

Disseny i caracterització de complexos de ruteni amb potencial activitat anticancerígena

Estudiant: Lidia Roldán Galán

Correu electrònic: lidiaroldan96@gmail.com

Tutor: Montserrat Rodríguez Pizarro

Vistiplau tutor:

Nom del tutor: Montserrat Rodríguez Pizarro

Empresa/Institució: Universitat de Girona

Correu electrònic: montse.rodriguez@udg.edu

20 de juny de 2018

RESUM

En aquest treball final de grau s'han dut a terme diferents rutes sintètiques per obtenir nous complexos de ruteni (II). Aquests compostos han estat sintetitzats amb la intenció de caracteritzar-los completament per a que posteriorment es pugui avaluar el seu potencial com antitumorals.

Es descriu la síntesi de dues famílies de compostos de ruteni. Per una banda s'ha sintetitzat el compost $[Ru^{II}Cl_2(DMSO)_2(bpy-Cl_2)]$ [2] a partir de $[Ru^{II}(DMSO)_4Cl_2]$ en presència del lligand $bpy-Cl_2$. Aquest compost té dos lligands cloro, dos lligands DMSO i un lligand simètric $bpy-Cl_2$, essent així un compost octaèdric. En aquest cas es du a terme la síntesi mitjançant dues rutes sintètiques, una d'elles dona com a resultat una mescla d'isòmers *cis-Cl,cis-DMSO*-[2] i *cis-Cl,trans-DMSO*-[2], i l'altra dona lloc a un únic isòmer *cis-Cl,cis-DMSO*-[2].

D'altra banda s'ha sintetitzat el complex $[Ru^{II}Cl_2(bpy-Cl_2)_2]$ [4], que conté dos lligands $bpy-Cl_2$ i dos lligands cloro. La síntesi s'ha dut a terme a partir de la sal hidratada $Ru^{III}Cl_3 \cdot 2.53H_2O$ també en presència del lligand $bpy-Cl_2$. En aquest cas s'obté un únic isòmer, el *cis-Cl*-[4].

Els compostos obtinguts han estat caracteritzats en dissolució mitjançant tècniques espectroscòpiques (RMN, UV-VIS) i espectromètriques (ESI-MS) i en estat sòlid mitjançant espectroscòpia infraroja (IR). Les propietats redox dels compostos han estat mesurades a través de voltametria cíclica (CV).

Per últim, s'ha estudiat l'estabilitat del complex [2] en funció del temps en una dissolució d'aigua amb 4% de DMSO per mitjà d'espectroscòpia UV-VIS. Els resultats posen de manifest que el compost [2] és estable en aquest medi al llarg de 72 hores i és per tant bon candidat per ser estudiat com anticancerígen.

RESUMEN

En este trabajo final de grado se han llevado a cabo diferentes rutas sintéticas para obtener nuevos complejos de rutenio (II). Estos compuestos han sido sintetizados con la intención de caracterizarlos completamente para que posteriormente se pueda evaluar su potencial como antitumoral.

Se describe la síntesis de dos familias de compuestos de rutenio. Por un lado se ha sintetizado el compuesto $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}_2(\text{DMSO})_2(\text{bpy-Cl}_2)]$ [2] a partir de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$ en presencia del ligando bpy-Cl_2 . Este compuesto contiene dos ligandos cloro, dos ligandos DMSO y un ligando simétrico bpy-Cl_2 . En este caso se lleva a cabo la síntesis mediante dos rutas sintéticas, una de ellas da como resultado una mezcla de isómeros *cis-Cl,cis-DMSO*-[2] y *cis-Cl,trans-DMSO*-[2], y la otra proporciona un único isómero *cis-Cl,cis-DMSO*-[2].

Por otro lado se ha sintetizado en complejo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}_2(\text{bpy-Cl}_2)_2]$ [4], que contiene dos ligandos bpy-Cl_2 y dos ligandos cloro. En este caso la síntesis se ha llevado a cabo a partir de la sal hidratada $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3 \cdot 2.53\text{H}_2\text{O}$ también en presencia del ligando bpy-Cl_2 . En este caso se obtiene un único isómero, el *cis-Cl*-[4].

Los tres compuestos obtenidos han sido caracterizados en disolución mediante técnicas espectroscópicas (RMN, UV-VIS) i espectrométricas (ESI-MS) y en estado sólido mediante espectroscopía infrarroja (IR). Las propiedades redox de los compuestos han sido medidas a través de voltametría cíclica (CV).

Por último, se ha estudiado la estabilidad química del complejo [2] en función del tiempo en una disolución de agua con un 4% de DMSO por medio de espectroscopía UV-VIS. Los resultados ponen de manifiesto que el compuesto [2] es estable en este medio a lo largo de 72 horas y es por tanto buen candidato para ser estudiado como anticancerígeno.

ABSTRACT

In this final project different synthetic routes have been followed to obtain new ruthenium (II) complexes. These compounds have been synthesized with the intention of characterizing them completely so that their potential as anti-tumor can be evaluated.

The synthesis of two families of ruthenium compounds is described. On the one hand, compound $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}_2(\text{DMSO})_2(\text{bpy-Cl}_2)]$ [2] has been synthesized from $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$ in the presence of the bpy-Cl_2 ligand. This compound has two chlorido ligands, two DMSO ligands and a symmetric ligand bpy-Cl_2 , being thus an octahedral complex. In this case the synthesis is carried out using two synthetic routes, one of which results in a mixture of isomers cis-Cl , $\text{cis-DMSO-}[2]$ and cis-Cl , $\text{trans-DMSO-}[2]$, and the other one gave rise to a single isomeric cis-Cl , $\text{cis-DMSO-}[2]$.

On the other hand, the complex $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}_2(\text{bpy-Cl}_2)_2]$ [4], which contains two bpy-Cl_2 ligands and two chlorido ligands, has been also synthesized. In this case the synthesis was carried out from the hydrated salt $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3 \cdot 2.53\text{H}_2\text{O}$ also in the presence of the ligand bpy-Cl_2 . In this case a unique isomer is obtained, the $\text{cis-Cl-}[4]$.

The compounds obtained have been characterized in solution using spectroscopic (NMR, UV-VIS) and spectrometric (ESI-MS) techniques and in solid state by infrared (IR) spectroscopy. The redox properties of the compounds have been measured through cyclic voltammetry (CV).

Finally, the stability of the complex [2] in water dissolution containing 4% DMSO was studied by means of UV-VIS spectroscopy. The results show that the compound [2] is stable throughout 72 h and is thus a good candidate for being studied as an anticancer agent.

ABREVIACIONS

A	Ampers
Bpy-Cl ₂	4,4'-dicloro-2,2'-bipiridina
COSY	Espectroscòpia de correlació
d	Doblet
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfòxid
E	Potencial
E _{1/2}	Potencial d'ona mitja
E _{pa}	Potencial de pic anòdic
E _{pc}	Potencial de pic catòdic
ESI-MS	Espectrometria de masses d'ionització electromagnètica
h	Hores
HMBC	Connectivitat heteronuclear a enllaços múltiples
HSQC	Coherència heteronuclear quàntica simple
I	Intensitat
IR	Espectroscòpia infraroja
J	Constant d'acoblament
M	Metall
m/z	Ratio massa/càrrega
MLCT	Transferència de càrrega de metall a lligand
NOESY	Espectroscòpia de millorament nuclear d'Overhauser
RMN	Espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear
s	Singlet
t	Triplet
T	Transmitància
TLC	Cromatografia de capa fina
UV-VIS	Espectroscòpia ultraviolada visible
VC	Voltametria cíclica
vs	Versus
ε	Coefficient d'extinció
λ	Longitud d'ona

Taula de continguts

1. INTRODUCCIÓ	7
1.1 Propietats dels complexos de ruteni	7
1.2 Complexos de ruteni amb lligands DMSO	7
1.3 Complexos de ruteni com agents antitumorals.....	8
2. OBJECTIVES	10
3. PART EXPERIMENTAL	11
3.1 Instrumentació.....	11
3.2 Preparacions.....	12
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	13
4.1 Síntesi i determinació estructural.....	13
4.2 Caracterització espectroscòpica	18
4.2.1 Espectroscòpia IR.....	18
4.2.2 Propietats electroquímiques.....	21
4.2.3 Espectroscòpia UV-VIS	22
4.2.4 ESI-MS	24
4.3 Estabilitat química en solució aquosa	25
5. CRITERIS ÈTICS I DE SOSTENIBILITAT	26
6. CONCLUSIONS.....	27
7. BIBLIOGRAFIA.....	28

1. INTRODUCCIÓ

1.1 Propietats dels complexos de ruteni

El ruteni és un metall de transició que va ser descobert per Karl Ernst Claus l'any 1844. Aquest metall pertany al bloc d de la taula periòdica i presenta la configuració electrònica $[\text{Kr}]4d^75s^1$. El ruteni és l'únic element de la taula periòdica, juntament amb l'osmi, que cobreix el rang d'11 estats d'oxidació teòricament possibles per a un metall de transició (de d0 a d10), de -2 com en $[\text{Ru}(\text{CO})_4]^{2-}$ a +8 com en RuO_4 ; cadascun d'ells amb diferents geometries de coordinació¹.

L'estabilitat cinètica dels complexos de ruteni en diferents estats d'oxidació, la naturalesa sovint reversible dels parells redox i la seva fàcil preparació fan que aquests complexos siguin especialment interessants.

Els complexos de ruteni són àmpliament utilitzats i estudiats en diferents camps químics. Les seves propietats i aplicacions estan correlacionades amb la naturalesa dels lligands coordinats amb els ions metàl·lics centrals. Els complexos de ruteni amb lligands N-donadors heterocíclics són els més usats per les seves interessants propietats espectroscòpiques, fotofísiques i electroquímiques², que donen lloc a possibles aplicacions en moltes àrees diferents.

D'altra banda, els complexos de ruteni amb lligands π -conjugats o sistemes que permeten la deslocalització electrònica han mostrat propietats específiques en òptica no lineal, magnetisme, sensors moleculars i cristalls líquids³. A més, els complexos de sulfòxid i polipiridil han estat àmpliament estudiats degut a la seva utilitat en quimioteràpia⁴.

