

Trabajo Fin de Máster

Facultad de Ciencias Experimentales



Síntesis, caracterización y estudio de nuevos compuestos de coordinación con fosfinas solubles en agua y propiedades anticancerígenas.

Synthesis, characterization and study of new coordination compounds with water soluble phosphines and anticancer properties.

Andrés Alguacil Alarcón

Curso académico 2018-2019

Convocatoria Junio

Fecha 12/07/19

MEMORIA

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN | 3 |
| 2. ABSTRACT | 3 |
| 3. INTRODUCCIÓN | 5 |
| 4. OBJETIVOS | 12 |
| 5. MÉTODOS EXPERIMENTALES | 13 |
| 5.1. EQUIPOS Y REACTIVOS | 13 |
| 5.2. SÍNTESIS | 14 |
| 5.2.1. Síntesis de [RuCp(PPh₃)₂-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtCl₂](SO₃CF₃) (1) y [RuCp(PPh₃)₂-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtCl(DMSO-κS)](Cl₂)(2).... | 14 |
| 5.2.2. Síntesis de [RuCp(PPh₃)(PTA)(dmoPTA-κP)] (SO₃CF₃) (3) | 14 |
| 5.2.3. Síntesis de [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)(PTA)](SO₃CF₃)₂ (4)..... | 15 |
| 5.2.4. Síntesis de [RuCp(PPh₃)(PTA)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PdCl₂](SO₃CF₃) (6), [RuCp(PPh₃)(PTA)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtCl₂](SO₃CF₃) (7) y [RuCp(PPh₃)(PTA)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-Pt(COD)](SO₃CF₃)(Cl)₂ (8) | 16 |
| 5.3. Estructura cristalina de [RuCp(PPh₃)(PTA)(dmoPTA-κP)](SO₃CF₃) (3). | 17 |
| 5.4. Protonación de [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)(PTA)](SO₃CF₃)₂ (4): formación de [RuCp(HdmoPTA)(HPTA)(PPh₃)] (SO₃CF₃)₃ (5) como monocristales. | 17 |
| 5.5. REACTIVIDAD FRENTE A AIRE (OXÍGENO) Y NITRÓGENO de [RuCp(PPh₃)₂-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-Pt(Cl)(DMSO-κS)](Cl₂) (2)..... | 18 |
| 5.6. ENSAYOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA | 20 |
| 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 22 |
| 7. CONCLUSIONES | 33 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA Y NOTAS | 34 |
| 9. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS | 37 |
| ANEXOS | 39 |
| ANEXO 1: DATOS ESPECTROSCÓPICOS | 41 |
| ANEXO 2: DATOS CRISTALOGRAFICOS | 54 |

1. RESUMEN

El presente Trabajo Fin de Máster (TFM) se ha centrado en la síntesis de nuevos compuestos de coordinación con fosfinas solubles en agua, su caracterización y la evaluación de su actividad anticancerígena *in vitro*. Se ha sintetizado y caracterizado los complejos monometálicos $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**3**) y $[\text{RuCp}(\text{HdmoPTA})(\text{PPh}_3)(\text{PTA})](\text{SO}_3\text{CF}_3)_2$ (**4**), y los complejos bimetálicos $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-PtCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**1**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{Cl})(\text{DMSO}\cdot\kappa\text{S})](\text{Cl}_2)$ (**2**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-PdCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**6**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-PtCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**7**) y $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{COD})](\text{SO}_3\text{CF}_3)(\text{Cl})_2$ (**8**) (HdmoPTA = 3,7-H-3,7-dimetil-1,3,7-triaza-5-fosfabciclo[3.3.1]nonano, PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfadamantano, COD = 1,5-ciclooctadieno). Todos estos complejos se han caracterizado mediante análisis elemental, espectroscopía IR y RMN. Además, se ha determinado la estructura cristalina de los compuesto monometálicos por difracción de rayos-X de monocristal. Se ha estudiado la reactividad del compuesto $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{Cl})(\text{DMSO}\cdot\kappa\text{S})](\text{Cl}_2)$ (**2**) frente a disolventes no inocentes en presencia de aire y nitrógeno. La actividad antiproliferativa de todos los compuestos obtenidos ha sido evaluada frente a un panel de células resistentes y no resistentes al *cis*-diaminodicloroplatino(II).

Palabras clave: rutenio, 1,3,5-triaza-7-fosfadamantano, bimetálicos, anticancerígeno

2. ABSTRACT

This TFM has focused in the synthesis of new coordination compounds with water soluble phosphines, their characterization and study of their antiproliferative activity. The monometallic complexes $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**3**) and $[\text{RuCp}(\text{HdmoPTA})(\text{PPh}_3)(\text{PTA})](\text{SO}_3\text{CF}_3)_2$ (**4**), and the bimetallics complexes $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-PtCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**1**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{Cl})(\text{DMSO}\cdot\kappa\text{S})](\text{Cl}_2)$ (**2**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-PdCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**6**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-PtCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**7**) y $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{COD})](\text{SO}_3\text{CF}_3)(\text{Cl})_2$ (**8**) have been synthesized and characterized (HdmoPTA = 3,7-H-3,7-dimetil-1,3,7-triaza-5-fosfabciclo[3.3.1]nonano, PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfadamantano, COD = 1,5-ciclooctadieno.). All of these complexes have been characterized by elemental analysis, IR and NMR spectroscopy. Additionally, the crystal structure of monometallic complexes have been characterized by single crystal X-ray diffraction. Finally, the reactivity of complex $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{Cl})(\text{DMSO}\cdot\kappa\text{S})](\text{Cl}_2)$ (**2**) against non-innocents solvents. The antiproliferative activity of the obtained complexes was evaluated against a panel of cancer cells resistant and non resistant to cisplatin.

Keywords: ruthenium, 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane, bimetallics, anticancer

3. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una plaga moderna ya que es la segunda causa de muerte a nivel mundial y se estima que es la responsable de 9.6 millones de muertes en 2018.¹ En una sociedad en donde la mayoría de las enfermedades que asolaban a la humanidad han sido en buena parte remediadas, el cáncer continúa siendo un reto que no parece que tenga una solución fácil en un futuro cercano. El cáncer es un término global para un grupo de enfermedades caracterizadas por el crecimiento de células por encima de sus límites fisiológicos, que exceden su localización habitual en un ser vivo invadiendo otras partes del mismo y afectando a su funcionamiento lo que produce, finalmente, la muerte del mismo. Todas las células de un ser vivo son susceptibles de volverse cancerosas: las células de pulmón, próstata, aparato gastrointestinal e hígado son las más sensibles a sufrir su transformación en cancerosas en los hombres; mientras que en las mujeres a esa lista hay que añadir aquellas de mama, colorrectal, de pulmón, de cuello de útero y de tiroides.

La idea de usar compuestos de coordinación como fármacos anticancerígenos surgió a raíz del descubrimiento fortuito por Rosenberg en 1965 de la actividad antiproliferativa que presenta el *cis*-diamindicloroplatino(II) ($[\text{cis-PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$) o cisplatino,² que fue aprobado por la agencia americana de fármacos (FDA) en 1978.³ A pesar de que el cisplatino puede enlazarse a un amplio rango de componentes celulares como proteínas, ARN, membrana fosfolipídica, microfilamentos y péptidos que contienen tioles, su actividad está ligada a su interacción con los componentes de ADN.⁴ Con los conocimientos actuales se considera que el cisplatino es en realidad un profármaco, que se transforma en el agente activo real por sustitución de los cloruros enlazados al metal por moléculas de agua, lo que da lugar al monoacu-intermedio $\{\text{cis-PtCl}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)\}^+$ y diacu-intermedio $\{\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2\}^{2+}$. Estos acuocomplejos se unirían covalentemente a ADN, preferentemente al nitrógeno 7 (N₇) de los anillos de imidazol de las bases púricas, preferentemente en guanina, formando aduptos monofuncionales.⁵ De esta forma se provocan distorsiones en la molécula de ADN (**Figura 1**) como el desplegamiento y flexión del mismo, siendo el resultado final la muerte de la célula por apoptosis.⁶

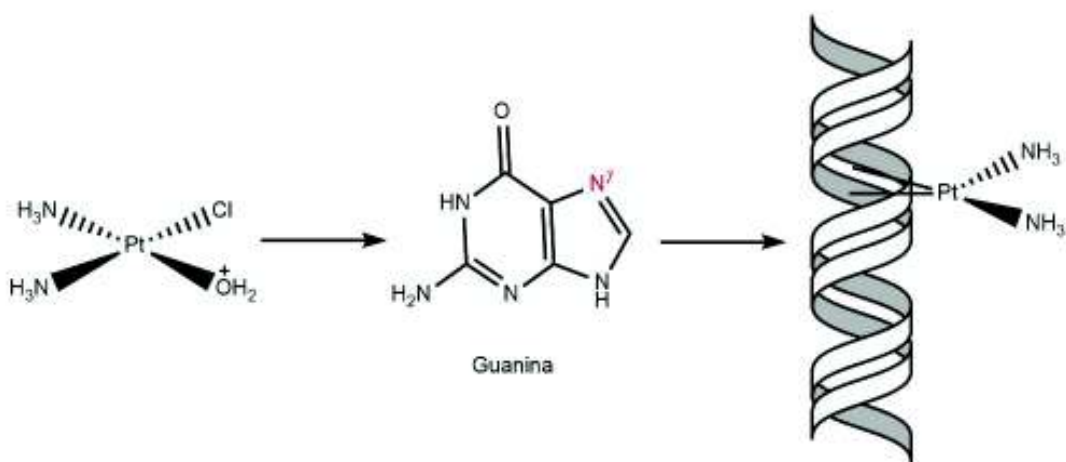


Figura 1. Interacción de una de las especies activas del cisplatino con el ADN

A partir del descubrimiento del cisplatino y sus propiedades anticancerígenas se sintetizaron y estudiaron compuestos de coordinación análogos con la esperanza de obtener nuevos y mejores agentes antitumorales. De entre ellos, pocos han presentado actividad y características adecuadas para convertirse en fármacos, de entre los cuales, destacan el carboplatino y el oxaliplatino (**Figura 2**).

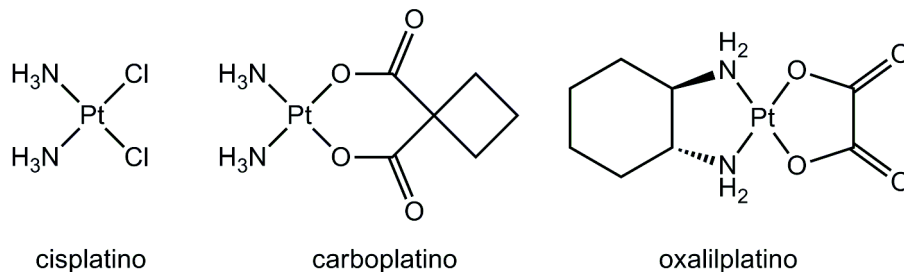


Figura 2. Estructuras del cisplatino, carboplatino y oxaliplatino

No obstante, y a pesar de su utilidad como fármacos anticancerígenos, estos compuestos presentan serias desventajas. Las más importantes son su falta de actividad contra tumores que ya han generado resistencia al platino y que a pesar de su alta actividad anticancerígena presentan efectos secundarios graves tales como náuseas, vómitos, pérdida del cabello y nefrotoxicidad.⁷

Con objeto de disponer de fármacos anticancerígenos al menos tan buenos como los derivados de platino pero sin sus inconvenientes, desde hace años se está realizando una extensa búsqueda de nuevos compuestos tanto inorgánicos como orgánicos que han dado lugar de una forma errática a nuevos compuestos con desigual fortuna. En el ámbito de la química de coordinación los esfuerzos se han dirigido tanto a desarrollar nuevos compuestos de platino como a estudiar complejos de otros metales de transición como paladio, rutenio, hierro, cobre, etc. La química de coordinación del Pd(II) es muy parecida a la del Pt(II), pero aun así difieren en algunos aspectos como en su cinética de intercambio de ligandos. El Pd(II) sufre la sustitución nucleofílica de sus ligandos generalmente unas 10^5 veces más rápido que los complejos de Pt(II), lo que tendría como consecuencia que la hidrólisis del fármaco-complejo de paladio sea comparativamente respecto al platino mucho más rápida. La fácil y rápida disociación de uno o varios ligandos y su sustitución sucesiva por moléculas del medio provoca especies muy reactivas que pueden interactuar fácilmente con especies presentes en el flujo sanguíneo y en el medio fisiológico. Esto permite a los mecanismos de reparación de las células eliminar fácilmente a las unidades complejas de paladio que interactúan con las bases de ADN: por ello los complejos de Pd(II) que reaccionan eficientemente con ADN *in vitro* son normalmente inactivos frente a las células vivas. No obstante, un adecuado diseño del complejo puede favorecer su estabilidad y por lo tanto su actividad antiproliferativa. Para ello se suelen usar ligandos quelatantes y voluminosos que confieran una mayor estabilidad al coordinarse más fuertemente al metal y, coordinar al metal dos ligandos no demasiado lábiles con el fin de asegurar que *in vivo* la estructura se mantiene el tiempo necesario para que el complejo actúe sobre la célula

cancerosa.⁸ Los más actuales compuestos de Pd(II) que presentan actividad antitumoral están constituidos con ligandos sulfurados (tiocarbamatos), heterociclos (piridina y sus derivados) y algunas combinaciones de sacarinos. Adicionalmente, también se han sintetizado complejos de Pd(II) que incorporan como ligando poliaminas que permiten obtener compuestos polinucleares, siendo algunos de estos compuestos más activos que sus análogos de Pt(II) y el mismo cisplatino.⁹

Tanto Pt(II) como Pd(II) se coordinan mediante una estricta geometría plano cuadrada y suelen ser relativamente difíciles de oxidar y reducir. Otros metales pueden adoptar un amplio número de geometrías de coordinación con un variado número de estados de oxidación, y si se parte de un diseño adecuado de los ligandos, se puede llegar a controlar sus propiedades termodinámicas y cinéticas.¹⁰ Dentro de este tipo de compuestos destacan los complejos organometálicos tales como los metallocenos. Éstos compuestos se caracterizan por disponer de dos ligandos ciclopentadienilos (Cp) π -enlazados al átomo metálico. Este tipo de compuestos se comenzó a investigar en 1952 con el descubrimiento del ferroceno (bis-ciclopentadienilo de hierro, [FeCp₂]), también llamados “complejos sándwich” al disponerse el Fe entre dos moléculas de η^5 -Cp. Estructuralmente los metallocenos son lo suficientemente robustos para su uso en aplicaciones médicas. Una variante de los metallocenos, los que adoptan una estructura flexionada, normalmente formados con Ti, Zr, V, Nb y Mo, disponen dos Cl en *cis* con disposición relativa similar a la que se encuentra en la molécula de cisplatino. Por ello se han estudiado extensamente, particularmente en los primeros años de desarrollo de la química inorgánica medicinal, especialmente a través del trabajo de Köpf-Maier.¹¹ De entre ellos destaca el dicloruro de titanoceno ([Ti(η^5 -Cp)₂Cl₂]) (Figura 3).

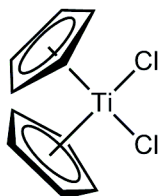


Figura 3. Estructura del titanoceno, [Ti(η^5 -Cp)₂Cl₂]

Otros complejos metálicos que han sido investigados como posibles alternativa al cisplatino son aquellos de oro, galio, osmio, germanio, arsénico, los lantánidos, y por encima de éstos, con rutenio.¹² A lo largo de los años se han descubierto tres familias importantes de complejos de Ru con propiedades antiproliferativas: complejos con la unidad {Ru-DMSO}, compuestos organometálicos Ru(II)-areno y los complejos “tipo Keppler” con Ru(III). Los primeros complejos de Ru sintetizados eran similares al cisplatino, en los que el metal tenía un estado de oxidación 2+, se activan por sustitución de uno o varios ligandos por moléculas de agua, y previsiblemente se coordinan con las biomoléculas, particularmente con ADN.

Los complejos con unidades {Ru-DMSO} se llevan investigando de forma ininterrumpida desde su descubrimiento en 1980. La molécula de DMSO se comporta como un ligando bidentado, o bien a través de su átomo de S (DMSO- κ S) o

del de O (DMSO- κ O), pero además tiene un marcado carácter π -aceptor que es suficientemente grande para estabilizar el estado de oxidación 3+ del rutenio pero sin impedir que pueda ser reducido con cierta facilidad a 2+. Por ello ambos estados de oxidación del metal son relativamente estables al aire en estos complejos. Otras interesantes propiedades del DMSO en su coordinación al metal son su relativamente fácil sustitución por otras moléculas como agua y su capacidad de solubilizar los complejos tanto en agua como en sistemas orgánicos. Debido a esta última propiedad, los complejos con unidades {Ru-DMSO} puedan disolverse en los fluidos fisiológicos, constituidos fundamentalmente de agua, pero además difundir fácilmente a través de la membrana fosfolipídica, lo que permite a los complejos introducirse en las células y moverse por la misma hasta alcanzar la diana adecuada.

Así, en la década de 1990 se sintetizó uno de los más activos e interesantes compuestos con propiedades antiproliferativas hasta ese momento, el complejo [H₂im]trans [RuCl₄(Him)(DMSO)] más conocido como NAMI-A (**Figura 4**). Este complejo mostró una alta efectividad en la inhibición del desarrollo y crecimiento de metástasis pulmonares en distintos modelos *in vivo* de tumores sólidos. Sin embargo, la actividad de NAMI-A contra tumores primarios y su citotoxicidad *in vitro* no fueron significativas en comparación a las del cisplatino.¹³

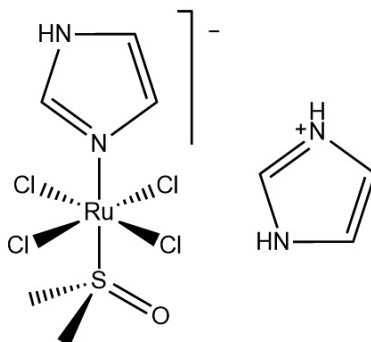


Figura 4. Estructura del complejo NAMI-A

El hecho de que el ligando DMSO- κ S se encuentre en la esfera de coordinación del átomo de Ru(III) afecta notablemente a sus propiedades químicas. En primer lugar y debido al carácter π -aceptor del ligando el potencial de reducción del metal en el NAMI-A aumenta considerablemente respecto al estado libre, lo que significa que este complejo se reduce mucho más fácilmente que sus análogos estructurales sin DMSO. Además, este hecho también determina que el complejo NAMI-A sufra en pocos minutos la disociación paso a paso de sus cloruros en disolventes coordinantes como el agua, activándolo. El NAMI-A muestra una buena actividad antimetastásica, baja toxicidad general, es relativamente fácil de obtener y buena estabilidad en estado sólido, lo que hizo que se convirtiera en el primer compuesto de rutenio que fue investigado en seres humanos en 1999 después de un extenso desarrollo y unos ensayos preclínicos exhaustivos. Este complejo superó con éxito los ensayos clínicos de la fase I y en 2008 se introdujo en una combinación de

ensayos clínicos de fase I/II; desafortunadamente, finalmente, no cumplió todos los requerimientos para validarlo como un fármaco operativo.¹⁴

Otra familia de compuestos de rutenio con notables propiedades antiproliferativas son los “tipo Keppler” que están constituido por átomos de Ru(III). En estos compuestos el rutenio bajo condiciones fisiológicas puede encontrarse como Ru(II) (d^6 , diamagnético) y Ru(III) (d^5 , paramagnético), aunque también pueden estar como Ru(IV). En todos los casos el rutenio se encuentra octaédricamente coordinado, son estables al aire gracias a la estabilización aportada por sus ligandos π -aceptores y sufren un proceso de sustitución por un mecanismo disociativo con una cinética parecida a la de las especies de Pt(II). Debido al hecho que los complejos de Ru(II) son más reactivos que sus homólogos de Ru(III), inicialmente se pensó que su mecanismo de acción implicaba la reducción previa del metal.¹⁵

De este tipo de compuestos se han desarrollado un gran número de derivados con fórmula general *trans*-[RuCl₄L₂], de entre los cuales el más destacado por sus prometedoras propiedades fue el complejo KP1019 (L = 1H-indazol) (**Figura 5**), debido a su notable actividad frente a tumores primarios. El complejo KP1019 entró en la fase I de ensayos clínicos en 2004, en los cuales obtuvo resultados prometedores: 5 de cada 6 pacientes evaluados experimentaron estabilización de su enfermedad y el tratamiento sólo iba acompañado de una ligera toxicidad.¹⁶

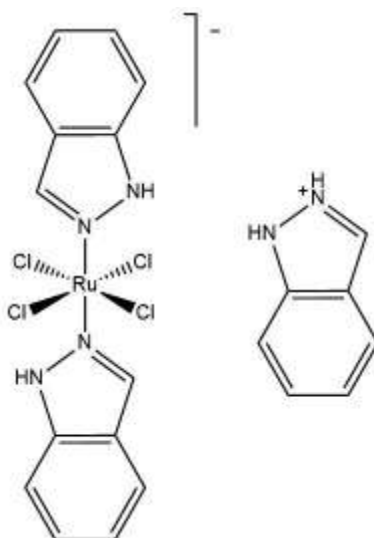


Figura 5. Estructura del complejo KP1019

El desarrollo de este compuesto estuvo acompañado de un extenso estudio sobre su reactividad química y su mecanismo de acción. El KP1019 es lo suficientemente estable en disolución acuosa para poder ser administrado por vía intravenosa, lo que resulta ser un requisito importante para los ensayos clínicos. Al igual que la mayoría de los complejos basados en metales de transición, el KP1019 y sus derivados mostraron una gran afinidad por los centros coordinativos que se encuentran en proteínas y ADN. Se determinó que este compuesto actuaba frente a las células cancerosas por un mecanismo diferente al propuesto para el cisplatino, por lo que es

de suponer, y es muy interesante, que actuaría en aquellas células y estadios de evolución celular en donde el cisplatino es inactivo.¹⁷

El tercer gran grupo de compuestos en donde actualmente se ponen más esperanzas para desarrollar un nuevo fármaco anticancerígeno son los complejos tipo Ru(II)-areno. La geometría de coordinación de este tipo de compuestos se describe como semi-sandwich, pseudo-octaédrica o de silla de pianista. En estos compuestos el ligando areno aporta seis electrones al enlace y satura tres posiciones de coordinación en el metal. Los ligandos areno estabilizan el estado de oxidación +2 del rutenio, dejando tres posiciones de coordinación que pueden ser ocupadas por una gran variedad de ligandos que pueden ser involucrados en una cadena de reacciones sin que por ello cambie el estado de oxidación del metal y se rompa el enlace con el areno. De esta familia de compuestos destacan aquellos publicados por Sadler y Dyson, que muestran una elevada actividad anticancerígena tanto *in vitro* como *in vivo*.¹⁸ De entre este tipo de compuestos destaca el llamado RAPTA-C, $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{PTA})]$, el cual incorpora el ligando PTA (1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano) (**Figura 6**).

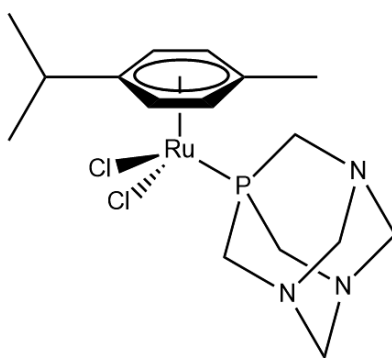


Figura 6. Estructura del complejo RAPTA-C

A partir de este primer compuesto se desarrolló toda una familia de complejos RAPTA de fórmula general $[(\eta^6\text{-areno})\text{RuX}_2(\text{PTA})]$ ($\text{X} = \text{Cl}$ o un quelato dicarboxilado). La activación *in vivo* de los compuestos RAPTA se cree que ocurre por hidrólisis de los ligandos cloruro dependiendo del pH y de la cantidad de cloruros presentes en la disolución.¹⁹ De entre todos los sintetizados destaca el RAPTA-C ya que presenta un incremento de la citotoxicidad.

