



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**SÍNTESIS DE COMPUESTOS DIPIRRÍNICOS DE RUTENIO(II) TIPO TABURETE DE  
PIANO CON ACTIVIDAD ANTICANCEROSA**

*TÉSIS*

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**Químico**

**PRESENTA**

**Benjamin Barraud Gutiérrez**



**CDMX**

**2024**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: José Manuel Méndez Stivalet

**VOCAL:** Profesor: Silvia Elena Castillo Blum

**SECRETARIO:** Profesor: Ronan Marie Le Lagadec

**1er. SUPLENTE:** Profesor: Juventino José García Alejandre

**2° SUPLENTE:** Profesor: María de Carmen Ortiz Cervantes

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** INSTITUTO DE QUÍMICA

**ASESOR DEL TEMA:**

Ronan Marie Le Lagadec

**SUSTENTANTE (S):**

Benjamín Barraud Gutiérrez

## **Agradecimientos**

Al programa **DGAPA PAPIIT** por el apoyo financiero y beca proyecto IN-211522.

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT)**

por su apoyo financiero bajo el proyecto A1-S-155068.

## Índice

1.0 Resumen .....	6
2.0 Introducción .....	7
2.1 El cáncer como problema en la sociedad.....	7
2.2 La evolución de la quimioterapia y su estado actual .....	9
2.3 La terapia fotodinámica (PDT) .....	14
2.4 Los compuestos de rutenio como agentes para la quimioterapia .....	19
2.5 Las dipirrininas y su actividad anticancerosa.....	23
3.0 Hipótesis.....	30
4.0 Objetivo general .....	30
4.1 Objetivos particulares .....	30
5.0 Metodología.....	31
5.1 Generalidades .....	31
5.1.1 Reactivos .....	31
5.1.2 Equipos.....	31
5.1.3 Uso de líneas de vacío y técnicas de Schlenk .....	32
5.1.4 Secado y desgasificado de disolventes .....	33
5.1.3 Método de cristalización y difracción de rayos X de monocristal...	34
5.1.4 Ensayo de citotoxicidad.....	34
5.2 Síntesis del dímero $[\mu^2\text{-dicloro}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{rutenio(II)}]_2$ .....	36
5.3 Síntesis de 2,2'-[(3,4,5-trimetoxifenil)metilén]bis(1 <i>H</i> -pirrol) ( <b>1</b> ) .....	37
5.4 Síntesis de ( <i>Z</i> )-2-[2 <i>H</i> -pirrol-2-iliden(3,4,5-trimetoxifenil)metil]-1 <i>H</i> -pirrol ( <b>2</b> ).....	38
5.5 Síntesis de $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})((\text{Z})\text{-}2\text{-}[2\text{H}\text{-pirrol-}2\text{-iliden}(3,4,5\text{-trimetoxifenil)metil]pirrolato-\kappa^2\text{N})]$ ( <b>3</b> ) .....	39
6.0 Resultados .....	41
6.1 Dímero $[\mu^2\text{-dicloro}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{rutenio(II)}]_2$ .....	41
6.2 2,2'-[(3,4,5-trimetoxifenil)metilén]bis(1 <i>H</i> -pirrol) .....	42
6.3 ( <i>Z</i> )-2-[2 <i>H</i> -pirrol-2-iliden(3,4,5-trimetoxifenil)metil]-1 <i>H</i> -pirrol .....	47
6.4 $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})((\text{Z})\text{-}2\text{-}[2\text{H}\text{-pirrol-}2\text{-iliden}(3,4,5\text{-trimetoxifenil)metil]pirrolato-\kappa^2\text{N})]$ .....	52

6.4.1 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear.....	53
6.4.2 Espectrometría de masas .....	61
6.4.4 Espectroscopía de absorción UV-vis .....	63
6.4.5 Voltamperometría cíclica .....	65
6.4.6 Difracción de rayos X de monocristal .....	68
6.4.7 Resonancia paramagnética electrónica .....	74
6.4.8. Ensayo de citotoxicidad (Ensayo MTT) .....	76
7.0 Conclusiones .....	78
8.0 Referencias .....	79

## 1.0 Resumen

Una de las principales causas de muerte es el cáncer, el cual consiste en un crecimiento de células descontrolado. Al ser un problema de salud de alta presencia, es necesario profundizar la investigación sobre nuevos medicamentos anticancerosos. Asimismo, tratamientos como la terapia fotodinámica ofrecen otras alternativas de tratamiento a la quimioterapia clásica. Unos compuestos de alto interés son los derivados organometálicos de rutenio, el segundo metal más estudiado en fármacos contra el cáncer después del platino. Adicionalmente, las dipirrininas son moléculas que han mostrado eficacia para tratar tumores a través del estrés de la ruta Hippo. El propósito de este trabajo fue sintetizar complejos organometálicos tipo taburete de piano de rutenio(II) con una dipirrina como ligante auxiliar.

El complejo de interés,  $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})((Z)\text{-}2\text{-}[2H\text{-pirrol-}2\text{-iliden}(3,4,5\text{-trimetoxifenil)metil]pirrolato-}\kappa^2\text{N})]$ , se sintetizó y subsecuentemente se caracterizó a través de espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC y HMBC), espectroscopía de infrarrojo, espectrometría de masas, difracción de rayos X, espectrofotometría de absorción UV-Vis y voltamperometría cíclica. Se determinó su citotoxicidad sobre la línea de cáncer AGS ( $\text{IC}_{50} = 18 \mu\text{M}$ ) y se encontró que no actúa como fotosensibilizador bajo luz blanca.

## 2.0 Introducción

### 2.1 El cáncer como problema en la sociedad

Un problema que sigue plagando la medicina moderna es la familia de enfermedades cancerosas. El cáncer, en términos generales, sucede cuando hay una reproducción celular descontrolada, ya sea porque los mecanismos de proliferación celular no se limitan o porque las células no se mueren (o una combinación de las dos). Aunque se ha encontrado que desde el antiguo Egipto se trataban tumores con cirugías sencillas, debido a la corta expectativa de vida promedio, no era una preocupación principal [1]. Sin embargo, a pesar del surgimiento de la medicina moderna desde hace más de 100 años, el número de personas con enfermedades cancerosas ha aumentado drásticamente [2].

En el año 2020, se estima que hubo 19.3 millones de casos nuevos de cáncer en el mundo, mientras que 10 millones de pacientes con cáncer fallecieron. En ese año, se estima un 20% de probabilidad de contraer la enfermedad y el 10% de la población tiene alta probabilidad de fallecer por cáncer [3]. Incluso, en 112 de los 198 países reconocidos por la ONU, el cáncer se posiciona como la primera o la segunda causa de mortalidad (principalmente en países americanos y europeos). Los tipos de cáncer más frecuentes en el 2022 fueron el cáncer de mama femenil (11.7%), pulmón (11.4), próstata (7.3%), piel no melanoma (6.2%), colon (6.0% localizado en el colon y el conjunto colorrectal corresponde al 9.8%) y gástrico (5.6%).



Respecto a la tasa de mortalidad, el cáncer de pulmón corresponde al más alto (18.0% de las muertes de cáncer), seguido por el colorrectal (9.2%), el cáncer de hígado (8.3%) y el gástrico (7.7%) [4]. Aunque mucho de la investigación desde el 2020 se ha visto truncada por el efecto de la pandemia de SARS-CoV-2, las estimaciones del 2020 lo presentan aún como una condición de alto riesgo.

En particular, dos tipos de cáncer que se mantienen en lista de cánceres más comunes son el colorrectal y el gástrico. Este primero presenta un mayor riesgo, ya que tiene una mayor prevalencia y tasa de mortalidad. En los últimos años se ha observado que este tipo de cáncer se está presentando más en poblaciones jóvenes. Aunque en los países desarrollados está en disminución, en los países en transición a un estado económico más estable, se ha observado un aumento. Estos incrementos se atribuyen a la adopción de un sistema alimenticio más dependiente en granos refinados y a una tendencia a profesiones más sedentarias [5]. Por otra parte, el cáncer gástrico ha estado en aumento tanto en países desarrollados como en desarrollo. En parte, esto se debe a la presencia de *Helicobacter pylori* en fuentes de agua, el cual no se ha podido erradicar. Por otra parte, la presencia de compuestos nitrosos en la industria alimentaria ha sido observada como un posible factor de riesgo. En Estados Unidos, este tipo de cáncer tiene la menor tasa de supervivencia después de 5 años del diagnóstico [6]. Por estas diversas razones, el cáncer gástrico y el cáncer colorrectal son amenazas en aumento.

El desarrollo del cáncer normalmente se divide en etapas de 0 a 4. En la etapa 0 el cáncer se encuentra en un solo tejido (denominado *in situ*). En la primera etapa, sigue estando localizado, pero se puede haber esparcido a pocos tejidos cercanos. La segunda etapa se caracteriza por un crecimiento del tumor, pero no ha invadido los nodos linfáticos. En la tercera etapa, el cáncer se ha esparcido a los nodos linfáticos y en la cuarta etapa (también conocida como metástasis), el cáncer se ha esparcido a otras partes del cuerpo. Generalmente, esto se da debido a que las células cancerosas han viajado a través de fluido linfático y sangre [4] (Figura 1). Aunque algunos tipos de cánceres no se evalúan con esta escala (como son los sanguíneos o los del sistema nervioso central), esta escala es una herramienta usada frecuentemente para saber en cuánto riesgo se encuentra una persona.

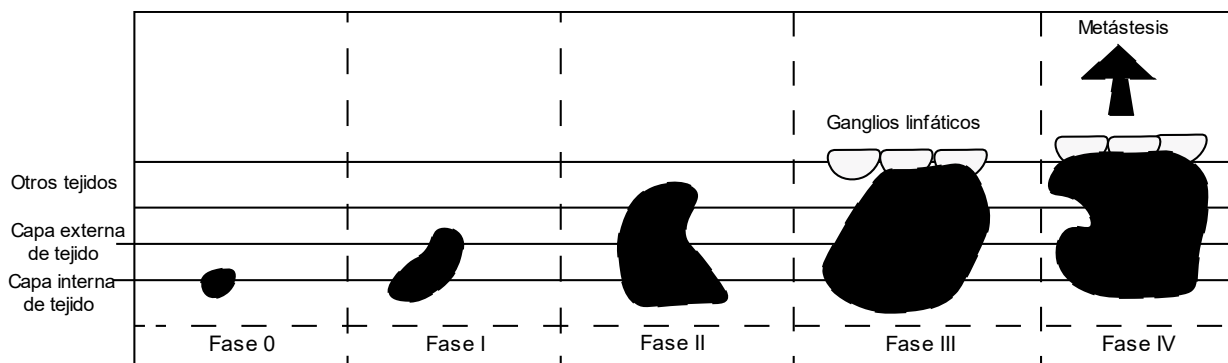


Figura 1. Representación de las etapas 0 a 4 del avance de cáncer

## 2.2 La evolución de la quimioterapia y su estado actual

La quimioterapia es una de las herramientas para el tratamiento de cáncer que se utilizan con mayor frecuencia (junto con la cirugía y la radioterapia).

En varios tipos de cáncer, en las etapas I y II, éste se trata mediante cirugía, mientras que la quimioterapia se utiliza en 15% de los casos (como sucede con el cáncer de mama). En el caso del cáncer colorrectal, en la primera etapa, la quimioterapia se usa en un tercio de los pacientes y en las etapas II y III se usa en más de 80% de los casos [7]. Muchos de los agentes usados en la quimioterapia son además compatibles con otros tipos de terapia, tanto en terapias más clásicas (como la cirugía) como en terapias más modernas (como la hipertermia)[8,9].

La quimioterapia ha sido estudiada desde hace más de 100 años. Aunque inicialmente se trabajaba con arsénico, después de la primera guerra mundial hasta 1950 se estudió el uso de mostazas nitrogenadas. En esta época surgió un interés por derivados del ácido fólico (como el metotrexato) y otros compuestos orgánicos. Asimismo, se empezaron a estudiar a profundidad fármacos derivados de sistemas biológicos, ya sean animales, plantas, hongos o bacterias [10]. Uno de los primeros casos estudiados es la mitomicina C (Figura 2), la cual fue extraída de *Streptomyces caespitosus* en 1956. Otros fármacos altamente utilizados, como la doxorrubicina y la daunorubicina, se obtienen como productos de la fermentación por parte de microorganismos como *Streptomyces peucetius* [11].

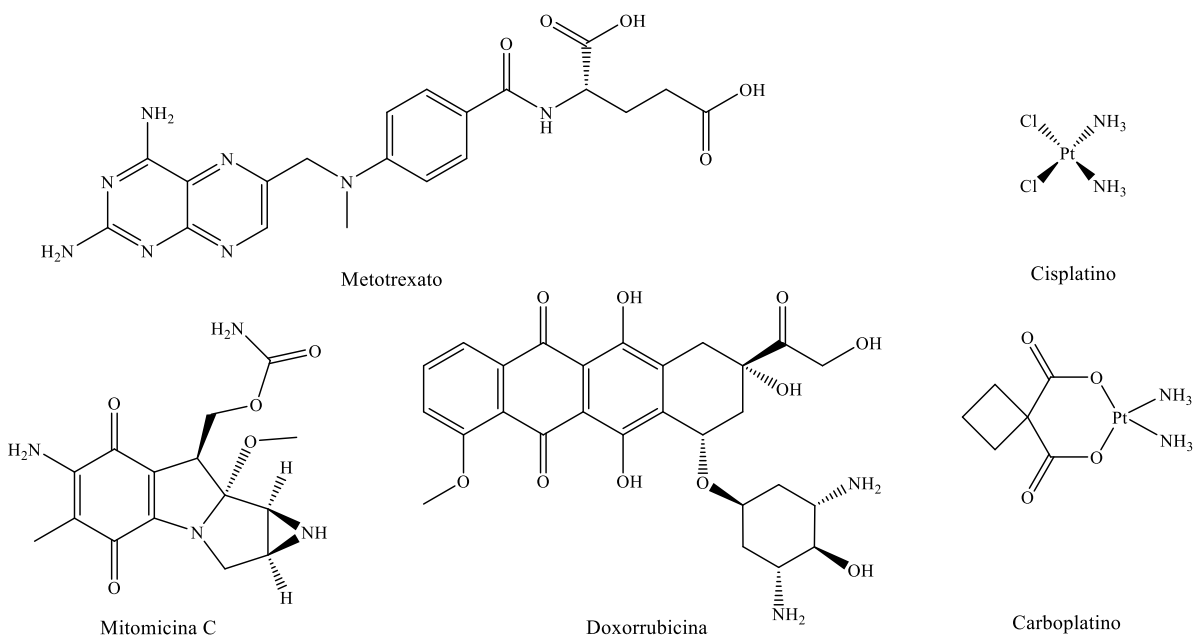


Figura 2. Ejemplos de compuestos utilizados en quimioterapia

Asimismo, en 1965, se observa por primera vez la actividad anticancerosa sobre células mutadas en ratones del cisplatino, cuya fórmula es  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ . En 1978, se aprobó para el uso en humanos para cáncer testicular. Posteriormente, otros compuestos derivados del platino(II), como el carboplatino y el oxaliplatino fueron desarrollados [12]. Su actividad se debe a la habilidad de formar aductos con fragmentos del ADN que activan el gen p53, el cual inicia la formación de la proteína antitumoral p53 (Figura 3). Estos compuestos que contienen platino despertaron un interés por compuestos organometálicos como posibles agentes anticancerosos, debido a su versatilidad para ser utilizado en varios tipos de tumores [13]. Desde entonces, los compuestos derivados del platino han sido incorporados a la quimioterapia, tal que la mitad de las formulaciones actuales incluyen

compuestos derivados de platino como uno de los fármacos [14]. Dichos compuestos no solamente tienen actividad citotóxica gracias a la presencia del metal, sino que al utilizar ligantes orgánicos e inorgánicos, permiten una mayor versatilidad como agentes anticancerosos.

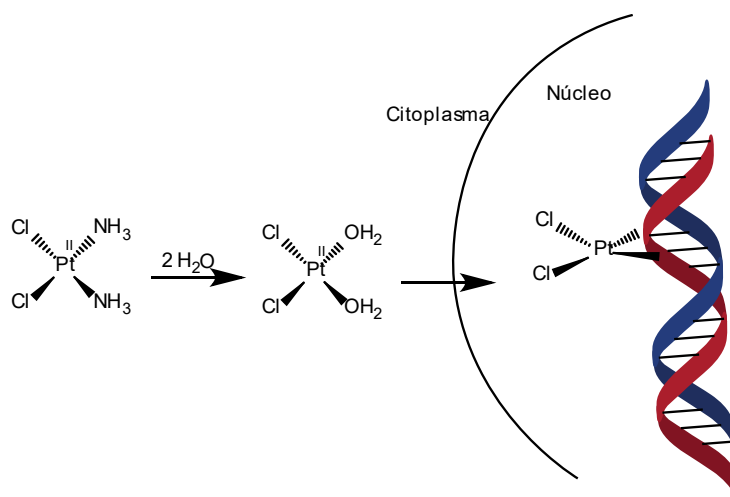


Figura 3. Esquema general de mecanismo de reacción de medicamentos derivados del cisplatino [15]

Aunque se llevan buscando soluciones para lidiar con cáncer por más de 100 años, aún existen varios problemas con los medicamentos que se usan actualmente. Primeramente, la quimioterapia como método para tratar el cáncer no es selectivo. Como la administración de los fármacos tiende a ser por vía intravenosa (ocasionalmente por vía oral), las sustancias se distribuyen indiscriminadamente a través de todo el organismo, en lugar de aplicar localmente el tratamiento. Como consecuencia, es muy común observar efectos secundarios. Estos pueden ser desde cuestiones estéticas, como la pérdida de cabello, o pueden tener ramificaciones más graves, como

nefrotoxicidad, condiciones cardiacas y fallo hepático [16, 17, 18]. En el peor de los casos, las sustancias pueden causar un segundo cáncer. Algunos fármacos (como el cisplatino) pueden generar tumores óseos [19]. Al tratar ciertos tipos de cáncer, como es el linfoma de Hodgkin, el uso de quimioterapia puede llevar a un segundo tumor en otra parte del organismo [20].

Otro factor que se encuentra en varios tumores es la resistencia a los fármacos. Esta puede ser resistencia intrínseca, la cual se presenta cuando el tipo de cáncer no es mitigado por el fármaco desde un inicio. Esto sucede, por ejemplo, con el cáncer gástrico y los compuestos derivados de platino [21]. La resistencia también puede ser adquirida, es decir, que el medicamento pierde su efectividad en dosis repetidas. Esto se ha observado igualmente con cisplatino en tumores en los ovarios [22].

Por otra parte, muchos de estos medicamentos tienen precios muy elevados. Los compuestos con platino son un ejemplo de esto, ya que el metal precioso tiene un costo alto [23, 24]. Adicionalmente, existe varios problemas referentes a la producción de las medicinas. Primero, puede que haya una baja disponibilidad de materias primas. En otros casos, el proceso de producción puede no ser eficiente. Esto puede aparecer tanto en rendimientos generales bajos, como en excesos enantioméricos bajos. La vinblastina, utilizada en cánceres de pulmón, vejiga y cerebro, tiene cinco centros quirales y la doxorubicina, usado para cáncer de mama, vejiga y linfomas, tiene cuatro centros quirales. Los procesos de síntesis clásica en ciertos casos no son

eficientes, y tampoco lo son los procesos de extracción (por ejemplo, la vinblastina que proviene de una planta y la doxorubicina que proviene de una bacteria). Cuando existen suficientes problemas en la obtención de medicamentos, se puede traducir en una baja oferta ante una alta demanda. Debido a que algunos fármacos se utilizan para otras condiciones, y a la prevalencia del cáncer en sí, estos medicamentos se encuentran en constante escasez [25].

### 2.3 La terapia fotodinámica (PDT)

Una terapia que busca lidiar con el problema de la selectividad es la terapia fotodinámica, también conocida como PDT, por sus siglas en inglés (*Photodynamic Therapy*). El fármaco utilizado, denominado fotosensibilizador, no debe ser citotóxico en la oscuridad, pero al ser irradiada debe generar citotoxicidad. Esto permite que sea un fenómeno selectivo a un tejido particular, el cual es irradiado por laser o LED (dependiendo, por ejemplo, del tipo de tejido de interés y su profundidad en el cuerpo) para generar la actividad biológica del medicamento. La terapia fotodinámica se puede utilizar tanto para condiciones endógenas (como el cáncer) así como para provenientes del exterior del cuerpo (patógenos e infecciones) [26]. Esta terapia ya se está utilizando clínicamente, como ha sucedido en ciertos casos de tratamiento del acné [27] y en infecciones dentales y orales [28]. Mientras que la mayoría de los usos de PDT autorizados son para el tratamiento contra

patógenos, también se ha desarrollado un interés hacia su aplicación oncológica.

El proceso comienza con el fotosensibilizador en un estado basal (Figura 4). Después de ser irradiado, llega a un estado excitado. La mayoría de las veces, éste regresa a su estado basal a través de relajación vibracional (calor) y en otros casos a través de emisión de luz (fosforescencia o fluorescencia). Sin embargo, el fenómeno de interés se da con un cruce de sistemas, el cual consiste en el cambio de orientación de uno de los espines. De este estado, se pueden dar dos posibles reacciones: las tipo I (donde el fotosensibilizador transfiere un electrón a otra especie) o la tipo II (donde el fotosensibilizador transfiere la energía a otra especie). En este último, el fotosensibilizador regresa a un estado basal, funcionando de forma catalítica. En el caso de PDT, la especie receptora tiende a ser oxígeno. Por lo tanto, la reacción tipo I genera radicales hidroxilo (y después radicales peroxilo o superóxido) mientras la reacción tipo II genera oxígeno singulete a partir del oxígeno triplete. El oxígeno normalmente está presente como oxígeno triplete, el cual es estable y no muy reactivo en sí, mientras que el oxígeno singulete es altamente reactivo y por lo tanto no se encuentra en condiciones normales [29]. El propósito de esta técnica es generar especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés *reactive oxygen species*). Estas ROS son derivados del oxígeno y pueden ser radicalarias o no radicalarias, como es el caso del



oxígeno singlete [30]. Como su nombre lo indica, son especies altamente reactivas, especialmente en medios biológicos.