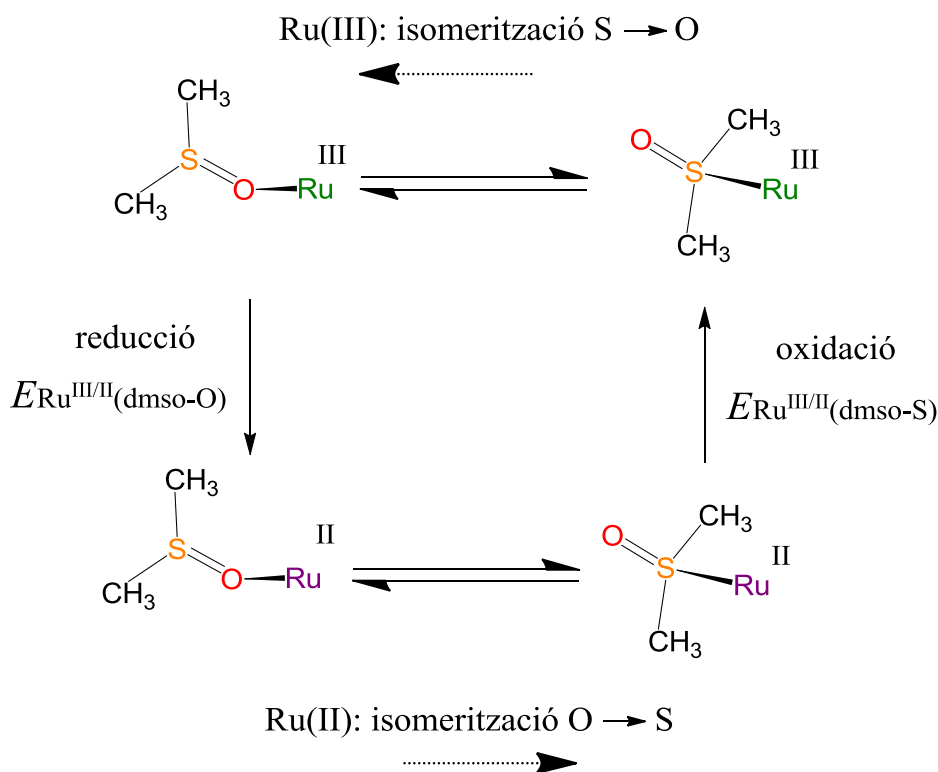
1.2 Complexos de ruteni amb lligands DMSO

La química dels complexos de metalls de transició amb lligands sulfòxid s'ha expandit ràpidament des de la seva primera obtenció en els anys 90⁵. Un dels aspectes interessants d'aquests compostos es basa en la seva utilitat en química mèdica com a compostos antitumorals⁶.

Les propietats d'aquests tipus de compostos estan directament relacionades amb la naturalesa de l'enllaç metall-sulfòxid. Els complexos de ruteni tenen la capacitat de ser coordinats per àtoms d'oxigen i de sofre en funció de l'estat d'oxidació del metall, podent mostrar isomeria d'enllaç. És per aquest motiu que cal conèixer els factors que afecten a la manera en que es coordina el metall amb el lligand DMSO per a l'estudi d'aquest tipus de complexos.

El lligand DMSO es coordina a través de l'àtom de sofre amb elements de la segona i tercera sèrie de transició (com la configuració $\text{Ru(II)} d^6$ de baix spin) i amb alguns metalls del grup VI i VII. L'enllaç del metall amb l'oxigen del lligand és comú en metalls com el Ru(III) . Segons la teoria d'àcid-base de Pearson, els orbitals difusos dels ions de metalls tous es superposen millor amb altres orbitals molt estesos, com els donadors S. L'enllaç M-S s'afavoreix quan existeix π -retrodonació d'orbitals metàl·lics

a orbitals DMSO ja que aquest lligand té propietats π -acceptores. Això passa amb el Ru(II), que estabilitza l'enllaç Ru-S produint densitat d'electrons π als orbitals buits del lligand DMSO. Quan hi ha una oxidació de Ru(II) a Ru(III) es disminueix la capacitat de π -retrodonació dels orbitals metàl·lics als orbitals DMSO i la distància Ru-S augmenta, produint-se la isomerització de l'enllaç, on el metall quedarà enllaçat al oxigen. Aquesta tendència s'ha confirmat en nombrosos complexos Ru-DMSO⁷.



Esquema 1. Procés d'isomerització de l'enllaç Ru-DMSO.

A més, els complexos Ru (III) amb lligands S-dmsO en la seva esfera de coordinació presenten una altra característica: a causa de les propietats π -acceptores del S-dmsO, el seu potencial redox és especialment elevat i la seva reducció *in vivo* a Ru (II) és favorable, fent-los més làbils i, per tant, més actius.

1.3 Complexos de ruteni com agents antitumorals

Els fàrmacs antitumorals estan dissenyats per inhibir la síntesi d'ADN per dos mecanismes: el fàrmac pot actuar per intercalació amb l'ADN o bé pot interferir amb les molècules necessàries per a la seva replicació. En qualsevol cas el que es busca és l'apoptosi de les cèl·lules tumorals.

Fins a dia d'avui el camp dels fàrmacs contra el càncer basats en metalls ha estat dominat pel platí, més concretament pel cisplatí (*cis*-[PtCl₂(NH₃)₂]). Aquest compost és el més utilitzat en medicina però presenta diversos inconvenients; no és efectiu contra tot tipus de càncer, diverses línies cel·lulars poden presentar resistència cap a ell i, a més, té una àmplia gama d'efectes secundaris.

Per superar aquestes limitacions s'han desenvolupat alguns compostos de ruteni com agents antitumorals, els quals tendeixen a causar menys efectes secundaris que els compostos basats en platí⁸.

Els complexos de ruteni presenten menys toxicitat que els compostos de platí gràcies a la seva major selectivitat. S'ha observat que els complexos basats en ruteni s'acumulen en creixements anormals de teixits o neoplasmes gràcies a la seva tendència d'unió a la transferrina, una glicoproteïna plasmàtica que controla els nivells de ferro lliure en fluids biològics. El teixit neoplàsic sobreexpressa els receptors de transferrina, que permet l'entrada dels complexos de ruteni a la cèl·lula per endocitosi⁹, i per això s'observa una major concentració d'aquests compostos en cèl·lules tumorals en comparació amb cèl·lules sanes¹⁰.

S'ha comprovat que els compostos de ruteni octaèdrics que contenen lligands polipiridílics i un o més bons grups sortints interactuen amb l'ADN intercalant-se seguint els mateixos passos que el cisplatí: s'alliberen els lligands làbils i es formen espècies *aqua* que s'uneixen a les nucleobases.

Els primers compostos de ruteni que van usar-se en assajos clínics van ser el NAMI-A i el KP1019. Ambdós compostos són complexos de Ru(III) amb lligands heterocíclics i clorurs i amb contraions heterocíclics.

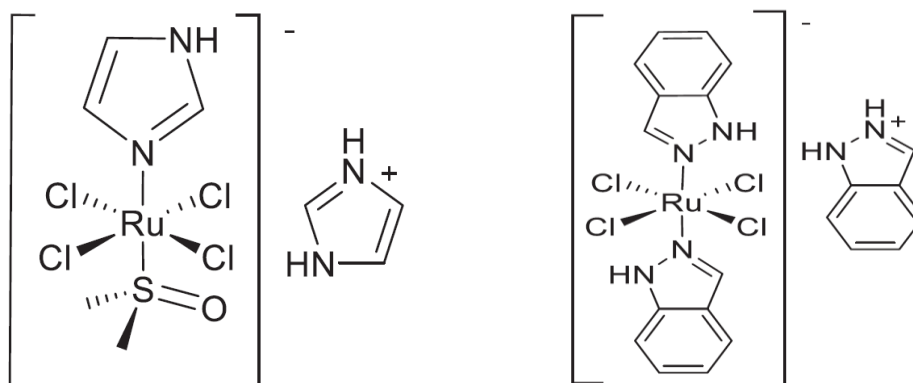


Figura 1. Estructures del NAMI-A (esquerra) i KP1019 (dreta), primers complexos de ruteni en ser investigats com agents anticancerígens.

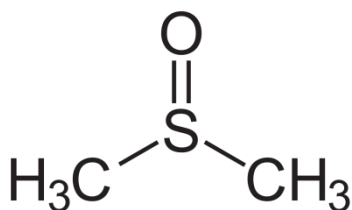
Quan es van fer assajos clínics amb el NAMI-A es va veure que provocava apoptosi cel·lular mitjançant unió a l'ADN. A més a més es va veure que el compost no només s'unia a l'ADN, sinó també a l'ARN i proteïnes. D'aquesta manera, el NAMI-A es va presentar com una gran promesa com agent antimetastasi degut a múltiples interaccions tant a l'interior com a l'exterior cel·lular¹¹.

D'altra banda, es va veure que el KP1019 estava localitzat principalment en el citoplasma i produïa també l'apoptosi cel·lular. En aquest cas l'efecte citotòxic apareix com a resultat de l'estrès del reticle endoplasmàtic degut a la generació d'espècies reactives d'oxigen.

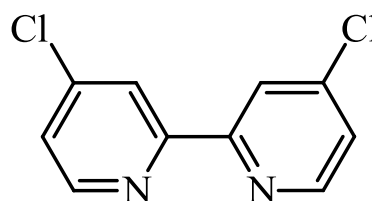
2. OBJECTIVES

The general objective of this work is to design new ruthenium compounds with both chelate and monodentate ligands, as well as their complete spectroscopic and electrochemical characterization. The goal is to obtain complexes that are stable in dissolution so that they can be studied as potential antitumor agents. The specific objectives are:

- Synthesis of new ruthenium (II) complexes with the 4,4'-dichloro-2,2'-bipyridine ligand together with monodentate chlorido and dimethylsulfoxide (DMSO) ligands:



Dimethylsulfoxide



4,4'-dichloro-2,2'-bipyridine

Figura 2. Ligands used in the synthesis of complexes.

- Complete characterization of the new synthesized complexes.
- Study of the chemical stability of the complexes in a water/DMSO solution through UV-VIS spectroscopy.

3. PART EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentació

Voltametria cíclica

Els experiments de VC s'han realitzat en un potenciostat IJ-Cambria IH-660 mitjançant una cel·la de tres elèctrodes. Com a elèctrode auxiliar s'ha utilitzat un fil de platí, SCE com a elèctrode de referència i com elèctrode de treball un disc de grafit de 3mm de diàmetre.

Les voltametries s'han registrat utilitzant una solució de diclorometà amb TBAH com a electrolit suport per proporcionar una solució de resistència iònica de 0.1M.

Tots els valors d' $E_{1/2}$ que es reporten en aquest treball s'han estimat a partir d'experiments de voltametria cíclica com la mitjana dels potencials dels pics oxidatius i reductius segons la fórmula següent:

$$E_{1/2} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2}$$

IR

Els espectres IR s'han realitzat utilitzant un espectrofotòmetre FTIR Agilent Technologies, Cary 630 equipat amb un sistema ATR, directament sobre les mostres sense cap tractament previ.

UV-VIS

L'espectroscòpia UV-VIS s'ha fet amb un espectrofotòmetre Cary 50 Scan (Varian) amb cel·les de quars d'1cm d'amplada.

Espectres de RMN

L'espectroscòpia de RMN s'ha realitzat en un Bruker DPX de 300MHz i 400MHz. Les mostres s'han mesurat en cloroform i metanol deuterats.

ESI-MS

Els experiments ESI-MS s'han dut a terme en un cromatògraf Navigator LC/MS de Thermo Quest Finnigan.

3.2 Preparacions

Els complexos sintetitzats en aquest treball s'han fet a partir de reactius comercials, sense cap purificació posterior.

Síntesi de *cis,cis*-[Ru^{II}Cl₂(DMSO)₂](bpy-Cl₂) i *cis,trans*-[Ru^{II}Cl₂(DMSO)₂](bpy-Cl₂) [2]

En el cas del complex [2] la síntesi s'ha fet a partir d'un procediment descrit en la bibliografia per a la síntesi d'un complex similar amb dos lligands DMSO i un lligand bidentat¹².

