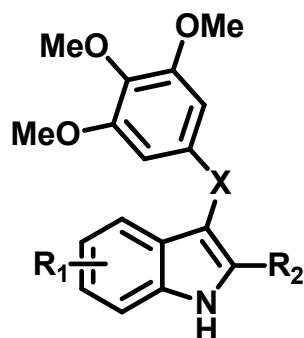


compd	R ₁	R ₂	X	Tubulin ^a IC ₅₀ ± SD (μM)	MCF-7 ^b IC ₅₀ ± SD (nM)	Colchicine binding ^c (% ± SD)
☺ 24	6-Br	Ph	S	1.9 ± 0.2	9.0 ± 2	87 ± 0.6
25	6-Br	Ph	CO	1.3 ± 0.2	30 ± 2	86 ± 0.4
26	6-Cl	Ph	S	1.2 ± 0.2	20 ± 10	88 ± 3
27	6-Cl	Ph	CO	1.4 ± 0.06	35 ± 7	71 ± 5
28	6-Cl	Ph	CH ₂	1.6 ± 0.01	55 ± 20	72 ± 6
29	6-F	Ph	S	2.4 ± 0.2	80 ± 20	74 ± 2
30	6-F	Ph	CO	10 ± 0.4	600 ± 0	nd ^d
☺ 31	6-OMe	Ph	S	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.6	96 ± 1
32	6-OMe	Ph	CO	1.2 ± 0.06	30 ± 10	95 ± 0.4
COL ^e	-	-	-	3.2 ± 0.4	5.0 ± 1	nd
CSA4 ^f	-	-	-	1.0 ± 0.1	13 ± 3	98 ± 0.6
1	H	Ph	S	3.3 ± 0.1	52 ± 7	nd
2	5-Cl	COOMe	S	2.5 ± 0.3	42 ± 10	57 ± 2
3	5-OMe	COOMe	S	2.0 ± 0.2	13 ± 3	90 ± 1

^aInhibition of tubulin polymerization (monitored by turbidimetry at 350 nm). Tubulin was at 10 μM in the assembly assay. ^bInhibition of growth of MCF-7 human breast carcinoma cells (sulforhodamine B assay, incubation time 48 h). ^cInhibition of [³H]colchicine binding (diethylaminoethyl cellulose filter method). Tubulin was at 1 μM. Both [³H]colchicine and inhibitor was at 5 μM. ^dNd, no data. ^eCOL, colchicine. ^fCSA4, combretastatin A4.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: tubulin, MCF-7 and [³H]colchicine

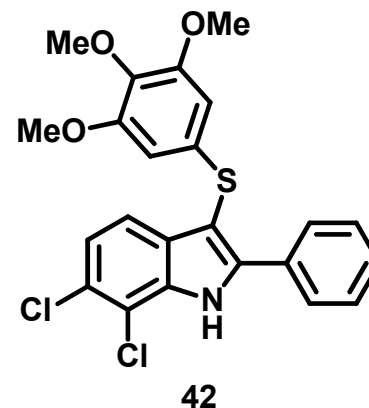
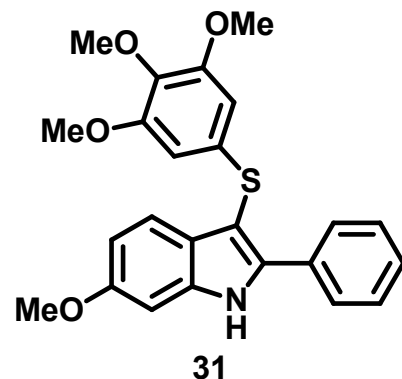


compd	R ₁	R ₂	X	Tubulin ^a IC ₅₀ ± SD (μM)	MCF-7 ^b IC ₅₀ ± SD (nM)	Colchicine binding ^c (% ± SD)
☺ 33	7-Br	Ph	S	1.6 ± 0.2	25 ± 5	82 ± 1
34	7-Br	Ph	CO	1.7 ± 0.1	4.0 ± 0.5	72 ± 0.3
35	7-Cl	Ph	S	1.3 ± 0.2	50 ± 10	82 ± 0.3
36	7-Cl	Ph	CO	1.8 ± 0.05	9.0 ± 1	69 ± 0.5
37	7-Cl	Ph	CH ₂	2.4 ± 0.2	200 ± 0	50 ± 4
38	7-F	Ph	S	1.0 ± 0.1	20 ± 9	92 ± 0.3
39	7-F	Ph	CO	1.7 ± 0.1	30 ± 0	67 ± 3
☺ 40	7-OMe	Ph	S	1.2 ± 0.01	19 ± 10	87 ± 2
41	7-OMe	Ph	CO	1.8 ± 0.1	200 ± 0	62 ± 3
42	6,7-Cl ₂	Ph	S	1.2 ± 0.1	7.0 ± 3	92 ± 2
43	6,7-Cl ₂	Ph	CO	1.5 ± 0.03	15 ± 5	93 ± 0.7
COL ^e	-	-	-	3.2 ± 0.4	5.0 ± 1	nd ^d
CSA4 ^f	-	-	-	1.0 ± 0.1	13 ± 3	98 ± 0.6
1	H	Ph	S	3.3 ± 0.1	52 ± 7	nd
2	5-Cl	COOMe	S	2.5 ± 0.3	42 ± 10	57 ± 2
3	5-OMe	COOMe	S	2.0 ± 0.2	13 ± 3	90 ± 1