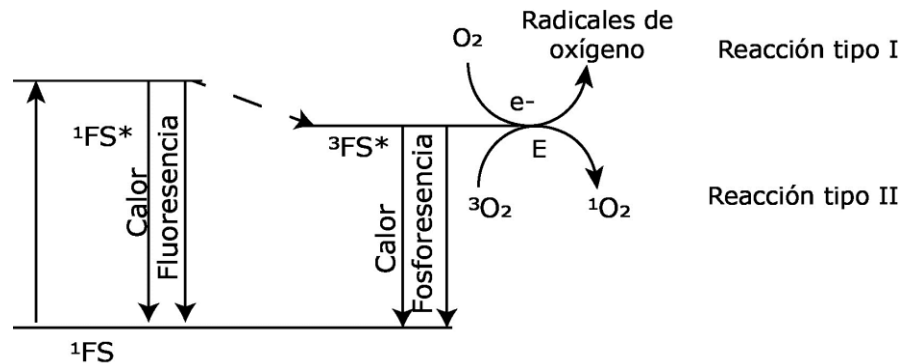


Figura 4. Diagrama energético de fotosensibilizador (FS) al ser excitado en PDT

Las especies reactivas de oxígeno pueden ser generadas en el organismo de forma natural, pero al modificar sus cantidades es posible llegar a efectos de interés clínico. En un organismo saludable, las ROS se pueden formar de forma intencional - como intermediarios de la cadena de transporte de electrones - o no intencional, en subproductos de procesos redox. Para lidiar con estas especies (ya sea para controlar procesos o para completamente eliminarlas), las células cuentan con moléculas antioxidantes, tanto no enzimáticas como el glutatión (GSH), como enzimáticas como peroxidasas o catalasas [31]. Cabe mencionar que sigue siendo necesario tener cierta cantidad de ROS en el sistema y que el exceso de especies antioxidantes también puede resultar dañina al alterar este equilibrio [32]. Por lo tanto, el

monitoreo de este balance es importante si se busca inducir la muerte celular, como puede ser el caso en las células cancerosas.

Aun así, es más dañino para la célula el exceso de ROS que su déficit. Estas especies son capaces de dañar lípidos, proteínas y más importante, el ADN, en lo que se conocen como condiciones de estrés oxidativo. En un organismo saludable, pueden ocasionar mutaciones en el ADN y generar crecimientos desproporcionados y producir tumores. Sin embargo, si su liberación se dirige solamente para atacar los tumores, se pueden dañar exclusivamente a estas células y motivar mecanismos de muerte celular, ya sea por necrosis o apoptosis [33]. Una condición importante a considerar en células cancerígenas es el ambiente hipóxico. Debido a la aglomeración formada por las células, la circulación de sangre en los tumores disminuye y por lo tanto no hay tanto oxígeno presente comparado al tejido sano. Esto hace que la producción de ROS a través de un fotosensibilizador esté limitada y la PDT no sea adecuada para todo tipo de tumores [34]. Sin embargo, en varios tipos de tumores, el uso de PDT para generar ROS puede resultar efectivamente en la eliminación de células cancerosas.

Una manera de determinar presencia de oxígeno singulete es a través de resonancia paramagnética electrónica (EPR) y el uso de atrapadores de espín. En sí, la especie detectada no es el oxígeno singulete, sino que reacciona rápidamente con TEMP, formando así el radical estable TEMPO (Figura 5). Esto se hace ya que el oxígeno singulete no se puede observar directamente en

EPR y tiene un tiempo de vida media muy corta, por lo que el monitorear la formación de TEMPO es lo que permite determinar si se ha formado oxígeno singlete. Alternativamente, están los reactivos TEMPD (que tiene una cetona) y TEMP-OH (que tiene un grupo hidroxilo) (Figura 6).

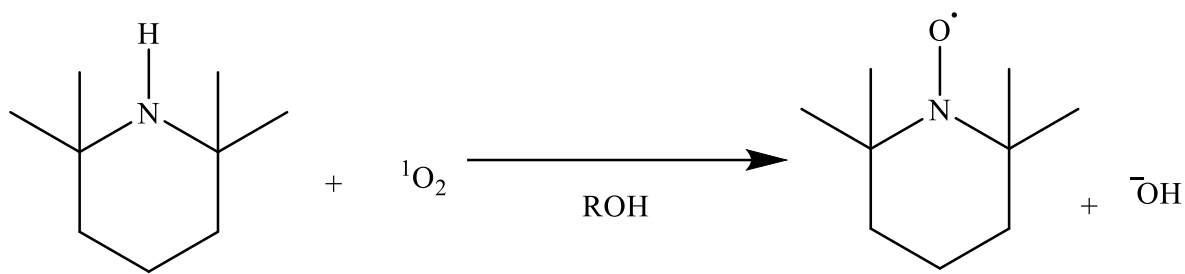


Figura 5. Reacción de TEMP con oxígeno singlete para formar TEMPO

Esta prueba se puede realizar, para simplificar el análisis, en un medio prático, lo más común siendo en mezclas etanol con acetona. La señal característica de TEMPO en EPR es un triplete que aparece centrado en 3437 G [35]. A diferencia de la resonancia magnética nuclear (donde un campo magnético fijo es sometido a diferentes frecuencias), en EPR se mantiene una frecuencia fija y varía el campo magnético, por lo que la señal en el eje de las abscisas corresponde al campo magnético. Las señales se centran siempre en valores característicos de campo magnético ya que depende de la constante giromagnética, que es particular para cada sistema. En el caso del TEMPO, la señal se centra alrededor de 3437 G. Para evaluar si una sustancia es viable para PDT a través de reacciones de tipo II, se irradia el compuesto de interés y se compara contra un blanco que solamente contiene TEMP.

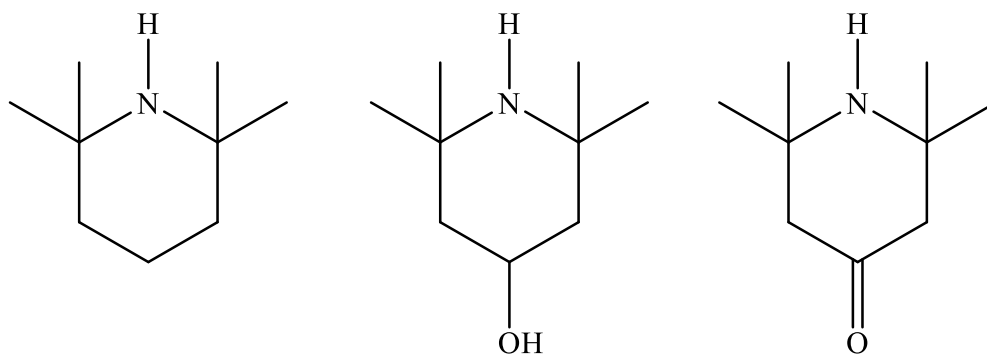


Figura 6. Estructuras de TEMP (izquierda), TEMP-OH (centro) y TEMPD (derecha)

#### 2.4 Los compuestos de rutenio como agentes para la quimioterapia

Dentro de los compuestos organometálicos y de coordinación investigados con fines anticancerosos, están los complejos de rutenio. Ha habido ensayos de citotoxicidad desde 1989 de compuestos de rutenio(III) que muestran que algunos de los mecanismos por los cuales actúan son diferentes a los que suceden con el platino. Adicionalmente, tanto compuestos de rutenio(II) como de rutenio(III) tienen propiedades inhibitoras de la metástasis [36]. Otra ventaja presente es que varios de los compuestos de rutenio son capaces de generar especies reactivas de oxígeno [37].

Adicionalmente, se puede observar que varios complejos de rutenio son citotóxicos en sí, pero su citotoxicidad aumenta drásticamente al ser irradiados con luz. Se han estudiado complejos de rutenio(II) con ligantes polipirridínicos, como son la fenantrolina, 2,2'-bipiridina y 2-fenilpiridina (Figura 7). En el último caso, los ligantes forman compuestos ciclometalados, los cuales

pueden presentar mejor lipofilidad que los de coordinación. Se han estudiado a mayor profundidad estructuras de rutenio ciclometaladas con ligantes tipo  $\pi$ -extendidos (estos particulares son derivados de la benzoquinolina con un mayor número de anillos aromáticos), mismos que presentan citotoxicidad en la oscuridad y una mayor citotoxicidad al ser irradiados, específicamente en líneas de cáncer gástrico AGS y KATO III [38, 39]. La citotoxicidad de los complejos de coordinación y organometálicos es mayor a la de los ligantes libres (ya que algunos muestran actividad anticancerosa en sí), entonces existe un incentivo adicional por incluir al rutenio en los complejos [40]. Estas estructuras ofrecen una nueva perspectiva comparado con otros compuestos organometálicos y orgánicos estudiados previamente.

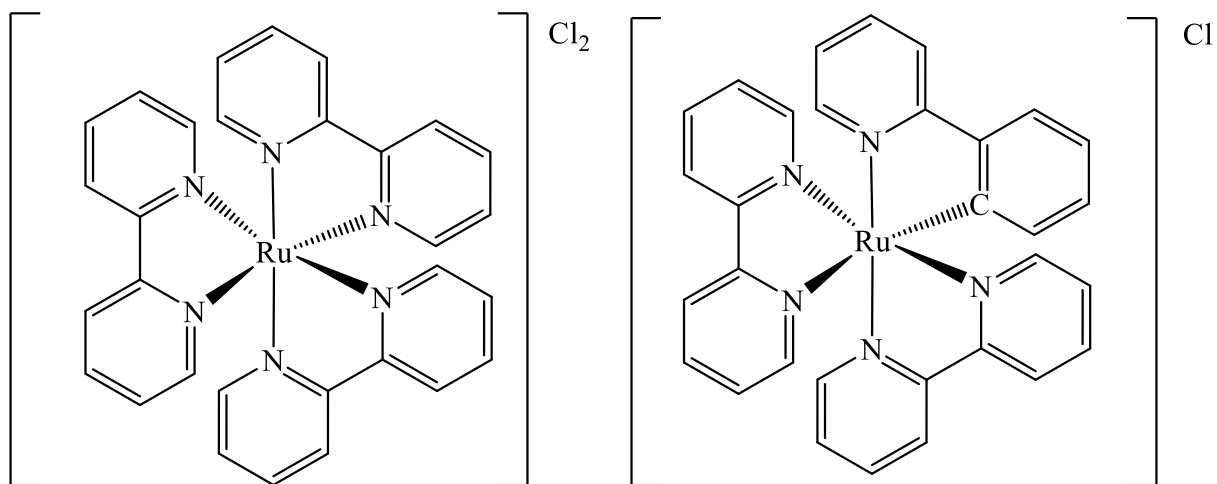


Figura 7. Ejemplos de compuestos polipiridínicos con rutenio [37]

Existen cuatro derivados de rutenio que han llegado a fases clínicas: KP1019, BOLD-100, NAMI-A y TLD1433 [41]. Este último es un fotosensibilizador para PDT. Estos cuatro medicamentos mostraron alta

efectividad para dañar el ADN de células cancerosas y algunas (BOLD-100 y TLD1433) presentan igualmente una capacidad de generar especies reactivas de oxígeno (por diferentes mecanismos). BOLD-100 presentan una mayor afinidad para el cáncer gástrico y pancreático y TLD1433 para cáncer de vejiga. NAMI-A en particular fue inicialmente reconocido por no ser tan tóxico para el resto del organismo comparado con el cisplatino [42, 43]. Sin embargo, se suspendió en fases clínicas debido a la cantidad de efectos secundarios y que no resultó ser suficientemente eficiente para eliminar el cáncer en varios pacientes [44].

Una familia de derivados de rutenio(II) investigados originalmente son los conocidos como RAPTA (Ruthenium Arene PTA). Este tipo de estructuras son de tipo medio sándwich (o taburete de piano). Los compuestos tipo taburete de piano consisten en un metal coordinado con un areno con la hapticidad respectiva del anillo y dos o más ligantes que son las "patas" del taburete. Tienden a ser relativamente estables en condiciones estándar, y los compuestos RAPTA son estables dentro del organismo humano [45]. Como su nombre lo indica, originalmente provienen de precursores que tienen un ligante areno, dos cloruros y un ligante denominado PTA (por su nombre en inglés, 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane) que están unidos a un átomo de rutenio(II). El grupo areno varía, y se indica como RAPTA-T (cuando es tolueno, Figura 8), RAPTA-C (al tratarse de *p*-cimeno) y RAPTA-B (si el areno es benceno). Los primeros dos compuestos han sido estudiados a mayor

profundidad, por la facilidad que el benceno en complejos tiene por ser reemplazado por otros arenos. Aún así desde 1992, los compuestos RAPTA (y los RAED, que son análogos con etilendiamina en lugar de PTA) han atraído atención a los compuestos (areno)rutenio(II) en tratamientos oncológicos [46].

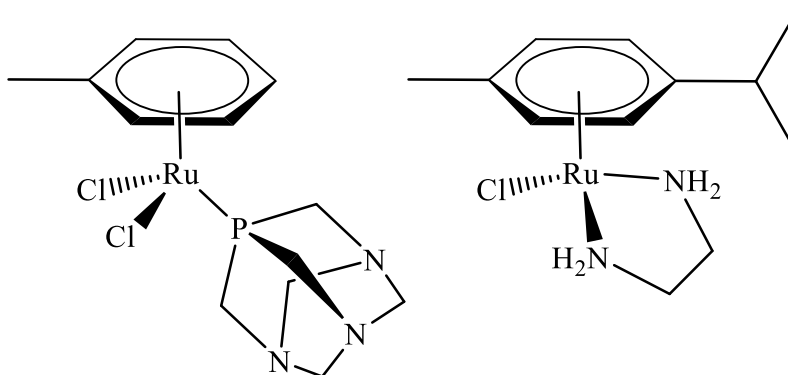


Figura 8. Estructura de RAPTA-T (izquierda) y RAED-C (derecha)

La razón particular por la cual los RAPTA llamaron tanta atención es por su mecanismo de acción. Este se da a través de la intercalación del ADN en un proceso a veces referido como *docking*. En este proceso, el centro metálico, el ligante PTA y los cloruros, se posicionan entre dos bases nucleares e interrumpen la secuencia de ADN, cambiando su conformación y así evitando la reproducción celular. Mientras tanto, el areno en sí funciona como un tapón, sosteniendo al resto del complejo entre secciones del ADN y evitando que lo remuevan los mecanismos de protección de la célula. Este fenómeno es un factor principal que mitiga la metástasis de tumores [47]. Posteriormente, se encontró que este fenómeno sucede incluso si se altera la estructura del areno

o si se utilizan ligantes parecidos al PTA. Incluso se determinó que la quiralidad de los compuestos RAPTA también es importante, ya que el enantiómero *S* es más citotóxico que el enantiómero *R* [48]. El estudio de estructuras de rutenio con arenos, por lo tanto, puede ser un área de interés para desarrollar fármacos anticancerosos.

## 2.5 Las dipirrininas y su actividad anticancerosa

Una familia de estructuras que se conoce desde hace varios años, pero que recientemente ha ganado interés en aplicaciones médicas, son las estructuras altamente conjugadas basadas en pirroles. Una categoría de moléculas de este tipo son las porfirinas, formada de cuatro anillos pirrólicos. La porfirina más conocida es la que se encuentra en la sangre: el grupo hemo (de la hemoglobina) que se compone de un átomo de hierro(II) coordinado a una porfirina. Debido a su estructura, las porfirinas tienen dos átomos de nitrógeno que actúan como ligantes tipo X y dos átomos de nitrógeno que actúan como ligantes tipo L. Las dipirrininas son otras estructuras de esta categoría, pero son derivados de dos pirroles en vez de cuatro. Por lo tanto, uno de los nitrógenos de la estructura actúa como un ligante tipo L y el otro actúa como un ligante tipo X. Los ligantes tipo X son aquellos que cuentan con carga y cambian el estado de oxidación del compuesto, mientras que en los ligantes tipo L no sucede este cambio. Los dos anillos cuentan con carbonos en posiciones  $\alpha$  (adyacentes al átomo de nitrógeno) y dos en posición  $\beta$  (a dos enlaces del átomo de nitrógeno) y están unidos a por un carbono central



denominado carbono *meso* (Figura 9). Otro miembro importante de este grupo son las BODIPY, donde una dipirrina está enlazada a un boro (que a su vez tiene dos enlaces con dos fluoruros) (Figura 10) [49].

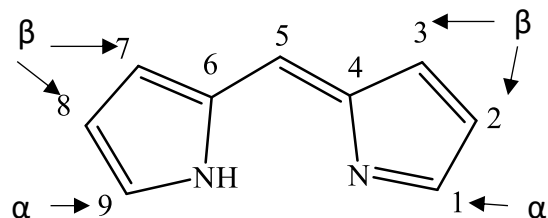


Figura 9. Esquema general de las dipirrininas con numeración convencional, donde el carbono en posición 5 es el carbono *meso*

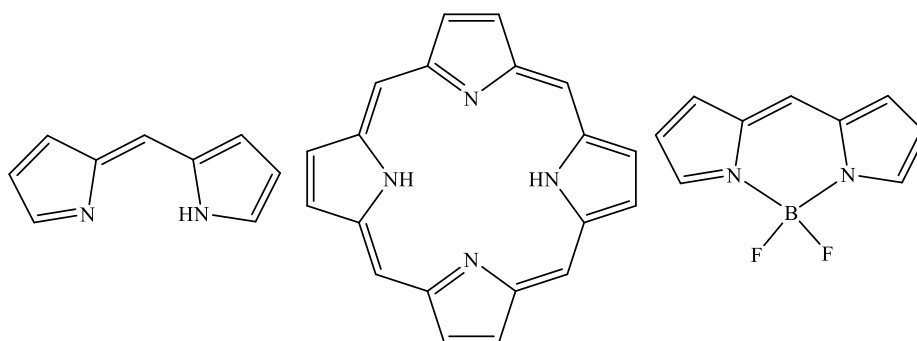


Figura 10. Estructura de la dipirrina (izquierda), porfirina (centro) y BODIPY (derecha)

Una característica de las dipirrininas es la versatilidad en su diseño. Generalmente, la formación de las dipirrininas proviene de la condensación de estructuras pirrólicas en medio ácido para formar dipirrometanos y de su oxidación (Figura 11). Los pirroles de partida son susceptibles a sustituciones

nucleofílicas aromáticas (S<sub>N</sub>Ar) y a sustituciones electrofílicas aromáticas (S<sub>E</sub>Ar). La característica más importante para la S<sub>N</sub>Ar es que un carbono α tiene que estar disponible. Un factor recomendable en la condensación es que se utilice un aldehído con un grupo voluminoso, frecuentemente un grupo arilo. Estos limitan la formación de polímeros o porfirinas, así asegurando rendimientos aceptables. Por otra parte, una vez que se tiene la dipirrina formada, también es posible funcionalizarla en los anillos pirrólicos, ya que es posible someterla a sustituciones nucleofílicas y electrofílicas [50]. Esta versatilidad es ideal para poder diseñar ligantes con propiedades particulares.

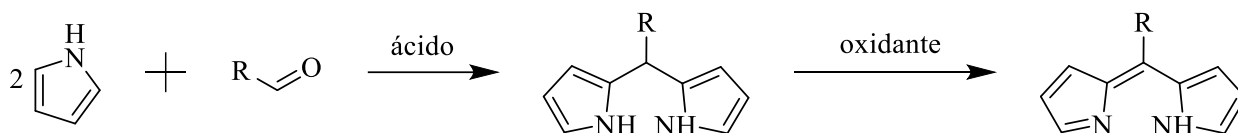


Figura 11. Reacciones para la formación de dipirinas sencillas

Se sabe que la sobreproducción de porfirinas en la sangre puede generar condiciones como la porfiria, que causa sensibilidad a la luz. Esto se debe a la habilidad de la porfirina de generar especies reactivas de oxígeno [51]. Por lo tanto, este tipo de estructuras son candidatos ideales para PDT. Efectivamente, existen moléculas porfirínicas que se utiliza para terapia fotodinámica. La verteporfina (o Visudyne®, como se conoce en la industria) es una porfirina funcionalizada (Figura 12) que se utiliza para tratar degeneración macular, miopía patológica y otras condiciones oculares. Al ser iluminada con laser en la zona del ojo, es capaz de generar oxígeno singulete en altas proporciones.

Aunque esto también indicaría que sería un posible medicamento para tratar el cáncer, los costos elevados de las materias primas y los bajos rendimientos no lo permiten [52]. Además, no se recomienda utilizar la verteporfina en gente inmunocomprometida (como aquellos con histoplasmosis), ya que disminuye su eficiencia drásticamente [53]. Aun así, esto abre la posibilidad a investigar compuestos similares que puedan tener propiedades citotóxicas del mismo tipo.

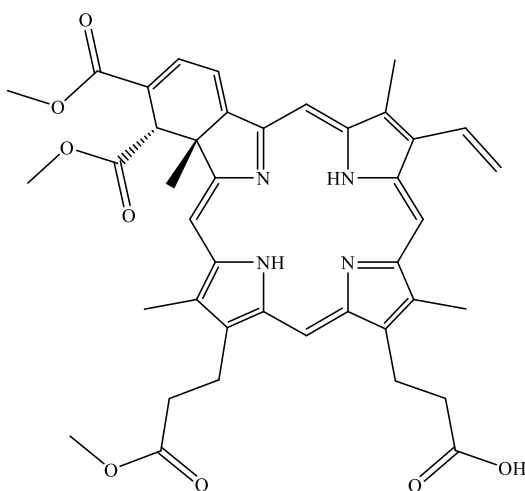


Figura 12. Estructura de la verteporfina

Las dipirinas también son estructuras que han ganado mucho interés dentro de la investigación contra el cáncer. En particular, se ha estudiado su actividad sobre la ruta Hippo, la cual es una vía de señalización que regula la renovación de células madre, la reproducción celular y apoptosis, para controlar el tamaño de tejidos [54]. Específicamente, se ha indagado sobre la actividad de las dipirinas en las proteínas YAP/TAZ (*Yes Associated Protein* y *Transcriptional coactivator with PDZ binding motif* respectivamente), las

cuales son importantes para procesos de transcripción del ADN [55]. Esta ruta se compone de tres etapas: los elementos de regulación superiores, los componentes de cascada cinasas y los componentes transcripcionales inferiores. En la segunda etapa participan las cinasas LATS 1/2 (Large Tumor Suppressor) e interactúan directamente con YAP y TAZ, llevando a su fosforilación. En este caso, se considera a la ruta Hippo encendida. Estos factores, si no están fosforilados (es decir, cuando está apagada), entran al núcleo y, al reaccionar con el factor transcripcional TEAD, que desencadenan otros factores transcripcionales, motivan la proliferación celular (Figura 13). Esta ruta puede estar encendida o apagada en células sanas, dependiendo de si la célula está a punto de empezar la etapa reproductiva. En ciertas células, como las hepáticas, es muy común que la ruta Hippo se encuentre apagada. En casos de cáncer, este proceso de fosforilación no se lleva a cabo, por lo que genera una reproducción descontrolada de la célula [56]. La expresión de YAP puede ser interrumpida desde un 70%, en cáncer gástrico, hasta un 92% en cáncer de ovarios [57]. La actividad sobre YAP y TAZ se ha observado más notablemente en dipirrinas hexasustituídas, y en menor nivel con otras estructuras dipirrónicas menos sustituidas.