El lligand bpy-Cl₂ (0.166g, 0.738mmol) s'afegeix a una solució de [Ru^{II}(DMSO)₄Cl₂] [1] (0.3587g, 0.740mmol) en CH₃OH (15ml). El resultat d'aquesta solució es posa a reflux 4.5 hores sota N₂ i en absència de llum i s'obté una solució marronosa. Es para la reacció i es redueix el volum a 3ml. La solució es deixa a la nevera durant tota la nit. Es treu de la nevera i es filtra al buit, obtenint un sòlid marró que es renta dos vegades amb 3 ml de èter dietílic i s'asseca. Aquest sòlid és una mescla dels compostos *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] i *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2] amb una relació de 1:0.80. **Rendiment:** 0.2779g (68.11%). Per al compost *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] **¹H-RMN** (300MHz, cloroform-d): δ9.78(d,1H,10, J₁₀₋₉=6.12Hz), δ9.61(d, 1H, 1, J₁₋₂=6.21Hz), δ8.13(d, 1H, 7, J₇₋₉=1.8Hz), δ8.08(d, 1H, 4, J₄₋₃=2.04Hz), δ7.63(dd, 1H, 9, J₉₋₁₀=6.12Hz, J₉₋₇=1.86Hz), δ7.47 (dd, 1H, 2, J₂₋₁=6.24Hz, J₂₋₄=2.04Hz), δ3.52(s, 1H, 13), δ3.48(s, 1H, 12), δ3.22(s, 1H, 14), δ2.75(s, 1H, 11). **¹³C-RMN** (300MHz, cloroform-d): 160.0, C₅; 158.7, C₆; 156.9, C₃; 155.1, C₈; 155.1, C₁; 153.6, C₁₀; 126.9, C₉; 126.8, C₂; 123.76, C₄; 123.08, C₇; 47.2, C₁₃; 46.5, C₁₂; 45.5, C₁₄; 44.5, C₁₁. **IR (ν max, cm⁻¹):** 3060, 3012, 1398, 1306, 1086, 1007, 977, 715, 676. **E_{1/2} (CH₂Cl₂ + 0.1M TBAH):** 1.254V vs SCE. **ESI-MS [m/z]:** 518.9 ([M-Cl]⁺), 442.9 ([M-DMSO-Cl+H]⁺). **UV-VIS** (cloroform, 1·10⁻⁴M) [λ_{max} nm(ε, cm⁻¹ M⁻¹): 292 (945); 350(443). Per al compost *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2] **¹H-RMN** (300MHz, cloroform-d): δ9.59(d, 2H, 1, 10, J₁₀₋₉=J₁₋₂=6.21Hz), δ7.99(d, 2H, 4, 7, J₄₋₂=J₇₋₉=2.07Hz), δ7.53(dd, 2H, 2, 9, J₉₋₁₀=J₂₋₁=6.24, J₂₋₄=J₉₋₇=2.1Hz), δ3.08(s,12H,11, 12, 13, 14). **¹³C-RMN** (300MHz, cloroform-d): 157.0, C₅, C₆; 153.6, C₃, C₈; 156.9, C₁, C₁₀; 126.94, C₂, C₉; 123.23, C₄, C₇; 41.7, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄. **IR (ν max, cm⁻¹):** 3060, 3012, 1590, 1540, 1462, 901, 849. **E_{1/2} (CH₂Cl₂ + 0.1M TBAH):** 1.003V vs SCE.

L'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] pur es pot obtenir per mitjà d'una ruta sintètica alternativa. El lligand bpy-Cl₂ (0.046g, 0.204mmol) s'afegeix a una solució del complex [1] (0.101g, 0.208mmol) en CH₂Cl₂ (10ml). La solució resultant es posa 4.5 hores a reflux sota corrent de N₂ i en absència de llum i s'obté una solució ataronjada. Aquesta solució es refreda en un bany de gel protegint-la de la llum i, a continuació, s'afegeix èter dietílic (15ml). S'obté un precipitat taronja que es filtra al buit, es renta dos vegades amb 3ml d'èter dietílic i s'asseca. **Rendiment:** 0.0459 g (40.62%).

Síntesi de [Ru^{II}Cl₂(bpy-Cl₂)₂] [4]

Pel complex [4] la síntesi s'ha fet seguint un procediment anàleg al descrit en la bibliografia per a un lligand bipyridina sense substituir¹³.

El lligand bpy-Cl₂ (0.251g, 1.115mmol) s'afegeix a una solució de Ru^{III}Cl₃·2.53H₂O [3] (0.153g, 0.605mmol) i LiCl (0.180g, 4.246mmol) en DMF (15ml). El resultat de la solució es posa sota N₂ a reflux durant 24 hores en absència de llum. S'atura la reacció i es deixa refredar a temperatura ambient. A continuació es filtra la solució al buit i s'obté un sòlid marró que es recristal·litza dissolent-lo en 3 ml de metanol i fent precipitar amb 5 ml d'èter dietílic. Es torna a filtrar al buit i s'obté un sòlid verdós que es renta dues vegades amb 3 ml d'èter dietílic i s'asseca. **Rendiment:** 0.133g (38.46%). **¹H-RMN** (300MHz, metanol-d): δ8.80(d, 1H, 20, J₂₀₋₁₉=5.1Hz), δ8.66(d, 1H, 1, J₁₋₂=5.1Hz), δ7.65(d, 1H, 17, J₁₇₋₁₉=2.1Hz), δ7.60(d, 1H, 4, J₄₋₂=2.1Hz), δ7.50(d, 2H, 7, 14, J₇₋₉=J₁₄₋₁₂=1.9Hz), δ7.10(d, 1H, 11, J₁₁₋₁₂=4.9Hz), δ7.03(d, 1H, 10, J₁₀₋₉=5.1Hz), δ6.97(dd, 1H, 19, J₁₉₋₂₀=5.1Hz, J₁₉₋₁₇=2.1Hz), δ6.89(dd, 1H, 2, J₂₋₁=5.1Hz, J₂₋₄=2.1Hz), δ6.56(dd, 1H, 12, J₁₂₋₁₁=4.9Hz, J₁₂₋₁₄=1.9Hz), δ6.45(dd, 1H, 9, J₉₋₁₀=5.1Hz, J₉₋₇=1.9Hz). **¹³C-RMN** (400MHz, metanol-d): 158.3, C₁₆; 158.2, C₆; 157.8, C₅, C₁₅; 157.0, C₁₈, C₁₃; 156.5, C₈; 156.4, C₃; 154.7, C₁; 152.1, C₂₀; 150.5, C₁₀; 147.2, C₁₁; 110.8, C₂; 109.9, C₁₉; 109.7, C₉; 109.4, C₁₂; 106.4, C₁₇; 106.3, C₄; 105.7, C₇, C₁₄. **IR (ν max, cm⁻¹):** 3348, 3070, 2919, 1901, 1610, 1518, 1432, 1378, 1277, 1015, 829. **E_{1/2} (CH₂Cl₂ + 0.1M TBAH):** 0.523V vs SCE.

Mètode per a l'estudi de l'estabilitat del complex [2]

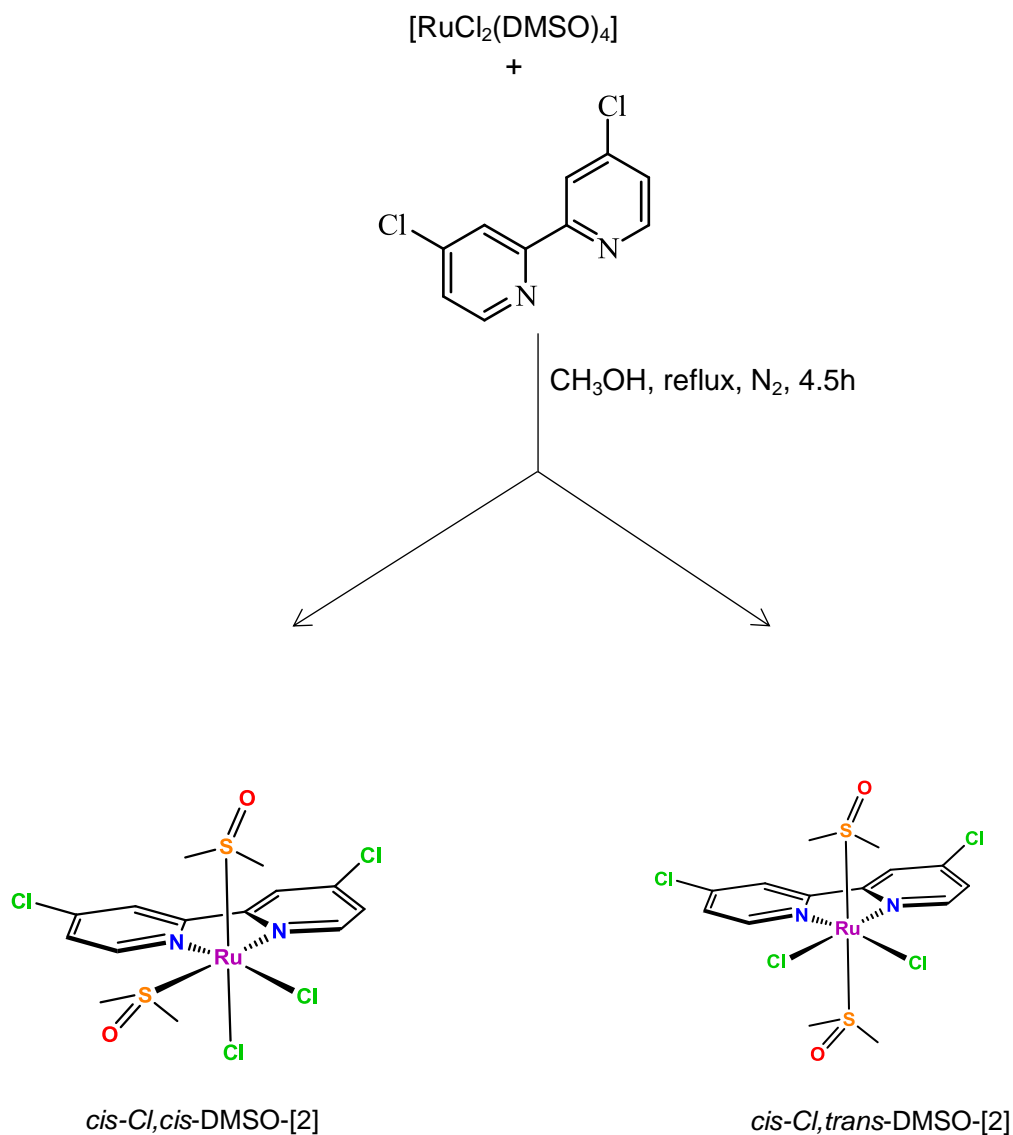
Una petita part de mostra de la mescla d'isòmers del complex [2] es dissol en una dissolució d'aigua amb un 4% de DMSO, obtenint així una dissolució de concentració 2·10⁻⁴M. Es valora l'estabilitat del complex en dissolució en front al temps utilitzant l'UV-VIS fent mesures des del moment de la preparació fins a 72 hores.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1 Síntesi i determinació estructural

Per tal de sintetitzar el complex [2] es du a terme la ruta sintètica que es mostra en l'Esquema 2.