^aInhibition of tubulin polymerization (monitored by turbidimetry at 350 nm). Tubulin was at 10 μM in the assembly assay. ^bInhibition of growth of MCF-7 human breast carcinoma cells (sulforhodamine B assay, incubation time 48 h). ^cInhibition of [³H]colchicine binding (diethylaminoethyl cellulose filter method). Tubulin was at 1 μM. Both [³H]colchicine and inhibitor was at 5 μM. ^dNd, no data. ^eCOL, colchicine. ^fCSA4, combretastatin A4.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: additional cancer cell lines



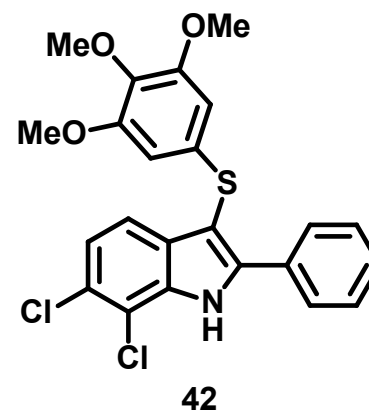
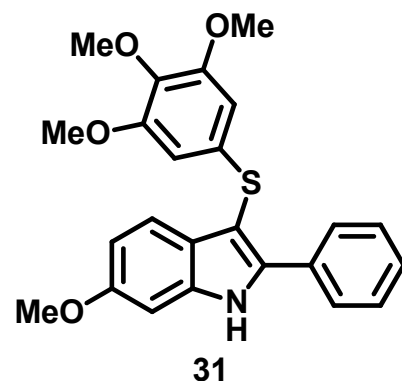
IC₅₀ ± SD (nM)

compd	MDA-MB-468 ^{a,#}	MDA-MB-436 ^{b,#}	MDA-MB-231 ^{c,#}	MV4-11 ^{d,§} (AML_M9)	NB4 ^{e,§} (AML_M3)	A-549 ^{f,#}	NCI-H1975 ^{g,#}
31	35 ± 0.5	62 ± 1	39 ± 1.2	2.5 ± 2.1	4 ± 1	28 ± 6	195 ± 158
42	33 ± 0.3	75 ± 1.1	47 ± 0.1	10.5 ± 0.7	10 ± 4	120 ± 10	305 ± 122
PTXⁱ	5 ± 1	8 ± 1.5	7 ± 2	nd ^h	2.3 ± 0.3	7 ± 2	2.5 ± 5

Inhibition of growth of the indicated cell lines (MTT assay, incubation time 72[#] and 48[§] h). ^aMDA-MB-46, breast adenocarcinoma. ^bMDA-MB-436, breast adenocarcinoma. ^cMDA-MB-231, breast adenocarcinoma. ^dMV4-11, acute myelocytic leukemia. ^eNB4, acute myelocytic leukemia. ^fA-549, lung adenocarcinoma. ^gNCI-H1975, lung adenocarcinoma. ^hNd, no data. ⁱPTX, paclitaxel.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: additional cancer cell lines



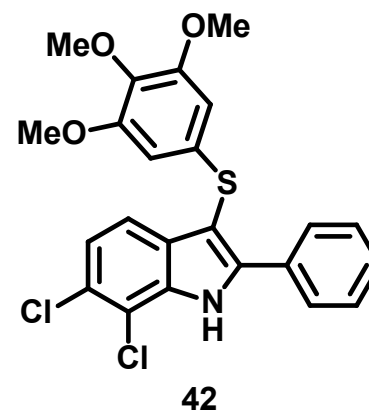
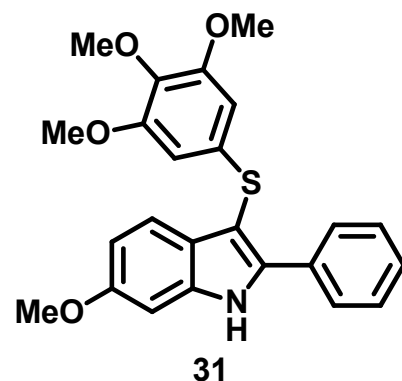
IC₅₀ ± SD (nM)

compd	PC3 ^a	RD ^b	HepG2 ^c
31	0.3 ± 0.06	0.2 ± 0.04	0.1 ± 0.02
42	19 ± 1	16 ± 1.3	62 ± 2
VBL ^d	766 ± 1000	53 ± 2.5	81 ± 2.4
PTX ^e	4900 ± 1.3	>10000	2600 ± 1.5