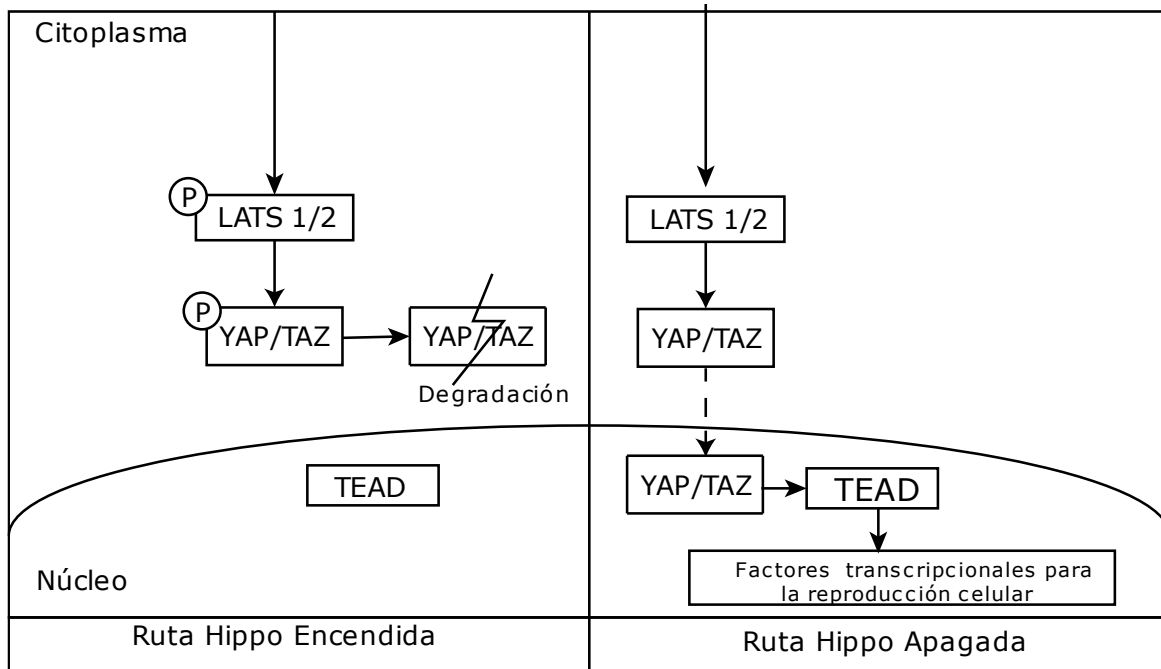


Figura 13. Etapa final de la cascada de cinasas de la ruta Hippo

Un último fenómeno de interés de las dipirrininas es su fotoactividad. Se han realizado ensayos fluorométricos de seguimiento de crecimiento celular por resazurina (que sirve como marcador) *in vitro* observando tanto células cancerosas como patogénicas. En estos ensayos, después de agregar el compuesto, se observó una mayor inhibición de crecimiento celular al irradiar a las células al comparado a en oscuridad [58]. Esto ha aplicado tanto a dipirrininas libres, como a dipirrininas en complejos homolépticos (es decir, donde todos los ligantes son iguales) con ciertos metales, como galio, cobalto y renio (Figura 14) [59, 60]. Al limitar el crecimiento de estas células, indica que son buenos candidatos para ser utilizados dentro de la terapia fotodinámica.

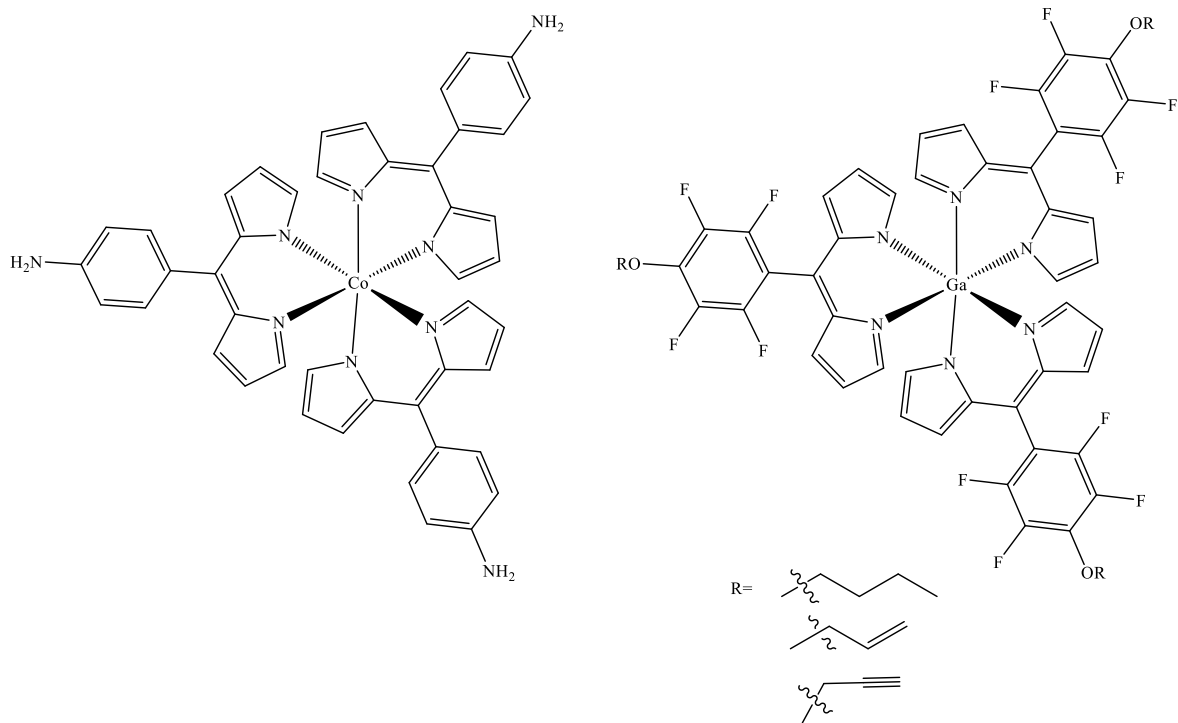


Figura 14. Compuestos homolépticos de cobalto y galio fotoactivos

### 3.0 Hipótesis

Será posible sintetizar complejos de rutenio(II) tipo taburete de piano con dipirrininas coordinadas que poseen actividad anticancerosa y sean capaces de generar oxígeno singulete al ser irradiados.

### 4.0 Objetivo general

Sintetizar compuestos de rutenio(II) tipo taburete de piano con dipirrininas coordinadas para evaluar su actividad anticancerosa.

### 4.1 Objetivos particulares

- Preparar ligantes de tipo dipirrina.
- Caracterizar los precursores tipo dipirrometano a través de resonancia magnética nuclear, espectroscopia de infrarrojo y espectroscopía de absorción UV-Vis.
- Coordinar las dipirrininas al rutenio y caracterizar los complejos por IR, RMN, MS, UV-Vis, electroquímica y difracción de rayos X de monocristal.
- Evaluar la habilidad de la formación de oxígeno singulete por resonancia paramagnética electrónica a través de la reacción con atrapadores de espín.
- Evaluar la actividad citotóxica de los complejos en células de cáncer humano.

## 5.0 Metodología

### 5.1 Generalidades

#### 5.1.1 Reactivos

El  $\alpha$ -terpineno, pirrol, 3,4,5-trimetoxibenzaldehído, ácido trifluoroacético, la trietilamina, el 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona, el gel de sílice y la alúmina fueron comprados de Sigma Aldrich. El  $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  proviene de Pressure Chemicals.

#### 5.1.2 Equipos

Para obtener los espectros de infrarrojo, se utilizó un equipo de FT-IR ATR Nicolet 50 y los espectros fueron procesados utilizando OMNIC. Los espectros de resonancia ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC y HMBC) se obtuvieron con el equipo Bruker Avance III de 300 MHz. El espectrómetro de masa utilizado fue un Jeol JMS-T100LC The AccuTOF utilizando la técnica de ionización de DART. La resonancia paramagnética electrónica fue realizada con un espectrómetro de Resonancia Paramagnética Electrónica Jeol JES-TE300. Para obtener los espectros de absorción UV-vis, se utilizó un espectrofotómetro Shimadzu 2600 en cubetas de cuarzo. El potenciostato utilizado para la voltamperometría cíclica fue un potenciostato-galvanostato AUTOLAB PGSTAT 12 con un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo, un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia y un electrodo de platino como contraelectrodo.



### 5.1.3 Uso de líneas de vacío y técnicas de Schlenk

La doble línea de vacío y gas inerte es una herramienta que permite manipular sustancias que son sensibles a la humedad y el oxígeno (u otros gases atmosféricos). Como su nombre lo indica, una de sus líneas tiene el flujo de un gas inerte, en este caso nitrógeno, y la otra está conectada a una bomba de vacío. Entre la bomba y la línea, se pone una trampa de disolventes, la cual se deposita en un recipiente con nitrógeno líquido. También, la línea de nitrógeno está conectada del otro lado a una trampa de aceite, que permite mostrar el flujo del gas en cuestión. Estas líneas se conectan por llaves que, a través del uso de mangueras, permiten conectarse a matraces Schlenk. Cada una de las llaves está lubricada con grasa de alto vacío.

Para asegurar una atmósfera inerte, un matraz Schlenk vacío (o con reactivo sólido) con un tapón tipo septum, se somete a vacío por aproximadamente un minuto. A continuación, se gira la llave para permitir el flujo de nitrógeno. Esto permanece hasta que se satura el matraz (que se observa en la trampa de aceite). Se debe de realizar este procedimiento mínimo por triplicado para asegurar una atmósfera adecuada.

Finalmente, está la transferencia y la filtración por cánula. Estas dos funcionan de la misma manera, pero para la filtración se utiliza una cánula especial que permite poner papel filtro. Para este procedimiento es necesario tener un matraz Schlenk con tapón donde se recuperará el líquido. Una vez que se tiene la disolución (o disolvente) de interés, la cánula se introduce por

los tapones de los matraces de origen y destino. El tubo de Schlenk con la disolución o disolvente debe estar ligeramente elevado y la cánula debe de tocar el seno del líquido. En el tubo de Schlenk de origen se abre la llave de nitrógeno y en el de destino se abre la llave de vacío. Para controlar el flujo del líquido, se puede variar el nivel de apertura de cada una de las dos llaves y la profundidad de la cánula en el matraz de donde se transfiere el líquido (Figura 15).

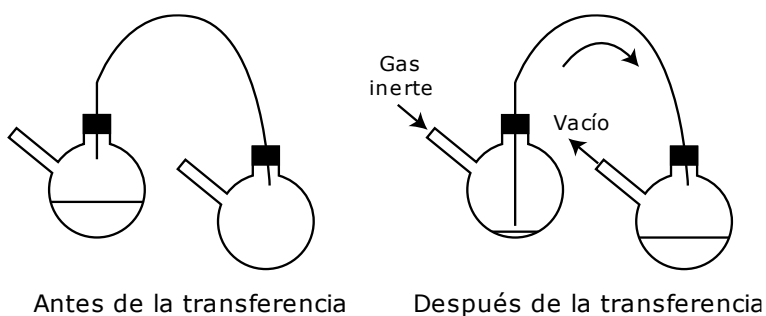


Figura 15. Transferencia de líquidos utilizando cánula

#### 5.1.4 Secado y desgasificado de disolventes

Para el secado de disolventes, el disolvente se agita en presencia de un agente desecante en un matraz bola. El matraz se acopla a un recolector conectado con un recirculador unido a una línea de nitrógeno para asegurar atmósfera inerte. Se calienta el disolvente hasta ebullición y éste condensa para ser recuperado en el recolector. Después de varios ciclos, se recolecta el disolvente, el cual después se transfiere por jeringa o cánula.

Para el diclorometano, acetonitrilo y hexano, se utiliza pentóxido de fósforo como agente desecante. Para la acetona, se utiliza diédrita. Para secar

alcoholes (etanol o metanol) se utiliza sulfato de magnesio como desecante. En el caso de los demás disolventes (benceno, tolueno, benceno y THF), se utiliza sodio con benzofenona.

Para la desgasificación del diclorometano, se emplea la técnica *freeze-pump-thaw*. En esta, el disolvente ya seco que se encuentra en un matraz Schlenk conectado a la línea de vacío se sumerge en nitrógeno líquido hasta que se congela. Se retira del nitrógeno líquido y se abre la llave del vacío. Una vez que se haya descongelado una gran porción del disolvente, se cierra la línea del vacío y se permite que se descongele completamente. Este proceso se hace por triplicado.

#### 5.1.3 Método de cristalización y difracción de rayos X de monocristal

Para la formación de cristales, se disolvió el compuesto **3** en la menor cantidad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Sobre esto, se pone una capa de benceno y finalmente un exceso de heptano. Se deja en la oscuridad y en refrigeración por dos semanas.

El difractómetro utilizado fue un difractómetro de rayos X de monocristal Oxford Gemini, con un detector Atlas de 135 mm de área y un sistema de enfriamiento Cryojet. La longitud de onda utilizada es de 0.71073 Å, y el análisis se realizó a 130 K.

#### 5.1.4 Ensayo de citotoxicidad

Para evaluar la citotoxicidad del complejo, se realizaron ensayos de viabilidad celular. Para llevar a cabo dichos ensayos, se utiliza una sal de

tetrazolio (generalmente bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, o más comúnmente conocido como MTT), la cual tiene un color amarillo en disolución. En presencia de células vivas, reacciona con el NAD(P)H producida por enzimas mitocondriales. La sal se convierte en el formazano correspondiente, que es violeta (Figura16).

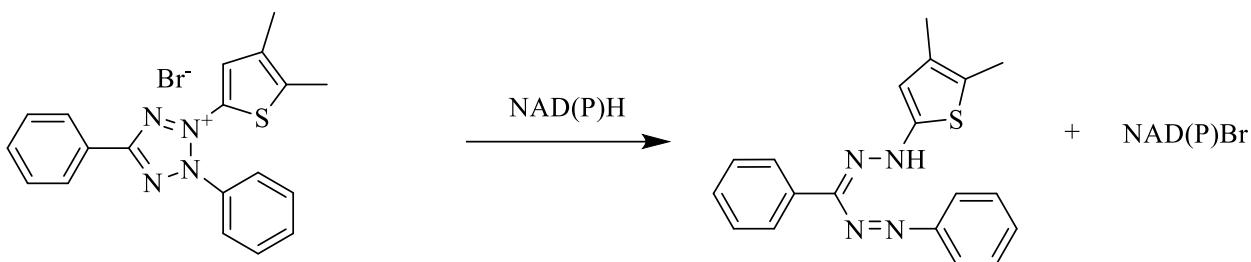


Figura 16. Reacción de MTT para formar el formazano correspondiente

En un espectrofotómetro se mide la absorbancia del formazano a 550 nm para determinar el porcentaje de supervivencia celular respecto a un control. En particular, este experimento se usa para determinar el IC<sub>50</sub>, que representa la concentración mínima necesaria para llevar al 50% de muerte celular.

La línea de cáncer estudiada es la AGS (adenocarcinoma gástrico humano). Las células fueron cultivadas en un medio RPMI 1640 con 10% suero bovino fetal (FBS) a 37 °C en una atmósfera humidificada de 95% aire y 5% CO<sub>2</sub>. Se siembran 10000 células por pozo, en una placa de 96 pozos, donde se incuban por 24 horas. Posteriormente, se realiza el tratamiento de las células AGS con 8 diferentes concentraciones del compuesto **3**, durante 48h.

En el caso en que se evalúa el efecto de la irradiación, se somete a luz blanca durante 15 minutos, 8 horas después de realizar el tratamiento. Después se continúa incubando por 40 horas más. Para el ensayo MTT, después de 48 h de tratamiento, las células se incuban durante 1 hora con una disolución de MTT en RPMI 1640 (0.5 mg/mL). Los cristales de formazano son disueltos en DMSO. Finalmente, se mide la absorbancia mediante un espectrofotómetro UV-Vis en 550 nm.

Para determinar la IC<sub>50</sub> se grafica el porcentaje de supervivencia celular contra la concentración del compuesto. Este porcentaje de supervivencia es el cociente entre las medidas de absorbancia de las células en presencia del compuesto y la absorbancia de las células control, ya que la absorbancia es proporcional a la cantidad de formazano que es a su vez proporcional a la cantidad de células vivas. Se aplica una regresión no lineal con el programa Prism y se determina la concentración que corresponde al 50% de supervivencia celular [61].

## 5.2 Síntesis del dímero [ $\mu^2$ -dicloro( $\eta^6$ -*p*-cimeno)rutenio(II)]<sub>2</sub>

En un matraz bola, se agrega 5.0 mL de  $\alpha$ -terpineno (30 mmol) a una disolución de 0.57 g de RuCl<sub>3</sub> (2.7 mmol) en etanol (50 mL). Se calienta a reflujo por 10 horas y después se espera a que se enfríe a temperatura ambiente. El precipitado se filtra sobre papel y se lava con 5.0 mL de éter

etílico. El sólido rojo oscuro se seca al vacío. El rendimiento es de 91% (0.787 g).

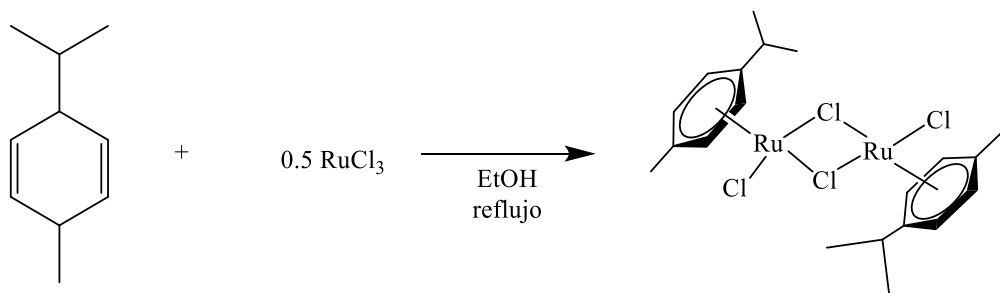


Figura 17. Síntesis de dímero de  $[\mu^2\text{-dicloro}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{rutenio(II)}]_2$

### 5.3 Síntesis de 2,2'-[(3,4,5-trimetoxifenil)metilen]bis(1H-pirrol) (**1**)

Se pesa 1.0 g de 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (5.0 mmol) y se disuelve en 17.5 mL de pirrol (250 mmol). Se burbujea nitrógeno por 15 minutos y se deja bajo atmósfera de nitrógeno. Se agregan 40  $\mu\text{L}$  (0.5 mmol) de ácido trifluoroacético (TFA) y se deja la reacción por una hora en agitación constante a temperatura ambiente. Se adicionan dos gotas de trietilamina. Se recupera el exceso de pirrol evaporándolo utilizando un equipo de destilación al vacío a 90 °C. Se agrega 1.0 mL de tolueno y subsecuentemente se evapora en el mismo equipo para remover los residuos de pirrol. Se adicionan 3.0 mL de una mezcla 2:1 de etanol:agua y se evapora a sequedad. El sólido se lava dos veces con 2 mL de agua y 2 mL de hexano, se filtra a vacío y se redisuelve en 6 mL de acetona. Se realiza una columna de gel de sílice con hexano:AcOEt (8:2), se recuperan las primeras fracciones y se evapora el disolvente. El

producto se lava con 1.0 mL de una mezcla fría de acetato de etilo:hexano (7:3), se filtra y se seca al vacío. La reacción tiene un rendimiento de 78%, dando un producto blanco (1.2 g).

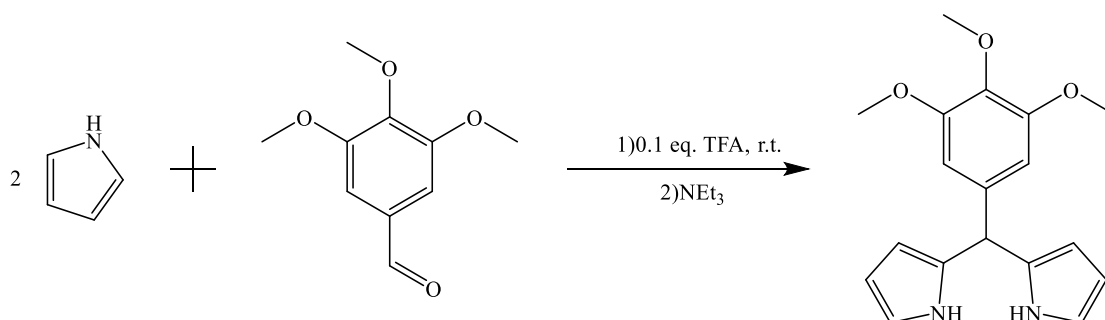


Figura 18. Síntesis del compuesto **1**

#### 5.4 Síntesis de (Z)-2-[2H-pirrol-2-iliden(3,4,5-trimetoxifenil)metil]-1H-pirrol

(2)

Se disuelven 0.1 g de DDQ (2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona) (0.45 mmol) en 5 mL de benceno y se agrega esta disolución a 0.11 g de dipirrometano (0.37 mmol) en 2 mL de diclorometano a 0 °C. Una vez que llega a temperatura ambiente, se deja reaccionar por una hora y media bajo agitación. Se evapora el disolvente al vacío y se agregan 15 mL de benceno. Se filtra por cánula y papel filtro bajo atmósfera inerte. Al sólido se le adicionan 15 mL de hexano, se realiza una filtración por cánula y el filtrado se seca en la línea de vacío para dar un sólido negro. Se obtiene un rendimiento de 5% (5.2 mg).

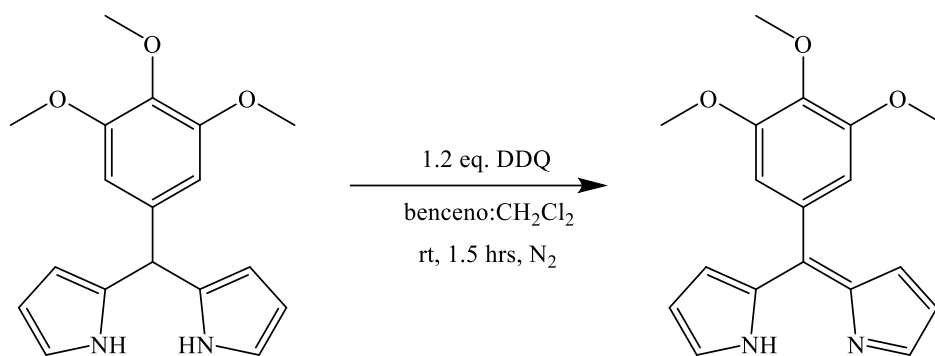


Figura 19. Síntesis del compuesto **2**

### 5.5 Síntesis de $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-p-cimeno})((Z)\text{-2-[2H-pirrol-2-iliden(3,4,5-trimetoxifenil)metil]pirrolato-}\kappa^2\text{N})]$ (**3**)

Se disuelven 160 mg de DDQ (2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona) (0.48 mmol) en 5 mL de benceno y se agrega esta disolución a una disolución de 150 mg de dipirrometano (56 mmol) en 2 mL de DCM a 0 °C. Se pone en agitación hasta llegar a temperatura ambiente y se deja reaccionar por una hora. Se evapora el disolvente al vacío y se agregan 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco y desgasificado, al igual que 0.75 mL (2.4 mmol) de trietilamina. Se deja reaccionar por quince minutos. Se adicionan 150 mg de dímero de rutenio (0.24 mmol, 0.5 eq.) disuelto en 5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco y desgasificado y se deja reaccionar a temperatura ambiente por 24 horas en agitación constante. Se purifica por columna de alúmina con una mezcla  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}$  (70:30) como eluyente. Se recupera la segunda fracción amarilla y se evapora a sequedad. El sólido se lava con 2 mL hexano y se seca al vacío. Se obtiene un sólido naranja oscuro con un rendimiento de 48% (130 mg).