Es du a terme una reacció a partir del complex [1] i el lligand bpy-Cl₂ en absència de llum, sota atmosfera de N₂ i amb CH₃OH com a dissolvent durant 4.5 hores. S'obté així el compost [2] en les formes *cis*-Cl, *cis*-DMSO-[2] i *cis*-Cl, *trans*-DMSO-[2], tal com s'observa en l'Esquema 2.



Esquema 2. Ruta per la síntesi del complex [2].

A partir de l'espectre de ¹H-RMN que es pot observar en la Figura 3 es pot deduir que el producte obtingut en aquest cas és una mescla d'isòmers. Per una banda hi ha l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] que és asimètric i, per tant, es veuen 4 senyals per als protons dels metils dels DMSO a la zona entre 2.7 i 3.5 ppm. D'altra banda s'observa un segon isòmer més simètric que es postula que seria *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2]. La simetria del complex fa que es vegi un únic senyal per als protons dels metils dels DMSO. Es descarta en principi que l'isòmer minoritari sigui *trans*-Cl,*cis*-DMSO-[2] perquè el fet que els dos lligands DMSO es trobin en *cis* en el mateix pla equatorial que conté el lligand bpy-Cl₂ presentaria grans impediments estèrics.

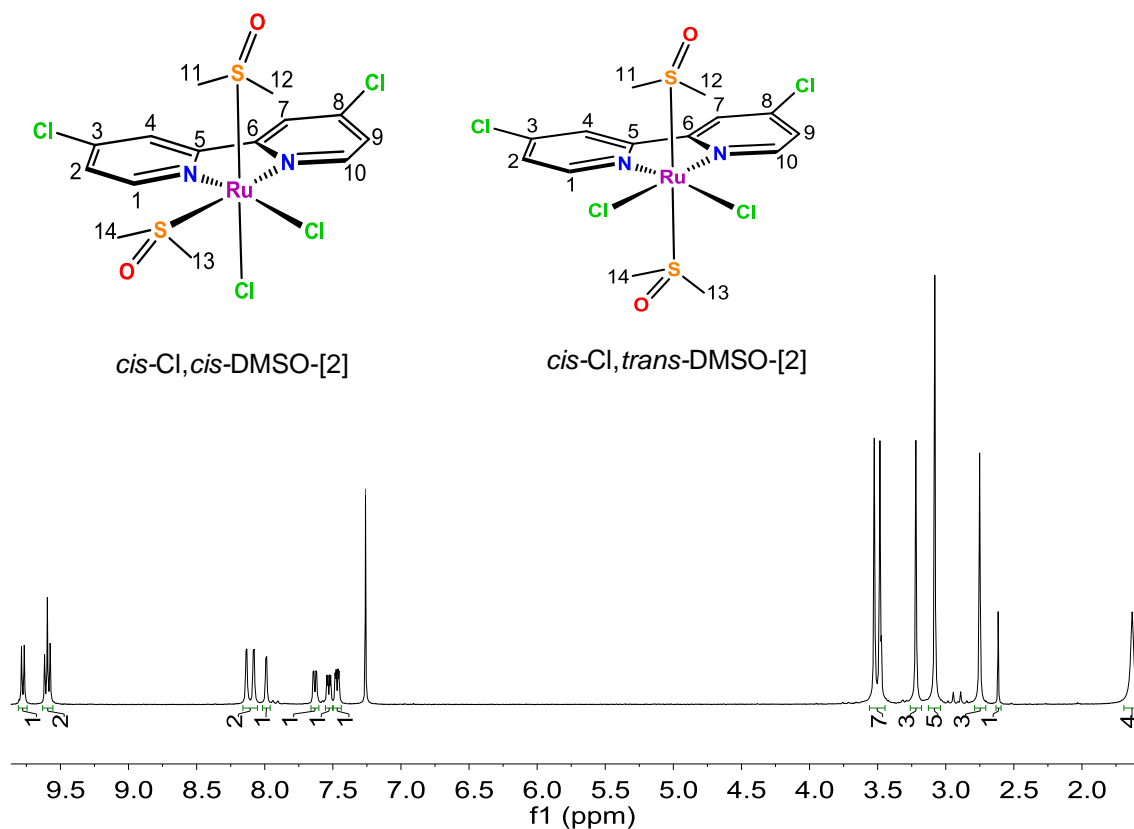


Figura 3. Espectre ^1H -RMN del complex [2].

Un cop s'obté el complex [2] com una mescla d'isòmers tal i com s'ha comentat anteriorment, es prova de fer una nova síntesi sota les mateixes condicions que l'anterior però amb un dissolvent la temperatura d'ebullició del qual fos més baixa que la del metanol, utilitzant CH_2Cl_2 . En aquest cas s'obté únicament l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2], essent així l'isòmer que s'obté quan els reactius de partida no poden superar una barrera energètica més alta i, per tant, l'isòmer que està afavorit cinèticament.

La Figura 4 mostra una ampliació a la zona aromàtica dels espectres de ^1H -RMN corresponents als productes obtinguts a reflux en metanol i en diclorometà. Es pot comprovar que seguint la ruta sintètica en diclorometà s'obté com a únic isòmer el *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2]. L'espectre que s'observa a la part inferior de la Figura 4 correspon a la mescla d'isòmers que s'obté seguint la ruta de l'Esquema 2 i l'espectre que s'observa a dalt correspon a l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] pur.

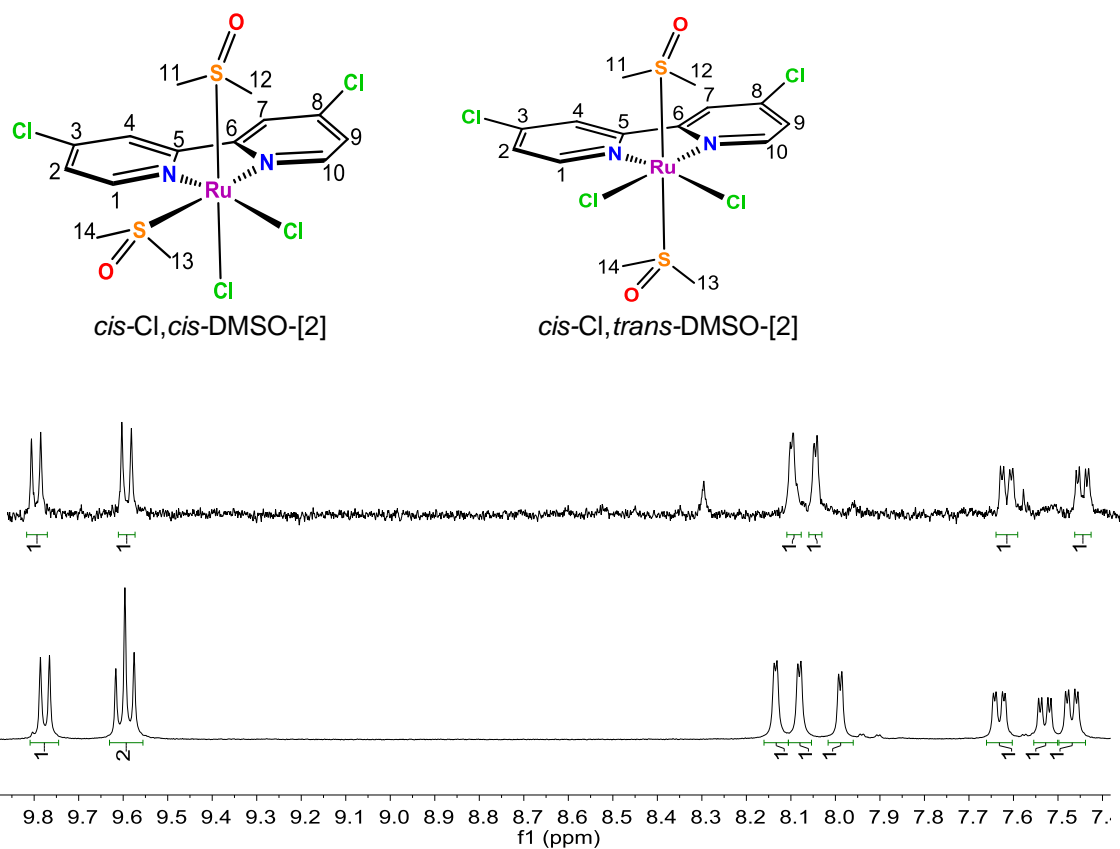


Figura 4. Espectre ^1H -RMN superposat de la mescla d'isòmers (a baix) i l'isòmer $\text{cis-CI,trans-DMSO-[2]}$ pur (a dalt).

Per a sintetitzar el complex [4] es va seguir la ruta que es mostra en l'Esquema 3. Es duu a terme una reacció a partir del triclorur de ruteni i el lligand bpy-Cl_2 en presència de LiCl , absència de llum, sota atmosfera de N_2 i amb DMF com a dissolvent durant 24 hores.

Aquesta síntesi podria conduir a la formació de dos isòmers, el cis-CI-[4] i el trans-CI-[4] , tal com es mostra en Figura 5. Un cop es finalitza la síntesi i es fa la caracterització es confirma que l'isòmer que s'obté és el cis-CI-[4] .