Inhibition of growth of the indicated cell lines (MTT assay, incubation time 48 h). ^aPC-3, human prostate cancer cells. ^bRD, rhabdomyosarcoma cancer cells. ^cHepG2, human liver hepatocellular cancer cells. ^dVBL, vinblastine. ^ePTX, paclitaxel.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: MDR cell lines



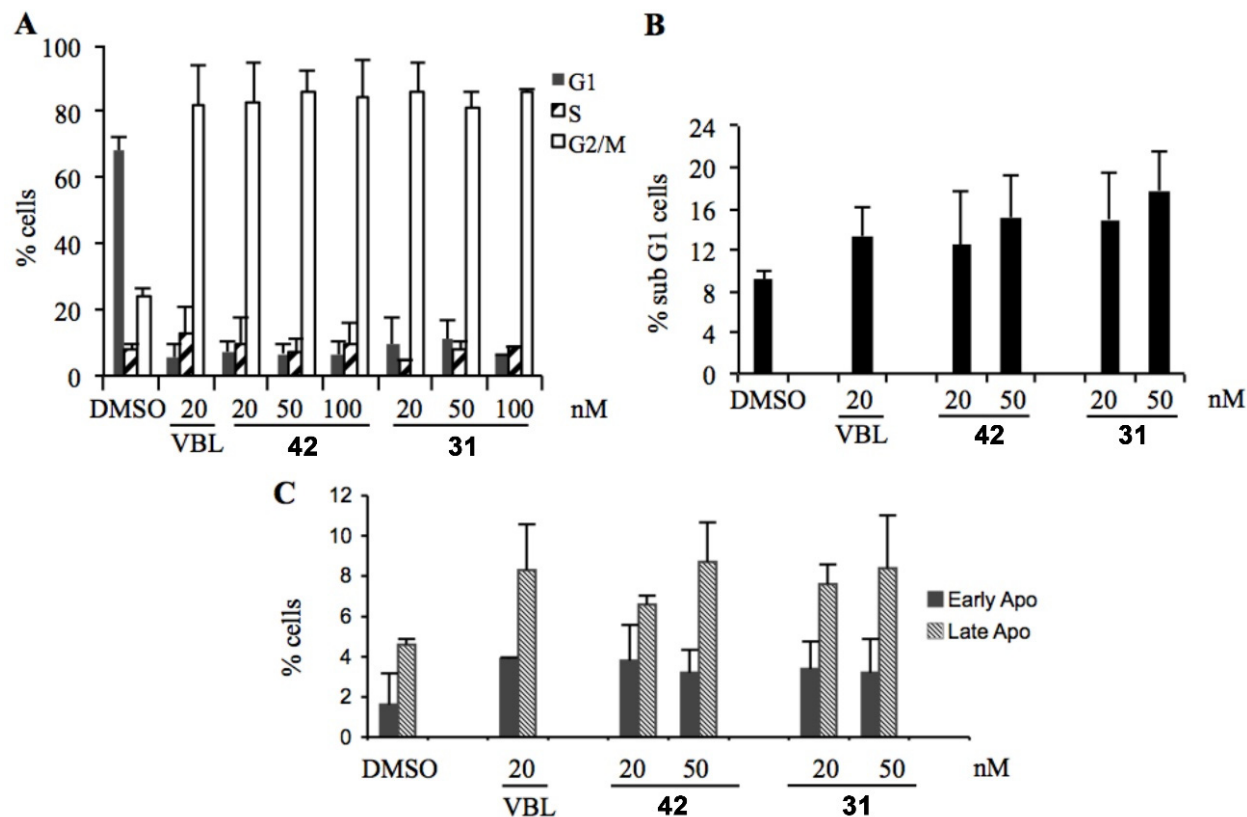
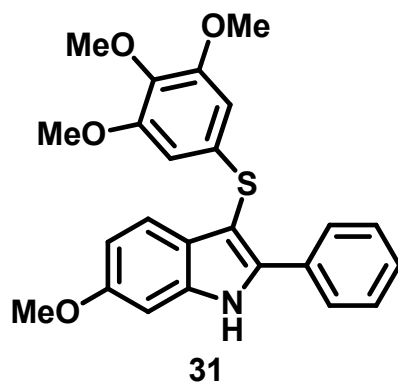
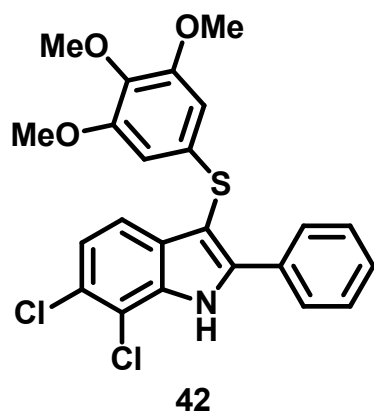
IC₅₀ ± SD (nM)

