

TESIS DE LA UNIVERSIDAD
DE ZARAGOZA

2022

143

Daniel Salvador Gil

Formación de heterociclos y compuestos metálicos con aplicaciones biológicas y gelificantes

Director/es

Gimeno Floria, Concepción

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

ISSN 2254-7606



Prensas de la Universidad
Universidad Zaragoza

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Tesis Doctoral

FORMACIÓN DE HETEROCICLOS Y
COMPUESTOS METÁLICOS CON APLICACIONES
BIOLÓGICAS Y GELIFICANTES

Autor

Daniel Salvador Gil

Director/es

Gimeno Floria, Concepción

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

Química Inorgánica

2020



Departamento de
Química Inorgánica
Universidad Zaragoza

TESIS DOCTORAL

FORMACIÓN DE HETEROCICLOS Y COMPUESTOS
METÁLICOS CON APLICACIONES BIOLÓGICAS Y
GELIFICANTES

Memoria presentada en la Facultad de Ciencias de la Universidad
de Zaragoza para optar al grado de Doctor en Química por el
Graduado y Máster en Química Molecular y Catálisis
Homogénea:

DANIEL SALVADOR GIL



Instituto de Síntesis Química y Catálisis Homogénea



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



Universidad Zaragoza

María Concepción Gimeno Floría, Profesora de Investigación de Organismo Público de Investigación (Consejo Superior de Investigaciones Científicas, CSIC) en el Instituto Universitario de Investigación Mixto de Síntesis Química y Catálisis Homogénea, ISQCH,

CERTIFICA

Que la presente Memoria titulada “**Formación de Heterociclos y Compuestos Metálicos con Aplicaciones Biológicas y Gelificantes**”, ha sido realizada en el Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Zaragoza, bajo su dirección y autoriza su presentación para que sea calificada como Tesis Doctoral.

Zaragoza, 11 de Marzo de 2020.

Fdo.: Prof. Dra. M^a Concepción Gimeno

Para mi familia

“La victoria de hoy es sobre tu yo de ayer, la de mañana será sobre un hombre inferior”

Miyamoto Musashi

ÍNDICE

ABREVIACIONES	vii
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL	
I.1. Historia del Cáncer	1
I.2. El Oro	9
I.2.1. Propiedades Físico-Químicas	9
I.2.2. Estados de Oxidación	12
I.2.3. Luminiscencia del Oro	17
I.2.4. Catálisis de Oro	23
I.2.5. Oro en Medicina	26
I.3. Procesos Biológicos	36
I.4. Del Laboratorio a la Farmacia	39
CAPÍTULO 1: ESTUDIO DE REACCIONES DE CICLACIÓN EN (TIO)UREAS PARA LA FORMACIÓN DE HETEROCICLOS	
1.1. Introducción	41
1.2. Objetivos	48
1.3. Síntesis de Derivados Tiazolidina y Tiourea-Tiazolidina	49
1.4. Estudio de la Coordinación a Metales	58
1.5. Actividad Biológica de los Complejos Tiourea-Tiazolidina	64
1.6. Estudios de la Reacción con Dipropargilamina	68
1.7. Estudio de Reacciones de Ciclación con Catalizadores de Oro	71
1.8. Conclusiones	85

1.9.Experimental	86
1.9.1. Starting Materials	86
1.9.2. Instrumentation	86
1.9.2.1. Mass Spectrometry	86
1.9.2.2. NMR Spectroscopy	86
1.9.2.3. Crystallography	86
1.9.3. Cytotoxicity Studies	87
1.9.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay	87
1.9.5. Synthesis	89
CAPÍTULO 2: SÍNTESIS Y REACTIVIDAD DE CARBENOS NHC DE ORO	
(I). ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES CITOTÓXICAS Y LUMINISCENTES	
2.1. Introducción	121
2.2. Objetivos	128
2.3. Síntesis de Sales de Imidazolio	130
2.4. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC	135
2.4.1. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC y la Fosfina JohnPhos	135
2.4.2. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC y Tiolatos	141
2.4.2.1. Síntesis de los Complejos Tiolato con 2-Mercaptopiridina	142
2.4.2.2. Síntesis de los Complejos Tiolatos con β -Tioglucosa	146
2.5. Síntesis de Biscarbenos de Oro(I)	149
2.6. Síntesis de Complejos Au-NHC con Interacciones Au-Au	153
2.7. Actividad Biológica sobre Células TumORAles Humanas	160
2.7.1. Estudio de Actividad Citotóxica. Método MTT	160
2.7.2. Estudio de la Selectividad Citotóxica, Jurkat. vs Linfocitos	162

2.7.3. Estudio de Muerte Celular	169
2.8. Estudios de Luminiscencia	173
2.9. Conclusiones	178
2.10. Experimental	179
2.10.1. Starting Materials	179
2.10.2. Instrumentation	179
2.10.2.1. Mass Spectrometry	179
2.10.2.2. NMR Spectroscopy	179
2.10.2.3. Crystallography	179
2.10.2.4. UV-vis Studies	180
2.10.2.5. Luminescence Studies	180
2.10.3. Cytotoxicity Studies	180
2.10.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay	180
2.10.3.2. Cell Death Studies	181
2.10.3.3. Study of Cytotoxic Selectivity, Jurkat. vs Lymphocytes	182
2.10.4. Distribution Coefficient (Kow)	183
2.10.5. Cell Fluorescence Microscopy Study	183
2.10.6. Synthesis	184
CAPÍTULO 3: SÍNTESIS DE NUEVAS ESCUARAMIDAS CON COMPLEJOS METÁLICOS DEL GRUPO 11. ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES CITOTÓXICAS Y GELIFICANTES.	
3.1. Introducción	203
3.1.1. Síntesis de Escuaramidas	204
3.1.2. Una Nueva Vía de Investigación en Química Médica	207
3.1.3. Nuevas Aplicaciones en el Campo de la Química Biológica	208

3.1.4. Escuaramidas como Materiales	210
3.1.5. Escuaramidas como Catalizadores	211
3.2. Objetivos	213
3.3. Síntesis de Escuaramidas con Grupos CF ₃	214
3.3.1. Síntesis de Derivados de Plata con Escuaramidas	217
3.3.2. Síntesis de Derivados de Cobre con Escuaramidas	219
3.3.3. Síntesis de Derivados de Oro con Escuaramidas	221
3.3.4. Síntesis de Tiolatos de Oro con Escuaramidas	223
3.4. Actividad Biológica sobre Células TumORAles Humanas	224
3.4.1. Estudio de Actividad Citotóxica. Método MTT	224
3.4.2. Estudio de la Selectividad Citotóxica, Jurkat. vs Linfocitos	227
3.4.3. Estudio de Muerte Celular	233
3.5. Pruebas Catalíticas	235
3.5.1. Reacción de Mukaiyama	235
3.5.2. Reacción de Henry	237
3.6. Compuestos como Materiales Funcionales.	238
3.7. Conclusiones	248
3.8. Experimental	249
3.8.1. Starting Materials	249
3.8.2. Instrumentation	249
3.8.2.1. Mass Spectrometry	249
3.8.2.2. NMR Spectroscopy	249
3.8.2.4. UV-vis Studies	249
3.8.3. Cytotoxicity Studies	249

3.8.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay	250
3.8.3.2. Cell Death Studies	251
3.8.3.3. Study of Cytotoxic Selectivity, Jurkat. vs Lymphocytes	251
3.8.4. Distribution Coefficient (K_{ow})	252
3.8.5. Critical Gelation Concentration	252
3.8.6. Synthesis	253
CONCLUSIONES GENERALES	273

LISTA DE ABREVIACIONES

Å: Angstrom

a.C.: Antes de Cristo

ADME: Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

APT: Técnica espectroscópica de RMN de ^{13}C (*Attached Proton Test*)

c: Velocidad de la luz

CAAC: Cyclic Alkyl Amino Carbenes

COSY: Experimento bidimensional de RMN de correlacion homonuclear ^1H - ^1H
(*Correlated Spectroscopy*)

d: Doblete (RMN)

Da: Unidad de masa atómica unificada

dd: Doblete de dobletes

dt: Doblete de tripletes

DMEM: Medio esencial de Eagle modificado por Dulbecco

dmmp: Bis(dimetilfosfinometil)metilfosfina

dmpm: Bis(dimetilfosfino) metano

DMSO: Dimetilsulfóxido

dppe: Bis(difenilfosfino) etano

dppm: Bis(difenilfosfino) metano

δ : Desplazamiento químico

EPR: Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy

ESI: Ionización por Electrospray

eV: Electronvoltio

FDA: US Food and Drug Administration

g: Gramo

GPX: Glutation peroxidasa

HMBC: Experimento de RMN de correlación heteronuclear a dos o más enlaces
(*Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy*)

HOMO: Orbital molecular más alto ocupado (*Highest Occupied Molecular Orbital*)

HSQC: Experimento de RMN de correlación heteronuclear a un enlace (*Heteronuclear Single-Quantum Correlation spectroscopy*)

HTS: High-Throughput Screening (cribado de alto rendimiento)

Hz: Hercio
h: Hora
IRB: Institutional Review Board
IR: Radiación Infrarroja
J: Constante de acoplamiento
kJ: Kilojulio
LUMO: Orbital molecular más bajo ocupado (*Lowest Occupied Molecular Orbital*)
m: Multiplete (RMN)
m-: *Meta* o masa
m': Masa relativa
M: Metal o Multiplete
mg: Miligramo
min: Minuto
mL: Mililitro
mmol: Milimol
mol: Unidad con que se mide la cantidad de sustancia
MS: Espectometría de masas
MTS: Metalotioneínas
MTT: Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2,5-difeniltetrazol)
m/z: Relación masa-carga
NHC: Carbeno N-Heterocíclico
nm: Nanómetros
NTf₂: Anión bis(trifluorometanosulfonato)imida
o-: *Orto*
OLED: Diodo Orgánico de misión de Luz (*Organic Light-Emitting Diode*)
OMS: Organización Mundial de la Salud
OTf: Anión trifluorometilsulfonato
p-: *Para*
Ph: Fenilo
ppm: Partes por millón
q: Cuartete (RMN)
RPMI: Roswell Park Memorial Institut (medio enriquecido de cultivo celular)
RMN: Resonancia magnética nuclear
ROS: Especies de Oxígeno Reactivo (*Reactive Oxygen Species*)

s: Singlete (RMN)
S: Estado fundamental o spin nuclear
S*: Estado excitado fundamental
S(1): Estado electrónico singlete
SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
t: Triplete (RMN)
T: Estado electrónico triplete
T*(1): Estado excitado triplete
LMCT: Transferencia de Carga del Ligando al Metal
MLCT: Transferencia de Carga del Metal al Ligando
tht: Tetrahidrotiofeno
TOF: Frecuencia de ciclo (mol sustrato transformado/mol catalizador·h) (*TurnOver Frequency*)
TrxR: Tiorredoxina reductasa
UPS: Sistema Ubiquitin Proteasa
UV-vis: Ultravioleta visible
v: Velocidad
VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana
 μL : Microlitros
 μL : Micromolar.

RESUMEN

En el capítulo 1 se han sintetizado diferentes compuestos orgánicos cíclicos a través de reacciones entre propargilaminas primarias y secundarias con iso(tio)cianatos. Para estas reacciones, el tipo de amina, la cadena de átomos de carbono, el uso de isocianatos o isotiocianatos y la estequiometría usada son factores muy importantes para conseguir un compuesto final u otro. Así, el uso de un determinado tipo de propargilaminas, daba lugar a la formación de tiazolinas o tiazolidinas, dependiendo de si eran secundarias o primarias, respectivamente. Por otro lado, para estas tiazolidinas formadas se consiguió sintetizar derivados que contuvieran un grupo tiourea en su estructura cuando se modificaba la estequiometría de la reacción. Se estudió la presencia del átomo de oxígeno (isocianato) y azufre (isotiocianato) en diferentes reacciones de ciclación y se utilizaron diversos catalizadores de oro(I) para sintetizar diferentes tiomorfolinas. Finalmente haciéndolas reaccionar con diferentes complejos de oro se consiguió sintetizar diferentes quinolinas en un proceso de ciclación molecular sin precedentes.

En el capítulo 2 se sintetizaron nuevos carbenos NHC de oro(I) con diferentes sustituyentes urea con el objetivo de obtener fármacos similares al Auranofin, del que se sabe que tiene excelentes propiedades antitumorales. Inicialmente se sintetizaron nuevas sales de imidazolio con grupos urea, que fueron el producto de partida para la síntesis de carbenos con grupos fosfina o tiolato como ligandos auxiliares, o para la formación de biscarbenos de oro(I). Además, se consiguieron sintetizar por primera vez compuestos bimetalicos de oro, con el ligando actuando de bidentado puente a través de la desprotonación del grupo NH de la urea. Para estos compuestos se midieron sus propiedades anticancerígenas en dos líneas tumorales diferentes (HeLa y A549) y para aquellos compuestos bimetalicos, que presentaban interacciones aurofílicas se estudiaron además sus propiedades luminiscentes

En el capítulo 3, se sintetizaron diferentes escuaramidas, compuestos que se consideran bioesteres de ureas y se coordinaron con los metales del grupo 11, (oro, plata y cobre). Debido a la capacidad de estos compuestos de poder formar diferentes puentes de hidrógeno a través de sus grupos NH, se midieron las propiedades catalíticas, biológicas y su capacidad de gelificación, obteniendo buenos resultados con diferentes disolventes con grupos hidroxilo (alcogeles), aunque fue en disolventes como acetonitrilo y nitrometano donde se obtuvieron las concentraciones más bajas, del orden de $2\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Introducción General

INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1. Historia del Cáncer	1
I.2. El Oro	9
I.2.1. Propiedades Físico-Químicas	9
I.2.2. Estados de Oxidación	12
I.2.3. Luminiscencia del Oro	17
I.2.4. Catálisis de Oro	23
I.2.5. Oro en Medicina	26
I.3. Procesos Biológicos	36
I.4. Del Laboratorio a la Farmacia	39

I.1. Historia del Cáncer

Históricamente, la mayoría de las enfermedades han tenido su origen en la zoonosis, es decir, un intento de domesticar a los animales salvajes con los que se convivía habitualmente. Como ejemplos de algunas de estas enfermedades, se podrían destacar la rabia, el virus del Nilo, la enfermedad de Chagas, el dengue o la enfermedad de las “vacas locas” (encefalopatía espongiforme bovina). Estas enfermedades pueden ser causadas por diferentes patógenos, la rabia es un ejemplo de zoonosis viral; la tuberculosis y la salmonela son bacterianas; la enfermedad de Chagas es ocasionada por parásitos y la enfermedad de las vacas locas es debida a priones, que son proteínas infecciosas.¹

A lo largo de la historia, las infecciones han sido una constante preocupación para la salud humana, pero a raíz de las mejoras iniciadas en la Revolución Industrial en el siglo XVIII, que llevaron consigo un gran desarrollo económico, la preocupación por estas enfermedades infecciosas disminuyó notablemente. A partir de ese momento se llevaron a cabo grandes avances en la salud pública, en el desarrollo de antibióticos y vacunas, y se consolidó la teoría microbiana de la enfermedad,² llevada a cabo por Robert Koch tras sus investigaciones acerca de la tuberculosis. Éste formuló unos postulados (postulados de Koch) mediante los cuales estandarizaba una serie de criterios experimentales para demostrar si un organismo era, o no, el causante de una determinada enfermedad. Estos postulados se siguen utilizando hoy en día y todo ello le sirvió para ganar el premio Nobel en Medicina y Fisiología en 1905.³

Pero fue el uso de las máquinas en la industria lo que permitió el avance de Europa en el siglo XIX, la industria textil, metalúrgica y química fueron las que más crecimiento tuvieron en este siglo, y de ahí que surgieran otras nuevas enfermedades denominadas “enfermedades de la civilización”,⁴ debido a la transición epidemiológica que se produjo con el desarrollo económico. En estas enfermedades se englobarían aquellas como las enfermedades del corazón, cáncer, diabetes o los problemas respiratorios crónicos.

En lo relativo al cáncer, la Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que habrá un aumento del 70% en número de casos en el año 2035, hasta llegar a los 24 millones, y

¹ <https://www.insp.mx/avisos/2990-enfermedades-zoonoticas.html>

² D. H. M. Gröschel, *A. S. M. News*, **1982**, *48*, 248.

³ MLA style: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1905. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2019. Thu. 18 Jul 2019. <<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1905/summary/>>

⁴ B. Harris, *Soc. Hist. Med.*, **2004**, *17*, 379.

el número de muertes llegará a alcanzar los 14 millones debido a esta enfermedad en todo el planeta.⁵

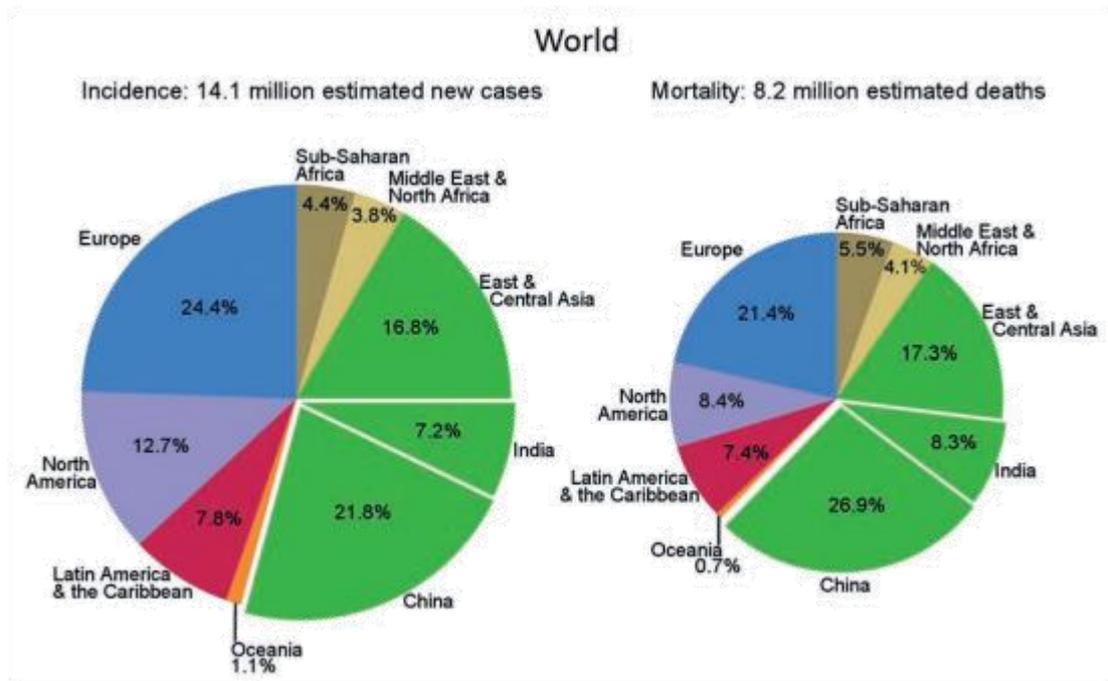


Figura 1. Proporciones mundiales estimadas de incidencia y mortalidad por cáncer por regiones principales del mundo, en ambos sexos combinados, 2012.⁶

Como consecuencia, el cáncer se ha convertido en una de las primeras causas de muerte en el mundo y se está invirtiendo mucho dinero en temas de investigación contra esta enfermedad, no solo en cómo poder tratarla, sino también en estudiar por qué aparece, cómo podemos evitarla o qué hábitos debemos seguir para intentar prevenirla. Se estima que el costo total atribuible a la enfermedad en 2010 ascendió a 1.16 billones de dólares.⁷ A pesar de ello, hay todavía muchas preguntas sin resolver, ¿cómo surge? O ¿qué lo causa?

Según la OMS, “*Cáncer*» es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo; también se habla de «tumores malignos» o «neoplasias malignas». Una característica definitoria del cáncer es la multiplicación rápida de células anormales que se extienden más allá de sus límites

⁵ https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Las_Cifras_del_cancer_en_Espana2018.pdf

⁶ <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

⁷ B. W. Stewart, C. P. Wild, editors. World cancer report 2014; Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.

habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos, un proceso que se denomina «metástasis»”.

Se ha hablado anteriormente del aumento del cáncer a raíz del cambio de vida que los seres humanos han llevado a cabo después de la revolución industrial, al envejecimiento de la población y al cambio de metabolismo que hemos adquirido debido a nuestro actual estilo de vida, pero todo esto solo ha servido para que el cáncer tuviera más repercusión, ya que no es una enfermedad que surgiera de repente, de hecho ya hay referencias mucho antes de la Revolución Industrial; diferentes estudios paleontológicos certifican la presencia de fracturas, osteoporosis y tumores observados en huesos de mamíferos y grandes reptiles. También por el estudio de huesos se pueden ver evidencias de tumores y otras enfermedades como artrosis en el periodo neolítico, unos 10.000 años antes de Cristo (a.C.). La examinación de tejidos en momias aumentó el campo de estudio de la paleontología no sólo ya a los huesos, y permitió conocer más detalladamente nuestro pasado, por ejemplo, hay una gran cantidad de evidencias de artritis, sinusitis y tumores de huesos, osteosarcoma y mieloma en momias de antiguas civilizaciones de indígenas en Perú.⁸ En Egipto también hay casos documentados, se ha descubierto una evidencia de cáncer de mama en una momia egipcia que trata del año 1500 a.C., debido a que había un hueco entre las costillas, lo que implica que ahí es donde estaba alojado el tumor. Más evidencias fueron reflejadas en el papiro que lleva el nombre de Edwin Smith, el cual destacó por ser un aventurero y traficante de antigüedades. Smith se dedicó a buscar los trozos del papiro original y cuando finalmente los tuvo en sus manos, se dio cuenta de su gran valía al reconocerlo como un tratado de medicina, aunque él nunca lo llegaría a publicar. Sería su hija la que lo donaría a la Sociedad de Historia de Nueva York en 1906.



Figura 2. El Papiro de Edwin Smith en su ubicación actual.⁹

⁸ E. H. Ackerknecht. *A Short History of Medicine*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, **1982**, *Paleopathology and paleomedicine*. Capítulo 1, pp 3-9.

⁹ F. R. F. González, S. P. L. Flores, *An. Med. (Mex)*, **2005**, 50, 43.

El papiro trata del año 1600 a.C., cuando gobernaba la dinastía XVIII de Egipto, aunque se cree que puede ser una copia de un manuscrito anterior denominado “el libro secreto del médico”. Jame Henry Breasted se encargó de su traducción y propuso la hipótesis de que fue el mismo Imhotep quien escribió el papiro original. Debido a que se le considera como el fundador de la medicina egipcia, aunque las evidencias sugieren que fue redactado por tres autores distintos.⁹

El papiro de Edwin Smith ha aportado datos muy variados y valiosos tanto para la medicina como para la odontología. En él se observa el nacimiento del quehacer científico en la medicina antigua, se fundamenta en la observación, recolección y clasificación de los hechos y en la aplicación de un proceso mental inductivo. Además, es el primer tratado de cirugía conocido.¹⁰ Se describen unos 48 casos de heridas de guerra con los tratamientos que las víctimas habían recibido. Los tratamientos son racionales y en un solo caso se recurren a remedios mágicos. El papiro contiene las primeras descripciones de suturas craneales, de meninge, de la superficie externa del cerebro, del líquido cerebro espinal y de las pulsaciones intracraneales.⁹

Además del papiro de Edwin Smith también se conoce el de George Ebers, considerado el más extenso de los que se han encontrado y también uno de los más antiguos, data del año 1550 a.C., correspondiendo a la dinastía de Amenhotep I, fue descubierto por Edwin Smith y comprado seguidamente por George Ebers quien lo tradujo. El papiro de Ebers es un cuaderno de medicina, en el que se reflejan distintos procedimientos contra enfermedades de los ojos, de la piel, de las extremidades y enfermedades de las mujeres, estas últimas pueden ser posibles casos de cáncer de mama y útero.¹¹

Estas técnicas medicinales guardaban una estrecha relación con las divinidades en las que se creían, pero hace unos 2500 años, en la zona de Grecia, por la abundancia de culturas que se agruparon allí, se produjo un cambio importante en la forma de pensamiento humano, intentando encontrar respuestas de una manera más racional.

Por supuesto, no es que la medicina religiosa fuera desconocida para los griegos, de hecho, fue muy importante en épocas anteriores y, para muchos, especialmente los pobres y los incurables, la medicina mantuvo su orientación religiosa a lo largo de la historia,

¹⁰ J. J. Puigbo, *Gac Méd Caracas*, 2002; 110, 378.

¹¹ E. H. Ackerknecht. *A Short History of Medicine*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1982, *Medicine of Ancient Civilizations*. Capítulo 3, pp 19-34.

pero fue ahí el inicio de un cambio de mentalidad y muchos de esos médicos griegos consiguieron separar la práctica médica de sus creencias religiosas. Su desarrollo principal se debió, no a la especulación, sino a sus esfuerzos prácticos en el campo de la observación clínica.

Apolo fue considerado como el dios de la enfermedad y la curación, hasta que en el siglo V a.C. fue reemplazado por Asclepius, cuyo bastón y serpiente sagrada son todavía símbolos de la profesión médica. Asclepius tenía el don de la curación y tenía un gran conocimiento acerca de las plantas medicinales. Se decía que podía devolver la vida a los muertos, fue venerado en varios santuarios de la antigua Grecia, especialmente en el de Epidauro en el Peloponeso donde se desarrolló una verdadera escuela de medicina.¹² La enfermedad del cáncer se hizo llamativa en la sociedad griega, fue Hipócrates (denominado como el padre de la medicina y se cree descendiente de Asclepius) el que acuñó el nombre a esta enfermedad, fue el primero en utilizar el término “Karkinos” para referirse al tumor. Es curioso el porqué de esa palabra griega, de la cual también proviene la palabra cangrejo, algunos historiadores sostienen que les llamó igual debido a que los tumores son tan duros como un caparazón, o que algunos cánceres de mama presentan una similitud con las patas de un cangrejo. Otros sostienen que se refería a la aparición de vasos sanguíneos en las células tumorales, los cuales imitan las tenazas de un cangrejo agarrándose. Cabe destacar aquí el surgir de la palabra oncología; proviene de la raíz “*óykoç*” que se utilizó para describir la hinchazón como signo de una inflamación, como así lo recoge Celso en su obra “*De re medica libri octo*”. Hacia mediados del siglo XIX surge la palabra oncología a raíz de este término griego, como el estudio de los tumores ya sean benignos o malignos.¹³

Hipócrates consideraba la teoría de los cuatro humores del cuerpo, los cuales eran sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra. Estos cuatro humores se generaban en el corazón, el cerebro, hígado y bazo respectivamente y estaban en perfecta armonía. La enfermedad surgía cuando desaparecía ese equilibrio entre ellos, y relacionaba dichos humores con el carácter de las personas.¹⁴ Eran sociables aquellos que tenían mucha sangre, tenían un

¹² E. H. Ackerknecht. *A Short History of Medicine*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, **1982**, *Greek Medicine: Physicians, Priests, Philosophers*. Capítulo 5, pp 47-55.

¹³ O. Salaverry, *Rev Peru Med Exp salud Publica*, 2013, 30, 137.

¹⁴N. López-Huertas. *La Teoría Hopicrática de los Humores*. Gómeres: salud, historia, cultura y pensamiento [blog]. 17/10/2016. Disponible en <http://index-f.com/gómeres/?p=1990>

carácter calmados en los que predominaba la flema y eran coléricos o melancólicos si predominaba la bilis amarilla o negra, respectivamente.



Figura 3. Los cuatro temperamentos, dependiendo de los cuatro humores.¹⁴

Puede verse una relación entre los cuatro humores y los cuatro elementos (fuego, agua, tierra y aire). A Hipócrates se le atribuyen los tratados hipocráticos (*Corpus hippocraticum*) que son una serie de escritos sobre anatomía, de cómo tratar diferentes enfermedades, lesiones y sobre la dieta para tratar distintas enfermedades agudas.

Más adelante, fue el también filósofo griego Galeno de Pérgamo, el que propuso la cirugía para el tratamiento del cáncer, y así está descrito en el libro que escribió “*De tumoribus praeter naturam*”, en el que detalló varias maneras de extirpación del tumor. Galeno, quien seguía el conocimiento de Hipócrates, consideraba que la formación del tumor se originaba de una alteración del humor “bilis negra” y para su eliminación se detallaron una serie de técnicas, como la cauterización con fuego o la determinación de algunas sustancias, que según sus conocimientos ayudaban a la expulsión del cáncer del cuerpo.¹⁵

Todos estos avances se interrumpieron durante la época del Imperio Romano, debido a que el cristianismo cobró mucho peso e intentaba disuadir a la población de cualquier conocimiento médico a favor de la fe religiosa. En la Edad Media, el cáncer siguió siendo una enfermedad rara y no hubo muchos avances en ese campo, la preocupación y la atención se centraban en enfermedades de transmisión como, la que asoló Europa en el siglo XIV, la peste negra.

No fue hasta el Renacimiento cuando se volvió a la influencia de la Antigua Grecia y se originó un avance progresivo no sólo en el arte con artistas como Miguel Ángel, Tiziano,

¹⁵ A. Ruiz, *Galeno. La Bilis Negra*. Obras de Galeno. Vol XI. Tomo I Ed. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, 1947, pp. 113-137.

Botticello o Donatello, también en el ámbito científico, destacando figuras como Galileo Galilei, Nicolás Copérnico o Leonardo Da Vinci. Hubo un auge en el campo de la botánica y anatomía, que conllevaron a nuevas técnicas en química y medicina. En este campo, haciendo posible un mejor entendimiento del cáncer como enfermedad, habría que destacar dos autores; Andreas Vesalio, el cual dio origen al estudio y entendimiento de la anatomía humana y es considerado el padre de la anatomía moderna. En su obra “*De humanis corporis fabrica*” se destacan detalles anatómicos de manera muy minuciosa y con dibujos explicativos.¹⁶ El segundo autor sería Marco Aurelio Severino que escribió detalladamente operaciones de distintos tumores.

Además, en el año 1590 fue inventado el microscopio por Zacharias Janssen, lo que ayudó al trabajo de William Harvey, médico inglés que fue el primero en describir la circulación de la sangre y la distribución por todo el cuerpo debido al bombeo del corazón.

La siguiente gran contribución vino de la mano del físico austriaco Anton Von Störck. Su investigación se centró en el uso de plantas para el tratamiento de las enfermedades y relacionó diferentes plantas dependiendo de la toxicidad y propiedades medicinales que poseían. Por otro lado, asoció el uso de cicuta para el tratamiento contra el cáncer, si bien no supo explicar muy bien su funcionamiento. Más adelante, en el año 1775, Percival Pott asoció la enfermedad del cáncer de escroto con un trabajo en concreto, el de deshollinador. Aunque era aleatorio la mayoría de los cánceres escrotales, éstos estaban asociados a unos trabajos de riesgo, como el que hemos nombrado anteriormente, y a aquellos trabajos en destilerías de carbón o en los cuales los hombres estuvieran expuestos a aceites minerales.¹⁷

Aunque la medicina siempre había tenido una intención científica desde hacía varios años, no fue hasta el siglo XIX cuando hubo un crecimiento económico e industrial capaz de llevar la investigación a un nivel superior.

En 1838 Matthias Jakob Schleiden, asentó la idea de que la célula era la unidad biológica fundamental, ayudando en sus estudios a Rudolf Virchow. Entre sus hallazgos destaca el descubrimiento de la leucemia y sus estudios experimentales acerca de la trombosis o la embolia, términos que él mismo acuñó. Por otra parte demostró que una célula era el

¹⁶ E. H. Ackerknecht. *A Short History of Medicine*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, **1982**, *Renaissance Medicine*. Capítulo 9, pp 103-105.

¹⁷ H. A. Waldron, *Br. J. Ind. Med.*, **1983**, *40*, 390.

producto de otra anterior, dando una importante contribución a la biología.¹⁸ Wilhelm Waldeyer descubrió que las células cancerígenas provienen de tejidos epiteliales en lugar de conectivos. Esto también lo afirmó Karl Thiersch con la demostración del origen epitelial del carcinoma. Para el tratamiento del cáncer, dos avances importantes surgirían en este siglo, el primero fue la introducción de anestesia en las operaciones, con compuestos como cloroformo, éter u óxido nitroso y la segunda sería el concepto de asepsia en las operaciones, es decir, el uso de guantes y de material esterilizado para evitar infecciones.¹⁹ Además, también se desarrollaron nuevos métodos (utilizando compuestos químicos) para combatir la enfermedad, y así evitar la cirugía. En 1838 Canquoin utilizó y estudió el uso del cloruro de zinc. Rivaille, en 1850, utilizó ácido nítrico concentrado y Filhos sugirió el uso de potasa para el tratamiento del cáncer de cuello de útero. Broadbent propuso la introducción de ácido acético diluido directamente en el tumor. Landolfi pensó en el uso de distintos metales para el tratamiento del cáncer, mezclaba cloruros de zinc, antimonio y oro. Routhen, en 1866, describió el uso de bromuros en dos cánceres de cérvix.²⁰

Ya en el siglo XX, gracias al descubrimiento de la estructura química del ADN por Francis Crick y James Watson, se pudo entender el funcionamiento de los genes, así como las mutaciones que pueden surgir, pudiendo conducir a un crecimiento celular canceroso. Además, esclareció el tipo de mutaciones que pueden aparecer, debidas a agentes químicos, por radiaciones o por virus, obteniendo así más información de cómo puede suceder la enfermedad. Más adelante, en los años setenta, se descubrirían la familia de los oncogenes y de los genes supresores de tumores. En 1939, Charles Brendon Huggins probó que las hormonas podrían usarse en el control de algunos tipos de tumores, lo que indicaba que el cáncer podría ser controlado por fármacos y estableciendo así la base para la terapia hormonal. En 1946, Louis Goodman utilizaría por primera vez los agentes quimioterapéuticos para el tratamiento contra el cáncer, recurriendo a las mostazas nitrogenadas (agentes alquilantes que interactúan con el ADN) frente a la enfermedad de Hogkin, el linfosarcoma y la leucemia.²¹ Después del descubrimiento en 1964 del *cis-*

¹⁸ E. H. Ackerknecht. A Short History of Medicine. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, **1982**, *The Basic Sciences During the Nineteenth Century*. Capítulo 13, pp 166-169.

¹⁹ M. M. Lange, H. J. Rutten, C. J. Van de Velde, *Eur. J. Surg. Oncol.*, **2009**, *35*, 456.

²⁰ A. B. MacGregor, *Med. Hist.*, **1966**, *10*, 374.

²¹ A. J. Ky, M. W. Sung, J. W. Milsom, *Dis. Colon. Rectum.*, **1999**, *42*, 1369.

platino por Barnett Rosenberg, la química organometálica adquirió una gran importancia para el tratamiento del cáncer.

I.2. El Oro

I.2.1. Propiedades Físico-Químicas

El oro es el elemento químico ubicado en el grupo 11 y periodo 6 de la tabla periódica, está en la posición 79, debido a su número atómico y la ordenación según Mendeléyev y tiene spin nuclear de 3/2. Tiene un único isótopo estable, ^{197}Au , y 37 radioisótopos, siendo el ^{195}Au el más estable con una vida media de 186 días. Su símbolo es Au, que viene del latín *aurum*, que significa brillante amanecer. Dentro de la tabla periódica se describe como un metal de transición blando, lo que hace que pueda reaccionar bien con ligandos blandos. Se pueden clasificar los ácidos blandos y bases blandas atendiendo a su radio iónico o atómico grande, bajos estados de oxidación, una polarizabilidad alta y bajas electronegatividades. Respecto a los orbitales, el HOMO de las bases es de alta energía y el LUMO de los ácidos es de baja energía.

Algunos ejemplos de ácidos blandos son: CH_3Hg^+ , Pt^{2+} , Pd^{2+} , Ag^+ , Au^+ , Hg^{2+} , Hg_2^{2+} , Cd^{2+} y BH_3 . Algunos ejemplos de bases blandas son: H^- , R_3P , SCN^- y I^- . La afinidad de los ácidos blandos y bases blandas es principalmente de naturaleza covalente.

Por el contrario, los ácidos y bases duros son aquellas que tienen un pequeño radio iónico o atómico, altos estados de oxidación, son poco polarizables y tienen una electronegatividad alta. Van a presentar el orbital HOMO muy bajo en energía en el caso de las bases, y un orbital LUMO de alta energía, en el caso de los ácidos.

Algunos ejemplos de ácidos duros son: H^+ , cationes alcalinos, Ti^{4+} , Cr^{3+} , Cr^{6+} y BF_3 . Algunos ejemplos de bases duras son: OH^- , F^- , Cl^- , NH_3 , CH_3COO^- y CO_3^{2-} .

La afinidad de los ácidos duros y bases duras es principalmente de naturaleza iónica.

El oro cuya configuración electrónica es $[\text{Xe}] 4f^{14}, 5d^{10}, 6s^1$, presenta un color amarillo, es muy buen conductor de la electricidad y tiene buenas propiedades de ductilidad y maleabilidad. Está englobado en el grupo de metales nobles que se caracterizan por ser químicamente inertes, es decir, son resistentes a la oxidación y a la corrosión, En este grupo están incluidos otros metales como platino o mercurio. En joyería se suelen

denominar metales preciosos, y aparte del oro, se suelen incluir en este grupo metales como la plata, platino, paladio y rodio.

Muchas de las propiedades que tiene este metal, se deben a los efectos relativistas que están presente en el oro y que fueron descritos por primera vez por Pitzer, Pyykkö y Desclaux.^{22,23} La explicación de las funciones de onda y de los orbitales atómicos para los átomos más pesados de la tabla periódica (sexto y séptimo periodo, donde se incluye el oro) es insuficiente si se utiliza el modelo clásico de orbitales atómicos de Schrödinger. Para mejorarla se utilizan correcciones relativistas basadas en el modelo atómico de Dirac, modificando la forma y el tamaño de los orbitales atómicos s, p, d y f haciendo que su distribución electrónica sea ligeramente diferente.

Estos efectos relativistas se pueden explicar usando la teoría de la Relatividad Especial de Einstein,²⁴ que establece que la masa de cualquier objeto en movimiento cambia al cambiar su velocidad según la Esquema 1. En ella v es la velocidad, c es la velocidad de la luz en el vacío, m la masa en reposo y m' la masa relativa.

$$m' = \frac{m}{\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}}}$$

Esquema 1. Ecuación de la masa relativa según la Teoría de la Relatividad Especial de Einstein.

Normalmente $m = m'$ debido a que el término $(v/c)^2$ se suele despreciar. Sin embargo, cuando la velocidad de un cuerpo se aproxima a la velocidad de la luz, este término no se puede despreciar, cambiando la masa de forma significativa. Si se habla del átomo de oro, la velocidad de los electrones s aumenta hasta ser próxima a la de la luz, debido a la fuerte atracción electrostática que ejercen los protones del núcleo, provocando un aumento en su masa, que a su vez produce una contracción en el orbital y afecta principalmente a los orbitales s .

Las propiedades que presenta el oro son diferentes a las que se podrían esperar viendo el comportamiento de los otros dos metales de grupo 11, como son la plata y el cobre si los comparamos en términos de radio atómico, número de oxidación o incluso del color. Esto es debido a los efectos relativistas que presenta el oro. Así, los átomos que tienen una carga nuclear elevada, tienen los orbitales s y p más pequeños debido a que los electrones

²² K. S. Pitzer, *Acc. Chem. Res.*, **1979**, 12, 271.

²³ P. Pyykkö, J. P. Desclaux, *Acc. Chem. Res.*, **1979**, 12, 276.

²⁴ A. Einstein, **1905**, IV. Folge <Zur Elektrodynamik bewegter Körper> *Annalen der Physik*

tienen una naturaleza más enlazante; esto hace que los electrones de los orbitales d y f tengan una contribución menos enlazante.²⁵

El radio atómico aumenta al bajar en un grupo debido a que aumenta el número de electrones en su capa de valencia, lo que implica que van a estar más atraídos por el núcleo. A su vez, disminuye hacia la derecha en un periodo debido a que la carga nuclear efectiva aumenta, atrayendo hacia sí a los electrones de la capa de valencia. Según esto, el oro (1.35 Å) debería tener un radio atómico mayor que la plata (1.60 Å), pero debido a los efectos relativistas no es así. En los complejos de Au(I) aparece el concepto de aurofilia²⁶ donde estos efectos son muy importantes, ya que son los responsables de la interacción entre centros metálicos de capa cerrada ($5d^{10}$), produciendo una atracción entre iones metálicos a distancias inferiores a la suma de sus radios de van der Waals.

El estado de oxidación más normal del oro es Au(I), igual que el de la plata y el cobre, que tienen la capa d llena con 10 electrones. Los efectos relativistas del oro hacen que la primera energía de ionización en fase gas sea de 9.2 eV, mientras que la de la plata sea de 7.6 eV y 7.7 eV para el cobre. Esto implica que el oro sea más resistente a la oxidación que el resto de metales del grupo 11.²⁷

El oro se puede disolver en disolventes oxidantes, como agua regia, generando complejos de oro (III) con geometrías plano-cuadradas e incluso (V) como se comentará posteriormente debido a la desestabilización de los orbitales 5d y 5f. Si lo comparamos con la plata, los estados de oxidación son mayores, ya que sólo se alcanza el estado de oxidación (III) para el compuesto AgF_4^- , después de la oxidación foto-activada con flúor y utilizando fluoruro de hidrógeno como disolvente.²⁷

Los efectos relativistas también están presentes en las propiedades ópticas del oro, el color es debido al pequeño gap de energía que hay entre los electrones de la banda 5d (que debido a los efectos relativistas está expandida) del nivel de Fermi y la capa semilleno de la banda 6s (la cual está contraída). Este gap cae en el medio del rango de energía visible si tenemos en cuenta dichos efectos.²⁸ Por consiguiente, debería ser mucho mayor si estos efectos no estuvieran presentes. La absorción es de unos 2.38 eV.²⁵ Sin los efectos relativistas el oro debería ser de un color blanco como la plata y no amarillo, como el que

²⁵ N. Bartlett, *Gold bull*, **1998**, 31, 22.

²⁶ R. Usón, A. Laguna, M. Laguna, E. Fernandez, P. G. Jones, G. M. Sheldrick, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1982**, 1971.

²⁷ H. Schmidbaur, S. Cronje, B- Djordjevic, O. Schuster, *Chem. Phys.*, **2005**, 311, 151.

²⁸ P. Pyykkö, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **2012**, 63, 45.

presenta. Esto queda reflejado en la Figura 4, donde se puede observar las energías de los orbitales de valencia para las moléculas diatómicas AgH y AuH. Las energías para los orbitales utilizando los cálculos de Hartree-Fock no relativistas son muy similares entre ambos complejos, pero cuando se usan cálculos relativistas, los orbitales difieren bastante en energía.²⁹

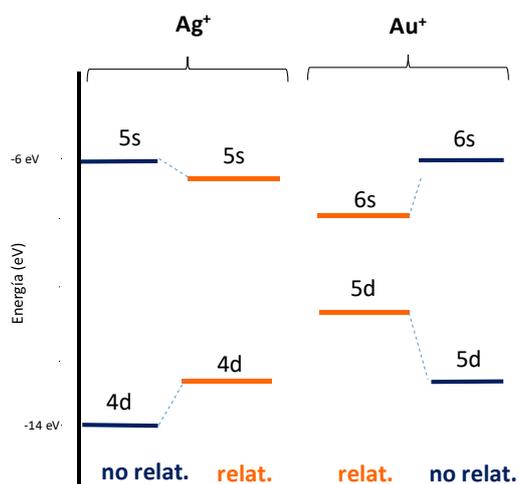


Figura 4. Energías calculadas para los orbitales $(n-1)d$ y ns , $Ag(n=5)$ y $Au(n=6)$.