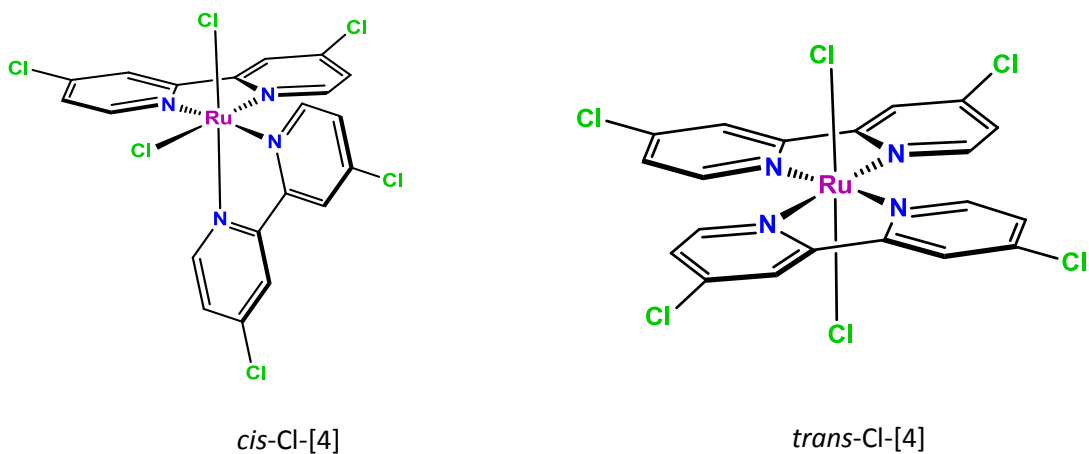
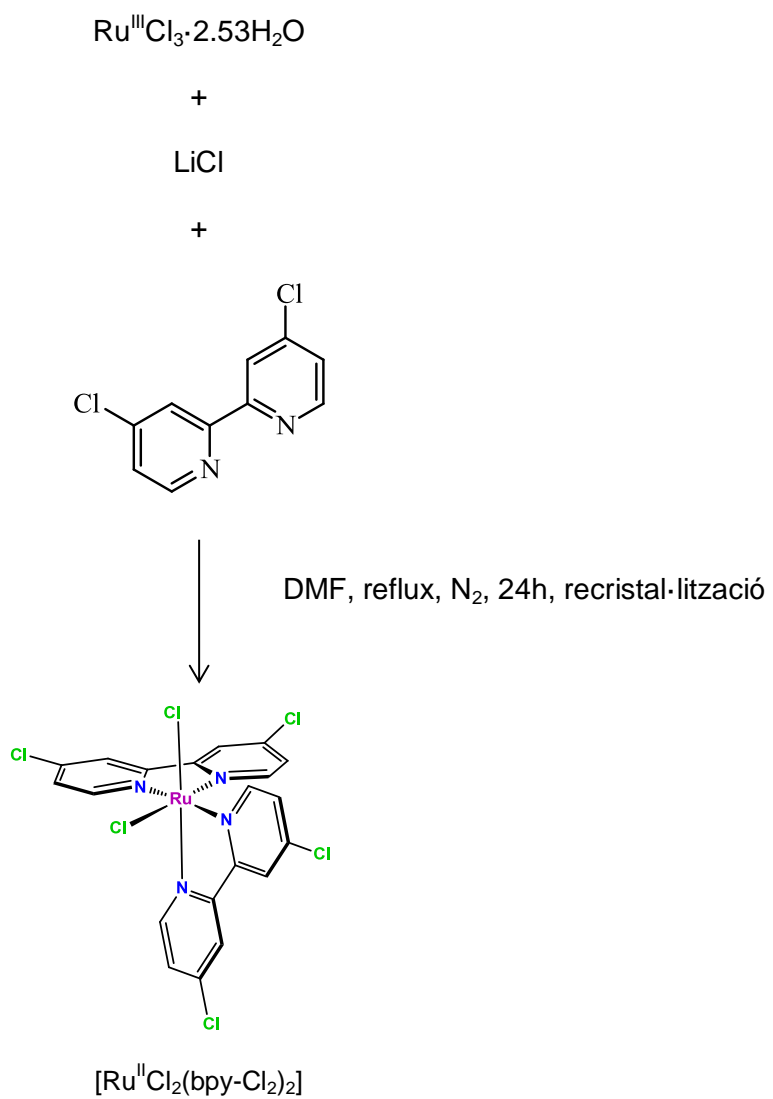


Figura 5. Isòmers *cis*-Cl-[4] i *trans*-Cl-[4].



Esquema 3. Ruta per la síntesi del complex [4].

A partir de l'espectre ^1H -RMN que es pot observar en la Figura 6 es demostra que el producte obtingut és el complex [4]. En principi caldria esperar la meitat de senyals que s'observen ja que, en una geometria octaèdrica regular, existirien sis parells de protons magnèticament equivalents. S'observa finalment un senyal per cada protó ja que el complex perd la simetria a causa de la disposició geomètrica dels lligands en l'espai, que possiblement porten a una geometria octaèdrica distorsionada. L'assignació de cada senyal amb el protó corresponent es fa gràcies als experiments bidimensionals COSY i NOESY. En el cas del carboni les assignacions es fan a través dels experiments HMBC i HSQC.

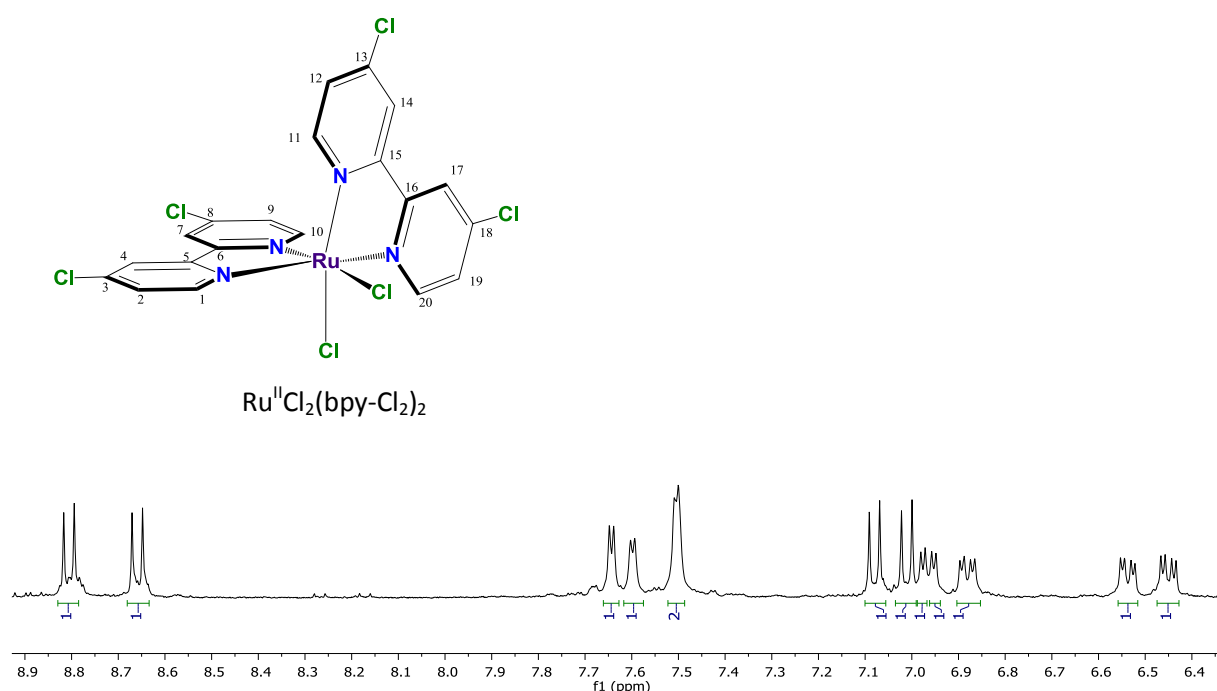


Figura 6. Espectre ^1H -RMN del complex [4].

4.2 Caracterització espectroscòpica

4.2.1 Espectroscòpia IR

L'espectroscòpia IR provoca vibracions moleculars de determinats grups funcionals que donen bandes característiques, permetent identificar-los. D'una banda hi ha la regió dels grups funcionals ($4000\text{-}1300\text{cm}^{-1}$) i per una altra la zona de l'empremta digital ($1300\text{-}900\text{cm}^{-1}$), que és característica per cada producte i és la zona que més informació proporciona.

La Figura 7 mostra l'espectre IR del complex [2] com una mescla de l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] i l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2]. En l'espectre s'observen pics al voltant de 3100cm^{-1} , que es poden atribuir als estiraments $\nu(\text{=C-H})$ corresponents al lligand bpy-Cl₂. Entre 1590 i 1500 hi ha pics que es poden assignar a l'estirament $\nu(\text{C=N})$ també dels lligands bpy-Cl₂. Entre 1400-1300 cm^{-1} s'observen bandes que s'atribueixen a les deformacions $\delta(\text{=C-H})$ en el pla. Les bandes d'entre 1100-980 cm^{-1} s'assignen a l'estirament $\nu(\text{S=O})$ que hi ha en els lligands DMSO. Per últim, l'absència de bandes significatives entre 920-930 cm^{-1} indica que el lligand DMSO està unit al metall a través de l'àtom de sofre.

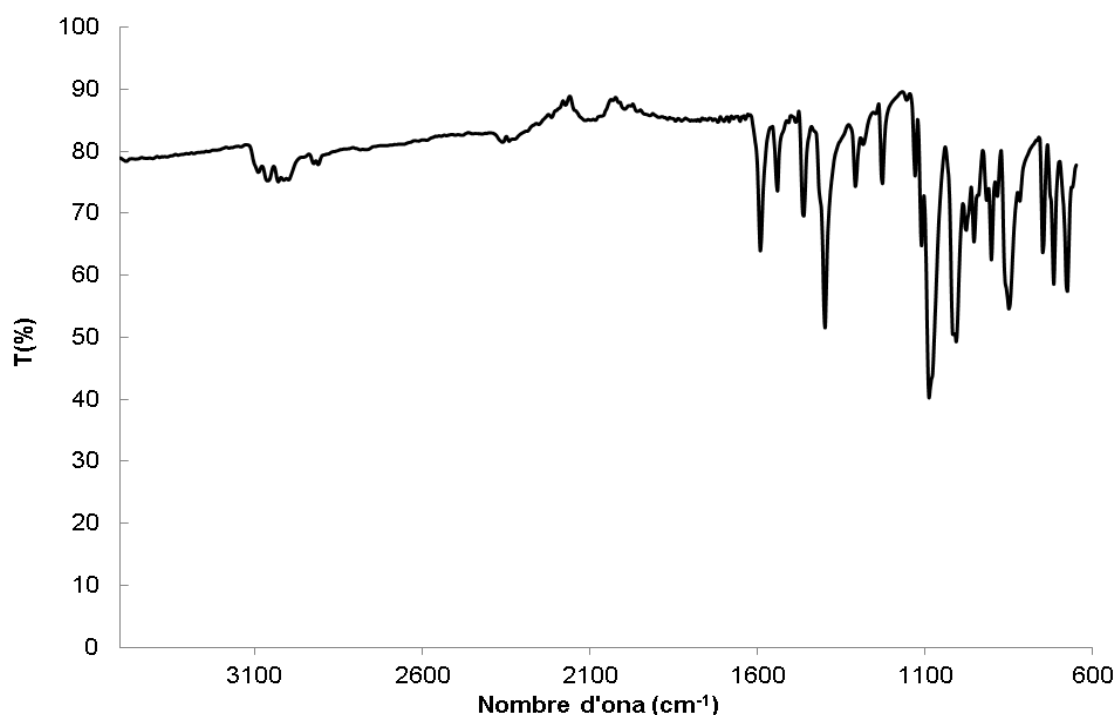


Figura 7. Espectre IR del complex [2] com a mescla de l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] i l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2].

En la Figura 8 es pot comparar l'espectre IR del complex [2] com a mescla de l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] i l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2] (a) amb l'espectre IR de l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] pur (b). Es poden observar bandes addicionals a l'espectre de la mescla, que corresponen a l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2].