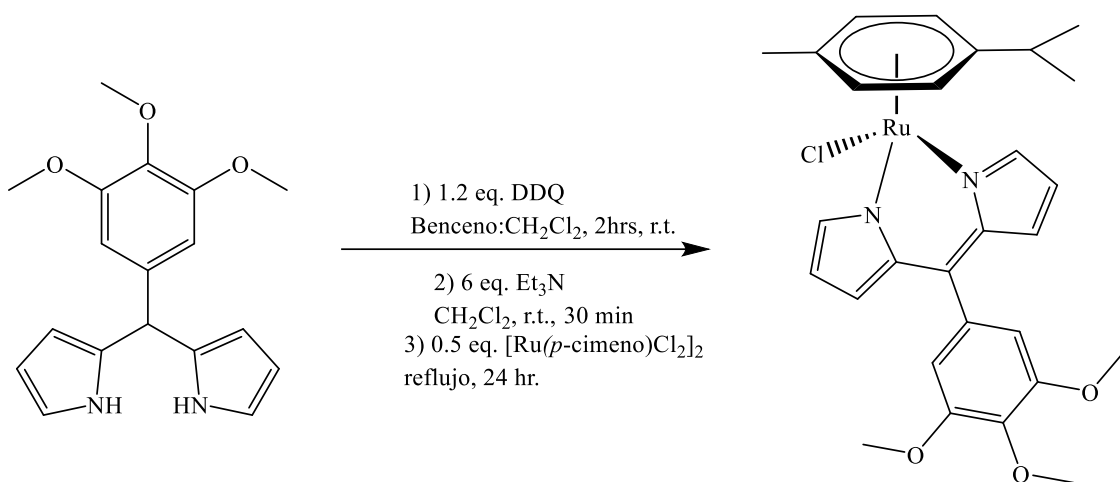


Figura 20. Síntesis del compuesto **3**

## 6.0 Resultados

### 6.1 Dímero [ $\mu^2$ -dicloro( $\eta^6$ -*p*-cimeno)rutenio(II)]<sub>2</sub>

El dímero [ $\mu^2$ -dicloro( $\eta^6$ -*p*-cimeno)rutenio(II)]<sub>2</sub>) es rojizo y se obtuvo con un rendimiento de 91%, el cual es parecido a rendimientos reportados en la literatura [62]. Para comprobar que se formó este compuesto, se utilizó resonancia magnética de protón (Figura 21 y 22). Las señales en 5.48 y 5.20 ppm corresponden a los protones 2 y 3, ya que cada doblete integra para dos. El septuplete en 2.86 ppm con integración de uno corresponde al protón 4, mientras que el singulete de integración tres en 2.86 ppm corresponde al protón 1. Finalmente, el doblete en 1.22 ppm que integra para seis corresponde a los protones 5.

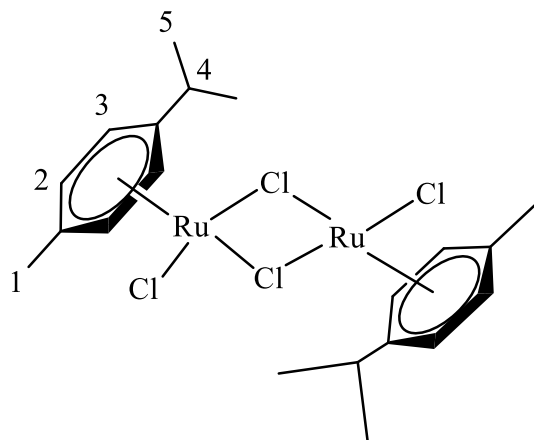


Figura 21. Estructura de dímero de rutenio con la numeración de los protones

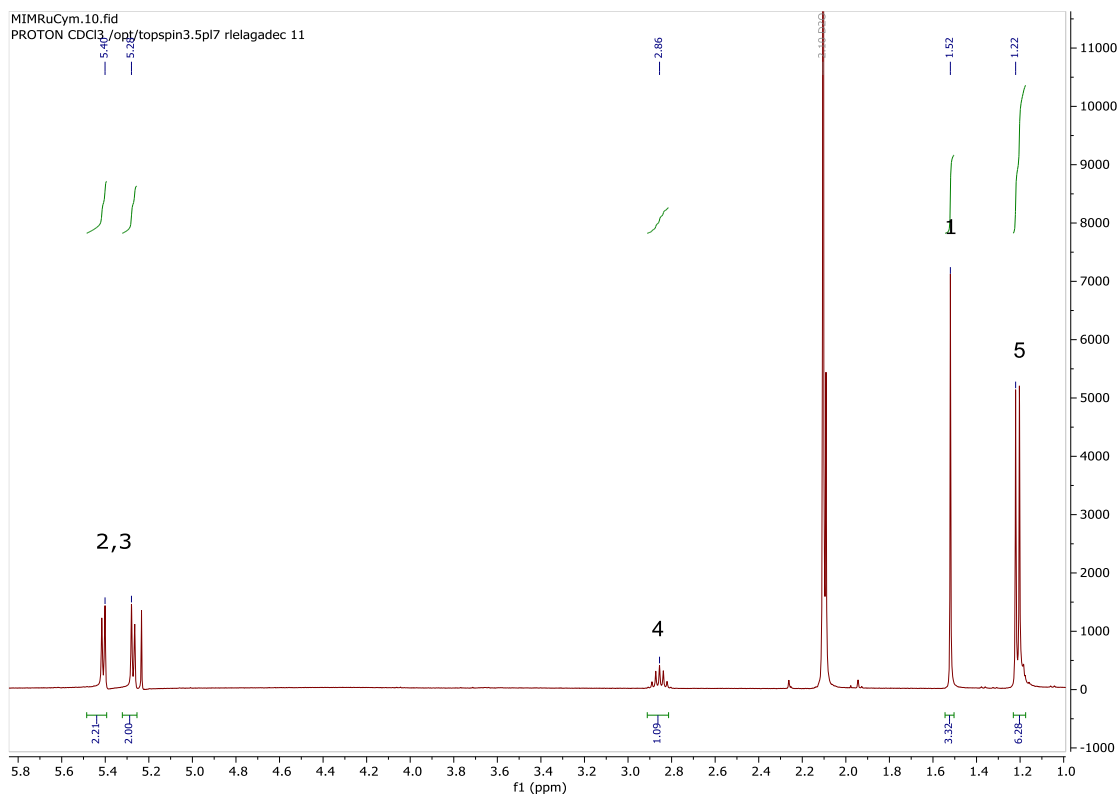


Figura 22. Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de dímero  $[\mu^2\text{-dicloro}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{rutenio(II)}]_2$  en  $\text{CDCl}_3$

## 6.2 2,2'-[(3,4,5-trimetoxifenil)metilen]bis(1H-pirrol)

El segundo compuesto (**1**) fue sintetizado con un rendimiento de 78% (Figura 23). Es un sólido blanco con un punto de fusión de 171-172 °C. Es soluble en acetona, diclorometano, THF, medianamente soluble en benceno y tolueno, poco soluble en éter dietílico y acetato de etilo e insoluble en agua y hexano. Un paso crítico para obtener este rendimiento es la destilación del pirrol para aislar el dipirrometano, ya que de no llevarlo a cabo el rendimiento

disminuye a un 53%. Esto se atribuye a que el dipirrometano es altamente soluble en el pirrol. Otro punto importante para hacer al proceso más eficiente la purificación es el lavado final con la mezcla AcOEt:Hexano. De no realizarse el lavado es posible observar señales de impurezas en el espectro  $^1\text{H-RMN}$  entre 0 y 2 ppm.

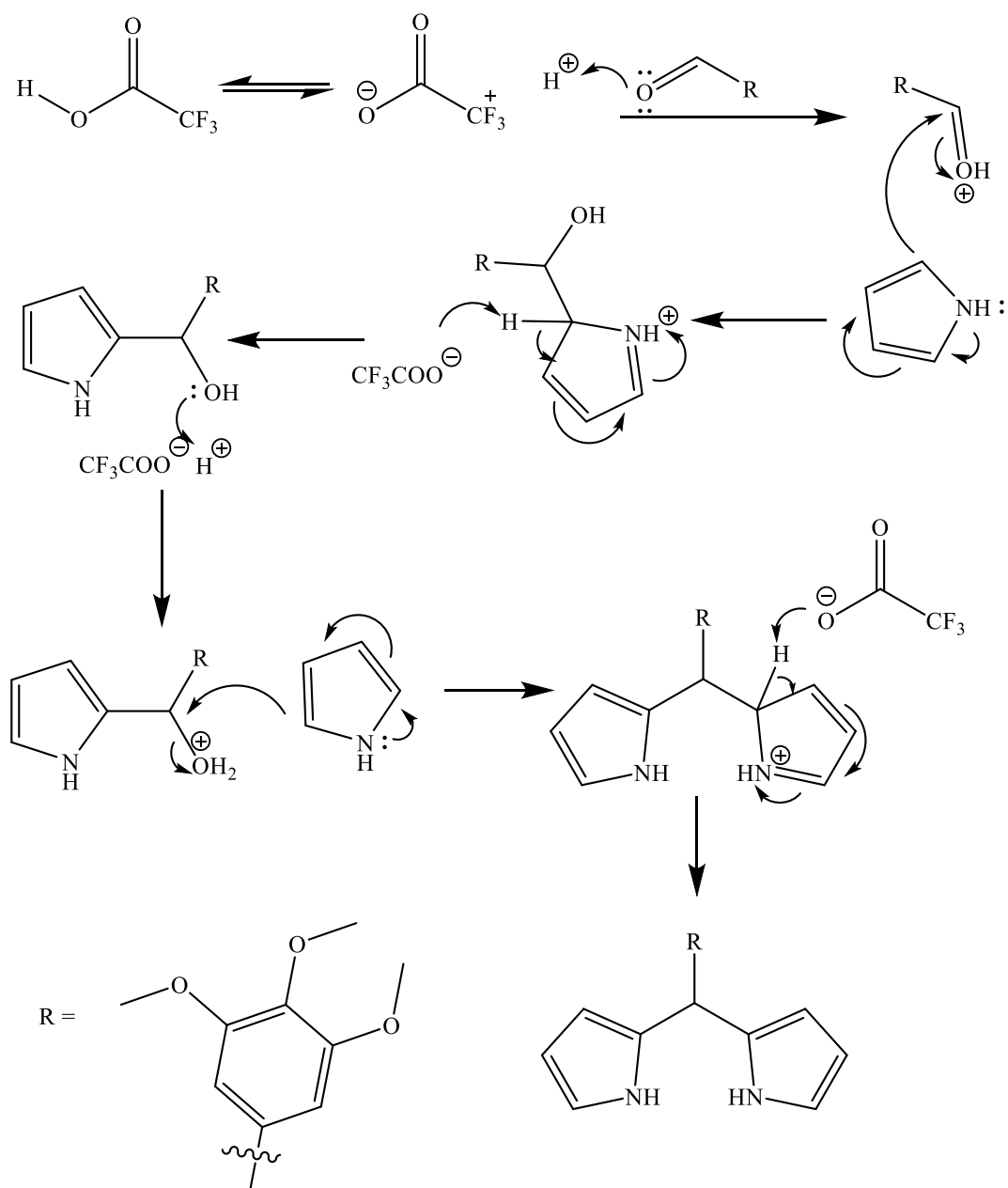


Figura 23. Mecanismo de reacción para la formación del compuesto **1**

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figuras 24 y 25), en 7.90 ppm aparece un singulete ancho, el cual corresponde a los protones 1, es decir a los que están enlazados a los átomos de nitrógeno. Las señales en 6.55 y 5.99 ppm son dos dobletes que integran para dos, por lo que una corresponde a los protones 2 y el otro a los protones 4. Debido a su cercanía al nitrógeno, la señal en 6.55 ppm probablemente es la que corresponde a los protones de los carbonos adyacentes a los nitrógenos (es decir el 2), ya que se encuentra más desprotegido por la mayor electronegatividad del nitrógeno. En 6.37 ppm se encuentra un singulete que integra para dos, por lo que se trata de los protones 6. En 6.10 ppm aparece un triplete que corresponde a los protones 3, ya que integra para dos y tiene dos protones vecinos. Finalmente, los singuletes en 3.72 y 3.71 ppm corresponden a los protones 8 y 7 respectivamente, debido a que la primera señal integra para tres y la segunda para seis protones.

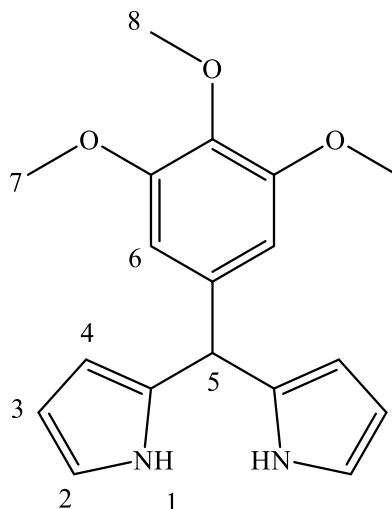


Figura 24. Esquema del compuesto **1**, con su numeración de protones

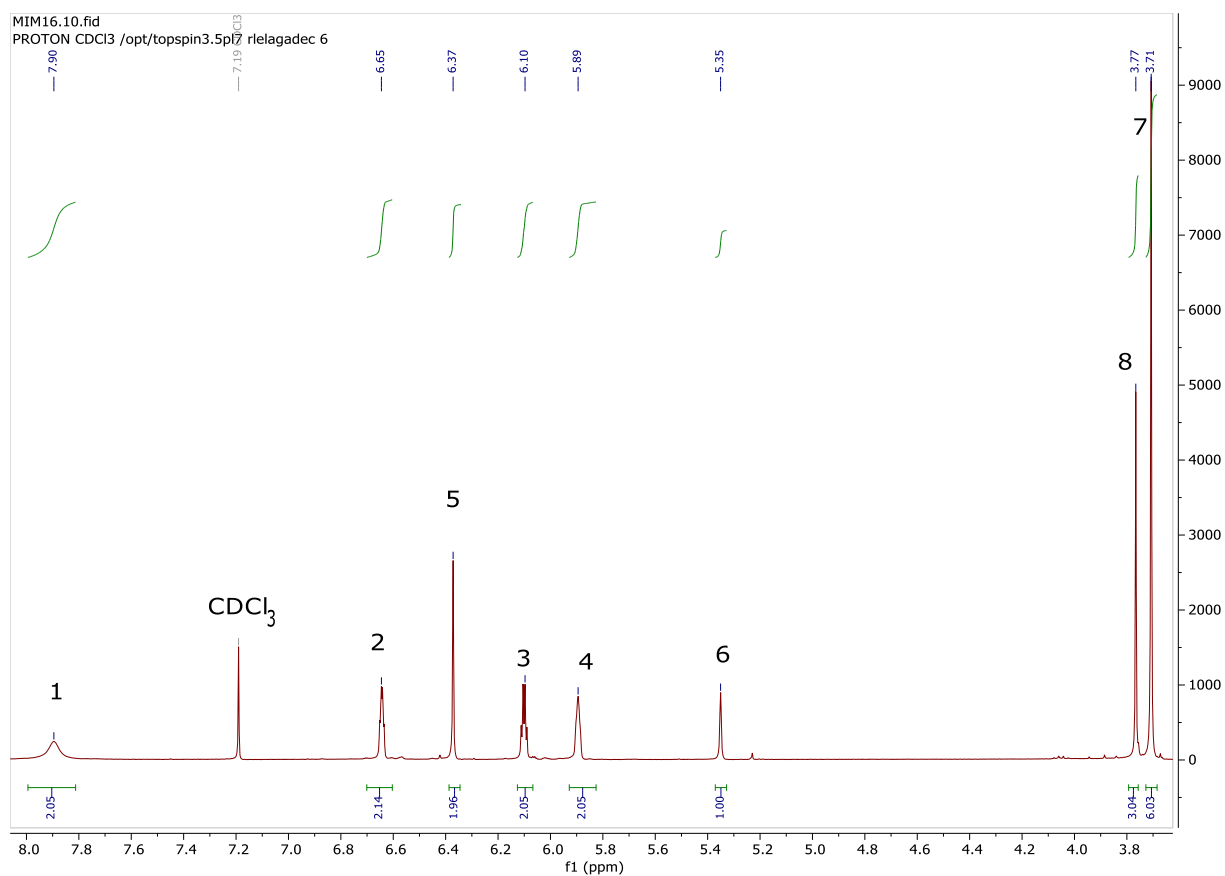


Figura 25. Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto **1** en  $\text{CDCl}_3$

Igualmente, el espectro infrarrojo confirma la estructura del compuesto **1** (Figura 26). Principalmente, está la banda en  $3304\text{ cm}^{-1}$ , el cual corresponde vibración del enlace N-H. Por otro lado, las otras bandas fácilmente identificables son las de las vibraciones correspondientes a C-H de carbonos  $\text{sp}^3$  y  $\text{sp}^2$ . Las primeras bandas aparecen de  $2939\text{ cm}^{-1}$  hasta alrededor de  $2890\text{ cm}^{-1}$ , mientras que las segundas corresponden a las bandas desde  $2694$  hasta aproximadamente  $3060\text{ cm}^{-1}$ .

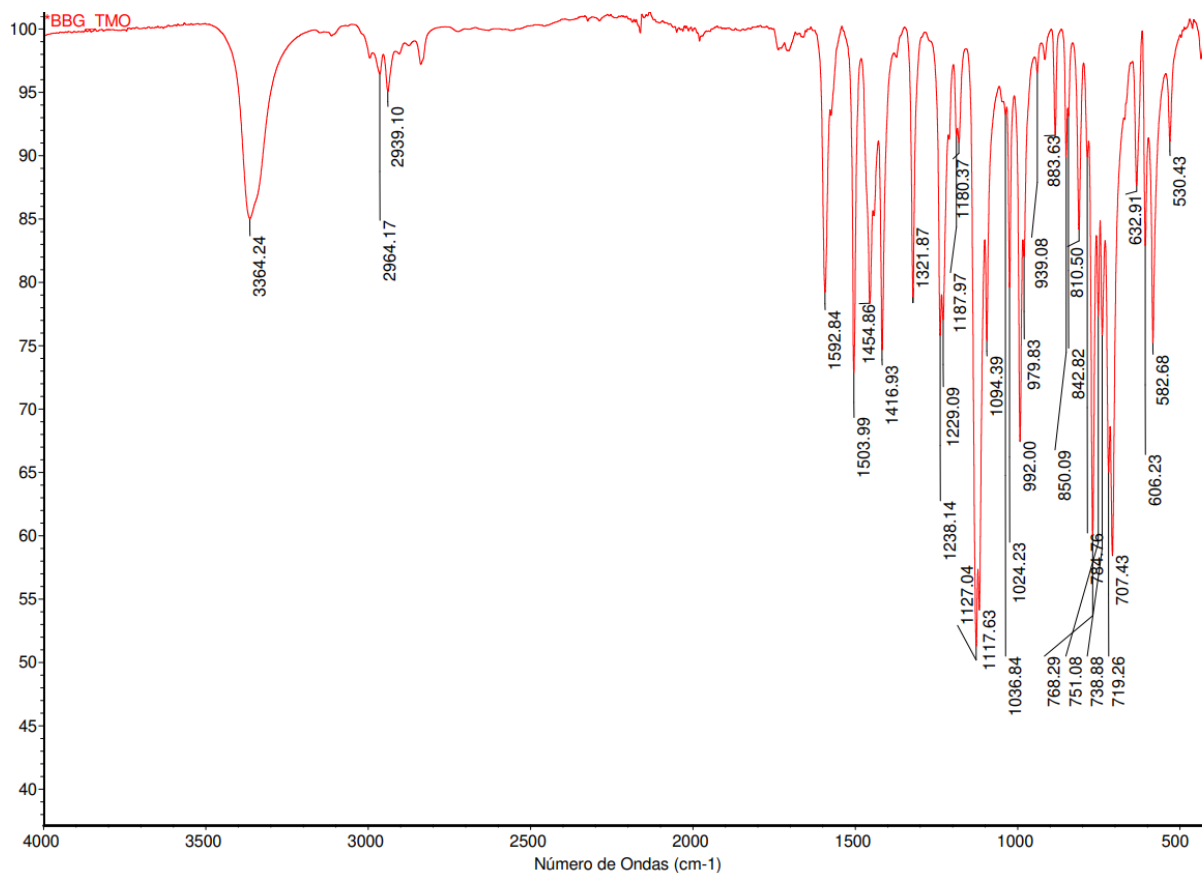


Figura 26. Espectro infrarrojo (ATR) del compuesto **1**

### 6.3 (Z)-2-[2H-pirrol-2-iliden(3,4,5-trimetoxifenil)metil]-1H-pirrol

El segundo compuesto que se sintetizó fue la dipirrina correspondiente (compuesto **2**). La oxidación del dipirrometano para formar otra doble ligadura se llevó cabo en atmósfera de nitrógeno en benceno y diclorometano secos. En este caso, es particularmente importante la ausencia de humedad, ya que de estar presente puede reaccionar con la DDQ (2,3-diciano-5,6-dicloro-1,4-benzoquinona) y liberar HCN. La adición del oxidante al dipirrometano se llevó a cabo a 0 °C y lentamente, ya que la reacción es exotérmica. Una vez adicionado, se dejó reaccionando en agitación por una hora y media en la oscuridad. Sin embargo, la purificación a través de la evaporación del disolvente y la filtración del sólido primero con benceno y después con hexano no fue efectiva, ya que solamente se obtuvo un rendimiento del 5%.

El rendimiento bajo se debe a la dificultad de separar la DDQ de la dipirrina. Tanto la DDQ como la dipirrina fueron solubles en varios disolventes (tolueno, THF, acetona y diclorometano). El benceno permitió una mayor separación entre estas dos sustancias; aunque la dipirrina era parcialmente soluble en ésta, era menos soluble que la DDQ, por lo que lo hizo el mejor disolvente para poder separar al producto de los reactivos. Esto se debe a que el oxidante utilizado (una quinona, que provee un catecol) es especialmente soluble en dichos disolventes aromáticos. Finalmente, el lavado con hexano permitió separar las trazas de oxidante que permanecían con el precipitado de



dipirrina, ya que las cantidades de DDQ eran tan bajas que podían ser removidas con el disolvente.

Pese a que otras dipirrininas han podido ser purificadas por columna de gel de sílice [63], éste no fue el caso. Se realizaron intentos tanto en medio neutro como en básico en gel de sílice con gradientes de polaridad diferentes principalmente utilizando acetato de etilo y hexano. Sin embargo, se seguían reteniendo varios compuestos que no se pudieron separar con este método. Adicionalmente, en todas las fracciones se observó una coloración amarilla, muy probablemente DDQ. Al realizar cromatografía de capa fina en distintas fracciones, se observa una mancha continua amarilla. La apariencia de la mancha es idéntica a la de una disolución de DDQ pura, por lo que no se puede distinguir ningún comportamiento por parte de la dipirrina. Adicionalmente, no es posible observar si la DDQ está presente cuando se usa resonancia magnética de protón, debido a la ausencia de protones en la estructura.

Asimismo, se evaluaron diferentes condiciones de reacción ( $T = 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , en acetona, benceno, acetona: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2:1),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , benceno: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2:1), y por 30 minutos, una hora y seis horas), pero ninguna condición permitió que se aislara el compuesto a través de cromatografía en columna, recristalización o filtración.