En general, la presencia del ligando PTA y sus derivados²⁰ (mPTA, dmPTA, HdmoPTA, dmoPTA) (**Figura 7**) confiere a los compuestos que los incorporan una mayor solubilidad en agua. También son responsables de un aumento de la selectividad de estos compuestos frente a líneas celulares tumorales.²¹ De entre ellos, el ligando dmoPTA puede coordinarse por el átomo de fósforo y de forma quelata a través de los átomos $(\text{CH}_3)\text{N}$, coordinándose de una forma *cis* al metal tal y como están los NH_3 en el cisplatino, y por lo tanto emulando su estructura. La posibilidad de coordinarse tanto por el átomo de P como por los de N permite a este ligando hacer de puente entre dos átomos metálicos diferentes dando lugar a complejos

bimetálicos suficientemente estables en donde se combinan en un solo complejo las propiedades antiproliferativas de ambos metales. Más allá de suponer una superposición de actividad de ambos metales, es previsible que se produzca un efecto sinérgico o en tándem entre ellos, siendo por lo tanto diferentes a los conocidos hasta el momento en cuanto a sus propiedades antiproliferativas.

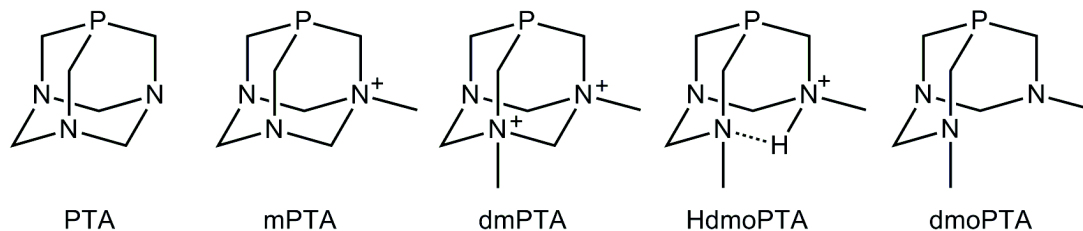


Figura 7. Estructura del ligando PTA y sus derivados

Las posibilidades que ofrece este ligando ha permitido al grupo en donde se ha realizado este trabajo fin de máster diseñar y sintetizar nuevos compuestos de coordinación que combinen los altos valores de actividad anticancerígena asociados a los compuestos Ru(II)-areno con aquellas de otros metales de transición. Todos los miembros de la familia de complejos sintetizados hasta el momento, de fórmula general $[\text{RuCp}(\text{X})(\text{L})(\text{L}')]^{n+}$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{I}; \text{L} = \text{PPh}_3; \text{L}' = \text{PTA}, \text{mPTA}, \text{dmpPTA}, \text{HdmoPTA}, \text{dmoPTA}$), han mostrado una elevada actividad. Los que han presentado hasta el momento una mayor actividad antiproliferativa son el complejo monometálico $[\text{RuCp}(\text{HdmoPTA})(\text{PPh}_3)_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)_2$ ²² y los bimetálicos $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2-\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-MCl}_2)](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ ($\text{M} = \text{Co}, \text{Zn}$),^{23, 24} que presentan actividades superiores en algunos casos en más de 200 veces al cisplatino.

No obstante hasta el momento no ha sido posible sintetizar los complejos en donde se combine el Ru con aquellos metales conocidos con mayor actividad, y en particular el Pt. Debido al alto precio de este metal y a sus propiedades coordinativas se pensó inicialmente sintetizar el complejo equivalente con Pd(II), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2-\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-PdCl}_2)](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ ²⁵ (**A**), que como se ha comentado anteriormente, es el metal que más se asemeja al Pt(II) y, por tanto, el que podría presentar unos valores de actividades antiproliferativas más parecidas al cisplatino sin presentar necesariamente sus desventajas. La síntesis y caracterización de este complejo y el estudio de sus propiedades en disolución constituyó mi Trabajo Fin de Grado.

En este trabajo, sin embargo, y una vez adquiridas las competencias y conocimientos necesarios en mi TFG, se planteó ir más allá y obtener el complejo con Pt(II), puesto que sería el metal del que se espera mayor actividad anticancerígena, pero además el complejo obtenido podría presentar un mecanismo doble de acción: uno para el Ru y otro para el Pt. Esta posibilidad, de confirmarse, haría que el complejo fuera activo en un mayor número de sistemas celulares cancerosos, así como en estadios avanzados de las células en donde los complejos de Pt no son activos.

4. OBJETIVOS

Los objetivos que se plantearon para la consecución del presente Trabajo Fin de Máster fueron los siguientes:

- Intentar coordinar una unidad de Pt(II) a los átomos (CH₃)N del complejo [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)₂]
- Conseguir aumentar la solubilidad de los productos incorporando el ligando PTA al complejo [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)₂].
- En caso de obtener el anterior objetivo, intentar coordinar unidades complejas de Pd(II) y el Pt(II) a los átomos (CH₃)N del complejo.
- Llevar a cabo la caracterización estructural de los complejos sintetizados.
- Caracterizar de forma absoluta tantos compuestos como sean posibles mediante difracción de rayos-X de monocristal.
- Estudiar la actividad antiproliferativa de todos los complejos sintetizados

5. MÉTODOS EXPERIMENTALES

5.1. EQUIPOS Y REACTIVOS

Para la realización de este Trabajo Fin de Máster se han utilizado los equipos e instalaciones del Grupo de Investigación de “Química de Coordinación, Organometálica y Fotoquímica” (FQM-317) del Área de Química Inorgánica del Departamento de Química Física, Bioquímica y Química Inorgánica de la Universidad de Almería, de los Servicios Centrales de Investigación y del Centro de Investigaciones Solares (CIESOL).

Los espectros de infrarrojo realizados se han llevado a cabo en un espectrómetro modelo FT-IR Bruker Vertex 70 y la intensidad de las bandas se ha indicado como: f = fuerte, m = medio, d = débil. Las medidas de análisis elemental se han registrado en un Analizador Elemental de CHNS Elemental Vario Micro. Los espectros de RMN realizados se han registrado con un equipo Bruker Nanobay Avance III HD 300 MHz resonando a 300,13 MHz (^1H), 75,47 MHz (^{13}C) y 121,49 MHz (^{31}P), respectivamente, y un equipo Bruker Avance III HD 500 MHz resonando a 500,13 MHz (^1H), 125,76 MHz (^{13}C) y 202,46 MHz (^{31}P). Los desplazamientos químicos se han expresado en ppm (partes por millón), las constantes de acoplamiento (J) en Hz (Hertzios), y la multiplicidad de las señales de la siguiente manera: singlete (s), doblete (d), triplete (t), m (multiplete) y doble doblete (dd). Todas las figuras de espectros se encuentran en el Anexo 1: Datos espectroscópicos. Las medidas de difracción de rayos-X de monocristal se han realizado en un equipo Bruker APEX-II CCD que usa una radiación K_{α} ($\lambda_{\text{Cu}} = 1.5604 \text{ \AA}$), las estructuras cristalinas han sido resueltas usando el programa SHELX-XT²⁶ y el refinamiento se ha realizado usando el software Olex2²⁷. Los ensayos de actividad biológica han sido realizados por el Dr. José Padrón en el Instituto Universitario de Bio-Orgánica Antonio González, Universidad de La Laguna, Islas Canarias

Todas las reacciones han sido llevadas a cabo en una campana de gases, utilizando la doble línea para trabajo bajo nitrógeno y vacío haciendo uso de las técnicas de Schlenk. Todos los reactivos que se han utilizado en el desarrollo de este trabajo son los siguientes: cloruro de tetrakis (hidroximetil) fosfonio (THPC); NaOH (>99%), Acros Organics; formaldehído (37% en agua), Sharlau; hexametilentetramina (>99%), Sigma Aldrich, Silica (Celite[®]), Sigma-Aldrich; PTA,²⁸ triflato de metilo ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{CF}_3$, >99%), dmPTA,²⁰ triflato de plata (AgSO_3CF_3 , >99%), Sigma Aldrich; tert-butóxido de potasio ($^t\text{BuOK}$, >97%), Sigma Aldrich, $[\text{RuClCp}(\text{PPh}_3)_2]$,²⁹ $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{HdmoPTA})](\text{SO}_3\text{CF}_3)_2$, $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$,²⁵ $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N}'\text{-PdCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (A),²⁵ $[\text{RuClCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})]$,³⁰ tetracloropaladato(II) de tetrabutilamonio (NBu_4)₂[PdCl₄],³¹ tetracloroplatinato(II) de potasio (K_2 [PtCl₄], >99%), Precious Metals; dimetilsulfóxido (DMSO, > 99.7%), Fisher Scientific; tetracloroplatinato(II) de tetrabutilamonio (NBu_4)₂[PtCl₄],³¹ dicloro (1,5- ciclooctadieno) platino(II) [PtCl₂(COD)],³² dicloro (1,5- ciclooctadieno) paladio(II) [PdCl₂(COD)],³¹ [PtCl₂(DMSO)₂].³³

Todos los disolventes orgánicos: THF,³⁴ EtOH,³⁵ MeOH,³⁶ CHCl₃,³⁷ Et₂O,³⁸ CH₂Cl₂,³⁹ DMF,⁴⁰ DMSO,⁴¹ acetona,⁴² n-pentano⁴³ y tolueno⁴⁴ han sido secados siguiendo los métodos descritos en bibliografía; al igual que el agua MilliQ ha sido desoxigenada previamente a ser usada.

5.2. SÍNTESIS

5.2.1. Síntesis de [RuCp(PPh₃)₂-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtCl₂](SO₃CF₃) (1) y [RuCp(PPh₃)₂-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtCl(DMSO-κS)](Cl₂)(2)

Para la síntesis del complejo [RuCp(PPh₃)₂-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtCl₂](SO₃CF₃) (1) se disolvieron 60 mg de [RuCp(PPh₃)₂(dmoPTA-κP)](SO₃CF₃) (0,059 mmol) en 10 mL de MeOH seco. A esta disolución, siempre con agitación, se le añadió gota a gota una disolución de 24,6 mg de K₂[PtCl₄] (0,059) en 200 μL de H₂O y se mantuvo la agitación durante 30 minutos. El precipitado de color amarillo que se formó, se filtró por succión, se lavó con Et₂O (3 x 20 mL) y se secó al aire.

Rendimiento: 40,9 mg (54%). Análisis elemental para C₄₉H₅₁F₃N₃O₃P₃RuS₃PtCl₂ (PM = 1278,98 g·mol⁻¹). Calculado: C 46,01; H 4,02; N 3,29; S 2,51. Encontrado: C 45,92; H 5,42; N 3,14; S 2,39. IR: 3063 (d, C_{Ar}-H), 2922 (d, C-H), 2362 (m, PPh₃), 1434 (m, δ_{as}(C_{Ar}-H)), 1277-1159 (d, SO₃CF₃), 1099-1031 (m, C-N) (**Figura A1.1**). ¹H RMN (300.13 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): 2,02 (6H, s, NCH₃), 2,70-3,23 (6H, m, PCH₂N), 3,6 (4H, m, NCH₂N), 4,88 (5H, s, Cp), 6,95-7,67 (30H, m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.2**). ³¹P{¹H} RMN (121,49 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): -10,35 (dd, ²J_{PP} = 38,78Hz, ²J_{PC} = 45Hz, dmoPTA), 41,84 (d, ²J_{pp} = 39,15Hz, PPh₃) (**Figura A1.3**).

El complejo 2 se sintetizó del mismo modo que el complejo 1, salvo que antes de filtrar el precipitado se añadió gota a gota 40 μL de DMSO (0,532 mmol) y se mantuvo en agitación durante 24 horas. El producto precipitado se filtró por succión, se lavó con Et₂O (3 x 20 mL) y se dejó secar al aire.

Rendimiento: 48 mg (58%). Análisis elemental para C₅₀H₅₇N₃OP₃RuSPtCl₃ (PM = 1243,50 g·mol⁻¹). Calculado: C 48,29; H 4,62; N 3,38; S 2,58. Encontrado: C 48,07; H 4,39; N 3,16; S 2,43. IR: 3087 (d, C_{Ar}-H), 2924 (d, C-H), 2362 (m, PPh₃), 1486 (m, δ_{as}(C_{Ar}-H)), 1100 (m, C-N), 1010 (m, DMSO) (**Figura A1.4**). ¹H RMN (300.13 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ (ppm): 2,26 (6H, s, NCH₃), 2,69-3,26 (6H, m, PCH₂N), 3,58-4,26 (4H, m, NCH₂N), 5,04 (5H, s, Cp), 6,69-7,70 (30H, m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.5**). ³¹P{¹H} RMN (121,49 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ (ppm): -13,86 (dd, ²J_{PP} = 38,78Hz, ²J_{PC} = 44,68Hz, dmoPTA), 39,13 (d, ²J_{pp} = 39,96Hz, PPh₃) (**Figura A1.6**).

5.2.2. Síntesis de [RuCp(PPh₃)(PTA)(dmoPTA-κP)](SO₃CF₃) (3)

A una disolución de 100 mg de [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)(PTA)](SO₃CF₃)₂ (4) (0,095 mmol) en 30 mL de MeOH seco se le añadió 18,62 mg de ^tBuOK (0,166 mmol) bajo agitación. A los 30 minutos la disolución se evaporó a presión reducida hasta sequedad, se disolvió en CHCl₃ y se filtró por gravedad. Se concentró hasta un

cuarto del volumen y se precipitó con 20 mL de Et₂O. El precipitado se filtró y se lavó con Et₂O (3 x 20 mL), secándose al aire.

Obtención de monocristales: se obtuvieron monocristales de **3** adecuados para ser medidos por difracción de rayos-X de monocristal mediante la técnica de difusión de vapores. Para ello se añadieron 2,1 mg de ^tBuOK (0,0189 mmol) a una disolución de 10 mg de [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)(PTA)](SO₃CF₃)₃ (**4**) (0,0095 mmol) en 2 mL de MeOH, la cual se agitó durante 15 minutos y se llevó a un vial colocado dentro de un vaso de precipitado con 20 mL de Et₂O (**Figura 18**), donde, por difusión de vapores se formaron monocristales.

Rendimiento: 37,8 mg (44%). Análisis elemental para C₃₇H₄₈F₃N₆O₃P₃RuS (PM = 907,87 g·mol⁻¹). Calculado: C 48,95; H 5,33; N 9,26; S 3,53. Encontrado: C 48,83; H 5,12; N 8,97; S 3,26. IR: 3084 (d, C_{Ar}-H), 2939 (d, C-H), 1435 (m, δ_{as}(C_{Ar}-H)), 1261-1224 (f, SO₃CF₃), 1156-1090 (m, C-N) (**Figura A1.7**). ¹H RMN (500.13 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): 2,18 (6H, s, NCH₃ (dmoPTA)), 2,48-3,23 (6H, m, PCH₂N (dmoPTA)), 3,33-3,57 (4H, m, NCH₂N (dmoPTA)), 3,99 (6H, m, PCH₂N (PTA)), 4,44 (6H, m, NCH₂N (PTA)), 5,04 (5H, s, Cp), 7,03-7,91 (15H, m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.8**). ¹³C{¹H} RMN (125,76 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): 44,05-44,11 (s + s, NCH₃ (dmoPTA)), 47,62 (m, PCH₂N (dmoPTA)), 58,2 (d, ²J_{PC} = 15,37Hz, NCH₂N (dmoPTA)), 73,02 (s, PCH₂N (PTA)), 75,06 (s, NCH₂N (PTA)), 84,90 ppm (s, Cp), 130,11-134,60 ppm (m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.9**). ³¹P{¹H} RMN (202,46 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): -37,53 (dd, ²J_{pp} = 36,4Hz, PTA), 5,50 (dd, ²J_{pp} = 36,7Hz, dmoPTA), 50,04 (dd, ²J_{pp} = 34,7Hz, PPh₃) (**Figura A1.10**).

5.2.3. Síntesis de [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)(PTA)](SO₃CF₃)₂ (**4**)

A una disolución de 500 mg de [RuClCp(PPh₃)(PTA)] (0,86 mmol) en 90 mL de MeOH seco se le añadió gota a gota una disolución de 213,26 mg de AgSO₃CF₃ (0,83 mmol) en 30 mL de H₂O y protegido de la luz se agitó durante 30 minutos. El precipitado blanco formado se filtró bajo atmósfera inerte a través de una placa con 5 cm de celita, la cual se lavó con MeOH seco (2 x 20 mL). En las aguas de filtrado obtenidas se disolvieron 575,94 mg de dmPTA (1,11 mmol) y la disolución se calentó a 50°C durante 1 hora. La disolución resultante se enfrió a temperatura ambiente, se evaporó a presión reducida hasta enturbiamiento, momento en el que se dejó cristalizar al aire.

Rendimiento: 737,62 mg (81%). Análisis elemental para C₃₈H₄₉F₆N₆O₆P₃RuS₂ (PM = 1057,95 g·mol⁻¹). Calculado: C 38,78; H 4,17; N 6,96; S 7,96. Encontrado: C 38,63; H 3,98; N 6,72; S 7,69. IR: 3106 (d, C_{Ar}-H), 1432 (m, δ_{as}(C_{Ar}-H)), 1251-1193 (f, SO₃CF₃), 1104-1019 (m, C-N) (**Figura A1.15**). ¹H RMN (300.13 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): 2,46 (6H, d, NCH₃ (dmoPTA)), 2,91-3,18 (6H, m, PCH₂N (dmoPTA)), 3,38-3,71 (4H, m, NCH₂N (dmoPTA)), 3,83-4,14 (6H, m, PCH₂N (PTA)), 4,34 (6H, m, NCH₂N (PTA)), 5,31 (5H, s, Cp), 7,14-7,80 (15H, m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.16**). ³¹P{¹H} RMN (121,49 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): -26,42 (dd, ²J_{pp} = 36,22Hz, ²J_{PC} = 38,21Hz, PTA), -4,67 (dd, ²J_{pp} = 35,22Hz,

$^2J_{PC} = 38,96\text{Hz}$, dmoPTA), 45,98 (dd, $^2J_{PP} = 35,04\text{Hz}$, $^2J_{PC} = 38,97\text{Hz}$, PPh₃) (**Figura A1.17**).

5.2.4. Síntesis de [RuCp(PPh₃)(PTA)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PdCl₂](SO₃CF₃) (6), [RuCp(PPh₃)(PTA)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtCl₂](SO₃CF₃) (7) y [RuCp(PPh₃)(PTA)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-Pt(COD)](SO₃CF₃)(Cl)₂ (8)

Los complejos **6**, **7** y **8**, se sintetizaron por reacción de una disolución de 100 mg de [RuCp(HdmoPTA)(PPh₃)(PTA)](SO₃CF₃)₂ (**4**) (0,095 mmol) en 35 mL de MeOH seco con 21,32 mg de ^tBuOK (0,19 mmol). La disolución se agitó durante 30 minutos, transcurridos los cuales se añadieron 69,6 mg de (NBu₄)₂[PdCl₄] (0,095 mmol), 77,9 mg de (NBu₄)₂[PtCl₄] (0,095 mmol) y 35,5 mg de [PtCl₂(COD)] (0,095 mmol), agitándose durante otros 30 minutos. El precipitado formado se filtró por succión, se lavó con Et₂O (3 x 20 mL) y se dejó secar al aire.

6. Rendimiento: 45,2 mg (44%). Análisis elemental para C₃₇H₄₈F₃N₆O₃P₃RuSPdCl₂ (PM = 1085,19 g·mol⁻¹). Calculado: C 40,95; H 4,46; N 7,74; S 2,95. Encontrado: C 40,73; H 4,22; N 7,45; S 2,64. IR: 3079 (d, C_{Ar}-H), 2962 (d, C-H), 1435-1384 (m, δ_{as(CAr-H)}}), 1258 (f, SO₃CF₃), 1160-1031 (m, C-N) (**Figura A1.18**). ¹H RMN (300.13 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ (ppm): 2,09 (6H, s, NCH₃ (dmoPTA)), 2,73 (6H, m, PCH₂N (dmoPTA)), 3,13-3,22 (4H, m, NCH₂N (dmoPTA)), 3,86 (6H, m, PCH₂N (PTA)), 4,36 (6H, m, NCH₂N (PTA)), 5,29 (5H, s, Cp), 7,15-7,76 (15H, m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.19**). ³¹P{¹H} RMN (121,49 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ (ppm): -39,44 (dd, $^2J_{pp} = 36,63\text{Hz}$, PTA), -2,29 (dd, $^2J_{pp} = 35,91\text{Hz}$, dmoPTA), 48,04-50,65 (dd, PPh₃) (**Figura A1.20**).

7. Rendimiento: 56 mg (50%). Análisis elemental para C₃₇H₄₈F₃N₆O₃P₃RuSPtCl₂ (PM = 1173,85 g·mol⁻¹). Calculado: C 37,86; H 4,12; N 7,16; S 2,73. Encontrado: C 37,49; H 3,98; N 6,84; S 2,51. IR: 3109 (d, C_{Ar}-H), 2971 (d, C-H), 1478 (m, δ_{as(CAr-H)}}), 1251 (f, SO₃CF₃), 1159-1023 (m, C-N) (**Figura A1.21**). ¹H RMN (500.13 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ (ppm): 2,10 (6H, s, NCH₃ (dmoPTA)), 2,71 (6H, m, PCH₂N (dmoPTA)), 2,99 (4H, m, NCH₂N (dmoPTA)), 3,87 (6H, m, PCH₂N (PTA)), 4,33 (6H, m, NCH₂N (PTA)), 5,06 (5H, s, Cp), 7,13-7,73 (15H, m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.22**). ³¹P{¹H} RMN (202,46 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ (ppm): -37,54 (dd, $^2J_{pp} = 36,58\text{Hz}$, PTA), 7,91 (dd, $^2J_{pp} = 36,69\text{Hz}$, dmoPTA), 51,98 (dd, $^2J_{pp} = 34,91\text{Hz}$, PPh₃) (**Figura A1.23**).

8. Rendimiento: 90,2 mg (74%). Análisis elemental para C₄₅H₆₀F₃N₆O₃P₃RuSPtCl₂ (PM = 1282,03 g·mol⁻¹). Calculado: C 42,16; H 4,72; N 6,56; S 2,50. Encontrado: C 41,92; H 4,49; N 6,27; S 2,31. IR: 3063 (d, C_{Ar}-H), 2967 (d, C-H), 1486 (m, δ_{as(CAr-H)}}), 1264 (f, SO₃CF₃), 1163-1027 (m, C-N) (**Figura A1.24**). ¹H RMN (500.13 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): 2,16 (6H, s, NCH₃

(*dmoPTA*), 2,55 (8H, m, COD), 2,95-3,10 (6H, m, PCH₂N (*dmoPTA*)), 3,24-3,35 (4H, m, NCH₂N (*dmoPTA*)), 3,83-4,12 (6H, m, PCH₂N (*PTA*)), 4,45 (6H, m, NCH₂N (*PTA*)), 5,24 (5H, s, Cp), 5,56 (4H, m, COD), 7,20-7,79 (15H, m, aromáticos, PPh₃) (**Figura A1.25**). ³¹P{¹H} RMN (202,46 MHz, MeOD-d₄, 25°C) δ (ppm): -40,38 (dd, ²J_{pp} = 31,72Hz, *PTA*), -3,62 (dd, ²J_{pp} = 33,61Hz, *dmoPTA*), 46,69 (dd, ²J_{pp} = 37Hz, PPh₃) (**Figura A1.26**).

5. 3. Estructura cristalina de [RuCp(PPh₃)(*PTA*)(*dmoPTA-κP*)](SO₃CF₃) (3).

Los monocristales obtenidos de **3** fueron de la calidad suficiente para la determinación de su estructura cristalina (**Figura 8**) por difracción de rayos-X de monocristal. Los datos cristalográficos y de refinamiento (**Tabla A2.1**), las distancias de enlace (**Tabla A2.2**) y los ángulos de enlace (**Tabla A2.3**) se encuentran en el Anexo 2.