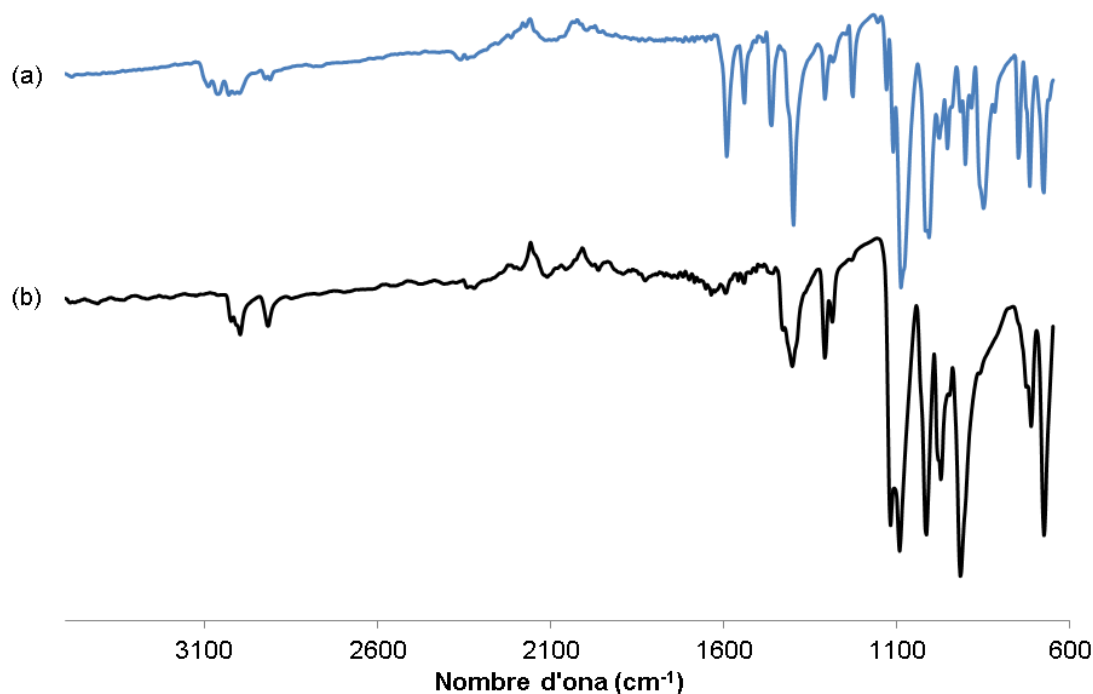


Figura 8. Espectres IR del complex [2] com a mescla d'isòmers (a) i del complex [2] com a isòmer pur (b).

En la Figura 9 es pot veure l'espectre IR corresponent al complex [4]. En aquest cas es veuen bandes al voltant de 3000cm^{-1} corresponents als estiraments $\nu(\text{=C-H})$ dels lligands bpy-Cl_2 . Entre $1610\text{-}1515\text{cm}^{-1}$ s'observen bandes que s'atribueixen a l'estirament $\nu(\text{C=N})$ també dels lligands bpy-Cl_2 . Entre $1430\text{-}1370\text{cm}^{-1}$ s'observen bandes corresponents a les deformacions $\delta(\text{=C-H})$ en el pla. La presència de bandes a 1065cm^{-1} i 829cm^{-1} poden atribuir-se a l'estirament $\nu(\text{C-Cl})$ del lligand bpy-Cl_2 .

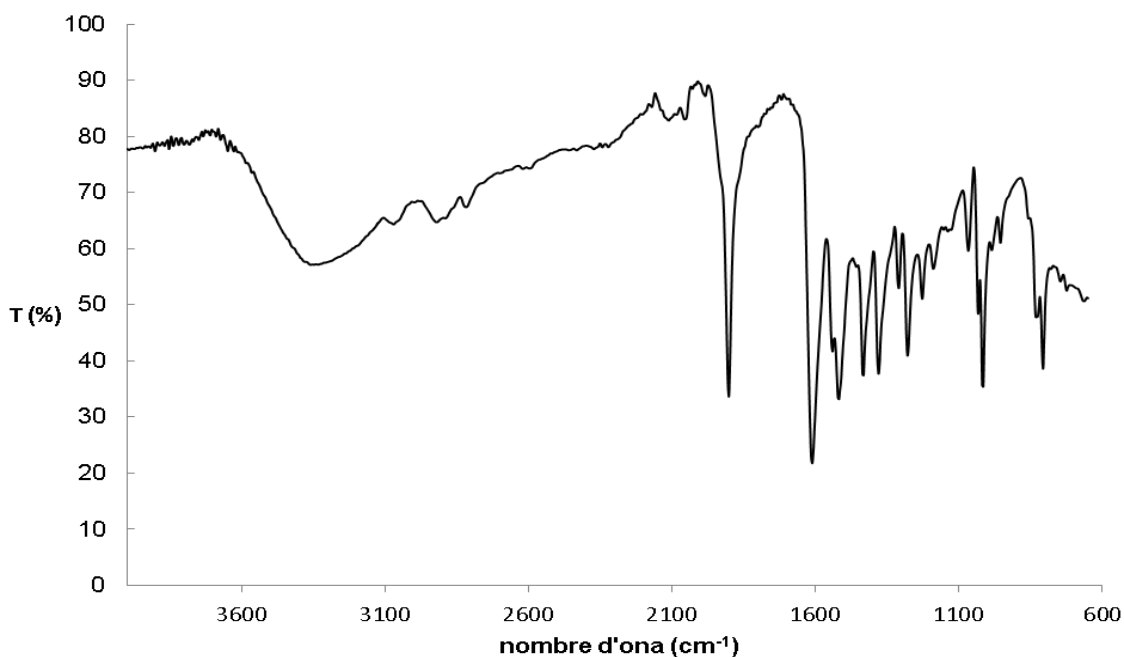


Figura 9. Espectre IR del complex [4].

4.2.2 Propietats electroquímiques

Les propietats redox dels complexos obtinguts han estat mesurades mitjançant voltametria cíclica (CV). Les dades electroquímiques dels complexos es detallen en la Taula 1. En tots els casos els voltamogrames s'han mesurat en CH_2Cl_2 amb 0.1M TBAH com a electròlit suport utilitzant SCE com a elèctrode de referència.

Compost	$E_{1/2}$ (III/II)	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)
<i>cis,cis</i> -[Ru ^{II} Cl ₂ (DMSO) ₂ (bpy-Cl ₂)] [2]	1.254	1.369	1.139
<i>cis,trans</i> -[Ru ^{II} Cl ₂ (DMSO) ₂ (bpy-Cl ₂)] [2]	1.003	1.087	0.918
[Ru ^{II} Cl ₂ (bpy-Cl ₂) ₂]	0.523	0.632	0.413

Taula 1. Dades electroquímiques dels complexos [2] i [4].

En la Figura 10 es pot observar el voltamograma corresponent al complex [2] com a mescla de l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] i l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2]. Per analogia amb altres treballs¹⁴ s'atribueix un potencial de 1.254V al parell redox Ru(III)/Ru(II) de l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] i un potencial de 1.003V al mateix parell redox de l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2], ja que els isòmers *trans* tendeixen a presentar potencials més baixos. D'altra banda, es veu un pic catòdic a aproximadament 0.4V que correspon a la isomerització d'enllaç $\text{Ru-S}_{\text{DMSO}} \rightarrow \text{Ru-O}_{\text{DMSO}}$ que té lloc en l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] un cop s'oxida electroquímicament a Ru(III).

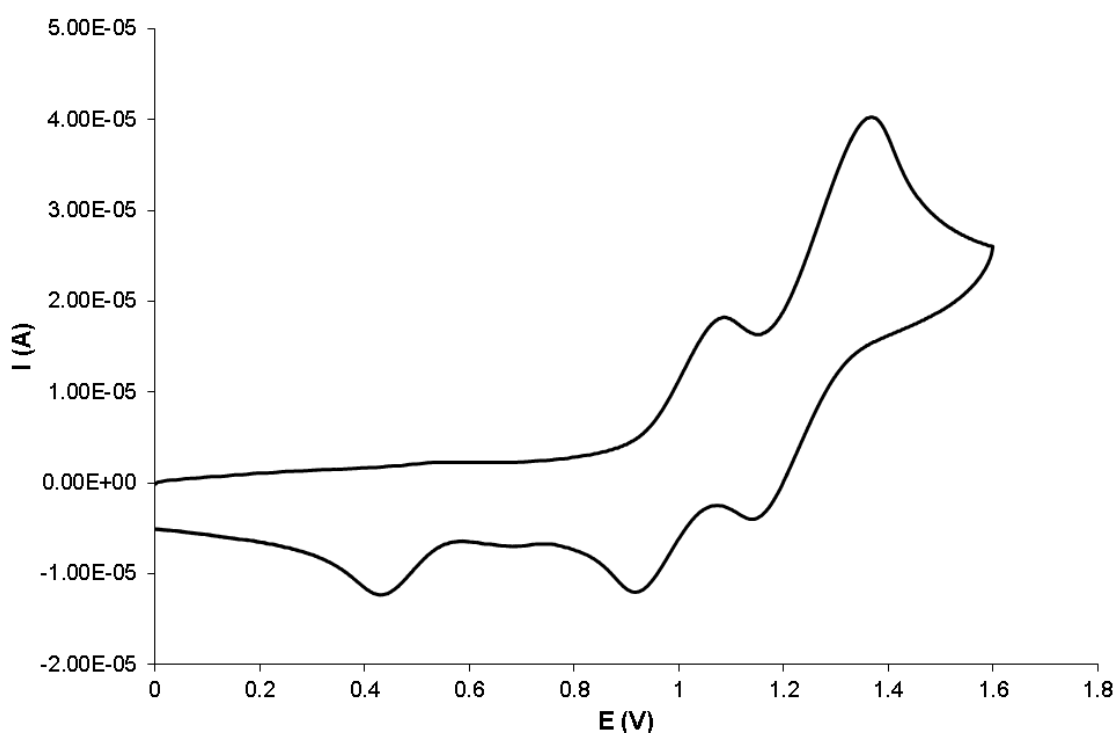


Figura 10. Voltamograma del complex [2].

En la Figura 11 s'observa el voltamograma corresponent al complex [4]. Es pot veure que hi ha una ona electroquímicament reversible amb un potencial de 0.523V, que és el potencial atribuït al parell redox Ru(III)/Ru(II) del compost [4].

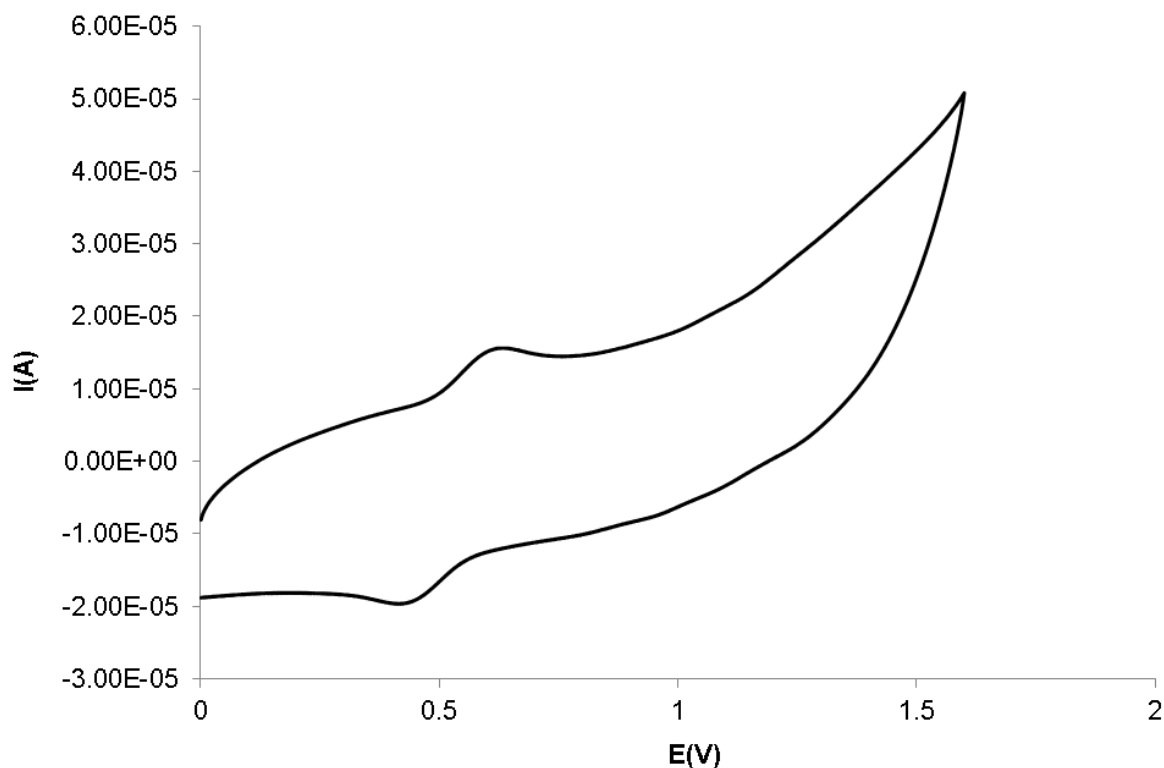


Figura 11. Voltamograma del complex [4].