Otra barrera presente es la sensibilidad del compuesto **2** frente a la luz. Las dipirrininas pueden ser fotosensibles y descomponerse con facilidad. Por

esto, se han reportado que generarlas *in situ* para su uso inmediato es recomendado (como sucede con el caso más estudiado de las BODIPY) [60]. Debido a esto, se optó por acoplar este procedimiento al siguiente paso, que es la reacción con el dímero de rutenio(II), esperando que se forme un compuesto que no sea inestable. Por una parte, debido a que se encuentra un ligante bidentado, se espera que una vez que estén enlazados los átomos de nitrógeno al metal se forme un ciclo estable. Por otra parte, debido a los enlaces de coordinación, se retira parte de la densidad electrónica del ligante, lo cual disminuiría su reactividad.

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de la dipirrina es posible observar el número de señales que se esperaba (Figura 28 y 29). Sin embargo, debido a la poca cantidad de producto obtenido, no es posible observar las multiplicidades de los anillos provenientes de los pirroles. Aunque la molécula no parece ser simétrica, al plantear una estructura resonante, se puede observar que la estructura sí es simétrica (Figura 27). Esto se apoya en que, en las dipirrininas, el hidrógeno tiende a estar en un punto medio entre los dos nitrógenos [50], debido a la formación de un puente de hidrógeno con el nitrógeno con el que no está enlazado, lo cual implica que no existe un cambio estructural entre las dos estructuras resonantes. Por lo tanto, en  $^1\text{H}$ -RMN se espera que aparezca un número de señales correspondiente a una molécula simétrica.

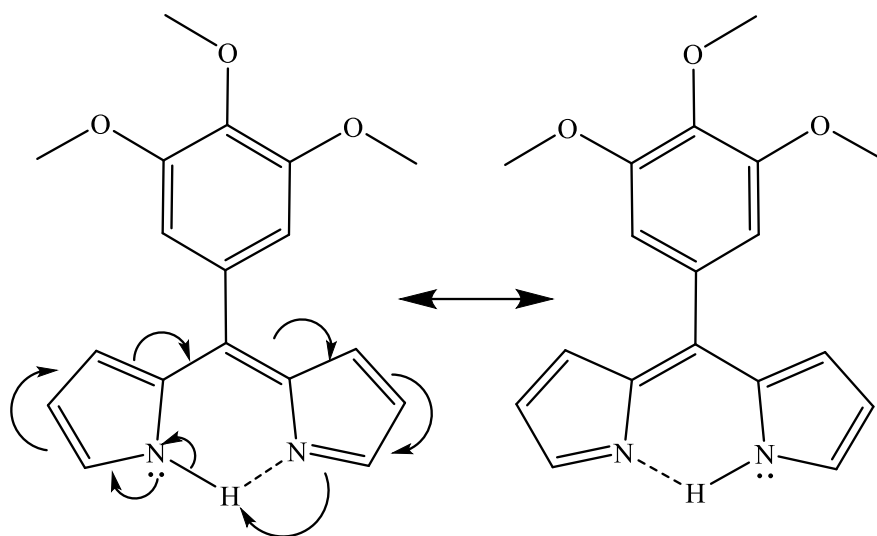


Figura 27. Estructuras resonantes del compuesto **2**

En 8.01 ppm se observa el protón del enlace N-H, con integración de un protón. Esta señal (y la ausencia del protón del carbono *meso*) indican que se ha formado una dipirrina. Las próximas cuatro señales (en 7.29 ppm, 6.87 ppm, 6.68 ppm y 6.56 ppm) corresponden a los protones aromáticos, uno del anillo derivado de fenilo y las otras tres de los protones que provinieron de los pirroles. Cada una de estas señales integran a dos. Finalmente, en 3.91 ppm se observa los hidrógenos del grupo metoxi en posición *para* (ya que integra para 3 protones), mientras que en 3.80 ppm se observan los protones correspondientes al grupo metoxi en la posición *meta*.

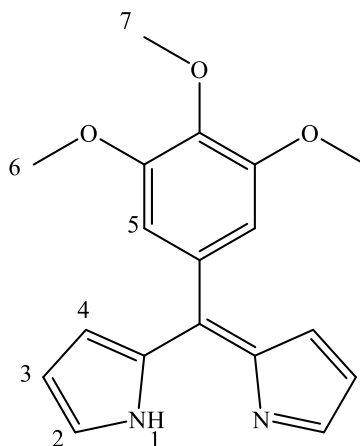


Figura 28. Estructura de compuesto **2** con numeración de protones

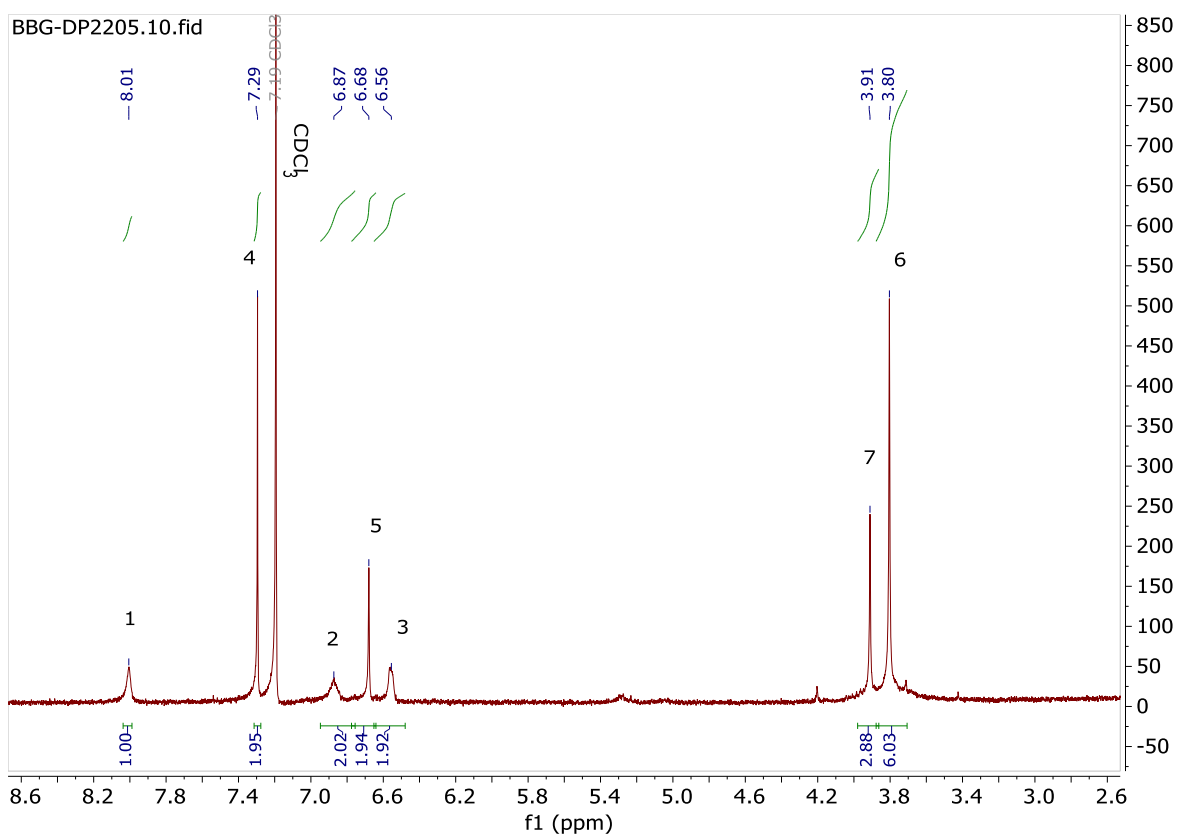


Figura 29. Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de compuesto **2** en  $\text{CDCl}_3$

#### 6.4 [RuCl( $\eta^6$ -*p*-cimeno)((*Z*)-2-[2*H*-pirrol-2-iliden(3,4,5-trimetoxifenil)metil]pirrolato- $\kappa^2$ N)]

El sólido obtenido (con un rendimiento de 48%) es un café rojizo oscuro, y en disolución es desde amarillo hasta naranja (al estar concentrado). El proceso fue realizado en un solo reactor (*one-pot*) partiendo del compuesto **1** y generando la dipirrina *in situ*, ya que ésta no se puede separar fácilmente. Para mitigar la humedad y la luz (en caso de que sea sensible el proceso), se mantuvieron las reacciones en la oscuridad y con disolventes secos. Las disoluciones de diclorometano y DDQ se realizaron con los sólidos en matraces en atmósfera de nitrógeno y el disolvente fue transferido por cánula para evitar la presencia de humedad. Asimismo, cuando se incorpora la trietilamina y el dímero de dicloro(*p*-cimeno)rutenio(II) se utilizan disolventes desgasificados, para evitar que el oxígeno reaccione con intermediarios. Como todo el procedimiento se puede hacer en un solo tubo de Schlenk, se considera como un proceso *one-pot*.

La purificación más eficiente consiste en una cromatografía en columna y un lavado posterior del sólido con hexano. El eluyente de la columna es una mezcla de diclorometano y acetonitrilo (70:30). Se realizó una purificación con atmósfera de nitrógeno y en la oscuridad, pero no hubo diferencia apreciable comparado sin atmósfera inerte y en presencia de luz. La fracción que contiene el compuesto es de color naranja oscuro y el sólido obtenido es un naranja oscuro. El lavado con hexano elimina adicionalmente un aceite

amarillo que no fue posible caracterizar. El punto de fusión del complejo es de 177-179 °C. El compuesto es soluble en diclorometano, cloroformo, acetonitrilo, acetona y THF, medianamente soluble en éter, etanol y metanol, poco soluble en DMSO y benceno e insoluble en hexano, heptano.

#### 6.4.1 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

La primera técnica utilizada para comprobar la estructura fue RMN, tanto de protón ( $^1\text{H}$ ), carbono ( $^{13}\text{C}$ ) y bidimensional (HSQC y HMBC) (Figuras 31, 33, 34 y 35). Como un nitrógeno funciona como ligante X y el otro funciona como ligante L, electrónicamente se espera que los dos anillos de la dipirrina sean diferentes. Sin embargo, debido a sus desplazamientos tan similares, en la mayoría de los casos se traslapan las señales. La señal en campo más bajo (en 7.95 ppm) se observa como un triplete, correspondientes a los protones 7, ya que la señal integra para dos protones y tiene dos protones vecinos. En 6.63 ppm y 6.41 ppm se encuentran dos dobles de dobletes. Un doble de dobletes corresponde a los protones 6 y el otro a los protones 8. Asimismo, la señal en 7.95 ppm tiene una constante de acoplamiento ( $J$ ) de 1.4 Hz, los dobletes de 6.62 ppm tiene una  $J$  de 1.4 Hz y los dobletes de 6.41 ppm tienen una  $J$  de 1.5 Hz, confirmando que esas tres señales (las de 6.41, 6.62 y 7.95 ppm) pertenecen a protones acoplados. Por lo tanto, estos son los protones contiguos de los anillos pirrólicos. En 6.56 ppm se encuentra un singulete ancho, el cual corresponde al protón 9, ya que integra para dos protones. En 5.24 ppm se encuentra un singulete que integra para cuatro protones. Esta

señal corresponde a los protones 2 y 3. Aunque normalmente se observan dos dobletes, en los compuestos que incluyen dipirrininas se ha observado que se juntan las señales y aparece como si fuera un singulete [63]. En 3.85 ppm aparece otro singulete con integración para tres protones, el cual corresponde a los protones 11. Finalmente está el dos de singuletes en 3.73 ppm, los cuales corresponden a los protones 10. Nuevamente, aparecen como dos señales (en vez de una) debido a que la molécula no es simétrica. Este conjunto integra para seis protones. En 2.38 ppm se observa un septuplete que integra para un protón, por lo que corresponde al protón 4. En 2.17 ppm aparece un singulete que integra para tres protones, por lo que corresponde a los protones etiquetados como 1. Finalmente, en 1.02 ppm aparece un doblete que integra para seis protones, el cual corresponde a los protones 5. Un comportamiento anómalo que se observa corresponde al de las señales de los protones 9 y 10, ya que las señales son mucho más anchas de lo esperado. Esto se debe a la posible rotación que tiene el arilo respecto al resto de la dipirrina. Cuando estos se encuentran en el mismo plano, tiene un nivel de protección diferente a las posiciones cuando no lo está, debido a que el ambiente electrónico cambia.

En el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono, el número de señales que aparecen corresponde al número de carbonos no equivalentes de la molécula de acuerdo con la estructura planteada. Aunque existe mayor dificultad para asignar las señales a carbonos, debido a la ausencia de

multiplicidades, existen técnicas bidimensionales de apoyo: HSQC y HMBC. Estas permiten observar la relación que existe entre los protones y los carbonos, indicando el acoplamiento que hay entre sus núcleos. La primera técnica (cuyas siglas provienen de *Heteronuclear Single Quantum Coherence*), muestra la conectividad entre el protón y el carbono al cual está enlazado. Por lo tanto, es una técnica que sirve para identificar a que corresponden los carbonos que no son cuaternarios. La segunda técnica (cuyas siglas provienen de *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*), es una técnica que permite observar los acoplamientos entre un protón y carbonos a más enlaces de distancia. Aunque generalmente se observan los acoplamientos a dos o tres enlaces de distancia, en ciertos sistemas conjugados (como es el caso del ligante dipirrínico) puede mostrar una correlación con carbonos a más enlaces de distancia.

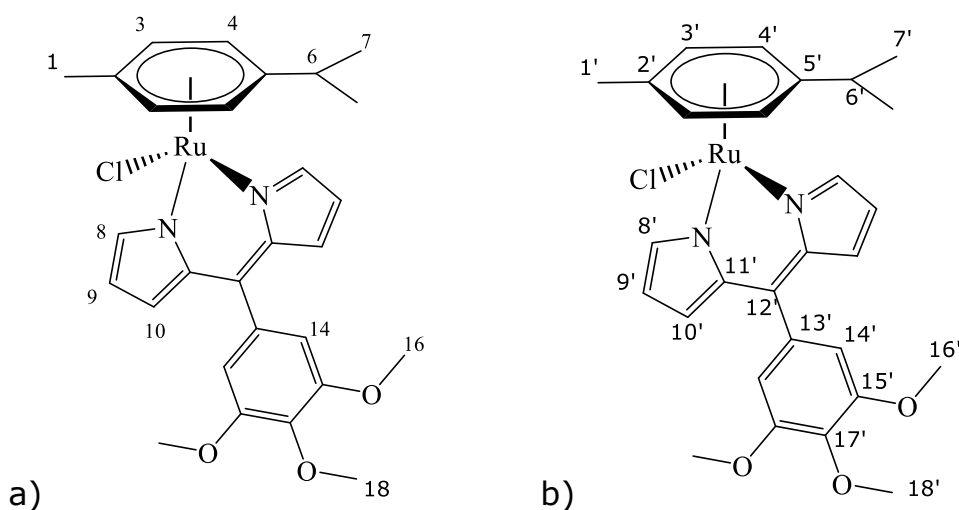


Figura 30. Estructura del compuesto **3** con numeración de a) protones y b) carbonos



Tabla I. Señales en el espectro HSQC indicando los desplazamientos en los ejes y los protones y carbonos correspondientes

Protón	Desplazamiento en $^1\text{H-RMN}$	Carbono	Desplazamiento en $^{13}\text{C-RMN}$
1	2.17 ppm	1'	17.61 ppm
7	1.02 ppm	7'	21.09 ppm
6	2.38 ppm	6'	29.61 ppm
16	3.73 ppm	16'	55.20 ppm
18	3.85 ppm	18'	59.99 ppm
3,4	5.24 ppm	3', 4'	83.80 ppm, 83.68 ppm
8	6.41 ppm	8'	106.52 ppm
14	6.56 ppm	14'	117.33 ppm
10	6.63 ppm	10'	129.96 ppm
9	7.95 ppm	9'	153.76 ppm

Tabla II. Señales en el espectro HSQC indicando los desplazamientos en los ejes y los protones y carbonos correspondientes

Protón (etiqueta)		Carbono (etiqueta)	Desplazamiento en $^{13}\text{C}$ RMN
7	1.02 ppm	7'	21.09 ppm
		6'	29.61 ppm
		5'	101.16 ppm
1	2.17 ppm	3', 4'	83.30 ppm, 83.68 ppm
		2'	99.19 ppm
3,4	5.24 ppm	2'	99.19 ppm
		5'	101.16 ppm
16	3.73 ppm	15'	136.98 ppm
9	7.95 ppm	14'	117.33 ppm
		10'	129.96 ppm
		11' o 12'	132.47 ppm
		11' o 12'	133.87 ppm

Fuera de esto, hay dos señales del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN que no se pueden identificar directamente por los espectros bidimensionales, una en 107.63 ppm y otra en 145.14 ppm. Asimismo, los carbonos 13' y 17' no habían sido asignados a señales. Debido a que el carbono 15' se encuentra a un desplazamiento más alto, debido a su parecido estructural con el carbono 17',

se sugiere que el carbono 17' corresponde a la señal a 145.14 ppm. Por lo mismo, el carbono 13' corresponde a la señal en 107.63 ppm.

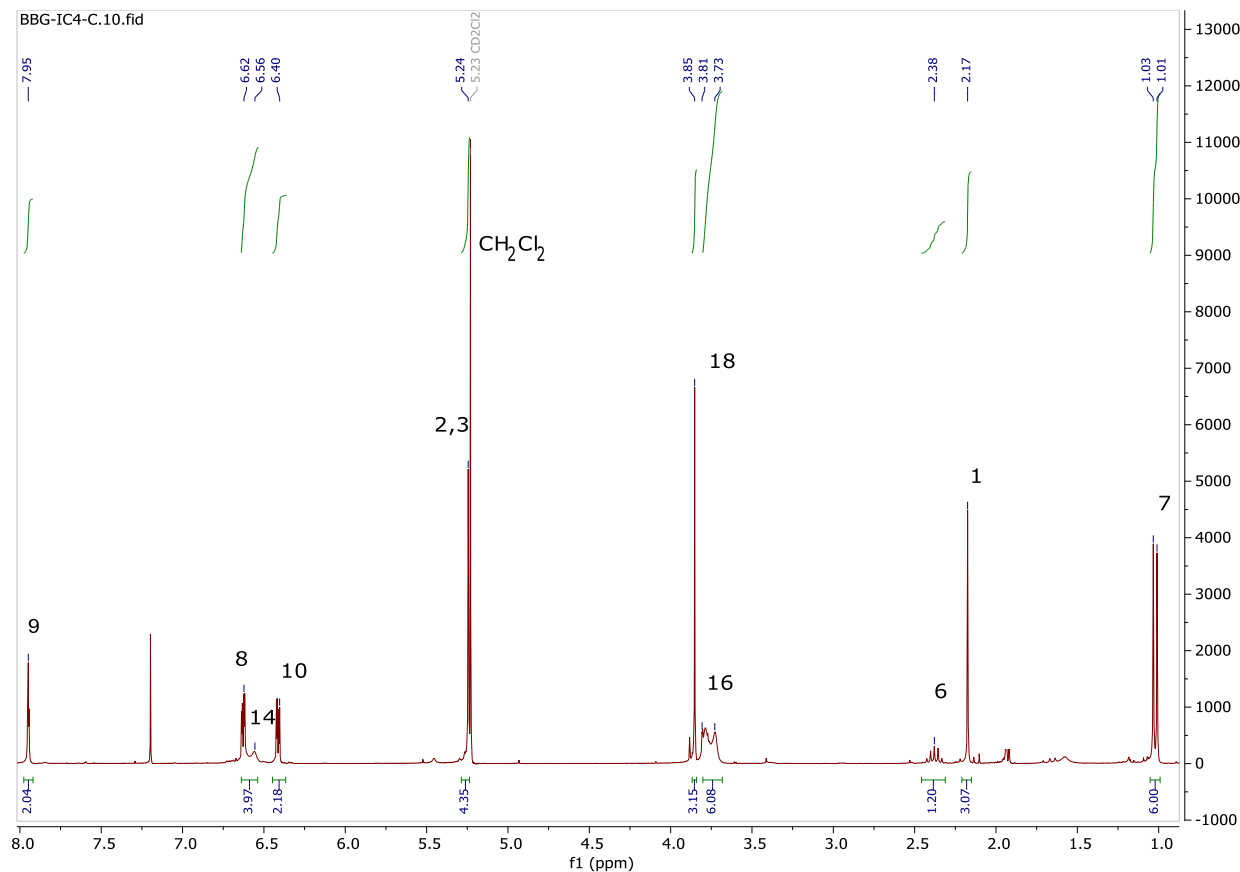


Figura 31. Espectro de <sup>1</sup>H-RMN del compuesto **3** en CDCl<sub>3</sub>

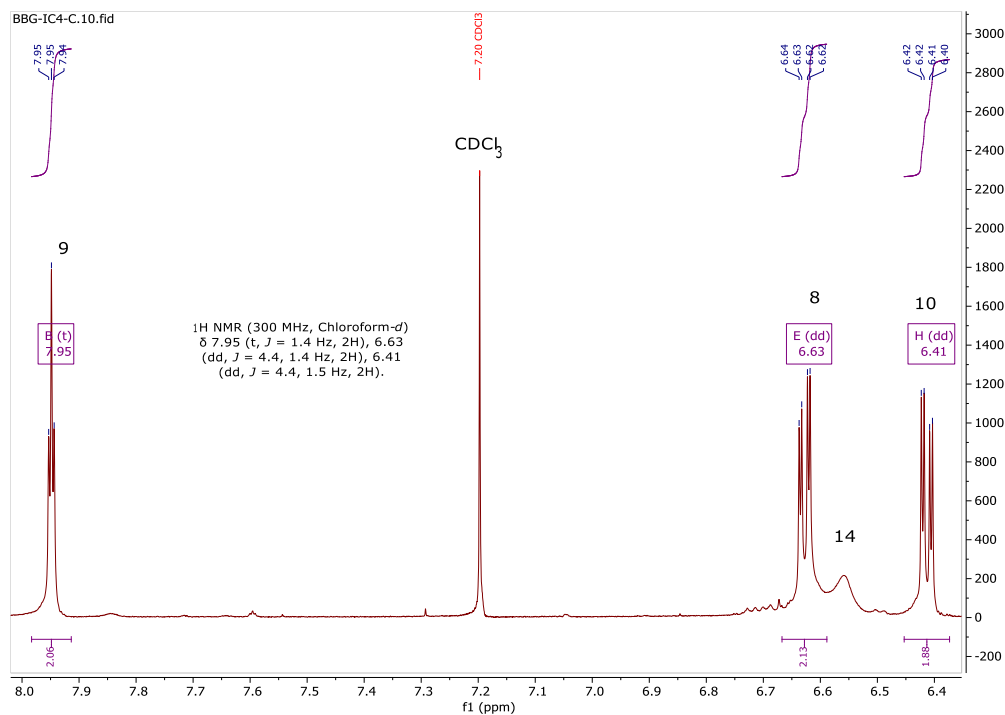


Figura 32. Ampliación del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto **3** en  $\text{CDCl}_3$