compd	OVCAR-8 ^a	NCI/ ADR-RES ^b	Messa ^c	Messa/Dx5 ^d
31	4.3 ± 1	2.5 ± 1	20.7 ± 1.7	28.0 ± 1.0
42	14 ± 2	10 ± 4	3.5 ± 0.9	4.5 ± 1.9
COL ^f	30 ± 1	420 ± 100	11 ± 6	329 ± 166
CSA4 ^g	2.8 ± 1	1.8 ± 1	2.7 ± 2	2.6 ± 1
VRB ^h	300 ± 0	5000 ± 1000	nd ^e	nd
VBL ⁱ	15 ± 7	200 ± 0	3 ± 2	144 ± 61
PTX ^j	3.7 ± 1	6000 ± 500	4 ± 1	1764 ± 477

Inhibition of growth of the indicated cell lines (sulforhodamine B assay, incubation time 48 h). ^aOVCAR-8, ovarian tumor cell line 8. ^bNCI/ADR-RES, doxorubicin-resistant cell line derived from OVCAR-8. ^cMessa, uterine sarcoma. Incubation time was 72 h. ^dMessa/Dx5, MDR-positive variants derived from Messa. ^eNd, no data. ^fCOL, colchicine. ^gCSA4, combretastatin A4. ^hVRB, vinorelbine. ⁱVBL, vinblastine. ^jPTX, paclitaxel.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

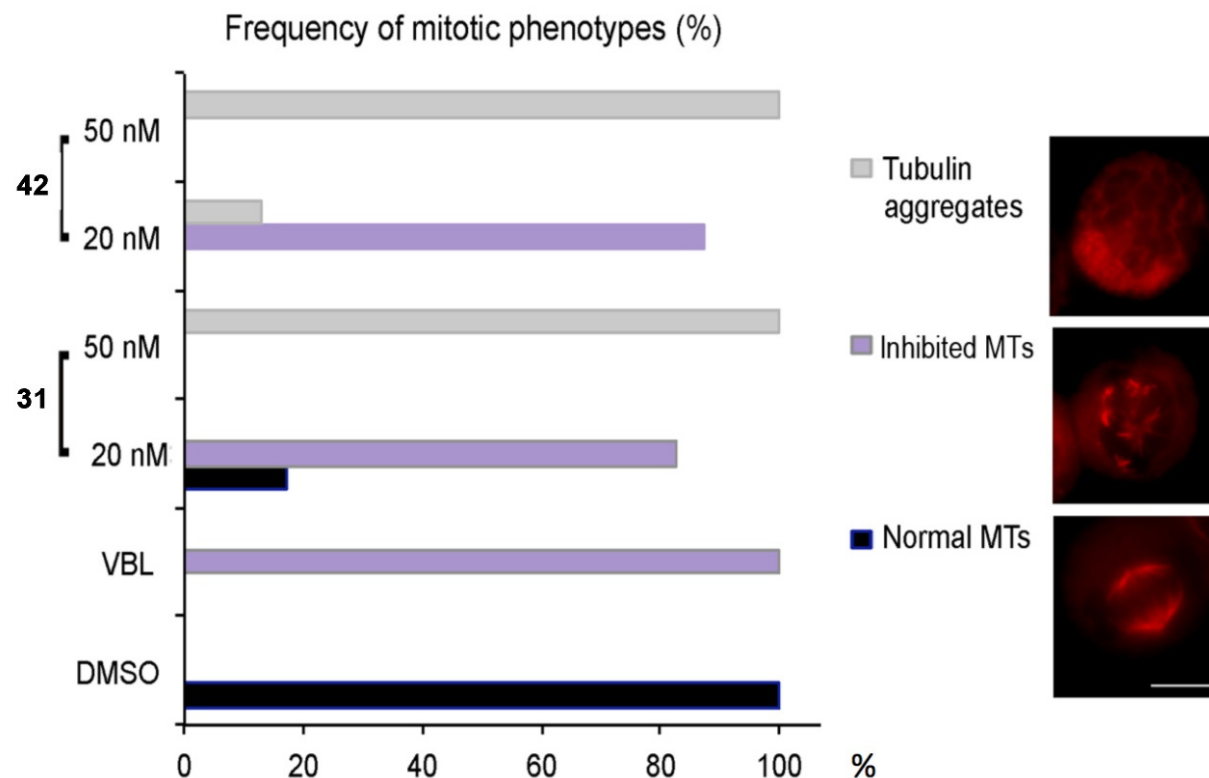
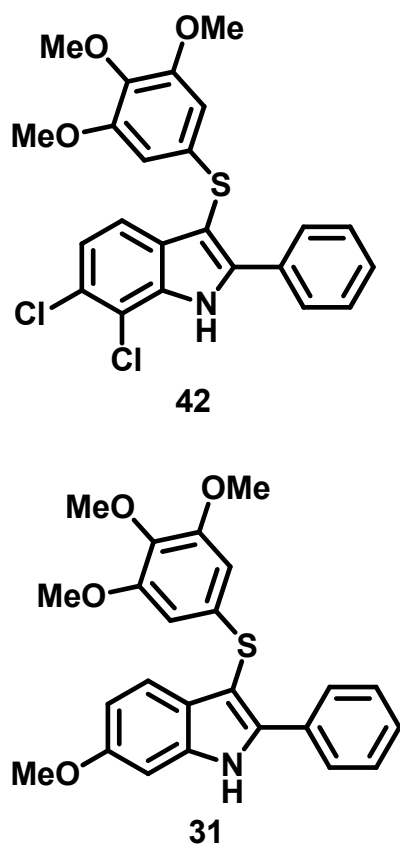
Biological activity: cell cycle