La química del oro ha tenido un crecimiento exponencial en los últimos años, debido a la gran cantidad de aplicaciones que se han logrado conseguir respecto de sus complejos organometálicos o sus compuestos de coordinación. Éstos han hecho posible la introducción del oro en campos como la bioquímica, la medicina, la nanotecnología, la luminiscencia o la catálisis.

1.2.2. Estados de Oxidación

El oro puede tener diferentes estados de oxidación, siendo los más comunes los complejos de Au(I) y Au(III). Compuestos que contengan Au(0) son bastante raros, pero debido a estos efectos relativistas comentados anteriormente que provocan la estabilización del orbital 6s el oro posee el potencial electroquímico más bajo de todos los metales, debido a que puede aceptar electrones para reducirse a oro metálico. Se detectó por espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR) (electron paramagnetic

²⁹ J. P. Desclaux, P. Pyykko, *Chem. Phys. Lett.*, **1976**, 39, 300.

resonance spectroscopy) un compuesto, por reducción química de un macrociclo de Au(I), que mostramos en la siguiente Figura 5.³⁰

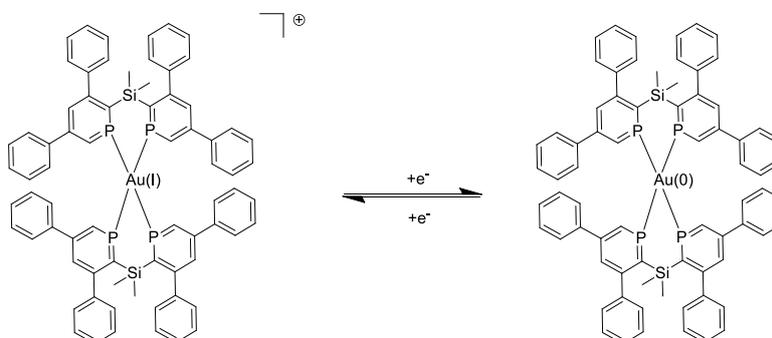


Figura 5. Formación de complejos de Au(0).

Como se ha comentado, compuestos con este tipo de oxidación son escasos e inestables, pero se han logrado preparar algunos complejos con macrociclos y con ligandos carbeno del tipo CAAC.³¹ Por otra parte, sí que hay numerosos complejos clusters que contienen una mezcla de átomos de oro con un estado de oxidación mixto entre (I) y (0).

El estado de oxidación más común para el oro es +1, con el que se describen infinidad de compuestos donde su configuración electrónica quedaría así, $[\text{Xe}] 4f^{14}, 5d^{10}$. Estos complejos podrían tener números de coordinación entre 1 y 4, siendo 2 el más común.

Los complejos monocoordinados de Au(I) están limitados por la necesidad de utilizar un anión de baja nucleofilicidad. Se puede destacar el complejo $[\text{F}_3\text{AsAu}^{\text{I}}](\text{SbF}_6)$ ³² que se forma por la reducción de AuF_3 con AsF_3 en un medio superácido con la mezcla SbF_5/HF , pero es inestable a temperatura ambiente, sin embargo puede reaccionar con xenón en la misma mezcla superácida para formar un compuesto estable $[\text{F}_3\text{AsAu}^{\text{I}}\text{Xe}](\text{Sb}_2\text{F}_{11})$, en el que se puede destacar el enlace lineal As-Au-Xe.³³

Como complejos dicoordinados se pueden apreciar muchas especies diferentes, tanto complejos aniónicos tales como $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{CN})_2]^-$ y $[\text{Au}^{\text{I}}\text{Cl}_2]^-$, como neutros $[\text{Au}^{\text{I}}\text{Cl}(\text{R}_3\text{P})]$ y

³⁰ N. Mézailles, N. Avarvari, N. Maigrot, L. Richard, F. Mathey, P. Le Floch, L. Cataldo, T. Berclaz, M. Geoffroy, *Angew. Chem. Int., Ed.*, **1999**, 38, 3194.

³¹ D. S. Weinberger, M. Melaimi, C. E. Moore, A. L. Rheingold, G. Frenking, P. Jerabek, G. Bertrand, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 8964.

³² R. Kuster, K. Seppelt, *Z. Anorg. Allgem. Chem.*, **2000**, 626, 636.

³³ I-C. Hwang, S. Seidel, K. Seppelt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 4392.

[Au^ICl(OC)] o catiónicos [Au^I(R₃P)₂]⁺ y [Au^I(RNC)₂]⁺. A su vez estas estructuras suelen ser lineales o parcialmente lineales.³⁴

En estado sólido, los complejos bicoordinados de Au(I) experimentan unas interacciones atractivas que contribuyen a las propiedades de muchos de estos complejos. Éstas reciben el nombre de interacciones aurofílicas y conllevan a que el enlace Au-Au sea más corto de lo que diría la teoría de enlace de Van der Waal (3.6 Å). Estudios teóricos han mostrado que la debilidad del enlace es el resultado de la correlación de efectos que están englobados en los efectos relativistas. Estudios experimentales de barreras rotacionales han mostrado que la fuerza de la interacción atractiva aurofílica es similar a la de un puente de hidrógeno entre 7-11 Kcal/mol. Las interacciones aurofílicas también presentan un papel importante en la estabilización de compuestos hipervalentes, como en compuestos [Ph₃PAu)₆C]²⁺ y [(Ph₃PAu)₅C]⁺, donde el átomo de carbono está unido a 6 y 5 átomos de oro respectivamente.^{35,36} O en el complejo [(Ph₃PAu)₅N]²⁺, donde el nitrógeno poseería cinco átomos de oro coordinados.³⁷

Las interacciones aurofílicas también son importantes en cuanto a la estructura de diversos compuestos de Au(I) lineales. Se puede destacar el complejo [Au^I(CNCy)][PF₆].³⁸ Esta sal puede cristalizar en dos diferentes formas, una de ellas es incolora en la que el enlace de Au-Au es completamente lineal, mientras que el otro polimorfo que es de color amarillo, presenta cadenas un poco dobladas donde la distancia Au-Au es más corta. Además, éste último presenta una emisión verde cuando es irradiado con luz ultravioleta, mientras que el polimorfo incoloro lo hace de color azul, bajo las mismas condiciones. Estas propiedades ópticas son debidas a la presencia de interacciones aurofílicas. En disolución, ambas sales se disocian en monómeros que son incoloros y no emiten luz al ser irradiados por luz ultravioleta.³⁹

Existen también complejos de Au(I) tricoordinados, que pueden presentar diversas geometrías, así como trigonal-plana, plana con forma de Y, o en forma de T. Los complejos de Au(I) que contienen cuatro ligandos coordinados, normalmente presentan

³⁴ C. Corti, R. Holliday, Ed., *Gold science and applications*; CRC Press Boca Raton, **2010**, pp: 35

³⁵ F. Scherbaum, A. Grohmann, B. Huber, C. Kruger, H. Schmidbaur, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1988**, *27*, 1544.

³⁶ F. Scherbaum, A. Grohmann, G. Müller, H. Schmidbaur, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1989**, *28*, 463.

³⁷ A. Grohmann, G. Müller, and H. Schmidbaur, *Nature*, **1990**, *345*, 140.

³⁸ R.L. White-Morris, M. M. Olmstead, A. L. Balch, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 1033.

³⁹ A. L. Balch, *Struct. Bond.*, **2007**, *123*, 1.

una estructura tetraédrica.⁴⁰ Las estructuras descritas pueden estar fuertemente distorsionadas si los dos o tres ligandos que se coordinan son aceptores pobres, consiguiendo así que no todos los ligandos coordinados tengan la misma distancia hacia el centro metálico. La tendencia a que el oro(I) pueda aceptar más de dos ligandos, siendo que tiene un pobre carácter aceptor no es compartida por los otros dos metales del grupo 11, lo que implica una modificación de los orbitales de valencia del oro debido a efectos relativistas.²⁷

El hecho de obtener compuestos de Au(I) dicoordinados, con geometría lineal, y las geometrías mencionadas en los párrafos anteriores, es debido a la pequeña diferencia energética entre los orbitales s, p y d y que da lugar a hibridaciones eficientes de tipo s/p o s/d, la cual explica el porqué de esas geometrías, y siempre debido a los mencionados efectos relativistas.

Si se continúa extrayendo electrones a la capa de valencia del Au, obtenemos una configuración de [Xe] 4f¹⁴, 5d⁹ para los complejos de Au(II). Existen compuestos tanto monoméricos paramagnéticos como complejos dinucleares diamagnéticos con enlace Au-Au.⁴¹ Ejemplos de este tipo lo podemos ver en el compuesto Au^{II}(SbF₆)₂, formado a partir de oro metálico tratándolo con F₂ en un medio ácido de la mezcla HF/SbF₅.⁴² Otro compuesto monomérico de Au(II) es [Au^{II}Xe₄](Sb₂F₁₁)₂, que se forma también en el mismo medio ácido que el complejo anterior y añadiendo xenón al compuesto de AuF₃.⁴³ Por otro lado, hay una gran variedad de especies dinucleares de Au(II) como se observa en la Figura 6. En muchos casos la formación de estas especies es debido a la oxidación de un compuesto dinuclear de Au(I), obteniéndose una disminución de la distancia entre los centros metálicos en comparación a cuando están en estado de oxidación (I) a (II). Al producirse la oxidación en el complejo dinuclear de oro(II) se incorpora un ligando a cada átomo de oro y el electrón desapareado de cada metal permite formar un enlace metálico, llegando a obtener distancias de 2.4 Å. Al producir la oxidación con iodo puede formarse el complejo de oro(II) con enlace aurofílico entre los dos centros metálicos o que se produzca un complejo de Au(I)/Au(III), donde uno de ellos se oxide hasta Au(III), quedando el otro centro intacto.⁴⁴

⁴⁰ M. Concepcion, A. Laguna, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 511.

⁴¹ A. Laguna, M. Laguna, *Coord. Chem. Rev.*, **1999**, 193-195, 837.

⁴² S. H. Elder, G. M. Lucier, F. J. Hollander, N. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 1020.

⁴³ S. Seidel, K. Seppelt, *Science*, **2000**, 290, 117.

⁴⁴ A. M. Mazany, and J. P. Fackler, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 801.

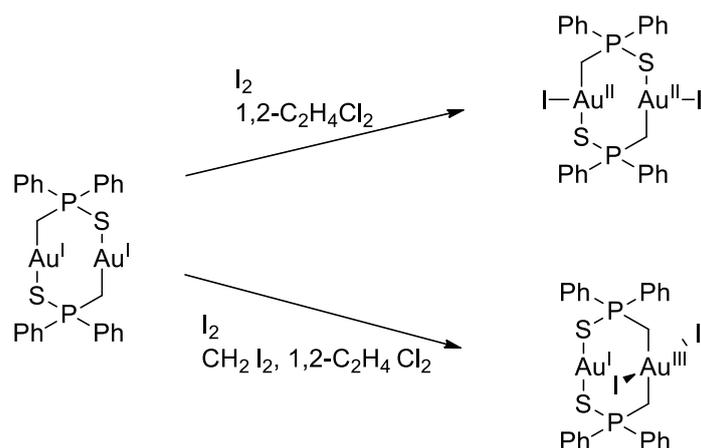


Figura 6. Adiciones oxidativas a complejos binucleares

El átomo de Au(III) con una configuración electrónica que correspondería a $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^8$, es isoelectrónico e isoestructural con el platino(II); los dos presentan una estructura plana cuadrada y normalmente son compuestos tetracoordinados. Aun así se han descrito compuestos pentacoordinados de Au(III)⁴⁵ con estructura bipirámide trigonal y alguno hexacoordinado.⁴⁶

Muy recientemente Lin, y colaboradores han mostrado complejos de Au(IV) y Au(VI) sólidos que fueron sintetizados usando altas presiones y haciendo reaccionar oro con flúor.⁴⁷ Un análisis detallado de sus propiedades electrónicas demostró que la distribución uniforme de los enlaces iónicos Au-F en la red juega un papel clave en la determinación de su estabilidad estructural. Por otro lado, la presión que se necesita para estabilizar el complejo AuF₄ es mucho menor que para CuF₄ o AgF₄. También, en el año 2019 se caracterizó un compuesto de oro(IV) en fase gaseosa. Se describió el ión molecular doblemente cargado AuO²⁺, como una especie metaestable en fase gas. Se pudo determinar debido a un estudio de espectrometría de masas, donde AuO²⁺ se formaba después de un bombardeo prolongado de iones ¹⁶O⁻ contra la superficie de una lámina de oro.⁴⁸

Finalmente, se han reportado casos de complejos de oro con un estado de oxidación de +5, cuya configuración electrónica sería $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^6$ como el Au^VF₅, que muestra una

⁴⁵ C. Corti, R. Holliday, Ed., *Gold science and applications*; CRC Press Boca Raton, **2010**, pp: 42

⁴⁶ M. P. Suh, I. S. Kim, B. Y. Shim, D. Hong, T.-S. Yoon, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 3595.

⁴⁷ J. Lin, S. Zhang, W. Guan, G. Yang, Y. Ma, *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140, 9545.

⁴⁸ S. Dhaif Allah Al Harbi, M. Mogren Al Mogren, A. Elmarghany, D. Ben Abdallah, B. Mehnen, R.Linguerri, M. Hochlaf, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2019**, 21, 16120.

conformación casi octaédrica. Esta configuración si la que la presenta su precursor, el anión $[\text{Au}^{\text{V}}\text{F}_6]^-$.⁴⁹

En 1986, Timakov y colaboradores consideraron que habían sintetizado el compuesto de AuF_7 , en el cual el oro tendría un estado de oxidación de (VII). Más adelante Sebastian Riedel y colaboradores pusieron en duda la existencia de ese estado de oxidación haciendo un estudio teórico y poniendo en entredicho los datos obtenidos por Timakov. Los autores describían una banda en el espectro de IR para el compuesto a $734 \pm 3 \text{ cm}^{-1}$, que era incongruente con los cálculos obtenidos; a su vez ni la estabilidad del compuesto a temperatura ambiente ni bajo nitrógeno líquido concordaba.⁵⁰ Más adelante en 2007, Riedel propuso que el compuesto de AuF_7 era en realidad $\text{AuF}_5 \cdot \text{F}_2$. Ahora, la energía calculada para el complejo era mucho más estable que la que se obtenía para el de estado de oxidación (VII), y la banda en IR estaba de acuerdo con una banda F-F de stretching.⁵¹

Aparte de ceder electrones el oro es capaz de ganarlos y llegar a tener un estado de oxidación negativo (Au^{-1}).⁵² El oro tiene una alta afinidad electrónica, para hacernos una idea, los halógenos tienen una afinidad electrónica entre 270 y 328 kJ/mol, mientras que la del oro asciende a 222,8 kJ/mol, esto hace posible entonces la formación del ion aurato cuya configuración electrónica quedaría así $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2$, teniendo un carácter de pseudohalógeno. Así puede reaccionar con distintos metales como cesio o rubidio y formar sales como CsAu^{-1} y RbAu^{-1} .

I.2.3. Luminiscencia del Oro

Para entender la luminiscencia del oro, empezaremos por una molécula más sencilla como la de hidrógeno. La molécula de dihidrógeno contiene un enlace covalente, éste está estabilizado por los orbitales atómicos de la misma fase, generando así un orbital molecular (MO), el cual puede aceptar un máximo de dos electrones con diferente spin. Un orbital enlazante requiere de un solapamiento espacial suficiente de los orbitales atómicos, haciendo muy poco posible el solapamiento entre un orbital 1s con uno 3d. Sin embargo, un 1s con un 2p o un 3p con un 4d estaría fácilmente formando un orbital molecular. Los orbitales moleculares fueron formulados por R. S. Mulliken y son

⁴⁹ I-C. Hwang, K. Seppelt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 3690.

⁵⁰ S. Riedel, M. Kaupp, *Inorg. Chem.*, **2006**, 45(3), 1228.

⁵¹ D. Himmel, S. Riedel, *Inorg. Chem.*, **2007**, 46 (13), 5338.

⁵² M. Jansen, *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, 37, 1826.

originalmente soluciones matemáticas del tipo $\psi, \psi_b = \varphi_A + \varphi_B$, donde los orbitales atómicos se combinan linealmente para formar orbitales moleculares. En ellos los electrones quedarían formando un orbital enlazante. Por otro lado, se espera que la repulsión de los centros atómicos dé un orbital de carácter no enlazante. La terminología para los estados moleculares cambia respecto de los atómicos y son llamados por letras griegas, así que pasan de s, p, d y f a σ , π , δ y ϕ respectivamente. En sistemas moleculares más amplios, los átomos forman múltiples enlaces. Así pasamos al N_2 que tienen tres orbitales p (p_x, p_y, p_z), de los cuales dos de ellos están situados en paralelos uno del otro, generando dos orbitales π , mientras que el solapamiento de los orbitales atómicos p_x daría lugar a un orbital σ .⁵³

Para visualizar las propiedades energéticas de las moléculas utilizamos el diagrama de Jablonski, que refleja todas las transferencias que pueden darse debido a procesos asociados a irradiación con luz: absorción fotónica y excitación del estado fundamental (S) a un nivel energético, vibracional o rotacional superior (S^*) y la posterior relajación al estado fundamental (S_0), a través de diferentes estados electrónicos singletes (S_1) y/o tripletes (T_1) con emisión de fluorescencia o fosforescencia, respectivamente. Una molécula neutra tiene un número par de electrones haciendo que su multiplicidad, cuya fórmula es $M = 2S + 1$, sea de 1. Siendo $S=0$, por el hecho de tener un número par de electrones. A este estado es al que anteriormente hemos denominado singlete. Cuando un electrón pasa a un estado excitado conserva su spin, quedando así en un estado singlete excitado, pero también podría cambiar de spin, haciendo que $S=1$ y $M=3$, lo que quedaría como un estado triplete.

Tanto la fluorescencia como la fosforescencia se engloban dentro del término general luminiscencia, que se describe como la emisión de energía radiativa por parte de una molécula la cual ha sido excitada previamente. Dependiendo de cómo ha sido excitada esa molécula, la luminiscencia se puede catalogar como fotoluminiscencia (si la absorción ha sido por fotones), bioluminiscencia (si es debida a procesos bioquímicos), electroluminiscencia (energía eléctrica), quimioluminiscencia (reacciones químicas que van acompañadas de emisión de luz), radioluminiscencia (si la emisión de luz es a través de una radiación ionizante), o triboluminiscencia (por medio de una acción mecánica) o termoluminiscencia (si es debido al calor).⁵⁴

⁵³ W. Schmidt, *Optical Spectroscopy in Chemistry and Life Sciences*, Wiley-VCH, **2005**, pp: 36-41

⁵⁴ W. Schmidt, *Optical Spectroscopy in Chemistry and Life Sciences*, Wiley-VCH, **2005**, pp: 195.

Volviendo a cómo surge la luminiscencia, en la siguiente Figura 7, se muestra el diagrama de Jablonski. Cuando una molécula se excita pasa de su estado fundamental $S(0)$ a un estado excitado $S^*(1)$, (compuesto por el estado excitado y una serie de estados excitados vibracionales). Posteriormente, tiene que haber un proceso de relajación vibracional para que la molécula quede en el estado excitado de menos energía (Ley de Kasha) $S(1)$ y desde ahí emitir radiación hasta volver al estado fundamental $S(0)$, dando lugar a la fluorescencia.

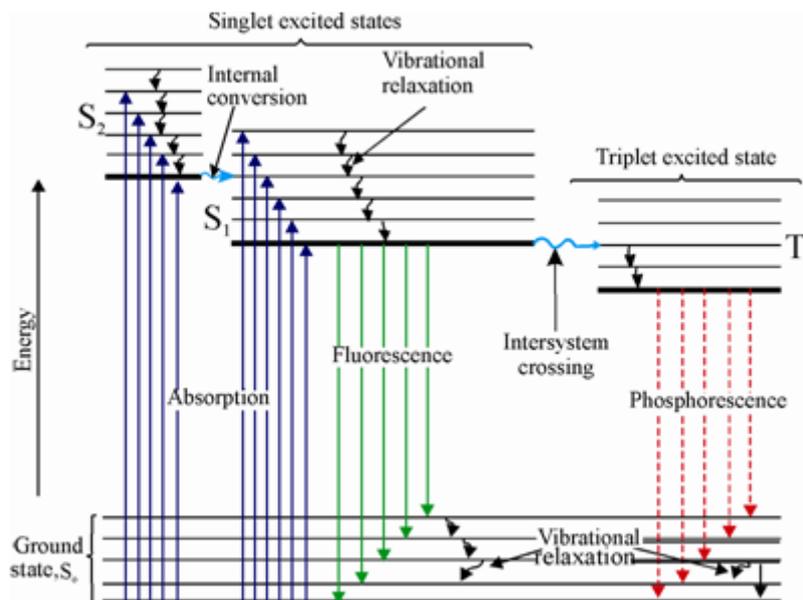


Figura 7. Representación del diagrama de Jablonski de fluorescencia y fosforescencia.

Sin embargo, podría ocurrir un entrecruzamiento entre sistemas desde el estado singlete excitado $S^*(1)$ hasta un estado triplete excitado $T^*(1)$. Así, cuando haya perdido toda la energía vibracional, puede emitir radiación desde este estado $T^*(1)$ hasta el estado fundamental $S(1)$, ocurriendo en este caso la fosforescencia.

No obstante, puede ocurrir que no se produzca la fluorescencia incluso cuando se ha excitado a la molécula y haya alcanzado un estado excitado estable, ya que puede disiparse de otras maneras, como transferencia de energía sin radiación (quenching), por reacciones fotoquímicas o por transferencia de energía interna. Las dos últimas involucran una redistribución de energía dentro de la propia molécula y se pueden destacar dos procesos; por conversión interna, en la que la molécula mantiene su estado de spin, pero pierde su energía vibracional en forma de calor, o mediante un cruce entresistemas en la que pasa del estado singlete al triplete y emite fosforescencia o pasa

al estado fundamental $S(0)$ sin emitir radiación debido a una colisión, posiblemente una reacción química.⁵⁵

No obstante, hay tres reglas de selección que cumplen la mayoría de las transiciones:

- Sólo un electrón puede participar en la transición.
- Regla de selección de spin: No se puede modificar las orientaciones relativas de los spines de un complejo $\Delta S = 0$.
- Regla de selección de Laporte: En una molécula o ión centrosimétrico, las únicas transiciones que están permitidas son aquellas en las que hay cambio de paridad. Esta regla prohíbe transiciones entre orbitales del mismo subnivel (las transiciones d-d o p-p estarían prohibidas).

Así, se podrían explicar el porqué de las transiciones de una manera simplificada, pero es mucho más complejo para compuestos poliatómicos. Además, la longitud de onda y la intensidad de la fluorescencia depende de factores como la temperatura, enlace químico, viscosidad y polaridad del disolvente.⁵⁶ Para poder explicar esto mejor se utilizan los diagramas de potencial, donde se refleja la energía de potencial de los estados electrónicos fundamentales y excitados, pero a su vez, los posibles estados energéticos se encuentran en forma de niveles vibracionales discretos. Asociado a cada nivel de vibración individual hay una serie de niveles de rotación, debido a que las transiciones electrónicas son muy rápidas si las comparamos con los movimientos nucleares. Las transiciones vibracionales se muestran verticales en el diagrama de potencial y están favorecidas cuando corresponden a un cambio mínimo en las coordenadas nucleares. En la Figura 8 se observa la transición desde el estado fundamental $E(0) v(0)$ hasta el estado excitado $E(1) v(2)$ (principio de Franck-Condon).

⁵⁵ W. Schmidt, *Optical Spectroscopy in Chemistry and Life Sciences*, Wiley-VCH, **2005**, pp: 198.

⁵⁶ W. Schmidt, *Optical Spectroscopy in Chemistry and Life Sciences*, Wiley-VCH, **2005**, pp: 201.

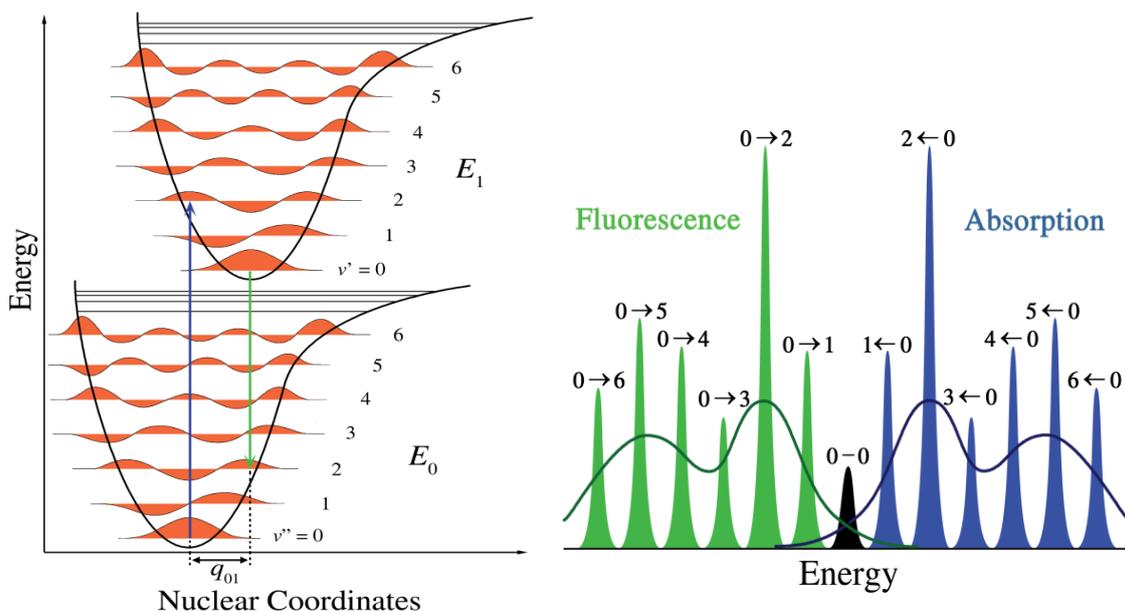


Figura 8. Representación de la energía de los estados E_0 y E_1 en función de las coordenadas nucleares (izquierda) y espectro de excitación y emisión resultante (derecha).

Cuando los electrones están en el estado excitado, pasan a un nivel excitado fundamental, perdiendo parte de su energía vibracional, esto queda reflejado en el espectro de emisión como un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores (menor energía), respecto del espectro de excitación. El resultado final serán dos bandas que son imágenes especulares entre sí. A la diferencia entre los picos de ambos espectros se le denomina el desplazamiento de Stokes.

Tanto para las nuevas técnicas de tratamiento contra el cáncer o para nuevos dispositivos OLED, nos interesan compuestos que puedan dar transiciones en el ultravioleta-visible o en el infrarrojo cercano. Los sistemas típicos que dan este tipo de transiciones son sistemas con enlaces π (sistemas orgánicos con enlaces π o sistemas aromáticos) y metales de transición (los orbitales d suelen estar incompletos y puede haber transiciones entre ellos).

Como se puede observar en la Figura 9, las transiciones pueden ser intraligando (orbitales π del ligando), transiciones de transferencia de carga entre el metal y el ligando, de la que podemos destacar dos tipos, ligando \rightarrow metal (reductivas MLCT) o metal \rightarrow ligando (oxidativas, LMCT) y por último, transiciones d-d entre orbitales d del metal.

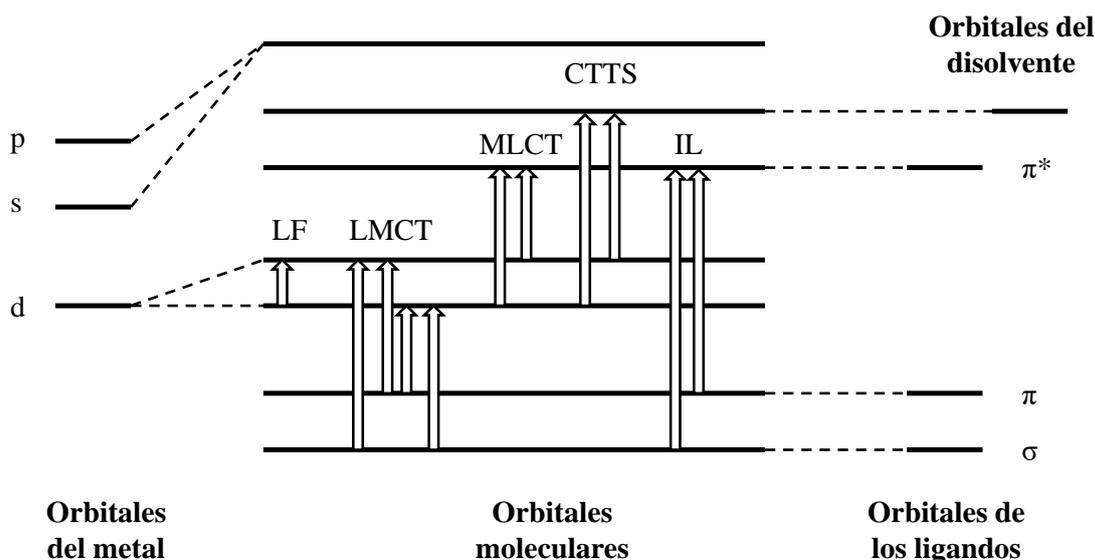


Figura 9. Diagrama de orbitales moleculares para un complejo de coordinación con geometría octaédrica con sus posibles transiciones electrónicas.

La luminiscencia para complejos de Au(I) sería algo raro de ver, ya que tiene la capa d completa con 10 electrones, pero debido a los efectos relativistas, como se ha comentado anteriormente, los orbitales 6s y 6p del oro están estabilizados, mientras que los orbitales 5d quedan desestabilizados. Esto hace que los complejos de oro(I) con la capa 5d¹⁰ cerrada (close-shell) tengan una tendencia a interactuar con otros elementos o con otros átomos de oro (aurofilia). Esto, junto con el gran acoplamiento spin-orbita que tiene el oro debido a su pesado centro metálico, hace que la luminiscencia de este metal sea única.⁵⁷ Este acoplamiento spin-órbita produce una mezcla parcial entre estados excitados singletes y tripletes, produciendo un rápido cruce entre sistemas seguida por fosforescencia, a veces con altos rendimientos cuánticos.⁵⁸ Entre estos nuevos complejos con estas características se pueden destacar los alquínulos de oro⁵⁹ o los Carbenos N-heterocíclicos (NHC).⁶⁰ En el espectro UV de absorción para complejos con alquínulos se observa una banda centrada en el ligando que correspondería con una transición π - π^* y a veces transferencias de carga MLCT o LMCT de menor energía. El espectro de emisión,

⁵⁷ C. Corti, R. Holliday, Ed., *Gold science and applications*; CRC Press Boca Raton, **2010**, pp: 69

⁵⁸ A. Gutierrez-Blanco, V. Fernández-Moreira, M. C. Gimeno, E. Peris, M. Poyatos, *Organometallic*, **2018**, *37*, 1795.

⁵⁹ J. C.Lima, L. Rodriguez, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 5442.

⁶⁰ R. Visbal, M. C. Gimeno, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, *43*, 3551.

por lo general, también se debe a transiciones centradas en el ligando con una pequeña contribución de MLCT.⁶¹

Compuestos de alquinos coordinados a oro(I) también muestran propiedades luminiscentes. El grupo alquino interactúa con centros de metales de transición debido al solapamiento $p\pi-d\pi$.

Otros grupos unidos a oro que presentan propiedades luminiscentes son las fosfinas, Dori y colaboradores estudiaron las propiedades luminiscente del $[\text{AuCl}(\text{PPh}_3)]$ en 1970.⁶² En 1989 Che⁶³ y Fackler⁶⁴ estudiaron las propiedades fotofísicas del complejo dinuclear $[\text{Au}_2(\text{dppm})_2]^{2+}$ (bis(difenilfosfino)metano), descubriendo que la absorción y la emisión de energía están directamente relacionadas con las interacciones aurofílicas de los centros metálicos. Yam y colaboradores estudiaron la luminiscencia de los compuestos $[\text{Au}_2(\text{dmpm})_2]^{2+}$ (bis(dimetilfosfino)metano), $[\text{Au}_2(\text{dmpm})_3]^{2+}$ y con sus análogos trinucleares $[\text{Au}_3(\text{dmmp})_2]^{3+}$ (bis(dimetilfosfinometil)metilfosfina), $[\text{Au}_3(\text{dmmp})_3]^{3+}$, para comparar el efecto de las interacciones Au-Au, la geometría y la coordinación de los compuestos de fosfina con Au(I) respecto de su luminiscencia y propiedades fotofísicas.^{65,66}

En comparación con otros metales d^8 como el Pt(II), el Au(III) no presenta una luminiscencia muy marcada debido a la presencia del estado no emisivo de baja energía d-d y a la alta electrofilicidad del átomo de Au(III). Pero la introducción de ligandos fuertemente σ -dadores mejoran la luminiscencia de los complejos debido al aumento de energía del estado no emisivo y decrece la electrofilicidad del centro metálico de Au(III).⁶⁷

I.2.4. Catálisis de Oro

Un catalizador es una sustancia que aumenta la velocidad de reacción, disminuyendo su energía de activación. El catalizador interviene en el mecanismo de la reacción, pero sin

⁶¹ K. T. Chan, G. S. M. Tong, W. P. To, C. Yang, L. L. Du, D. L. Phillips, C. M. Che, *Chem. Sci.*, **2017**, 8, 2352.

⁶² R. F. Ziolo, S. Lipton, Z. Dori, *J. Chem. Soc. Chem. Commun*, **1970**, 1124.

⁶³ C. M. Che, H. L. Kwong, V. W. W. Yam, K. C. Cho, *J. Chem. Soc., Chem. Commun*, **1989**, 885.

⁶⁴ C. King, J. C. Wang, M. N. I. Khan, J. P. Fackler Jr., *Inorg Chem.*, **1989**, 28, 2145.

⁶⁵ V. W. W. Yam, T. F. Lai, C. M. Che, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1990**, 3747.

⁶⁶ V. W. W. Yam, W. K. Lee, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1993**, 2097.

⁶⁷ C. Corti, R. Holliday, Ed., *Gold science and applications*; CRC Press Boca Raton, **2010**, pp: 81

llegar a consumirse. Dependiendo del catalizador se pueden distinguir varios tipos de catálisis; homogénea, si tanto el catalizador y los reactivos están en la misma fase, (en disolución, en fase gas) o heterogénea, si el catalizador está en distinta fase que los reactivos. Cuando el catalizador es un compuesto orgánico, se hablaría de organocatálisis. Los organocatalizadores son moléculas orgánicas pequeñas, que generalmente actúan como ácidos o bases de Lewis. Normalmente tienen menos actividad que los metales, pero se cree que son menos tóxicos, y no precisan de una recuperación al final de la reacción; Finalmente cabría citar la catálisis enzimática donde el catalizador es una enzima. Este tipo de catálisis está presente en numerosas reacciones químicas dentro del organismo.

Los metales de transición han sido muy utilizados como catalizadores sobre todo en procesos industriales, como por ejemplo en el proceso Haber-Bosch, que consiste en la producción de amoníaco a partir de nitrógeno e hidrógeno en fase gas, utilizando un catalizador de hierro(III) y óxidos de potasio (K_2O) y aluminio (Al_2O_3). Otro proceso muy importante, donde se utilizan catalizadores de metales de transición, sería en la síntesis de ácido nítrico a partir de amoníaco. En este caso, se utilizan catalizadores de platino con una pequeña cantidad de paladio o rodio. También está en auge la síntesis de compuestos a partir de gases de efecto invernadero como el CO_2 y CO , donde los catalizadores de metales de transición cobran un papel muy importante. Uno de ellos es la formación de ácido acético a partir de CO y metanol con un catalizador de Ir $[Ir(CO)_2I_2]^-$ (proceso cativa).

La catálisis del oro no era algo muy común por considerar que este metal tenía menos potencial que otros metales preciosos como rodio, iridio o platino. Pero poco a poco se fueron descubriendo las múltiples aplicaciones para la catálisis de diversas reacciones.

La capacidad catalítica tanto del Au(III) como del Au(I) radica en la posibilidad de activar alquenos, alquinos o arenos mediante la formación de π -complejos como intermedios de reacción favoreciendo un posterior ataque nucleofílico. Algunos ejemplos serían la oxidación de CO a baja temperatura⁶⁸ o reacciones de hidroclicación de etino.⁶⁹ Además,

⁶⁸ M. Haruta, T. Kobayashi, H. Sano, N. Yamada, *Chem. Lett.*, **1987**, 16, 405.

⁶⁹ G. J. Hutchings, *J. Catal.*, **1985**, 96, 292.

se han hecho reacciones en disolventes como agua o diferentes alcoholes, debido a la insensibilidad del oro en estas condiciones.^{70,71}

La π -coordinación de alquenos, alquinos o arenos en metales de transición tiene un gran auge en la química organometálica. En estas reacciones hay una donación de densidad electrónica a un orbital d del metal a través del orbital π del alqueno (orbital enlazante) y la posterior retrodonación del metal de un orbital d lleno al orbital antienlazante π^* del alqueno, haciendo que la distancia C-C sea más larga de lo normal y, por consiguiente, el enlace sea más débil, favoreciendo un posterior ataque nucleófilico.⁷²

Respecto al Au(III), se sabe que es un buen catalizador para la adición de nucleófilos en alquinos, tanto intramolecularmente^{73,74,75} como intermolecularmente.⁷⁶ El Au(I) también tiene propiedades catalíticas para numerosas reacciones químicas como en la hidratación de alquinos,⁷⁷ en la formación de enlaces C-C como la hidroarilación⁷⁸ o la formación de enlaces carbono-heteroátomo.⁷⁹

La alta acidez del catión de Au(I) como ácido de Lewis (debido a su alta electronegatividad) unido a su capacidad para estabilizar intermedios catiónicos, hacen al oro un catalizador único.⁸⁰

Para los complejos de Au(I) utilizados como catalizadores, la influencia de los ligandos es muy relevante a la hora de ser más selectivos respecto a la reacción que se va a catalizar. Se han hecho muchos estudios con compuestos de Au(I)-fosfina dando excelentes resultados, pero aun así la elección de la fosfina es crucial para conseguir una catálisis más eficiente. Un ejemplo son los compuestos de Au(I)-fosfina con fosfinas del tipo Buchwald, que son más eficientes para la catálisis de hidroaminación intramolecular de alenos,⁸¹ mientras que complejos de N-Carbena-heterocíclicos (NHC) de Au(I) presentan mejores actividades en la catálisis de indenos.⁸²

⁷⁰ X. Yao, C. Li, *J. Org. Lett.*, **2006**, 8, 1953.

⁷¹ A. Arcadi, G. Bianchi, S. Di Giuseppe, F. Marinelli, *Green Chem.*, **2003**, 5, 64.

⁷² D. Michael, P. Mingos, *J. Organomet. Chem.*, **2001**, 635, 1.

⁷³ N. Asao, K. Takahashi, S. Lee, T. Kasahara, Y. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 12650.

⁷⁴ A. S. K. Hashmi, T. M. Frost, J. W. Bats, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 11553.

⁷⁵ A. S. K. Hashmi, L. Schwarz, J.-H. Choi, T. M. Frost, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 2285.

⁷⁶ Y. Fukuda, K. Utimoto, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 3729.

⁷⁷ J. H. Teles, S. Brode, M. Chabanas, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, 1415.

⁷⁸ C. Ferrer, A. M. Echavarren, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 1105.

⁷⁹ A. Sylvain, G. Emilie, M. Véronique, G. Jean-Pierre, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 9976.

⁸⁰ D. Gorin, D. Toste, *Nature*, **2007**, 446, 395.

⁸¹ Z. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 9066.

⁸² N. Marion, S. Díez-González, P. de Frémont, A. R. Noble, S. P. Nolan, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 3647.

1.2.5. Oro en Medicina

La utilización de compuestos químicos para el tratamiento del cáncer, también llamada quimioterapia, surgió en los años cuarenta con el empleo del gas mostaza como tratamiento antitumoral. Durante la segunda guerra mundial se utilizó ácido, demostrando que se podía tratar con agentes farmacológicos, pero tuvo su auge a partir de la utilización de compuestos organometálicos, primero el cisplatino y, más adelante, con otros metales de transición con la posibilidad de introducir nuevos ligandos que pudieran dar mejores actividades, mejorar la solubilidad en el medio, que fuesen más selectivos frente a diferentes dianas biológicas y que pudiesen reducir esos efectos secundarios.

Como se ha comentado anteriormente, la presencia de metales en el campo de la medicina se incrementó tras el descubrimiento en 1964 de la actividad antitumoral del complejo *cis*-diclorodiaminaplatino(II), también conocido como cisplatino. Su descubrimiento fue por casualidad cuando el biólogo Barnett Rosenberg estudió el efecto de aplicar un campo eléctrico a las células para observar su comportamiento durante la división celular, y para ello se utilizaron dos electrodos de platino. El resultado fue la inhibición de la división celular, originando un crecimiento en forma de filamentos de las células de *E. coli*.⁸³ Se descubrió que este efecto no tenía nada que ver con la presencia del campo eléctrico, si no con la presencia de platino en el medio, ya que no ocurría con otro tipo de electrodos.⁸⁴ No obstante, el cisplatino ya había sido sintetizado por Peryone en 1845, pero fue tras el descubrimiento de Rosenberg cuando se pensó que podría ser utilizado como compuesto antitumoral. En 1969, se demostró por primera vez la cura de un tumor sólido de sarcoma-180 en ratones. El mecanismo consistiría en la introducción del complejo a la célula por distintos mecanismos hasta llegar al núcleo, allí la concentración de cloro es menor que en el citoplasma provocando la hidrólisis de los cloruros por grupos hidroxilos (OH) de las moléculas de agua del medio.⁸⁵ Primero atacaría una molécula de agua, seguidamente de la segunda, formando así la especie diaquo con dos cargas positivas que es la especie activa $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH})_2]^{2+}$ y que interacciona con los grupos fosfatos de las cadenas de ADN, acercándolo a las bases nitrogenadas de ésta y provocando la formación de un enlace covalente con la consiguiente inhibición de la replicación y transcripción de la hebra de ADN. Normalmente, el ataque es a través del nitrógeno 7 de la guanina, que

⁸³ B. Rosenberg, L. Vancamp, T. Krigas, *Nature*, **1965**, 205, 698.

⁸⁴ B. Rosenberg, L. VanCamp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature*, **1969**, 222, 385.