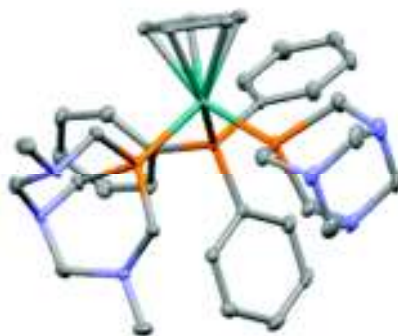


Figura 8. Estructura cristalina de **3** (los hidrógenos, el contraión y el disolvente se han eliminado por claridad).

5. 4. Protonación de [RuCp(H*dmoPTA*)(PPh₃)(*PTA*)](SO₃CF₃)₂ (4): formación de [RuCp(H*dmoPTA*)(H*PTA*)(PPh₃)] (SO₃CF₃)₃ (5) como monocristales.

Se protonaron con 2 equivalentes de HSO₃CF₃ (0.19 mmol) 10 mg de **4** (0.095 mmol) previamente disueltos en 0.5 mL de D₂O un tubo de RMN de 0.5 mm. Mediante ³¹P{¹H} NMR se observó como la señal correspondiente al H*dmoPTA* prácticamente no variaba mientras aquella debida a H*PTA* se desplaza a campo alto, contrariamente a lo observado hasta el momento cuando el *PTA* se protona. En el tubo de RMN se formaron cristales adecuados para su determinación por difracción de rayos-X de monocristal.

La resolución de la estructura cristalina confirmó que se ha formado un nuevo complejo en donde los ligandos *PTA* y *dmoPTA* están protonados (**5**) (**Figura 9**). Los datos cristalográficos y de refinamiento (**Tabla A2.4**), las distancias de enlace (**Tabla A2.5**) y los ángulos de enlace (**Tabla A2.6**) se encuentran en el Anexo 2.

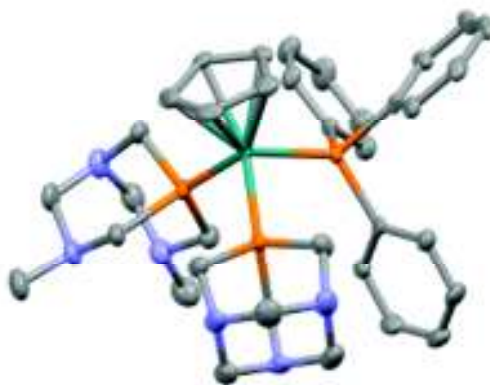


Figura 9. Estructura cristalina de **5** (los hidrógenos, las moléculas de contraíón y el disolvente se han eliminado de la estructura por claridad)

5.5. REACTIVIDAD FRENTE A AIRE (OXÍGENO) Y NITRÓGENO de $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2-\mu\text{-dmoPTA-1}\kappa\text{P:2}\kappa^2\text{N,N}^2\text{-Pt}(\text{Cl})(\text{DMSO-}\kappa\text{S})](\text{Cl}_2)$ (**2**).

Los distintos ensayos de reactividad se han llevado a cabo en DMSO-d_6 y una mezcla 50:50 $\text{DMSO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$. Cada ensayo se ha realizado tanto en atmósfera de N_2 como bajo atmósfera de aire.

* En un tubo de RMN de 5 mm se disolvieron 10 mg de **2** (0,006 mmol) en 0,5 mL de DMSO-d_6 bajo atmósfera de N_2 y se estudió la evolución de la reacción mediante $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR.

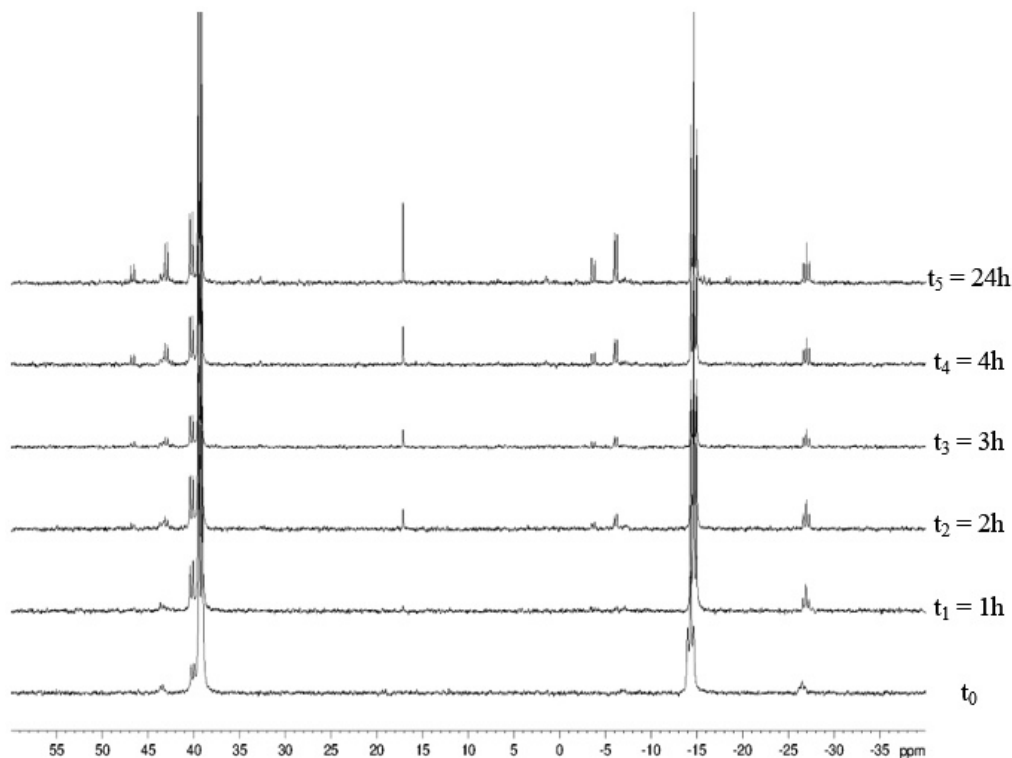


Figura 10. $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR de **2** en DMSO-d_6 bajo atmósfera de N_2 .

* Igual bajo aire:

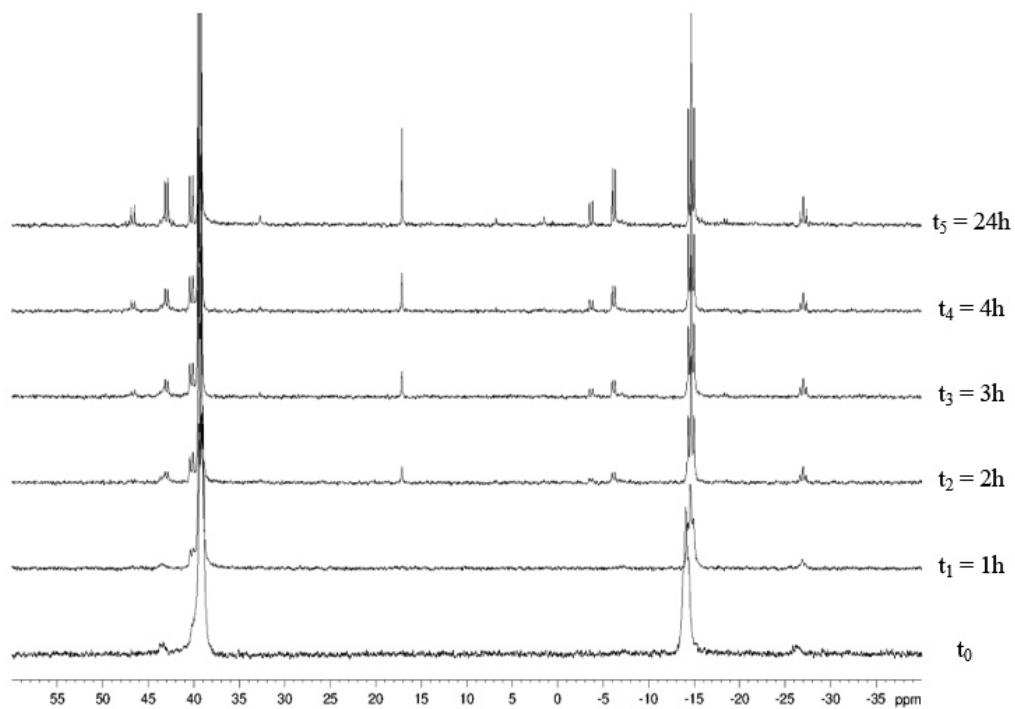


Figura 11. $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR de 2 en DMSO-d_6 bajo aire.

* Igual en una mezcla 50:50 $\text{DMSO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$ bajo N_2 :

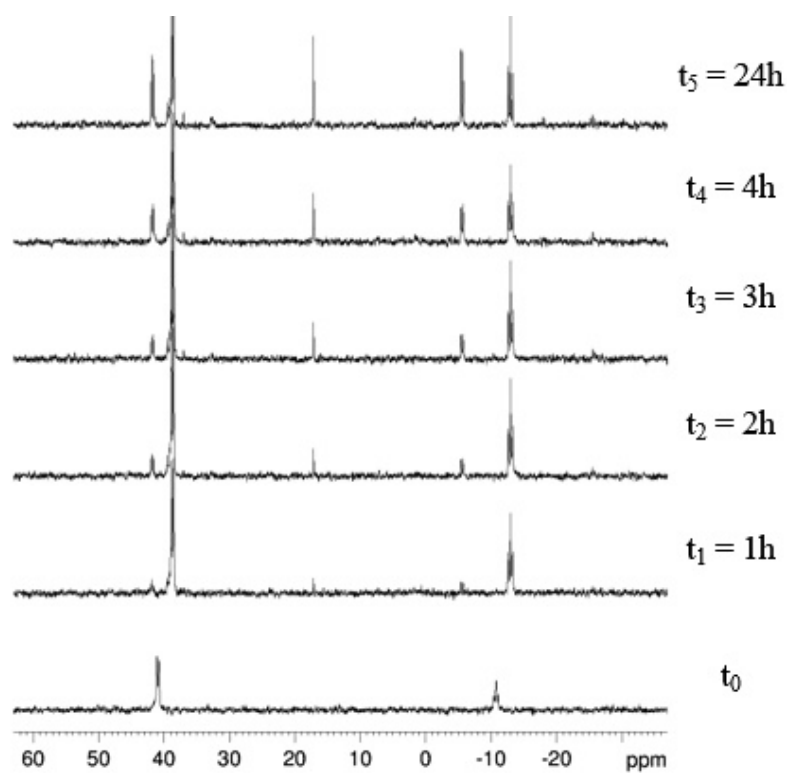


Figura 12. $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR de 2 en $\text{DMSO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$ bajo N_2 .

* En una mezcla 50:50 $\text{DMSO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$ bajo aire:

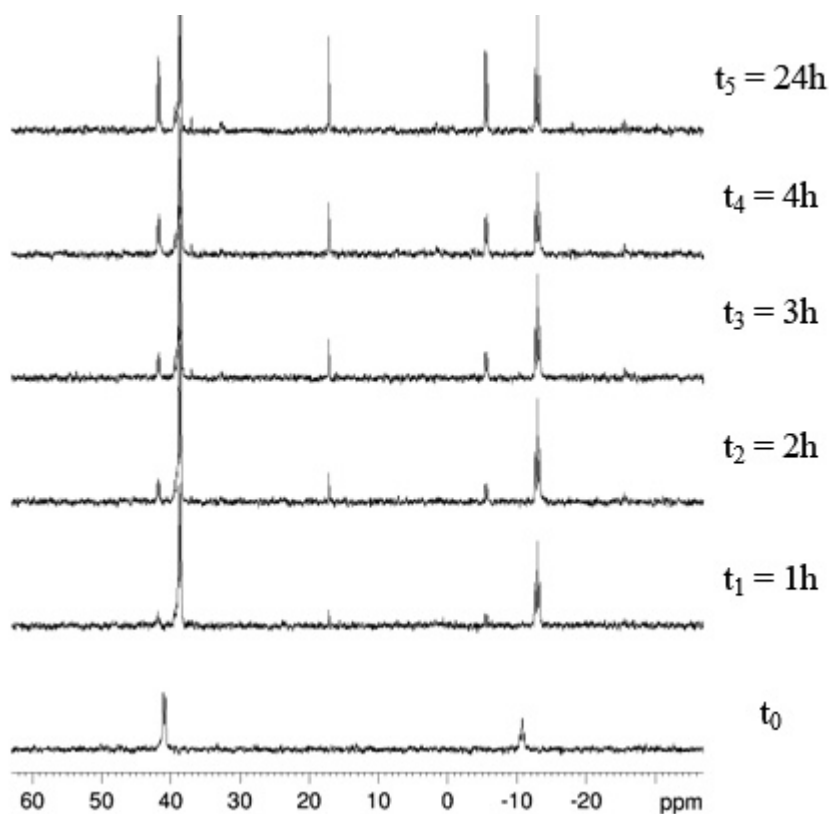


Figura 13. $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR de **2** en $\text{DMSO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$ bajo aire.

5.6. ENSAYOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En estos ensayos se utilizaron las líneas de células tumorales sólidas humanas A549, HBL-100, HeLa, SW1573, T-47D y WiDr. Las células se mantuvieron en matraces de cultivo de 25cm^2 en RPMI 1640 complementadas con un 5% de suero de ternera fetal inactivado por calor y 2 mM de L-glutamina en una incubadora de aire a 37°C , al 5% CO_2 , 95% humidificada. Las células en crecimiento exponencial fueron tripsinizadas y resuspendidas en un medio que contiene antibióticos (100 unidades de penicilina G y 0,1 mg/mL de estreptomina). Posteriormente se separaron las suspensiones de una sola célula que mostraban una viabilidad del 97% por exclusión con el colorante azul Trypan. Después de contar, se hicieron diluciones para dar las densidades de células apropiadas para la inoculación en placas de microtitulación de 96 pocillos. Se inocularon las células en un volumen de 100 μL por pozo a densidades de 2500 células por pozo (A549, HBL-100 y HeLa) y 5000 células por pozo (SW1573, T-47D y WiDr), en función de sus tiempos de duplicación. Los compuestos fueron inicialmente disueltos en DMSO a 400 veces la concentración máxima deseada para el ensayo final. Las células de control fueron expuestas a una concentración equivalente de DMSO (0.25% v/v, control negativo). Cada compuesto se probó por triplicado en diferentes diluciones en el rango de 1-100 μm . El tratamiento del compuesto se inició un día después del crecimiento celular. Los tiempos de incubación fueron 48 horas, después de ese tiempo, las células se precipitaron con 25 μL de TCA enfriado con hielo (50% p/v) y se fijaron durante 1

hora a 4°C. Después se realizó el ensayo SRB. La densidad óptica (OD) de cada pozo fue medida a 530 nm, utilizando un lector de absorbancia de microplaca PowerWave XS de BioTek. Los valores fueron corregidos para valores de OD de fondo que sólo contenían medio celular.

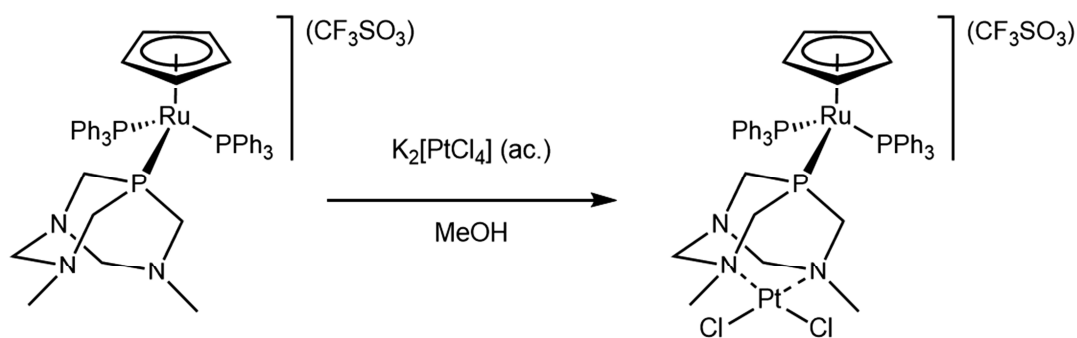
| Compuesto | Línea celular | | | | | |
|------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------------|
| | A549 (Pulmón) | HBL-100 (Mama) | HeLa (Cérvix) | SW1573 (Pulmón) | T-47D (Mama) | WiDr (Colon) |
| 1 | 1.3 (±0.12) | 0.93 (±0.12) | 0.08 (±0.014) | 0.34 (±0.04) | 2.2 (±0.29) | 1.4 (±0.2) |
| 2 | 0.28 (±0.026) | 0.25 (±0.052) | 0.03 (±0.0034) | 0.028 (±0.012) | 0.32 (±0.024) | 0.38 (±0.071) |
| 3 | > 100 | > 100 | 86 (±19) | 61 (±6.7) | > 100 | > 100 |
| 6 | > 100 | > 100 | 53 (±4.1) | 48 (±1) | > 100 | > 100 |
| 7 | > 100 | > 100 | > 100 | > 100 | > 100 | > 100 |
| 8 | 31 (±1.3) | > 100 | 97 (±4.4) | 33 (±2.9) | > 100 | 61 (±2.8) |
| Cisplatino | 4.9 (±0.2) | 1.9 (±0.2) | 1.8 (±0.5) | 2.7 (±0.4) | 17 (±3.3) | 23 (±4.3) |

Tabla 1. Valores de GI₅₀ en µM (±SD) para líneas de células tumorales sólidas humanas de algunos de los complejos sintetizados, comparados con el cisplatino.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de llevar a cabo el primer objetivo propuesto para este trabajo, se estudió la forma de coordinar la unidad compleja $\{\text{PtCl}_2\}$ a $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$. Para ello, inicialmente se realizaron numerosas pruebas mediante la reacción entre el compuesto de partida y el complejo $[\text{PtCl}_2(\text{COD})]$. La elección de este complejo se debe a sus propiedades: se solubiliza en los mismos disolventes del complejo de partida y su ligando COD es un ligando más lábil que los cloruros. Con el fin de aprovechar esas propiedades se llevaron a cabo diversas pruebas variando los equivalentes molares de $[\text{PtCl}_2(\text{COD})]$, el disolvente y la temperatura. Sin embargo, en ningún caso se consiguió aislar el complejo buscado del gran número de productos formados.

Se consideró que la formación de este gran número de productos podría ser consecuencia del impedimento estérico producido por el ligando COD que impedía una reacción directa con un complejo voluminoso como el de rutenio de partida. Por lo tanto, se consideró que era necesario cambiar la estrategia utilizando un complejo de Pt(II) con ligandos más pequeños. Aunque el complejo $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ presenta solubilidad diferente al complejo de partida, se consideró que podría ser una buena alternativa. La reacción realizada en una mezcla MeOH/ H_2O entre $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ y $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ llevó a un precipitado de color amarillo que se caracterizó como el complejo **1** (**Esquema 1**) por análisis elemental, IR y RMN.



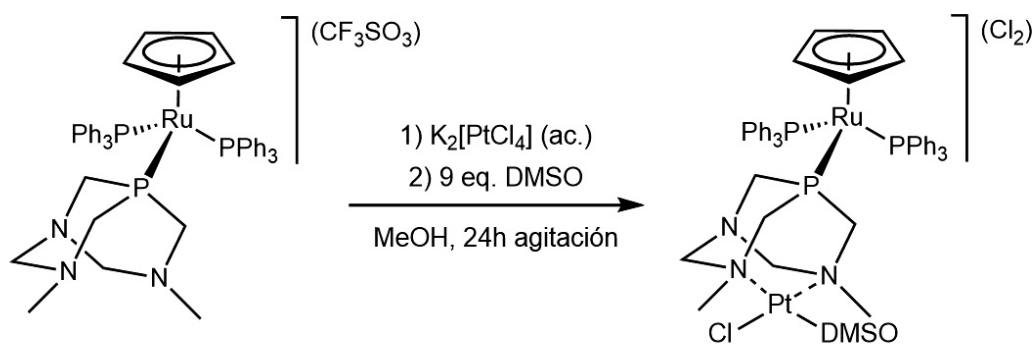
Esquema 1. Reacción para la síntesis de **1**

Mediante RMN se confirmó la formación del producto de coordinación: el primer indicio vino del espectro $^{31}\text{P}\{\text{H}\}$ (MeOD-d_4) en donde sólo se observan dos señales: un doblete a -10.35 ppm que corresponde al P del ligando dmoPTA y un doblete a 41.84 ppm característico de los fósforos de los grupos magnéticamente equivalentes PPh_3 (**Figura A1.3**) que tienen desplazamiento químico diferente con respecto al complejo de partida $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$: el ligando dmoPTA en **1** se desplaza hacia campo alto. En el espectro ^1H (MeOD-d_4) se observa un singlete a 2.02 ppm que integra por 6H, debido los $\text{CH}_3\text{N-dmoPTA}$ y cuyo desplazamiento químico corrobora la coordinación del átomo de Pt(II) entre dichos

nitrógenos desplazándose también hacia campo más alto en relación al complejo de partida (**Figura A1.2**). En el espectro IR de **1** se observa una banda de intensidad fuerte entre 1277-1159 cm^{-1} que corresponde a los grupos SO_3CF_3 que actúan de contraión (**Figura A1.1**), confirmando que la carga del complejo resultante no era neutra.

La solubilidad de **1** en MeOH, CHCl_3 , acetona y H_2O resultó ser muy baja. Fue durante las pruebas de solubilidad que, usando DMSO, se apreció la formación de otra especie que resultó ser más soluble que **1** en ese disolvente. El desplazamiento químico de las señales en el espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN, junto con las señales del infrarrojo hizo suponer que el complejo que se había formado correspondía a un nuevo complejo en donde un Cl coordinado al Pt se había substituido por un DMSO. Desafortunadamente, a falta de una estructura cristalina resultaba imposible caracterizar completamente el complejo. Por lo tanto, se hizo reaccionar el complejo de partida $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ con el complejo de platino $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]^{33}$, ya que incorpora el ligando DMSO.

Entre los productos que se obtuvieron de esta reacción, el mayoritario correspondía al producto obtenido disolviendo **1** en DMSO. Sin embargo, no se pudo aislar debido a la presencia de productos secundarios de la reacción que no fueron posible eliminar. Ello nos empujó a cambiar el método de síntesis: se procedió con el mismo protocolo usado para sintetizar **1** pero añadiendo DMSO (9 equivalentes) al medio de reacción. De esta forma se llegó a obtener y aislar el complejo **2** (**Esquema 2**).

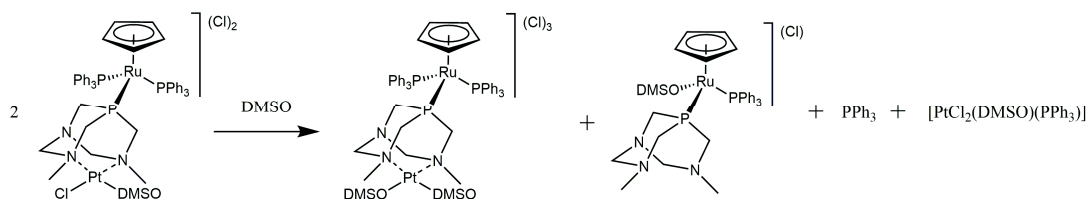


Esquema 2. Reacción para la síntesis de **2**

En el espectro de IR de **2** se observa sobre unos 1110 cm^{-1} una banda fuerte que corresponde al grupo $\text{S}=\text{O}$ (**Figura A1.4**), lo que confirmó su presencia en la composición del complejo. Los experimentos de RMN realizados apoyaron la estructura propuesta para el complejo, que es bastante parecida a la del complejo **1** salvo por la ausencia de aniones triflato actuando como contraión, ya que en este caso serían dos aniones cloruro, y por la presencia del grupo DMSO previsiblemente coordinado al átomo de platino. En el espectro ^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) se observa un

singlete a 2.26 ppm que integra por 6H y corresponde a los protones de los dos grupos metilo del ligando dmoPTA y cuyo desplazamiento químico corrobora la coordinación de un metal a los (CH₃)N (**Figura A1.5**). En su espectro ³¹P{¹H} RMN (DMSO-d₆) solamente aparecen dos señales al igual que para el compuesto **1**: a -13.89 ppm un doblete de dobletes debido al P del ligando dmoPTA con el desplazamiento químico esperado para la coordinación del Pt, y a 39.13 ppm un doblete correspondiente a los dos grupos PPh₃ (**Figura A1.6**).