A. Cell cycle profiles of HeLa cell cultures exposed to **31**, **42** or VBL for 24 h at the indicated concentrations; the % of cells with 2C (G1 phase, black bars), 4C (G2/M phases, white bars), or between 2C and 4C (S phase, dashed bars) genomic DNA content is shown. **B.** Flow cytometry analysis of PI-stained cells with sub-G1 DNA content, representing terminal cell death, after 24 h. **C.** Distribution of cells simultaneously processed for annexin V reactivity and PI incorporation, representing early (reactive to annexin V, not permeable to PI) and late (reactive to both annexin V and PI) stages of the cell death process in cultures treated for 24 h.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

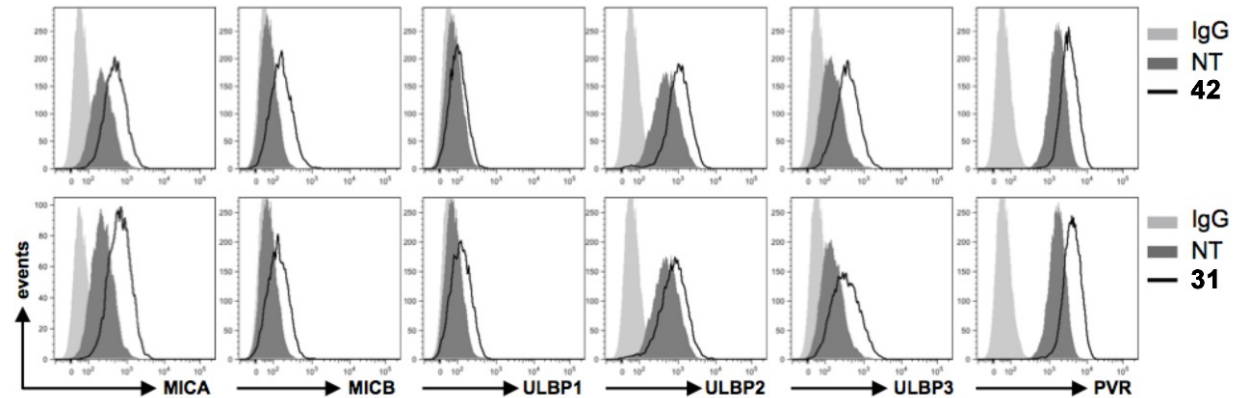
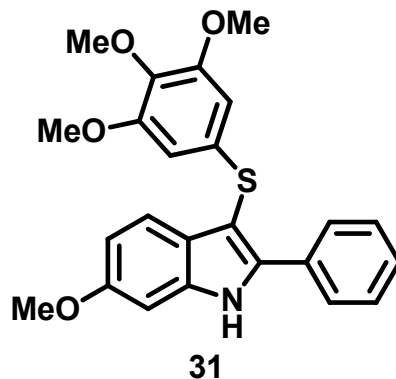
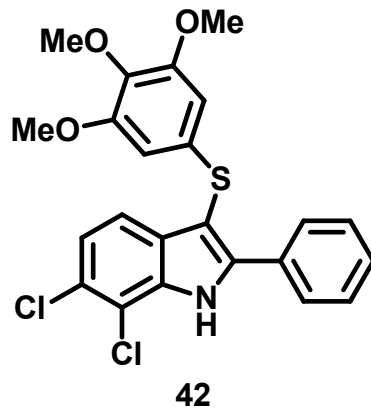
Biological activity: mitotic profile