⁸⁵ N. Graf, S. J. Lippard, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2012**; 64(11): 993.

actúa como nucleófilo, eliminando una molécula de agua del complejo de platino. Así, se ha llegado a utilizar como un fármaco muy eficaz contra el cáncer testicular, de ovarios, vejiga, cuello y cáncer de pulmón. El cisplatino por otro lado, presentaba efectos secundarios, como nefrotoxicidad (toxicidad en los riñones), neurotoxicidad (afectación de los nervios periféricos que componen el sistema nervioso), ototoxicidad (toxicidad en los oídos), mielosupresión (disminución de la actividad de la médula ósea)⁸⁶ y también puede presentar resistencia durante el tratamiento.⁸⁷ Se pueden destacar diferentes compuestos con platino que también presentan citotoxicidad: carboplatino, oxaliplatino, nedaplatino, lobaplatino y heptaplatino (Figura 10).⁸⁸

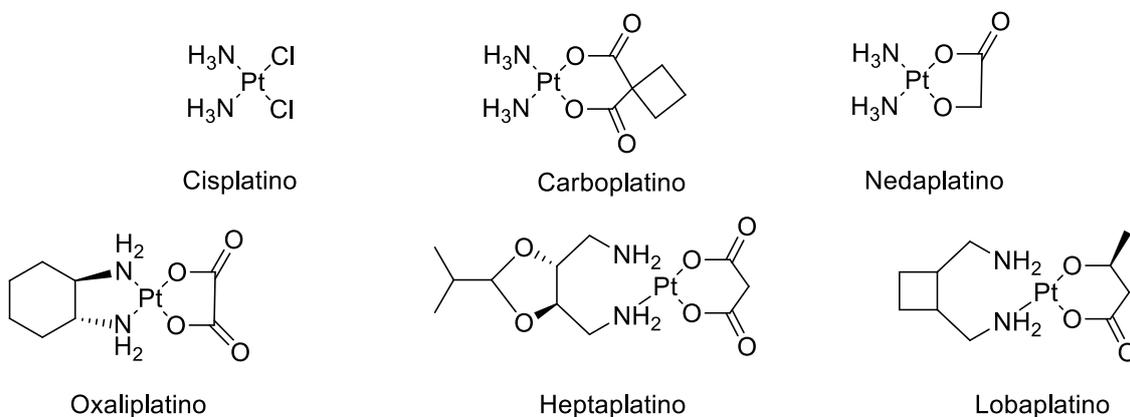


Figura 10. Complejos de platino con actividad citotóxica.

También se desarrollaron complejos de paladio(II), que mejoraban la solubilidad respecto a sus análogos de platino. Una característica de estos complejos *cis* de paladio es la tendencia a transformarse espontáneamente a su derivado *trans*, haciendo al complejo inactivo (los compuestos de platino en *cis* muestran una actividad mucho mayor que los *trans*). Además, son más propensos a intercambiar los ligandos que tienen coordinados haciéndolos más reactivos dentro del suero sanguíneo, imposibilitando la llegada a una posible diana biológica. La solución fue la utilización de ligandos como tiocarbamatos o heterociclos de bases nitrogenadas (piridinas, quinolinas) y se han descrito compuestos con actividad citotóxica contra varios tipos de cáncer como leucemia, cáncer de mama, de pulmón, cerebral, cuello, ovarios y próstata.

⁸⁶ Guía práctica de Preparación y Administración de medicamentos para tratamientos Quimioterápicos. Disponible en: <http://fichastecnicas.seo.org/pages/fichas/?s=&page=3>

⁸⁷ S. Rodríguez-Lombardero. Caracterización funcional de SKY1 y su papel en la resistencia de las levaduras a cisplatino. Tesis doctoral. Universidad de Ourense; 2001

⁸⁸ S. Medici, M. Peana, V. M. Nurchi, J. I. Lachowicz, G. Crisponi, M. A. Zoroddu, *Coord. Chem. Rev.*, **2015**, 284, 329.

Se investigaron diferentes complejos de rutenio como fármacos contra el cáncer. En general, presentaban la desventaja de ser complejos muy insolubles hasta que se logró la síntesis del derivado de rutenio, $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]^+$ que, aunque era menos activo que el cisplatino, lograba tener menos efectos secundarios.

Los compuestos de Ru(III) mostraron ser más estables en el suero sanguíneo y permanecen intactos hasta llegar a su diana biológica donde interaccionan, reduciéndose a Ru(II). Se sabe que uno de los mecanismos de acción de los complejos de rutenio es el intercambio por átomos de hierro en diferentes proteínas, como transferrina o albúmina. La unión a la transferrina es importante en la selectividad de compuestos anticancerígenos, sobre todo en aquellos tumores sólidos de tejidos donde las células crecen muy rápido, provocando una vascularización insuficiente, creando un estado de hipoxia y bajo pH. La transferrina modificada con el complejo de rutenio podría atacar al tumor de manera selectiva.⁸⁹ Hasta el momento hay tres complejos de rutenio que han sido seleccionados en ensayos clínicos, dos complejos de rutenio (III) como (NAMI-A), (KP1019) y uno de rutenio (II), (RAPTA-C) (Figura 11).

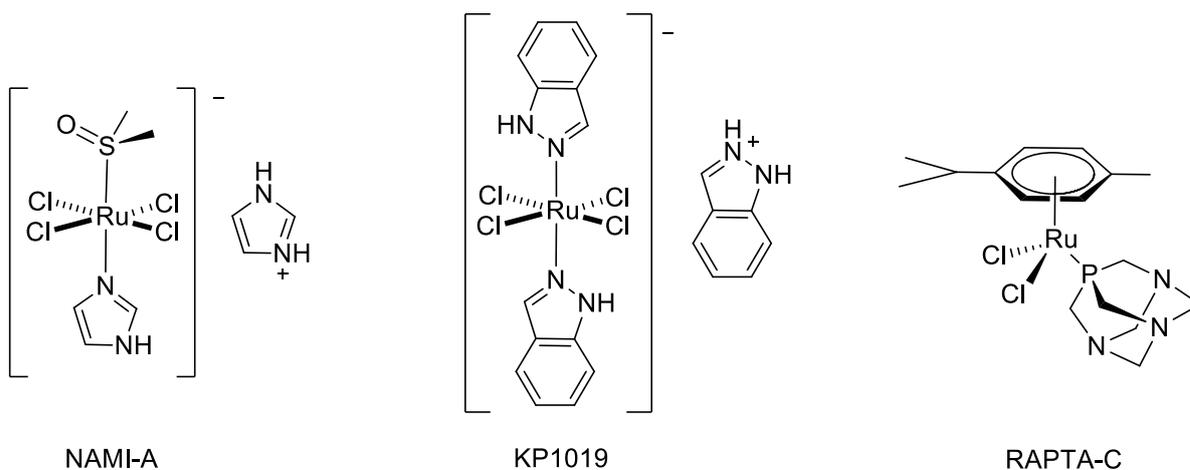


Figura 11. Complejos con rutenio con actividad citotóxica.

La investigación en complejos de rodio para el tratamiento del cáncer empezó en 1970 cuando se demostró la actividad de complejos dinucleares de rodio(II) con ligandos puente, del tipo $[\text{Rh}_2(\text{RCOO})_4(\text{disolvente})_2]$. Se encontró que era eficaz sobre un tipo de cáncer específico como el carcinoma de ascitis y leucemia P388, pero su actividad era menor que la del cisplatino y tenía efectos secundarios adversos. Más adelante compuestos de Rh(II) con citrato mostraron ser eficaces contra el cáncer de mama en

⁸⁹ A. Bergamo, C. Gaiddon, J. H. Schellens, J. H. Beijnen, G. Sava, *J. Inorg. Biochem.*, **2012**, *106*, 90.

ratones.⁹⁰ Por otro lado, se están empezando a estudiar compuestos con iridio, debido a sus aplicaciones biomédicas, como imagen celular, medicamentos quimioterapéuticos o tinción de proteínas.⁹¹

Otros metales que se han ido utilizando en el tratamiento contra el cáncer, han sido complejos de osmio(II) con arenos que mostraron una citotoxicidad similar al cisplatino.⁹² Finalmente, compuestos de renio(I) con ligandos fosfinas y bipyridinas⁹³ también han dado actividad anticancerígena. Además, estos complejos presentan la capacidad de ser luminiscentes⁹⁴ o son activos después de ser irradiados a una longitud de onda determinada,⁹⁵ lo que permite ver dónde se pueden acumular o cuál es su mecanismo de acción. Estos estudios parecen demostrar que su diana biológica son las mitocondrias⁹⁶ y el ADN.⁹⁷

Los metales del grupo 11 han sido utilizados en el tratamiento de diferentes enfermedades por sus propiedades citotóxicas y antibacterianas. Desde la antigüedad se han utilizado complejos de plata para el tratamiento de quemaduras, heridas crónicas o úlceras.⁹⁸

En 1874 Billroth estudió el efecto bactericida de la plata, demostrando que una solución de nitrato de plata prevenía el crecimiento de la bacteria *Stafilococos aureus*. El ginecólogo alemán Carl Siegmund Franz Credé, usó también disoluciones de nitrato de plata para el tratamiento de la oftalmia (inflamación de los ojos) en niños pequeños, siendo éste efectivo ya que la enfermedad era provocada por una bacteria gram⁺.

Las propiedades de la plata como antiinflamatorio han sido reconocidas para heridas provocadas por quemaduras y la US Food and Drug Administration (FDA) aprobó el uso

⁹⁰ M. L. Carneiro, R. C. Peixoto, G. A. Joanitti, R. G. Oliveira, L. A. Telles, A. L. Miranda-Vilela, A. L. Bocca, L. M. Vianna, I. C. da Silva, A. R. de Souza, Z. G. Lacava, S. N. Bao, *J. Nanobiotechnology*, **2013**, *11*, 4.

⁹¹ K. M. Davis, A. L. Bitting, D. W. Wright, *Anal. Biochem.*, **2014**, *445*, 60.

⁹² S. H. van Rijt, A. F. A. Peacock, R. D. L. Johnstone, S. Parsons, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.*, **2009**, *48*, 1753.

⁹³ G. Gasser, I. Ott, N. Metzler-Nolte, *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 3.

⁹⁴ A. W. Choi, M. W. Louie, S. P. Li, H. W. Liu, B. T. Chan, T. C. Lam, A. C. Lin, S. H. Cheng, K. K. Lo, *Inorg. Chem.*, **2012**, *51*, 13289.

⁹⁵ A. Kastl, S. Dieckmann, K. Wahler, T. Volker, L. Kastl, A. L. Merkel, A. Vultur, B. Shannan, K. Harms, M. Ocker, W. J. Parak, M. Herlyn, E. Meggers, *ChemMed-Chem.*, **2013**, *8*, 924.

⁹⁶ C. Moura, F. Mendes, L. Gano, I. Santos, A. Paulo, *J. Inorg. Biochem.*, **2013**, *123*, 34.

⁹⁷ E. Ferri, D. Donghi, M. Panigati, G. Prencipe, L. D'Alfonso, I. Zanoni, C. Baldoli, S. Maiorana, G. D'Alfonso, E. Licandro, *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 6255.

⁹⁸ H. J. Klasen, *Burns*, **2000**, *26*, 117.

del medicamento de plata(I), llamado sulfadiazina, contra las lesiones de quemaduras, por su potente acción antibacteriana.⁹⁹

Se pueden diferenciar tres mecanismos de acción de los iones de plata(I) dentro del organismo, uno sería por la interacción con la membrana celular, debido a una desestabilización provocando la pérdida de iones K^+ y una disminución de los niveles de ATP. También pueden interactuar con diferentes moléculas dentro de la célula, como ácidos nucleicos o enzimas, especialmente si contienen grupos tiol (SH).¹⁰⁰ El tercer mecanismo sería la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), mediante la inhibición de las proteínas presentes en la cadena transportadora de electrones, como el citocromo b, causando un incremento de las ROS y provocando la muerte de la bacteria.¹⁰¹ Compuestos de plata con ligandos tipo $[Ag_2(sac)_2(\mu-dppm)H_2O] \cdot H_2O$, han mostrado una gran actividad antibacteriana contra especies como *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. Aureus* (*Staphylococcus aureus*) y *S. Typhimurium* (*Salmonella typhimurium*), mejorando su actividad respecto de otros medicamentos como ciprofloxacina y gentamicina.¹⁰² Además, estos compuestos mostraron tener una actividad anticancerígena con unos valores similares a los del cisplatino, en cáncer de pulmón y de mama.¹⁰² Otro ejemplo fueron los compuestos quelato de plata(I) con ácido tartárico que exhiben unas propiedades anticancerígenas muy reseñables contra tumores hematopoyéticos. Éstos mostraron una actividad semejante a la del cisplatino en dos líneas celulares, Jurkat y T-47D. Para este compuesto se demostró que la muerte celular era por apoptosis y que era adecuado para determinados tipos de cáncer, especialmente las neoplasias solidas que resultan de las células epiteliales y mesenquimáticas. Esto es debido a la particularidad del complejo de plata que gracias a sus ligandos es soluble en medios acuosos y lipídicos.¹⁰³

Los bioelementos son aquellos elementos químicos que forman parte de los seres vivos. Dependiendo de su abundancia se pueden clasificar en bioelementos primarios, secundarios u oligoelementos, que representan el 0.5% y engloban a 14 elementos, siendo uno de ellos el cobre. Se han sintetizado complejos con este metal para diferentes

⁹⁹ L. Kyros, N. Kourkoumelis, M. Kubicki, L. Male, M. B. Hursthouse, I. I. Verginadis, E. Gouma, S. Karkabounas, K. Charalabopoulos, S. K. Hadjikakou, *Bioinorg. Chem. Appl.*, **2010**, 2010.

¹⁰⁰ Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of biochemistry. 5th Ed. New York: Worth; 2009.

¹⁰¹ A. Kedziorea, M. Speruda, E. Krzyzewska, J. Rybka, A. Lukowiak, G. Bugla-Ploskonska, *Int.J. Mol. Sci.*, **2018**, 19, 444.

¹⁰² V. T. Yilmaz, E. Gocmen, C. Iysel, M. Cengiz, S. Y. Susluer, O. Buyukgungor, *J.Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **2014**, 131, 31.

¹⁰³ K. I. Batarseh, *Curr. Med. Chem.*, **2013**, 20, 2363.

tratamientos, como malaria, Alzheimer, diabetes, Parkinson, enfermedades cardiovasculares y se ha descubierto actividad antifúngica y antibacteriana.⁹⁰ Aunque no hay un mecanismo de acción determinado del cobre como agente anticancerígeno, parece que se centra en la formación de ROS a través de la reducción de Cu(II) en Cu(I).¹⁰⁴ Otro mecanismo que puede ser plausible es el de anclar el compuesto en el ADN, sobre todo en complejos con polipiridinas y polifenoles¹⁰⁵ en cánceres de mama y osteosarcoma. Se conocen complejos de cobre con tiosemicarbazonas con buena actividad contra el cáncer de hígado¹⁰⁶ y en algunas líneas de cáncer de colon.¹⁰⁷ Complejos polinucleares de cobre han mostrado una gran actividad en cánceres de hígado y pulmón mediante la unión o intercalación con ADN.¹⁰⁸

El uso del oro en medicina se remonta a hace 2500 años a.C. en la civilización China.¹⁰⁹ Más adelante, los egipcios atribuía al oro la cura de todo tipo de enfermedades físicas, mentales y espirituales. Además, lo utilizaban como lo que se denominaría ahora un puente dental, ya que se han visto hilos de oro en dentaduras de algunos faraones. En la antigua Roma Pliny “the Elder” escribió en su obra “Natural History” las virtudes del oro en medicina para tratar diferentes heridas y fístulas, además de la preparación de oro en miel para el tratamiento de verrugas. La civilización árabe atribuía al oro un carácter terapéutico contra diferentes enfermedades. En la Edad Media la preparación de “oro potable” (disoluciones coloidales de oro) ocupó la atención de los alquimistas asegurando que era algo beneficioso para la salud y que conseguía conservar al cuerpo eternamente joven. Más adelante, en 1540, Antoine Lecoq recomendó el uso de productos basados en oro para el tratamiento contra la sífilis. En 1663, Christopher Glaser proporcionó un método para tratar la fiebre a través de terapia con oro y, en 1773, Frederic Hoffman recomendó el uso de oro para el tratamiento de la fiebre reumática, que era una inflamación causada por bacterias estreptococos del grupo A.¹¹⁰ En el siglo XIX, el uso del oro se derivó a la aplicación contra enfermedades neurológicas o psiquiátricas, como la depresión o la epilepsia, y para el tratamiento de la migraña. Cabe destacar a Keeley y

¹⁰⁴ C. R. Kowol, P. Heffeter, W. Miklos, L. Gille, R. Trondl, L. Cappellacci, W. Berger, B. K. Keppler, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2012**, *17*, 409.

¹⁰⁵ Z. Li, X. Yang, S. Dong, X. Li, *Oncol. Lett.*, **2012**, *3*, 1087.

¹⁰⁶ B. M. Paterson, P. S. Donnelly, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 3005.

¹⁰⁷ F.A. Beckford, J. Thessing, A. Stott, A. A. Holder, O. G. Poluektov, L. Li, N. P. Seeram, *Inorg. Chem. Commun.*, **2012**, *15*, 225.

¹⁰⁸ X. W. Li, X. J. Li, Y. T. Li, Z. Y. Wu, C. W. Yan, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **2013**, *118*, 22.

¹⁰⁹ W. F. Kean, I. R. L. Kean, *Inflammopharmacology*, **2008**, *16*, 107.

¹¹⁰ G. Faa, C. Gerosa, D. Fanni, J.I. Lachowicz, V.M. Nurchi, *Curr. Med. Chem.*, **2018**, *25*, 75.

sus investigaciones del uso del oro contra el alcoholismo.¹¹¹ Pero no fue hasta 1890, cuando el microbiólogo, Robert Koch, utilizó el compuesto dicianuro de oro $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ contra el bacilo causante de la tuberculosis, pensando que era el mismo que provocaba la artritis reumatoide. A partir de entonces, se desarrollaron compuestos de oro(I) para su utilización contra diferentes enfermedades, como la mencionada tuberculosis, la endocarditis bacteriana y otros problemas médicos relacionados con infecciones bacterianas. Sin embargo, la observación más importante fue comprobar que estas sales de oro aliviaban el dolor de las articulaciones en pacientes con artritis reumatoide (se consideraba una enfermedad causada por bacterias). Estos progresos fueron publicados por Jacques Forestier, pero debido a la segunda guerra mundial no fueron presentados hasta 1945, donde se estableció el uso de sales de oro para esta enfermedad. La artritis reumatoide es una enfermedad crónica autoinmune que causa la inflamación y erosión progresiva de las articulaciones y, como se ha dicho, se utilizaron derivados de oro para su tratamiento, tanto el medicamento sanocrisina,¹¹² como más adelante miocrisina.

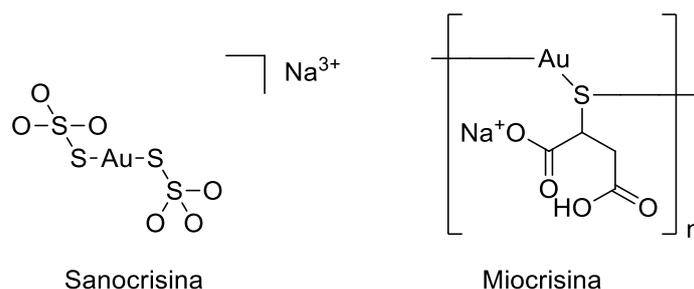


Figura.12. Complejos de oro para el tratamiento de la artritis reumatoide.

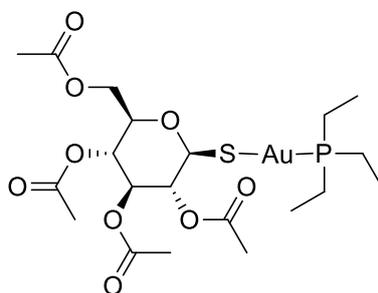
Fue entonces cuando se llevó a cabo una mayor investigación con compuestos de oro para el tratamiento de distintas enfermedades, nombre que se acuña como crisoterapia que viene de la palabra griega *Khrysós*, que significa oro y *théraps* que significa servir o cuidar. En la actualidad se sabe que el oro tiene una alta afinidad con átomos de azufre, que están presentes en determinadas enzimas como la tioredoxina reductasa, glutatióna reductasa o la cisteína. Este tipo de enzimas se expresa en las células cancerígenas, por lo que se puede pensar en el oro como una posibilidad para formar drogas con selectividad hacia estas células.¹¹³

¹¹¹ D. G. Richards, D. L. McMillin, E. A. Mein, C. D. Nelson, *Inter. J. Neurosci.*, **2002**, 112(1), 31.

¹¹² O. Cuevas, R. Castro, J. Sánchez, H. López-Sandoval, N. Barba-Behrens, *Educ. Quím.*, **2012**, 23(1), 33.

¹¹³ M. Mora, R. Visbal, M. C. Gimeno, *Chem. Soc. Rev.*, **2019**, 48, 447.

La síntesis de tiolatos de oro(I) llegó a su máximo tras la síntesis del Auranofin (Figura 13), un complejo que se introdujo en el año 1985 en la práctica clínica y que es el único compuesto de oro que se utiliza contra la artritis reumatoide.¹¹⁴



Auranofin

Figura.13. Estructura del Auranofin.

El mecanismo de acción del Auranofin consiste en la inhibición de la enzima tiorredoxina reductasa (TrXR), la cual juega un papel muy importante en muchos procesos celulares, como por ejemplo en mantener los niveles de especies reductoras de oxígeno (ROS) en el interior de las células. Controlando el nivel de ROS se previene el daño al ADN, el cual es crítico para la supervivencia de todo tipo de células, incluyendo células cancerígenas, parásitos infecciosos o células de memoria T que albergan el ADN proviral del VIH.¹¹⁵ Estas células sobreexpresan estas enzimas redox, haciendo que aumente la afinidad del Auranofin hacia ellas.¹¹⁶ Al inhibir estas enzimas incrementa la producción de peróxido de hidrógeno y ROS, que causa el estrés oxidativo de la célula y posterior muerte celular por apoptosis.¹¹⁷ Otro mecanismo de acción conlleva la inhibición del sistema ubiquitina-proteasa (UPS), ya que este sistema está más expresado en células de algunos cánceres como leucemia, colon y próstata,^{118,119} respecto a células sanas. El sistema UPS está relacionado con procesos como regulación del ciclo celular, la degradación de proteínas, la reparación del ADN. Se cree que el Auranofin es capaz de inhibir al sistema gracias a

¹¹⁴ S. Medici, M. Peana, V. M. Nurchi, J. I. Lachowicz, G. Crisponi, M. A. Zoroddu, *Coor. Chem. Rev.*, **2015**, 284, 329.

¹¹⁵ C. Roder, M. J. Thomson, *Drugs R. D.*, **2015**, 15(1), 13.

¹¹⁶ W. Fiskus, N. Saba, M. Shen, M. Ghias, J. Liu, S. D. Gupta, L. Chauhan, R. Rao, S. Gunewardena, K. Schorno, C. P. Austin, K. Maddocks, J. Byrd, A. Melnick, P. Huang, A. Wiestner, K. N. Bhalla, *Cancer Res.*, **2014**, 74, 2520

¹¹⁷ C. Marzano, V. Gandin, A. Folda, G. Scutari, A. Bindoli, M. P. Rigobello, *Free. Radic. Biol. Med.*, **2007**, 42, 872.

¹¹⁸ X. Chen, X. Shi, C. Zhao, X. Li, X. Lan, S. Liu, H. Huang, N. Liu, S. Liao, D. Zang, W. Song, Q. Liu, B. Z. Carter, Q. P. Dou, X. Wang, J. Liu, *Oncotarget.*, **2014**, 5, 9118.

¹¹⁹ N. Liu, X. Li, H. Huang, C. Zhao, S. Liao, C. Yang, S. Liu, W. Song, X. Lu, X. Lan, X. Chen, S. Yi, L. Xu, L. Jiang, C. Zhao, X. Dong, P. Zhou, S. Li, S. Wang, X. Shi, P. Q. Dou, X. Wang, J. Liu, *Oncotarget.*, **2014**, 5, 5453.

su enlace Au-S, induciendo apoptosis.¹¹⁵ Esto hizo que se comenzara a investigar compuestos de oro en el tratamiento contra el cáncer. Se pueden destacar varios grupos de complejos de Au(I) con tendencia a tener actividad anticancerígena, como son los complejos con ligandos fosfinas o con ligandos NHC.

Después de la irrupción del Auranofin se empezaron a sintetizar compuestos de Au(I) con ligandos fosfinas, bis(fosfinas), tiolatos o fosfinas con halógenos, u otros derivados tiolatos.

Muchos de estos complejos de Au(I) que contienen enlaces tipo P-Au-N mostrando una gran actividad antimicrobiana selectiva contra bacterias Gram-positivas (*Bacillus subtilis* y *Staphilococcus aureus*), frente a la nula actividad que presentan contra bacterias Gram-negativas, como por ejemplo *Escherichia Coli*.¹²⁰

El principal problema de estos compuestos con fosfinas fue la solubilidad en suero sanguíneo, pero se mejoró al introducir ligandos trifluorometilo, nitro o cloruro.¹²¹ Otro método consistiría en hacer la fosfina un grupo más polar, logrando así una mayor solubilidad. Compuestos con grupos sulfonato 1,3,5-triaza-7-fosfadamantano (TPA) unidos a tiolatos dieron buena actividad frente a cáncer de ovarios (A2780/S) y a su cepa resistente al cisplatino (A2780/R).¹²² También se ha comprobado el carácter anticancerígeno de complejos de oro(I) con difosfinas como $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$, que provocan la rotura de las cadenas de ADN¹²³ y se obtuvieron muy buenos resultados *in vitro*. Estos compuestos catiónicos fueron solubles y capaces de traspasar la membrana lipídica de las células, pero no llegaron a fase clínica debido a su toxicidad.¹²⁴ Se demostró que la actividad de estos compuestos difosfina era debida a los sustituyentes del fósforo (más alto para grupos fenilos, que metilos) y a la longitud de la cadena de átomos de carbono que conectan los fósforos, observando la necesidad de tener en cuenta las propiedades electrónicas y estéricas¹²⁵ de los ligandos coordinados. En la actualidad, el compuesto de oro con fosfinas $[\text{Au}(\text{P}(\text{CH}_2\text{OH})_3)_4]\text{Cl}$, (Figura 14) ha sido propuesto para ensayos

¹²⁰ N. Kenji, Y. Satoshi, N. Ryusuke, Y. Hironari, K. N. Chikaraishi, O. Kei, K. Chieko, *J. Inorg. Biochem.*, **2003**, *95*, 208.

¹²¹ R. Galassi, A. Burini, S. Ricci, M. Pellei, M. P. Rigobello, A. Citta, A. Dolmella, V. Gandin, C. Marzano, *Dalton Trans.*, **2012**, *41*, 5307.

¹²² E. Vergara, E. Cerrada, C. Clavel, A. Casini, M. Laguna, *Dalton Trans.*, **2011**, *40*, 10927.

¹²³ S. J. Berners-Price, C. K. Mirabelli, R. K. Johnson, M. R. Mattern, F. L. McCabe, L. F. Faucette, C. M. Sung, S. M. Mong, P. J. Sadler, S. T. Crooke, *Cancer Res.*, **1986**, *46*, 5486.

¹²⁴ A. S. Humphreys, A. Filipovska, S. J. Berners-Price, G. A. Koutsantonis, B. W. Skelton, A. H. White, *Dalton Trans.*, **2007**, *43*, 4943.

¹²⁵ U. E. Horvath, L. Dobrzanska, C. E. Strasser, W. B. N. Potgieter, G. Joone, C. E. van Rensburg, S. Cronje, H. G. Raubenheimer, *J. Inorg. Biochem.*, **2012**, *111*, 80.

clínicos en fase I, para el tratamiento de cáncer de colon, próstata y gastrointestinal debido a sus buenos resultados *in vivo* en ratones.¹²⁶

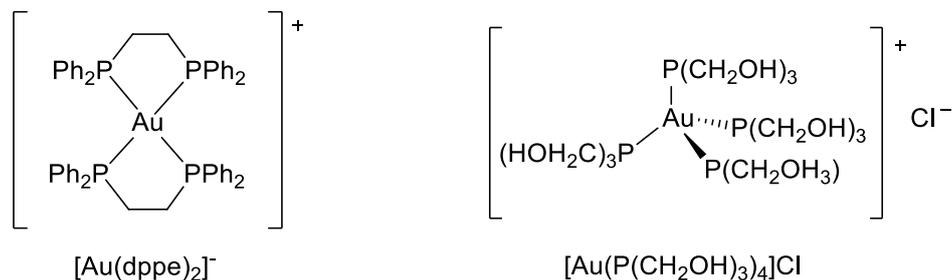


Figura 14. Complejos de Au(I) en fase clínica.

Por otro lado, como sustitutos de las fosfinas se empezaron a sintetizar compuestos de oro(I) con ligandos NHC,¹¹³ los cuales también demostraron tener características anticancerígenas. Estos compuestos presentan propiedades más σ -dadores que las fosfinas, haciendo que el enlace sea más fuerte y evitando su disgregación en el medio. Además, la lipofilia de los diferentes compuestos es importante cuando se quiere que los orgánulos celulares sean la diana biológica, ya que tienen que ser capaces de traspasar la membrana celular. Los ligandos NHC son capaces de sintetizarse con diferentes grupos funcionales para conseguir diferentes propiedades (Figura 15).

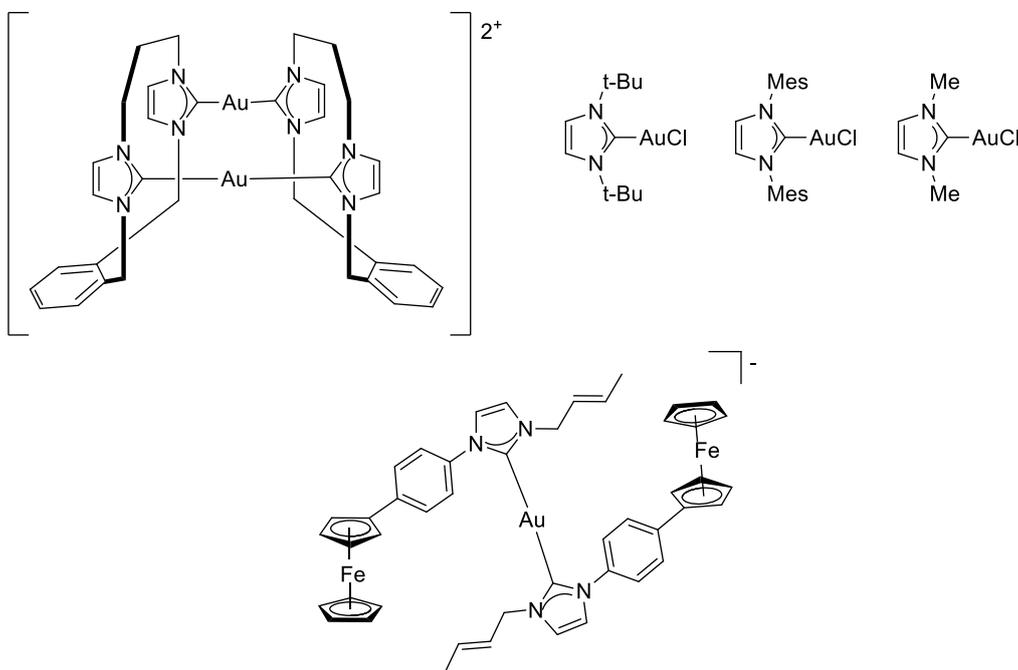


Figura 15. Complejos de Au(I) con ligandos NHC con actividad anticancerígena.

¹²⁶ P. J. Barnard, M. V. Baker, S. J. Berners-Price, D. A. Day, *J. Inorg. Biochem.*, **2004**, 98, 1642.

Los compuestos de Au(III) deberían ser una buena alternativa al cisplatino debido a que sus complejos son isoelectrónicos (d^8) e isoestructurales con Pt(II) (cisplatino) y pueden formar complejos tetracoordinados con una estructura plano cuadrada, por lo que podría interactuar con el ADN. Estos compuestos mostraban algunos de los efectos negativos que mostraba el cisplatino, como su alta toxicidad y baja selectividad frente a células no cancerígenas, su limitada biodisponibilidad o su baja estabilidad. No obstante, se diseñaron complejos de oro(III) con diferentes ligandos que contuvieran grupos nitrógeno dadores¹²⁷ o derivados ditiocarbamatos con péptidos¹²⁸ o compuestos ortometalados, mejorando su estabilidad.

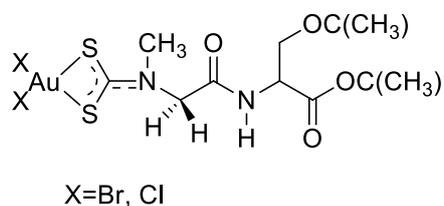


Figura 16. Derivado ditiocarbamato con péptidos.

Estos compuestos de oro(III) tienen como dianas biológicas las mitocondrias y los proteasomas. La presentación de su patente proporcionó un punto de partida para su introducción en ensayos clínicos de fase I.¹²⁹

Como curiosidad cabe comentar que el isótopo de oro 198 se ha utilizado en radioterapia debido a que tienen un tiempo de media vida de 2.7 días. Se utilizaba para ver tumores en la parte del hígado y pulmón.¹³⁰ También se utiliza en la industria como reflector para calentadores infrarrojo y hornos, así como para retención y enfoque de calor en estos procesos, y en el estudio del movimiento de sedimentos sobre el fondo oceánico

I.3. Procesos Biológicos

Convendría explicar brevemente los procesos que ocurren en el interior de las células, para poder entender mejor los posibles mecanismos del oro. Algunos mecanismos de acción son la inhibición de la enzima tioredoxina reductasa o la unión a hebras de ADN.

¹²⁷ S. Medici, M. Peana, V. M. Nurchi, J. I. Lachowicz, G. Crisponi, M. A. Zoroddu, *Coor. Chem. Rev.*, **2015**, 284, 329.

¹²⁸ M. N. Kouodom, G. Boscutti, M. Celegato, M. Crisma, S. Sitran, D. Aldinucci, F. Formaggio, L. Ronconi, D. Fregona, *J. Inorg. Biochem.*, **2012**, 117, 248.

¹²⁹ G. Faa, C. Gerosa, D. Fanni, J. I. Lachowicz, V. M. Nurchi, *Curr. Med. Chem.*, **2018**, 25(1), 75.

¹³⁰ P. Peichev, A. Maistorski, *Folia Medica (Plovdiv)*, **1974**, 16, 303.

Las enzimas tiorredoxinas juegan un papel importante en los procesos de eliminación de ROS; estas especies reactivas de oxígeno se forman en la propia respiración aeróbica de las células, donde el oxígeno es reducido a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y al radical $*O_2^-$. Ambas especies son perjudiciales para la célula ya que pueden producir roturas en la doble hélice del ADN, modificaciones en las bases nitrogenadas del ADN o pueden modificar las cadenas laterales de los aminoácidos de las proteínas. Esto es a lo que se denomina estrés oxidativo.

Por su parte, el ADN es una doble hélice que está formada por nucleótidos que a su vez está formado por una base nitrogenada, un grupo fosfato y un glúcido (desoxirribosa). Las bases nitrogenadas son cuatro, adenina, guanina, timina y citosina. Las dos hebras de ADN están unidas a través de puentes de hidrógeno entre las bases citosina → guanina y adenina → timina. El ADN es el encargado de almacenar la información, para cuando la célula quiera reproducirse.

Los complejos organometálicos pueden interaccionar bien con las bases nitrogenadas del ADN, produciendo la rotura de ésta o impidiendo la transcripción en el momento de la mitosis. Por otro lado, también pueden interaccionar con enzimas o proteínas como la tiorredoxina u otras como seroalbúmina metalotioneínas, o la glutatióna peroxidasa.

La seroalbúmina o albúmina sérica es una de las proteínas más importante presente en la sangre. Concentraciones bajas de esta sustancia en el organismo pueden conllevar a malnutrición, inflamación y enfermedades graves del hígado y del riñón. Ésta presenta numerosos enlaces disulfuros debido a los aminoácidos cisteína que posee.

Las metalotioneínas (MTs) constituyen una familia de metaloproteínas ricas en cisteína, generalmente de bajo peso molecular (entre 6000 y 10000 Da) y se encuentran en el aparato de Golgi de las células (en el caso de vertebrados). Las MTs tienen la capacidad de unirse a metales pesados como zinc y cobre a través de grupos tiol (-SH) de sus residuos de cisteína. El papel de estas proteínas en el organismo es la de proteger a las células del estrés oxidativo.

La enzima glutatión peroxidasa (GPX), o glutatióna peroxidasa, cataliza la reacción de oxidación de glutatión a glutatión disulfuro utilizando para ello peróxido de hidrógeno. Esta enzima usa como cofactor el selenio.

El oro presenta una afinidad muy alta con el azufre, átomo presente en mucha de las proteínas mencionadas, por lo tanto, complejos de este metal podrían inhibir a estas

proteínas. En el caso de la GPX el compuesto aurotioglucosa compite con el selenio que es el centro activo de la enzima para evitar que esta enzima funcione correctamente, inhibiendo que pueda llevar a cabo el proceso de eliminación de ROS del medio y produciendo la muerte celular. Un modo de acción similar ocurriría con la enzima tiorredoxina reductasa, que es una de las pocas enzimas que también contienen un grupo selenocisteína en su estructura.

A medida que se conocían las diferentes propiedades del oro y se estudiaban los mecanismos de acción por los que puede actuar, se implementó la posibilidad de utilizar diferentes derivados para el tratamiento de otras enfermedades como, por ejemplo, malaria o VIH. El medicamento Cloroquina, activo contra la bacteria *Plasmodium falciparum* causante de malaria en humanos y su derivado de oro $[(\text{Cloroquina})\text{Au}(\text{PPh}_3)]^+$ presentan actividad contra este tipo de bacteria y *Plasmodium berghei* (casusa malaria en roedores) tanto *in vivo*, como *in vitro* (Figura 17).¹³¹

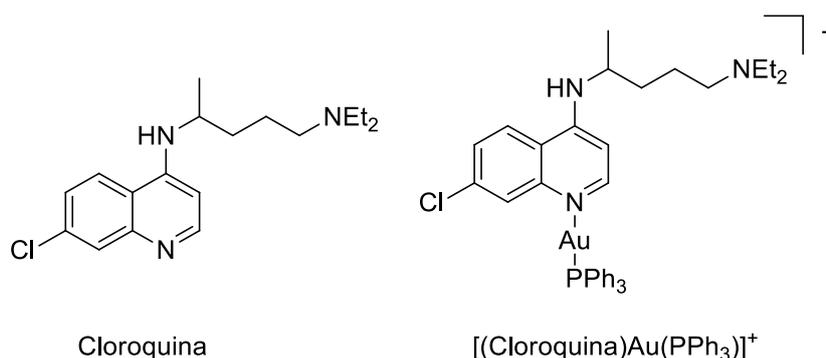


Figura 17. Medicamentos con oro.

Respecto al VIH, se sabe que pacientes con esta enfermedad sufren un descenso de linfocitos T CD4+, que tienen un papel muy importante en establecer y maximizar la capacidad de defensa del sistema inmunitario.¹³² El uso del Auranofin mostró un aumento de este tipo de linfocitos, dando pie a la introducción del oro para combatir esta enfermedad. Compuestos dicianato de oro(I) $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ inhiben la proliferación del VIH a bajas concentraciones.¹³³

¹³¹ M. Navarro, H. Pérez, R. A. Sánchez-Delgado, *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 1937.

¹³² D. L. Shapiro, J. R. Masci, *J. Rheumatol.*, **1996**, *23*, 1818.

¹³³ K. Tepperman, Y. Shinyu, P. W. Roy, *Metal-Based Drugs*, **1994**, *1*, 433.

I.4. Del laboratorio a la Farmacia

El proceso de selección de un compuesto desde que se sintetiza hasta que llega a fase clínica puede durar entre 10 y 15 años. Lo primero de ello es tener una síntesis eficaz para que el compuesto que se ha diseñado pueda actuar en la diana biológica que se espera. Para ello, hay que aislar aquellos compuestos que cumplan su cometido y purificarlos. Los métodos y equipos envueltos en este paso dependen de la estructura, estabilidad y cantidad del compuesto necesitado. Para seleccionar aquellas moléculas más eficientes se utiliza el cribado de alto rendimiento (HTS), donde se prueban miles de compuestos químicos contra objetivos específicos y se ha convertido en un método estándar que ayuda a identificar los efectos de los futuros medicamentos en las vías biológicas. La selectividad de ellos es ensayada en pruebas *in vitro* e *in vivo*.¹³⁴ Una vez obtenidos los compuestos más prometedores, se lleva a cabo una serie de pruebas de seguridad (ADME) para saber cómo el medicamento es absorbido, distribuido, metabolizado y excretado. Esto da información acerca de qué le pasa al cuerpo cuando ha adquirido el medicamento.¹³⁵ Los compuestos seleccionados no deben ser tóxicos en el organismo y deben poder ser absorbidos por los vasos sanguíneos, permitiendo así su unión con su correspondiente diana biológica, donde se metaboliza. Finalmente, deben poder ser excretados del cuerpo correctamente.¹³⁶

Para que un compuesto llegue a ser aceptado como un nuevo medicamento y poder ser utilizado en ensayos clínicos, el producto tiene que ser aprobado por dos organismos, IRB (Institutional Review Board) y FDA (Food and Drug Administration). El primero revisa los planes para los ensayos clínicos, es decir, cómo se realizarán, qué instituciones, investigadores y doctores lo llevarán a cabo y comprobarán que los pacientes estén informados correctamente. El segundo se encarga de revisar que los ensayos clínicos sean seguros.¹³⁶ Si las pruebas en el laboratorio y en animales son favorables se pasa a una serie de ensayos con humanos de manera voluntaria, debido a que puede ser que los compuestos sean válidos para animales, pero no para humanos. Este ensayo clínico se divide en varias fases:

¹³⁴ M. Lahlou, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2014**, *4*, 17.

¹³⁵ P. J. Eddershaw, A. P. Beresford, M. K. Bayliss. ADME/PK as part of a rational approach to drug discovery. *Drug Discov Today*, **2000**, *5*, 409.

¹³⁶ Drug Discovery and Development: Understanding the R&D Process. Innovation.org. [http://www.innovation.org/drug_discovery/objects/pdf/RD_Brochure.pdf]

- Fase 0: Se elimina el compuesto si se considera inefectivo, se utiliza la microdosificación, es decir, dar pequeñas cantidades de compuesto a los pacientes y ver sus efectos. No todos los compuestos pasan por fase 0. Aquellos que lo superen continuarán en Fase 1.
- Fase 1: Se valora si el compuesto es saludable para los humanos. En este ensayo participan entre 20 y 100 sujetos voluntarios y/o pacientes y dura entre 6 meses y un año. Se estudian los efectos farmacocinéticos (ADME, efectos secundarios, efectos deseados, dosis saludables).
- Fase 2: Está diseñada para determinar la efectividad del medicamento candidato en un grupo de pacientes más grande (100-500 personas) que tienen la enfermedad que se va a tratar.
- Fase 3: Aquí se determina la seguridad, eficacia y ventajas contra desventajas del medicamento en un grupo mucho más grande (1000-5000 personas) y dura entre 3 y 6 años. Se valoran los riesgos, posibles interacciones con otros medicamentos, y se compara con los tratamientos disponibles para esa enfermedad. Se trata de estudios terapéuticos de confirmación. Los compuestos que superan esta fase pasan a poder ser aceptados como nuevos medicamentos.