4.2.3 Espectroscòpia UV-VIS

L'espectroscòpia UV-VIS es basa en el procés d'absorció de la radiació ultravioleta-visible per una molècula. Gràcies a l'espectre UV-VIS es pot obtenir el coeficient d'extinció molar d'una substància a través de la llei de Beer-Lambert¹⁵. Els resultats es mostren en la part experimental.

Els espectres d'absorció del complex [2], es poden observar en la Figura 12 i la Figura 13. El compost [2] presenta bandes per sota de 350nm que s'assignen a les transicions $\pi \rightarrow \pi^*$ del lligand bpy-Cl₂. Per sobre de 350nm s'observen bandes MLCT $\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{bpy-Cl}_2)$ ¹⁶.

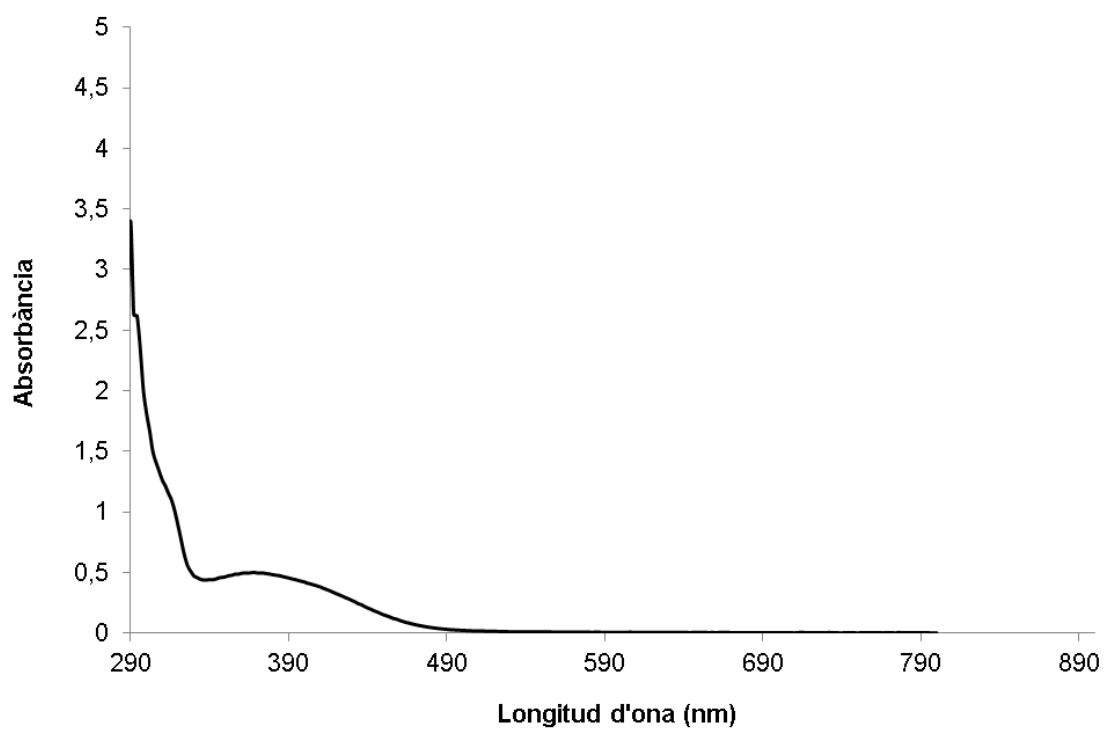


Figura 12. Espectre UV-VIS del complex [2] com a mescla d'isòmers, realitzats en cloroform amb una concentració de $2 \cdot 10^{-4} M$.

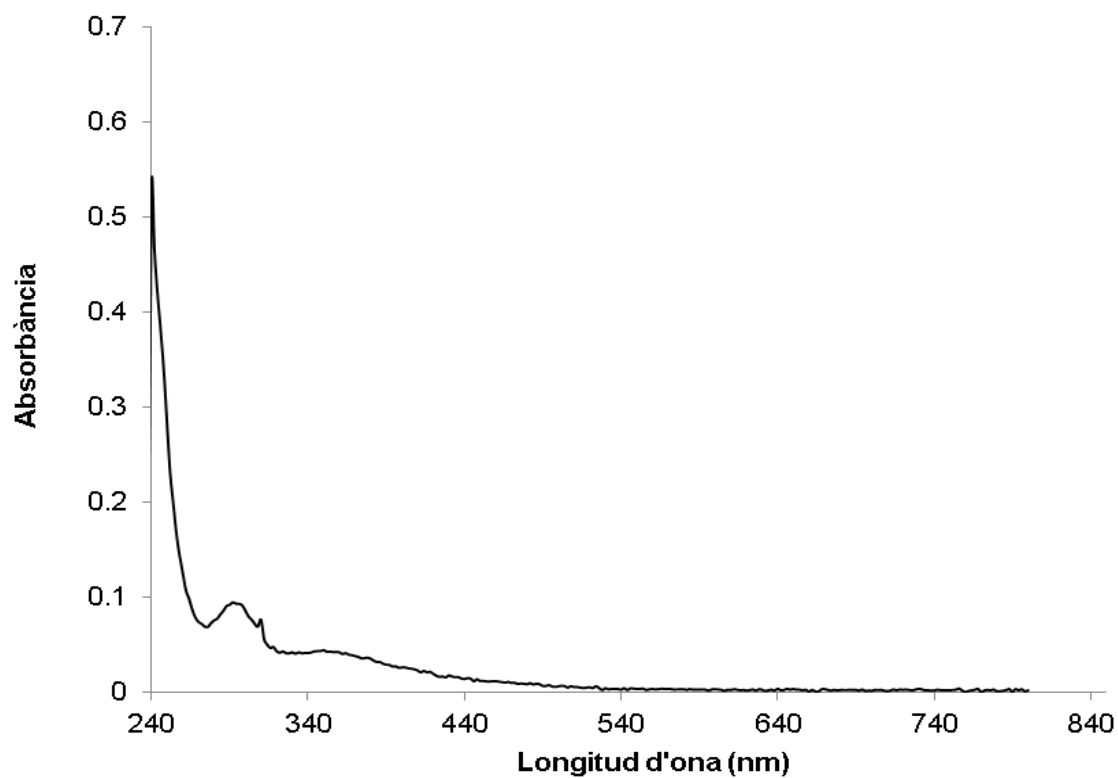


Figura 13. Espectre UV-VIS del complex [2] com a isòmer *cis*-Cl, *cis*-DMSO-[2] pur, realitzat en cloroform amb una concentració de $1 \cdot 10^{-4} M$.

4.2.4 ESI-MS

L'espectrometria de masses es basa en la ionització d'una substància per obtenir un ió inestable que fragmenta. La separació dels fragments carregats en funció de la seva massa ens donarà l'espectre de masses. Aquest experiment ha set l'únic, juntament amb l'espectrometria IR, que evidencia la presència del clor en el lligand bpy-Cl₂.

En aquest cas es duu a terme l'espectrometria de masses amb ionització per electropray, que s'ha realitzat pels complexos [2] i [4] en el mode d'ions positius i negatius.

En la Figura 14 es veu un pic de m/z=443 pel complex [2] que presenta la distribució isotòpica esperada per a una composició C₁₄H₁₈Cl₃N₂O₂RuS₂, que correspon a la pèrdua d'un lligand clorur, generant l'ió [RuCl(bpy-Cl₂)(dmsO)₂]⁺, de càrrega positiva.

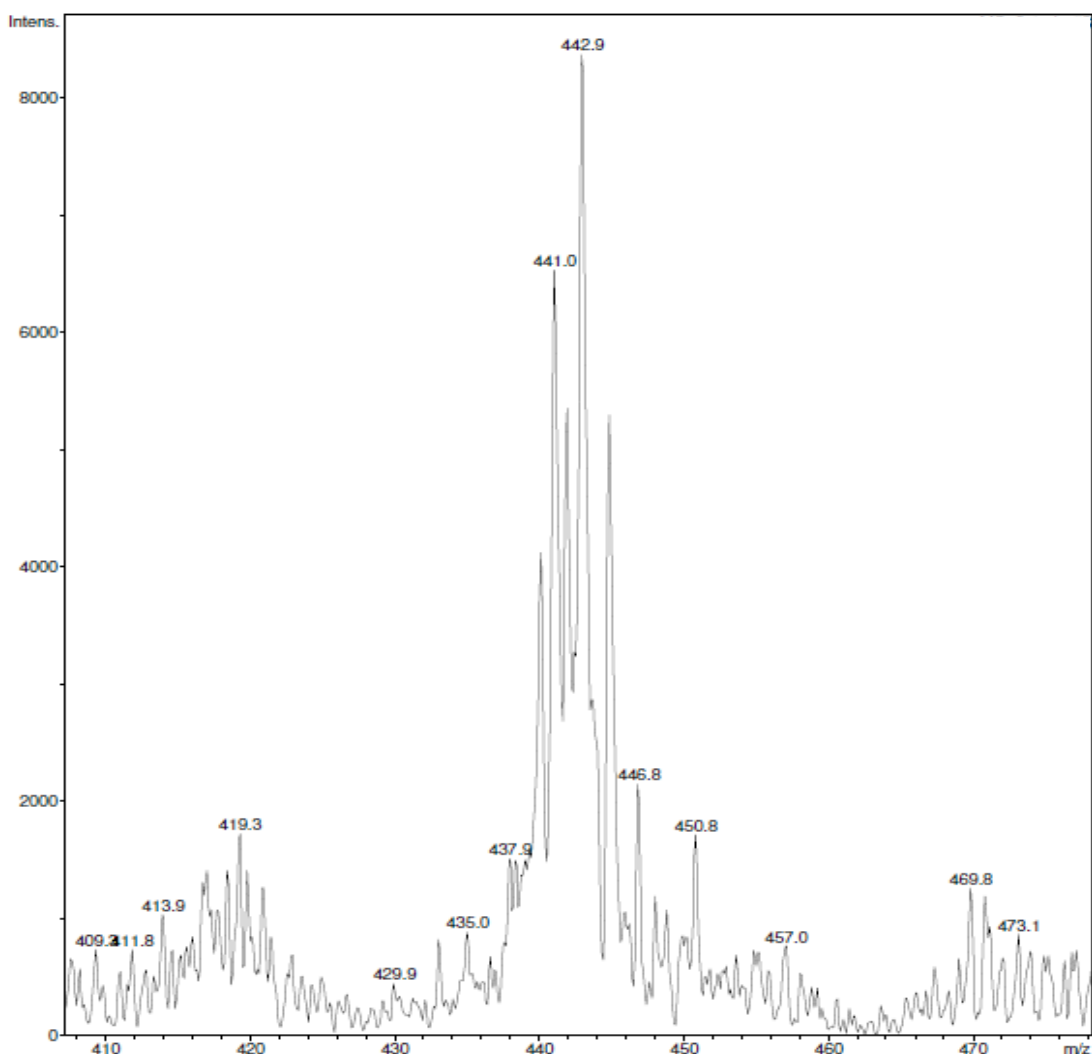


Figura 14. Pic isotòpic del complex [2].