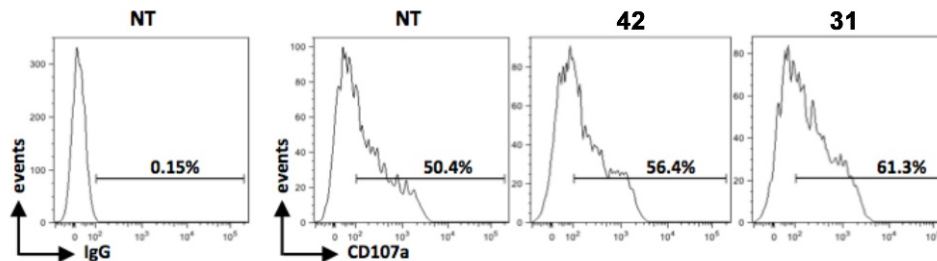
Mitotic phenotypes in HeLa cell cultures exposed to compounds **31** and **42** for 24 h and processed for IF to tubulin (in red). The bar graph on the left indicates the statistical distribution of the cytological phenotypes depicted under the indicated conditions; the frequency of scored phenotypes is shown as % of all counted mitotic figures (330 to 400 counted mitotic figures per condition). Grey bars represent the frequency of mitotic cells with severe inhibition of tubulin polymerization, with no recognizable MTs and unstructured tubulin aggregates (exemplified in the top IF panel). Purple bars represent the frequency of mitotic cells with inhibited MT polymerization, yielding short MT stretches (middle panel). Black bars represent the frequency of normal mitoses with polymerized MT arrays forming a bipolar spindle (bottom panel).

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Biological activity: cytotoxicity of natural killer cells



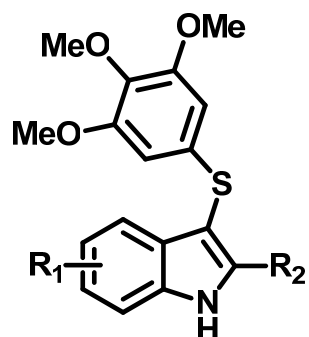
Compounds **31** and **42** up-regulate DNAM-1 and NKG2D ligands in HeLa cells. NKG2D and DNAM-1 ligand surface expression was analyzed by flow cytometry after a 48 h treatment with the indicated compound.



Natural killer cell-mediated killing of HeLa cells increased after a 48 h treatment with compounds **31** or **42**. Results are expressed as % of CD107a⁺ cells after subtraction of the % of the control antibody and represent one of two independent experiments. The basal CD107a expression on NK cells was about 2%.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

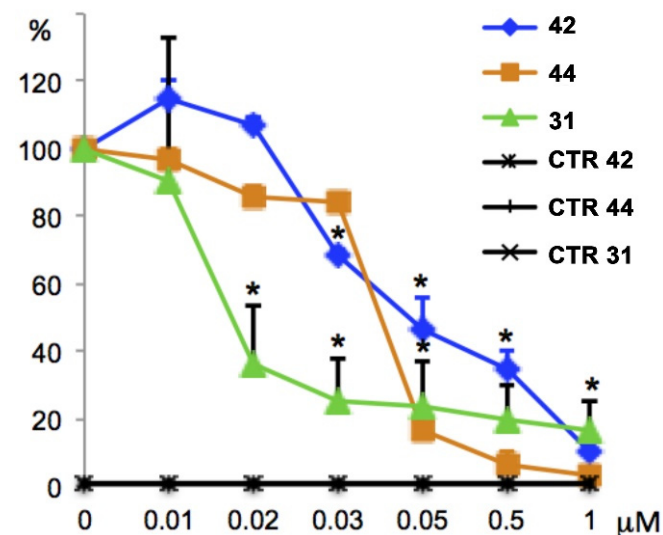
Biological activity: Hedgehog signalling inhibition



31 $R_1 = 6\text{-OMe}$, $R_2 = \text{Ph}$
NIH3T3 Shh-Light II $IC_{50} = 19 \text{ nM}$

42 $R_1 = 6,7\text{-Cl}_2$, $R_2 = \text{Ph}$
NIH3T3 Shh-Light II $IC_{50} = 72 \text{ nM}$

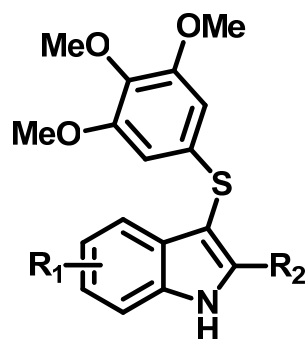
44 $R_1 = \text{H}$, $R_2 = 1H\text{-imidazol-1-yl}$
NIH3T3 Shh-Light II $IC_{50} = 38 \text{ nM}$



Inhibition of endogenous Hedgehog signaling in NIH3T3 Shh-Light II cells by compounds **31**, **42** and **44**. Dose-response curve of the indicated compounds in SAG-treated cells in comparison with untreated NIH3T3 Shh-Light II cells as a control (CTR). Treatment time was 48 h, and normalization was against *Renilla* luciferase.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