Vista la escasa solubilidad de **2** MeOH, CHCl₃, acetona y H₂O, se tuvo que realizar su caracterización por RMN en DMSO-d₆. Durante estos estudios se observó que el complejo se descomponía con el tiempo a temperatura ambiente. El proceso se estudió en DMSO-d₆ y en DMSO-d₆/D₂O (1:1) bajo aire y atmosfera inerte (Apartado 5.5.1), siguiéndose el curso de la reacción mediante ³¹P{¹H} RMN. En el ensayo realizado en DMSO-d₆ (**Figura 10**) se observa como al cabo de una hora las señales debidas a **2** empiezan a disminuir de intensidad, acompañadas por la aparición de PPh₃ libre (17.2 ppm) y de otras dos señales (43.12 ppm, d; δ-26.8 ppm, dd) que, debido a sus multiplicidades y desplazamientos químicos podrían corresponder al complejo [RuCp(PPh₃)₂-μ-dmoPTA-1κP:2κN'-Pt(DMSO-κS)₂](Cl)₃. Pasadas tres horas de reacción (**Esquema 3**) se observa que la intensidad de la señal correspondiente a PPh₃ ha aumentado y han aparecido otros dos conjuntos de señales, un singlete a 46.8 ppm y un doblete a -3.5 ppm, que podría corresponder al complejo [RuCp(DMSO-κS)(PPh₃)(dmoPTA-κP)](Cl). La posición libre que deja la PPh₃ saliente la ocupa previsiblemente una molécula de DMSO, el disolvente, lo que daría lugar a una configuración de ligandos que presentaría una multiplicidad en RMN tal y como la observada, y que corresponde con el complejo [RuCp(DMSO-κS)(PPh₃)(dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-Pt(DMSO-κS)₂)](Cl)₃. La evolución de las señales se detuvo a las 24 horas.



Esquema 3. Prueba de reactividad de **2** en DMSO-d₆

Las disoluciones resultantes de estos ensayos se vertieron en viales con objeto de obtener algún cristal que nos permitiera identificar con certeza los productos formados mediante difracción de rayos X de monocristal. Los cristales obtenidos en algunos de los viales resultaron ser del complejo [PtCl₂(DMSO)(PPh₃)] que ya estaba descrito en bibliografía como un complejo con una elevada actividad antiproliferativa.⁴⁵ Los datos cristalográficos y de refinamiento (**Tabla A2.7**), las distancias de enlace (**Tabla A2.8**) y los ángulos de enlace seleccionados (**Tabla A2.9**) se encuentran en el Anexo 2.

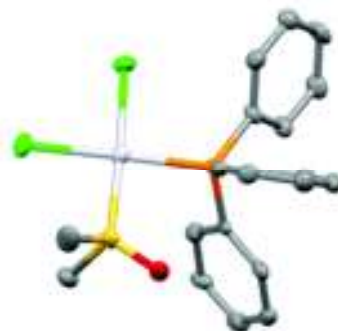
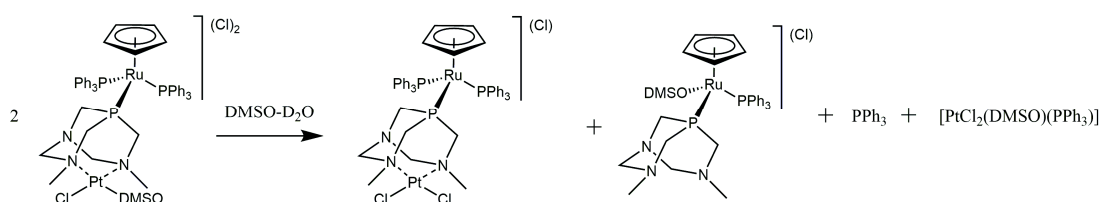


Figura 14. Estructura cristalina de $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})(\text{PPh}_3)]$ (los hidrógenos se han eliminado por claridad)

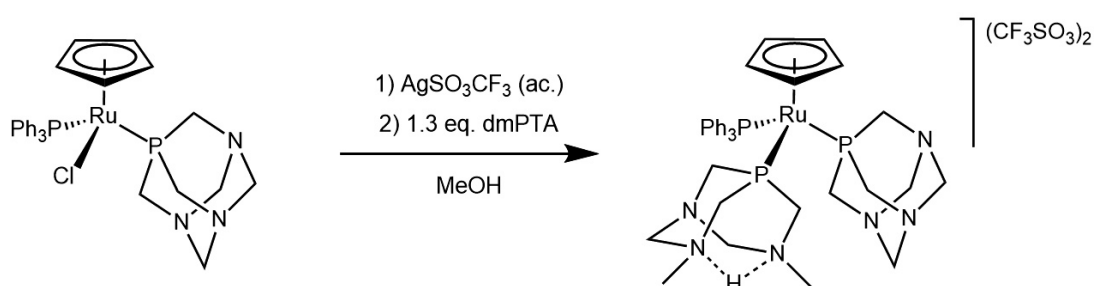
Este resultado apoyaba nuestra idea de que los complejos diméricos que habíamos obtenido al descomponerse podrían generar un complejo de Ru y otro de Pt, ambos con actividad antiproliferativa. Cabe destacar que los estudios de reactividad en DMSO-d_6 llevaron a los mismos resultados tanto en atmósfera de aire como bajo nitrógeno (**Figura 10** y **Figura 11**).

Las disoluciones del complejo **2** en una mezcla (1:1) $\text{DMSO-d}_6/\text{D}_2\text{O}$ bajo nitrógeno y aire evolucionaron de forma similar dando lugar a los mismos productos (**Figuras 12** y **13**). En este ensayo a tiempo 0 se observó que el producto formado en la mezcla de disolventes aparecía a unos desplazamientos químicos distintos (41.0 ppm, d; -10.7 ppm, dd) a aquellos del producto formado en DMSO, sin embargo al cabo de una hora empieza a aparecer la señal característica de la PPh_3 libre a 17.2 ppm y se produce el desplazamiento de las señales del producto inicialmente formado (38.7 ppm, d; -12.9 ppm, dd) hasta aquellas observadas para el producto **1**. En ese momento de la reacción también se observan señales de poca intensidad de compuestos que se están formando, que debido a sus multiplicidades y desplazamientos químicos (41.8 ppm, d; -5.5 ppm, d) sugieren que el complejo **2** en esta mezcla de disolventes también se descompone dando lugar a $[\text{RuCp}(\text{DMSO-}\kappa\text{S})(\text{PPh}_3)(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{Cl})$. A partir de las 2 horas (**Esquema 4**), la evolución del sistema produjo sólo el aumento de la intensidad de las señales correspondientes a las especies producto de la descomposición mientras que las señales asociadas al producto **2** disminuían ligeramente su intensidad (**Figuras 12** y **13**). De la misma manera que para el ensayo en DMSO-d_6 , de estas reacciones también se obtuvieron monocristales de $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})(\text{PPh}_3)]$.



Esquema 4. Prueba de reactividad de **2** en $\text{DMSO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$

Como segundo objetivo de este trabajo se propuso aumentar la solubilidad en agua de esta familia de complejos, y para conseguirlo se substituyó una de las PPh₃ por un PTA, dado que esta fosfina es soluble tanto en disolventes orgánicos como en agua y como es habitual le transferirá estas propiedades al complejo del que forme parte. Adicionalmente también podría aportar un aumento en la actividad anticancerígena, como se ha observado en compuestos que han estado cerca de entrar en ensayos clínicos en investigaciones anteriores (RAPTA-C). Partiendo del complejo [RuClCp(PPh₃)(PTA)], se genera una posición de coordinación libre por reacción con AgOTf, lo que facilita la incorporación de una molécula de dmPTA que una vez coordinada, evoluciona al ligando HdmPTA (Apartado 5.2.3) para dar lugar al complejo **4** (Esquema 5).



Esquema 5. Reacción para la síntesis de **4**

En el espectro de IR de **4** cabe destacar una banda fuerte correspondiente a los grupos SO₃CF₃ (**Figura A1.15**). Los experimentos de RMN realizaron confirmaron la estructura propuesta para el complejo **4**. En el espectro ¹H RMN (MeOD-d₄) se observa un singlete a 2.46 ppm que integra por 6H y corresponde a los protones de los dos grupos metilo del ligando HdmPTA, y también se observan las señales debidas a los protones del ligando PTA: varios multipletes entre 3,83-4,14 ppm (6H, PCH₂N), y 4,34 ppm (6H, NCH₂N) que confirman la incorporación del PTA al complejo de partida (**Figura A1.16**). En el espectro ³¹P{¹H} RMN (MeOD-d₄) solamente aparecen tres señales, como era de esperar, como dobletes de doblete: la señal a -26.42 ppm correspondiente al P del ligando PTA, a -4.67 ppm correspondiente al P del ligando HdmPTA, y a 45.98 ppm la correspondiente al fósforo del ligando PPh₃ (**Figura A1.17**).

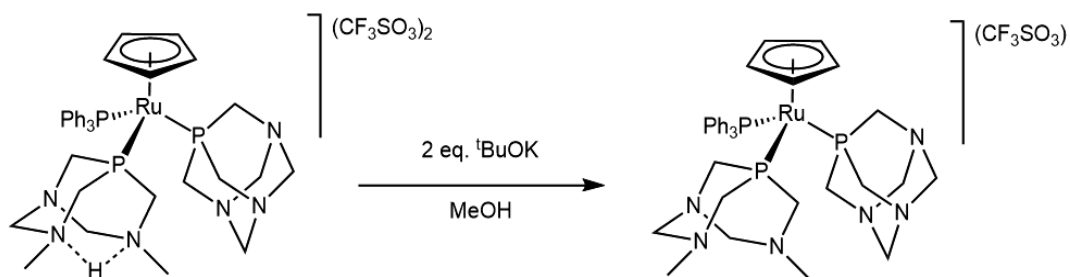
La caracterización absoluta del complejo se pudo obtener mediante resolución de su estructura cristalina mediante difracción de rayos X de monocristal. A pesar de las numerosas y diversas pruebas de cristalización modificando temperatura, disolventes y técnicas de cristalización, no se consiguió obtener monocristales de **4**. Una de las alternativas que se probaron fue protonar completamente las fosfinas mediante protonación de **4** con HSO₃CF₃ y, con la esperanza que la nueva sal generada cristalizara. Esto condujo a la obtención de monocristales de buena calidad. La estructura cristalina reveló que el producto obtenido era el esperado (Apartado 5.4) el

producto de la protonación de **4**, $[\text{RuCp}(\text{HdmoPTA})(\text{HPTA})(\text{PPh}_3)](\text{SO}_3\text{CF}_3)_3$ (**5**) (**Figura 9**).

Observando la estructura cristalina de **5** se puede observar que la esfera de coordinación del Ru muestra una geometría de “silla de pianista”, que confirma la estructura esperada del complejo, formada por un anillo de ciclopentadieno (Cp), un grupo PPh_3 , un ligando HPTA coordinado por el P y un ligando HdmoPTA coordinado por el P. Las distancias de enlace $\text{Ru-P1}_{\text{HdmoPTA}}$, $\text{Ru-P2}_{\text{HPTA}}$ y $\text{Ru-P3}_{\text{PPh}_3}$ son 2.2819(15) Å, 2.2833(14) Å y 2.3440(13) Å, respectivamente. Otro dato importante que la resolución de la estructura ha proporcionado es la distancia entre ambos nitrógenos en el ligando HdmoPTA, que es 2.682(9) Å. Además, de la estructura se pueden determinar también los ángulos de enlace entre los fósforos de los ligandos y el Ru, donde el ángulo $\text{P1}_{\text{HdmoPTA}}\text{-Ru-P2}_{\text{HPTA}}$ es de $95.63(5)^\circ$, el $\text{P1}_{\text{HdmoPTA}}\text{-Ru-P3}_{\text{PPh}_3}$ es de $97.07(5)^\circ$ y el $\text{P2}_{\text{HPTA}}\text{-Ru-P3}_{\text{PPh}_3}$ es de $97.15(5)^\circ$. Todos estos datos concuerdan con los datos observados en los complejos predecesores sintetizados por el grupo.²³

Para confirmar que el complejo **5** mantiene la misma estructura en disolución, ésta se evaporó hasta sequedad y fue disuelta en MeOD-d_4 , comprobándose por $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN que la señal correspondiente al ligando HPTA se encontraba desplazada hacia campo más alto. Este desplazamiento es inusual ya que consultando en literatura siempre que esta fosfina se protona su señal se desplaza hacia campo más bajo. Se piensa que la causa que explica este cambio en el desplazamiento se deba a la formación de un enlace de hidrógeno con el ligando HdmoPTA.

Una vez sintetizado y caracterizado el complejo **4**, el siguiente paso fue desprotonar el ligando HdmoPTA en dicho complejo para, de la misma forma que se hizo en compuestos **1** y **2**, conseguir lograr el objetivo de coordinar Pd(II) y Pt(II) en la posición de coordinación que deja el protón eliminado, y así posiblemente incrementar sus propiedades anticancerígenas y citotóxicas. El complejo desprotonado **3** se obtuvo por reacción de **4** con $^t\text{BuOK}$ (**Esquema 6**) y fue caracterizado mediante análisis elemental, IR y RMN.



Esquema 6. Reacción para la síntesis de **3**

En el espectro de IR de **3** destaca entre $1261\text{-}1224\text{ cm}^{-1}$ una banda fuerte correspondiente a los grupos SO_3CF_3 (**Figura A1.7**). Los experimentos de RMN que se realizaron pusieron de manifiesto la estructura propuesta para el complejo **3**, que

es prácticamente idéntica a la del complejo **4** debido a que sus estructuras solamente se diferencian en la posición de coordinación libre que soporta el ligando dmoPTA en el complejo **3** y en el número de moléculas de triflatos como contraión. En el espectro ^1H RMN (MeOD- d_4) se observa un singlete a 2.18 ppm que integra por 6H y corresponde a los protones de los dos grupos metilo del ligando HdmoPTA mientras que los protones correspondientes al ligando PTA se encuentran como multipletes a dos desplazamientos químicos distintos: 3,99 ppm (6H, PCH₂N) y 4,44 ppm (6H, NCH₂N) (**Figura A1.8**). En su espectro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ RMN (MeOD- d_4) se observan las bandas características de los grupos que conforman la estructura como la señal correspondiente al ligando Cp que aparece a 84.90 ppm (**Figura A1.9**). Cabe destacar como en su espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (MeOD- d_4) aparecen las tres mismas señales que para el compuesto **4** pero con diferentes desplazamientos químicos: la señal correspondiente al P del ligando PTA se encuentra desplazada 11 ppm a campo más alto con respecto a la del complejo **4**, la señal correspondiente al P del ligando dmoPTA se encuentra 10 ppm a campo más bajo en relación al complejo **4**, y la señal asociada al P del grupo PPh₃ se encuentra 4 ppm desplazada hacia campo más bajo (**Figura A1.10**). Debido a su gran solubilidad y su importancia para la síntesis de sus derivados bimetalicos se decidió caracterizarlo más extensamente realizándose experimentos bidimensionales: COSY ^1H - ^1H RMN (**Figura A1.11**), HSQC ^1H - ^{13}C -RMN (**Figura A1.12**), HMQC ^1H - ^{13}C -RMN (**Figura A1.13**), HMQC ^1H - ^{31}P -RMN (**Figura A1.14**), gracias a los cuales se terminan de identificar el resto de protones y carbonos de la molécula.

La estructura de **3** se confirmó definitivamente mediante difracción de rayos X de monocristal (**Figura 19**). Esto se consiguió añadiendo 2 equivalentes de $^t\text{BuOK}$ a una disolución de **4** en MeOH, la cual se agitó durante 15 minutos y se llevó a un vial colocado dentro de un vaso de precipitado con Et₂O (**Figura 18**), donde por difusión de vapores, se obtuvieron los monocristales de **3** que permitieron resolver y refinar su estructura cristalina (Apartado 5.3).

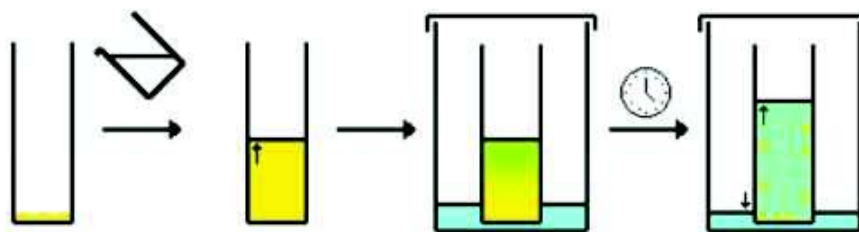


Figura 18. Montaje de difusión de vapores utilizado.

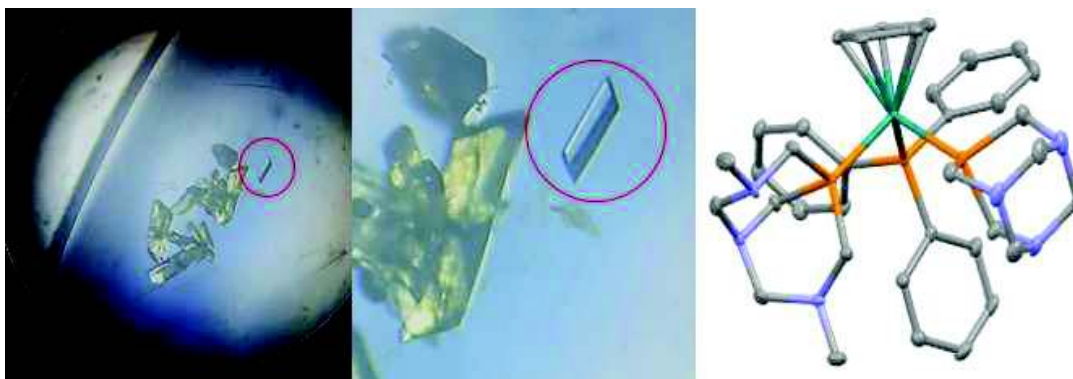


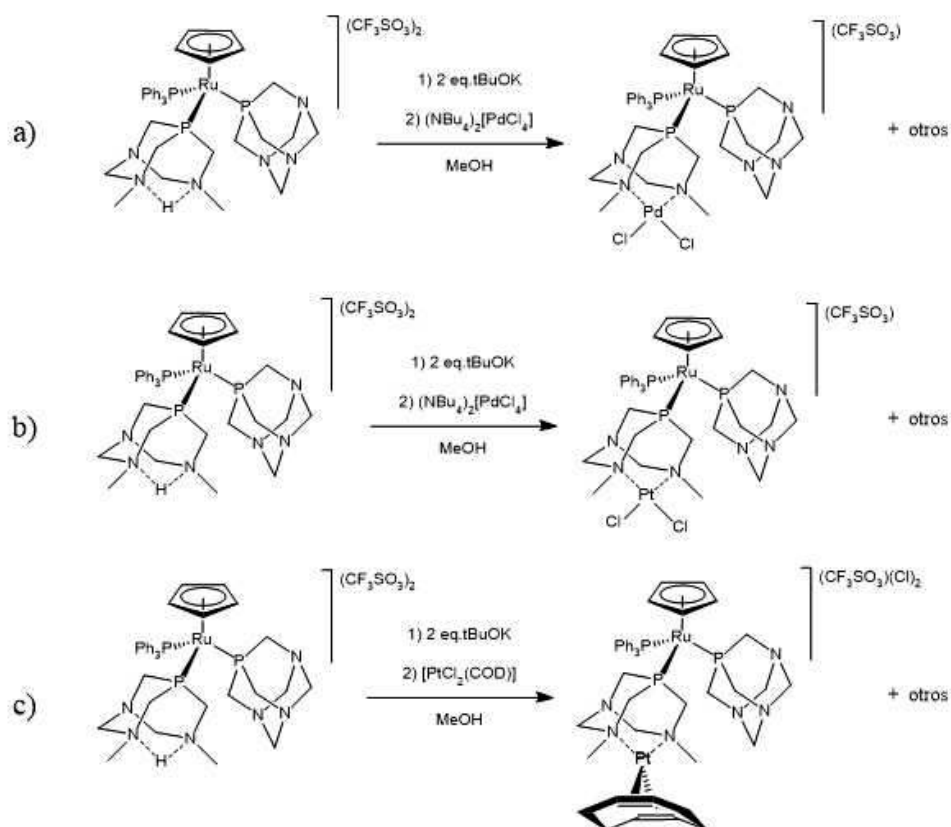
Figura 19. Monocristal y estructura cristalina de **3**

La unidad asimétrica de **3** está constituida por un anión triflato actuando como contraión y el complejo de rutenio con geometría de “silla de pianista” coordinado a un Cp, un ligando PPh₃, un ligando PTA y un ligando dmoPTA coordinados por sus átomos de P. Las distancias de enlace Ru-P1_{dmoPTA}, Ru-P2_{PTA} y Ru-P3_{PPh₃} son 2.3067(10) Å, 2.3008(10) Å y 2.3121(10) Å, respectivamente. Otro dato importante que la resolución de la estructura ha proporcionado es la distancia entre ambos nitrógenos en el ligando dmoPTA, que es 3.564(7) Å. Además, de la estructura se pueden determinar también los ángulos de enlace entre los fósforos de los ligandos y el Ru, donde el ángulo P1_{dmoPTA}-Ru-P2_{PTA} es de 94.11(4)°, el P1_{dmoPTA}-Ru-P3_{PPh₃} es de 95.94(4)° y el P2_{PTA}-Ru-P3_{PPh₃} es de 98.63(4)°. Todos estos datos concuerdan con los datos observados en los complejos predecesores sintetizados por el grupo.²³

Comparando las estructuras cristalinas de los complejos **3** y **5** se observa que todos los valores obtenidos son muy parecidos, pero difieren en la distancia entre los dos nitrógenos metilados, siendo 2.682(9) Å para el complejo **5**, y 3.564(7) Å para el complejo **3**. Esto significa que, al desprotonar el complejo **4**, la posición de coordinación del ligando dmoPTA se vuelve 0.882 Å más amplia. Este aumento de tamaño en la posición de coordinación libre conlleva la posibilidad de albergar en ella átomos metálicos voluminosos. Otro dato interesante que se concluye de la estructura cristalina de **3** es la orientación espacial de los grupos CH₃ del ligando dmoPTA. Se observa que los metilos de este ligando se disponen de manera que uno de ellos se encuentra más cercano al Cp mientras que el otro apunta al grupo PPh₃. Este hecho, sumado al aumento de tamaño de la posición de coordinación libre, hace que el impedimento estérico en dicha posición sea menor ya que ambos grupos metilo se orientan a posiciones contrarias minimizando así las posibles repulsiones estéricas al incorporar un segundo metal.

Finalmente, aislado el complejo desprotonado **3** que contiene la posición de coordinación libre en el ligando dmoPTA para coordinar un segundo metal, el siguiente objetivo fue intentar coordinar en dicha posición un átomo de Pd(II) o Pt(II). En base a la experiencia adquirida se hizo reaccionar **3** con un equivalente de los complejos de paladio [PdCl₂(COD)] y (NBu₄)₂[PdCl₄], y con los de platino [PtCl₂(COD)], [PtCl₂(DMSO)₂] y (NBu₄)₂[PtCl₄], variando temperatura, disolvente y tiempo de reacción, pero en ninguno de los casos se obtuvo el compuesto de

coordinación buscado puro. Estos resultados, aunque al intentar coordinar el segundo metal a partir del complejo desprotonado (**3**) aislado y puro, empujaron a que se intentara incorporar el paladio y el platino desprotonando in situ el complejo **4**. De esta manera, a una disolución de **4** en MeOH, se le añadieron 2 equivalentes de $t\text{BuOK}$ y después de 30 minutos de agitación, un equivalente de $(\text{NBu}_4)_2[\text{PdCl}_4]$, $(\text{NBu}_4)_2[\text{PtCl}_4]$ y $[\text{PtCl}_2(\text{COD})]$, obteniéndose así los complejos **6**, **7** y **8** (Esquema 7) (Apartado 5.2.4).