Una vez aprobado el fármaco, se llevan a cabo los ensayos de fase 4 (Figura 18), que se realizan después de comercializarse. Ahora la diversidad de pacientes es mucho mayor, y hay que seguir observando que el fármaco sigue sin presentar efectos secundarios. Si hubiera alguna incidencia se incluiría en la información en el prospecto o podría conllevar a su retirada del mercado.¹³⁷

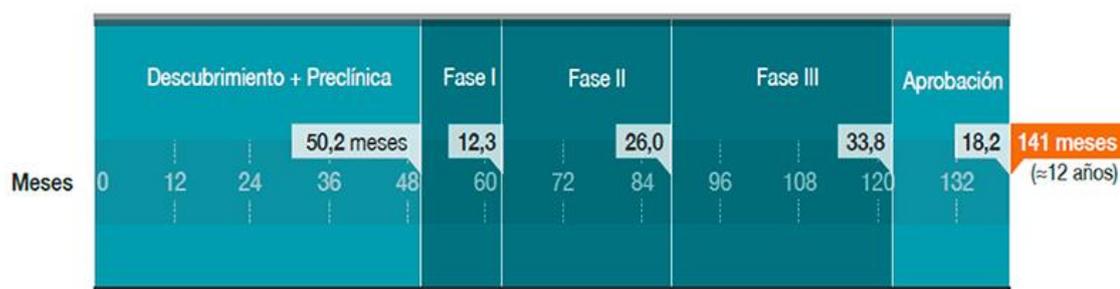


Figura 18. Tiempo que transcurre desde la síntesis de un compuesto hasta que llega como medicamento al mercado.¹³⁷

¹³⁷ <https://www.msdsalud.es/recursos-salud/guias-para-pacientes/proceso-investigacion-desarrollo-aprobacion-farmaco.html>

Capítulo 1:

ESTUDIO DE REACCIONES DE
CICLACIÓN EN (TIO)UREAS PARA LA
FORMACIÓN DE HETEROCICLOS

CAPÍTULO 1

1.1. Introducción	41
1.2. Objetivos	48
1.3. Síntesis de Derivados Tiazolidina y Tiourea-Tiazolidina	49
1.4. Estudio de la Coordinación a Metales	58
1.5. Actividad Biológica de los Complejos Tiourea-Tiazolidina	64
1.6. Estudios de la Reacción con Dipropargilamina	68
1.7. Estudio de Reacciones de Ciclación con Catalizadores de Oro	71
1.8. Conclusiones	85
1.9. Experimental	86
1.9.1. Starting Materials	86
1.9.2. Instrumentation	86
1.9.2.1. Mass Spectrometry	86
1.9.2.2. NMR Spectroscopy	86
1.9.2.3. Crystallography	86
1.9.3. Cytotoxicity Studies	87
1.9.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay	87
1.9.5. Synthesis	89

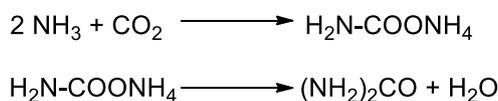
1.1. Introducción

La urea fue el segundo compuesto orgánico que se sintetizó artificialmente a partir de materiales inorgánicos (el primero fue el oxalato de amonio). Se conocía la formación de urea en el interior de los seres vivos, pero no fue hasta 1828 cuando el químico alemán Friedrich Wöhler la logró aislar a través de la reacción mostrada en el siguiente esquema:¹



Esquema 1.1. Síntesis de la urea.

La urea se utiliza mucho en la industria y es una de las tres fuentes de nitrógeno utilizadas en la agricultura junto con los nitratos y el amonio. Actualmente, se sintetiza a partir del proceso de Bosch-Meiser a partir de CO_2 y NH_3 y consta de dos etapas en equilibrio. La primera es una reacción exotérmica ($\Delta H = -117 \text{ kJ/mol}$) en la que se forma la especie intermedia carbamato de amonio ($\text{H}_2\text{N-COONH}_4$) que se descompone en una reacción endotérmica ($\Delta H = +15,5 \text{ kJ/mol}$) a urea,¹ tal y como se ve en el siguiente esquema.



Esquema 1.2. Proceso Bosch-Meiser.

Su uso como fertilizante se debe a la descomposición en el ión amonio (NH_4^+) que es fácilmente asimilable por las plantas. Esta reacción de la urea es catalizada por la enzima ureasa, que es producida por bacterias, hongos y varias plantas superiores.

A escala preparativa en el laboratorio, la síntesis de ureas se puede clasificar en tres procedimientos principales en función de la fuente del carbono que va a dar lugar al grupo carbonilo. La adición de isocianatos con aminas primarias y secundarias es un método excelente para la formación de ureas. Otro método es la reacción de aminas con fosgenos u otros análogos más seguros y menos tóxicos. El tercer tipo serían las reacciones de interacción de aminas con óxidos de carbono.²

¹ J. Meessen, *Chem. Ing. Tech.*, **2014**, 86, 2180.

² A. V. Smolobochkin, A. S. Gazizov, A. R. Burilov, M. A. Pudovik, *Russ. Chem. Bull. Int. Ed.*, **2019**, 68, 662.

La gran mayoría de la síntesis de ureas es a través de isocianatos con aminas.^{3,4} Las reacciones se hacen a temperatura ambiente y en disolventes apróticos con muy buenos rendimientos. (Esquema 1.3)



Esquema 1.3. Síntesis de urea con isocianatos.

Los disolventes apróticos son todos aquellos disolventes polares que no tienen enlace hidrógeno-oxígeno o hidrógeno-nitrógeno. Este tipo de disolventes no acepta ni dona protones con los reactivos. Como ejemplos se pueden nombrar la acetona, acetonitrilo, tetrahidrofurano o dimetilformamida.

Otro método es la fosgenación de aminas, pero debido a que el fosgeno es un gas muy tóxico se mejoró la síntesis utilizando derivados como carbonatos, carbamatos, cloruros de carbamoilo o carbonildiimidazoles. (Esquema 1.4)



Esquema 1.4. Síntesis de urea por fosgenación.

Un método muy interesante, que se ha desarrollado en los últimos años, consiste en la carbonilación oxidativa de aminas con ayuda de un catalizador, la fuente de carbono es CO^{5,6,7} o CO₂,^{8,9} como se recoge en la Esquema 1.5 en la que el catalizador es un complejo de oro.¹⁰

³ A. Nefzi, N. A. Ong, R. A. Houghten. *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 5441.

⁴ M. Manickam, H. B. Jalani, T. Pillaiyar, N. Sharma, P. R. Boggu, E. Venkateswararao, Y. J. Lee, E. S. Jeon, S. H. Jung, *Eur. J. Med. Chem.*, **2017**, 134, 379.

⁵ D. J. Díaz, K. G. Hylton, L. McElwee-White, *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 734.

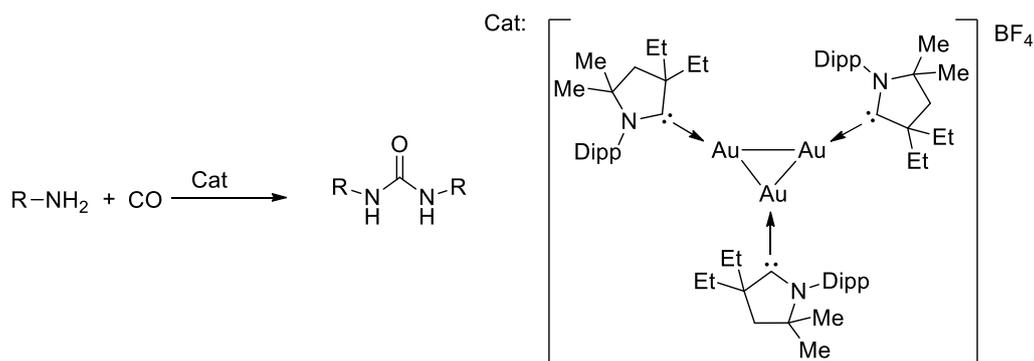
⁶ K. Orito, M. Miyazawa, T. Nakamura, A. Horibata, H. Ushito, H. Nagasaki, M. Yuguchi, S. Yamashita, T. Yamazaki, M. Tokuda, *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 5951.

⁷ J. H. Park, J. C. Yoon, Y. K. Chung, *Adv. Synth. Catal.*, **2009**, 351, 1233.

⁸ S. L. Peterson, S. M. Stucka, C. J. Dinsmore, *Org. Lett.*, **2010**, 12, 1340.

⁹ D. Chaturvedi, N. Mishra, V. Mishra, *Monatsh. Chem.*, **2008**, 139, 267.

¹⁰ L. Jin, D. S. Weinberger, M. Melaimi, C. E. Moore, A. L. Rheingold, G. Bertrand, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 9059.



Esquema 1.5. Síntesis de urea a partir de CO.

El desarrollo de nuevos compuestos con ureas se ha incrementado en los últimos años debido a su alta actividad farmacológica para el tratamiento de diferentes enfermedades, como por ejemplo, hiperparatiroidismo,¹¹ malaria¹² o aterosclerosis.¹³ Algunos ejemplos de estos compuestos se recogen en la Figura 1.1:

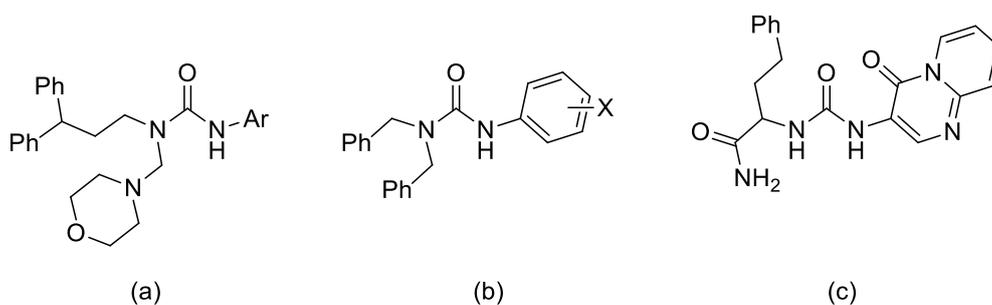


Figura 1.1. Ureas con actividad biológica contra hiperparatiroidismo (a), aterosclerosis (b) y malaria (c).

En la actualidad, los medicamentos tolbutamida y glibencamida son compuestos que contienen urea, más específicamente sulfonilurea, para el tratamiento de la diabetes,¹⁴ (Figura 1.2).

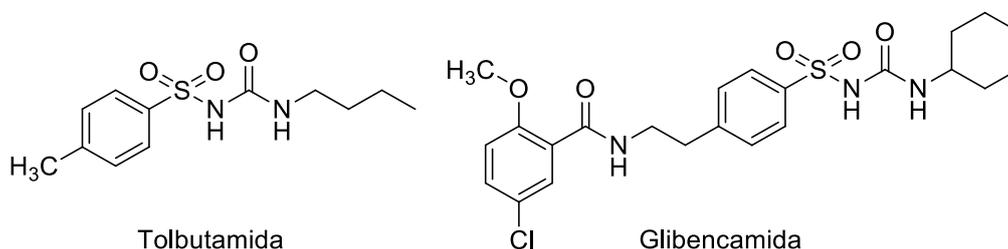


Figura 1.2. Compuestos con ureas para el tratamiento de la diabetes.

¹¹ P. Deprez, T. Temal, H. Jary, M. Auberval, S. Lively, D. Guédin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, 23, 2455.

¹² U. R. Mane, D. Mohanakrishnan, D. Sahal, P. R. Murumkar, R. Giridhar, M. Ram, *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, 79, 422.

¹³ V. G. DeVries, J. D. Bloom, M. D. Dutia, A. S. Katocs, E. E. Largis, *J. Med. Chem.*, **1989**, 32, 2318.

¹⁴ V. Štrukil, *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, 13, 1828.

Además, se ha investigado en el uso de compuestos con ureas para el tratamiento contra el cáncer, debido a la inhibición de ciertas enzimas como la demetilasa específica de lisina,¹⁵ DNA topoisomerasa¹⁶ o la calpaina¹⁷ (Figura 1.3).

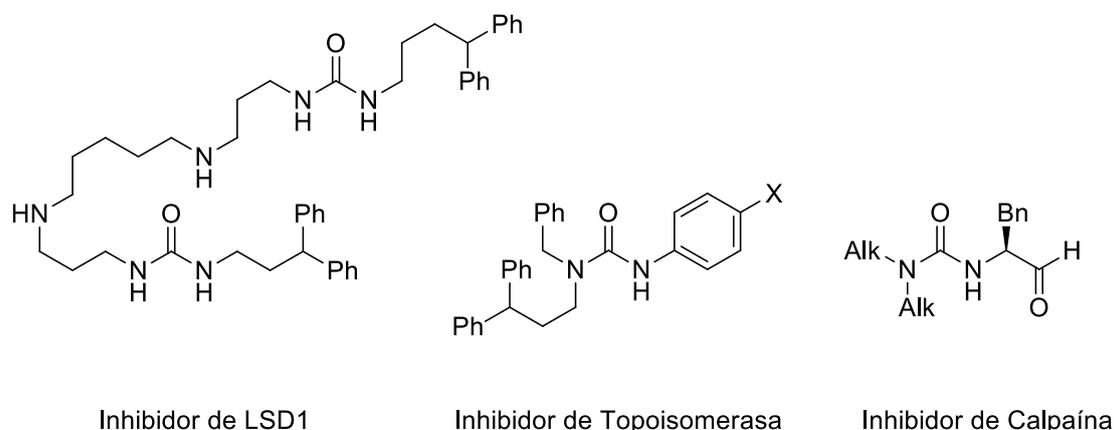
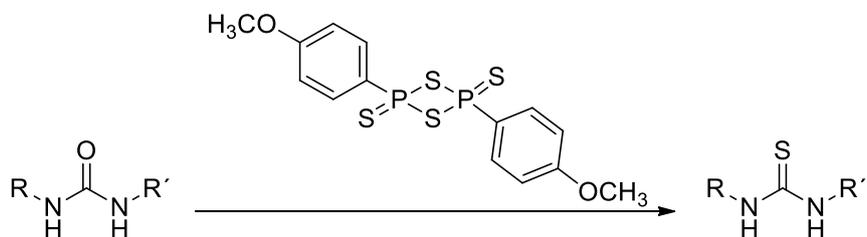


Figura 1.3. Compuestos con ureas para el tratamiento del cáncer.

Las tioureas son compuestos muy similares a los mencionados anteriormente, con la excepción del átomo de oxígeno, que en este caso es un átomo de azufre. La síntesis de estos compuestos se puede hacer de diferentes maneras, se podrían sintetizar los derivados de urea como se ha mencionado anteriormente, seguido de la sustitución del átomo de oxígeno por el de azufre utilizando el reactivo de Lawesson¹⁸ (Esquema 1.6).



Esquema 1.6. Síntesis de tiourea a través del reactivo de Lawesson.

Otras síntesis son muy parecidas a las síntesis de ureas, como reacciones de aminas primarias o secundarias con isotiocianatos¹⁹ (Esquema 1.7).

¹⁵ S. K. Sharma, Y. Wu, N. Steinbergs, M. L. Crowley, A. S. Hanson, R. A. Casero, P. M. Woster, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 5197.

¹⁶ A. Esteves-Souza, K. Pissinate, M. D. G. Nascimento, N. F. Grynberg, A. Echevarria, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 492.

¹⁷ M. L. Sanders, I. O. Donkor, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 1965.

¹⁸ E. Zaorskaa, T. Hutscha, M. Gawryś-Kopczyńska, R. Ostaszewskib, M. Ufnała, D. Koszelewskib, *Bioorg Chem.*, **2019**, *88*, 102941.

¹⁹ U. Boas, H. Gertz, J. B. Christensen, P. M. T. Heegaard, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 269.

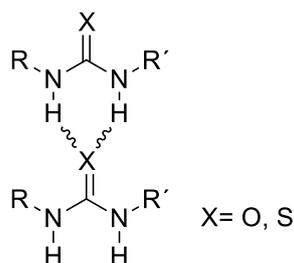


Figura 1.4. Ejemplo de formación de enlaces de hidrógeno entre (tio)ureas.

la cualidad de unirse a otros ligandos urea u otras moléculas mediante enlaces de hidrógeno a través de los grupos N-H, provocó que se comenzaran a investigar estos compuestos como organocatalizadores²⁶ o como sensores de iones.²⁷

Como se ha podido observar estas moléculas orgánicas presentan en algunas ocasiones propiedades biológicas interesantes, de modo que se podrían potenciar mediante su coordinación con los correspondientes metales del grupo 11, debido a que también se conocen los efectos terapéuticos de estos metales. De este modo, se han preparado complejos del tipo bis(tiourea)metal con oro y plata que presentan una gran inhibición de la enzima tiorredoxina reductasa²⁸ (Figura 1.5).

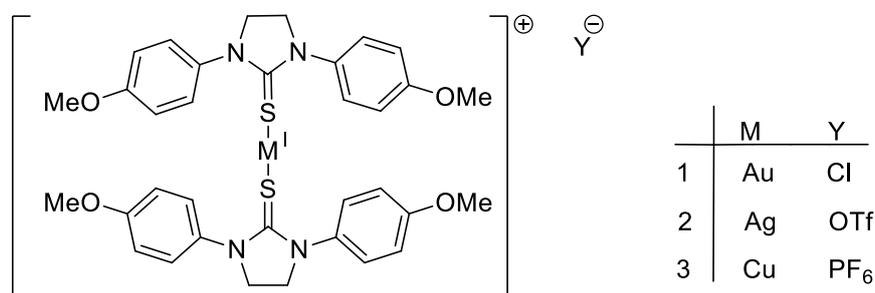


Figura 1.5. Complejos bis(tiourea)metal con actividad anticancerígena²⁸.

La introducción de estos metales también podría dar a estos nuevos complejos propiedades luminiscentes, siendo utilizados como una herramienta para saber el lugar donde se acumula dentro de las células o la posible diana biológica del fármaco. Uno de los métodos para conseguir moléculas luminiscentes es mediante la coordinación de una especie de oro, por ejemplo oro-fosfina, a un acetiluro debido a transferencias de carga ligando \rightarrow metal.²⁹ Otro ejemplo podría ser la coordinación de diferentes cromóforos

²⁶ R. P. Herrera, V. Sgarzani, L. Bernardi, A. Ricci, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2005**, *44*, 6576.

²⁷ C. Caltagirone, P. A. Gale, *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, *38*, 520.

²⁸ K. Yan, C. N. Lok, K. Bierla, C. M. Che, *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 7691.

²⁹ M. C. Blanco, J. Cámara, M. C. Gimeno, P. G. Joner, A. Laguna, J. M. López-de-Luzuriaga, M. E. Olmos, M. D. Villacampa, *Organometallics.*, **2012**, *31*, 2597.

como ligandos acridina, para que una vez que estuvieran coordinados pudieran dar lugar a estas propiedades luminiscentes (Figura 1.6).³⁰

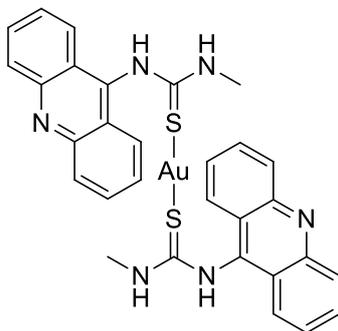


Figura 1.6. Ejemplo de una tiourea con un fragmento cromóforo.³⁰

³⁰ S. A. Pérez, C. de Haro, C. Vicente, A. Donaire, A. Zamora, J. Zajac, H. Kosthunova, V. Brabec, D. Bautista, J. Ruiz, *ACS. Chem. Biol.*, **2017**, *12*, 1524.

1.2. Objetivos

En este capítulo los objetivos planteados se centran en la síntesis de tioureas con diferentes grupos propargilo y en el estudio de las diferentes reacciones de ciclación para dar lugar a compuestos tiazolina. Una parte de estos compuestos tiourea y tiazolina fueron sintetizados en un estudio anterior, correspondiente al trabajo fin de máster del autor, aunque se ha decidido incluirlo aquí para una mejor comprensión de todo el estudio llevado a cabo, ya que la completa caracterización de los mismos también se realizó en este trabajo.

Es importante resaltar que los disolventes utilizados en la síntesis de estos compuestos se engloban dentro de los que se denominan como disolventes “sostenibles” según los doce principios de la química verde.

En el estudio más profundo que se ha llevado a cabo para finalizar la síntesis de tiazolinas y para abordar nuevos retos en la síntesis de heterociclos, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

Preparación y caracterización de derivados tiazolidina.

Síntesis de compuestos oxazolidina y urea en las mismas condiciones de síntesis, o con ligeras modificaciones, de los llevados a cabo para tiazolidinas y tioureas.

Preparación de compuestos mixtos tiazolidina-tiourea en disolventes sostenibles.

Coordinación de diferentes metales a los nuevos compuestos sintetizados, con el fin de comprobar su eficacia como fármacos contra la línea celular de cáncer de pulmón (A549).

Síntesis de tioureas con diferentes aminas que no den lugar de un modo fácil a los compuestos tiazolidina y estudio de las reacciones de ciclación con catalizadores de oro.

1.3. Síntesis de Derivados Tiazolidina y Tiourea-Tiazolidina

Las reacciones de adición de sustituyentes electrófilos y nucleófilos de manera estereoselectiva y regioselectiva para la síntesis de moléculas complejas se puede lograr a través de triples enlaces, debido a que se ha demostrado que los alquinos son grupos funcionales pivotantes muy eficientes. Cuando la reacción es intramolecular se originan derivados heterocíclicos fácilmente. *Lovely* y colaboradores llevaron a cabo una investigación con derivados de propargilamina para la formación de anillos heterocíclicos denominados imino(oxa/tia)zoles, donde el ataque nucleofílico lo realizan diferentes grupos funcionales como guanidinas, ureas y tioureas, debido a que está favorecido por las características de reactividad del alquino.³¹

Varios grupos de investigadores han usado diferentes derivados de propargilaminas para la formación de derivados cíclicos denominados aminotiazolidinas, para ello se hacían reaccionar con diferentes ligandos isotiocianatos para dar una tiociclacion intramolecular causando la hidrosulfonación de las respectivas propargilaminas.

Las tiazolidinas son derivados del tiazol que es un heterociclo de cinco miembros con dos heteroátomos, S y N. Del tiazol se derivan formalmente varios dihidrotiazoles o tiazolinas y un tetrahidrotiazol o tiazolidina. (Figura 1.7).

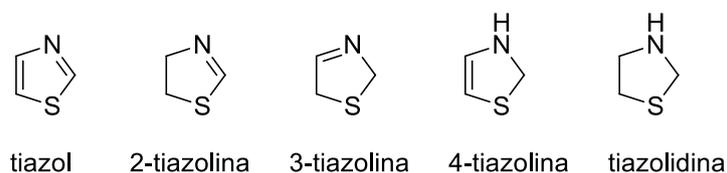


Figura 1.7. Heterociclos derivados del tiazol.

Cuando las 2-tiazolinas poseen grupos amino en la posición 2 dan lugar a la formación de la función enamina, presentando un equilibrio tautomérico entre las formas tiazolina y tiazolidina, es decir la 2-amino-2-tiazolina y 2-iminotiazolidina. (Figura 1.8).

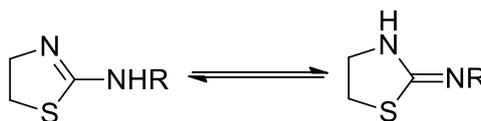
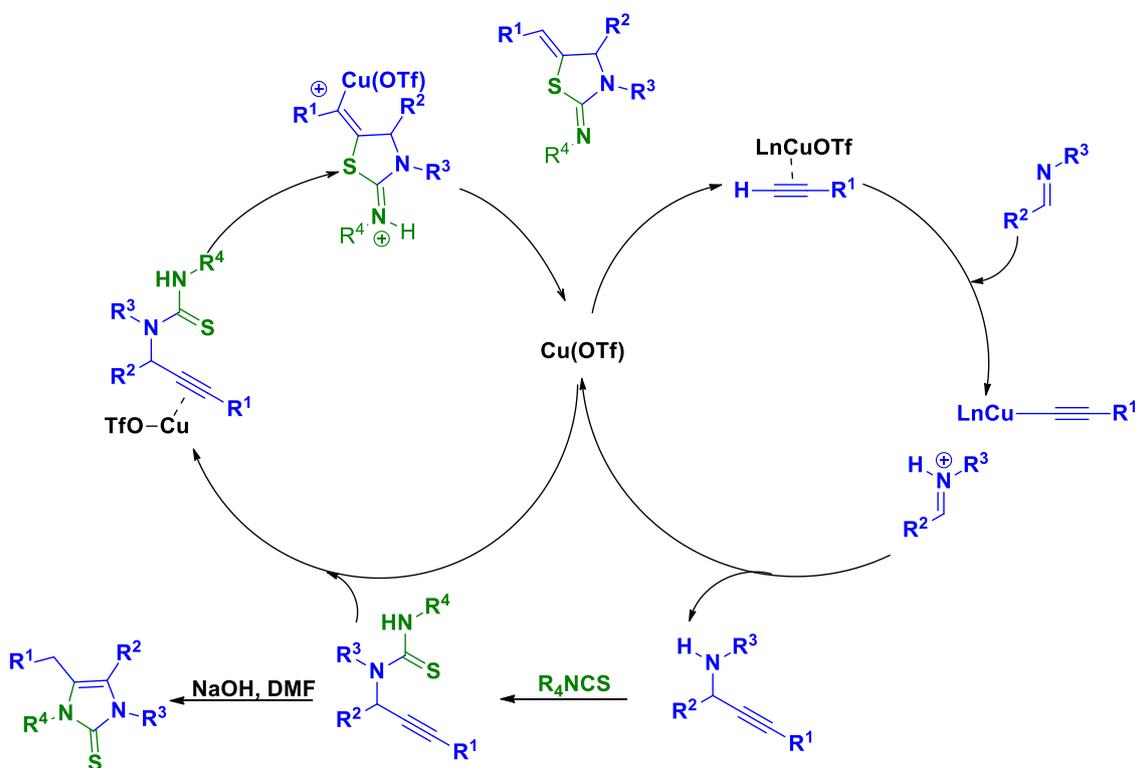


Figura 1.8. Tautomería aminotiazolina-iminotiazolidina.

³¹ R. P. Singh, D. Gout, C. J. Lovely, *Eur. J. Org. Chem.*, **2019**, 1726.

El primer grupo en hacer este tipo de reacciones entre propargilaminas e isotiocianatos fue Easton y colaboradores en 1964³² donde los compuestos formados eran obtenidos después de la reacción mediante una destilación. Posteriormente el grupo de Deryckere (1973)³³ preparó este tipo de derivados utilizando calentamiento a reflujo en las reacciones y, recientemente, Castagnolo (2016)³⁴ los ha sintetizado utilizando microondas y pudiendo diferenciar entre la tiazolina y la tiazolidina, dependiendo de las condiciones de reacción. El grupo de Dethe publicó dos artículos en 2015,³⁵ utilizando un catalizador de CuOTf (10%) para ayudar a la reacción (ver Esquema 1.9) y en 2017³⁶ consiguió formar estos compuestos haciendo reacciones sin disolventes a 30-50°C.



Esquema 1.9. Propuesta de mecanismo de la reacción multicomponente.³⁵

Finalmente el grupo de *Lovely*³¹ y colaboradores también realizó una amplia investigación respecto al método más eficaz de formar estos compuestos.

Tomando como referencia estos estudios anteriores, dentro de nuestro grupo de investigación, se sintetizaron diferentes tiazolidinas. Para la síntesis de estos nuevos compuestos, se han utilizado como agente nucleófilo los siguientes reactivos,

³² N. R. Easton, D. R. Cassady, R. D. Dillard, *J. Org. Chem.*, **1964**, 29, 1851.

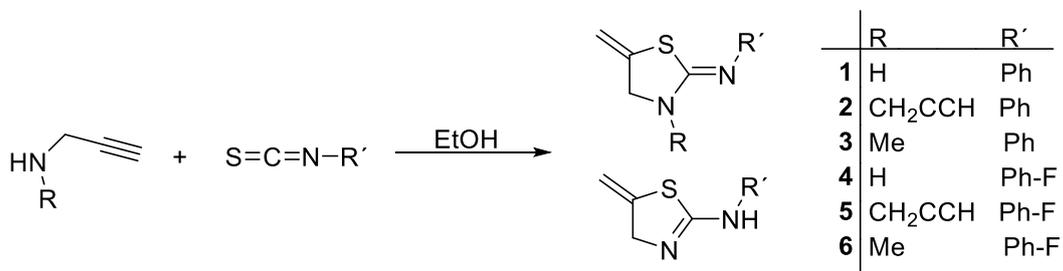
³³ F. Eloy, A. Deryckere, *Chim. Ther.*, **1973**, 4, 437.

³⁴ N. Scalacci, C. Pelloja, M. Radi, D. Castagnolo, *Synlett.*, **2016**, 27, 1883.

³⁵ A. Ranjan, A. Mandal, S. G. Yerande, D. H. Dethe, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 14215.

³⁶ A. Ranjan, A. S. Deore, R. Yerande, D. H. Dethe, *Eur. J. Org. Chem.*, **2017**, 2017, 4131.

propargilamina, dipropargilamina y 1-metilpropargilamina, y como isotiocianatos se utilizaron, fenilisotiocianato y 3-fluorofenilisotiocianato. La reacción se llevó a cabo en condiciones suaves a temperatura ambiente y etanol como disolvente (Figura 1.9), como se muestra en el Esquema 1.10.



Esquema 1.10. Síntesis de nuevas iminotiazolidinas y aminotiazolidinas.

Dependiendo de la propargilamina utilizada, se forman selectivamente las aminotiazolidinas cuando se trata de una amina primaria y las iminotiazolidinas cuando se parte de propargilaminas con una amina secundaria. (Figura 1.9).

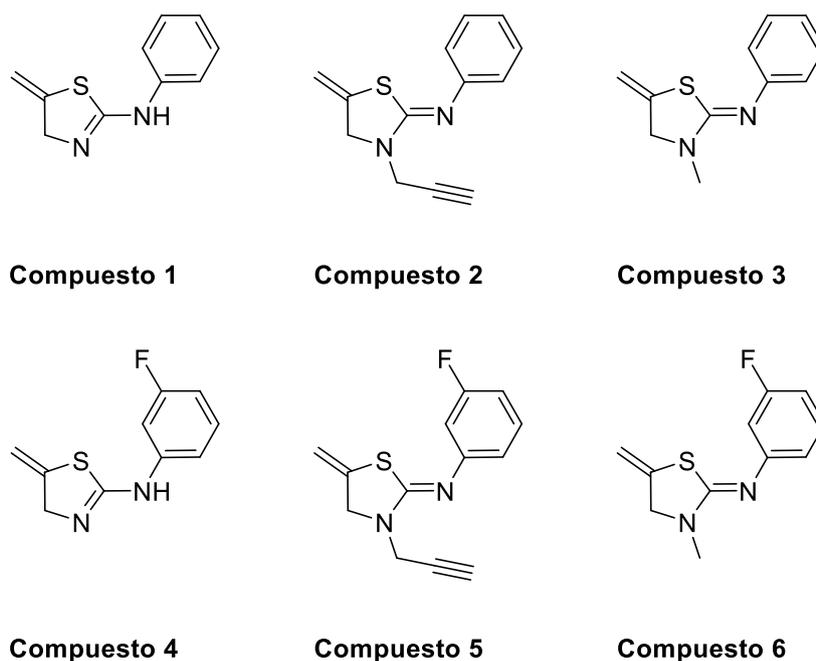


Figura 1.9. Nuevas aminotiazolidinas e iminotiazolidinas.

En la Figura 1.10. se observa el espectro de ¹H RMN del compuesto 1, donde se puede observar el grupo metileno que forma parte del ciclo de 5 miembros en rojo y los dos protones diastereotópicos en azul correspondiente al doble enlace.

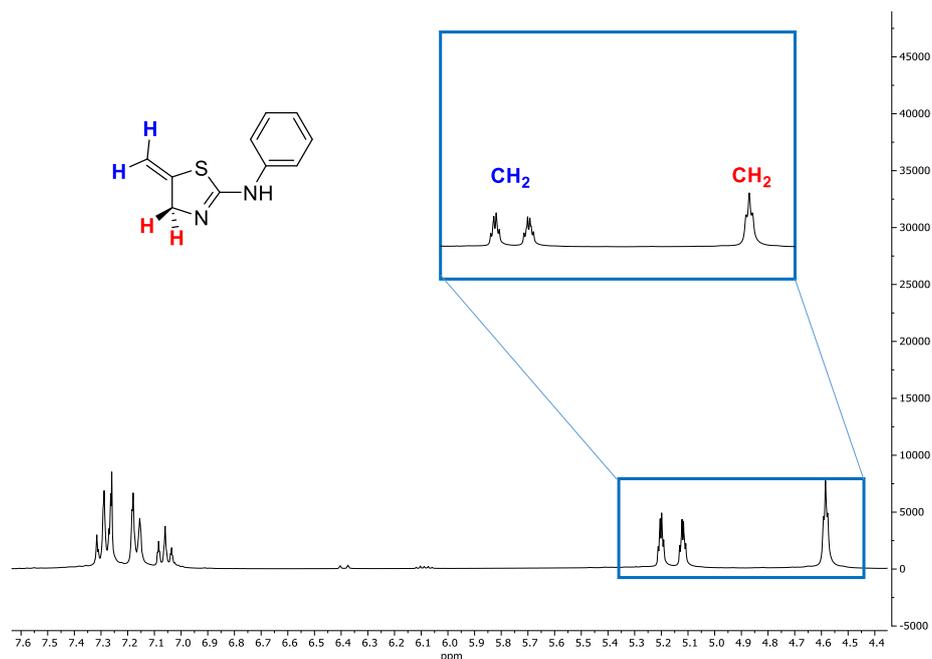
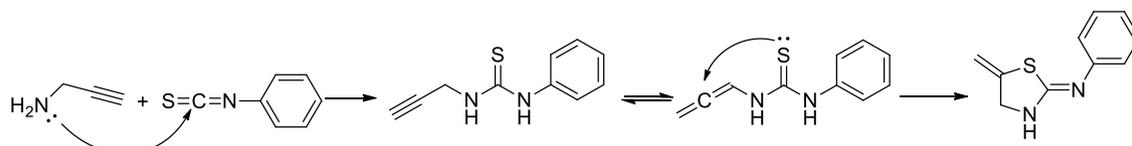


Figura 1.10. Espectro ^1H RMN del compuesto **1** en CDCl_3 .

Se observó que en el transcurso de la reacción se formaba un intermedio que era la tiourea correspondiente, que da lugar a una reorganización intramolecular para dar el consiguiente aleno y, posteriormente, el ataque nucleofílico por parte del átomo de azufre al carbeno electrófilo del aleno.³⁷ Con esta información se propuso el siguiente mecanismo (Esquema 1.11).



Esquema 1.11. Mecanismo de la síntesis de iminotiazolidinas.

Se han caracterizado por difracción de rayos X varios de los compuestos tiazolidina y su estructura se muestra en la Figura 1.11.

³⁷ A. Johnson, A. Laguna, M. C. Gimeno, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 12812.

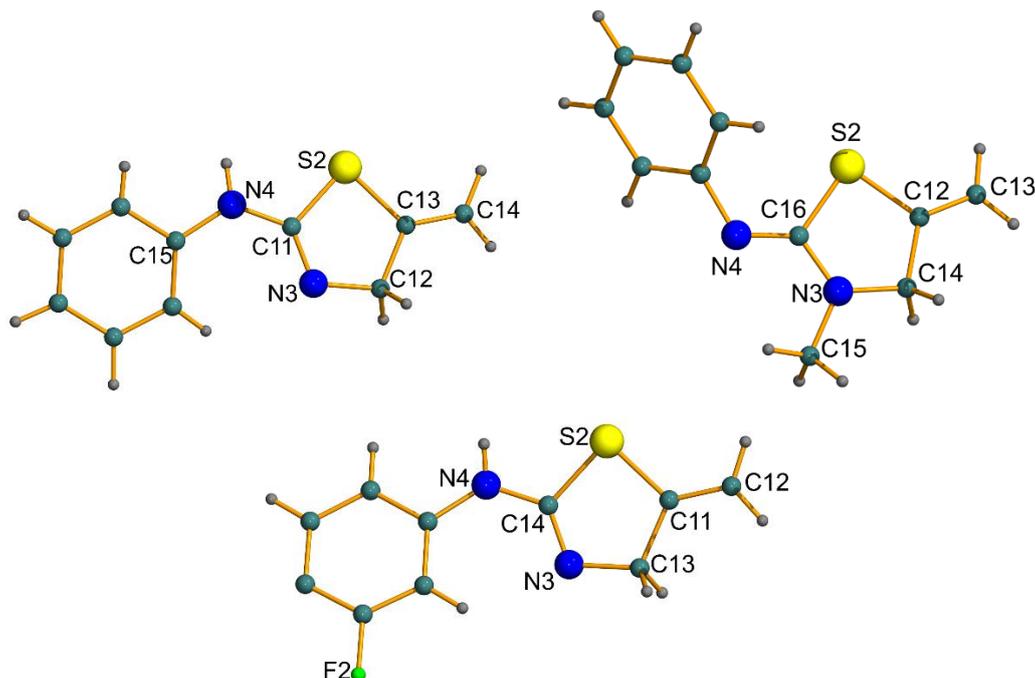


Figura 1.11. Estructura molecular de las tiazolidinas 1, 3 y 4.

Como se puede observar en los casos en que se parte de propargilamina con diferentes isotiocianatos el resultado es la formación de las aminotiazolidinas 1 y 4. El compuesto 1 cristaliza con cuatro moléculas independientes, con distancias y ángulos de enlace similares entre dichas moléculas. Se puede comprobar la existencia de un doble enlace entre los átomos N3-C11 de 1.281(3) Å y también la presencia de enlaces de hidrógeno entre las moléculas que se apilan formando cadenas. Los enlaces más cortos corresponden a la unidad N7...H-N6 con una distancia de 1.997 Å y un ángulo de 173.7° (Figura 1.12). En la estructura del compuesto 1 se pueden observar distancias C16-N3 de 1.3532(18) y C16-N4 de 1.2752(19), lo que corrobora la formación de la iminotiazolidina (Figura 1.12).

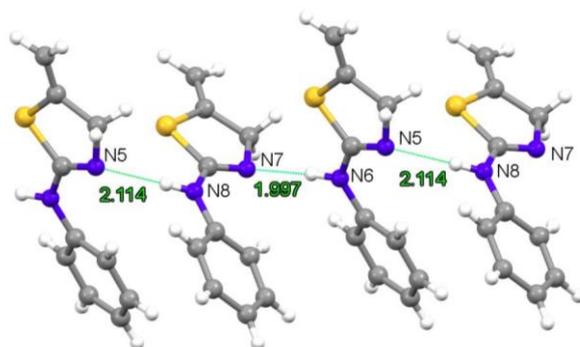
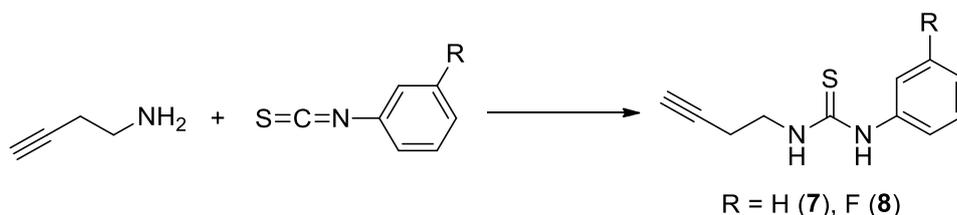


Figura 1.12. Enlaces de hidrógeno formados en el compuesto 1.

Se intentó también la formación de heterociclos de mayor número de átomos de carbono en él y para ello se procedió a la reacción del derivado 1-amino-3-butino con un isotiocianato, para intentar formar el correspondiente ciclo, esta vez de 6 miembros. En las mismas condiciones que las reacciones anteriores la conversión no avanzaba más allá después de formarse el derivado tiourea (Esquema 1.12).



Esquema 1.12. Síntesis de los compuestos 7 y 8.

En este caso, es probable que el proceso de ciclación no esté favorecido debido a la longitud de la cadena que no daría lugar a los anillos de cinco miembros tiazolidina, sino a ciclos de seis miembros, que quizás no sean tan estables.

En la Figura 1.13 se puede observar el espectro de ^1H RMN; el protón del alquino aparece como un triplete por acoplamiento a los protones del grupo metileno, mientras que en los dos grupos metileno los protones son diastereotópicos y aparecen como dos dobletes de tripletes, aunque en uno de los casos se observe como un aparente cuartete.

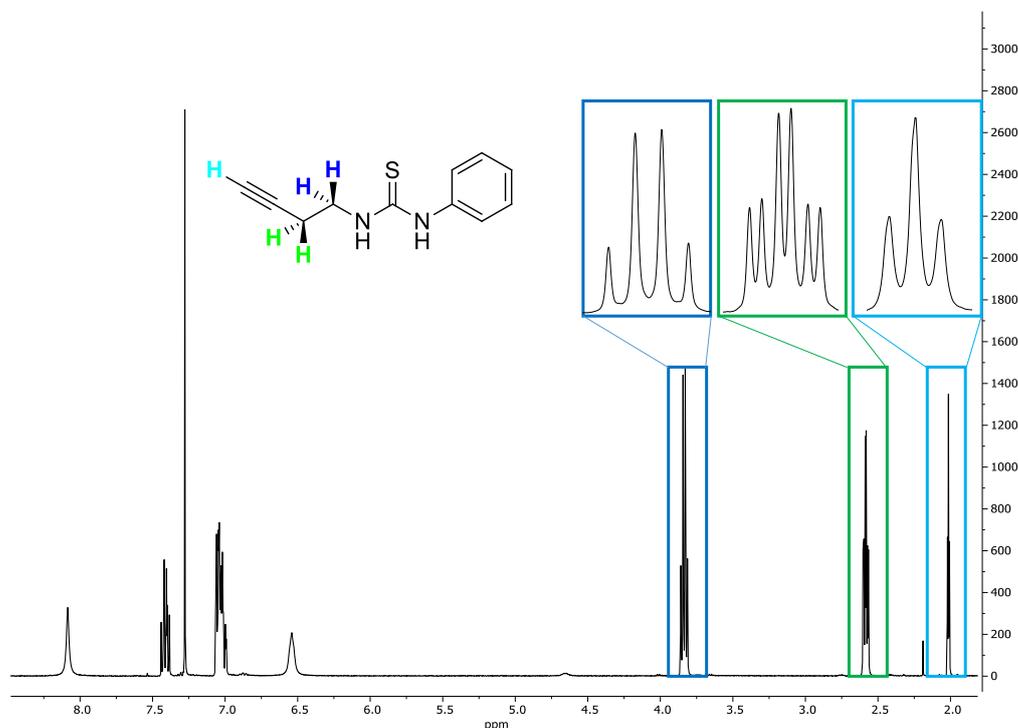


Figura 1.13. Espectro ^1H RMN del compuesto 7 en CDCl_3 .

Se ha resuelto la estructura cristalina del compuesto **7** por difracción de rayos X y se muestra en la Figura 1.14. La distancia S1-C1 es 1.6917(18) Å, mientras que las C-N son de N1-C1 1.347(2) y N2-C1 1.339(2) Å, que son las esperadas para compuestos tioureas. Se observa también la presencia de enlaces de hidrógeno entre el átomo de azufre y los grupos NH de moléculas adyacentes.