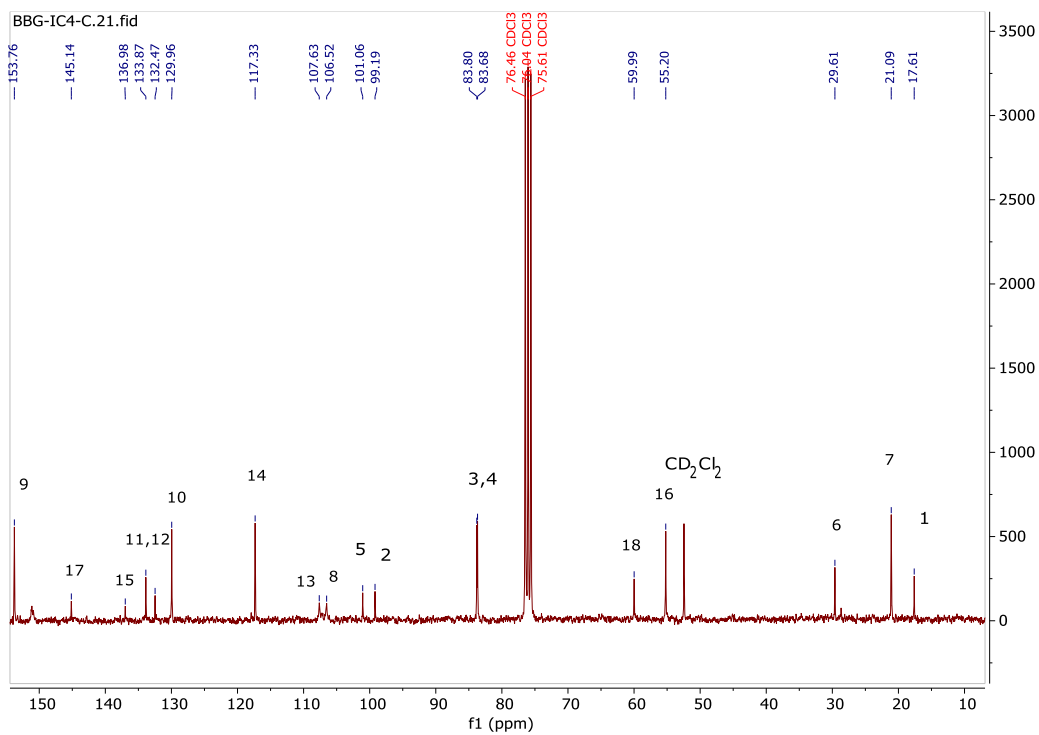


Figura 33. Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN del compuesto **3** en  $\text{CDCl}_3$

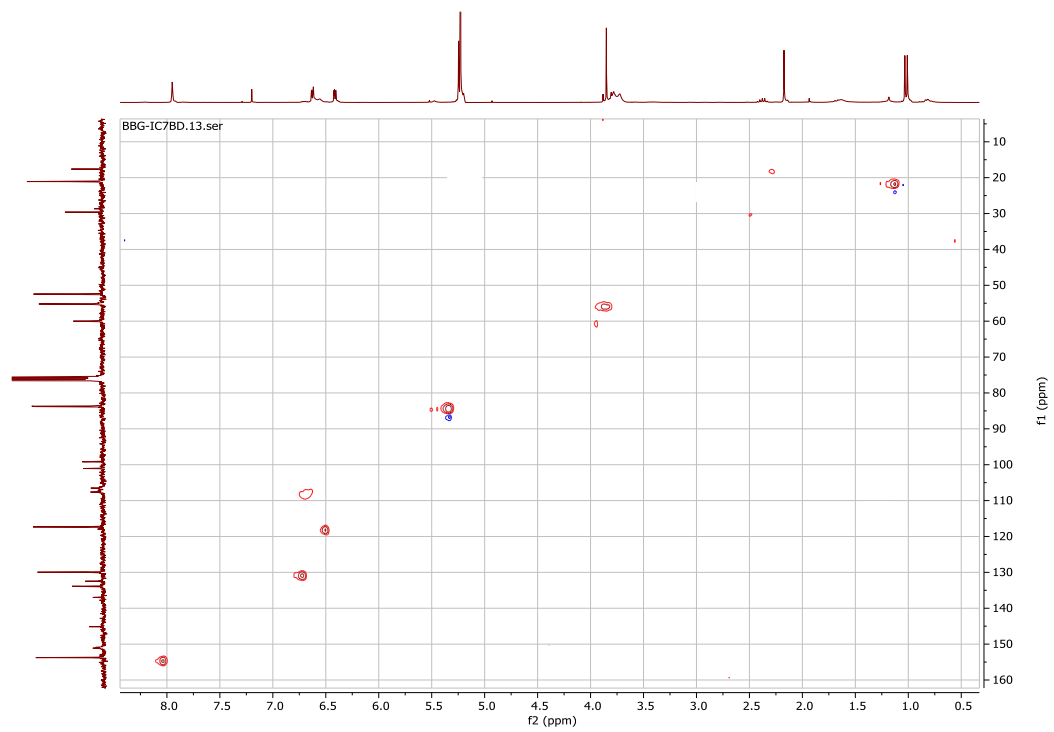


Figura 34. Espectro bidimensional HSQC del compuesto **3** en  $\text{CDCl}_3$

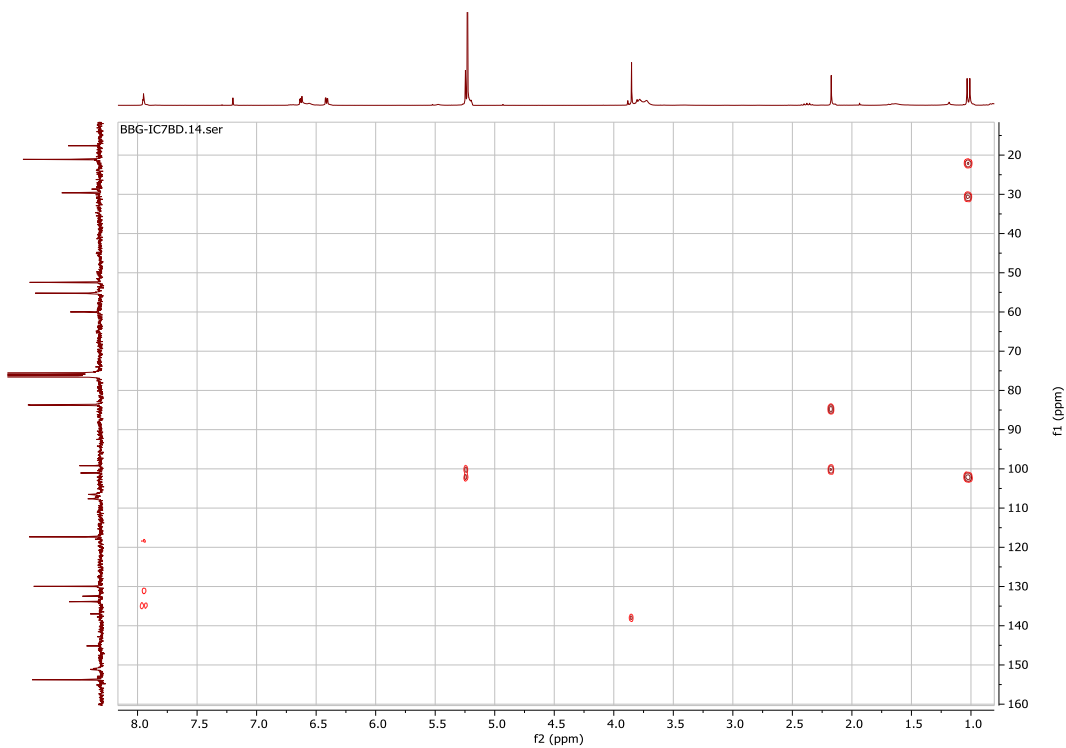


Figura 35. Espectro bidimensional HMBC del compuesto **3** en  $\text{CDCl}_3$

#### 6.4.2 Espectrometría de masas

Para analizar el espectro de masas, es importante mencionar que la masa molar del compuesto es de 579.52 g/mol. Si se considera el isótopo más común de rutenio (102 u.a.), la masa molar corresponde a 580.45 g/mol. En el espectro de masas DART (Figura 36), se observa un conjunto de picos rodeando este valor. Asimismo, se puede observar más claramente un pico en 545  $m/z$ , la cual corresponde a la masa del compuesto sin un cloro. Alrededor de 545  $m/z$  se pueden observar los 11 picos característicos con la distribución isotópica del rutenio. El ion molecular está en 341 ppm, lo que corresponde al fragmento que incluye al rutenio con la dipirrina (sin el 3,4,5-trimetoxifenilo) y un radical tropilio (el cual puede ser un producto de descomposición del *p*-cimeno).

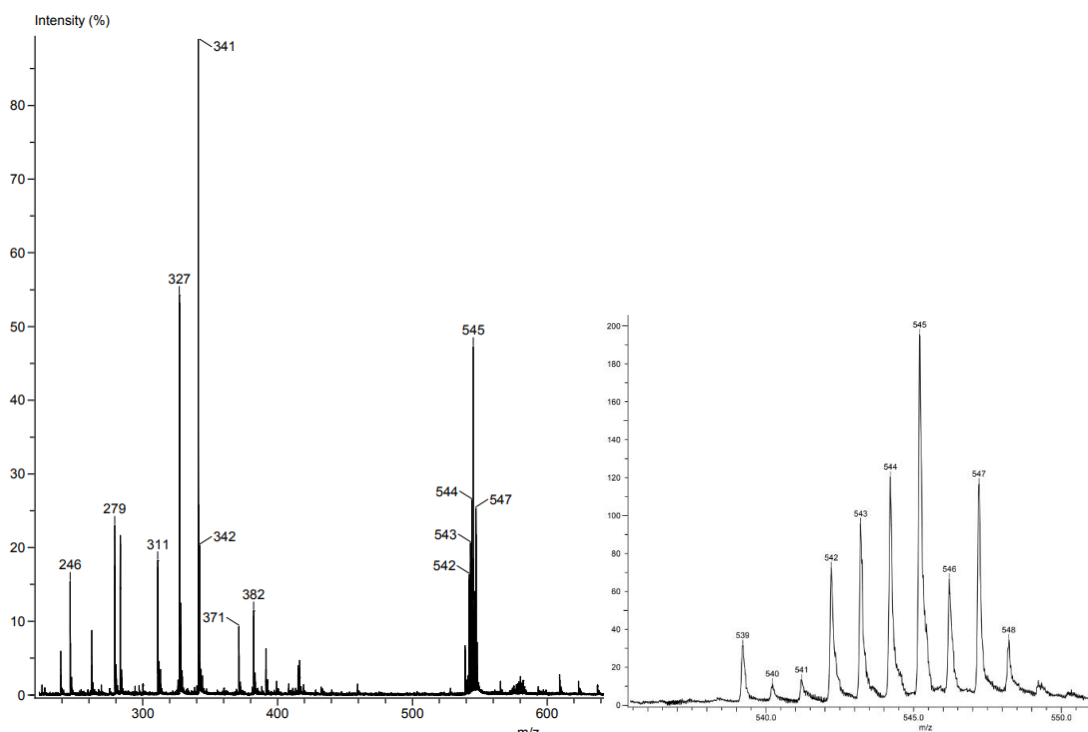


Figura 36: Espectro de masas DART del compuesto **3** y su ampliación centrada en 545  $m/z$

#### 6.4.3 Espectroscopía infrarrojo

Se obtuvo el espectro infrarrojo por ATR del compuesto **3** (Figura 37). La ausencia de bandas características de N-H garantiza que el ligante tipo dipirrina se encuentra desprotonado, lo que sugiere que está enlazado al rutenio por los dos nitrógenos. Las bandas de 2955 hasta 3100  $\text{cm}^{-1}$  confirman la presencia de carbonos  $\text{sp}^2$  con hidrógeno y las bandas de 2835 a la de 2955  $\text{cm}^{-1}$  comprueban la presencia de carbonos  $\text{sp}^3$  con hidrógeno.

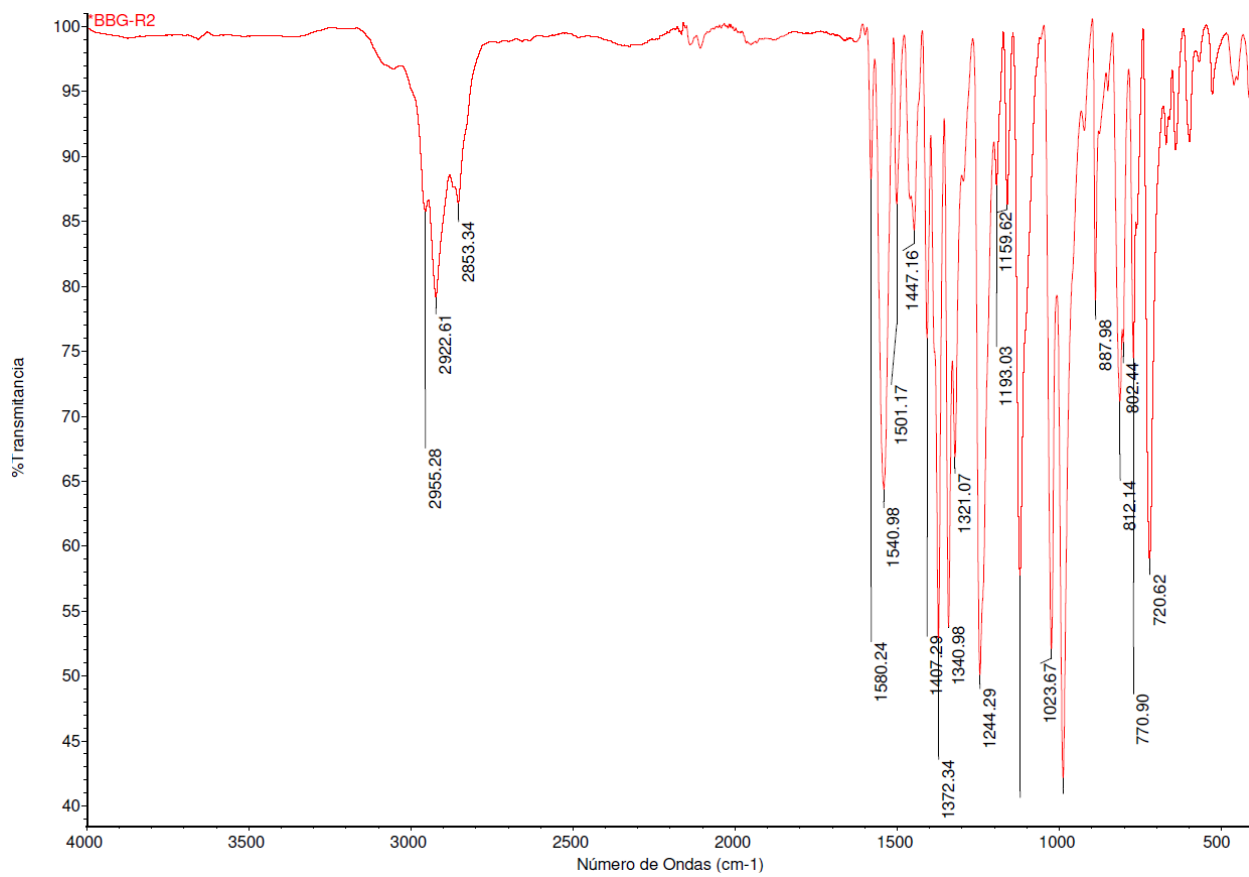


Figura 37. Espectro de infrarrojo (ATR) del compuesto **3**

#### 6.4.4 Espectroscopía de absorción UV-vis

El siguiente análisis realizado consiste en el espectro de absorción UV-vis del compuesto **3**. El análisis fue realizado de 230 a 600 nm, con una concentración de  $6.5 \times 10^{-5}$  M en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Figura 38). Los máximos de absorción se encuentran en 242, 273, 356, 445 y 495 nm, el segundo de estos siendo el máximo de mayor intensidad. Sus coeficientes de extinción molar son de 13609.2, 15015.4, 3946.1, 7586.1 y 12058.5  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$  respectivamente. Adicionalmente, se realizó el experimento comparando al complejo ( $7.4 \times 10^{-5}$  M) con el dipirrometano ( $6.4 \times 10^{-3}$  M) (Figura 39). Sin embargo, el



dipirrometano presentó una absorción muy baja comparada con el compuesto de rutenio en todo el intervalo analizado.

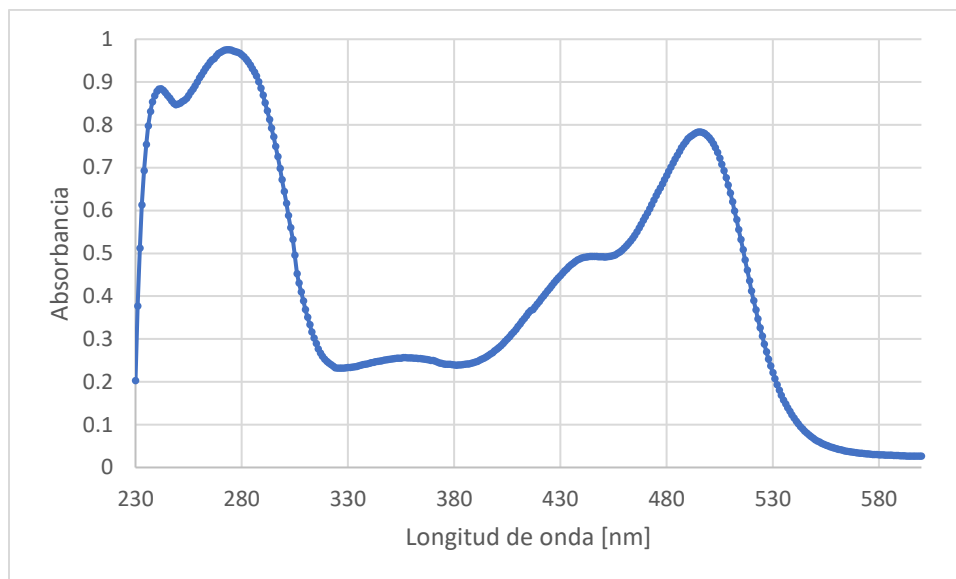


Figura 38. Espectro UV-vis del complejo ( $6.5 \times 10^{-5}$  M) a temperatura ambiente en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de 230 a 600 nm

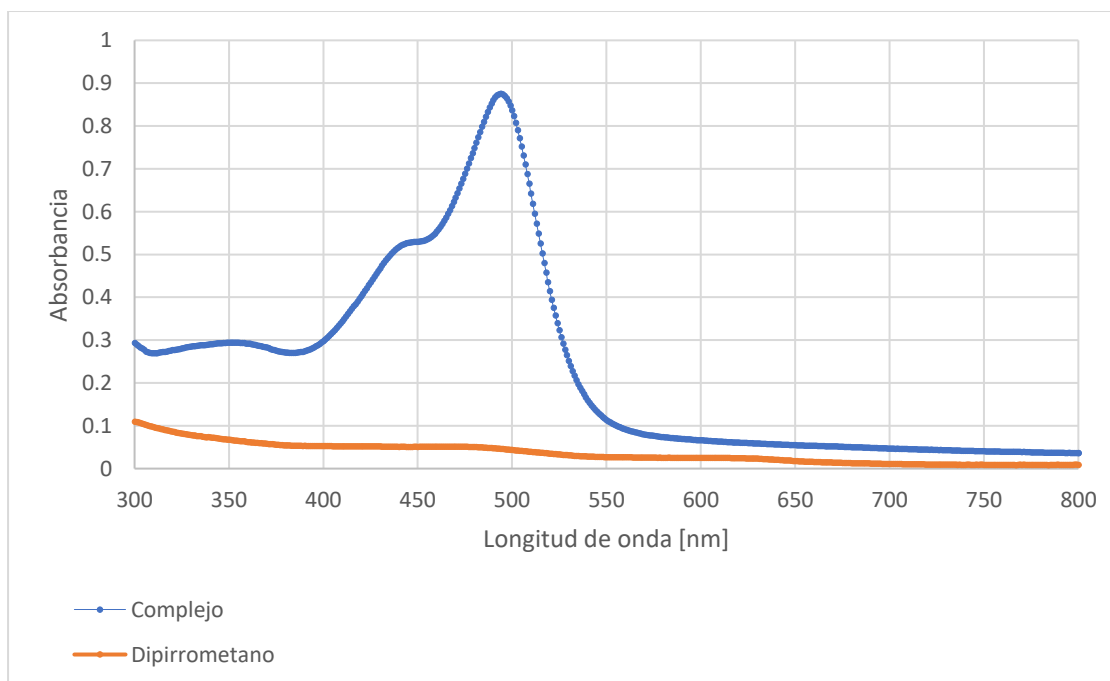


Figura 39. Espectro UV-vis del complejo ( $7.4 \times 10^{-5}$  M) y el dipirrometano ( $6.4 \times 10^{-3}$  M) a temperatura ambiente en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de 300 a 800 nm

#### 6.4.5 Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica permite observar los potenciales de reducción relevantes del compuesto **3** (Figuras 40, 41, 42 y 43). La ventana electroquímica en sí (de 2 a -2 V) fue seleccionada en base al disolvente, ya que el diclorometano en sí a valores mayores de 2 V puede sufrir oxidaciones y menores a -2 V puede sufrir reducciones. Se observan dos ondas de oxidación irreversibles en 1.08 V y en 1.62 V y dos ondas de procesos reversibles en -1.2 V y -1.52 V, utilizando un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia. El primer potencial mencionado corresponde probablemente al par Ru(II/III). En compuestos tipo de taburete de piano de rutenio(II) con bipyridinas, se han observado potenciales asociados a la oxidación del rutenio con valores cercanos, lo que sustenta esta idea [64]. Las demás ondas deben corresponder a reacciones reversibles, debido a la presencia de ondas de reducción como de oxidación, (en el caso de las ondas -1.2 y -1.52 V) y solamente de oxidación (referente a la onda de 1.62 V) de los ligantes orgánicos. Para intentar esclarecer las mediciones (y confirmar que las ondas en 1.08 y 1.62 V fueran irreversibles), se realizó el experimento con una velocidad de barrido de 0.05016 y de 0.20016 V/s, pero no se existió ninguna diferencia apreciable en los voltamperogramas.