Esquema 7. a) Reacción para la síntesis de **6** b) Reacción para la síntesis de **7** c) Reacción para la síntesis de **8**

Una vez sintetizados los complejos **6**, **7** y **8** se procedió a caracterizarlos por análisis elemental, IR y RMN. Debido a las similitudes entre los complejos **6** y **7** las frecuencias de las bandas de IR son muy similares, así como los desplazamientos químicos en los espectros de ^1H RMN y $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN. Para ambos complejos, en sus espectros de IR se observa una banda fuerte correspondiente a los grupos SO_3CF_3^- que actúan como contraión (Figuras A1.18 y A1.21). Los experimentos de RMN que se realizaron ayudaron a confirmar las estructuras propuestas para **6** y **7**, las cuales solamente se diferencian en el átomo metálico coordinado a los nitrógenos metilados del ligando dmoPTA: siendo Pd(II) para el complejo **6** y Pt(II) para **7**. En el espectro ^1H RMN (DMSO-d_6) se observa un singlete a 2.09 ppm para **6**, y 2.10 ppm para **7**, que integran por 6H y corresponde a los protones de los dos grupos

metilo del ligando dmoPTA. mientras que los protones correspondientes al ligando PTA se encuentran como multipletes a dos desplazamientos químicos distintos: 3,86 ppm (6H, PCH₂N) y 4,36 ppm (6H, NCH₂N) para **6**, y 3,87 ppm (6H, PCH₂N) y 4,33 ppm (6H, NCH₂N) para **7** (**Figuras A1.19** y **A1.22**). En el espectro ³¹P{¹H} RMN (DMSO-d₆) aparecen los tres esperados dobletes de dobletes que se observaron para los compuestos **3** y **4**, pero con distintos desplazamientos químicos, lo que confirma que en el dmoPTA se ha coordinado un átomo metálico. El desplazamiento observado en **6** fue de -39.44 ppm la señal correspondiente al P del ligando PTA, a -2.29 ppm la señal correspondiente al P del ligando dmoPTA y entre 48.04 y 50.65 ppm para la señal asociada al ligando PPh₃, mientras que para el complejo **7** esas señales que corresponden a los mismos ligandos que ambos complejos comparten, se observan a -37.54 ppm, 7.91 ppm y 51.98 ppm, respectivamente (**Figuras A1.20** y **A1.23**).

El último paso fue caracterizar el complejo **8**. En su espectro de IR se observa a 1264 cm⁻¹ una fuerte banda correspondiente al ión SO₃CF₃ (**Figura A1.24**). Los experimentos de RMN que se realizaron ayudaron a confirmar la estructura propuesta para **8**, la cual difiere de las de los compuestos **3**, **4**, **6** y **7** en la presencia de COD en la molécula. Su espectro ¹H RMN (MeOD-d₄) muestra las señales de este ligando confirmando su presencia en la composición del complejo resultante (un múltiple a 5.56 ppm, 4H; un múltiple a 2.55 ppm, 8H) (**Figura A1.25**). En el espectro ³¹P{¹H} RMN (MeOD-d₄) aparecen las tres mismas señales que para los compuestos **3**, **4**, **6** y **7** pero con desplazamientos químicos, confirmando la presencia de un ligando diferente en el metal (**Figura A1.26**).

Una vez sintetizados todos los compuestos planteados como objetivo de este trabajo, se comprobó su actividad antiproliferativa frente a un panel de células cancerosas resistente y no-resistentes al cisplatino. En este experimento también se incluyó el complejo **A**, que no había sido posible estudiarlo para el TFG. Dicho complejo **A** no presentó suficiente solubilidad en el medio de ensayo para poder ser evaluado. El resto de complejos mostraron una actividad anticancerígena casi del mismo orden que la mostrada por el cisplatino, menos los complejos **1** y **2** que la superan notablemente.

Como se observa en la **Tabla 2**, los valores de inhibición del crecimiento de estas células tumorales al ser evaluadas frente a los complejos **1** y **2** son bastante inferiores a los obtenidos para el cisplatino, en general provocan un menor crecimiento celular de las células cancerosas en un orden de 100 veces pero en algunos casos llegan a ser casi 1000 veces como frente a HeLa (un tipo de cáncer de cuello de útero) y SW1573 (un tipo de cáncer de pulmón). Al mismo tiempo estos resultados también mejoran los mostrados por los complejos bimetálicos que el grupo donde se ha realizado el trabajo había realizado previamente, como son los complejos [RuClCp(PPh₃)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-MCl₂] (M = Co, Zn).^{23, 24} Esto indica que los complejos con estructura tipo [RuClCp(PPh₃)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-PtL₂] (L = Cl, DMSO) muestran la mayor actividad de todos los sintetizados, destacando el complejo **2** que

incorpora el grupo DMSO coordinado al átomo de Pt(II), que es el más activo de la serie.

| Compuesto | Línea celular | | | | | |
|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| | A549 (Pulmón) | HBL-100 (Mama) | HeLa (Cérvix) | SW1573 (Pulmón) | T-47D (Mama) | WiDr (Colon) |
| Cisplatino | 4.9 (±0.2) | 1.9 (±0.2) | 1.8 (±0.5) | 2.7 (±0.4) | 17 (±3.3) | 23 (±4.3) |
| 1 | 1.3 (±0.12) | 0.93 (±0.12) | 0.08 (±0.014) | 0.34 (±0.04) | 2.2 (±0.29) | 1.4 (±0.2) |
| 2 | 0.28 (±0.026) | 0.25 (±0.052) | 0.03 (±0.0034) | 0.028 (±0.012) | 0.32 (±0.024) | 0.38 (±0.071) |
| 3 | > 100 | > 100 | 86 (±19) | 61 (±6.7) | > 100 | > 100 |
| 6 | > 100 | > 100 | 53 (±4.1) | 48 (±1) | > 100 | > 100 |
| 7 | > 100 | > 100 | > 100 | > 100 | > 100 | > 100 |
| 8 | 31 (±1.3) | > 100 | 97 (±4.4) | 33 (±2.9) | > 100 | 61 (±2.8) |
| Ru-Zn ²⁴ | 0.036 (±0.019) | 0.072 (±0.008) | 0.051 (±0.022) | 0.030 (±0.013) | 0.083 (±0.05) | 0.054 (±0.010) |
| Ru-Co ²³ | 0.062 (±0.019) | 0.088 (±0.008) | 0.084 (±0.022) | 0.054 (±0.013) | 0.210 (±0.05) | 0.065 (±0.010) |
| RuCl-Zn ²⁴ | - | 3.5 (±0.7) | 4.0 (±0.1) | 4.6 (±0.1) | 6.5 (±3.0) | 5.7 (±1.4) |
| RuCl-Co ²³ | - | 1.0 (±0.2) | 1.3 (±0.1) | 1.1 (±0.1) | 1.4 (±0.2) | 1.5 (±0.3) |

Tabla 2. Valores de GI₅₀ en μM ($\pm\text{SD}$) para líneas de células tumorales sólidas humanas de algunos de los complejos sintetizados, comparados con el cisplatino y otros compuestos sintetizados por el grupo donde se ha realizado el trabajo.

Para contextualizar los resultados obtenidos en este estudio de actividad citotóxica por los complejos **1** y **2**, además de superar a compuestos monometálicos y bimetálicos sintetizados previamente por el grupo donde se ha realizado este Trabajo Fin de Máster, mejoran cualquiera de los publicados hasta el momento. Por ejemplo los complejos KP1019 y KP1339 muestran unos valores de IC₅₀ frente a líneas celulares de tumores sólidos humanos como las mostradas anteriormente, entre 50 y 150 μM .⁴⁶

Esto hace indicar que los complejos **1** y **2** deben ser estudiados más extensamente para llegar a conocer más sobre su actividad y su posible mecanismo de acción. Mucho queda por hacer antes de poder proponer alguno de estos compuestos como un fármaco para el tratamiento del cáncer.

7. CONCLUSIONES

Las conclusiones de este TFM son las siguientes:

- Se ha conseguido sintetizar y caracterizar correctamente mediante análisis elemental, IR y RMN los compuestos de coordinación monometálicos $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**3**) y $[\text{RuCp}(\text{HdmoPTA})(\text{PPh}_3)(\text{PTA})](\text{SO}_3\text{CF}_3)_2$ (**4**), y los compuestos bimetálicos $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-PtCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**1**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{Cl})(\text{DMSO-}\kappa\text{S})](\text{Cl}_2)$ (**2**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-PdCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**6**), $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-PtCl}_2](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**7**) y $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})\text{-}\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{COD})](\text{SO}_3\text{CF}_3)(\text{Cl}_2)$ (**8**).
- Se ha llevado a cabo el estudio sobre la reactividad del compuesto $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2\text{-}\mu\text{-dmoPTA-}1\kappa\text{P:}2\kappa^2\text{N,N'-Pt}(\text{Cl})(\text{DMSO-}\kappa\text{S})](\text{Cl}_2)$ (**2**) en un medio similar a donde se han realizado los ensayos de actividad antiproliferativa.
- Se han resuelto y refinado exitosamente las estructuras cristalinas de los complejos monometálicos $[\text{RuCp}(\text{HdmoPTA})(\text{PPh}_3)(\text{HPTA})](\text{SO}_3\text{CF}_3)_3$ (**4**) y $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)(\text{PTA})(\text{dmoPTA-}\kappa\text{P})](\text{SO}_3\text{CF}_3)$ (**5**) gracias a los conocimientos y herramientas aportadas por las distintas asignaturas del Máster relacionadas con la difracción de rayos-X.
- Se ha estudiado la actividad anticancerígena de todos los compuestos sintetizados mostrándose como la combinación de Ru y Pt en el mismo complejo da lugar a una notable actividad antiproliferativa, en algunos casos mayor a 1000 veces a la del conocido fármaco cisplatino.

8. BIBLIOGRAFÍA Y NOTAS

- (1) OMS; [Online] <https://www.who.int/cancer/en/> (acceso 27 de junio de 2019)
- (2) Rosenberg, B., Van Camp, L., Krigas, T., Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode, *Nature*, **1965**, 205, 698-699
- (3) FDA; [Online] <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&AppNo=018057> (acceso 08 de julio de 2019)
- (4) Jung, Y., Lippard, S. J. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 1387–1407
- (5) Siddik, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*, **2003**, 22, 7265–7279
- (6) Eastman, A. Activation of programmed cell death by anticancer agents: cisplatin as a model system. *Cancer Cells* **1990**, 2, 275–280 (1990).
- (7) Gasser, G., Ott, I., Metzler-Nolte, N., Organometallic Anticancer Compounds. *J. Med. Chem.*, **2011**, 54, 3-25
- (8) Abu-Surrah, A., Kettunen, M., Platinum Group Antitumor Chemistry: Design and Development of New Anticancer Drugs Complementary to Cisplatin. *Curr. Med. Chem.*, **2006**, 13, 1337-1357
- (9) Ulukaya, E., Ari, F., Dimas, K., Ikitimur, E. I., Guney, E., Yilmaz, V. T. Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Eur. J. Med. Chem.*, **2011**, 46(10), 4957–4963.
- (10) Van Rijt, S.H., Sadler, P. J., Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development in anticancer drugs. *Drug Discovery Today*, **2009**, 14, 23-24
- (11) Köpf, H.; Köpf-Maier, P. Titanocene dichloride; the first metallocene with cancerostatic activity. *Angew. Chem.*, **1979**, 18, 477–478.
- (12) Ang, W.H., Dyson, P.J., Classical and non-classical ruthenium-based anticancer drugs: Towards targeted chemotherapy, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2006**, 4003–4018.
- (13) Bratsos, I., Jedner, S., Gianferrara, T., Alessio, E., Ruthenium anticancer compounds: Challenges and expectations, *Chimia*, **2007**, 61, 692–697
- (14) Rademaker-Lakhai, J.M., Van Den Bongard, D., Pluim, D., Beijnen, J.H., Schellens, J.H.M., A Phase I and pharmacological study with imidazolium-trans-DMSO-imidazoles-tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agent, *Clin. Cancer Res.*, **2004**, 10, 3717–3727
- (15) Clarke, M.J., Ruthenium metallopharmaceuticals, *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, 236, 209–233
- (16) Hartinger, C.G., Jakupec, M.A., Zorbas-Seifried, S., Groessl, M., Egger, A., Berger, W., Zorbas, H., Dyson, P.J., Keppler, B.K., KP1019, A New Redox-Active Anticancer Agent – Preclinical Development and Results of a Clinical Phase I Study in Tumor Patients., *Chem. Biodiversity*, **2008**, 5, 2140-2155
- (17) Hartinger, C.G., Zorbas-Seifried, S., Jakupec, M.A., Kynast, B., Zorbas, H., Keppler, B.K., From bench to bedside-preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole) ruthenate(III)] (KP1019 or FC14A), *J. Inorg. Biochem.*, **2006**, 100, 891–904.
- (18) Peacock, A.F.A., Parsons, S., Sadler, P.J., Tuning the hydrolytic aqueous chemistry of osmium arene complexes with N,O-chelating ligands to achieve cancer cell cytotoxicity, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 3348–3357.
- (19) Dyson, P.J. Systematic Design of a Targeted Organometallic Antitumour Drug in Pre-clinical Development, *Chimia*, **2007**, 61, 698–703.

- (20) Mena-Cruz, A., Lorenzo-Luis, P., Romerosa, A., Saoud, M., Serrano-Ruiz, M. Synthesis of the water soluble ligands dmPTA and dmoPTA and complex $[\text{RuClCp}(\text{HdmPTA})(\text{PPh}_3)](\text{OSO}_2\text{CF}_3)$ (dmPTA = N,N'-dimetil-1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane, dmoPTA = 3,7-dimetil-1,3,7-triaza-5-phosphabicyclo[3.3.1]nonane, HdmPTA = 3,7-H-3,7--dimetil-1,3,7-triaza-5-phosphabicyclo[3.3.1]nonane). *Inorg. Chem.*, **2007**, 46, 6120-6128
- (21) Ang, W. H.; Casini, A.; Sava, G.; Dyson, P. J. Organometallic ruthenium-based antitumor compounds with novel modes of action. *J. Organomet. Chem.* **2011**, 696, 989–998.
- (22) Mendoza, Z., Lorenzo-Luis, P., Serrano-Ruiz, M., Martín-Batista, E., Padrón, J.M., Scalambra, F., Romerosa, A. Synthesis and antiproliferative activity of $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{HdmPTA})]$ (OSO_2CF_3) (HdmPTA = 3,7-H-3,7-dimetil-1,3,7-triaza-5-fosfabiciclo[3.3.1]nonano). *Inorg. Chem.*, **2016**, 55, 7820-7822
- (23) Mendoza, Z., Lorenzo-Luis, P., Scalambra, F., Padrón, J. M., Romerosa, A., Enhancement of the antiproliferative activity of $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2(\text{dmoPTA-1}\kappa\text{P})]^+$ via its coordination to one $\{\text{CoCl}_2\}$ unit: synthesis, crystal structure and properties of $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2-\mu-\text{dmoPTA-1}\kappa\text{P}:2\kappa^2\text{N},\text{N}'\text{CoCl}_2](\text{OTf})\cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$. *Dalton Trans.*, **2017**, 46, 8009–8012
- (24) Mendoza, Z., Lorenzo-Luis, P., Scalambra, F., Padrón, J. M., Romerosa, A. One Step Up in Antiproliferative Activity: The Ru-Zn Complex $[\text{RuCp}(\text{PPh}_3)_2-\mu-\text{dmoPTA-1}\kappa\text{P}:2\kappa^2\text{N},\text{N}'\text{ZnCl}_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)$. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2018**, 4684-4688
- (25) Andrés Alguacil Alarcón, Trabajo Fin de Grado Química, curso 2017-2018, 11 de julio de 2018
- (26) Sheldrick, G. M., SHELXT- Integrated space-group and cristal structure determination. *Acta Cryst*, **2015**, A71, 3-8
- (27) Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K., Puschmann, H., OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Cryst.*, **2009**, 42, 339-341
- (28) Daigle, D. J., Pepperman, A. B., Vail, S. L. Synthesis of a monophosphorus analog of hexamethylenetetramine. *J. Heterocycl. Chem.*, **1974**, 11, 407–408
- (29) Bruce, M.I., Hameister, C., Swincer, A.G., Wallis, R.C., Ittel, S.D., *Inorg. Synth.*, **2007**, 21, 78-84
- (30) Romerosa, A., Campos-Malpartida, T., Lidrissi, C., Saoud, M., Serrano-Ruiz, M., Peruzzini, M., Garrido-Cárdenas, J.A., García-Maroto, F. Synthesis, characterization, and DNA binding of new water-soluble cyclopentadienyl ruthenium (II) complexes incorporating phosphines. *Inorg. Chem.*, **2006**, 45, 1289-1298
- (31) Drew, D.; Doyle, J.R.; Shaver, A.G.; Cyclic Diolefin Complexes of Platinum and Palladium. *Inorg Synth*, **2007**, 28, 346-349
- (32) Clark, C. H., Manzer, L. E. Reactions of (π -1,5-cyclooctadiene) organoplatinum(II) compounds and the synthesis of perfluoroalkylplatinum complexes. *J. Organomet. Chem.*, **1973**, 59, 411-428.
- (33) Vasic, D., Savic, J., Bugarcic, Z., Krstic, D., Tomic, N., Petkovic, M., Vasic, V. Interaction of the $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$ Complex with L-Cysteine. *Zeitschrift Für Naturforschung C.*, **2009**, 64, 103-108
- (34) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 539
- (35) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 153
- (36) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 180
- (37) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 127
- (38) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 138

- (39) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 135
- (40) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 145
- (41) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 149
- (42) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 97
- (43) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 199
- (44) Amarego, W.L.F., *Purification of Organic Chemicals, Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier, Canberra, **2017**, 427
- (45) Belli Dell' Amico, D., Dalla Via, L., García-Argáez, A. N., Labella, L., Marchetti, F., & Samaritani, S. Antiproliferative activity of platinum(II) complexes containing triphenylphosphine: Correlation between structure and biological activity. *Polyhedron*, **2015**, 85, 685–689
- (46) Serrano-Ruiz, M., Aguilera-Sáez, L. M., Lorenzo-Luis, P., Padrón, J. M., Romerosa, A. Synthesis and antiproliferative activity of the heterobimetallic complexes [RuClCp(PPh₃)-μ-dmoPTA-1κP:2κ²N,N'-MCl₂] (M = Co, Ni, Zn; dmoPTA = 3,7-dimethyl-1,3,7-triaza-5-phosphabicyclo[3.3.1]nonane). *Dalton Trans.*, **2013**, 42(31), 11212-11219
- (47) Heffeter, P., Böck, K., Atil, B., Reza Hoda, M. A., Körner, W., Bartel, C., Koellensperger, G. Intracellular protein binding patterns of the anticancer ruthenium drugs KP1019 and KP1339. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2010**, 15(5), 737–748.

9. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

IR = espectroscopía de infrarrojo

PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano

dmPTA = N,N'-dimetil-1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano

COD = 1,5-ciclooctadieno

Cp = ciclopentadieno

IC₅₀ = concentración media de inhibición del crecimiento celular

ANEXOS

ANEXO 1: DATOS ESPECTROSCÓPICOS

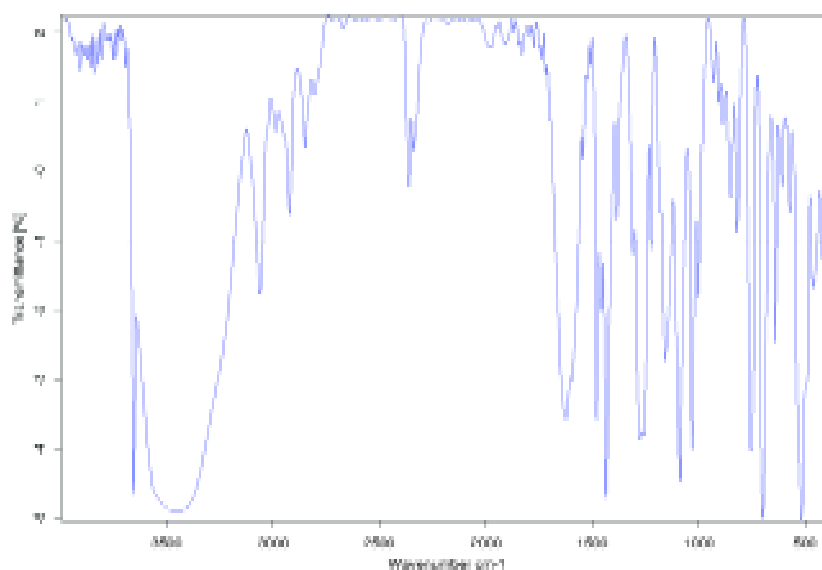


Figura A1.1. Espectro IR (KBr) de **1**

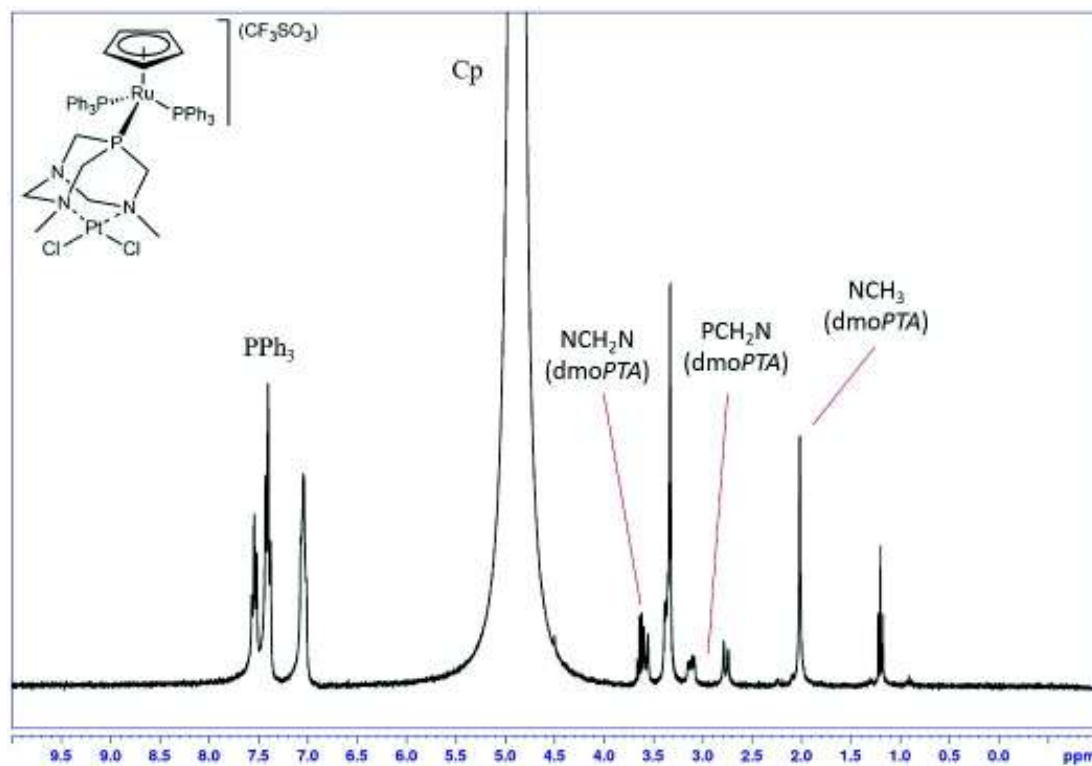


Figura A1.2. Espectro ^1H RMN (300.13MHz, MeOD- d_4 , 25°C) de **1**

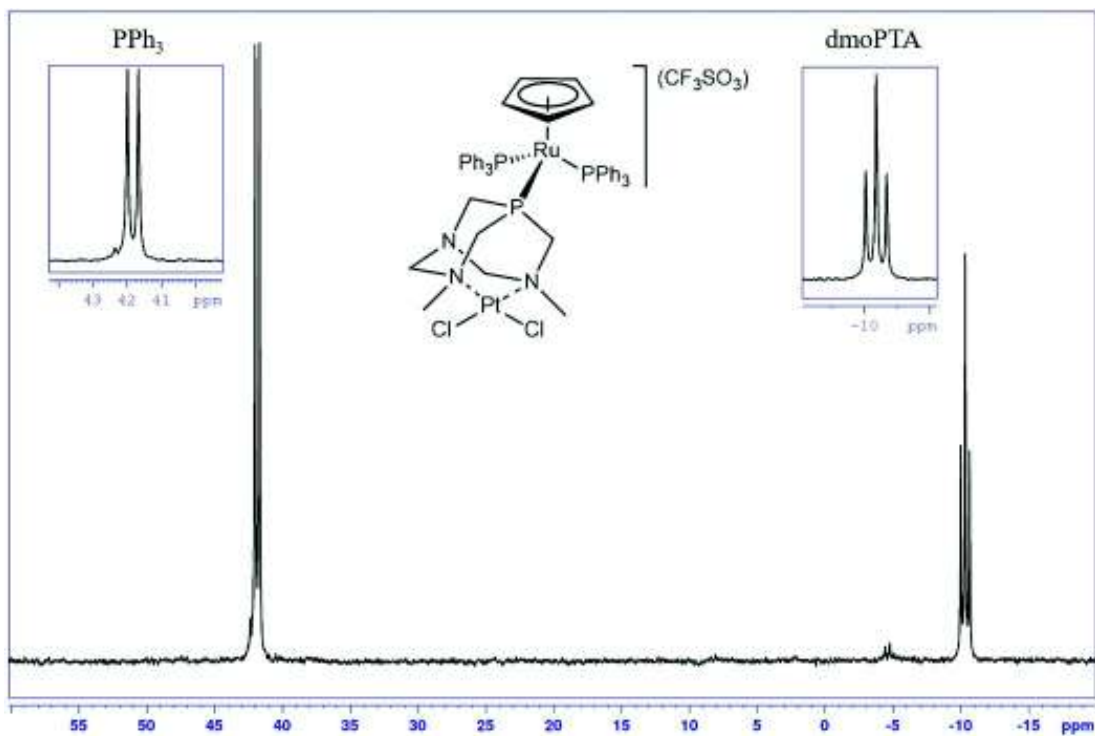


Figura A1.3. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (121,49MHz, MeOD- d_4 , 25°C) de **1**