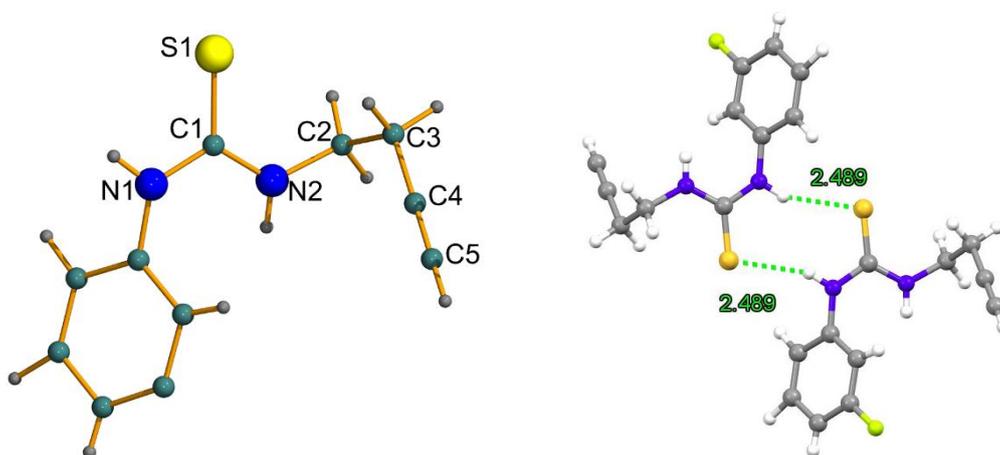
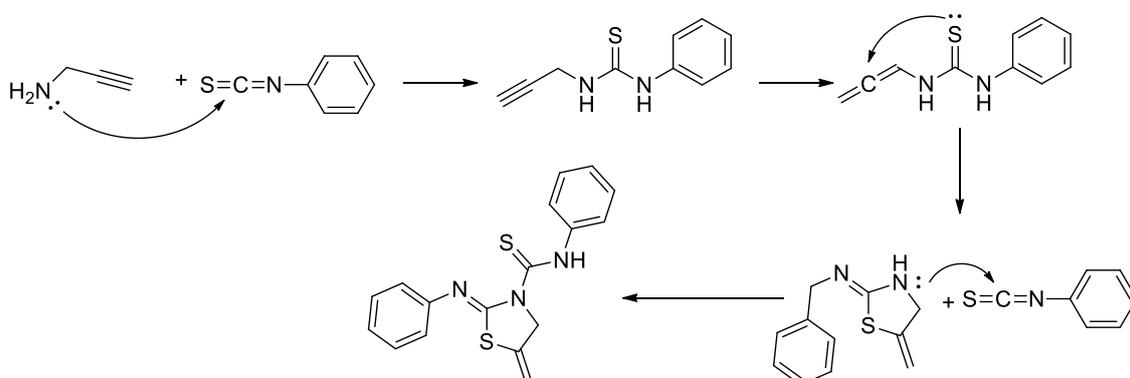


Figura 1.14. Estructura molecular del compuesto **7** y formación de enlaces de hidrógeno.

El nitrógeno del ciclo de las iminotiazolidinas de los compuestos **1** y **4** sigue teniendo un grupo amino con un par de electrones libres que podría reaccionar con otro derivado de isotiocianato y así se podría introducir el grupo tiourea dentro de la estructura molecular. Estas nuevas especies contienen en su estructura ambos grupos funcionales, tanto la tiourea, como la tiazolidina. Para conseguir este tipo de compuestos se añadió un exceso del ligando isotiocianato, las reacciones también se hicieron en etanol y el esquema propuesto sería el siguiente (Esquema 1.13).



Esquema 1.13. Mecanismo de la síntesis de tioureas-tiazolidinas.

Para la formación de estas tioureas-tiazolidinas se han utilizado los derivados de fenil, 3-fluorofenil y bencilisocianato (Figura 1.15). Las reacciones se hicieron en etanol y el compuesto precipitaba como un sólido blanco, obteniéndose de forma pura y con buen rendimiento. Estos compuestos fueron caracterizados por espectroscopia de ^1H y ^{13}C RMN y por difracción de rayos X.

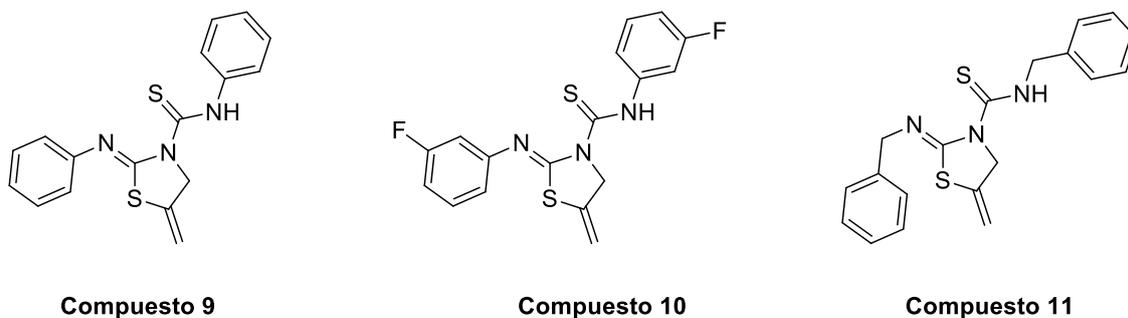


Figura 1.15. Nuevos compuestos tiourea-tiazolidina.

En el espectro de ^1H RMN se pueden diferenciar claramente cuáles son aquellos protones que están dentro del anillo de la tiazolidina, que están representados en rojo, de los que están formando el doble enlace, que se representan en azul (Figura 1.16). Se puede apreciar como el grupo metileno que está dentro del ciclo de 5 miembros aparece más entre los protones del grupo alqueno en los compuestos **9**, **10** y **11**.

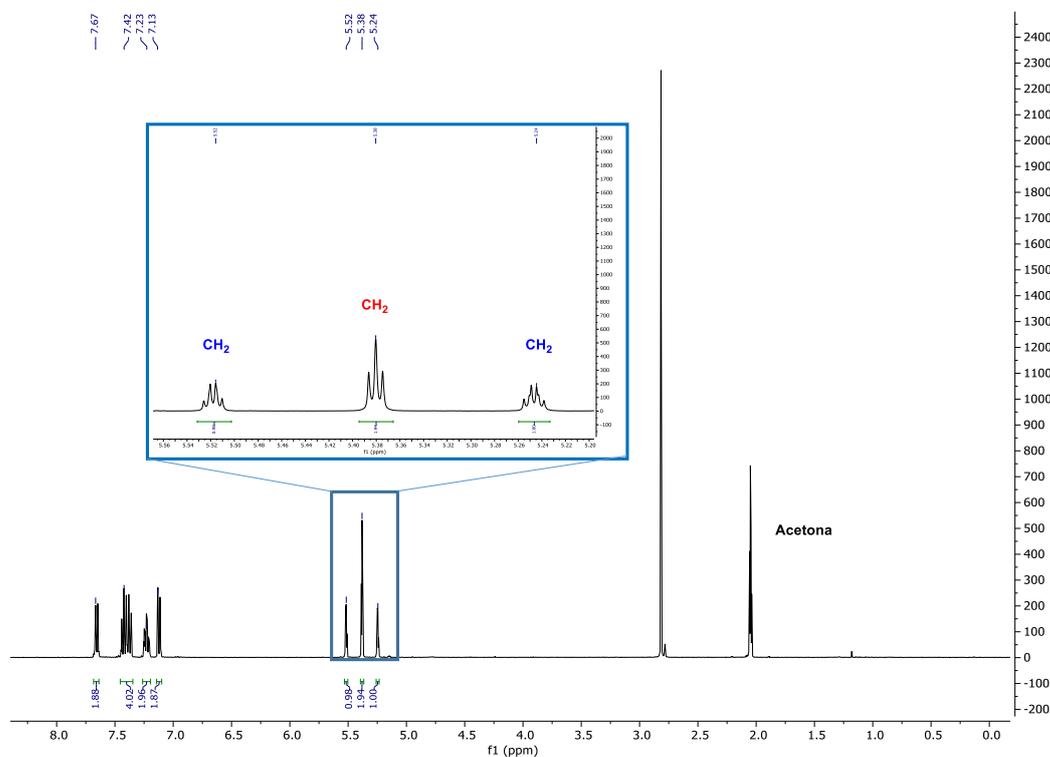


Figura 1.16. Espectro ^1H RMN del compuesto **9** en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

La estructura cristalina de los derivados tiourea-tiazolidina **9** y **10** se ha corroborado por difracción de rayos X y se representan en la Figura 1.17. En ambos casos podemos observar la presencia de un enlace de hidrogeno intramolecular entre el grupo amino de la tiourea y el imino de la iminotiazolina. Para el compuesto **9** el enlace de hidrogeno tiene los siguientes valores N-H6···N3, con una distancia dador···aceptor de 2.619 Å y un ángulo de 142.2°. en el compuesto **10**, los valores son para el enlace N1-H1···N3 con una distancia dador···aceptor de 2.602 Å y una distancia de 146.1°.

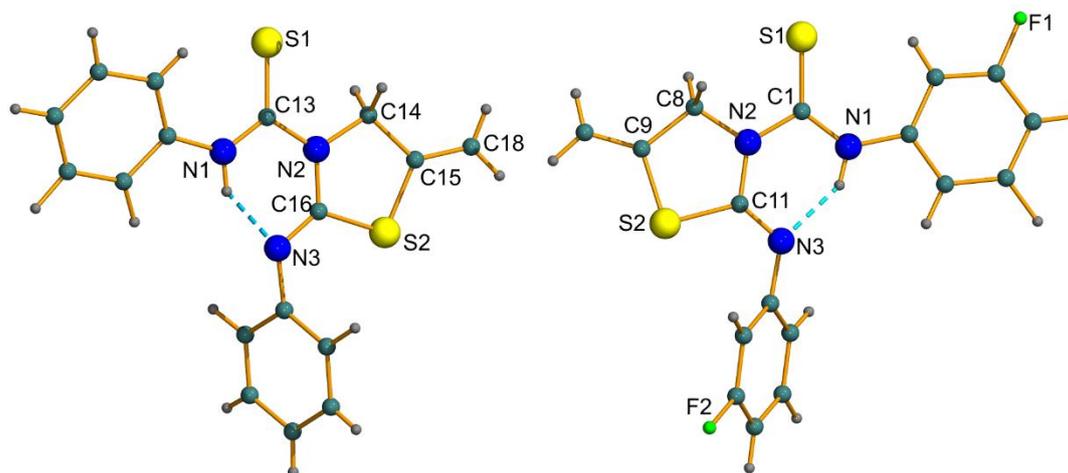
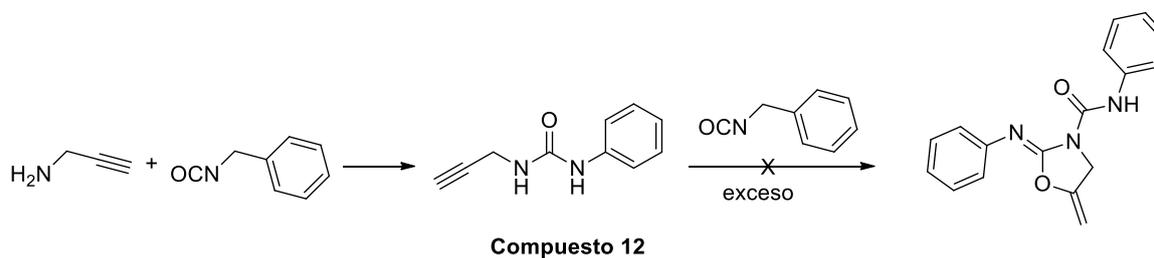


Figura 1.17. Estructuras moleculares de los compuestos **9** y **10**.

Del mismo modo que se han obtenido las tiazolidinas utilizando isotiocyanatos, se pensó en el uso de isocyanatos para, así, formar oxazolidinas y urea-oxazolidinas. Se llevó a cabo la síntesis de este tipo de derivados con isocyanatos y propargilamina, tal como se observa en el Esquema 1.14.



Esquema 1.14. Intentos de formación de oxazolidinas y urea-oxazolidinas.

La reacción no seguía a partir de la formación de la correspondiente urea **12**. Se cambiaron las condiciones de reacción, modificando tanto el tiempo de reacción como la temperatura hasta llegar a reflujo y en ningún caso se obtuvieron ni la oxazolidina, ni

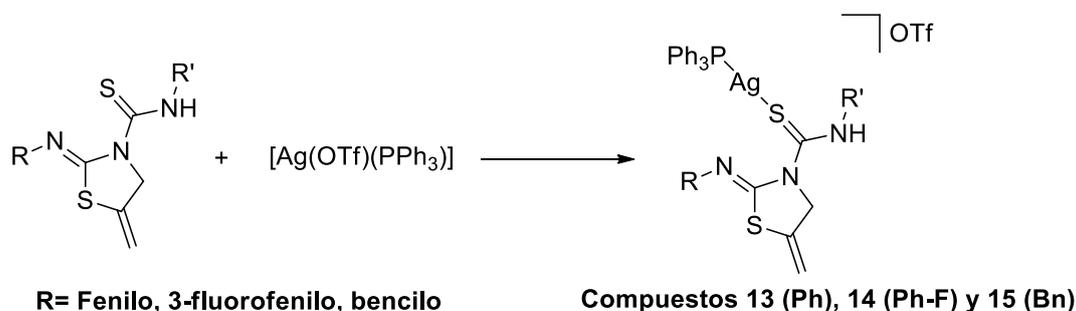
los derivados mixtos urea-oxazolidina. La diferencia en la facilidad de ciclación de las tioureas con grupos propargilo en relación con las ureas puede ser debido a la mayor nucleofilia del átomo de azufre en comparación con el átomo de oxígeno. En el primer caso ocurre simplemente por calentamiento y en el segundo sería necesario quizás la previa activación del triple enlace frente al ataque nucleofílico con la presencia de un catalizador.

1.4. Estudio de la Coordinación a Metales

Se sabe que tanto las ureas o tioureas como las tiazolidinas por separado pueden tener cierta actividad biológica, el tándem de las dos unidas en una misma molécula podría mejorar esa actividad y, además, si se consiguiera unir a metales del grupo 11, con probada actividad biológica, debería aumentar todavía más estas propiedades. Por ello en este capítulo se llevó a cabo la síntesis de nuevos complejos tiourea-tiazolidina coordinados a metales, como oro y plata. Los nuevos complejos metálicos fueron caracterizados mediante espectroscopia ^1H RMN, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -RMN y ^{19}F -RMN de aquellos que contenían átomos de flúor, tanto en su estructura como de contraión.

Los espectros de masas fueron realizados con la técnica de ionización por electrospray (ESI+ μ -TOF) y fueron obtenidos en acetonitrilo para los complejos metálicos. En su espectro se muestra el ion molecular correspondiente, aunque no siempre con el 100% de abundancia (ver en la parte experimental).

En primer lugar, se sintetizaron dos nuevos complejos de plata, para cada una de los compuestos tiourea-tiazolidina formados. Los precursores de plata que se utilizaron fueron el complejo con trifenilfosfina, $[\text{Ag}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$, para la formación de complejos metálicos con fosfina, y $\text{Ag}(\text{OTf})$ para obtener complejos de plata esta vez con una estequiometría 2:1 ligando-metal (Esquema 1.15).



Esquema 1.15. Síntesis de los compuestos con PPh_3 como ligando auxiliar.

Estos nuevos complejos se caracterizaron mediante espectroscopia ^1H -, ^{31}P -, y ^{13}C -RMN y por espectrometría de masas. Los espectros de ^1H -RMN mostraron un aumento de señales en la zona aromática que corresponde con los protones asociados a los fenilos del ligando trifenilfosfina. Igualmente, en el espectro de ^{13}C APT se pueden observar más carbonos en la zona aromática del espectro y se pueden diferenciar del resto de fenilos por el acoplamiento que presentan con el fósforo. Los acoplamientos suelen ser de unos 35 Hz para el carbono *ipso* y van disminuyendo cuando se aleja del heteroátomo, 15 Hz los carbonos en *orto* y de 9 Hz los carbonos en *meta*. En estos complejos no se pudo ver con claridad ningún acoplamiento en el carbono *para* del ligando trifenilfosfina. A su vez los desplazamientos de las señales en ambos espectros respecto de los ligandos orgánicos de partida verifican la presencia de estos complejos. En el espectro de ^{31}P se puede observar una única señal ancha sobre 12 ppm, esta señal ancha se resuelve mejor a bajas temperaturas (Figura 1.18) donde se puede observar la presencia de dos dobletes, debido a que la plata tiene dos isótopos activos en RMN, ^{107}Ag y ^{109}Ag , que se acoplarían al átomo de fósforo dando lugar a los dos dobletes.

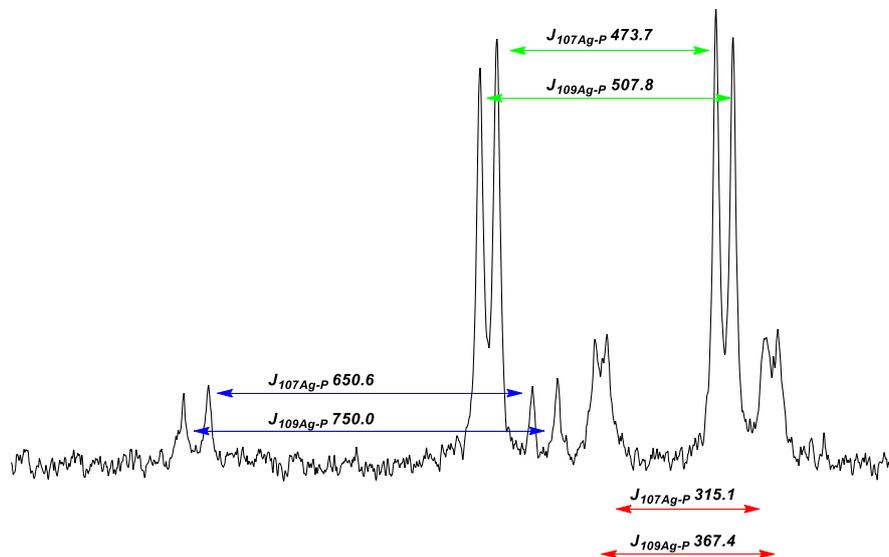


Figura 1.18. Espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN de **13** a $-70\text{ }^\circ\text{C}$.

En el espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (-70°) del complejo **13** (Figura 1.18), la señal que anteriormente a temperatura ambiente salía en torno a 12 ppm, se desdobra en tres dobletes, debido al acoplamiento del átomo de fósforo a los dos isotopómeros de la plata como se ha comentado anteriormente (línea verde). El complejo formado sería $[\text{Ag}(\mathbf{9})(\text{PPh}_3)]\text{OTf}$ (**13**). El doblete que está en torno a 8 ppm (línea roja) sería un

complejo formado con dos grupos fosfinas en la estructura $[\text{Ag}(\mathbf{9})(\text{PPh}_3)_2][\text{OTf}]$. Por último, se puede observar otro par de dobletes más minoritario (línea azul) que estaría en torno a 14 ppm y podría corresponder con una especie tetracoordinada.

Esto es debido a que los complejos de Ag-P muestran un comportamiento dinámico en disolución, lo que implica que estos enlaces experimenten procesos de ruptura tanto intra como intermolecularmente. Solamente el complejo de plata de partida $[\text{Ag}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$ ya se disocia en otras especies estables, que compiten en la coordinación al ligando, tal como se puede ver en el siguiente esquema:



Esquema 1.16. Equilibrio de disociación del complejo $[\text{Ag}(\text{PPh}_3)_x]$.

Si se tienen en cuenta las constantes de acoplamiento se puede observar como son inversamente proporcionales al número de coordinación del átomo de plata^{38,39,40,41,42} y se incrementa con la disminución de la distancia de enlace Ag-P.⁴³ Así se pudieron determinar los complejos formados con las señales que aparecieron en el espectro gracias a sus constantes de acoplamiento. De este modo los dobletes con una constante de acoplamiento $J_{109\text{Ag-P}} > 700$ Hz pertenecerían a especies monocoordinadas, una $J_{109\text{Ag-P}}$ 700-400 Hz correspondería a complejos dicoordinados, y menores de 400 Hz a tricoordinados y tetracoordinados, aunque esto es una aproximación y depende de los ligando y la naturaleza de estos.⁴⁴

Debido a que el átomo de plata se puede coordinar a varios ligandos simultáneamente, se probó la reacción con el complejo de plata $\text{Ag}(\text{OTf})$, donde tendría la posibilidad de formar nuevos complejos donde el centro metálico se uniría, en este caso, a dos moléculas de ligando, (Esquema 1.17).

³⁸ E. L. Muerterties, C. W. Alegranti, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 6386.

³⁹ S. M. Socol, J. G. Verkade, *Inorg. Chem.*, **1984**, *23*, 3487.

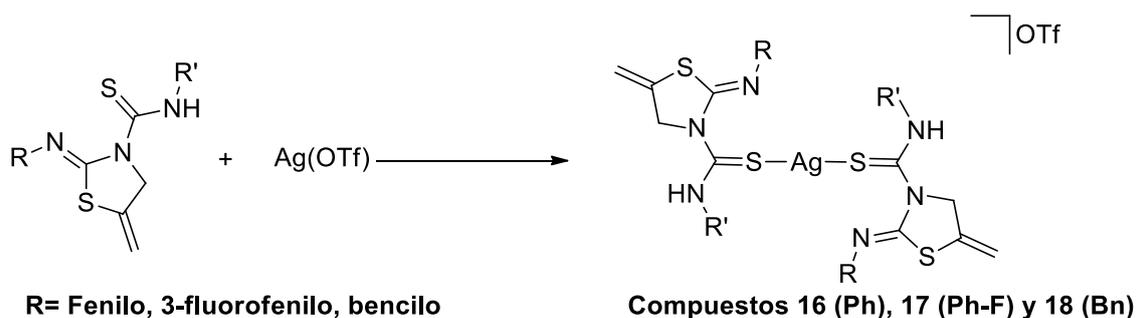
⁴⁰ R. E. Bachman, D. F. Andretta, *Inorg. Chem.*, **1998**, *37*, 5657.

⁴¹ A. Cingolani, F. Marchetti, C. Pettinari, R. Pettinari, B. W. Skelton, A. H. White, *Inorg. Chem.*, **2002**, *329*, 100.

⁴² E. J. Sekabunga, M. L. Smith, T. R. Webb, W. E. Hill, *Inorg. Chem.*, **2002**, 1205.

⁴³ M. Barrow, H. B. Burgi, M. Camalli, F. Caruso, E. Fischer, L. M. Venanzi, L. Zambonelli, *Inorg. Chem.*, **1983**, *22*, 2356.

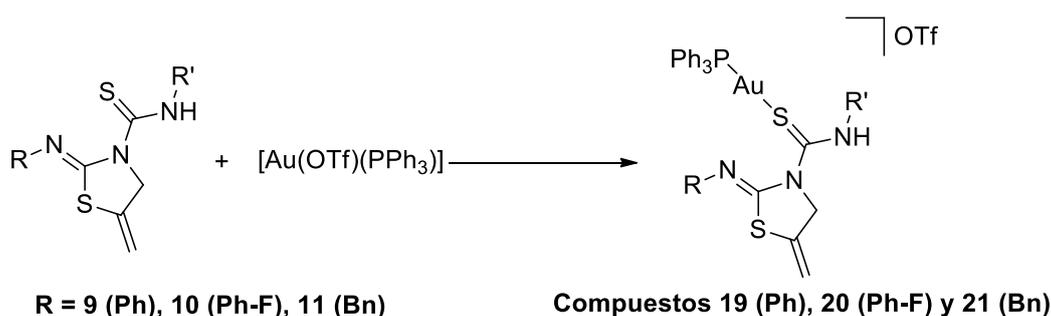
⁴⁴ P. W. Miller, M. Nieuwenhuyzen, J. P. H. Charmnet, S. L. James, *Inorg. Chem.*, **2008**, *47*, 8367.



Esquema 1.17. Síntesis de los compuestos de plata con estequiometría 2:1.

Así estos complejos contienen una estequiometría 2:1 donde la plata está unida a dos moléculas de ligando. Los complejos metálicos fueron caracterizados por técnicas de espectroscopia ^1H RMN y ^{13}C RMN, y por técnicas de espectrometría de masas (ESI+ μ -TOF). Las señales se muestran desplazadas en los espectros con respecto a las de los ligandos. Igualmente, los espectros de masas obtenidos en acetonitrilo mostraron el pico molecular esperado y con una abundancia del 100%.

Respecto de la formación de nuevos complejos de oro, también se intentaron sintetizar con un derivado de fosfina y con una estequiometría 2:1 (Esquema 1.18). Para la síntesis de los complejos de oro con fosfina se hicieron reacciones utilizando el complejo $[\text{Au(OTf)(PPh}_3)]$, utilizado normalmente por el grupo de investigación. Sin embargo, estas reacciones no llegaron a formar los complejos metálicos deseados con una pureza óptima, debido a que se observaba siempre la presencia de impurezas.



Esquema 1.18. Síntesis de los compuestos de oro con PPh_3 como ligando auxiliar.

A pesar de no conseguir los productos puros se obtuvieron cristales de uno de los complejos con grupos AuPPh_3 de la mezcla de reacción, demostrando que es posible su formación. En la Figura 1.19 podemos ver que el átomo de oro se encuentra en un entorno lineal unido al átomo de azufre de la tiourea con una distancia Au1-S1 de 2.333(5) Å y al átomo de fósforo con una distancia de Au1-P1 2.277(5) Å. En ángulo en torno al centro de oro es lineal ligeramente distorsionado, P1 Au1 S1 175.38(18)°. Las

moléculas se asocian en dímeros a través de interacciones aurofílicas cortas de $\text{Au1}\cdots\text{Au1}$ 3.0866(13) Å.

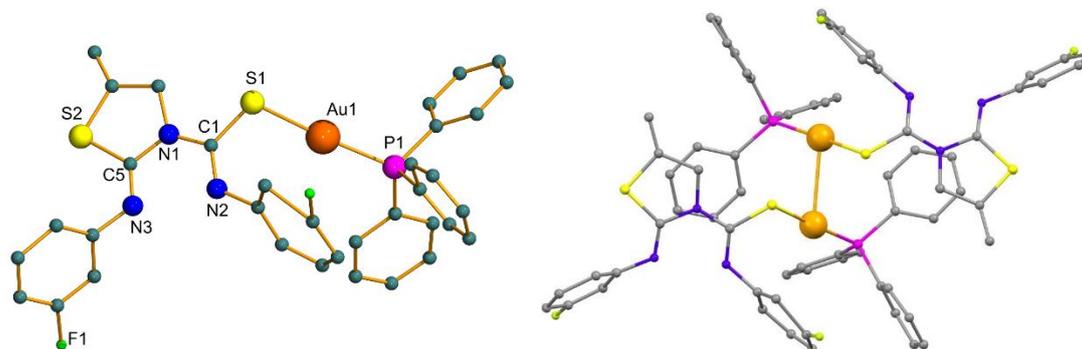
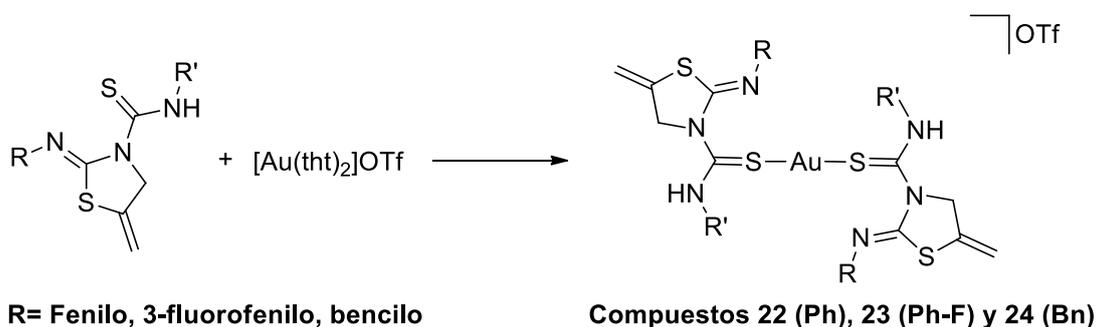


Figura 1.19. Estructura molecular del catión del complejo **20**.

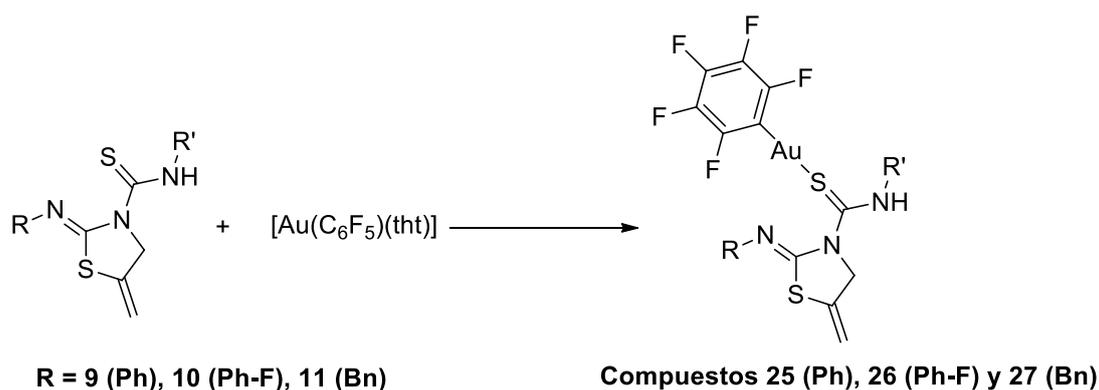
Los complejos de oro con una estequiometría 2:1 se llevaron a cabo utilizando el complejo metálico $[\text{Au}(\text{tht})_2]\text{OTf}$, también debido a la experiencia del grupo en trabajar con este tipo de compuestos. En este caso las reacciones sí que se obtuvieron con buenos resultados de pureza y rendimiento. El complejo de oro se sintetiza *in situ*, y posteriormente se añade el ligando que queremos coordinar el oro, Esquema 1.19.



Esquema 1.19. Síntesis de los compuestos de oro con estequiometría 2:1.

Estos complejos se caracterizaron por técnicas de espectroscopia de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN, donde las señales de los nuevos complejos se desplazan respecto de la de los ligandos orgánicos.

Adicionalmente, se sintetizaron los compuestos de oro unidos a los ligandos tiourea-tiazolidina y a un grupo pentafluorofenilo. Para ello se llevó a cabo la reacción partiendo del derivado $[\text{Au}(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{tht})]$ por reacción con el ligando (Esquema 1.20).



Esquema 1.20. Síntesis de los compuestos de oro con C_6F_5 como ligando auxiliar.

En estos compuestos el espectro más representativo es el de ^{19}F RMN, donde se pueden apreciar 3 señales correspondientes a los átomos de flúor en posiciones *orto*, *meta* y *para*. Además, para el compuesto **26**, se observa dos señales adicionales, como era de esperar correspondientes a los flúors del ligando tiourea-tiazolidina.

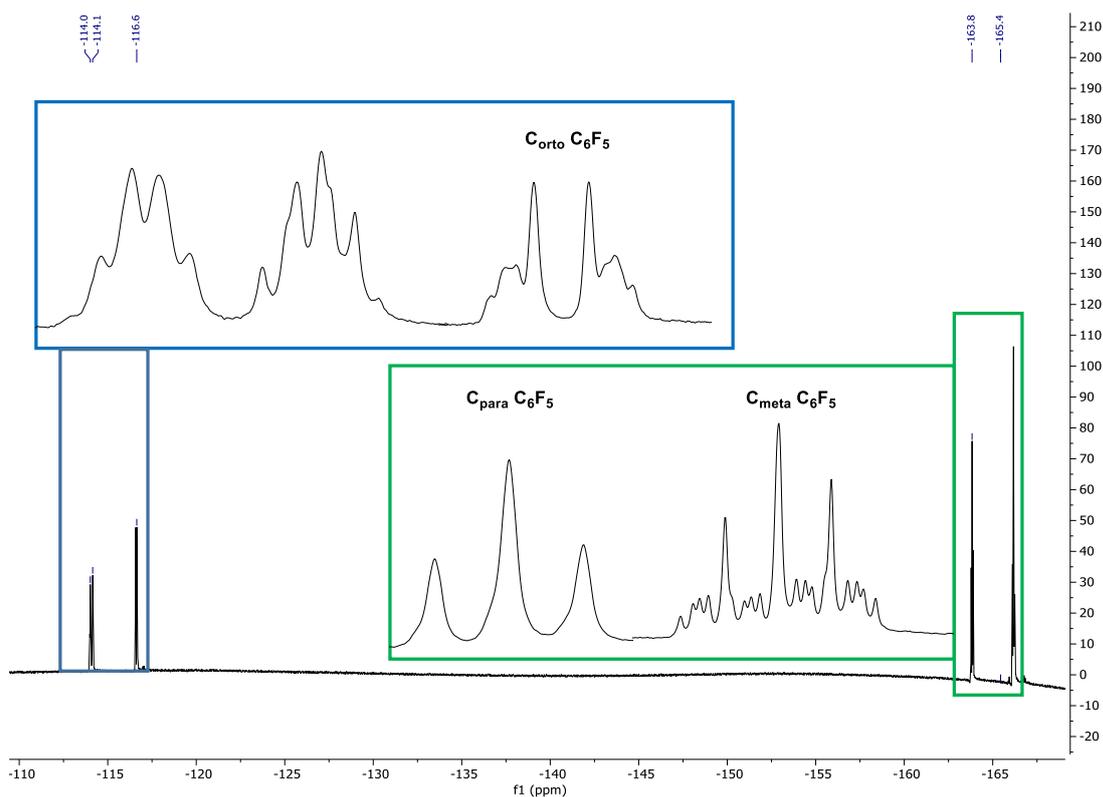


Figura 1.20. Espectro de flúor del compuesto **26**.

Se ha caracterizado por difracción de rayos X la estructura del complejo **27** (Figura 1.21). En la misma podemos comprobar la existencia de un enlace de hidrogeno intramolecular como ya ocurría en los ligandos, $\text{N3-H3}\cdots\text{N2}$ con una distancia

dador-aceptor de 2.625 Å y un ángulo de 146.2°. La distancia de enlace es Au1-C1 2.018(2) y Au1-S1 2.3076(6) Å, con un ángulo de enlace de C1-Au1-S1 175.51(7)°.

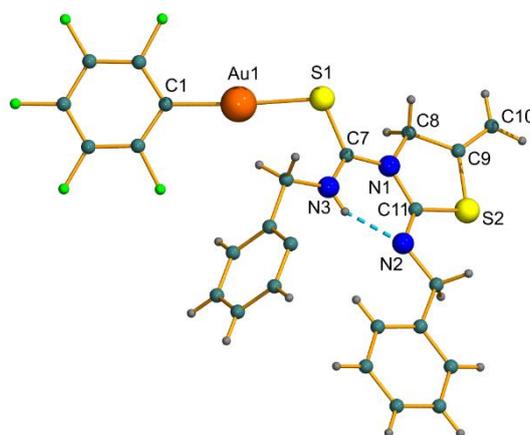


Figura 1.21. Estructura molecular del complejo 27.

1.5. Actividad Biológica de los Complejos Tiourea-Tiazolidina

Para determinar si los complejos sintetizados podrían ser utilizados como fármacos hay que someterlos a unas pruebas *in vitro* previamente. Los ensayos de sensibilidad a drogas *in vitro* son capaces de predecir la respuesta clínica a los agentes quimioterapéuticos entre un 50 y un 70% de los pacientes, así como poder evaluar la respuesta del tumor frente a estos compuestos y poder determinar dentro de un cierto rango la concentración adecuada. Por otra parte, estos ensayos dependen en gran medida de las características del cultivo celular y no simulan al 100% las condiciones *in vivo*. Estas medidas de sensibilidad se suelen expresar como la concentración a la cual el compuesto provoca el 50% de la muerte de las células de una colonia (IC_{50}). Este método experimental presenta dos limitaciones, una intrínseca, que va influir en la sensibilidad y/o resistencia y que depende del genotipo del tumor y otras extrínsecas, que son debidas a la incapacidad de reproducir exactamente el medio donde se desenvolvería el tumor.⁴⁵

La actividad de los ligandos y de los compuestos metálicos fue probada *in vitro* en la línea celular humana A549 (cáncer de pulmón). Los resultados fueron comparados con la actividad del cisplatino y Auranofin. Para ello se utilizó el método del MTT (bromuro

⁴⁵ J. L. Gil-Salú; J. Bosco-López; M. Domínguez-Villar; I. Domínguez-Pascual; J. Pérez-Requena; M. J. Palomo, M. López-Escobar, *Neurocirugía*, **2008**, *19*, 5.

de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol). Este método fue desarrollado por Mosman en 1983⁴⁶ y tres años más tarde fue modificado por Denizot y Rital Lang⁴⁷. Se trata de un método colorimétrico simple, usado para cuantificar la viabilidad celular. El compuesto MTT en presencia de la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa se reduce a azul de formazán, que es insoluble en el medio, de manera que, si los compuestos utilizados son capaces de matar a las células cancerígenas, éstas no podrán reducir el MTT. Al final se mide la absorbancia de los cristales de azul de formazán, donde valores altos indicarían que los compuestos no son activos, mientras que valores bajos podrían indicar que sí que son activos frente a ese tumor y a la concentración dada.⁴⁸

En la parte experimental se describen los pasos previos al ensayo MTT, donde se explica la preparación de las células antes de ser sembradas en la placa “multi-well”.

Los compuestos se disolvieron en DMSO, sin que este excediera la concentración de un 0.1%, debido a que eso podría hacer que se falsearan los resultados finales, ya que el DMSO a altas concentraciones resulta tóxico para las células. Los compuestos, una vez disueltos en DMSO, se les añadió un suero fisiológico para obtener la concentración deseada, en esta fase es muy importante que no precipite ninguno de ellos.

La posibilidad de desarrollar este método con nuestros compuestos es debida a la colaboración con el grupo de bioquímica de la doctora Isabel Marzo, en la Universidad de Zaragoza. Allí, se prepararon las células cancerígenas (en este caso de cáncer de pulmón A549) en unas placas “multi-well” de 96 pocillos.

Las células fueron expuestas con los compuestos a diferentes concentraciones en la placa “multi-well”, tal y como se muestra en la Figura 1.22, en la columna de la izquierda se añade la misma cantidad de una disolución control, es decir, sin compuestos y con un 1% de DMSO y en la de la derecha son los blancos donde solamente se añade medio de cultivo. La placa con los compuestos añadidos se dejó durante un periodo de 24 h en una estufa con atmósfera de 5% en CO₂ y a 37°C. Al transcurso de ese tiempo, se usó el compuesto MTT para comprobar la viabilidad de las células y poder calcular el IC₅₀.

⁴⁶ T. Mosmann, *J. Immunol. Methods.*, **1983**, 65, 55.

⁴⁷ F. Denizot; R. Lang, *J. Immunol. Methods.*, **1986**, 89, 271.

⁴⁸ C. Marzano, V. Gandin, A. Folda, G. Scutari, A. Bindoli, M. P. Rigobello, *Free Rad. Biol. & Med.*, **2007**, 42, 872.

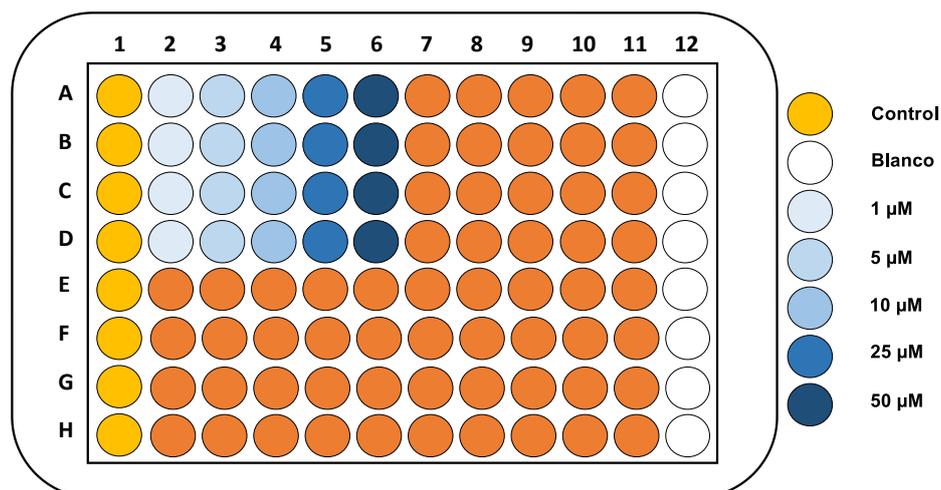


Figura 1.22. Distribución de concentraciones y control en una placa multi-well

Los controles permitieron el crecimiento de las células en un medio con un 0.1% DMSO, los valores de IC_{50} fueron calculados para 24 h y se presentan en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. IC_{50} (24 h) valores de los complejos y ligandos contra células tumorales (μM).

A549		IC_{50} (μM)
Cisplatino		29.21 ± 1.92^{49} (48 h)
Auranofin		4.65 ± 0.30^{50} (48 h)
Ligandos	9	>50
	10	>50
	11	>50
[Ag(L)(PPh ₃)]OTf	13	3.97 ± 0.63
	14	5.78 ± 0.36
	15	6.26 ± 0.29
[Ag(L) ₂]OTf	16	>50
	17	25.16 ± 1.8
	18	>50
[Au(L) ₂]OTf	22	39.71 ± 1.32
	23	42.36 ± 0.56
	24	>50

⁴⁹ C. Marzano, V. Gandin, M. Pellei, D. Colavito, G. Papini, G. G. Lobbia, E. Del Giudice, M. Porchia, F. Tisato, C. Santi, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 798.

⁵⁰ L. Ortego, M. Gimeno, *Síntesis de complejos de metales del grupo 11 con ligandos derivados de aminoácidos y aminosfosfinas. Estudios biológicos* (tesis doctoral), **2011**, Universidad de Zaragoza, España.

Observando los valores de la Tabla 1.1, se pueden encontrar varias generalidades:

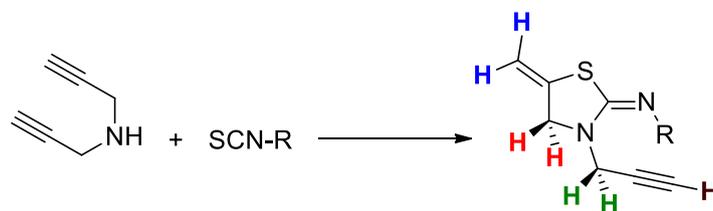
- Los ligandos no mostraron ningún tipo de actividad anticancerígena.
- Atendiendo a los ligandos coordinados, los complejos de plata que incorporan en su estructura el ligando trifenilfosfina mostraron los mejores resultados de IC₅₀.
- En los complejos con estequiometría 2:1 se obtiene un valor más bajo para un compuesto de plata.
- Si se mira el ligando coordinado, que por sí solo no presentaba ninguna actividad, se puede generalizar que con los complejos donde el ligando portaba el átomo de flúor (**10**) en su estructura se obtienen unos valores de IC₅₀ más bajos. Mientras que con el ligando **11**, que lleva un grupo metileno extra, no se observa ningún tipo de actividad.
- Para los complejos de Ag-PPh₃, los valores de IC₅₀ son menores que los que presenta el cisplatino, y muy parecidos al Auranofin.

En resumen, podemos concluir que si bien se observa cierta actividad citotóxica en algún compuesto bis(tiourea-tiazolidina) de plata o de oro, esta es poco significativa en comparación a la actividad mostrada por los compuestos de plata con trifenilfosfina como ligando auxiliar. Se observa entonces que la presencia de un grupo fosfina aumenta la actividad antitumoral del compuesto, de forma similar a lo que ocurre con los compuestos de oro. Desafortunadamente, no se han podido probar los correspondientes complejos de oro debido a que no se obtuvieron de forma pura.