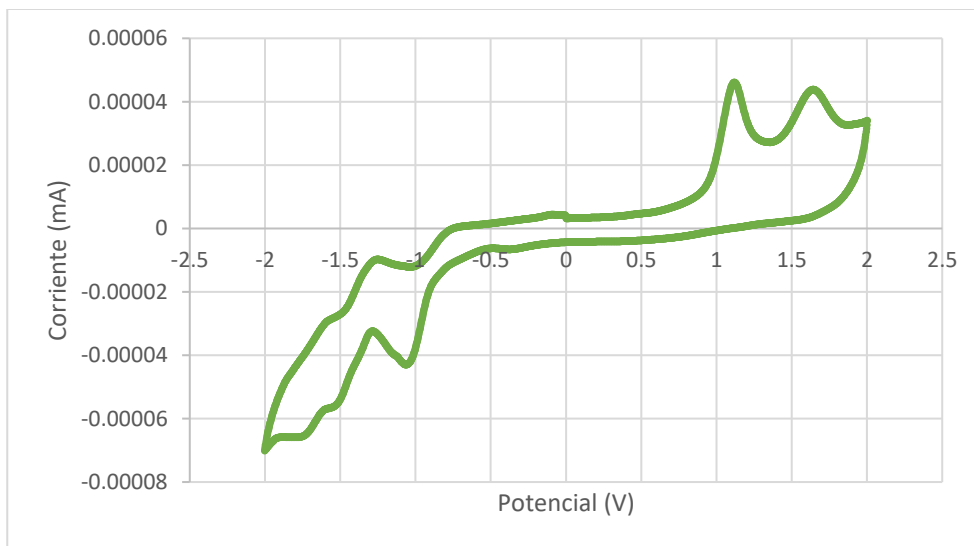


Figura 40. Voltamperometría cíclica del compuesto **3** ( $6.0 \times 10^{-3}$  M) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de -2 a 2 V con velocidad de barrido de 0.10016 V/s a temperatura ambiente y potencial inicial de 0 V con electrodo de referencia de Ag/AgCl, electrodo de trabajo de carbón vítreo y contraelectrodo de platino en atmósfera de nitrógeno

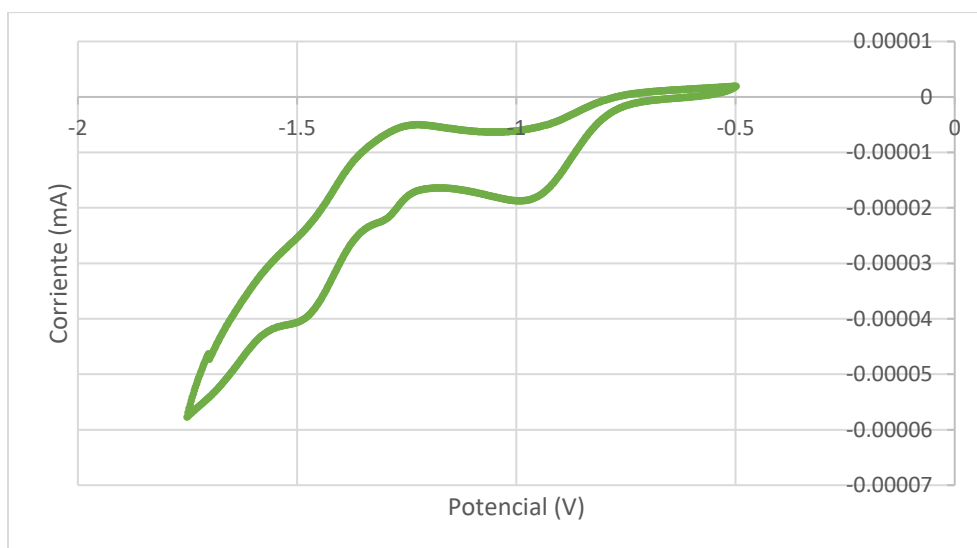


Figura 41. Voltamperometría cíclica del compuesto **3** ( $6.0 \times 10^{-3}$  M) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de -1.7 a -0.5 V con velocidad de barrido de 0.10016 V/s a temperatura ambiente y potencial inicial de -1 V con electrodo de referencia de Ag/AgCl, electrodo de trabajo de carbón vítreo y contraelectrodo de platino en atmósfera de nitrógeno

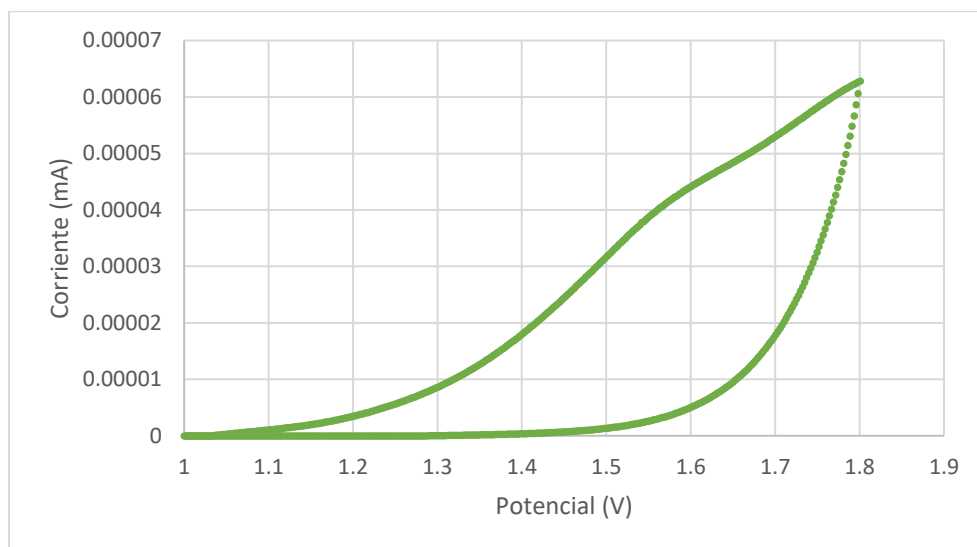


Figura 42. Voltamperometría cíclica del compuesto **3** ( $6.0 \times 10^{-3}$  M) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de 1 a 1.8 V con velocidad de barrido de 0.10016 V/s a temperatura ambiente y potencial inicial de 1.2 V con electrodo de referencia de Ag/AgCl, electrodo de trabajo de carbón vítreo y contraelectrodo de platino en atmósfera de nitrógeno

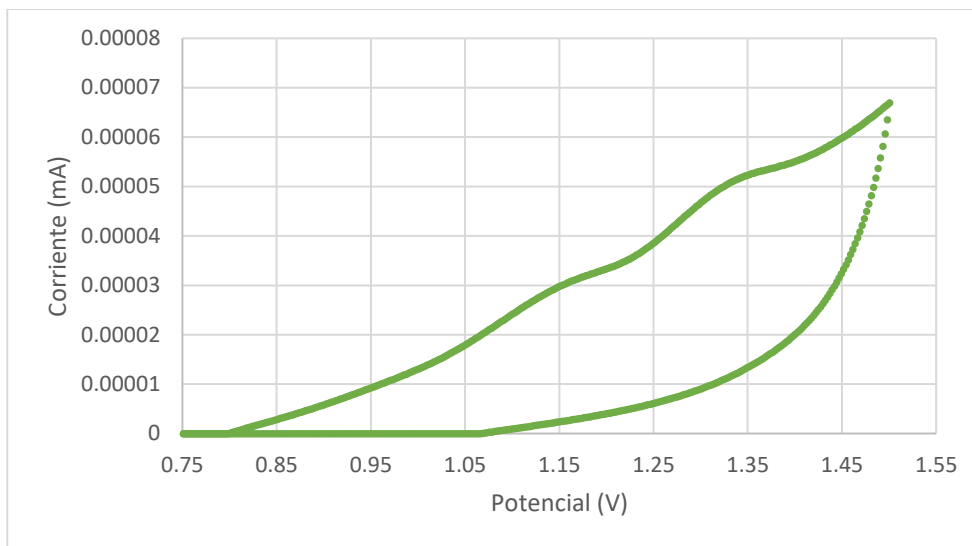


Figura 43. Voltamperometría cíclica del compuesto **3** ( $6.0 \times 10^{-3}$  M) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de 0.75 a 1.5 V con velocidad de barrido de 0.10016 V/s a temperatura ambiente y potencial inicial de 0.8 V con electrodo de referencia de Ag/AgCl, electrodo de trabajo de carbón vítreo y contraelectrodo de platino en atmósfera de nitrógeno

#### 6.4.6 Difracción de rayos X de monocristal

El experimento de difracción de rayos X se realizó a 130 K con una longitud de onda de  $0.71073 \text{ \AA}$  (Figura 44). Los cristales tuvieron una densidad de  $1.502 \text{ g/cm}^3$ . Las celdas unitarias pertenecen a un sistema triclinico con un grupo espacial P-1. Debido al método de cristalización, se puede observar que en la estructura cristalina están presentes tanto el compuesto **3** como dos moléculas de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y una molécula de benceno (Figura 45). Asimismo, la celda unitaria contiene dos moléculas del compuesto **3**, cuatro de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y dos

de benceno. En el compuesto **3** en sí, se observa que existe la conectividad esperada al átomo de nitrógeno: la dipirrina está enlazada por los dos nitrógenos, el *p*-cimeno tiene la hapticidad de seis y el cloruro está enlazado al metal. También, esto comprueba que la especie en cuestión es neutra.

Los enlaces del rutenio(II) a los átomos de nitrógeno son de 2.068(2) y 2.078(3) Å, el enlace con el cloro a 2.4126(8) y en promedio, a los átomos del anillo del *p*-cimeno a 2.1979(7). Además, el ángulo N-Ru-N es de 84.87(10)°, y los ángulos formados para N-Ru-Cl son 87.13(7) y 85.94(7)°. La distancia del rutenio al centroide del *p*-cimeno es de 1.682 Å. Estas características se parecen a las de otros compuestos de rutenio(II) con *p*-cimeno, cloruro y un ligante bidentado por dos nitrógenos; un caso, por ejemplo, tiene la distancia de enlace entre el metal y el cloruro 2.3888(2) Å y el promedio entre el rutenio y los átomos de carbono del anillo del *p*-cimeno de 2.1923(3) Å. Asimismo, el ángulo reportado de este último complejo que se forma entre N-Ru-N es de 81.26(18), es similar al del complejo **3** de 84.87(7) ° [65].

La geometría del compuesto **3** se puede describir como pseudo-octaédrica. Este tipo de geometría es la característica de los compuestos tipo taburete de piano con tres patas, que es la esperada. Los ángulos N(1)-Ru-N(2), N(1)-Ru-Cl, N(2)-Ru-Cl son de 84.87(10)°, 87.13(7) y 85.94(7)° respectivamente. Estos valores son cercanos a los 90° que se esperan de un octaedro perfecto, lo que indica que se trata del octaedro distorsionado.

Tabla III. Datos del análisis de difracción de rayos X de monocristal del compuesto **3**

Formula empírica	C <sub>36</sub> H <sub>41</sub> Cl <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Ru
Masa molar	828.03
Temperatura	130(2) K
Longitud de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P -1
Dimensiones de celda unitaria	a = 11.5864(14) Å      α = 111.498(16)° b = 12.987(2) Å      β = 108.775(13)° c = 14.649(3) Å      γ = 100.096(12)°
Volumen	1831.0(6) Å <sup>3</sup>
Densidad	1.502 Mg/m <sup>3</sup>
Coeficiente de absorción	0.831 mm <sup>-1</sup>
Tamaño de cristal	0.570 x 0.260 x 0.260 mm <sup>3</sup>

Tabla IV. Longitudes de enlace del compuesto **3** alrededor del centro metálico

Átomos enlazados	Longitud de enlace (Å)
Ru(1)-N(1)	2.068(2)
Ru(1)-N(2)	2.078(3)
Ru(1)-C(12)	2.173(3)
Ru(1)-C(2)	2.193(3)
Ru(1)-C(13)	2.196(3)
Ru(1)-C(16)	2.196(3)
Ru(1)-C(7)	2.200(3)
Ru(1)-C(1)	2.228(3)
Ru(1)-Cl	2.4126(8)

Tabla V. Ángulos del compuesto **3** alrededor del centro metálico

Átomos que conforman el ángulo	Ángulo (°)
N(1)-Ru(1)-N(2)	84.87(10)
N(1)-Ru(1)-C(12)	117.02(11)
N(2)-Ru(1)-C(12)	93.16(12)
N(1)-Ru(1)-C(2)	90.87(10)
N(2)-Ru(1)-C(2)	119.23(11)
C(12)-Ru(1)-C(2)	37.73(12)
N(1)-Ru(1)-C(13)	119.11(11)
N(2)-Ru(1)-C(13)	155.65(11)



C(12)-Ru(1)-C(13)	80.01(12)
C(2)-Ru(1)-C(13)	68.02(12)
N(1)-Ru(1)-C(16)	154.83(11)
N(2)-Ru(1)-C(16)	93.20(11)
C(12)-Ru(1)-C(16)	37.91(11)
C(2)-Ru(1)-C(16)	68.17(12)
C(13)-Ru(1)-C(16)	67.07(12)
N(1)-Ru(1)-C(7)	92.75(11)
N(2)-Ru(1)-C(7)	157.15(11)
C(12)-Ru(1)-C(7)	67.68(12)
C(2)-Ru(1)-C(7)	37.97(12)
C(13)-Ru(1)-C(7)	36.93(12)
C(16)-Ru(1)-C(7)	79.37(12)
N(1)-Ru(1)-C(1)	156.97(12)
N(2)-Ru(1)-C(1)	117.93(11)
C(12)-Ru(1)-C(1)	67.85(12)
C(2)-Ru(1)-C(1)	80.92(11)
C(13)-Ru(1)-C(1)	37.91(12)
C(16)-Ru(1)-C(1)	36.78(12)
C(7)-Ru(1)-C(1)	67.61(12)
N(1)-Ru(1)-Cl	87.13(7)
N(2)-Ru(1)-Cl	85.94(7)

C(12)-Ru(1)-Cl	155.70(8)
C(2)-Ru(1)-Cl	154.48(9)
C(13)-Ru(1)-Cl	90.85(9)
C(16)-Ru(1)-Cl	117.83(8)
C(7)-Ru(1)-Cl	116.69(9)
C(1)-Ru(1)-Cl	91.13(8)

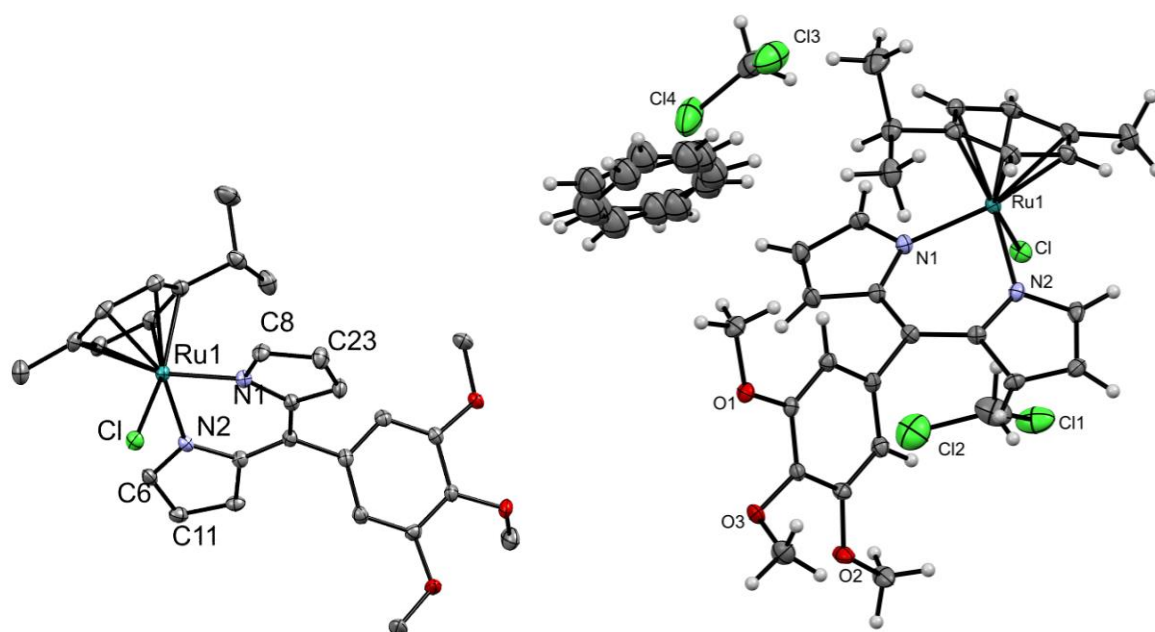


Figura 44. Diagrama ORTEP de la estructura del compuesto **3** sin átomos de hidrógeno (izquierda) y con hidrógenos (derecha)

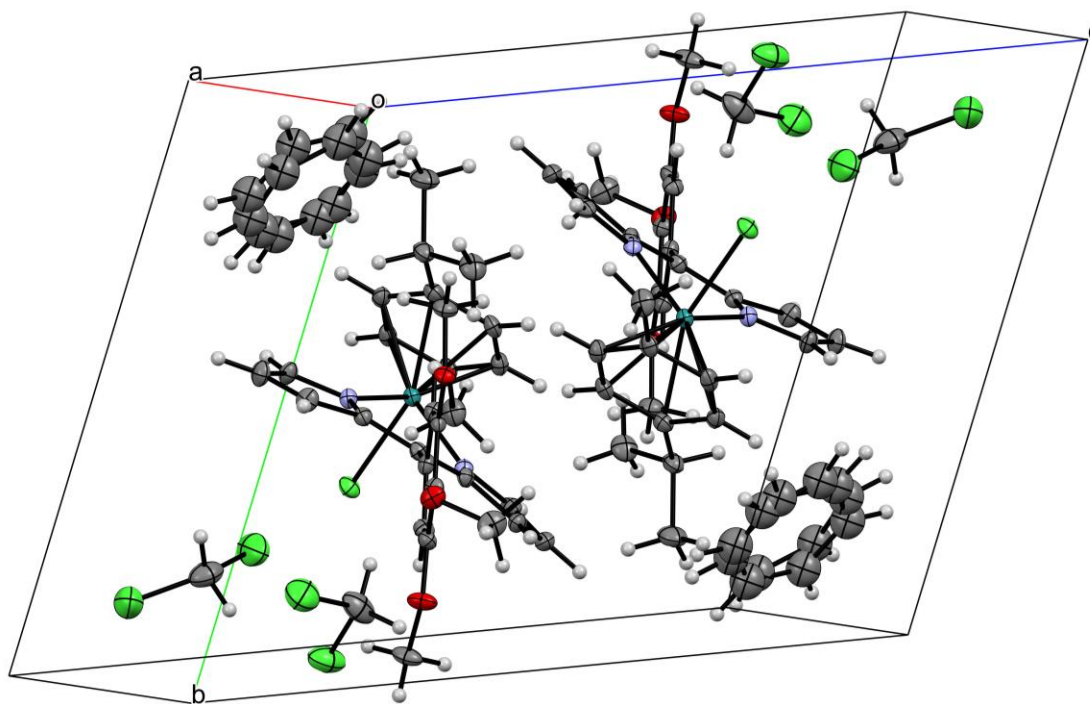


Figura 45. Diagrama ORTEP de la celda unitaria del compuesto **3**

#### 6.4.7 Resonancia paramagnética electrónica

Las pruebas de EPR para observar la formación de oxígeno singulete se realizaron utilizando TEMP en acetona:etanol (1:1) a temperatura ambiente y el complejo **3** (a excepción del blanco, que solamente incluía TEMP). La disolución fue irradiada con luz blanca y se obtuvieron mediciones a los 0, 2, 5, 10, 20 y 30 minutos. Sin embargo, como se puede observar (Figura 46) no hubo una diferencia grande en los diferentes tiempos. La señal con intensidad más alta fue la producida por el blanco, con una intensidad máxima de 189.45. Esta señal se observa porque, al estar expuesta el oxígeno, el TEMP automáticamente reacciona con una proporción baja de oxígeno de la

atmósfera, formando el TEMPO que es estable. La intensidad máxima para los demás diferentes tiempos fue, respectivamente: 172.95, 169.84, 165.64, 157.98 y 157.48. Como la intensidad de la señal va bajando, es probable que se esté realizando una reacción entre el complejo y el TEMPO. Sin embargo, como en ningún momento aumentó, no es posible decir que se haya formado oxígeno singlete por parte del complejo.

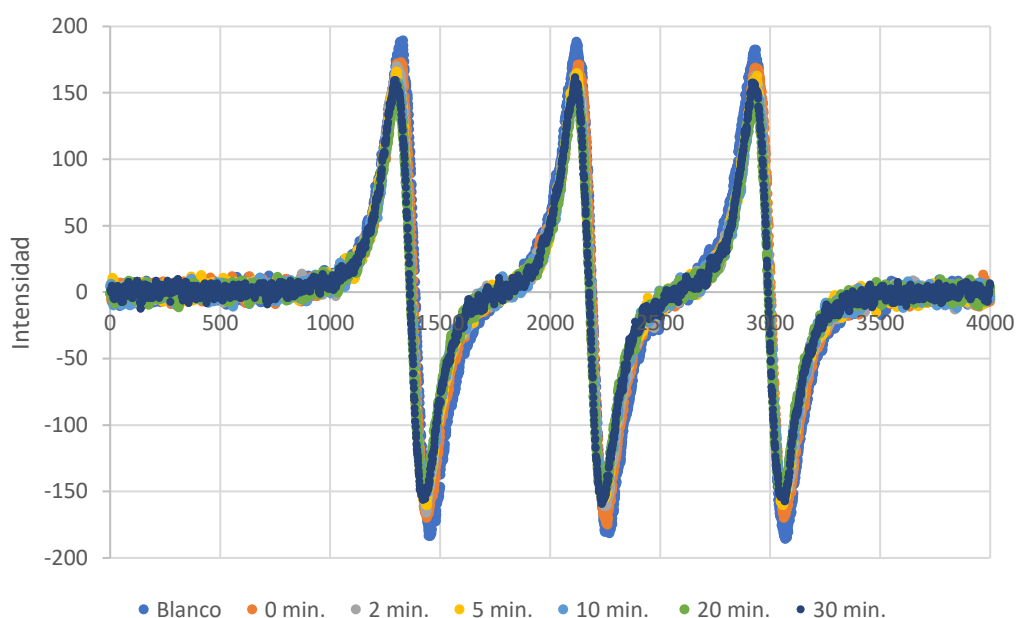


Figura 46. Señales de EPR correspondientes a TEMPO centrado a 3437 G del compuesto **3** ( $4.8 \times 10^{-4}$  M) en diferentes tiempos de irradiación por luz blanca a temperatura ambiente en etanol: acetona (1:1)

#### 6.4.8. Ensayo de citotoxicidad (Ensayo MTT)

El ensayo MTT se llevó a cabo en una línea de cáncer gástrico AGS. Las células cancerosas estuvieron expuestas al compuesto **3** por 48 horas. Para obtener la citotoxicidad al ser iluminada, después de 8 horas de incubación con tratamiento, se irradió con luz blanca durante 15 minutos, y se dejó 40 horas adicionales de incubación. Se realizó el efecto de ocho diferentes concentraciones. El efecto de la irradiación sobre la citotoxicidad del compuesto **3** resultó ser mínimo. La  $IC_{50}$  en la oscuridad es de 19  $\mu M$ , mientras que al ser expuesta a la luz es de 18  $\mu M$  (Figura 47), lo que representa una diferencia del 5% solamente. Para decidir si un compuesto se considera fototóxico, se obtiene el índice de fototoxicidad (PI), el cual corresponde a la  $IC_{50}$  en oscuridad dividido por la  $IC_{50}$  bajo irradiación. Un PI menor a 2 indica no fototoxicidad, uno entre 2 y 5 se considera algo fototóxico y uno mayor a 5 clasifica al compuesto como fototóxico [66]. En este caso, se obtiene un PI de 1.06, lo que clasifica al compuesto **3** como un compuesto no fototóxico, por lo que no es viable para PDT. Se presenta una mayor citotoxicidad que el cisplatino en esta línea de cáncer (cuya  $IC_{50}$  es mayor a 25  $\mu M$ ) [38], lo cual representa una mejora de por lo menos 20%. También, muestra una ventaja sobre otros compuestos tipo taburete de piano de rutenio(II) con un ligantes bidentados de nitrógeno en esta línea de cáncer, que tienen  $IC_{50}$  de 27 y 65  $\mu M$  [67]. Comparado con los ligantes  $\pi$  extendidos polipirídínicos de rutenio,

se encuentra una mayor  $IC_{50}$ , ya que estos cuentan con valores menores a  $1 \mu M$  [38]