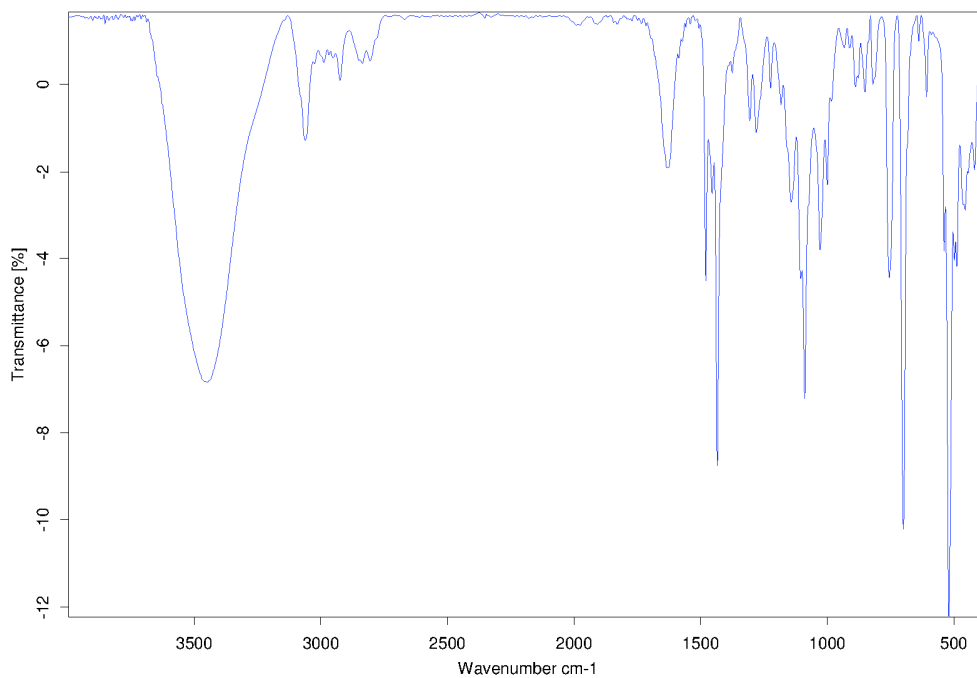


Figura A1.4. Espectro IR (KBr) de **2**

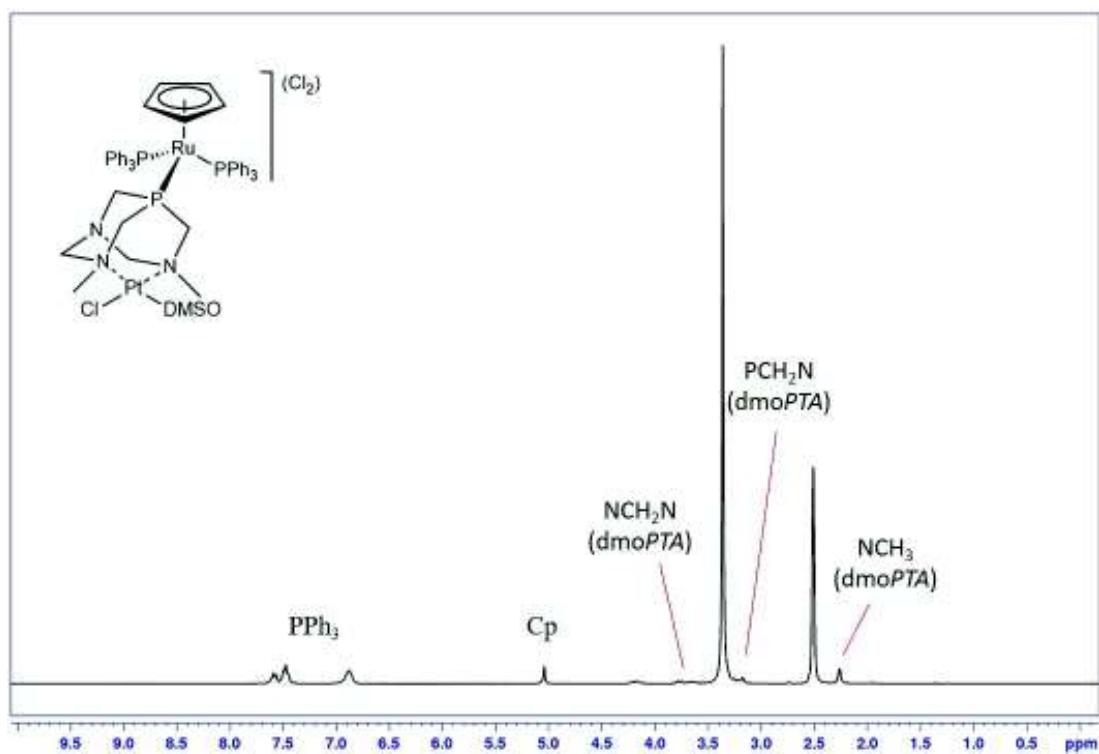


Figura A1.5. Espectro ^1H RMN (300.13 MHz, DMSO- d_6 , 25°C) de 2

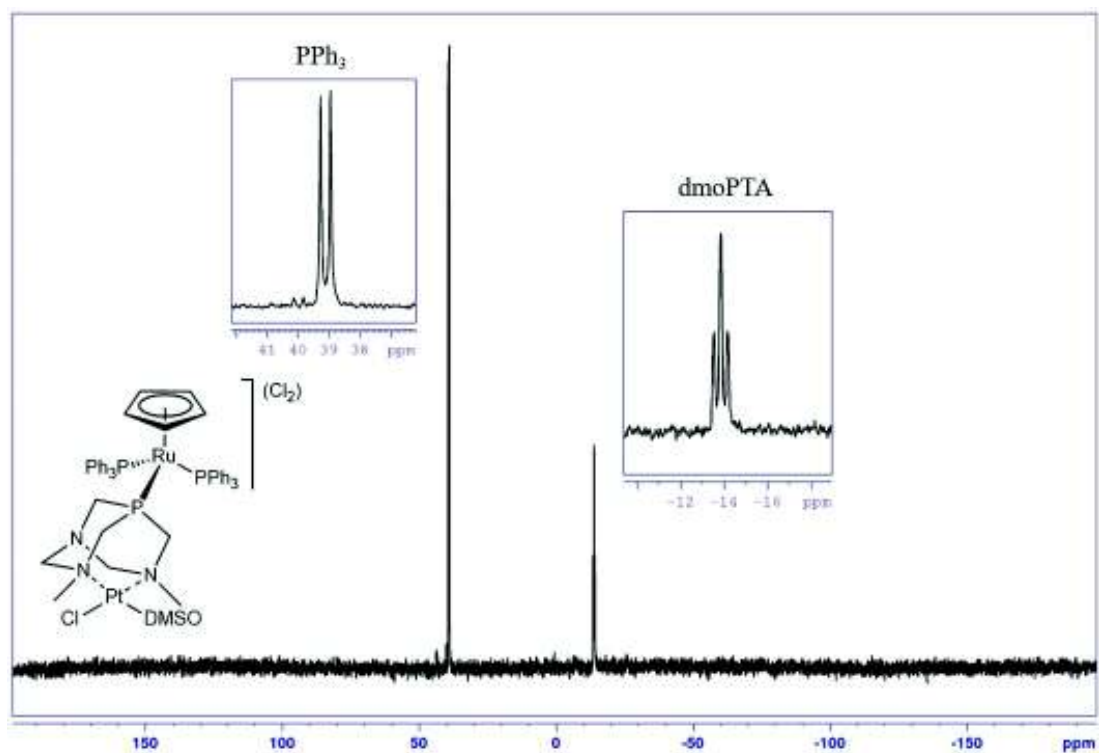


Figura A1.6. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (121,49 MHz, DMSO- d_6 , 25°C) de 2

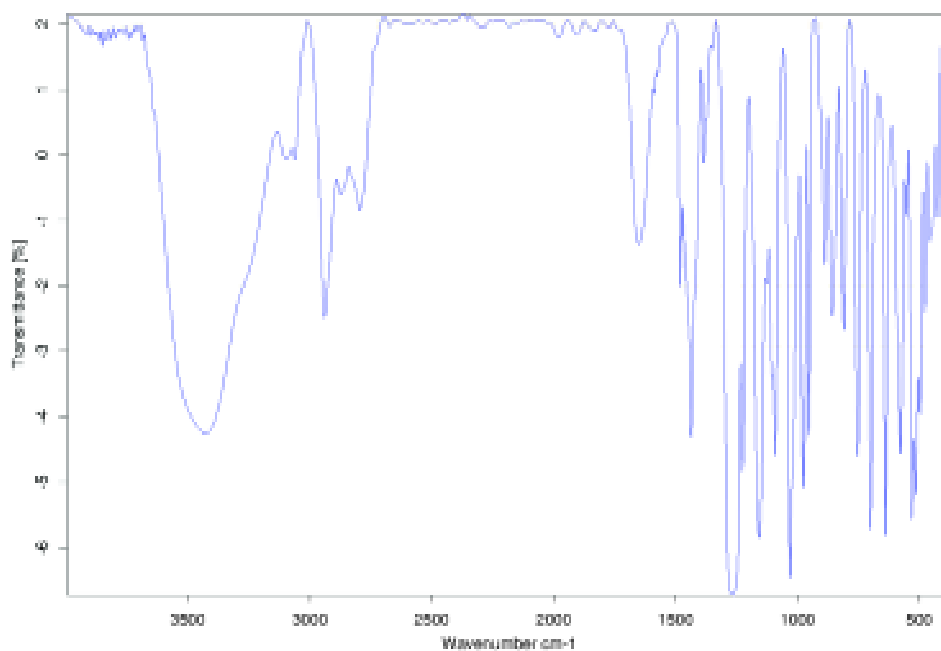


Figura A1.7. Espectro IR (KBr) de **3**

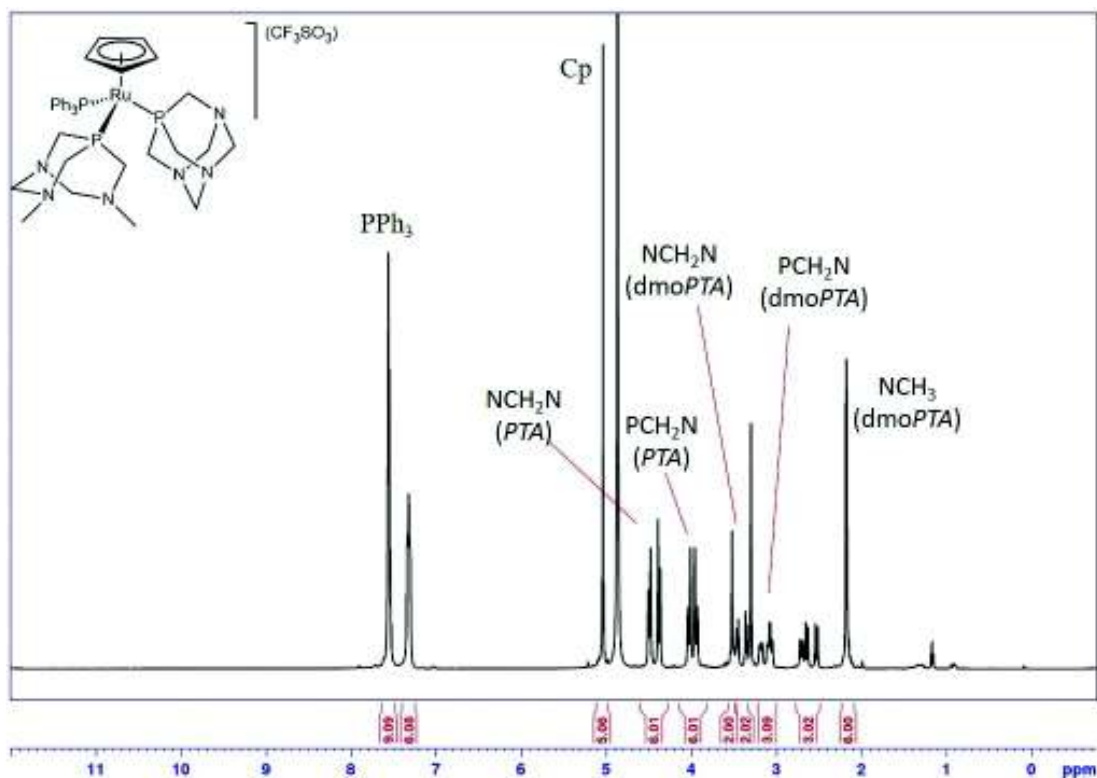


Figura A1.8. Espectro ^1H RMN (500,13MHz, MeOD-d_4 , 25°C) de **3**

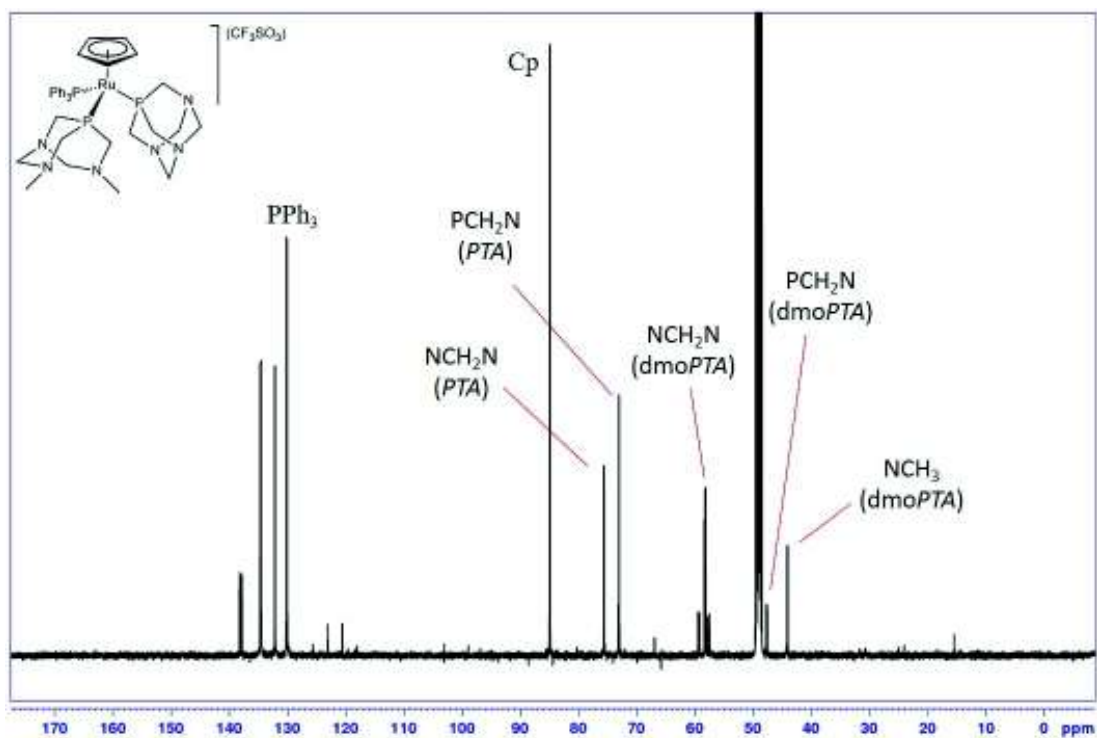


Figura A1.9. Espectro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ RMN (125,76MHz, MeOD-d_4 , 25°C) de 3

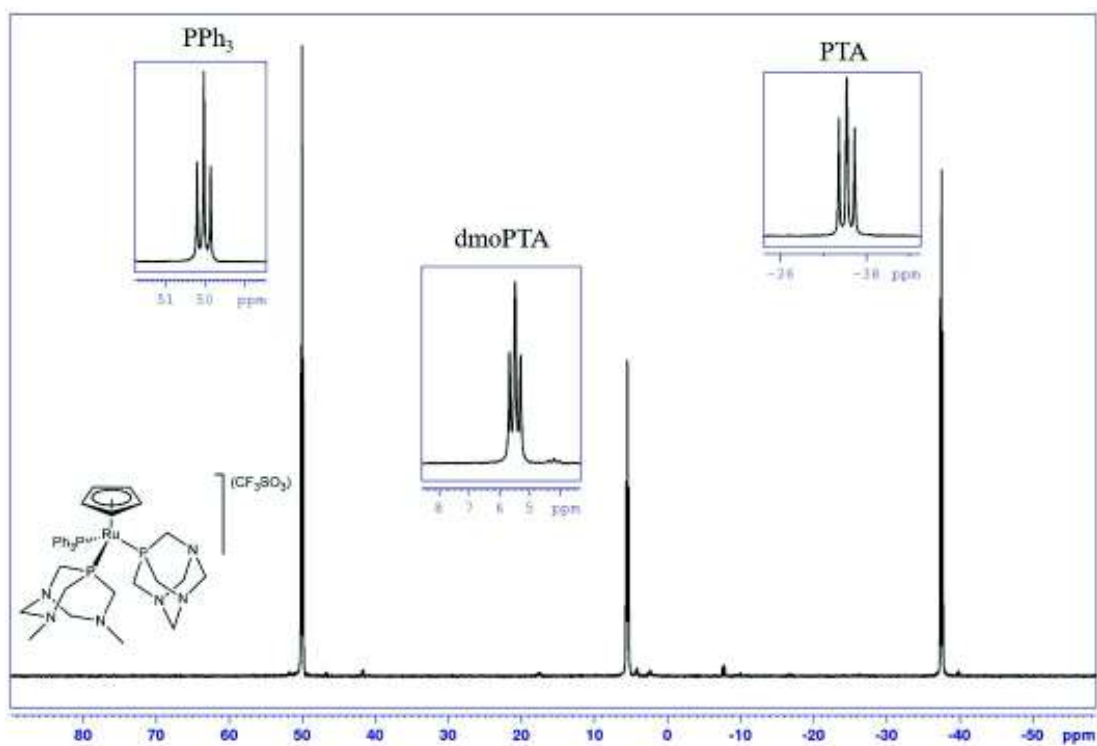


Figura A1.10. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (202,46MHz, MeOD-d_4 , 25°C) de 3