Varios de los compuestos sintetizados en este capítulo fueron elegidos por la plataforma Open Innovation Drug Discovery (OIDD) de Lilly, entre ellos varias tiazolidinas y tioureas-tiazolidinas (**11** y **24**), para probar su actividad en distintas enfermedades. Desafortunadamente Lilly decidió cerrar esta plataforma a principios de 2019, por lo que no dio tiempo a que los compuestos fuesen testeados de una forma más exhaustiva.

1.6. Estudios de la Reacción con Dipropargilamina

La reacción de formación de tiazolidinas a partir de dipropargilamina podría dar lugar a la posibilidad de formar nuevos complejos con un enlace C-Au a través del triple enlace que quedaría libre en la molécula (Esquema 1.21).



R: Fenilo, 3-fluorofenilo, bencilo Compuestos: 2 (Ph), 5 (Ph-F), 28 (Bn)

Esquema 1.21. Síntesis de compuestos a partir del ligando dipropargilamina

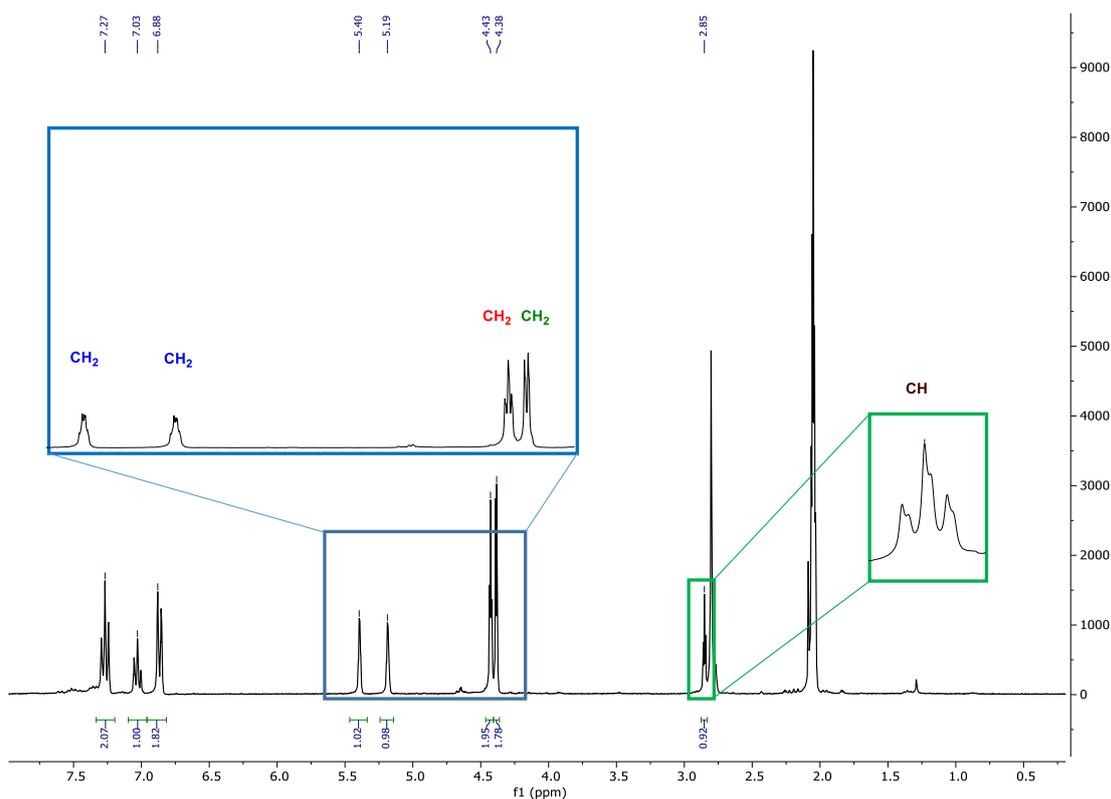
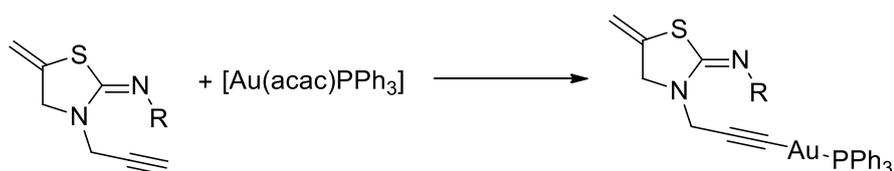


Figura 1.23. Espectro de ¹H RMN del compuesto 2.

Los protones del alqueno son diastereotópicos y salen diferenciados a mayor frecuencia (Figura 1.23). Para poder diferenciar entre los dos grupos metilenos, se utilizó un espectro bidimensional COSY, donde se aprecia la correlación entre los protones. Por otro lado, debido a la forma de la señal y a la constante de acoplamiento también se puede discernir, que el metileno en rojo con forma de triplete sería el que está correlacionado con los protones diastereotópicos en color azul, y el metileno en color verde es el que está correlacionado con el protón del alquino, debido a que su forma es un doblete.

Se propusieron varios métodos para la coordinación de átomo metálico al triple enlace, uno de los más habituales es utilizar metanol como disolvente y añadir hidróxido de potasio en exceso, otro sería utilizar el complejo $[\text{Au}(\text{acac})(\text{PPh}_3)]$ (Esquema 1.22).



R: Fenilo, 3-fluorofenilo, bencilo

Compuestos: **29** (Ph), **30** (Ph-F), **31** (Bn)

Esquema 1.22. Síntesis de complejos de Au-PPH₃.

Las reacciones dieron lugar a mezclas que no se pudieron separar por precipitación ni mediante columna. En la Figura 1.24. se muestran la zona entre 4 y 2.9 ppm de los espectros de ¹H RMN de los compuestos **2** (superior) y **29** (inferior). En la imagen se puede observar como desaparece la señal correspondiente al protón del alquino. A su vez la señal del metileno que se correlaciona con ese protón (verde) deja de tener su forma de doblete original pasando ahora a tener una forma de singlete, fortaleciendo la idea de que se ha llevado a cabo la desprotección del protón alquínico y la coordinación de la especie de oro, Au-PPH₃. Mientras que la señal correspondiente al grupo CH₂ que forma parte del anillo de 5 miembros (rojo) aparece inalterada.

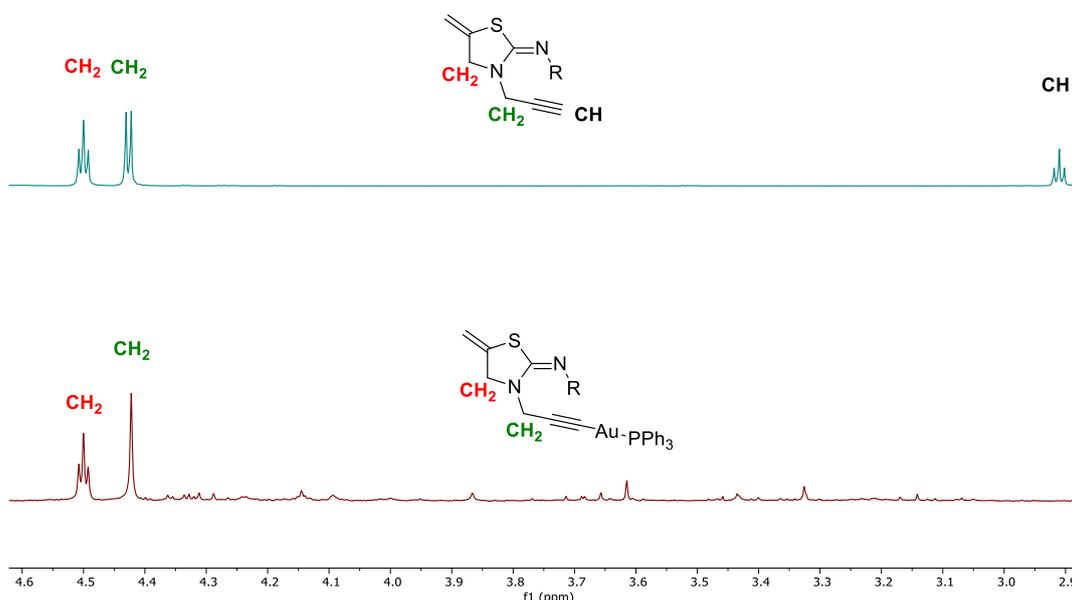


Figura 1.24. Comparación de espectros entre el ligando y el complejo con Au-PPh₃.

Pero sí que se consiguió el compuesto **29** puro mediante cristalización a través de la resolución de la estructura cristalina de un monocristal mediante la técnica de difracción de rayos X. Se puede observar que el centro de oro se encuentra en un entorno lineal, con un ángulo de C19-Au1-S1 de 177.12(10)°. Las distancias Au-C y Au-P son de 2.006(4) y 2.2757(9) Å, respectivamente, que están de acuerdo a con las encontradas en otros compuestos de oro(I).

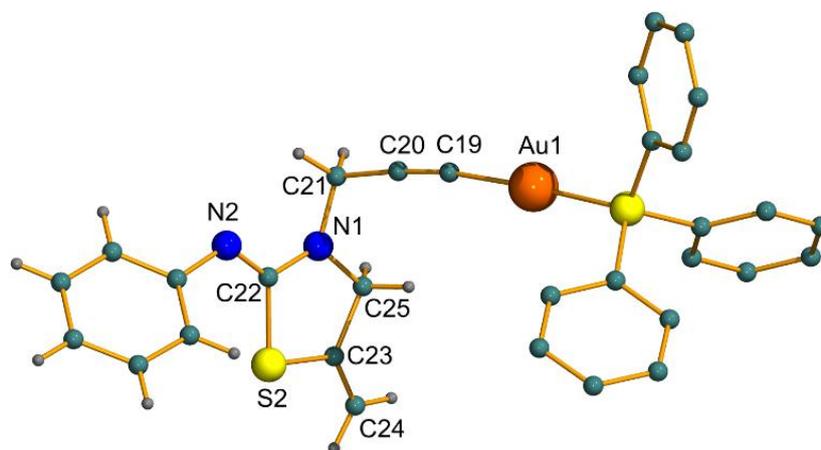
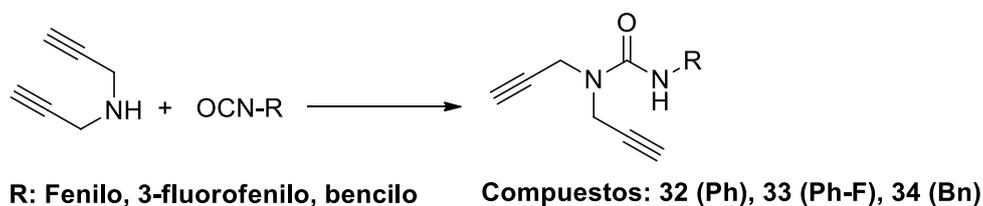


Figura 1.25. Estructura de rayos X para el complejo **29**.

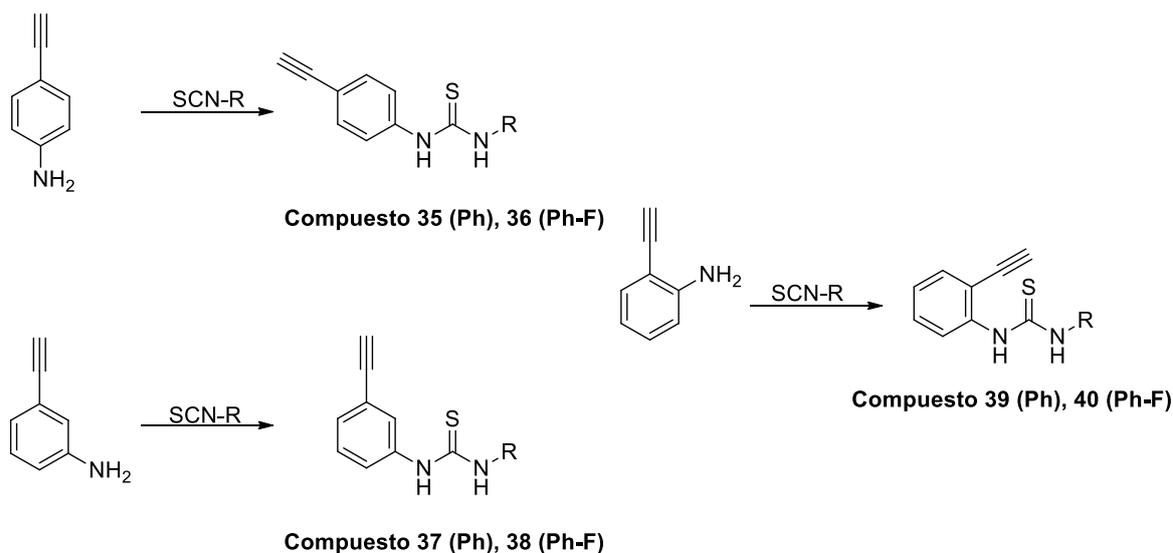
Se estudiaron también la posibilidad de formación de oxazolidinas haciendo reaccionar los mismos derivados de aminas, pero esta vez con ligandos isocianatos, se seleccionaron tres isocianatos, que fueron fenilisocianato, 3-fluorofenilisocianato y bencilisocianato. Las condiciones de reacción fueron las mismas que las utilizadas para la síntesis de tiazolidinas, pero en ninguno de los casos llegó a formarse el compuesto cíclico. Se probó aumentando la temperatura de reacción hasta llegar a probar reacciones a reflujo y mucho más tiempo, pero tampoco dio el resultado esperado. Se obtuvieron en este caso los compuestos **32**, **33** y **34**, que son las respectivas ureas (Esquema 1.23). Se llevaron a cabo reacciones con diversos catalizadores de oro como $[\text{Au}(\text{JohnPhos})(\text{MeCN})]\text{BF}_4$ y $[\text{Au}_2(\mu\text{-Cl})\{\text{P}(\text{Mes})_3\text{P}\}_2]\text{NTf}_2$, con un 5% de catalizador a temperatura ambiente y a reflujo, y hasta 3 días de duración y en ningún caso se obtuvieron señales distintas al de los compuestos iniciales.



Esquema 1.23. Síntesis de los derivados de dipropargilamina con isocianatos.

1.7. Estudio de Reacciones de Ciclación con Catalizadores de Oro

Ya que los derivados anteriores no producían las reacciones de ciclación de una forma sencilla, por calentamiento de las disoluciones, y tampoco lo hacían en presencia de un catalizador, se decidió sintetizar una serie de tioureas que pudiesen conducir después de una ciclación intramolecular catalizada por oro a heterociclos de interés. De esta forma, se sintetizaron tioureas en las que el grupo alquino estuviese unida a un anillo fenílico, a través de la reacción entre anilinas e isotiocianatos. De esta forma se utilizaron los derivados 2-etinilanilina, 3-etinilanilina y 4-etinilanilina y los mismos isotiocianatos comentados en los apartados anteriores (Esquema 1.24).



Esquema 1.24. Reacciones de anilinas con isotiocinatos.

En las síntesis de los compuestos **35-40** los productos formados finalmente fueron sus correspondientes tioureas y los datos espectroscópicos corroboran la estructura.

Las estructuras cristalinas de los compuestos **37** y **39** se han resuelto por difracción de rayos X y se muestran en la Figura 1.26.

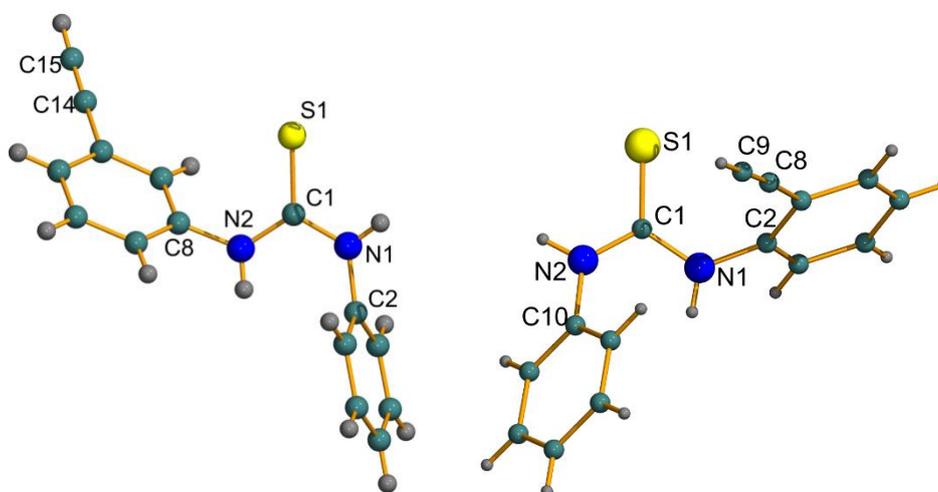
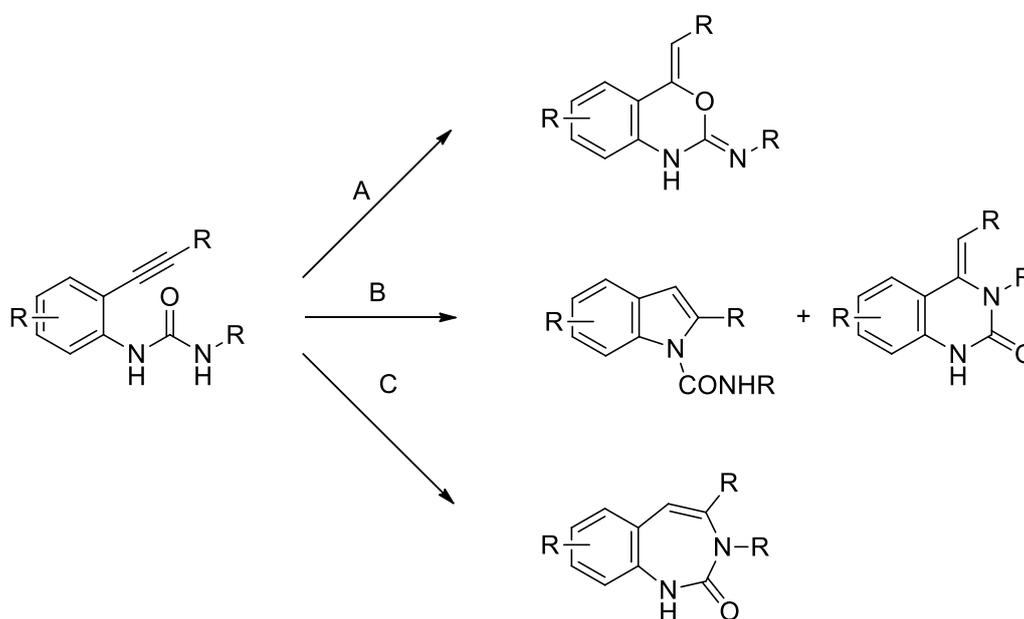


Figura 1.26. Estructura molecular de los compuestos **37** y **39**.

En los compuestos **35** y **37** debido a la posición del alquino el producto final fue la tiourea, ya que era muy difícil que pudiera dar lugar a una ciclación intramolecular para dar lugar a la formación de un compuesto cíclico. En las mismas condiciones suaves a temperatura ambiente y etanol, la síntesis del compuesto **39** también daba lugar a la formación del compuesto tiourea, no obstante, al aumentar la temperatura se obtenía una mezcla de compuestos en el crudo de reacción.

Estas reacciones de ciclación han sido estudiadas con anterioridad para los derivados análogos de urea con diversos catalizadores de oro. En ellas se propone la formación de los derivados indol, debido a la reacción de hidroaminación. La formación de índoles a partir de derivados *o*-alquinilanilina está altamente favorecida mediante un proceso de ciclación 5-endo-dig.⁵¹ Diversos autores afirman que los compuestos formados serían los de la ruta B, el primero mediante un ataque 5-endo-dig a través del nitrógeno 1 y el segundo mediante un ataque del N3 6-exo-dig. Los compuestos formados por las rutas A (ataque del O 6-exo-dig) y C (ataque del N3 7-endo-dig) no fueron detectados en estos estudios (Esquema 1.25.).



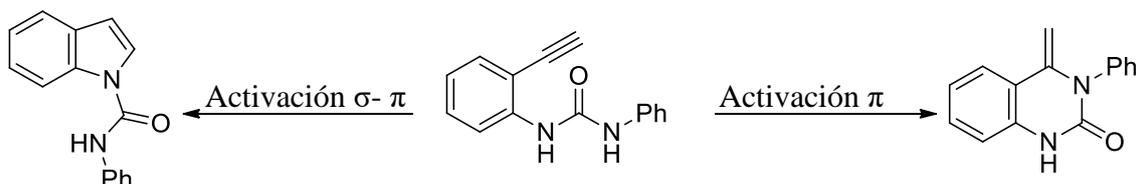
Esquema 1.25. Posibles compuestos formados a partir de un catalizador de oro.

*Van der Vlugt*⁵² y colaboradores estudiaron reacciones de síntesis donde a partir de un derivado de urea, con el triple enlace en posición *ortho*, conseguían selectivamente aislar un compuesto cíclico de 5 o 6 miembros al usar un catalizador de oro que activaba el doble enlace. En este trabajo se afirmaba que, si se conseguía una activación π , se originaría el compuesto de la derecha de la Esquema 1.36, el ciclo de 6 miembros correspondiente a una urea cíclica. En cambio, si se conseguía una doble activación σ y

⁵¹ A. Gimeno, M. Medio-Simón, C. Ramírez de Arellano, G. Asensio, A. B. Cuenca, *Org. Lett.*, **2010**, 20, 1900.

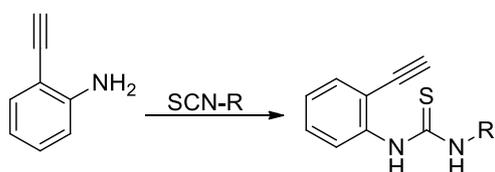
⁵² V. Vreeken, D. L. J. Broere, A. C. H. Jans, M. Lankelma, J. N. H. Reek, M. A. Siegler, J. I. van der Vlugt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, 55, 10042.

π se formaría el compuesto de la izquierda, el anillo de 5 miembros que es un derivado urea sustituido por un grupo indol.



Esquema 1.26. Formación de un anillo de 5 o 6 miembros dependiendo de la activación del catalizador de oro.

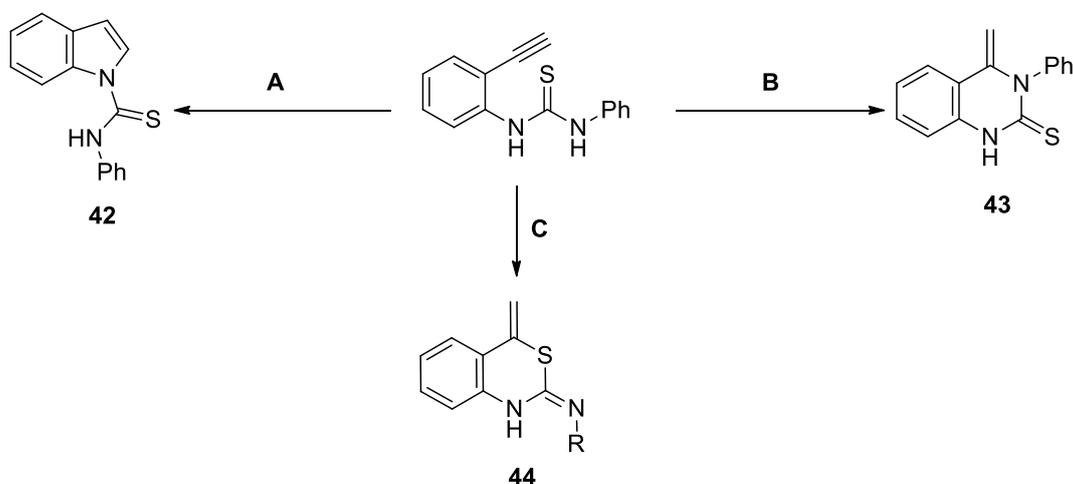
En este apartado se utilizaron ligandos isotiocianatos en vez de isocianatos y por ello se sintetizaron otras dos tioureas similares al compuesto **39** (Esquema 1.27). Se comprobó si en este caso se cumplirían las mismas reglas de ciclación que sugirieron los autores anteriores o se produciría un ataque por parte del átomo de azufre al triple enlace, dando lugar otra especie cíclica completamente distinta.



Compuesto 39 (Ph), 40 (Ph-F), 41 (Bn)

Esquema 1.27. Síntesis de derivados tiourea con anilinas sustituidas en posición *orto*.

En esta reacción, además de los productos comentados para la urea, que eran las reacciones de hidrogenación para formar los ciclos de cinco y seis miembros, (camino A y B, mostrados en el Esquema 1.28), la presencia del átomo de azufre, un mejor nucleófilo, podría dar lugar al ataque de éste al triple enlace (C).



Esquema 1.28. Posibles compuestos a partir del compuesto **39**.

Para ello se decidió explorar la reactividad de estas tioureas utilizando diversos catalizadores de oro. Se utilizaron como catalizadores complejos con fosfinas como [AuCl(PPh₃)] (Tabla 1.2), [Au(OTf)(PPh₃)] (Tabla 1.3), [AuCl(JohnPhos)] (Tabla 1.4) y [AuCl(CyJohnPhos)] (Tabla 1.5), sin o con adición de cantidades estequiométricas de [AgNTf₂] o Ag(OTf).

Tabla 1.2. Estudio de optimización con el catalizador [AuClPPh₃].

Entrada	Compuesto	Catalizador (1%)	Conversión	t (h)	Resultado
1	40	-	10%	6 días	-
2	40	-/ [AgNTf ₂]	30%	6 días	-
3	40	[AuCl(PPh ₃)]	50%	6 días	-
4	40	[AuCl(PPh ₃)]/ [AgNTf ₂]		6 días	45 -78% 43(Ph-F) -22%

Para las pruebas catalíticas con el complejo [AuCl(PPh₃)] + [AgNTf₂], se hicieron varias reacciones en diclorometano, para comprobar si efectivamente es el oro el que cataliza. En primer lugar, se probó el blanco de la reacción, solo el compuesto con el disolvente, es decir, sin ningún catalizador (blanco, entrada 1), la reacción no acababa después de 6 días, pero se apreciaba un único producto en la TLC. Seguidamente sería el compuesto con el complejo de plata en proporciones catalíticas (entrada 2) la reacción no acababa y se podían ver la obtención de 2 compuestos más el ligando de partida después de 6 días de reacción, la tercera utilizaríamos el complejo de oro (entrada 3), siendo los resultados similares que los obtenidos en la entrada 2 y, finalmente, el dúo de los complejos de plata y oro (entrada 4). Para ellos se hicieron pruebas con el compuesto 40, desafortunadamente en todas las reacciones se formaron dos compuestos nuevos, pero seguía habiendo compuesto de partida incluso después de 6 días como podía observarse por capa fina. Aquí se muestra el espectro de ¹H RMN del crudo de reacción (Figura 1.27).

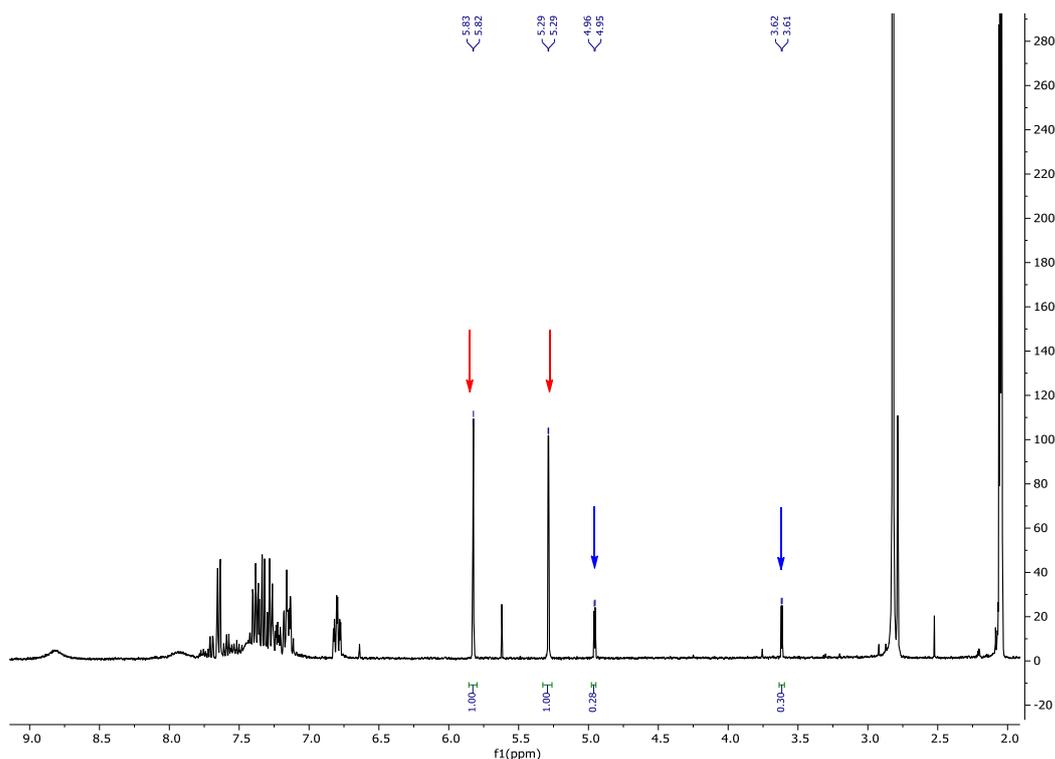


Figura 1.27. Espectro de ^1H RMN de la reacción catalítica para el compuesto **40**.

Las señales en rojo se relacionan entre sí, igual que las que se han señalado en azul, además integran igual dos a dos. Todas estas señales son dobletes con unas constantes de 1.4 Hz para el compuesto mayoritario (rojo) y 2.5 Hz para el minoritario (azul).

Cuando se utilizó otro catalizador como el complejo de oro $[\text{Au}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$, también en diclorometano (entradas 5, 6 y 7) los resultados fueron idénticos a los descritos anteriormente, se obtenía una mezcla de productos que eran muy difíciles de separar por cromatografía o por cristalización. (Tabla 1.3)

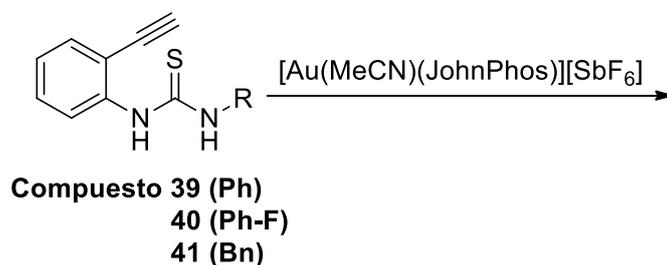
Tabla 1.3. Estudio de optimización con el catalizador $[\text{Au}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$.

Entrada	Compuesto	Catalizador (1%)	Conversión	t (h)	Resultado
5	39	$[\text{Au}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$	100%	6 días	44 -94% 43(Ph) -6%
6	40	$[\text{Au}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$	100%	6 días	45 -90% 43(Ph-F) -10%
7	41	$[\text{Au}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$	100%	6 días	46 -57% 43(Bn) -43%

Las reacciones fueron mucho mejor al utilizar el complejo de $[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{BF}_4$ en condiciones catalíticas. Se consiguió obtener un único compuesto nuevo de manera selectiva, que correspondería con el que aparecía mayoritariamente en las reacciones con los catalizadores anteriores (entrada 4). En las reacciones se utilizó un 5% de catalizador y fueron probadas en tres disolventes diferentes, etanol, acetona y acetonitrilo (entradas 8-16) para los tres ligandos sintetizados, **39**, **40** y **41**.

Tabla 1.4. Estudio de optimización con el catalizador $[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$.

Entrada	Compuesto	Catalizador (5%)	Disolvente	t (h)	Resultado
8	39	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	Acetona	4h	44
9	39	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	CH_3CN	4h	44
10	39	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	Etanol	4h	44
11	40	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	Acetona	-	45 -88% 43(Ph-F) -12%
12	40	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	CH_3CN	-	45 -67% 43(Ph-F) -33%
13	40	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	Etanol	-	45 -91% 43(Ph-F) -9%
14	41	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	Acetona	5h	46
15	41	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	CH_3CN	5h	46
16	41	$[\text{Au}(\text{NCMe})(\text{JohnPhos})]\text{SbF}_6$	Etanol	3h	46



Esquema 1.29. Síntesis de nuevos heterociclos con el catalizador $[\text{Au}(\text{MeCN})(\text{JohnPhos})][\text{SbF}_6]$.

En las reacciones con el compuesto **39** no se aprecia diferencia en la elección del disolvente. El compuesto **41** tal y como se aprecia en la cromatografía de capa fina realizada a las 4 h de reacción (el eluyente fue acetato de etilo/hexano 2:8) (Figura

1.28), daba también la obtención de un único producto, pero esta vez el mejor disolvente fue etanol. El compuesto de la izquierda es **41** y de izquierda a derecha las reacciones en acetona, etanol y acetonitrilo.

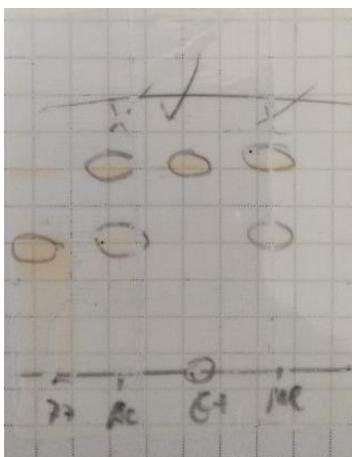


Figura 1.28. TLC del compuesto **41**.

En el espectro de ^1H RMN se puede apreciar nuevas señales en torno a 5.5 ppm indicando la presencia de un doble enlace, así como la desaparición del singlete en torno a 3 ppm correspondiente al protón alquínico, Figura 1.29.

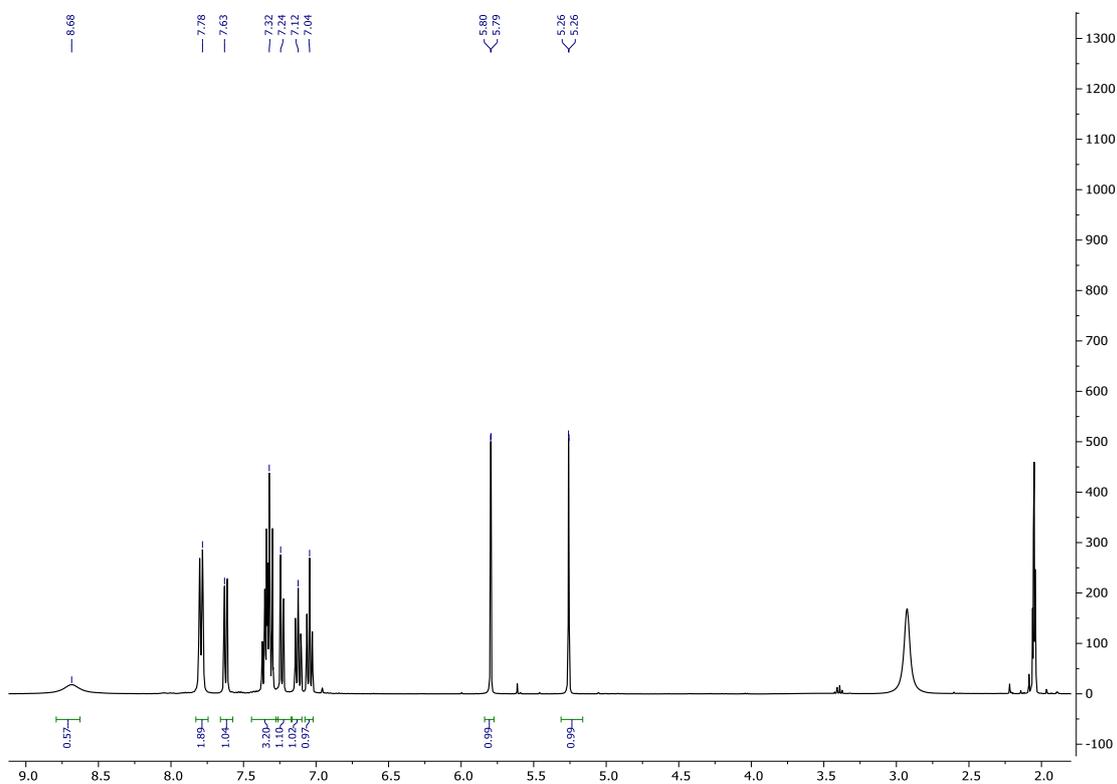


Figura 1.29. Espectro de ^1H RMN del compuesto **44**.

El compuesto **40** no se obtenía puro, si no con un poco de otro producto cíclico, esto se solventó utilizando una modificación de la fosfina de tipo JohnPhos, esta vez con grupos ciclohexilo coordinados al fósforo en vez de grupos terbutilos, CyJohnPhos. También se utilizaron los tres disolventes comentados anteriormente y de nuevo fue en etanol donde la velocidad de reacción fue mayor, debido a que en 3 horas la reacción había acabado (entradas 17-23). Se probó este catalizador con los otros dos compuestos, **39** y **41** para comprobar si afectaba a la reacción catalítica. También se utilizaron los tres disolventes comentados anteriormente y en este caso, fueron las reacciones en etanol donde la velocidad de reacción fue mayor. Para el compuesto **39** la reacción acababa en 4 h y sorprendentemente en acetona duraba 7 h, siendo que con el catalizador con los grupos terbutilos era de 4 h. Para el compuesto **41** la reacción duraba dos horas más de tiempo que con el catalizador anterior y finalmente para el compuesto **40** como se ha dicho anteriormente, se obtenía un único compuesto y fue en etanol donde la velocidad de reacción fue mayor (2 h) (Tabla 1.5).

Tabla 1.5. Estudio de optimización con el catalizador [Au(NCMe)(CyJohnPhos)]SbF₆.

Entrada	Compuesto	Catalizador (5%)	Disolvente	t (h)	Resultado
17	39	[Au(NCMe)(CyJohnPhos)]SbF ₆	Acetona	7h	44
18	39	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	CH ₃ CN	7h	44
19	39	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	Etanol	5h	44
18	40	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	Acetona	7h	45
19	40	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	CH ₃ CN	5h	45
20	40	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	Etanol	2h	45
21	41	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	Acetona	7h	46
22	41	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	CH ₃ CN	7h	46
23	41	[Au(NCMe)CyJohnPhos]SbF ₆	Etanol	5h	46

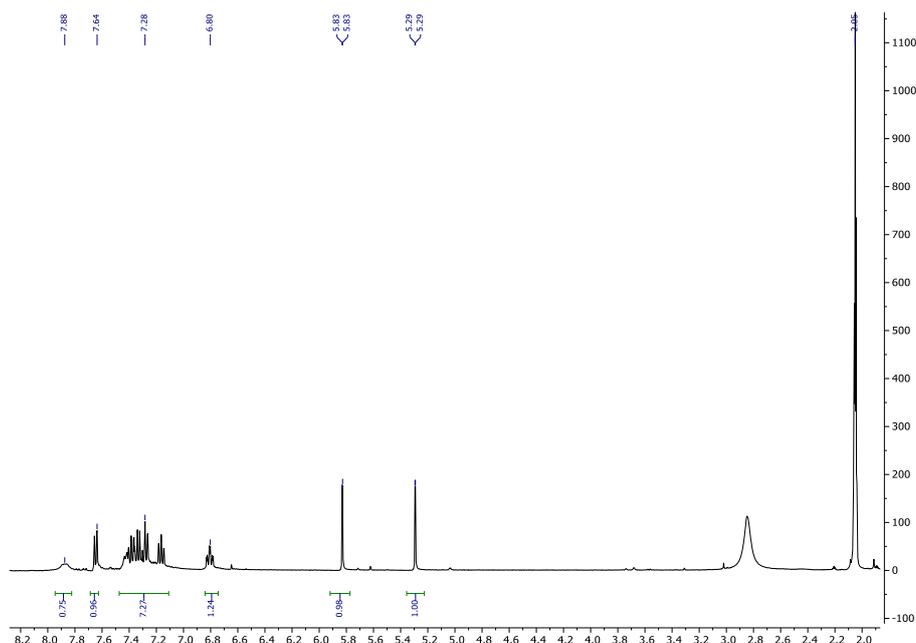
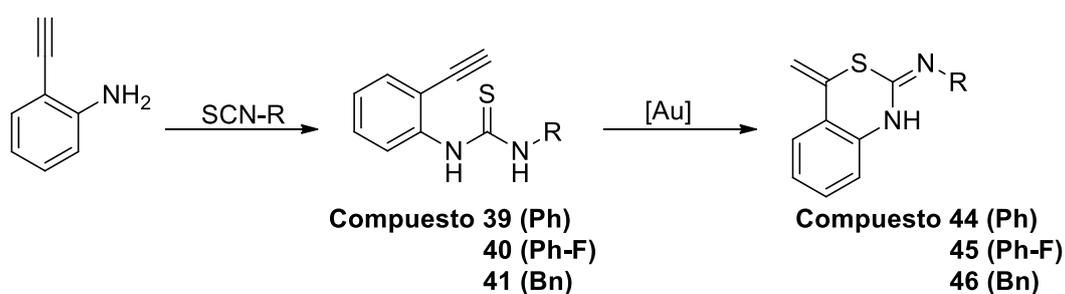


Figura 1.30. Espectro de ^1H RMN del compuesto **45**.

Observando las señales en el espectro de protón de la Figura 1.30 y aunque todos los compuestos presentarían en realidad el mismo tipo de señales, podemos concluir que el compuesto del camino C es el derivado mayoritario, mientras que de los otros dos posibles solo se observa uno que por el desplazamiento químico de las señales de los protones del CH_2 se asignaría al camino B, ya que los protones del anillo indol saldrían a un desplazamiento químico superior.

Gracias a la obtención de una estructura cristalina del compuesto **44**, se pudo corroborar como en este caso, es el azufre el que ataca al triple enlace para formar un ciclo de seis miembros. De forma que dependiendo del catalizador de oro se puede obtener estos productos **44-46** selectivamente o también se puede obtener una mezcla minoritaria con otro anillo de seis miembros producido por un ataque intramolecular del nitrógeno de la tiourea.



Esquema 1.30. Síntesis de los compuestos **44-46**.

Se ha corroborado la estructura de este compuesto intermedio de seis miembros por difracción de rayos X, por primera vez en este tipo de ciclaciones, y se recoge en la Figura 1.31.

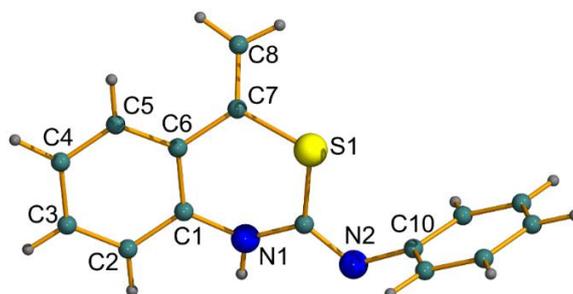


Figura 1.31. Estructura molecular del compuesto 44.