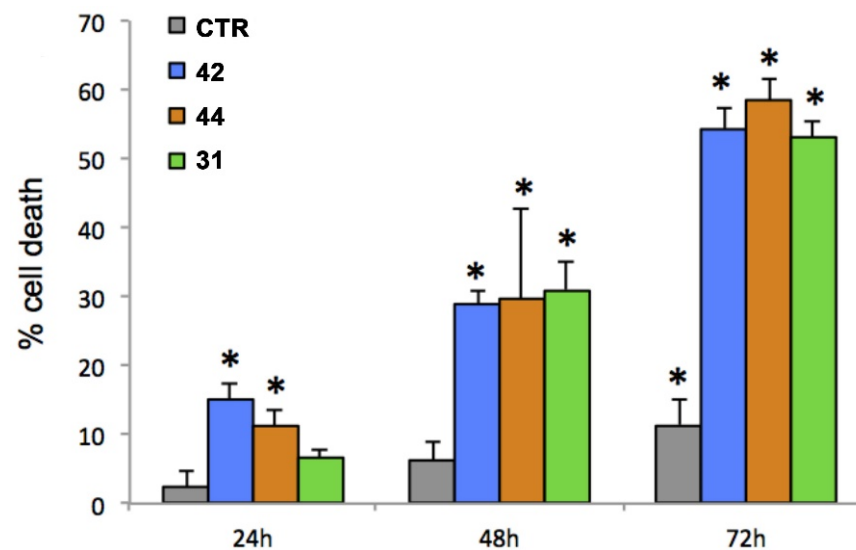
Biological activity: Hedgehog signalling inhibition



31 R₁ = 6-OMe, R₂ = Ph
NIH3T3 Shh-Light II IC₅₀ = 19 nM

42 R₁ = 6,7-Cl₂, R₂ = Ph
NIH3T3 Shh-Light II IC₅₀ = 72 nM

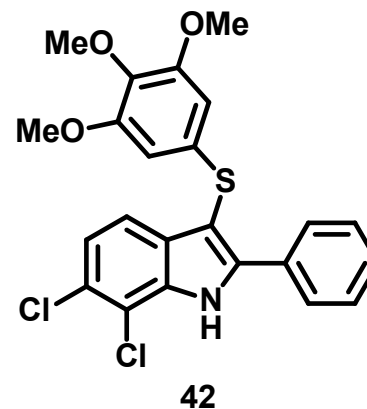
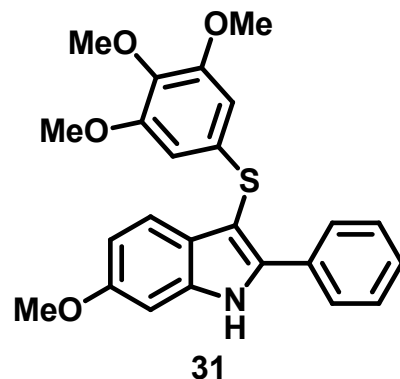
44 R₁ = H, R₂ = 1*H*-imidazol-1-yl
NIH3T3 Shh-Light II IC₅₀ = 38 nM



Effect of compounds **31**, **42** and **44** on D283 medulloblastoma cell growth. D283 cells were treated with these compounds (1 μ M) or DMSO only, as control (CTR). After the indicated times, a trypan blue count was performed to determine the percentage of cell death.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Metabolic stability and solubility