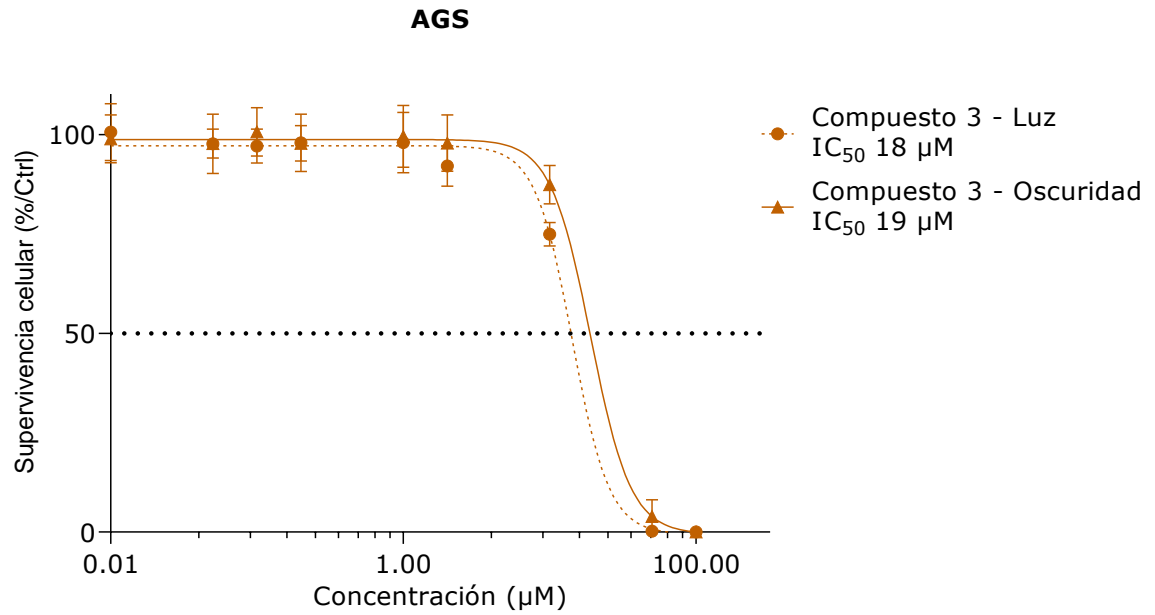


Figura 47. Estudio de citotoxicidad del compuesto **3** para determinar la  $IC_{50}$  en AGS

## 7.0 Conclusiones

Después de varios ensayos, fue posible sintetizar y caracterizar un compuesto tipo taburete de piano con rutenio(II) con un ligante dipirrínico y optimizar su síntesis. Se determinó que, aunque el complejo tiene varias transiciones electrónicas (como aparece en el espectro de absorción UV-vis), ninguna de ellas parece ser capaz de generar oxígeno singulete, ya que no existió un aumento en la señal de TEMPO en EPR. Presentó una IC<sub>50</sub> de 19 μM en la oscuridad y de 18 μM bajo irradiación, lo que presenta una ventaja sobre el cisplatino pero es menos tóxico que otros derivados de rutenio. Al establecer una metodología para sintetizar compuestos de este tipo, plantea la posibilidad de realizar la síntesis de otros complejos con ligantes dipirrínicos partiendo de otros aldehídos ya que ésta es la materia prima más fácil de variar manteniendo el procedimiento planteado.

## 8.0 Referencias

- [1] Maman, S., & Witz, I. P. (2018). *A history of exploring cancer in context*. *Nature Reviews Cancer*, *18*(6), 359–376. doi:10.1038/s41568-018-0006-7
- [2] Sudhakar, A. (2009). *History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods*. *Journal of Cancer Science & Therapy*, *01*(02), i–iv. doi:10.4172/1948-5956.100000e2
- [3] Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2021). *Cancer statistics for the year 2020: An overview*. *International Journal of Cancer*. doi:10.1002/ijc.33588
- [4] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. & Bray, F. (2021). *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. *American Cancer Society Journal*, *71*(3), 204-249. doi: 10.3322/caac.21660
- [5] Xi, Y., & Xu, P. (2021). *Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040*. *Translational Oncology*, *14*(10), 101174. doi:10.1016/j.tranon.2021.101174
- [6] Thrift, A. P., & El-Serag, H. B. (2019). *Burden of gastric cancer*. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. doi:10.1016/j.cgh.2019.07.045



- [7] Miller, K., Nogueira, L., Devasia, T., Mariotto, A. Yabroff, R., Jemal, A., Kramer, J., & Siegel, R. L. (2022). *Cancer treatment and survivor statistics, 2022*. ACS Journals, 72 (5), 409-436. doi: 10.3322/caac.21731
- [8] Mokhtari, R. B., Homayouni, T. S., Baluch, N., Morgatskaya, E., Kumar, S., Das, B., & Yeger, H. (2017). *Combination therapy in combating cancer*. Oncotarget, 8(23). doi:10.18632/oncotarget.16723
- [9] Wust, P., Hildebrandt, B., Sreenivasa, G., Rau, B., Gellermann, J., Riess, H., Felix, R. & Schlag, P. (2002). *Hyperthermia in combined treatment of cancer*. *The Lancet Oncology*, 3(8), 487–497. doi:10.1016/s1470-2045(02)00818-5
- [10] DeVita, V. T., & Chu, E. (2008). *A History of Cancer Chemotherapy*. *Cancer Research*, 68(21), 8643–8653. doi:10.1158/0008-5472.can-07-6611
- [11] Jones, G. B. (2014). *History of Anticancer Drugs*. eLS. doi:10.1002/9780470015902.a0003630
- [12] Dilruba, S., & Kalayda, G. V. (2016). *Platinum-based drugs: past, present and future*. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77(6), 1103–1124. doi:10.1007/s00280-016-2976-z
- [13] Kelland, L. (2007). *The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy*. *Nature Reviews Cancer*, 7(8), 573–584. doi:10.1038/nrc2167

- [14] Zhang, C., Xu, C., Gao, X. & Yao, Q. (2022). *Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies*. *Theranostics*, *12*(5), 2115-2132. doi:10.7150/thno.69424
- [15] Klein, A. V., & Hambley, T. W. (2009). *Platinum Drug Distribution in Cancer Cells and Tumors*. *Chemical Reviews*, *109*(10), 4911–4920. doi:10.1021/cr9001066
- [16] Lairson, D. R., Parikh, R. C., Cormier, J. N., & Du, X. L. (2014). *Cost-Utility Analysis of Platinum-Based Chemotherapy versus Taxane and Other Regimens for Ovarian Cancer*. *Value in Health*, *17*(1), 34–42. doi:10.1016/j.jval.2013.11.007
- [17] Hess, L. M., Michael, D., Mytelka, D. S., Beyrer, J., Liepa, A. M., & Nicol, S. (2015). *Chemotherapy treatment patterns, costs, and outcomes of patients with gastric cancer in the United States: a retrospective analysis of electronic medical record (EMR) and administrative claims data*. *Gastric Cancer*, *19*(2), 607–615. doi:10.1007/s10120-015-0486-z
- [18] Oun, R., Moussa, Y. E., & Wheate, N. J. (2018). *The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists*. *Dalton Transactions*, *47*(19), 6645–6653. doi:10.1039/c8dt00838h
- [19] Tucker, M. A., D'Angio, G. J., Boice, J. D., Strong, L. C., Li, F. P., Stovall, M., Stone, b. j., Green, D-M-, Lombardi, F., Newton, W., Hoover, R. N & Fraumeni, J. F. (1987). *Bone Sarcomas Linked to Radiotherapy and*

*Chemotherapy in Children*. New England Journal of Medicine, 317(10), 588–593. doi:10.1056/nejm198709033171002

[20] Swerdlow, A. J., Higgins, C. D., Smith, P., Cunningham, D., Hancock, B. W., Horwich, A., Horskin, P. J., Lister, T. A., Radford, J. A., Rohatiner, A., Z.S. & Linch, D. C. (2011). *Second Cancer Risk After Chemotherapy for Hodgkin's Lymphoma: A Collaborative British Cohort Study*. Journal of Clinical Oncology, 29(31), 4096–4104. doi:10.1200/jco.2011.34.8268

[21] Amable, L. (2016). *Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine*. Pharmacological Research, 106, 27-36. doi:10.1016/j.phrs.2016.01.001

[22] Marchini, S., Fruscio, R., Clivio, L., Beltrame, L., Porcu, L., Nerini, I. F., Cavalieri, D., Chiorni, G., Cattoretti, G., Mangioni, C., Milani, R., Torri, V., Roumaldi, C., Zambelli, A., Romano, M., Signorelli, M., di Giandomenico, S. & D'Incalci, M. (2013). *Resistance to platinum-based chemotherapy is associated with epithelial to mesenchymal transition in epithelial ovarian cancer*. European Journal of Cancer, 49(2), 520–530. doi:10.1016/j.ejca.2012.06.026

[23] Anand, U., Dey, A., Chandel, A. K., Sanyal, R., Mishra, A., Pandey, D. K., De Falco, V., Upadhyay, A., Kandimalla, R., Chaudhary, A., Dhanjal, J. K., Dewanjee, S., Vallamkondu, J., & Pérez de la Lastra, J. M. (2022). *Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks*

*and progress in Targeted therapeutics. Genes & Diseases. 10(4), 1367-1401. doi: 10.1016/j.gendis.2022.02.007*

[24] Fox, E. R., Sweet, B. V., & Jensen, V. (2014). *Drug Shortages: A Complex Health Care Crisis. Mayo Clinic Proceedings, 89(3), 361–373. doi:10.1016/j.mayocp.2013.11.014*

[25] Alpert, A., & Jacobson, M. (2019). *Impact of Oncology Drug Shortages on Chemotherapy Treatment. Clinical Pharmacology & Therapeutics. doi:10.1002/cpt.1390*

[26] Robertson, C. A., Evans, D. H., & Abrahamse, H. (2009). *Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 96(1), 1–8. doi:10.1016/j.jphotobiol.2009.04*

[27] Sakamoto, F. H., Lopes, J. D., & Anderson, R. R. (2010). *Photodynamic therapy for acne vulgaris: A critical review from basics to clinical practice. Journal of the American Academy of Dermatology, 63(2), 183–193. doi:10.1016/j.jaad.2009.09.056*

[28] Stájer, A., Kajári, S., Gajdács, M., Musah-Eroje, A., & Baráth, Z. (2020). *Utility of Photodynamic Therapy in Dentistry: Current Concepts. Dentistry Journal, 8(2), 43. doi:10.3390/dj8020043*

[29] Kessel, D. (2022). *Photodynamic therapy: Critical PDT theory. Photochemistry and photobiology, 99(2), 199-203. doi: 10.1111/php.1316*

- [30] Liou, G.-Y., & Storz, P. (2010). *Reactive oxygen species in cancer. Free Radical Research*, 44(5), 479–496. doi:10.3109/10715761003667554
- [31] Allison, R. R., & Moghissi, K. (2013). *Photodynamic Therapy (PDT): PDT Mechanisms. Clinical Endoscopy*, 46(1), 24. doi:10.5946/ce.2013.46.1.24
- [32] Shields, H.J., Traa, A. & Van Raamsdonk, J.M. (2021) *Beneficial and detrimental effects of reactive oxygen species on lifespan: A Comprehensive review of comparative and experimental studies. Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9:628157. doi: 10.3389/fcell.2021.628157
- [33] Marija-Dragan, J., Aljosa, M., Slobodan, M. & Branislava, S. (2021). *Oxidative stress and its role in cancer. Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 17(1), 22-28. doi: 10.4103/jcrt.JCRT\_862\_16
- [34] Tafani, M., Sansone, L., Limana, F., Arcangeli, T., De Santis, E., Polese, M., Fini, M. & Russo, M. A. (2016). *The Interplay of Reactive Oxygen Species, Hypoxia, Inflammation, and Sirtuins in Cancer Initiation and Progression. Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–18. doi:10.1155/2016/3907147
- [35] Takajo, T., Kurihara, Y., Iwase, K., Miyake, D., Tsuchida, K., & Anzai, K. (2020). *Basic Investigations of Singlet Oxygen Detection Systems with ESR for the Measurement of Singlet Oxygen Quenching Activities. Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 68(2), 150–154. doi:10.1248/cpb.c19-00770

[36] Kostova, I. (2006). *Ruthenium Complexes as Anticancer Agents*. *Current Medicinal Chemistry*, *13*(9), 1085–1107.

doi:10.2174/092986706776360941

[37] Chen, J., Zhang, Y., Jie, X., She, J., Dongye, G., Zhong, Y., Deng, Y., Wang, J., Guo, B. & Chen, L. (2019). *Ruthenium(II) salicylate complexes inducing ROS-mediated apoptosis by targeting thioredoxin reductase*.

*Journal of Inorganic Biochemistry*. doi:10.1016/j.jinorgbio.2019.01.0

[38] Solís-Ruiz, J. A., Barthe, A., Riegel, G., Saavedra-Díaz, R. O., Gaiddon, C., & Le Lagadec, R. (2020). *Light activation of cyclometalated ruthenium complexes drives towards caspase 3 dependent apoptosis in gastric cancer cells*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *111080*.

doi:10.1016/j.jinorgbio.2020.1110

[39] Lee, S. Y., Kim, C. Y., & Nam, T.-G. (2020). *Ruthenium Complexes as Anticancer Agents: A Brief History and Perspectives*. *Drug Design, Development and Therapy*, *14*, 5375–5392. doi:10.2147/dddt.s275007

[40] Rico Bautista, H., Saavedra Díaz, R. O., Shen, L. Q., Orvain, C., Gaiddon, C., Le Lagadec, R., & Ryabov, A. D. (2016). *Impact of cyclometalated ruthenium(II) complexes on lactate dehydrogenase activity and cytotoxicity in gastric and colon cancer cells*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *163*, 28–38. doi:10.1016/j.jinorgbio.2016.07.014

- [41] Lee, S. Y., Kim, C. Y., & Nam, T.-G. (2020). *Ruthenium Complexes as Anticancer Agents: A Brief History and Perspectives*. *Drug Design, Development and Therapy*, 14, 5375–5392. doi:10.2147/dddt.s275007
- [42] Kostova, I. (2006). *Ruthenium Complexes as Anticancer Agents*. *Current Medicinal Chemistry*, 13(9), 1085 – 1107  
doi:10.2174/092986706776360941
- [43] Hartinger, C. G., Jakupec, M. A., Zorbas-Seifried, S., Groessl, M., Egger, A., Berger, W., Zorbas, H., Dyson, P. J. & Keppler, B. K. (2008). *KP1019, A New Redox-Active Anticancer Agent - Preclinical Development and Results of a Clinical Phase I Study in Tumor Patients*. *Chemistry & Biodiversity*, 5(10), 2140–2155. doi:10.1002/cbdv.200890195
- [44] Leijen, S., Burgers, S. A., Baas, P., Pluim, D., Tibben, M., van Werkhoven, E., Alessio, E., Sava, G., Beijnen J.H. & Schellens, J. H. M. (2014). *Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy*. *Investigational New Drugs*, 33(1), 201–214. doi:10.1007/s10637-014-0179-1
- [45] Swaminathan, S., Haribabu, J., Balakrishnan, N., Vasanthakumar, P. & Karvembu, R. (2022) *Piano stool Ru(II)-arene complexes having three monodentate legs: A comprehensive review on their development as*

*anticancer therapeutics over the past decade*, Coordination Chemistry Reviews, 459, 214403. doi: 10.1016/j.ccr.2021.21440

[46] Murray, B. S., Babak, M. V., Hartinger, C. G., & Dyson, P. J. (2016). *The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors*. Coordination Chemistry Reviews, 306, 86–114. doi:10.1016/j.ccr.2015.06.014

[47] Gupta, R. K., Sharma, G., Pandey, R., Kumar, A., Koch, B., Li, P.-Z., Xu, Q. & Pandey, D. S. (2013). *DNA/Protein Binding, Molecular Docking, and in Vitro Anticancer Activity of Some Thioether-Dipyrrinato Complexes*. Inorganic Chemistry, 52(24), 13984–13996. doi:10.1021/ic401662d

[48] Kilpin, K. J., Cammack, S. M., Clavel, C. M., & Dyson, P. J. (2013). Ruthenium(ii) arene PTA (RAPTA) complexes: impact of enantiomerically pure chiral ligands. Dalton Trans., 42(6), 2008–2014. doi:10.1039/c2dt32333h

[49] Muthukumaran, K., Zaidi, S. H. H., Yu, L., Thamyongkit, P., Calder, M. E., Sharada, D. S., & Lindsey, J. S. (2005). *Synthesis of dipyrin-containing architectures*. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, 09(11), 745–759. doi:10.1142/s108842460500085x

[50] Hohlfeld, B. F., Flanagan, K. J., Kulak, N., Senge, M. O., Christmann, M., & Wiehe, A. (2019). *Synthesis of Porphyrinoids, BODIPYs and (Dipyrrinato)ruthenium(II) Complexes from Pre-functionalized*



*Dipyrromethanes*. European Journal of Organic Chemistry.

doi:10.1002/ejoc.201900

[51] Kyropoulou, M., DiLeone, S., Lanzilotto, A., Constable, E. C., Housecroft, C. E., Meier, W. P., & Palivan, C. G. (2019). *Porphyrin Containing Polymersomes with Enhanced ROS Generation Efficiency: In Vitro Evaluation*. *Macromolecular Bioscience*, 20(2), 1900291. Portico.

<https://doi.org/10.1002/mabi.2019>

[52] Li, Z., Feng, J., Gou, J., Jia, J., Yi, T., & Cui, T. (2016). *Verteporfin, a suppressor of YAP-TEAD complex, presents promising antitumor properties on ovarian cancer*. *OncoTargets and Therapy*, 9, 5371–5381.

doi:10.2147/ott.s109979

[53] Sirks, M. J., van Dijk, E. H., Rosenberg, N., Hollak, C., Aslanis, S., Cheung C. M., Chowes, I., Eandi, C., Freund, K. N., Kaiser, P., Ntery, A. J., Ohno.Matsui, K., Querques, G., Subhi, Y., Tadayoni, R., Wykoff C. C., Zur, D., Diedren, R., Bood, C. & Schliegenmann, R. O. (2022). *Clinical impact of the worldwide shortage of verteporfin*. *Acta Ophthalmologica*, 100 (7), 1522-1532. doi:10.1111/aos.15148

[54] Zhao, B., Li, L., Lei, Q., & Guan, K. L. (2010). *The Hippo-YAP pathway in organ size control and tumorigenesis: an updated version*. *Genes & Development*, 24(9), 862–874. doi:10.1101/gad.1909210

- [55] Zanconato, F., Cordenonsi, M., & Piccolo, S. (2016). *YAP/TAZ at the Roots of Cancer*. *Cancer Cell*, 29(6), 783–803. doi:10.1016/j.ccell.2016.05.005
- [56] Piccolo, S., Dupont, S., & Cordenonsi, M. (2014). *The Biology of YAP/TAZ: Hippo Signaling and Beyond*. *Physiological Reviews*, 94(4), 1287–1312. doi:10.1152/physrev.00005.2014
- [57] Ma, Y., Yang, Y., Wang, F., Wei, Q., & Qin, H. (2014). *Hippo-YAP signaling pathway: A new paradigm for cancer therapy*. *International Journal of Cancer*, 137(10), 2275–2286. doi:10.1002/ijc.29073
- [58] Abada, Z., Cojean, S., Pomel, S., Ferrié, L., Akagah, B., Lormier, A. T., Loiseay, P. M. & Figadère, B. (2013). *Synthesis and antiprotozoal activity of original porphyrin precursors and derivatives*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 67, 158–165. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.06.002
- [59] Karges, J., Blacque, O., & Gasser, G. (2020). *Metal Dipyrrin Complexes as Potential Photosensitizers for Photodynamic Therapy*. *Inorganica Chimica Acta*, 119482. doi:10.1016/j.ica.2020.119482
- [60] Baudron, S. (2020). *Dipyrrin based metal complexes: reactivity and catalysis*. *Dalton Transactions*. doi:10.1039/d0dt00884b
- [61] Sauveur, J., Conilh, L., Beaumel, S., Chettab, K., Jordheim, L., Matera, E., & Dumontet, C. (2020). *Characterization of T-DM1-resistant breast cancer cells*. *Pharmacology Research & Perspectives*, 8(4). doi:10.1002/prp2.617

- [62] Li, J., Tian, M., Tian, Z., Zhang, S., Yan, C., Shao, C., & Liu, Z. (2018). *Half-Sandwich Iridium(III) and Ruthenium(II) Complexes Containing P<sup>^</sup>P-Chelating Ligands: A New Class of Potent Anticancer Agents with Unusual Redox Features*. *Inorganic Chemistry*, 57(4), 1705–1716. doi:10.1021/acs.inorgchem.7b01959 1
- [63] Wood, T. E., & Thompson, A. (2007). *Advances in the Chemistry of Dipyrrins and Their Complexes*. *Chemical Reviews*, 107(5), 1831–1861. doi:10.1021/cr050052c
- [64] Rüter, T., Woodward, C. P., Jones, T. W., Coghlan, C. J., Hebling, Y., Cordiner, R. L., Dawson, R. E., Robinson, D. E. & Wilson, G. J. (2016). Synthesis, characterisation, and properties of p -cymene Ruthenium(II) tetracarboxylate bipyridine complexes  $[(\eta^6\text{-p-cymene})\text{Ru}(\text{R}^n, \text{R}^{n'})\text{-tcbpy})\text{Cl}][\text{Cl}]$ . *Journal of Organometallic Chemistry*, 823, 136–146. doi:10.1016/j.jorganchem.2016.08
- [65] Mojić, M., Savić, A., Arion, V. B., Bulatović, M., Poljarević, J. M., Miljković, D., Sabo, T. J., Mijatovic, S., Maksimovic-Ivanic, D., & Grgurić-Šipka, S. (2014). *Synthesis, X-ray structure and strong in vitro cytotoxicity of novel organoruthenium complexes*. *Journal of Organometallic Chemistry*, 749, 142 - 149. doi:10.1016/j.jorganchem.2013.08.041

[66] Kim, K., Park, H., & Lim, K.-M. (2015). *Phototoxicity: Its Mechanism and Animal Alternative Test Methods*. *Toxicological Research*, 31(2), 97–104. doi:10.5487/tr.2015.31.2.097

[67] Gilewska, A., Masternak, J., Kazimierczuk, K., Trynda, J., Wietrzyk, J., & Barszcz, B. (2018). Synthesis, structure, DNA binding and anticancer activity of mixed ligand ruthenium(II) complex. *Journal of Molecular Structure*, 1155, 288–296.  
doi:10.1016/j.molstruc.2017.10.105