Los compuestos orgánicos con anillos de seis miembros, 4 carbonos, un nitrógeno y un azufre se denominan tiazinas y en su forma reducida como la que aquí se presenta son las tiomorfolinas. Las tiazinas tienen un amplio espectro de propiedades biológicas, como agonistas del receptor de cannabinoides, actividad anti-VIH.⁵³ Además, las tiazinas también mejoran la vascularización y reducen el exceso de agua del estómago y, por lo tanto, se usan como agentes anabólicos.⁵⁴ Además, también se ha mostrado en la literatura su importancia como agentes antituberculosos, analgésicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antimicóticos, antivirales, antipalúdicos, antitumorales y antidiabéticos.⁵⁵ Las más normales son las tiazinas 1,4 sustituidas, siendo las 1,2 muy poco usuales y las 1,3 no conocidas. Sin embargo, la cefalosporina C (Figura 1.45), un antibiótico muy útil, tiene un núcleo de 1,3-tiazina como núcleo activo.⁵⁶

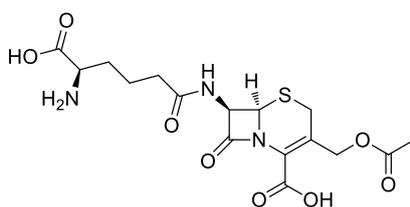


Figura 1.32 Estructura de cefalosporina C.

⁵³ V. V. Dabholkar, S. D. Parab, *Pharm. Res.*, **2011**, *5*, 127.

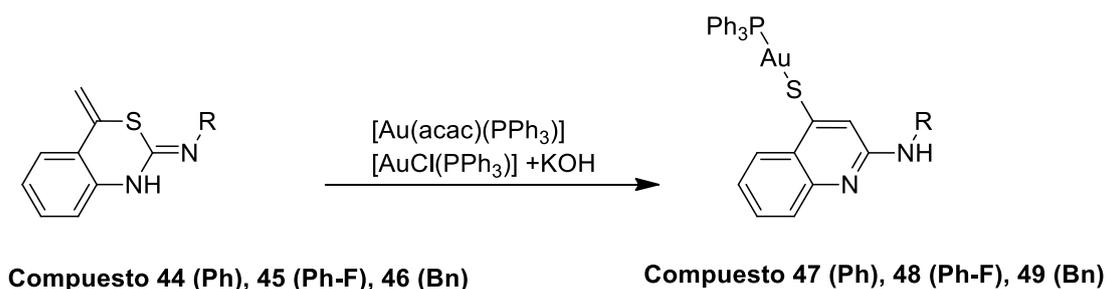
⁵⁴ S. K. Doifode, M. Wadekar, S. Rewatkar, *Orient. J. Chem.*, **2011**, *27*, 1265.

⁵⁵ a) L. D. S. Yadav, V. K. Rai, B. S. Yadav, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 1306 b) L. Fu, D. Ye, S. Yin, *Chem. Nat. Compd.*, **2010**, *46*, 169.

⁵⁶ L. D. S. Yadav, A. Singh, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 5637.

La obtención de estos heterociclos de azufre y nitrógeno de seis miembros no es muy común, en contraste con la estabilidad y abundancia de los derivados tiazoles de cinco miembros. Por ello pensamos que estos compuestos podrían ser muy reactivos a la hora de originar nuevos heterociclos más estables. Si nos fijamos bien en la estructura una reordenación entre el átomo de azufre y el alqueno daría lugar a un ciclo tio-quinolina de gran estabilidad. Además, teniendo en cuenta la elevada apetencia que tiene el oro por la coordinación a azufre, preferentemente en forma de tiolato, se decidió probar la reacción con un compuesto de oro básico, es decir que en el caso de transcurrir la reacción con re-organización del anillo y formarse un derivado tiol se pudiese desprotonar y coordinar a oro.

A partir de los compuestos **44**, **45** y **46** se realizó la reacción utilizando diferentes sales de oro que tienen como característica que pueden ejercer de base en la reacción, como $[\text{Au}(\text{acac})\text{PPh}_3]$ o compuestos de oro como $[\text{AuCl}(\text{PPh}_3)]$, $[\text{AuCl}(\text{JonhPhos})]$ más KOH como base (Esquema 1.31).



Esquema 1.31. Síntesis de nuevas quinolinas.

En el espectro de RMN de ^1H se puede observar cómo han desaparecido las señales de los dos protones del doble enlace y ha aumentado la cantidad de protones aromáticos correspondientes a la trifenilfosfina, de forma que ahora todos los protones de la molécula son aromáticos (Figura 1.33). El espectro sería el esperable de la formación de una derivado tio-quinolina coordinado al fragmento oro-fosfina como habíamos propuesto.

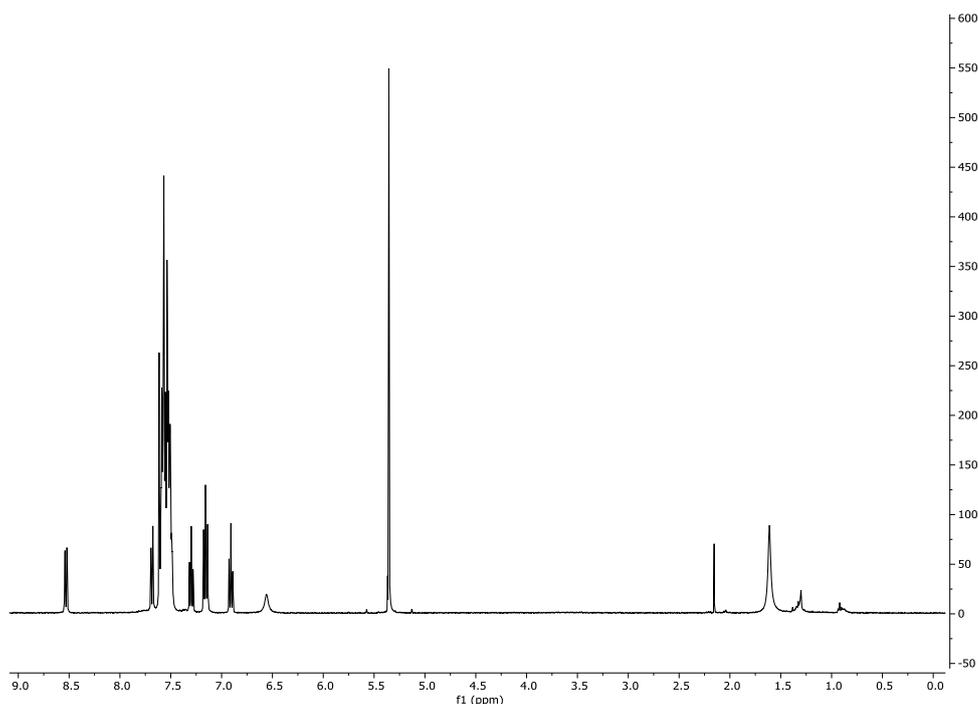
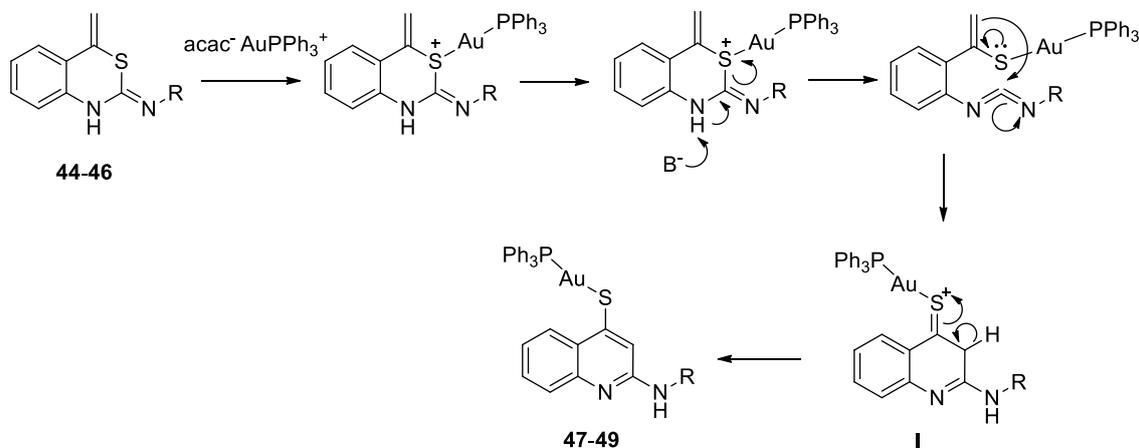


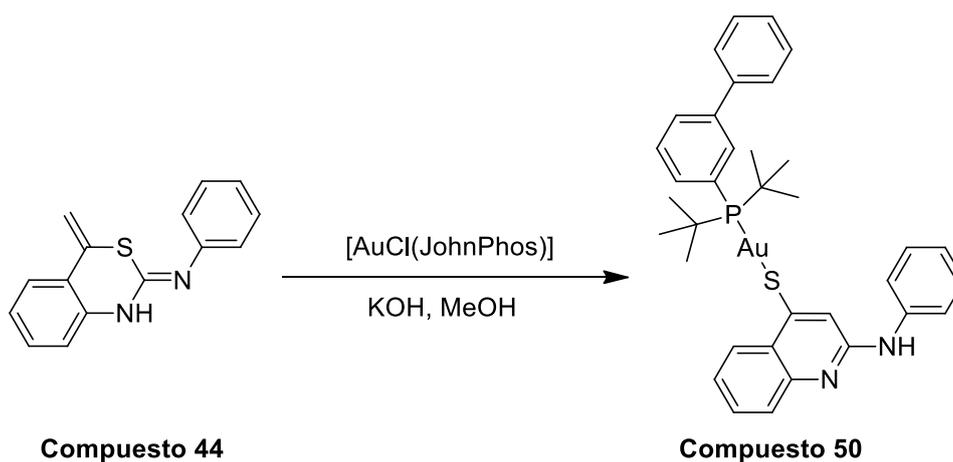
Figura 1.33. Espectro de ^1H RMN para el complejo **47**.

En el siguiente Esquema 1.32, se propone el posible mecanismo de formación de estos derivados **47-49**, partiendo de los heterociclos de tiazina **44-46**. Simultáneamente, se produciría la coordinación del fragmento AuPPh_3^+ al átomo de azufre, que quedaría así cargado positivamente, a la vez que la base, el acetilacetato, desprotonaría el NH del ciclo. Esto daría lugar a la formación de una carbodiimida intermedia con apertura del ciclo. Una posterior reorganización por ataque del doble enlace al carbono de la carbodiimida, generaría la formación de un nuevo ciclo **I**. Finalmente, la aromatización del anillo originaría la tioquinolina de oro **47-49**.



Esquema 1.32. Posible mecanismo de formación de los complejos **47-49**.

Para ver la generalidad de la reacción para dar lugar a este novedoso proceso de ciclación, se hizo reaccionar el compuesto **44** con un complejo de oro con una fosfina diferente, [AuCl(JohnPhos)], en presencia de una base como terbutóxido de potasio y utilizando metanol como disolvente. El resultado fue de nuevo la formación de los ciclos amino-tioquinolina en donde el grupo tio está coordinado al centro de oro en forma de tiolato (Esquema 1.33).



Esquema 1.33. Síntesis del derivado de oro con la fosfina JohnPhos.

Se ha resuelto la estructura cristalina para dos de los derivados quinolina, uno con PPh₃ y otro con la JohnPhos (Figura 1.34). En los dos complejos el oro se encuentra en un entorno lineal y con distancias Au-S y Au-P muy similares. Se puede comprobar también la aromaticidad del ligando quinolina.

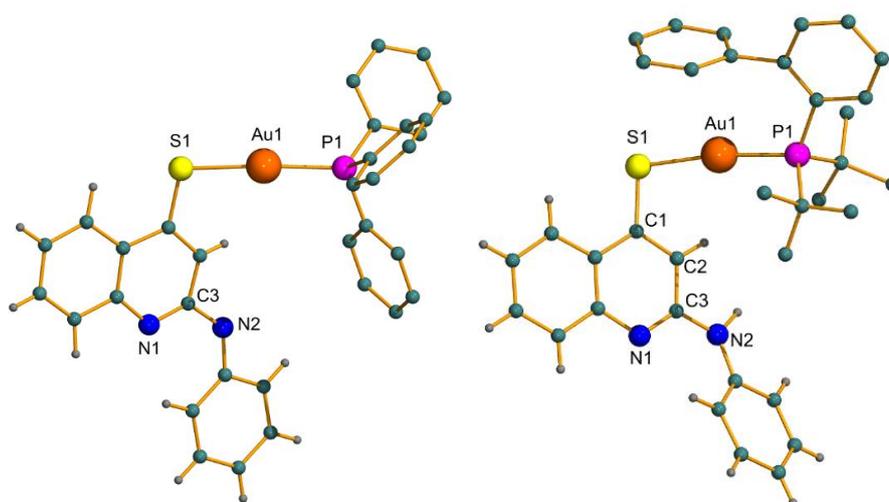


Figura 1.34. Estructura cristalina de los compuestos **47** y **50**.

1.8. Conclusiones

En este capítulo se ha continuado un estudio de ciclación de derivados tiourea a través de la síntesis de propargilaminas con isotiocianatos. Se ha comprobado que la cadena alquílica es muy importante para conseguir los derivados tiazolidina, debido a que un aumento de ésta no conlleva a la ciclación espontánea del compuesto. Por otro lado, se ha comprobado que los derivados de aminas secundarias daban consigo la formación de derivados cíclicos iminotiazolidinas, mientras que aquellas aminas primarias podrían formar derivados tiazolinas debido a la posible resonancia del protón NH. A su vez, estos derivados cíclicos obtenidos con aminas primarias, podrían seguir reaccionando con un exceso de isotiocianato, para dar lugar a compuestos tiourea-tiazolina. Se comprobó experimentalmente que las reacciones con isotiocianatos no llegaban a formar sus derivados cíclicos oxazolininas.

Estos compuestos cíclicos fueron coordinados a plata y oro con diferentes estequiometrías para comprobar su efecto antitumoral, donde no se consiguieron buenos resultados. Sin embargo, los compuestos **11** y **24**, fueron seleccionados por la plataforma Open Innovation Drug Discovery (OIDD) de Lilly, para probar su actividad en distintas enfermedades. Desafortunadamente no se pudo comprobar su eficacia de una manera más exhaustiva debido al cierre de la plataforma.

Se hizo un estudio de ciclación de derivados tiourea con sustituyentes alquino, para formar compuestos cíclicos de 6 miembros, donde el azufre correspondiente a la tiourea quedaría dentro del anillo. Estas reacciones fueron llevadas a cabo con catalizadores de oro con muy buenos resultados. Finalmente se hicieron reaccionar estos compuestos cíclicos con diferentes complejos de oro y en unas condiciones determinadas para conseguir la ruptura de un enlace C-S del anillo formado anteriormente, para conseguir la síntesis de quinolininas.

1.9. Experimental

1.9.1. Starting Materials

The starting materials [Ag(OTf)PPh₃], [Au(acac)(PPh₃)]⁵⁷, [Au(C₆F₅)(tht)], [AuCl(JohnPhos)]⁵⁸, [AuCl(PPh₃)]⁵⁹, [Au(NCMe)(CyJohnPhos)], [Au(NCMe)(JohnPhos)], [Au(OTf)PPh₃], [Au(OTf)(tht)₂] and [Au((PMes₃)₂)] were prepared according to published procedures. All other reagents were commercially available and were used without further purification.

1.9.2. Instrumentation

1.9.2.1. Mass Spectrometry

Mass spectra were recorded on a Bruker Esquire 3000 PLUS, with the electrospray (ESI) technique and time of flight (Q-TOF) was used as the analyser.

1.9.2.2. NMR Spectroscopy

¹H, ¹³C{¹H}, ¹⁹F{¹H} and ³¹P{¹H} NMR, including 2D experiments like COSY (¹H-¹H), HSQC (¹H-¹³C) and HMBC (¹H-¹³C), were recorded at room temperature on a Bruker Avance 400 spectrometer (¹H 400.0 MHz, ¹³C 100.6 MHz, ¹⁹F 376.5, ³¹P 162.0 MHz), with chemical shifts (δ, ppm) reported relative to the solvent peaks of the deuterated solvent. All *J* values are given in Hz.

1.9.3. Crystallography

Crystals were mounted in inert oil on glass fibres and transferred to the cold gas stream of an Xcalibur Oxford Diffraction diffractometer equipped with a low-temperature attachment. Data were collected using monochromated Mo K_α radiation (λ = 0.71073 Å). Scan type ω. Absorption corrections based on multiple scans were applied with the program SADABS⁶⁰ or using spherical harmonics implemented in SCALE3 ABSPACK scaling algorithm⁶¹. The structures were solved by direct methods and refined on *F*²

⁵⁷ D. Gibson, B. F. G. Johnson, J. Lewis, *J. Chem. Soc. A.*, **1970**, 367.

⁵⁸ A. S. K. Hasmhi, B. Bechem, A. Loos, M. Hamzic, F. Rominger, H. Rabaa, *Aust. J. Chem.*, **2014**, 67,481.

⁵⁹ C. A. McAuliffe, R. V. Parish, P.D. Randall, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1979**, 1730.

⁶⁰ G. M. Sheldrick, *SADABS, Program for adsorption correction*, University of Göttingen, Göttingen, Germany, **1996**.

⁶¹ *CrysAlisPro*, Agilent Technologies, Version 1.171.35.11. Multi-scans absorption correction with SCALE3 ABSPACK scaling algorithm.

using the program SHELXL-97⁶². All nonhydrogen atoms were refined anisotropically. In most of the cases, hydrogen atoms were included in calculated positions and refined using a riding model; some of the hydrogen atoms have been located in the diffraction map. Refinements were carried out by full-matrix least-squares on F^2 for all data.

1.9.4. Cytotoxicity Studies

The previous steps to the MTT assay were:

- Cell growth in the culture medium.
- Culture cell count.
- Seeding cells in "multi-well" plates.
- Adding the complexes under study.
- Using the MTT assay.

The first three points were made by the group of Professor Isabel Marzo, in the Department of Biochemistry at the University of Zaragoza.

1.9.4.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay

A-549 cells were grown in DMEM medium supplemented with 5% fetal bovine serum (SFB), 100 mg · mL⁻¹ pyruvate, 2.2 g · L⁻¹ sodium bicarbonate, 5 mL non-essential amino acids (Invitrogen), 2mM L-glutamine and antibiotics. Cells were grown at $2 \cdot 10^5$ cells / mL, in 96-well flat-bottomed microplates and allowed to attach for 24 h prior to addition of compounds.

The complexes were solved in DMSO and added at different concentrations between 1 and 50 µM in quadruplicate. Each complex was added in four different concentrations of the drugs obtained by different dilutions and with a column of negative controls (cells with a DMSO concentration similar to which contain the solutions of the complexes) and another column of /blank (medium only).

To make these dilutions, between 2 and 3 mg of the compound were weighed and dissolved in DMSO to obtain a stock solution of 0.1M. It was then diluted to obtain a

⁶² G. M. Sheldrick, *SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement*, University of Göttingen, Göttingen, Germany, **1996**.

solution of 0.001M in medium (DMEM) and finally from this, dilutions were made to obtain the different concentrations that would be added in the 96-well plate.

Cells were incubated with our compounds for 24 h hours at 37 ° C and with a 5% CO₂ atmosphere. Then, 10 µL of MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazole) of a concentration 5 mg · mL⁻¹ was added to each well and plates were incubated for 2 h at the same conditions as described above (37 ° C and with a 5% CO₂ atmosphere). The crystals of blue formazan that it will have formed, it will be adhered to the bottom of the well, so before dissolving them it is necessary to remove the supernatant by the “flipping” technique and then dissolve them in DMSO (100 µL per well). The plates are shaken to help to dissolve the formazan precipitated. The optical density was measured at 550 nm using a 96-well multiscanner autoreader (ELISA). The IC₅₀ was calculated by nonlinear regression analysis.

The results are expressed in% of living cells and are obtained in the following formula:

$$\% \text{ living cells} = (A - B) \times 100$$

Being *A* the average optical density of treated cells and *B* the optical density of control cells.

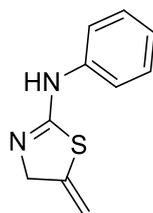
Comparison values are made on a 50% growth inhibition basis (IC₅₀) in cells treated with specific agents.

1.9.5. Synthesis

Synthesis of compound 1

To a solution of propargylamine (6.4 μ l, 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1) (10 ml), phenyl isothiocyanate was added (11.9 μ l, 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. A light brown precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 70%



1

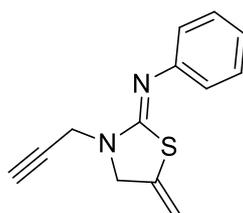
^1H NMR (ppm) (400 MHz, CDCl_3): δ = 7.28 (m, 2H, $C_{ortho}\text{Ph}$); 7.17 (m, 2H, $C_{meta}\text{Ph}$); 7.07 (tt, 1H, $C_{para}\text{Ph}$, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz); 5.20 (m, 1H, CH_2); 5.12 (m, 1H, CH_2); 4.58 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz)

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CDCl_3): δ = 158.4 (s, 1C, N-C=N); 145.1 (s, 1C, $C_{ipso}\text{Ph-NH}$); 144.2 (s, 1C, C=CH_2); 129.1 (s, 2C, $C_{ortho}\text{Ph}$) 123.6 (s, 1C, $C_{para}\text{Ph}$); 121.0 (s, 2C, $C_{meta}\text{Ph}$); 104.2 (s, 1C, CH_2); 59.3 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-N}$)

Synthesis of compound 2

To a solution of dipropargylamine (10.3 μ l, 0.1 mmol) in ethanol (10 ml), phenyl isothiocyanate was added (11.9 μ l, 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure and a yellow oil was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 64%



2

^1H NMR (ppm) (400 MHz, CDCl_3): δ = 7.30 (m, 2H, $C_{ortho}\text{Ph}$); 7.09 (m, 1H, $C_{para}\text{Ph}$); 6.95 (m, 2H, $C_{meta}\text{Ph}$); 5.28 (m, 1H, CH_2); 5.12 (m, 1H, CH_2); 4.38 (d, 2H, $\text{CH}_2 - \text{C} \equiv \text{CH}$, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz); 4.37 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz); 2.35 (t, 1H, CH , $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CDCl_3): δ = 156.3 (s, 1C, N-C=N); 151.2 (s, 1C, $C_{ipso}\text{Ph-NH}$); 137.0 (s, 1C, C-CH_2); 129.0 (s, 2C, $C_{ortho}\text{Ph}$); 123.6 (s, 1C, $C_{para}\text{Ph}$); 121.9 (s, 2C, $C_{meta}\text{Ph}$); 106.0 (s, 1C, CH_2); 77.4 (s, 1C, $\text{C} \equiv \text{CH}$); 72.9 (s, 1C, CH); 55.1 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-N}$); 33.3 (s, 1C, $\text{CH}_2 - \text{C} \equiv \text{CH}$).

Synthesis of compound 3

To a solution of N-methyl-propargylamine (8.2 μl , 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1) (10 ml), phenyl isothiocyanate was added (11.9 μl , 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 50%



3

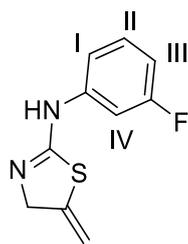
^1H NMR (ppm) (400 MHz, CDCl_3): δ = 7.27 (m, 2H, $C_{ortho}\text{Ph}$); 7.05 (m, 1H, $C_{para}\text{Ph}$); 6.93 (m, 2H, $C_{meta}\text{Ph}$); 5.20 (m, 1H, CH_2); 5.07 (m, 1H, CH_2); 4.28 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz); 3.09 (s, 1H, CH_3).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CDCl_3): δ = 151.8 (s, 1C, $C_{ipso}\text{Ph-NH}$); 137.6 (s, 1C, C=CH_2); 129.0 (s, 2C, $C_{ortho}\text{Ph}$); 123.4 (s, 1C, $C_{para}\text{Ph}$); 122.2 (s, 2C, $C_{meta}\text{Ph}$); 105.3 (s, 1C, CH_2); 58.1 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-N}$); 33.2 (s, 1C, CH_3).

Synthesis of compound 4

To a solution of dipropargylamine (10.3 μl , 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1) (10 ml), 3-fluorophenylisothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 60%



4

¹H NMR (ppm) (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.23 (m, 1H, II); 6.98 (td, 1H, IV, $^4J_{HH}$ = 10.2 Hz, $^5J_{HH}$ = 2.1 Hz); 6.87 (ddd, 1H, I, $^3J_{HH}$ = 8.0 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.0 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 6.75 (tdd, 1H, III, $^3J_{HH}$ = 8.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 5.23 (m, 1H, CH₂); 5.14 (m, 1H, CH₂); 4.56 (t, 2H, CH₂-N, $^3J_{HH}$ = 2.4 Hz).

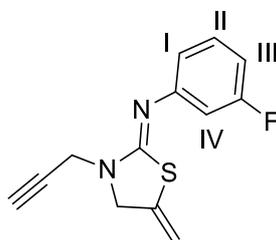
¹⁹F NMR (ppm) (376 MHz, CDCl₃): δ = -108.5 (m, 1F, Ph-F)

¹³C APT (ppm) (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.3 (d, 1C, C_{ipso}Ph, $^1J_{CF}$ = 243.7 Hz); 130.2 (d, 1C, II, $^3J_{CF}$ = 9.6 Hz); 116.4 (d, 1C, I, $^4J_{CF}$ = 2.5 Hz); 110.2 (d, 1C, III, $^2J_{CF}$ = 21.12 Hz); 108.2 (d, 1C, IV, $^2J_{CF}$ = 23.8 Hz); 104.8 (s, 1C, CH₂); 60.44 (s, 1C, CH₂-N).

Synthesis of compound 5

To a solution of dipropargylamine (10.3 μ l, 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1) (10 ml), 3-fluorophenylisothiocyanate was added (12.0 μ l, 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure and a yellow oil was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 58%



5

¹H NMR (ppm) (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.22 (m, 1H, II); 6.72 (m, 3H, I+III+IV); 5.27 (m, 1H, CH₂); 5.12 (m, 1H, CH₂); 4.38 (t, 2H, CH₂-N, $^4J_{HH}$ = 2.3 Hz); 4.36 (d, 2H, CH₂ - C \equiv CH₂); $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 2.33 (t, 1H, CH, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz).

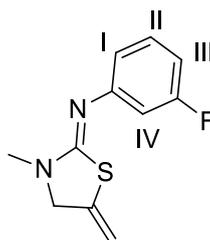
^{19}F NMR (ppm) (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -112.9$ (m, 1F, *Ph-F*)

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 163.2$ (d, 1C, C_{ipsoPh} , $^1J_{\text{CF}} = 243.7$ Hz); 156.7 (s, 1C, N-C=N); 151.9 (d, 1C, $C_{\text{ipsoPh-NH}}$, $^3J_{\text{CF}} = 9.6$ Hz); 136.7 (s, 1C, C=CH₂); 130.1 (d, 1C, *II*, $^3J_{\text{CF}} = 9.6$ Hz); 117.7 (d, 1C, *I*, $^4J_{\text{CF}} = 2.7$ Hz); 110.3 (d, 1C, *III*, $^2J_{\text{CF}} = 21.1$ Hz); 109.3 (d, 1C, *IV*, $^2J_{\text{CF}} = 22.0$ Hz); 106.3 (s, 1C, CH₂); 77.7 (s, 1C, C \equiv CH); 73.1 (s, 1C, CH); 55.2 (s, 1C, CH₂-N); 33.3 (s, 1C, CH₂ - C \equiv CH).

Synthesis of compound 6

To a solution of N-methyl-propargylamine (8.2 μl , 0.1 mmol) in ethanol (10 ml), 3-fluorophenylisothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure and a transparent oil was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 60%



6

^1H NMR (ppm) (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.20$ (m, 1H, *II*); 6.74 (m, 1H, *IV*); 6.71 (m, 1H, *I*); 6.65 (m, 1H, *III*); 5.21 (m, 1H, CH₂); 5.09 (m, 1H, CH₂); 4.28 (t, 2H, CH₂-N, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz); 3.07 (s, 3H, CH₃).

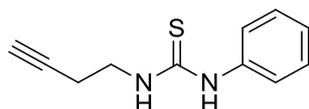
^{19}F NMR (ppm) (376 MHz, CDCl_3): $\delta = -113.0$ (m, 1F, *Ph-F*)

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 163.8$ (d, 1C, C_{ipsoPh} , $^1J_{\text{CF}} = 245.3$ Hz); 157.8 (s, 1C, N-C=N); 154.0 (d, 1C, $C_{\text{ipsoPh-NH}}$, $^3J_{\text{CF}} = 9.6$ Hz); 137.6 (s, 1C, C=CH₂); 130.3 (d, 1C, *II*, $^3J_{\text{CF}} = 9.7$ Hz); 118.3 (d, 1C, *I*, $^4J_{\text{CF}} = 2.7$ Hz); 110.2 (d, 1C, *III*, $^2J_{\text{CF}} = 21.3$ Hz); 109.7 (d, 1C, *IV*, $^2J_{\text{CF}} = 22.0$ Hz); 105.9 (s, 1C, CH₂); 57.9 (s, 1C, CH₂-N); 32.8 (s, 1C, CH₃).

Synthesis of compound 7

To a solution of 1-amino-3-butyne (8.2 μl , 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1) (10 ml), isothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 58%



7

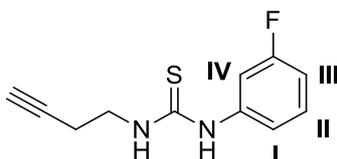
^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.82 (s, 1H, NH-Ph); 7.44 (m, 2H, $H_{ortho\text{Ph}}$); 7.32 (tt, 1H, $H_{para\text{Ph}}$, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz); 7.25 (m, 2H, $H_{meta\text{Ph}}$); 6.41 (s br, 1H, NH-CH_2); 3.81 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 2.55 (td, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz); 1.93 (t, 1H, CH , $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 180.8 (s, 1C, C=S); 135.9 (s, 1C, $\text{C}_{ipso\text{Ph}}$); 130.3 (s, 2C, $\text{C}_{ortho\text{Ph}}$); 127.6 (s, 1C, $\text{C}_{para\text{Ph}}$); 125.4 (s, 2C, $\text{C}_{meta\text{Ph}}$); 81.5 (s, 1C, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 70.4 (s, 1C, CH); 43.7 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 18.9 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$).

Synthesis of compound 8

To a solution of 1-amino-3-butyne (8.2 μl , 0.1 mmol) in ethanol (10 ml), 3-fluorophenylisothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure and a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 62%



8

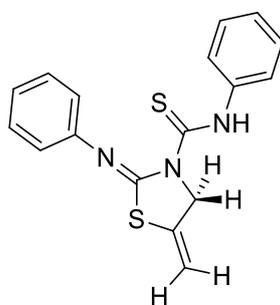
^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 8.07 (s br, 1H, NH-Ph); 7.39 (m, 1H, II), 7.01 (m, 3H, I+III+IV), 6.52 (s broad, 1H, NH-CH_2); 3.82 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 2.57 (td, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$, $^3J_{\text{HH}} = 6.2$, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz); 2.00 (t, 1H, CH , $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 180.5$ (s, 1C, $\text{C}=\text{S}$), 163.5 (d, 1C, $\text{C}_{\text{ipso}}\text{Ph-F}$, $^1J_{\text{CF}} = 247.8$ Hz); 137.6 (d, 1C, $\text{C}_{\text{ipso}}\text{Ph-F}$, $^3J_{\text{CF}} = 9.4$ Hz); 131.7 (d, 1C, *II*, $^3J_{\text{CF}} = 9.2$ Hz); 120.5 (d, 1C, *I*, $^4J_{\text{CF}} = 3.2$ Hz); 114.3 (d, *III*, $^2J_{\text{CF}} = 20.9$ Hz); 112.3 (d, *IV*, $^2J_{\text{CF}} = 23.3$ Hz); 81.5 (s, 1C, $\text{C} \equiv \text{CH}$); 70.7 (s, 1C, CH); 43.7 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$); 18.9 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$).

Synthesis of compound 9

To a solution of propargylamine (12.8 μl , 0.2 mmol) in ethanol (20 ml) was added some excess of phenyl isothiocyanate (71.5 μl , 0.6 mmol) and the solution stirred for 72 h. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 75%



9

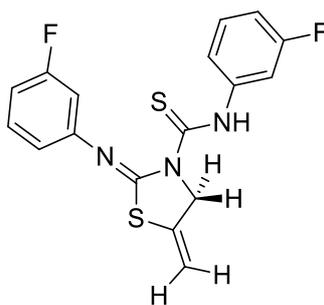
^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.67$ (m, 2H, *Ph*); 7.42 (m, 4H, *Ph*); 7.23 (m, 2H, *Ph*); 7.13 (m, 2H, *Ph*); 5.52 (m, 1H, CH_2); 5.38 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz); 5.24(dt, 1H, CH_2 , $^2J_{\text{HH}} = 2.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 178.6$ (s, 1C, $\text{C}=\text{O}$); 158.6 (s, 1C, $\text{N}=\text{C}-\text{N}$); 149.2 (s, 1C, $\text{C}_{\text{ipso}}\text{Ph-N}$); 139.9 (s, 1C, $\text{C}_{\text{ipso}}\text{Ph-NH}$); 132.8 (s, 1C, $\text{CH}_2=\text{C}$); 130.3 (s, 2C, *Ph*); 129.4 (s, 2C, *Ph*); 126.8 (s, 2C, *Ph*); 126.3 (s, 1C, *Ph*); 125.2 (s, 1C, *Ph*); 122.3 (s, 2C, *Ph*); 107.9 (s, 1C, CH_2); 60.9 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-N}$).

Synthesis of compound 10

To a solution of propargylamine (12.8 μl , 0.2 mmol) in ethanol (20 ml) was added some excess of 3-fluorophenyl isothiocyanate (72.0 μl , 0.6 mmol) and the solution stirred for 72 h. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 73%



10

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.79-6.97 (m, 8H, *arom.*); 5.54 (m, 1H, CH_2); 5.38 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$; $J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz); 5.28 (m, 1H, CH_2).

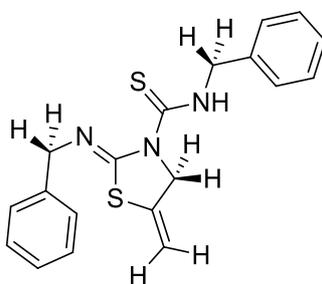
^{19}F NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = -110.99 (m, 1F, *Ph-F*); -111.50 (m, 1F, *Ph-F*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 165.5 (s, 1C, $\text{C}=\text{S}$); 157.9 (s, 1C, $\text{N}=\text{C}-\text{N}$); 150.0 (s, 1C, *C_{ipsoPh}*); 140.9 (s, 1C, *C_{ipsoPh}*); 131.2 (s, 1C, $\text{CH}_2=\text{C}-\text{CH}_2$); 131.9 (d, 1C, *C_{metaPh}*, $^3J_{\text{CF}} = 9.5\text{Hz}$); 130.9 (d, 1C, *C_{metaPh}*, $^3J_{\text{CF}} = 9.4\text{Hz}$); 120.8 (d, 1C, *C_{paraPh}*, $^4J_{\text{CF}} = 3.0\text{Hz}$); 118.4 (d, 1C, *C_{paraPh}*, $^4J_{\text{CF}} = 3.0\text{Hz}$); 113.3 (d, 1C, *C_{orthoPh}*, $^2J_{\text{CF}} = 21.4\text{Hz}$); 112.9 (d, 1C, *C_{orthoPh}*, $^2J_{\text{CF}} = 21.3\text{Hz}$); 112.0 (d, 1C, *C_{orthoPh}*, $^2J_{\text{CF}} = 25.6\text{Hz}$); 109.8 (d, 1C, *C_{orthoPh}*, $^2J_{\text{CF}} = 23.3\text{Hz}$); 108.3 (s, 1C, CH_2); 61.0 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-N}$).

Synthesis of compound 11

To a solution of propargylamine (12.8 μl , 0.2 mmol) in ethanol (20 ml) was added some excess of benzyl isothiocyanate (78 μl , 0.6 mmol) and the solution stirred for 72 h. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 75%



11

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 12.71 (s br, 1H, *NH*); 7.32-7.29 (m, 5H, *Ph*); 7.25-7.23 (m, 3H, *Ph*); 7.16-7.13 (m, 2H, *Ph*); 5.52 (m, 1H, CH_2); 5.30 (m, 1H,

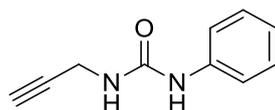
CH_2); 5.26 (t, 2H, CH_2-N , $^4J_{HH} = 2.3$ Hz); 4.81 (d, 2H, $NH-CH_2$, $^3J_{HH} = 4.9$ Hz); 4.41 (s, 2H, $N-CH_2-Ph$).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): $\delta = 180.2$ (s, 1C, $C=S$); 156.9 (s, 1C, $N-C=N$); 139.5 (s, 1C, $C_{ipso}Ph-CH_2-N$); 138.2 (s, 1C, $C_{ipso}Ph-CH_2-NH$); 133.2 (s, 1C, $C=CH_2$); 129.5-127.8 (s, 10C, Ph); 107.8 (s, 1C, CH_2); 60.4 (s, 1C, CH_2-N); 59.0 (s, 1C, $N-CH_2-Ph$); 50.2 (s, 1C, $NH-CH_2$).

Synthesis of compound 12

To a solution of propargylamine (6.4 μ l, 0.1 mmol) in ethanol (5 ml), phenyl isocyanate (10.8 μ l, 0.1 mmol) was added and the solution stirred for 24h. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 99%



12

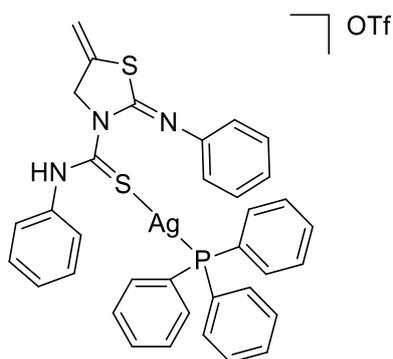
1H NMR (ppm) (400 MHz, $(CD_3)_2CO$): $\delta = 7.99$ (s, 1H, $NH-Ph$); 7.47 (m, 2H, $H_{ortho}Ph$); 7.22 (m, 2H, $H_{meta}Ph$); 6.93 (tt, 1H, $H_{para}Ph$, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, $^4J_{HH} = 1.1$ Hz); 6.04 (s br, 1H, $NH-CH_2$); 4.00 (dd, 2H, CH_2 , $^3J_{HH} = 5.7$ Hz, $^4J_{HH} = 2.5$ Hz); 2.64 (t, 1H, CH , $^4J_{HH} = 2.5$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): $\delta = 155.6$ (s, 1C, CO); 141.3 (s, 1C, $C_{ipso}Ph$); 129.5 (s, 2C, $C_{ortho}Ph$); 122.5 (s, 1C, $C_{para}Ph$); 119.2 (s, 2C, $C_{meta}Ph$); 82.3 (s, 1C, $C \equiv CH$); 71.8 (s, 1C, CH); 29.8 (s, 1C, CH_2).

Synthesis of compound 13

To a solution of compound 9 (32.5 mg, 0.1 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $[Ag(OTf)(PPh_3)]$ (51.9 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 2 h at room temperature with the exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 64%



13

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.54 (m, 21H, Ph); 7.26 (m, 1H, Ph); 7.20 (m, 1H, Ph); 7.12 (m, 2H, Ph); 5.59 (s br, 1H, CH_2); 5.46 (t br, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$); 5.35 (s br, 1H, CH_2).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 12.0 (s br, 1P, PPh_3).

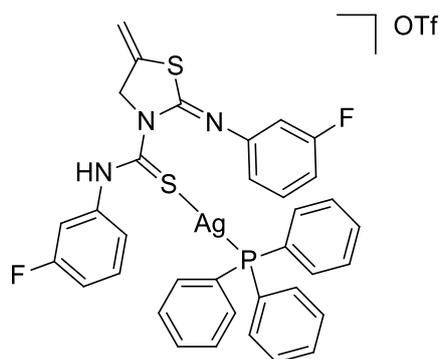
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 134.8 (d, 6C, $C_{ortho}\text{PPh}_3$, $^3J_{\text{H-P}} = 15.6$ Hz); 130.2 (d, 6C, $C_{meta}\text{PPh}_3$, $^3J_{\text{H-P}} = 9.6$ Hz); 132.2-122.1 (s, 13C, $C_{para}\text{PPh}_3 + \text{Ph}$); 109.0 (s, 1C, CH_2); 60.8 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-N}$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{AgN}_3\text{PS}_2]^+$ 694.0664. Found 694.0647.

Synthesis of compound 14

To a solution of compound **10** (36.1 mg, 0.1 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $[\text{Ag}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$ (51.9 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 2 h at room temperature with the exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 61%



14

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.51-7.34 (m, 20H, *arom.* + *PPh*₃); 7.06-6.95 (m, 3H, *Ph*); 5.57 (s, 1H, *CH*₂); 5.46 (s, 2H, *CH*₂); 5.36 (m, 1H, *CH*₂-N).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = -79.92 (s, 1F, *OTf*); -113.81(m, 1F, *Ph*); -114.25 (m, 1F, *Ph*).

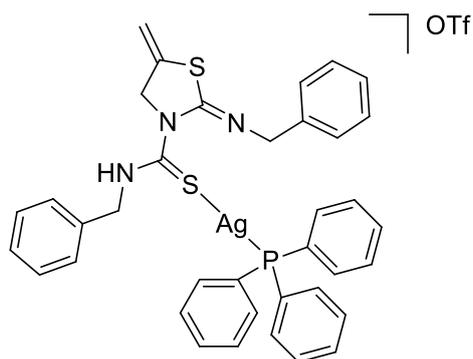
^{31}P $\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 12.20 (s, 1P, *PPh*₃).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 165.2 (s, 1C, *C=S*); 162.7 (s, 1C, *C*_{quaternary}); 134.7 (d, 6C, *C*_{ortho}*PPh*₃, $^2J_{\text{CP}} = 15.3\text{Hz}$); 132.1 (s, 3C, *C*_{para}*PPh*₃); 131.4 (d, 3C, *C*_{ipso}*PPh*₃, $^1J_{\text{CP}} = 35.1\text{Hz}$); 130.2 (d, 6C, *C*_{meta}*PPh*₃, $^3J_{\text{CP}} = 8.6\text{Hz}$); 118.3-109.6 (m, 10C, *Ph-F*); 109.5 (s, 2C, *CH*₂); 61.0 (s, 1C, *CH*₂-N).

Synthesis of compound 15

To a solution of compound **11** (35.3 mg, 0.1 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $[\text{Ag}(\text{OTf})(\text{PPh}_3)]$ (51.9 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 2 h at room temperature with the exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 60%



15

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.55-7.26 (m, 25H, *Ph*); 5.46 (m, 1H, *CH*₂); 5.38 (t, 2H, *CH*₂-N); 5.34 (m, 1H, *CH*₂); 4.95 (d, 2H, NH-*CH*₂, $J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz); 4.44 (s, 2H, N-*CH*₂).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 11.5 (s, 1P, *PPh*₃).

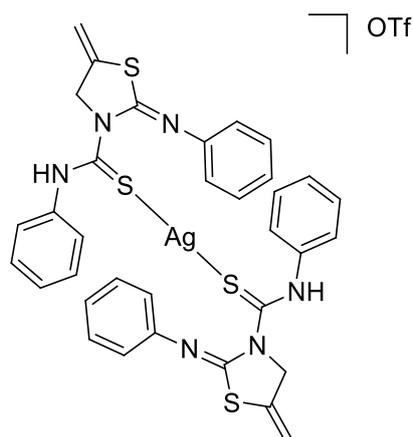
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 177.9 (s, 1C, C=S); 158.2 (s, 1C, N-C=N); 138.8 (s, 1C, *C*_{ipso}Ph-*CH*₂-N); 136.5 (s, 1C, *C*_{ipso}Ph-*CH*₂-NH); 133.2 (s, 1C, C=CH₂); 134.7 (d, 6C, *C*_{ortho}PPh₃, $^2J_{\text{HP}} = 15.3$ Hz); 132.1 (s, 3C, *C*_{para}PPh₃); 131.6 (d, 3C, *C*_{ipso}PPh₃, $^1J_{\text{HP}} = 31.5$ Hz); 130.2 (d, 6C, *C*_{meta}PPh₃, $^3J_{\text{HP}} = 8.4$ Hz); 129.8-128.1 (m, 10C, *Ph*); 108.9 (s, 1C, *CH*₂); 60.6 (s, 1C, *CH*₂-N); 59.2 (s, 1C, Ph-*CH*₂-N=C); 51.3 (s, 1C, Ph-*CH*₂-NH).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{AgN}_3\text{PS}_2]^+$ 724.0975. Found 724.0977.