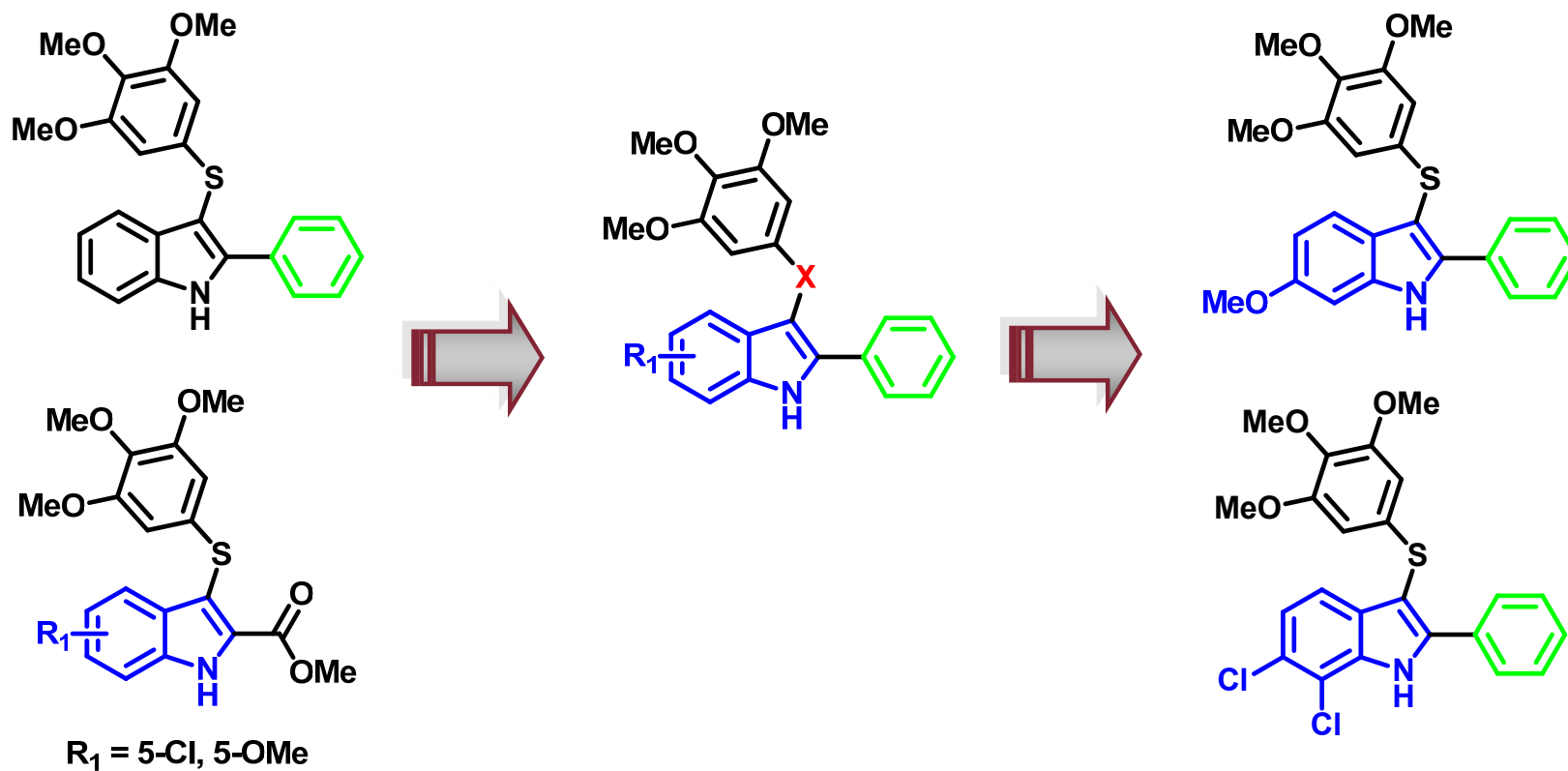
Clearance ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ protein)

compd	Human liver microsomes	Mouse liver microsomes	Solubility pH 7.4 (μM)
31	15.2 ± 8.0	43.1 ± 7.9	0.99 ± 0.13
42	<3	25.6 ± 1.7	3.18 ± 0.50
7-EXC ^a	209 ± 10.2	710.8 ± 1.2	-
PRL ^b	19.1 ± 2.2	235.1 ± 24.1	-

Metabolic stability: <3, good; 3-60, medium; >60, low. ^a7-EXC, 7-ethoxycoumarin. ^bPRL, propranolol.

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Conclusions



New Arylthioindoles and Aroylindoles

Acknowledgments

Silvestri R., Coluccia A., Famigliani V., Pelliccia S., Passacantilli S., Ludovica M., Di Marcotullio L., Soriani A., Santoni A.

Sapienza University of Rome, IT

Novellino E., Marinelli L.

Università degli Studi di Napoli Federico II, Naples, IT

Andrea Brancale

Cardiff University, Cardiff, UK

Ernest Hamel

National Cancer Institute, Frederick, USA

Patrizia Lavia

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Rome, IT

Carmela Mazzoccoli

Laboratorio di Ricerca Pre-Clinica e Traslazionale, IRCCS, Rionero in Vulture, IT

Mario Varasi

European Institute of Oncology, Milan, IT

Caraglia Michele

Seconda Università degli Studi di Napoli, Naples, IT

Claudia Martini

Università degli Studi di Pisa, Pisa, IT

Giulio Dondio

APHAD, Buccinasco, IT



giuseppe.laregina@uniroma1.it

New Arylthioindoles and Aroylindoles

Acknowledgments



New Arylthioindoles and Aroylindoles

Acknowledgments

Andrea Rota

Cem srl, Cologno al Serio, Italy



Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca

Bando Futuro in Ricerca 2010, Protocollo RBFR10ZJQT

Bando PRIN PRIN 2010-2011, Protocollo 2010W7YRLZ



Sapienza Università di Roma

Progetti AWARDS di Università 2013, Protocollo C26H135FL5

Progetti di Ricerca di Università 2014, Protocollo C26A14TLFT