4.3 Estabilitat química en solució aquosa

Per a avaluar l'estabilitat química del complex [2] s'ha estudiat el seu comportament en una solució d'aigua amb un 4% de DMSO, ja que els complexos no es dissolen completament en una solució d'aigua al 100%. Les cèl·lules vives poden tolerar fins a un 4% de DMSO en solució aquosa i és per aquest motiu que l'estabilitat dels complexos es duu a terme en una solució d'aigua amb un 4% de DMSO.

Les solucions del complex [2], de concentració $2 \cdot 10^{-4} \text{M}$, han estat monitoritzades a través d'espectroscòpia UV-VIS fins a 72 hores.

En la Figura 15 es pot observar l'avaluació de l'estabilitat del complex [2] a través d'espectroscòpia UV-VIS. En aquest cas no s'observa cap canvi significatiu respecte l'espectre inicial al llarg del temps en un període de 72h, la qual cosa indica que tant l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] com l'isòmer *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2] són compostos robustos, ja que si algun d'ells experimentés un canvi es veuria afectat l'espectre UV-VIS de la mescla.

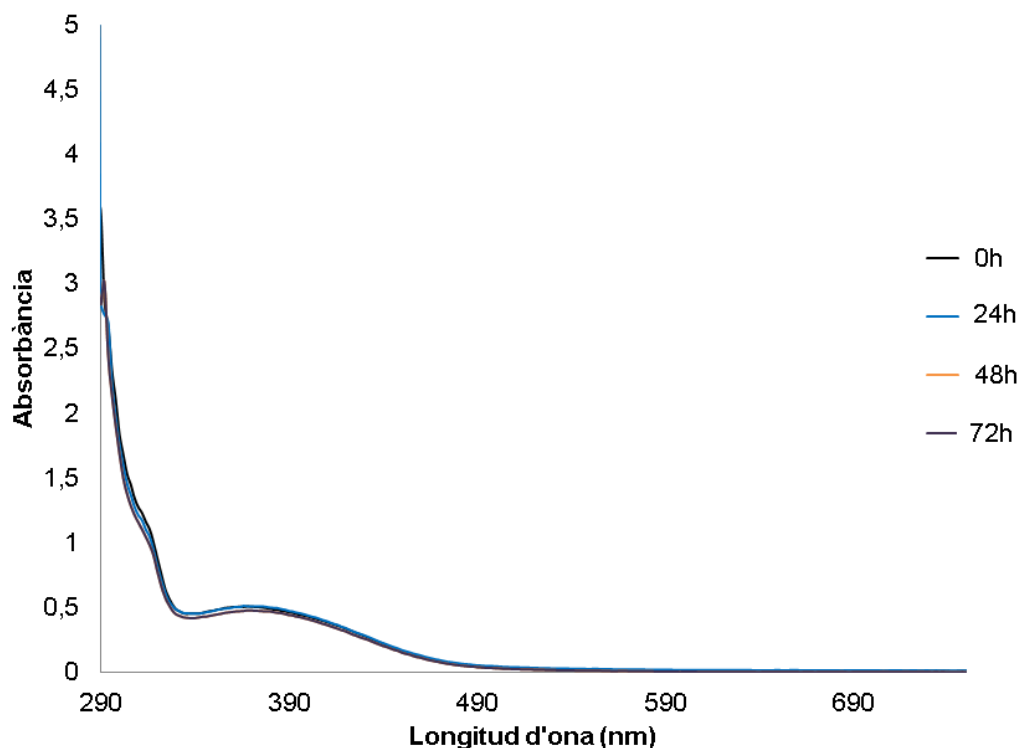


Figura 15. Avaluació de l'estabilitat del complex [2] com a mescla de l'isòmer *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] i *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2] durant 72 hores.

5. CRITERIS ÈTICS I DE SOSTENIBILITAT

Des del punt de vista de la química verda i la sostenibilitat s'han d'utilitzar de forma eficient matèries primeres (preferiblement que siguin renovables), eliminar els residus i evitar l'ús de reactius i dissolvents tòxics o perillosos per la síntesi de productes químics.

En les reaccions que es duen a terme en aquest projecte s'obté una elevada economia atòmica, ja que existeix una incorporació completa dels reactius de partida en el producte final de síntesi, la qual cosa es tradueix en una elevada eficiència de la reacció. D'aquesta manera també es minimitza la formació de subproductes i, per tant, de residus que s'hagin de tractar posteriorment.

D'altra banda, s'ha intentat seguir les reaccions per TLC de forma el més contínua possible per tal de minimitzar al màxim el temps de reacció i arribar a síntesis el més curtes possibles.

En aquest projecte no hem pogut fer síntesis tenint en compte l'eficiència energètica ja que totes les reaccions s'han dut a terme sota reflux, essent necessària en cada cas la temperatura d'ebullició del dissolvent utilitzat. Així doncs, en cap cas s'ha pogut dur a terme una síntesi a temperatura ambient.

Les reaccions que es realitzen en aquest treball han estat fetes amb metanol, dimetilformamida i diclorometà. Sempre que ha estat possible i les condicions de reacció ho han permès s'ha utilitzat el metanol com a dissolvent, essent d'entre els tres el menys tòxic.

Els residus que s'han generat durant els processos de síntesi han estat correctament abocats al contenidor pertinent, abocant així els dissolvents clorats per una banda, els no clorats per una altra i els metàl·lics per una altra. Els plàstics i el vidre també han estat tractats de forma correcta per al seu posterior reciclatge.

A més, s'han fet servir totes les mesures de seguretat necessàries en un laboratori de síntesi, utilitzant guants, bata i ulleres sempre que ha estat necessari.

Fent referència a la ètica, tota la informació continguda en aquest treball que s'ha extret d'articles, revistes o llibres ha estat correctament referenciada per evitar plagis.

Per últim, ressaltar que en cap cas s'han manipulat ni falsificat els resultats obtinguts durant l'experimentació.

6. CONCLUSIONS

The conclusions that are drawn from this work are diverse since different compounds have been synthesized. All of these compounds has been characterized through several techniques.

For the compound [2] the NMR spectroscopy has manifested the formation of only one type of isomer in one case and two type of isomer in the other case. The synthesis in methanol at reflux results in two isomers, *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] and *cis*-Cl,*trans*-DMSO-[2]. If the synthesis is performed at a lower temperature, only the *cis*-Cl,*cis*-DMSO-[2] isomer is formed, being kinetically favored. In both cases a complete assignation of peaks has been possible.

For the compound [4] the NMR spectroscopy has manifested the formation of only one type of isomer *cis*-Cl-[4]. In this case all the resonances are magnetically non equivalent due to structural distortions.

The cyclic voltammeteries present electrochemical reversible waves in all cases, corresponding to the Ru (III)/Ru(II) pairs. In the *cis*-Cl,*cis*-DMSO- [2] isomer, a cathodic peak is shown that demonstrates the linkage isomerization of DMSO. The low reduction potential value for the O-coordinated DMSO complex is due to the higher electron-donating ability of the O-coordinated DMSO, therefore making the upper oxidation states of Ru more accessible.

Complex [2] is stable over time in aqueous solution containing 4% of DMSO throughout 72 hours. With this fact it can be concluded that the complex [2] is a good candidate for being studied as anticancer in future projects.

7. BIBLIOGRAFIA

- ¹ a) Griffith, W.P. (1992). *Chemistry Society*, 21, 179-185. b) Bruneau, C. (2004). *Ruthenium catalysts and fine chemistry*. Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- ² a) Vos, J. G. i Kelly, J. M. (2006). *Dalton Trans*, 41, 4869-4883. b) Zhang, S., Ding, Y. i Wei, H. (2014). *Molecules*, 19, 11933-11987.
- ³ a) Coe, B. J. (2013). *Coordination Chemistry Reviews*, 257, 1438. b) Yoshida, J., Watanabe, G., Kakizawa, K., Kawabata, Y. i Yuge, H. (2013). *Inorganic Chemistry*, 52, 11042-11050.
- ⁴ a) Bergamo, A. i Sava, G. (2007). *Dalton Transactions*, 13, 1267-1272. b) Silva, D. (2010). *Anti-cancer Agents in Medical Chemistry*, 10, 312-323. c) Ji, L., Zheng, W., Lin, Y., Wang, X., Lü, S., Hao, X., Luo, Q., Li, X., Yang, L. i Wang, F. (2014). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 77, 110-120.
- ⁵ a) Cotton, F. A., Elder, R. C. (1960). *Journal of the American Chemical Society*, 82, 2986. b) Meek, D. W., Straub, D. K. i Drago, R. S. (1960) *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 33, 861.
- ⁶ Baranoff, E., Collin, J. P., Furusho, J., Furusho, Y., Laemmel, A. C. i Sauvage, J. P. (2002). *Inorganic Chemistry*, 41, 1215.
- ⁷ Smith, M. K., Gibson, J. A., Young, C. G., Broomhead, J. A., Junk, P. C. i Keene, F. R. (2000). *European Journal of Inorganic Chemistry*, 1365.
- ⁸ Page, S. (2012). *Education in chemistry*, 26-28.
- ⁹ Gómez-Ruiz, S. (2010). *An. Química*, 106, 13-21.
- ¹⁰ Rilak, A. (2014). *Inorganic Chemistry*, 53, 6113.
- ¹¹ Dwyer, B. G., Johnson, E., Cazares, E., Mc Farlane, H. i Kirk, S. R. (2018). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 182, 177-183.
- ¹² Ferrer, I., Rich, J., Fontrodona, X., Rodriguez, M. i Romero, M. (2013). *Dalton Transactions*, 42, 13461.
- ¹³ Sullivan, P., Salvon, J. D. i Meyer, J. T. (1978). *Inorganic Chemistry*, 17, 3334-3341.
- ¹⁴ Ferrer Vall-Llosada, I. (2015). *Development of new reusable materials based on Ru complexes with catalytic activity for olefin epoxidation and nitrile hydration* (Tesi doctoral). Universitat de Girona, Girona.
- ¹⁵ Calloway, D. (1997). *Journal of Chemical Education*, 74, 744.
- ¹⁶ Balzani, V., Juris, A. i Veturi, M. (1996). *Chemical Reviews*, 96, 759.