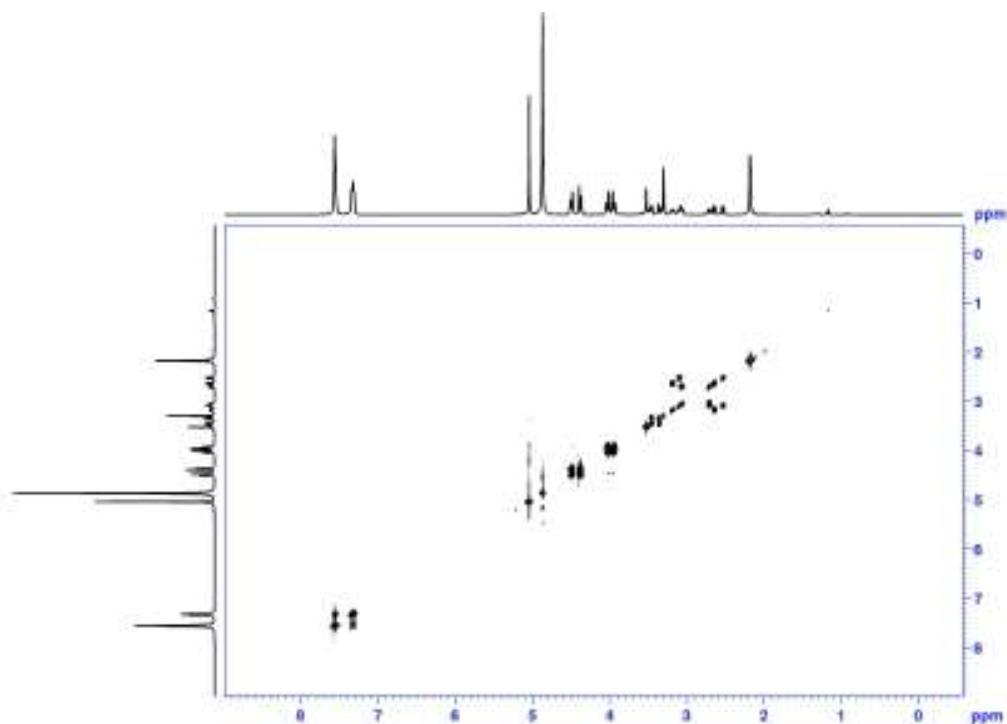


Figura A1.11. Espectro COSY ¹H-¹H RMN (500,13MHz, MeOD-d₄, 25°C) de **3**

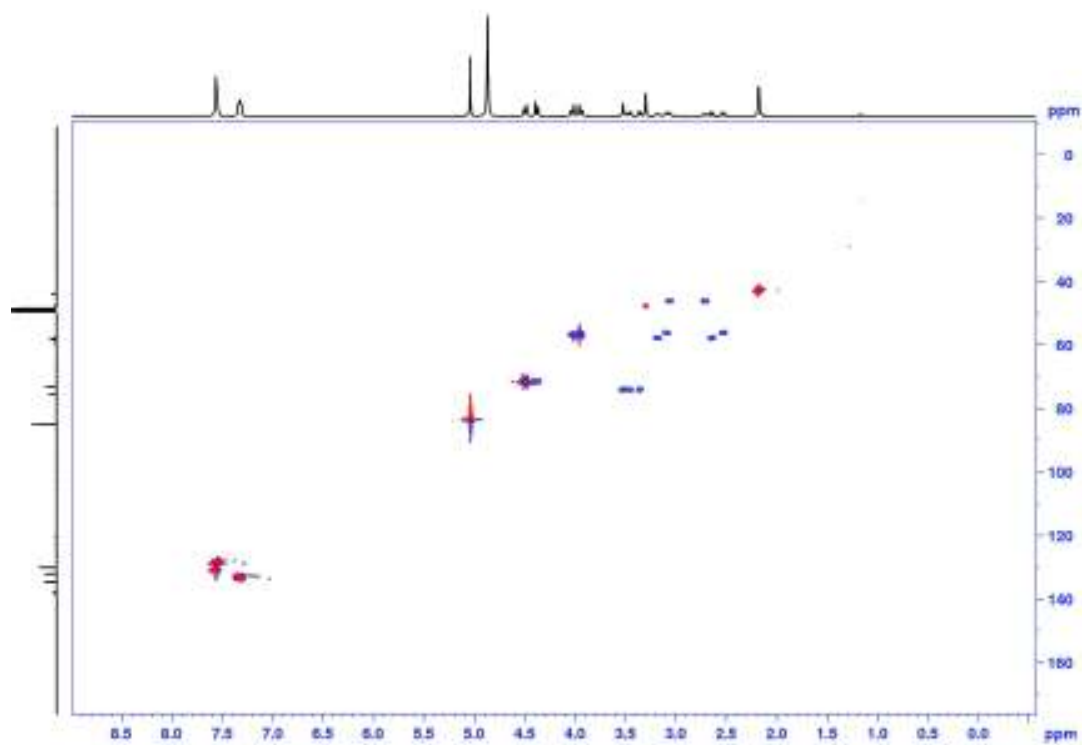


Figura A1.12. Espectro HSQC ¹H-¹³C RMN (500,13MHz, MeOD-d₄, 25°C) de **3**

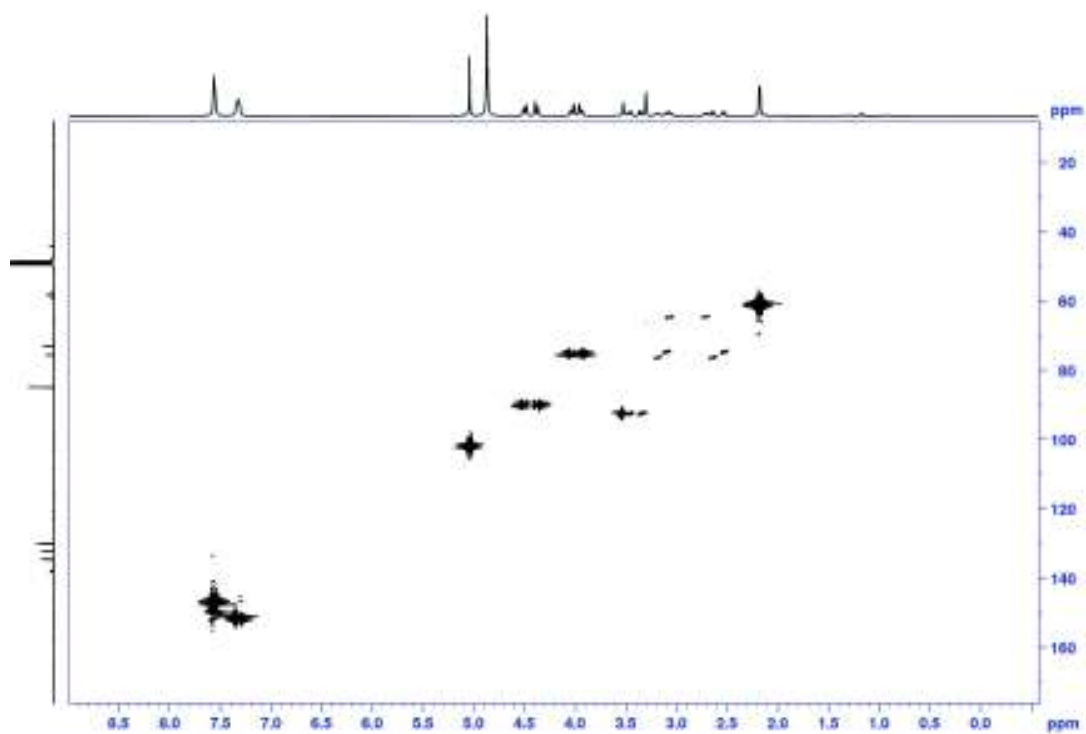


Figura A1.13. Espectro HMQC ^1H - ^{13}C RMN (500,13MHz, 125,76MHz, MeOD- d_4 , 25°C) de **3**

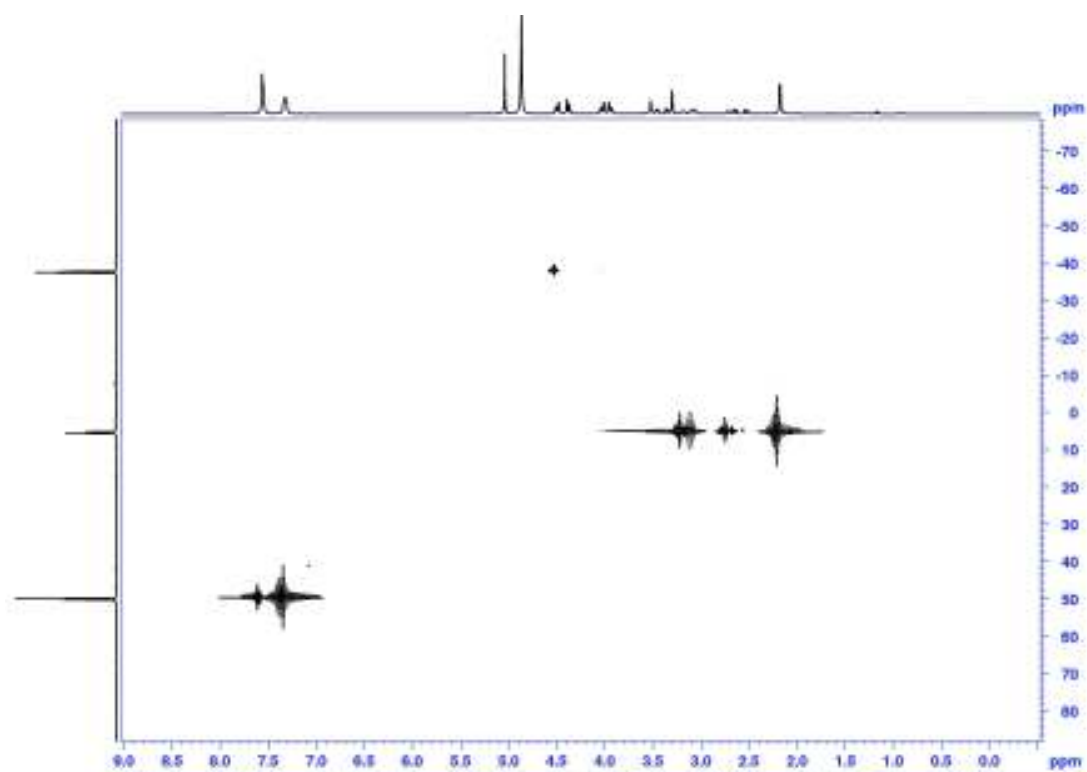


Figura A1.14. Espectro HMQC ^1H - ^{31}P RMN (500,13MHz, 202,46 MHz, MeOD- d_4 , 25°C) de **3**

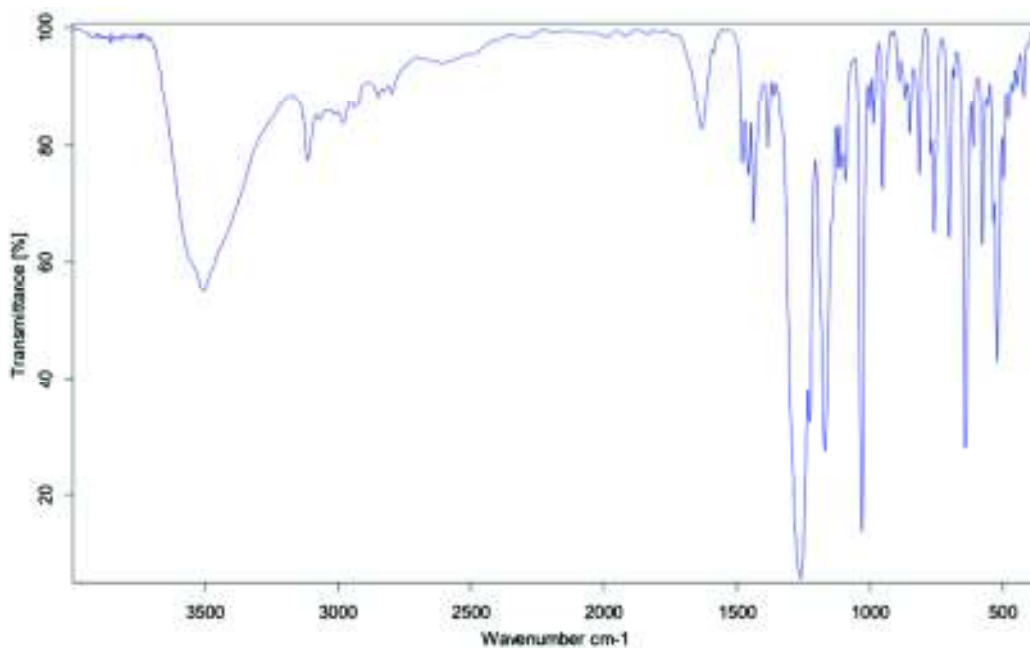


Figura A1.15. Espectro IR (KBr) de 4

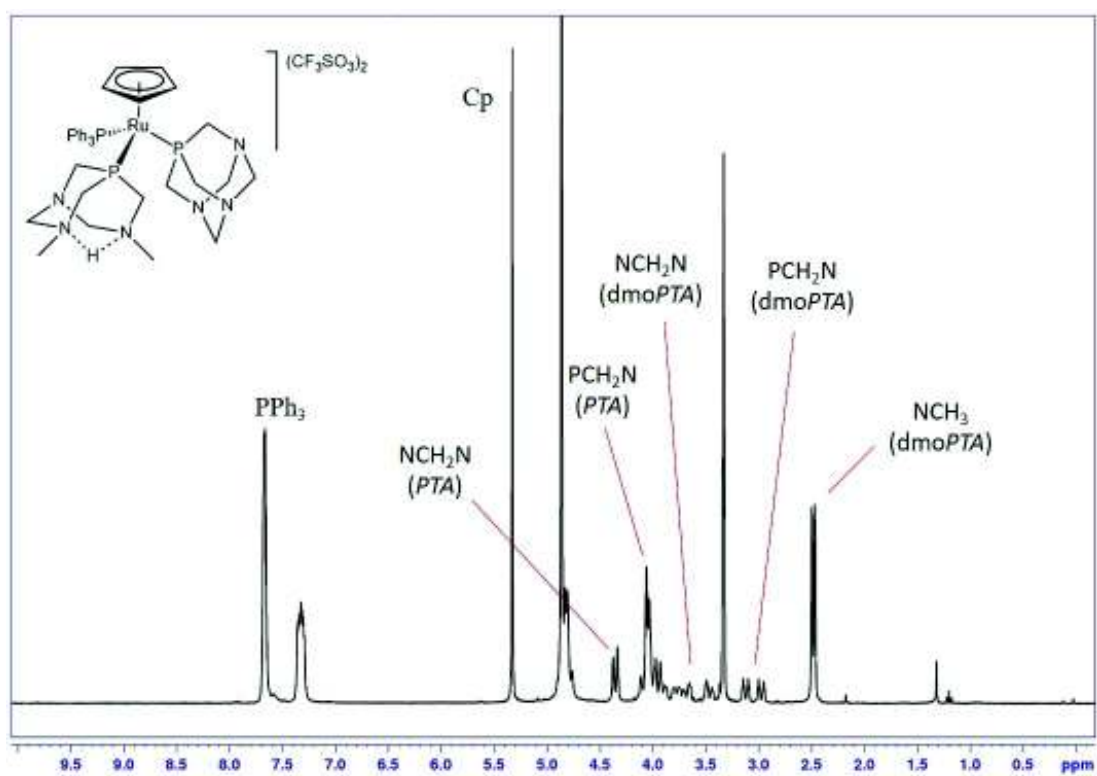


Figura A1.16. Espectro ¹H RMN (300.13 MHz, MeOD-d₄, 25°C) de 4

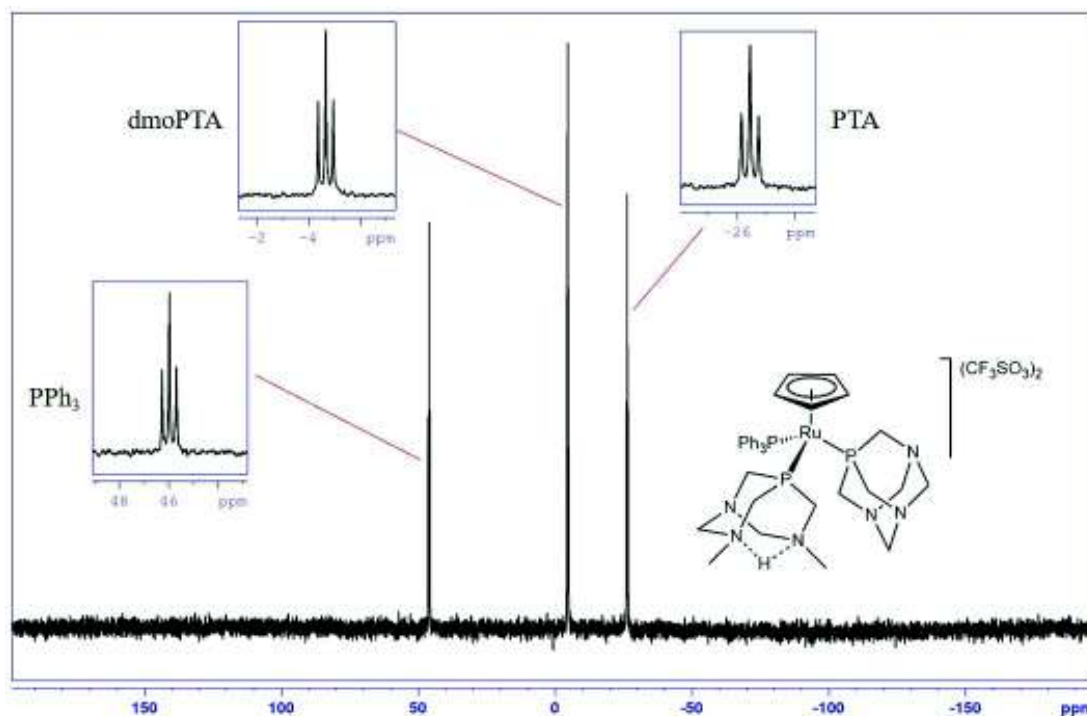


Figura A1.17. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (121,49 MHz, MeOD- d_4 , 25°C) de 4

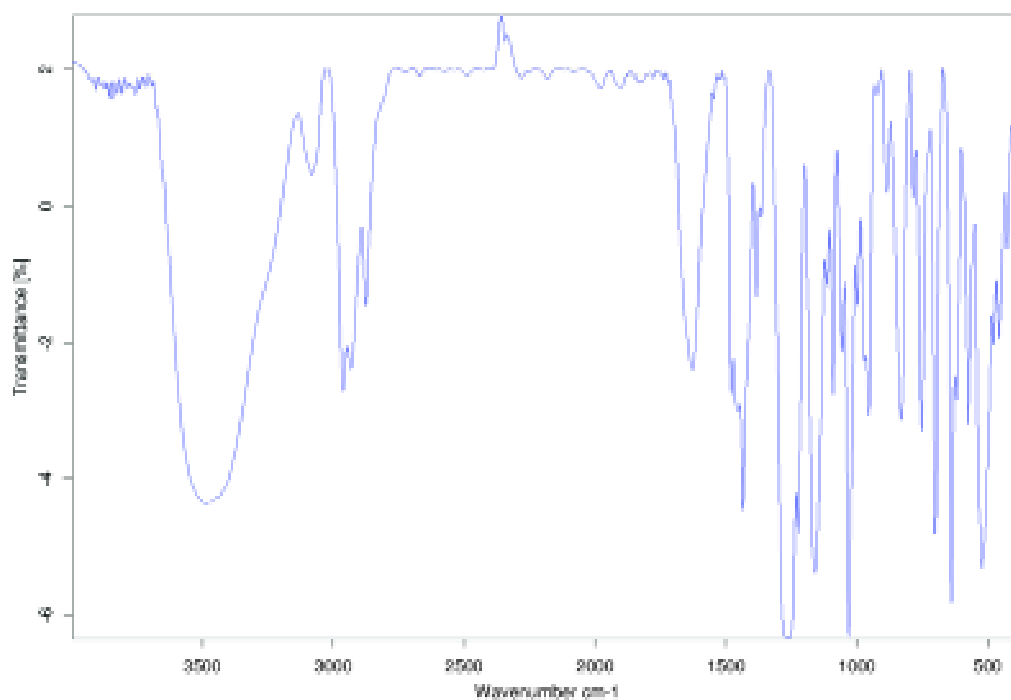


Figura A1.18. Espectro IR (KBr) de 6

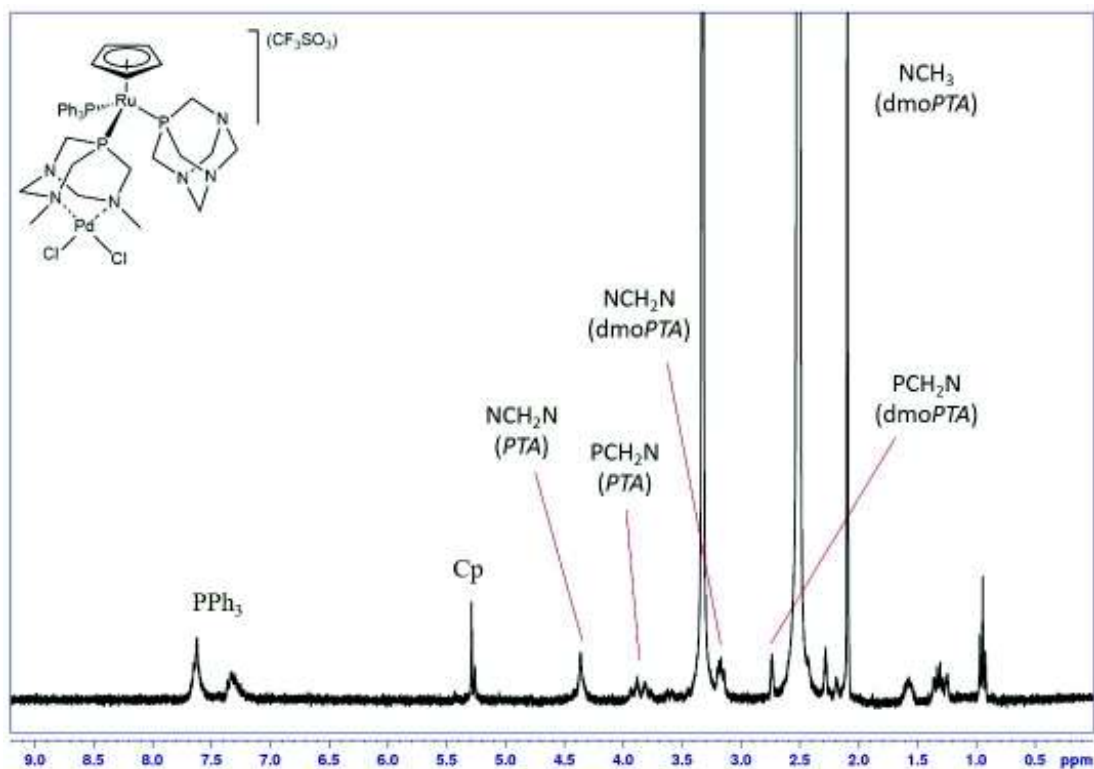


Figura A1.19. Espectro ^1H RMN (MHz, DMSO- d_6 , 25°C) de **6**

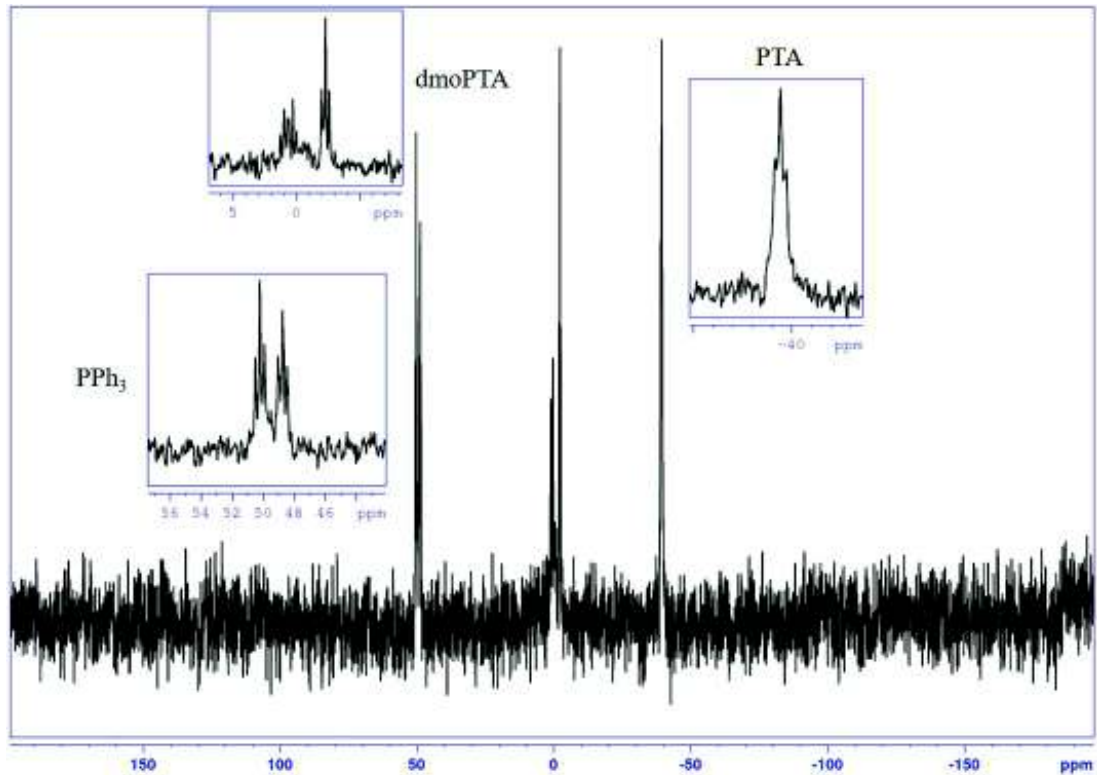


Figura A1.20. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (MHz, DMSO- d_6 , 25°C) de **6**

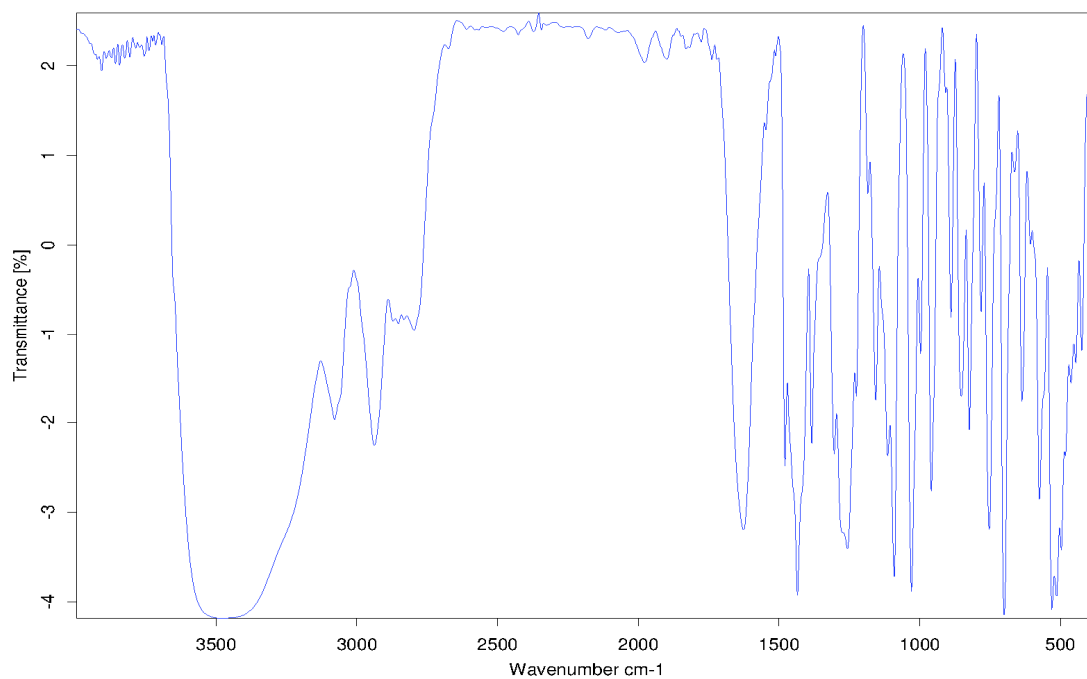


Figura A1.21. Espectro IR (KBr) de 7

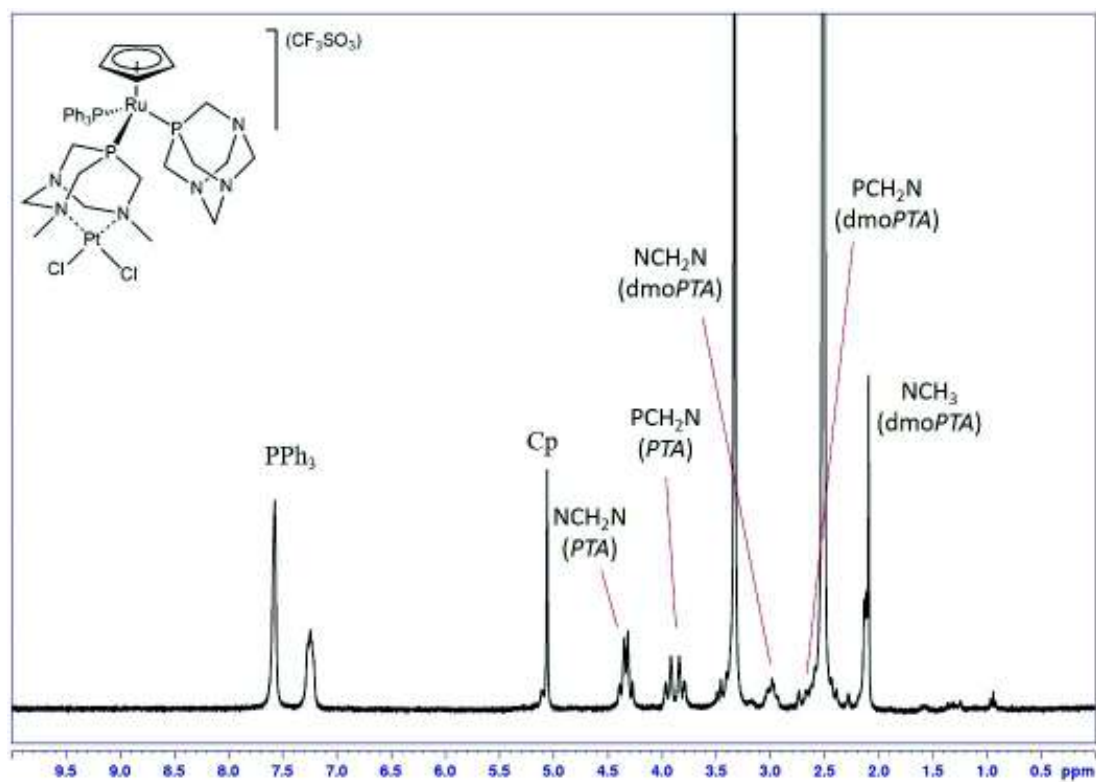


Figura A1.22. Espectro ^1H RMN (MHz, DMSO-d_6 , 25°C) de 7

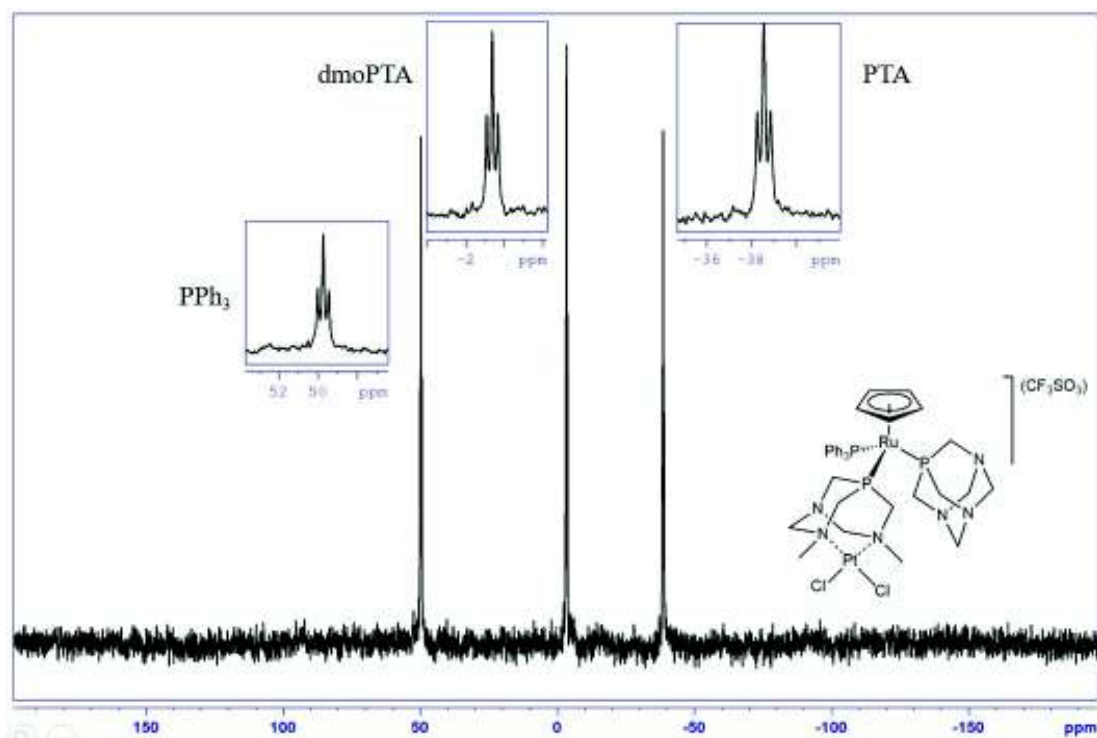


Figura A1.23. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (MHz, DMSO-d_6 , 25°C) de **7**

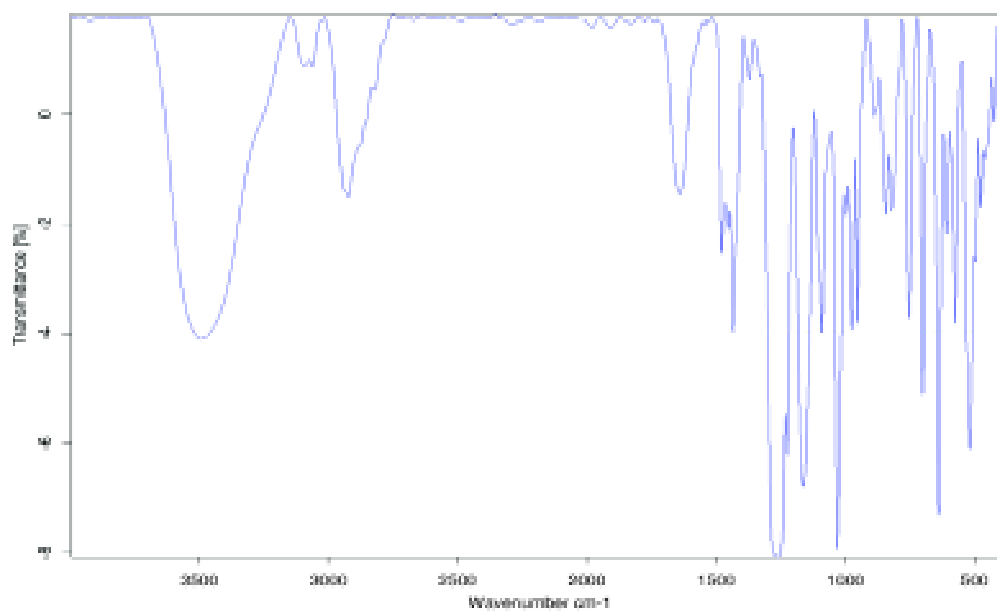


Figura A1.24. Espectro IR (KBr) de **8**

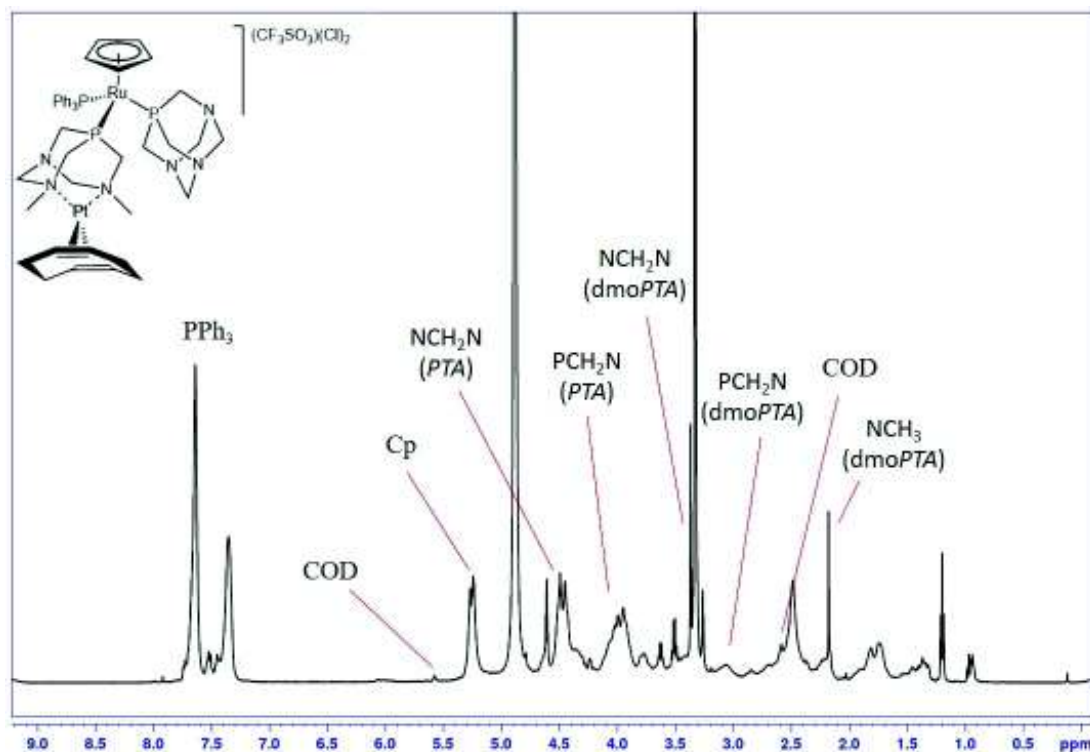


Figura A1.25. Espectro ^1H RMN (500.13MHz, MeOD-d_4 , 25°C) de **8**

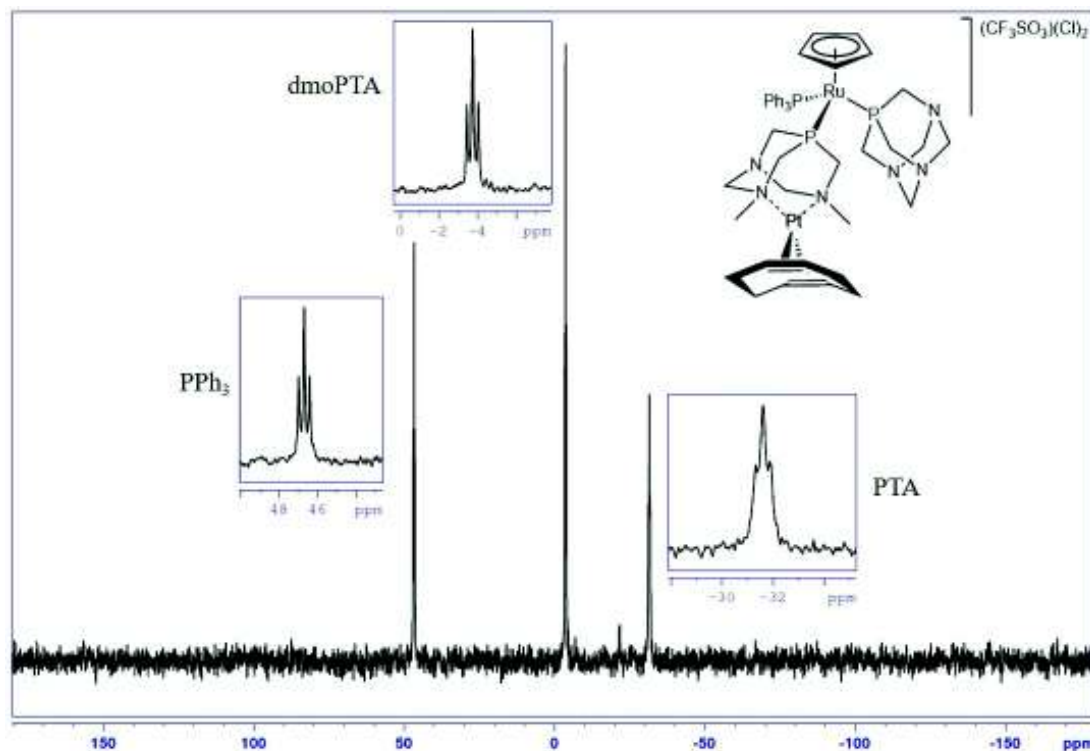


Figura A1.26. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (202.46MHz, MeOD-d_4 , 25°C) de **8**

ANEXO 2: DATOS CRISTALOGRAFICOS

| | |
|---|---|
| Fórmula empírica | C ₃₈ H ₅₆ F ₃ N ₇ O ₃ P ₃ RuS |
| Peso molecular | 941.93 |
| Sistema cristalino | P-1 |
| Grupo Espacial | Triclínico |
| <i>a</i> (Å) | 11.2640 (4) |
| <i>b</i> (Å) | 13.0913(4) |
| <i>c</i> (Å) | 15.3552(5) |
| α (°) | 88.848(2) |
| β (°) | 75.828(2) |
| γ (°) | 69.046(2) |
| <i>V</i> (Å ³) | 2041.22 (12) |
| <i>Z</i> | 2 |
| Densidad calculada (g·cm ⁻³) | 1.533 |
| Coefficiente de absorción (mm ⁻¹) | 5.211 |
| F(000) | 978.0 |
| Datos/restricciones/parámetros | 7668/27/497 |
| Índices finales R [<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)] | 0.0490 (6998) |
| Índice wR ₂ (todos los datos) | 0.059 (7668) |
| Bondad del ajuste en F ² | 1.058 |

Tabla A2.1. Datos cristalográficos y de refinamiento de la estructura cristalina de

| Átomo 1 | Átomo 2 | Longitud de enlace (Å) |
|----------------|----------------|-------------------------------|
| Ru1 | P1 | 2.3067(10) |
| Ru1 | P2 | 2.3008(10) |
| Ru1 | P3 | 2.3121(10) |
| Ru1 | C32 | 2.238(4) |
| Ru1 | C33 | 2.232(4) |
| Ru1 | C34 | 2.248(4) |
| Ru1 | C35 | 2.252(4) |
| Ru1 | C36 | 2.251(4) |
| N1 | N3 | 3.564(7) |

Tabla A2.2. Longitudes de enlace seleccionadas de **3**

| Átomo 1 | Átomo 2 | Átomo 3 | Ángulo (°) |
|---------|---------|---------|------------|
| P1 | Ru1 | P3 | 95.94(4) |
| P2 | Ru1 | P1 | 94.11(4) |
| P2 | Ru1 | P3 | 98.63(4) |
| C36 | Ru1 | P1 | 123.81(11) |
| C36 | Ru1 | P3 | 139.37(11) |
| C36 | Ru1 | P2 | 87.51(11) |
| C36 | Ru1 | C35 | 36.37(15) |
| C35 | Ru1 | P1 | 93.72(11) |
| C35 | Ru1 | P3 | 147.72(11) |
| C35 | Ru1 | P2 | 111.31(11) |
| C33 | Ru1 | P1 | 128.06(12) |
| C33 | Ru1 | P3 | 88.68(11) |
| C33 | Ru1 | P2 | 136.35(12) |
| C33 | Ru1 | C36 | 61.46(16) |
| C33 | Ru1 | C35 | 61.48(16) |
| C33 | Ru1 | C34 | 36.73(16) |
| C33 | Ru1 | C32 | 37.02(16) |
| C34 | Ru1 | P1 | 95.48(12) |
| C34 | Ru1 | P3 | 110.80(12) |
| C34 | Ru1 | P2 | 147.81(12) |
| C34 | Ru1 | C36 | 61.76(15) |
| C34 | Ru1 | C35 | 37.45(16) |
| C32 | Ru1 | P1 | 154.64(11) |
| C32 | Ru1 | P3 | 102.67(11) |
| C32 | Ru1 | P2 | 99.88(12) |
| C32 | Ru1 | C36 | 37.02(15) |
| C32 | Ru1 | C35 | 61.51(15) |
| C32 | Ru1 | C34 | 61.93(16) |

Tabla A2.3. Ángulos de enlace seleccionados de **3**

| | |
|---|------------------------------------|
| Fórmula empírica | $C_{39}H_{54}F_9N_6O_{12}P_3RuS_3$ |
| Peso molecular | 1260.04 |
| Sistema cristalino | Triclínico |
| Grupo Espacial | P-1 |
| a (Å) | 12.2349(14) |
| b (Å) | 13.2752(15) |
| c (Å) | 16.7049(19) |
| α (°) | 86.554(6) |
| β (°) | 84.823(6) |
| γ (°) | 70.111(6) |
| V (Å ³) | 2539.7(5) |
| Z | 2 |
| Densidad calculada (g·cm ⁻³) | 1.648 |
| Coefficiente de absorción (mm ⁻¹) | 5.415 |
| F(000) | 1288.0 |
| Datos/restricciones/parámetros | 9525/669/646 |
| Índices finales R [$I > 2\sigma(I)$] | 0.0731 (9525) |
| Índice wR_2 (todos los datos) | 0.1984 (9525) |
| Bondad del ajuste en F^2 | 0.781 |

Tabla A2.4. Datos cristalográficos y de refinamiento de la estructura cristalina de

| Átomo 1 | Átomo 2 | Longitud de enlace (Å) |
|---------|---------|------------------------|
| Ru1 | P1 | 2.2819(15) |
| Ru1 | P2 | 2.2833(14) |
| Ru1 | P3 | 2.3440(13) |
| Ru1 | C14 | 2.247(5) |
| Ru1 | C15 | 2.236(5) |
| Ru1 | C16 | 2.237(6) |
| Ru1 | C17 | 2.237(6) |
| Ru1 | C18 | 2.232(5) |
| N2 | N3 | 2.682(9) |

Tabla A2.5. Longitudes de enlace seleccionadas de **5**

| Átomo 1 | Átomo 2 | Átomo 3 | Ángulo (°) |
|---------|---------|---------|------------|
| P1 | Ru1 | P2 | 95.63(5) |
| P1 | Ru1 | P3 | 97.07(5) |
| P2 | Ru1 | P3 | 97.15(5) |
| C14 | Ru1 | P1 | 92.41(16) |
| C14 | Ru1 | P2 | 149.53(15) |
| C14 | Ru1 | P3 | 110.97(15) |
| C15 | Ru1 | P1 | 90.82(18) |
| C15 | Ru1 | P2 | 112.70(16) |
| C15 | Ru1 | P3 | 148.22(16) |
| C16 | Ru1 | P1 | 122.16(18) |
| C16 | Ru1 | P2 | 89.50(16) |
| C16 | Ru1 | P3 | 139.42(18) |
| C17 | Ru1 | P1 | 151.64(17) |
| C17 | Ru1 | P2 | 101.91(17) |
| C17 | Ru1 | P3 | 102.59(17) |
| C18 | Ru1 | P1 | 125.30(16) |
| C18 | Ru1 | P2 | 137.71(16) |
| C18 | Ru1 | P3 | 88.67(15) |

Tabla A2.6. Ángulos de enlace seleccionados de **5**

| | |
|---|---|
| Fórmula empírica | C ₂₀ H ₂₁ Cl ₂ OPPtS |
| Peso molecular | 606.39 |
| Sistema cristalino | P-1 |
| Grupo Espacial | Triclínico |
| <i>a</i> (Å) | 10.2325(3) |
| <i>b</i> (Å) | 10.5088(3) |
| <i>c</i> (Å) | 12.4298(4) |
| <i>α</i> (°) | 65.9790(10) |
| <i>β</i> (°) | 71.4630(10) |
| <i>γ</i> (°) | 61.1270(10) |
| <i>V</i> (Å ³) | 1056.70(6) |
| <i>Z</i> | 2 |
| Densidad calculada (g·cm ⁻³) | 1.906 |
| Coefficiente de absorción (mm ⁻¹) | 16.437 |
| F(000) | 584 |
| Datos/restricciones/parámetros | 3665/188/237 |
| Índices finales R [<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)] | 0,0346 (3665) |
| Índice wR ₂ (todos los datos) | 0,0412 (3665) |
| Bondad del ajuste en F ² | 1.124 |

Tabla A2.7. Datos cristalográficos y de refinamiento de la estructura de [PtCl₂(DMSO)(PPh₃)]

| Átomo 1 | Átomo 2 | Longitud de enlace (Å) |
|----------------|----------------|-------------------------------|
| Pt1 | S1D | 2.2260 (16) |
| Pt1 | P1 | 2.2611 (17) |
| Pt1 | Cl1 | 2.969 (16) |
| Pt1 | Cl2 | 2.3615 (16) |
| P1 | C1 | 1.823 (7) |
| P1 | C7 | 1.835 (7) |
| P1 | C13 | 1.809 (6) |

Tabla A2.8. Longitudes de enlace seleccionadas de [PtCl₂(DMSO)(PPh₃)]

| Átomo 1 | Átomo 2 | Átomo 3 | Ángulo (°) |
|---------|---------|---------|------------|
| S1D | Pt1 | P1 | 91.57 (6) |
| S1D | Pt1 | Cl1 | 176.29 (6) |
| S1D | Pt1 | Cl2 | 88.13 (6) |
| P1 | Pt1 | Cl1 | 92.02 (6) |
| P1 | Pt1 | Cl2 | 177.33 (6) |
| Cl1 | Pt1 | Cl2 | 88.32 (6) |
| O1D | S1D | Pt1 | 118.4 (2) |
| O1D | S1D | C2D | 108.9 (3) |
| O1D | S1D | C1D | 107.5 (3) |
| C2D | S1D | Pt1 | 108.7 (3) |
| C1D | S1D | Pt1 | 110.1 (3) |
| C1D | S1D | C2D | 102.0 (4) |
| C1 | P1 | Pt1 | 113.2 (2) |
| C1 | P1 | C7 | 102.4 (3) |
| C7 | P1 | Pt1 | 119.6 (2) |
| C13 | P1 | Pt1 | 108.5 (2) |
| C13 | P1 | C1 | 108.7 (3) |
| C13 | P1 | C7 | 103.6 (3) |

Tabla A2.9. Ángulos de enlace seleccionados de [PtCl₂(DMSO)(PPh₃)]