Synthesis of compound 16

To a solution of compound **9** (65.0 mg, 0.2 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added AgOTf (25.7 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 1 h at room temperature with the exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitate a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 87%



16

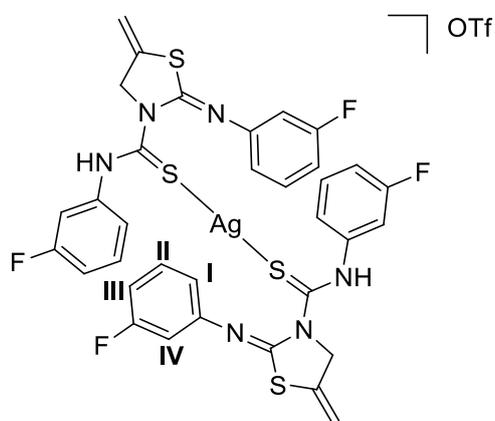
^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.61 (m, 4H, *Ph*); 7.41 (m, 10H, *Ph*); 7.26 (t br, 2H, *Ph*); 7.11 (d br, 4H, *Ph*); 5.64 (s br, 2H, CH_2); 5.42 (s br, 4H, $\text{CH}_2\text{-N}$); 5.39 (s br, 2H, CH_2).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 178.8 (s, 2C, $\text{C}=\text{S}$); 160.1 (s, 2C, $\text{C}_{\text{quaternary}}$); 148.1 (s, 2C, C_{ipso}); 137.5 (s, 2C, C_{ipso}); 132.0 (s, 2C, $\text{C}_{\text{quaternary}}$); 131.1-122.1 (s, 20C, *Ph*); 109.1 (s, 2C, CH_2); 60.7 (s, 2C, $\text{CH}_2\text{-N}$).

Synthesis of compound 17

To a solution of compound **10** (72.0 mg, 0.2 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml), AgOTf was added (25.7 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 1 h at room temperature with the exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield; 90%



17

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.61-6.92 (m, 16H, *arom.*), 5.64 (s br, 2H, CH_2); 5.44 (s br, 4H, $\text{CH}_2\text{-N}$); 5.42 (s br, 2H, CH_2).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = -79.9 (s, 1F, OTf); -112.24 (m, 2F, *Ph*); -114.15 (m, 2F, *Ph*).

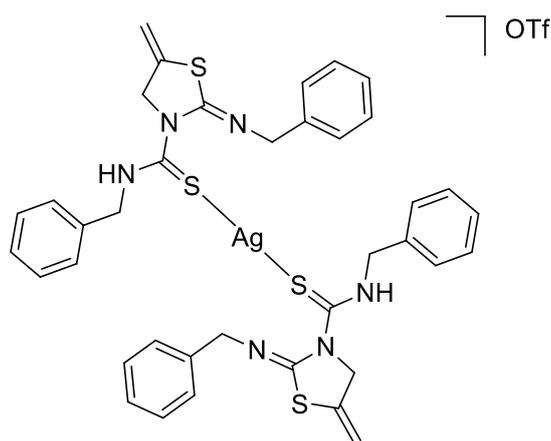
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 168.1 (s, 2C, $\text{C}=\text{S}$); 132.5 (d, 4C, *II*, $^3J_{\text{HF}} = 9.2\text{Hz}$); 132.2 (d, 4C, *II*, $^3J_{\text{HF}} = 9.3\text{Hz}$); 123.1 (s, 2C, *I*); 118.2 (s, 2C, *I*); 116.4 (d, 2C, *III*, $^2J_{\text{HF}} = 21.9\text{Hz}$); 114.6 (d, 2C, *IV*, $^2J_{\text{HF}} = 24.8\text{Hz}$); 113.6 (d, 2C, *III*, $^2J_{\text{HF}} = 22.1\text{Hz}$); 109.7 (d, 2C, *IV*, $^2J_{\text{HF}} = 23.9\text{Hz}$); 109.5 (s, 2C, CH_2); 60.8 (s, 2C, $\text{CH}_2\text{-N}$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{AgF}_4\text{N}_6\text{S}_4]^+$ 831.0079. Found 831.0056.

Synthesis of compound 18

To a solution of compound **11** (72.0 mg, 0.2 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added AgOTf (25.7 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 1 h at room temperature with the exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 88%



18

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.33 (m, 10H, *Ph*); 7.24 (m, 6H, *Ph*); 7.13 (m, 4H, *Ph*); 5.52 (m, 2H, CH_2); 5.39 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-N}$); 5.35 (m, 2H, CH_2); 4.98 (m, 4H, NH-CH_2); 4.43 (s, 4H, N-CH_2).

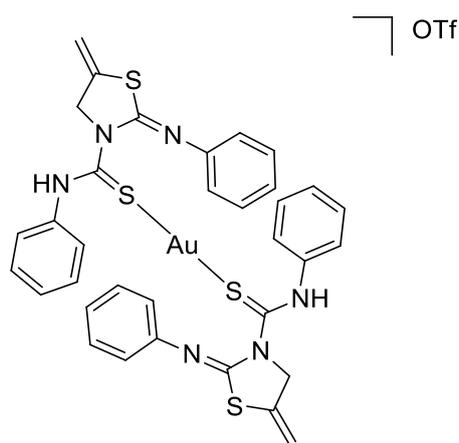
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 176.5$ (s, 2C, $\text{C}=\text{S}$); 156.5 (s, 2C, $\text{N}-\text{C}=\text{N}$); 138.7 (s, 2C, $\text{C}_{\text{ipso}}\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{N}$); 136.0 (s, 2C, $\text{C}_{\text{ipso}}\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{NH}$); 132.0 (s, 2C, $\text{CH}_2=\text{C}$); 130.0-128.1 (s, 20C, *Ph*); 109.0 (s, 2C, CH_2); 60.5 (s, 2C, CH_2-N); 59.2 (s, 1C, $\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{N}=\text{C}$); 51.5 (s, 1C, $\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{NH}$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{AgN}_6\text{S}_4]^+$ 815.1083. Found 815.1099.

Synthesis of compound 22

To a solution of $\text{Au}(\text{tht})_2\text{OTf}$ (52.2 mg, 0.1 mmol) which has been prepared *in situ* in CH_2Cl_2 (10 ml) was added compound **9** (65.0 mg, 0.2 mmol) and the solution stirred for 3 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 50%



22

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.59$ -7.11(m, 20H, *Ph*); 5.67 (s br, 2H, CH_2); 5.43 (s br, 6H, $\text{CH}_2-\text{N} + \text{CH}_2$).

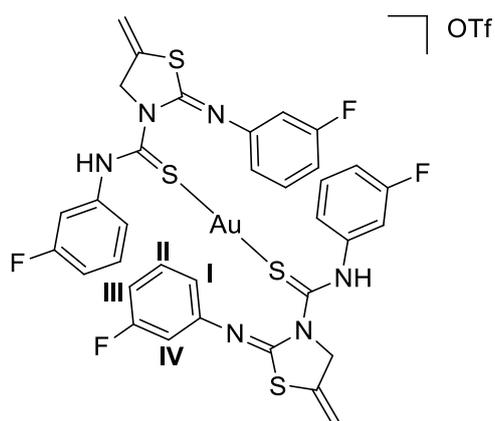
$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = -80.1$ (s, 3F, *OTf*).

^{13}C APT (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 138.8-131.8 (s, 4C, $\text{C}_{\text{quaternary}}$); 130.6-122.1 (s, 20C, *Ph*); 109.5 (s, 2C, CH_2); 60.2 (s, 2C, CH_2-N).

Synthesis of compound 23

To a solution of Au(tht)₂OTf (52.2 mg, 0.1 mmol) which has been prepared *in situ* in CH₂Cl₂ (10 ml) was added compound **10** (72.0 mg, 0.2 mmol) and the solution stirred for 3 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 50%



23

¹H NMR (ppm) (400 MHz, (CD₃)₂CO): δ = 7.64-6.92 (m, 16H, *arom*), 5.70 (d br, 2H, CH₂); 5.47 (d br, 6H, CH₂-N + CH₂).

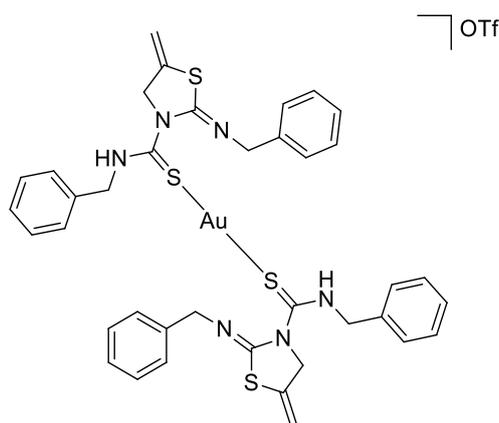
¹⁹F NMR (ppm) (376 MHz, (CD₃)₂CO): δ = -73.5 (s, 1F, OTf); -106.4 (m, 2F, *Ph*); -107.5 (m, 2F, *Ph*).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, (CD₃)₂CO): δ = 166.2 (s, 2C, C=S); 162.8 (s, 1C, C_{quaternary}); 132.1 (d, 4C, II, ³J_{CF} = 9.3Hz); 132.1 (d, 4C, II, ³J_{CF} = 9.4Hz); 118.3 (s, 4C, I); 113.4 (d, 4C, III, ²J_{CF} = 21.2Hz); 109.7 (d, 4C, IV, ²J_{CF} = 23.5Hz); 109.2 (s, 2C, CH₂); 60.9 (s, 1C, CH₂-N).

Synthesis of compound 24

To a solution of Au(tht)₂OTf (52.2 mg, 0.1 mmol) which has been prepared *in situ* in CH₂Cl₂ (10 ml) was added compound **11** (72.0 mg, 0.2 mmol) and the solution stirred for 3 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) was added to precipitated a white solid which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 64%



24

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.32\text{--}7.14$ (m, 20H, *Ph*); 5.60 (s br, 2H, CH_2); 5.42 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-N}$, CH_2); 5.08 (m, 2H, NH-CH_2); 4.48 (s, 2H, N-CH_2).

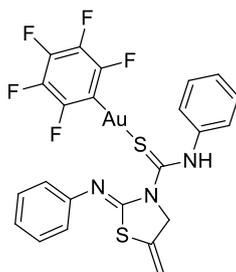
$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = -79.8$ (s, 1F, *OTf*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 176.1$ (s, 2C, $\text{C}=\text{S}$); 158.2 (s, 2C, $\text{N-C}=\text{N}$); 138.9 (s, 2C, *Cipso* $\text{Ph-CH}_2\text{-N}$); 136.9 (s, 2C, *Cipso* $\text{Ph-CH}_2\text{-NH}$); 133.3 (s, 2C, $\text{CH}_2=\text{C}$); 129.7–128.1 (s, 20C, *Ph*); 108.9 (s, 2C, $\text{C}=\text{CH}_2$); 60.4 (s, 2C, CH_2); 59.1 (s, 2C, $\text{Ph-CH}_2\text{-N}=\text{C}$); 51.2 (s, 2C, $\text{Ph-CH}_2\text{-NH}$).

Synthesis of compound 25

To a solution of compound **9** (32.5 mg, 0.1 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $[\text{Au}(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{tht})]$ (45.3 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for two hours and half at room temperature. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and a white solid was precipitating which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 80%



25

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.39\text{--}7.12$ (m, 10H, *Ph*); 5.67 (s br, 1H, *CH*₂); 5.55 (t br, 2H, *CH*₂-N); 5.40 (s br, 1H, *CH*₂).

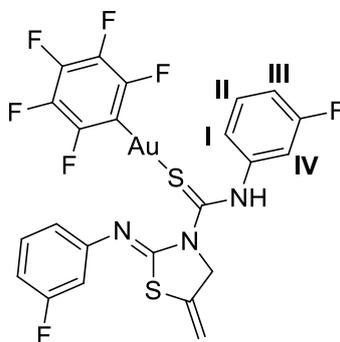
^{19}F NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = -116.4$ (m, 2F, *F*_{ortho}*C*₆*F*₅); -164.1 (t, 1F, *F*_{para}*C*₆*F*₅, $^3J_{\text{FF}} = 19.7$ Hz); -166.3 (m, 2F, *F*_{meta}*C*₆*F*₅).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 148.1$ (s, 1C, *C*_{ipso}*Ph*); 138.2 (s, 1C, *C*_{ipso}*Ph*); 132.1 (s, 1C, *CH*₂=C); 130.4 (s, 4C, *C*_{ortho}*Ph*); 129.3 (s, 1C, *C*_{para}*Ph*); 127.4 (s, 2C, *C*_{meta}*Ph*); 127.0 (s, 1C, *C*_{para}*Ph*); 121.1 (s, 2C, *C*_{meta}*Ph*); 109.2 (s, 1C, *CH*₂); 60.5 (s, 1C, *CH*₂-N).

Synthesis of compound 26

To a solution of compound **10** (36.1 mg, 0.1 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $[\text{Au}(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{tht})]$ (45.3 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for two hours and half at room temperature. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and a white solid was precipitating which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 52%



26

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.48$ (m, 2H, *Ph-F*); 7.25 (m, 2H, *Ph-F*); 6.99 (m, 4H, *Ph-F*); 5.70 (s br, 1H, *CH*₂); 5.55 (t br, 2H, *CH*₂-N); 5.43 (s br, 1H, *CH*₂).

^{19}F NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = -114.0$ (m, 1F, *Ph-F*); -114.0 (m, 1F, *Ph-F*); -116.6 (m, 2F, *F*_{ortho}*C*₆*F*₅); -163. (t, 1F, *F*_{para}*C*₆*F*₅, $^3J_{\text{FF}} = 19.7$ Hz); -166.2 (m, 2F, *F*_{meta}*C*₆*F*₅).

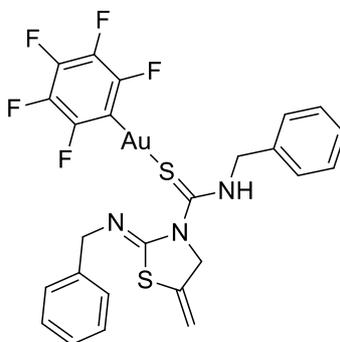
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 165.1$ (d, 1C, *C*_{ipso}*Ph-F*, $^3J_{\text{CF}} = 15.3$ Hz); 162.7 (d, 1C, *C*_{ipso}*Ph-F*, $^3J_{\text{CF}} = 15.8$ Hz); 132.2 (d, 1C, *II*, $^3J_{\text{HF}} = 9.4$ Hz); 132.0 (d, 1C,

II, $^3J_{CF} = 9.4$ Hz); 131.6 (s, 1C, $CH_2=C$); 123.8 (s, 1C, *I*); 118.2 (s, 1C, *I*); 116.2 (d, 1C, *III*, $^2J_{CF} = 21.3$ Hz); 115.3 (d, 1C, *IV*, $^2J_{CF} = 28.5$ Hz); 113.6 (d, 1C, *III*, $^2J_{CF} = 21.3$ Hz); 109.7 (d, 1C, *IV*, $^2J_{CF} = 23.7$ Hz); 109.6 (s, 1C, CH_2); 60.6 (s, 1C, CH_2-N).

Synthesis of compound 27

To a solution of compound **11** (35.3 mg, 0.1 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $[Au(C_6F_5)(tht)]$ (45.3 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for two hours and half at room temperature. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and a white solid was precipitating which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 75%



27

1H NMR (ppm) (400 MHz, $(CD_3)_2CO$): $\delta = 7.37-7.11$ (m, 10H, *Ph*); 5.67 (s br, 1H, CH_2); 5.57 (m, 2H, CH_2-N); 5.45 (m, 1H, CH_2); 5.34 (m, 2H, $NH-CH_2$); 4.48 (s, 2H, $N-CH_2$).

^{19}F NMR (ppm) (376 MHz, $(CD_3)_2CO$): $\delta = -117.7$ (m, 2F, $F_{ortho}C_6F_5$); -163.4 (t, 1F, $F_{para}C_6F_5$, $^3J_{FF} = 19.6$ Hz); -166.7 (m, 2F, $F_{meta}C_6F_5$).

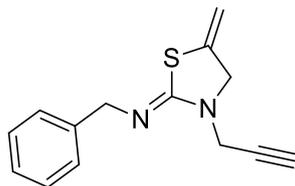
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): $\delta = 157.9$ (s, 1C, $N-C=N$); 138.5 (s, 1C, $C_{ipso}Ph-F$); 132.0 (s, 1C, $CH_2=C$); 129.8-128.1 (m, 10C, *Ph*); 109.3 (s, 1C, CH_2); 60.5 (s, 1C, CH_2-N); 59.1 (s, 1C, $Ph-CH_2-N=C$); 52.3 (s, 1C, $Ph-CH_2-NH$).

Synthesis of compound 28

To a solution of dipropargylamine (10.3 μ l, 0.1 mmol) in ethanol (10 ml) was added benzylisothiocyanate (13.2 μ l, 0.1 mmol) and the mixture stirred for 24h. The solution

was concentrated under reduced pressure and a yellow oil was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 99%



28

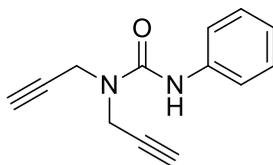
$^1\text{H NMR}$ (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.29$ (m, 5H, *Ph*); 5.41 (m, 1H, *CH*₂); 5.25 (m, 1H, *CH*₂); 4.36 (s, 2H, N-*CH*₂-Ph); 4.31 (t, 2H, *CH*₂-N, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz); 4.28 (d, 2H, *CH*₂ - C \equiv CH, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz); 2.78 (t, 1H, *CH*, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz).

$^{13}\text{C APT}$ (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 140.9$ (s, 1C, *C*_{ipso}*Ph*); 137.3 (s, 1C); 128.1 (s, 2C, *C*_{ortho}*Ph*); 127.2 (s, 1C, *C*_{para}*Ph*); 126.3 (s, 2C, *C*_{meta}*Ph*); 105.9 (s, 1C, *CH*₂); 73.0 (s, 1C, *CH*); 57.9 (s, 1C, N-*CH*₂-Ph); 54.6 (s, 1C, *CH*₂-N); 34.6 (s, 1C, *CH*₂ - C \equiv CH).

Synthesis of compound 32

To a solution of dipropargylamine (21.0 μl , 0.2 mmol) in ethanol (10 ml) was added phenylisocyanate (22 μl , 0.2 mmol) and the mixture stirred for 24h at 40°C. The solution was concentrated under reduced pressure and a yellow oil was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 99%



32

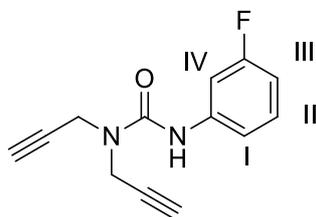
$^1\text{H NMR}$ (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 8.04$ (s br, 1H, *NH*); 7.55 (m, 2H, *H*_{meta}*Ph*); 7.25 (m, 2H, *H*_{ortho}*Ph*); 6.99 (tt, 1H, *H*_{para}*Ph*, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz); 4.35 (d, 4H, *CH*₂, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz); 2.83 (t, 1H, *CH*, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 155.1$ (s, 1C, CO); 140.9 (s, 1C, C_{ipsoPh}); 129.3 (s, 2C, C_{orthoPh}); 123.4 (s, 1C, C_{paraPh}); 120.7 (s, 2C, C_{metaPh}); 79.8 (s, 2C, $\text{CH}_2 - \text{C} \equiv \text{CH}$); 74.1 (s, 2C, CH); 36.1 (s, 2C, CH_2).

Synthesis of compound 33

To a solution of dipropargylamine (51.7 μl , 0.5 mmol) in ethanol (10 ml) was added 3-fluorophenylisocyanate (57.1 μl , 0.5 mmol) and the mixture stirred for 24h at 40°C. The solution was concentrated under reduced pressure and a yellow oil was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 99%



33

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 8.24$ (s br, 1H, NH); 7.53 (m, 1H, IV); 7.26 (m, 2H, I+II); 6.74 (m, 1H, III); 4.35 (d, 4H, CH_2 , $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz); 2.84 (t br, 2H, CH).

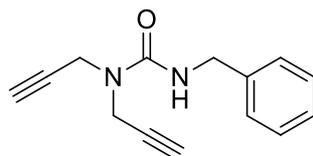
^{19}F NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = -115$. (s, 1F, Ph-F).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 165.1$ (d, 1C, $C_{\text{ipsoPh-F}}$, $^1J_{\text{CF}} = 20.8$ Hz); 154.9 (s, 1C, CO); 142.9 (d, 1C, $C_{\text{ipsoPh-F-NH}}$, $^3J_{\text{CF}} = 11.4$ Hz); 130.7 (d, 1C, II, $^3J_{\text{CF}} = 9.6$ Hz); 116.0 (d, 1C, I, $^4J_{\text{CF}} = 2.8$ Hz); 109.6 (d, 1C, III, $^2J_{\text{CF}} = 21.5$ Hz); 107.4 (d, 1C, IV, $J_{\text{CF}} = 26.8$ Hz); 79.6 (s, 2C, $\text{CH}_2 - \text{C} \equiv \text{CH}$); 74.2 (s, 2C, CH); 36.1 (s, 2C, CH_2).

Synthesis of compound 34

To a solution of dipropargylamine (51.7 μl , 0.5 mmol) in ethanol (10 ml) was added benzylisocyanate (61.8 μl , 0.2 mmol) and the mixture stirred for 24h at 40°C. The solution was concentrated under reduced pressure and a yellow oil was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 99%



34

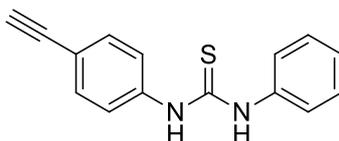
^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7.32 (m, 5H, *Ph*); 6.55 (s br, 1H, *NH*); 4.41 (d, 2H, *NH-CH}_2\text{-Ph}, $^3J_{\text{HH}} = 5.8$ Hz); 4.25 (d, 4H, *CH}_2, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz); 2.78 (t, 2H, *CH*, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz).**

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 157.4 (s, 1C, *CO*); 141.4 (s, 1C, *C}_{\text{ipsoPh}}*); 129.0 (s, 2C, *C}_{\text{orthoPh}}*); 128.2 (s, 1C, *C}_{\text{paraPh}}*); 127.5 (s, 2C, *C}_{\text{metaPh}}*); 80.1 (s, 2C, $\text{CH}_2 - \text{C} \equiv \text{CH}$); 73.7 (s, 2C, *CH*); 45.1 (s, 1C, *NH-CH}_2\text{-Ph}*); 35.8 (s, 2C, *CH}_2*).

Synthesis of compound 35

To a solution of 4-ethynylaniline (12 mg, 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1), phenylisothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the mixture was stirred for 24 hours. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 50 %



35

^1H NMR (ppm) (400 MHz, CD_2Cl_2): δ = 7.84 (s br, 1H, *NH*); 7.71 (s br, 1H, *NH*); 7.51-7.34 (m, 9H, *arom.*); 3.09 (s, 1H, *CH*).

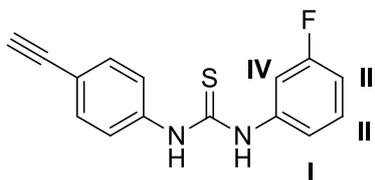
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): δ = 179.9 (s, 1C, *C=S*); 147.2 (s, 1C, *C}_{\text{ipso}}*); 137.9 (s, 1C, *C}_{\text{ipso}}*); 133.2-124.4 (m, 10C, *arom.*); 120.4 (s, 1C, *C}_{\text{ipso}}*); 82.9 (s, 1C, $\text{C} \equiv \text{CH}_2$); 78.0 (s, 1C, *CH*).

Synthesis of compound 36

To a solution of 4-ethynylaniline (12 mg, 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1), 3-fluorophenylisothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the mixture was stirred

for 24 hours. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 46 %



36

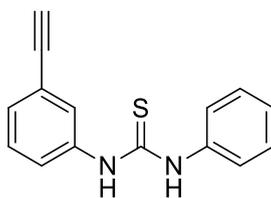
^1H NMR (ppm) (400 MHz, CD_2Cl_2): δ = 7.86 (s br, 1H, *NH*); 7.84 (s br, 1H, *NH*); 7.53-7.35 (m, 5H, *arom.*+*II*); 7.22 (dt, 1H, *IV*, $^3J_{\text{HF}} = 9.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz); 7.13 (m, 1H, *I*); 6.99 (m, 1H, *III*); 3.12 (s, 1H, *CH*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): δ = 179.6 (s, 1C, *C=S*); 133.5 (s, 2C, *arom.*); 131.0 (d, 1C, *II*, $^3J_{\text{CF}} = 9.2$ Hz); 124.6 (s, 2C, *arom.*); 120.3 (d, 1C, *I*, $^4J_{\text{CF}} = 3.2$ Hz); 114.1 (d, 1C, *III*, $^2J_{\text{CF}} = 20.9$ Hz); 112.3 (d, 1C, *IV*, $^2J_{\text{CF}} = 24.1$ Hz); 78.3 (s, 1C, *CH*).

Synthesis of compound 37

To a solution of 3-ethynylaniline (11.3 μL , 0.1 mmol) in ethanol (10 mL), phenylisothiocyanate was added (12.0 μL , 0.1 mmol) and the mixture was stirred for 24 hours. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 48 %



37

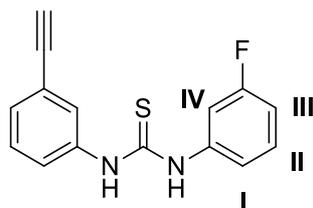
^1H NMR (ppm) (400 MHz, CD_2Cl_2): δ = 8.04 (s br, 1H, *NH*); 7.87 (s br, 1H, *NH*); 7.48-7.34 (m, 9H, *arom.*); 3.11 (s, 1H, *CH*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): δ = 137.6 (s, 1C, *C_{ipso}*); 136.7 (s, 1C, *C_{ipso}*); 130.5-123.5 (m, 10C, *arom.*); 82.6 (s, 1C, *C* \equiv *CH*₂); 78.5 (s, 1C, *CH*).

Synthesis of compound 38

To a solution of 3-ethynylaniline (11.2 μl , 0.1 mmol) in ethanol/water mixture (1/1), 3-fluorophenylisothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the mixture was stirred for 24 hours. A white precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 46 %



38

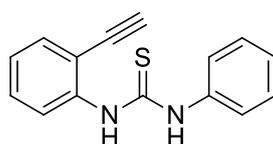
^1H NMR (ppm) (400 MHz, CD_2Cl_2): δ = 8.06 (s br, 1H, *NH*); 8.04 (s br, 1H, *NH*); 7.46-7.7.33 (m, 5H, *arom.*+*II*); 7.21 (dt, 1H, *IV*, $^3J_{\text{HF}} = 9.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz); 7.13 (m, 1H, *I*); 6.99 (m, 1H, *III*); 3.13 (s, 1H, *CH*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): δ = 179.8 (s, 1C, $\text{C}=\text{S}$); 163.0 (d, 1C, $C_{\text{ipso}}\text{Ph-F}$, $^1J_{\text{CF}} = 246.6$ Hz); 138.6 (d, 1C, $C_{\text{ipso}}\text{Ph-F}$, $^3J_{\text{CF}} = 9.9$ Hz); 137.7 (s, 1C, $C_{\text{ipso}}\text{Ph-C}\equiv\text{CH}_2$); 130.9, 129.8, 128.6, 125.9 (s, 4C, *arom.*); 130.8 (d, 1C, *II*, $^3J_{\text{CF}} = 9.9$ Hz); 123.8 (s, 1C, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 120.5 (d, 1C, *I*, $^4J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz); 114.1 (d, 1C, *III*, $^2J_{\text{CF}} = 21.0$ Hz); 112.5 (d, 1C, *IV*, $^2J_{\text{CF}} = 24.0$ Hz); 78.8 (s, 1C, *CH*).

Synthesis of compound 39

To a solution of 2-ethynylaniline (11.2 μl , 0.1 mmol) in ethanol (10 mL), phenylisothiocyanate was added (12.0 μl , 0.1 mmol) and the mixture was stirred for 24 hours. A brown precipitated was formed which was filtered and vacuum dried to give the product.

Yield: 45 %



39

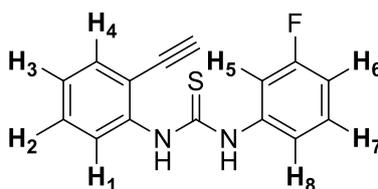
^1H NMR (ppm) (400 MHz, CD_2Cl_2): $\delta = 8.79$ (s br, 1H, *NH*); 7.65 (s br, 1H, *NH*); 7.79-7.33 (m, 9H, *arom.*); 3.11 (s, 1H, *CH*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): $\delta = 179.1$ (s, 1C, *C=S*); 140.0 (s, 1C, *C_{ipso}*); 136.0 (s, 1C, *C_{ipso}*); 132.6-125.1 (m, 10C, *arom.*); 84.4 (s, 1C, *C \equiv \text{CH}_2*); 79.0 (s, 1C, *CH*).

Synthesis of compound 40

To a solution of 2-ethynylaniline (56.0 μl , 0.5 mmol) and 1-fluoro-3-isothiocyanatobenzene (60.0 μl , 0.5 mmol) were mixed in ethanol (10 ml) and the mixture was stirred for 30 minutes. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 70 %



40

^1H NMR (ppm) (400 MHz, CD_2Cl_2): $\delta = 8.27$ (s, 1H, *H₁*); 8.25 (s, 1H, *NH*); 8.07 (s br, 1H, *NH*); 7.52 (d, 1H, *H₄*, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz); 7.41 (m, 2H, *H₂ + H₇*); 7.26 (d, 1H, *H₅*, $^2J_{\text{HF}} = 9.8$ Hz); 7.19 (m, 2H, *H₃ + H₈*); 7.05 (td, 1H, *H₆*, $^3J_{\text{HF}} = 8.4$, $^3J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz); 3.35 (s, 1H, *CH*).

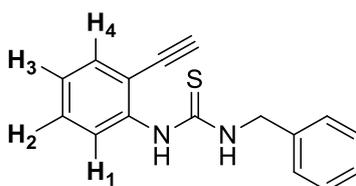
$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, CD_2Cl_2): $\delta = -111.0$ (m, 1F, *F*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): $\delta = 179.7$ (s, 1C, *C=S*); 164.9 (d, 1C, *C_{ipso}*Ph-F, $^1J_{\text{CF}} = 247.7$ Hz); 140.2 (s, 1C, *C_{ipso}*Ph); 138.7 (d, 1C, *C_{ipso}*Ph-F, $^3J_{\text{CF}} = 9.9$ Hz); 133.4 (s, 1C, *C₄*); 131.7 (d, 1C, *C₇*, $^3J_{\text{CF}} = 9.3$ Hz); 130.1 (s, 1C, *C₂*); 126.2 (s, 1C, *C₃*); 124.3 (s, 1C, *C₁*); 121.7 (d, 1C, *C₈*, $^4J_{\text{CF}} = 3.2$ Hz); 116.3 (s, 1C, *C_{ipso}*Ph-CCH); 114.7 (d, 1C, *C₆*, $^2J_{\text{CF}} = 21.1$ Hz); 113.4 (d, 1C, *C₅*, $^2J_{\text{CF}} = 23.7$ Hz); 84.9 (s, 1C, *C \equiv \text{CH}*); 79.5 (s, 1C, *CH*).

Synthesis of compound 41

To a solution of 2-ethynylaniline (56.0 μ l, 0.5 mmol) and benzylisocyanate (66.0 μ l, 0.5 mmol) were mixed in ethanol (10 ml) and the mixture was stirred for 30 minutes. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 60 %



41

^1H NMR (ppm) (400 MHz, CD_2Cl_2): δ = 7.81 (s br, NH-Ph); 7.55 (d, 1H, H_1 , $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz); 7.39 (td, 1H, H_4 , $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz); 7.34 (m, 5H, Ph); 7.29 (m, 1H, H_2), 7.21 (td, 1H, H_3 , $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz); 6.40 (s br, 1H, NH-CH_2); 4.84 (d, 2H, CH_2 , $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz); 3.47 (s, 1H, CH).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): δ = 181.67 (s, 1C, $\text{C}=\text{S}$); 134.4 (s, 1C, C_4); 130.7 (s, 1C, C_2); 129.3 (s, 2C, $\text{C}_{ortho\text{Ph}}$); 128.2 (s, 2C, $\text{C}_{para\text{Ph}} + \text{C}_1$); 126.8 (s, 1C, C_3); 124.9 (s, 2C, $\text{C}_{meta\text{Ph}}$); 84.7 (s, 1C, CH); 79.4 (s, 1C, $\text{C} \equiv \text{CH}$); 49.8 (s, 1C, CH_2).

Synthesis of compound 44

To a solution of compound **39** (25.2 mg, 0.1 mmol) in ethanol (5 ml), $[\text{Au}(\text{NCMe})\text{JohnPhos}]\text{SbF}_6$ (2.6 mg, 0.005 mmol) was added and the mixture was stirred for 4 hours. The solution was concentrated under reduced pressure. Dichlorometano was added to solve the compound again (2ml), and hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 99%



44

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.77\text{-}7.05$ (m, 9H, *arom.*); 5.80 (d, 1H, CH_2 , $^2J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz); 5.26 (d, 1H, CH_2 , $^2J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 131.0\text{-}121.1$ (s, 9C, *arom.*); 111.0 (s, 1C, CH_2).

Synthesis of compound 45

To a solution of compound **40** (27.0 mg, 0.1 mmol) in ethanol (5 ml), $[\text{Au}(\text{NCMe})\text{CyJohnPhos}]\text{SbF}_6$ (2.9 mg, 0.005 mmol) was added and the mixture was stirred for 4 hours. The solution was concentrated under reduced pressure. Dichlorometano was added to solve the compound again (2ml), and hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 80 %



45

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 7.88$ (s, 1H, IV); 7.66 (m, 6H, I+II+*arom.*); 6.81 (m, 1H, III); 5.83 (d, 1H, CH_2 , $^2J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz); 5.26 (d, 1H, CH_2 , $^2J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz).

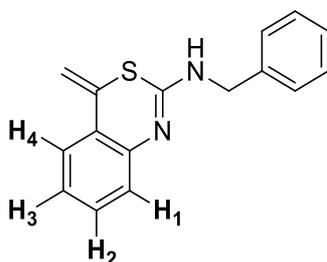
$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, CD_2Cl_2): $\delta = -114.8$ (s, 1F, F).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, CD_2Cl_2): $\delta = 166.0$ (s, 1C, $C_{\text{quaternary}}$); 162.6 (s, 1C, $C_{\text{quaternary}}$); 149.0 (s, 1C, N=C-NH); 142.5 (s, 1C, $C_{\text{ipsoPh-F}}$); 134.9 (s, 1C, $C_{\text{ipsoPh-F}}$); 131.1 (s, 1C, *arom.*); 130.1 (d, 1C, II, $^3J_{\text{CF}} = 9.6$ Hz); 125.7 (s, 1C, *arom.*); 124.9 (s, 1C, *arom.*); 124.6 (s, 1C, *arom.*); 120.6 (s, 1C, C=CH₂); 116.4 (s, 1C, I); 114.4 (s, 1C, CH_2); 109.9 (d, 1C, III, $^2J_{\text{CF}} = 21.5$ Hz); 107.9 (d, 1C, IV, $^2J_{\text{CF}} = 26.6$ Hz)

Synthesis of compound 46

To a solution of compound **41** (26.6 mg, 0.1 mmol) in ethanol (5 ml), [Au(NCMe)JohnPhos]SbF₆ (2.6 mg, 0.005 mmol) was added and the mixture was stirred for 4 hours. The solution was concentrated under reduced pressure. Dichlorometano was added to solve the compound again (2ml), and hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 99%



46

¹H NMR (ppm) (400 MHz, (CD₃)₂CO): δ = 7.58 (dd, 1H, *H*₁, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz); 7.40 (m, 2H, *H*₃ + *NH*); 7.32-7.22 (m, 5H, *Ph*); 7.10 (dd, 1H, *H*₄, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz); 7.03 (dt, 1H, *H*₂, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz); 5.73 (d, 1H, *CH*₂, ²*J*_{HH} = 1.2 Hz); 5.19 (d, 1H, *CH*₂, ²*J*_{HH} = 1.2 Hz); 4.70 (s, 2H, *CH*₂-Ph).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, (CD)₃CO): δ = 152.3 (s, 1C, N=C-NH); 146.0 (s, 1C, CH₁-C-N); 140.4 (s, 1C, *C*_{ipso}Ph); 135.9 (s, 1C, CH₄-C-C=CH₂); 130.8 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph); 129.2 (s, 1C, *C*_{para}Ph); 128.7 (s, 1C, *H*₃); 127.8 (s, 2C, *C*_{meta}Ph); 127.3 (s, 1C, *H*₄); 124.3 (d, 2C, *H*₁+*H*₂); 120.4 (s, 1C, C=CH₂); 109.9 (s, 1C, C=CH₂); 46.1 (s, 1C, CH₂-Ph).

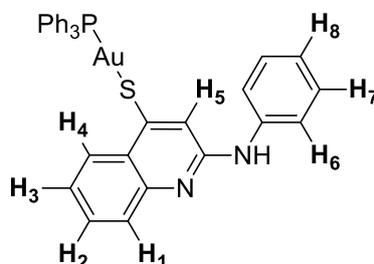
Synthesis of compound 47

a) To a solution of compound **44** (25.2 mg, 0.1 mmol) and Au(acac)PPh₃ (55.8 mg, 0.1 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) and the mixture stirred 4h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a light brown product which was collected and vacuum dried to give the product.

b) To a solution of compound **44** (25.2 mg, 0.1 mmol) and AuClPPh₃ (49.5 mg, 0.1 mmol) were mixed in MeOH (20 ml) was added an excess of KOH (0.3 mmol, 16.8 mg)

and the mixture stirred 5h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a light brown product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 50%



47

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 8.53 (d, 1H, H_4 , $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz); 8.13 (s, 1H, NH); 7.90 (m, 2H, H_6); 7.59 (m, 16H, $\text{PPh}_3 + H_1 + H_5$); 7.51 (t, 1H, H_2 , $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz); 7.21 (m, 3H, $H_3 + H_7$); 6.88 (t, 1H, H_8 , $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 38.5 (s, 1P, PPh_3).

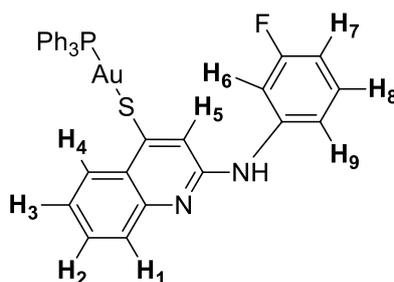
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 154.2, 148.6 142.9 (s, 3C, $C_{\text{quaternary}}$); 135.1 (d, 6C, C_{orthoPPh_3} , $^2J_{\text{CP}} = 13.8$ Hz); 133.0 (d, 3C, C_{paraPPh_3} , $^4J_{\text{CP}} = 1.8$ Hz); 130.5 (d, 6C, C_{metaPPh_3} , $^3J_{\text{CP}} = 11.5$ Hz); 129.8 (s, 1C, C_2); 129.8 (s, 3C, C_{ipsoPPh_3}); 129.4 (s, 1C, C_7); 128.1 (s, 1C, C_1); 127.3 (s, 1C, C_4); 122.8 (s, 1C, C_3); 121.8 (s, 1C, C_8); 119.7 (s, 1C, C_6); 116.9 (s, 1C, C_5).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{AuN}_2\text{PS}]^+$ 711.1293. Found 711.1261

Synthesis of compound 46

To a solution of compound **45** (27.3 mg, 0.1 mmol) and $\text{Au}(\text{acac})\text{PPh}_3$ (55.8 mg, 0.1 mmol) were mixed in CH_2Cl_2 (10 ml) and the mixture stirred 4h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a light brown product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: -%



48

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 8.54 (d, 1H, H_4 , $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz); 8.47 (s br, 1H, NH); 8.27 (d, 1H, H_6 , $^3J_{\text{HF}} = 14.3$ Hz); 7.70 (d, 1H, H_1 , $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz); 7.56-7.45 (m, 18H, $\text{PPh}_3 + H_2 + H_8 + H_9$); 7.22 (m, 1H, H_3); 6.63 (m, 1H, H_7).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = -115.1 (s, 1F, F).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 34.1 (s, 1P, PPh_3).

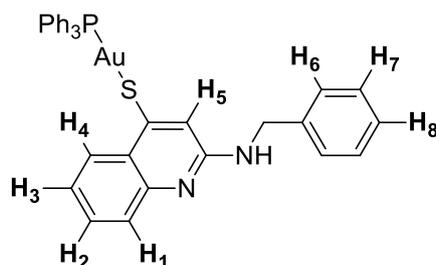
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 135.0 (d, 6C, $C_{\text{ortho}}\text{PPh}_3$, $^2J_{\text{CP}} = 13.8$ Hz); 133.0 (d, 3C, $C_{\text{para}}\text{PPh}_3$, $^4J_{\text{CP}} = 2.6$ Hz); 130.4 (d, 6C, $C_{\text{meta}}\text{PPh}_3$, $^3J_{\text{CP}} = 11.7$ Hz); 129.9 (s, 1C, C_2); 129.8 (s, 3C, $C_{\text{ipso}}\text{PPh}_3$); 128.2 (s, 1C, C_1); 127.4 (s, 1C, C_4); 123.1 (s, 1C, C_3); 117.4 (s, 1C, C_8); 114.9 (s, 1C, C_9); 107.4 (d, 1C, C_7 , $^2J_{\text{CF}} = 21.6$ Hz); 106.3 (d, 1C, C_6 , $^2J_{\text{CF}} = 27.5$ Hz).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{AuP}_2]^+$ 721.149. Found 721.1445; $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{AuFN}_2\text{PS}]^+$ 729.1199. Found 729.1170; Calcd for $[\text{C}_{54}\text{H}_{46}\text{Au}_3\text{P}_3\text{S}]^+$ 1410.829. Found 1409.1120.

Synthesis of compound 49

To a solution of compound **46** (26.6 mg, 0.1 mmol) and $\text{Au}(\text{acac})\text{PPh}_3$ (55.8 mg, 0.1 mmol) were mixed in CH_2Cl_2 (10 ml) and the mixture stirred 4h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a light brown product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: -%



49

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 8.45$ (d, 1H, H_4 , $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz); 7.49-7.14 (m, 24H, $\text{PPh}_3 + H_1 + H_2 + H_3 + H_5 + H_6 + H_7 + H_8 + H_9$); 6.17 (s, 1H, NH); 4.67 (d, 2H, CH_2 , $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz).

$^3\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 33.9$ (m, 1P, PPh_3).

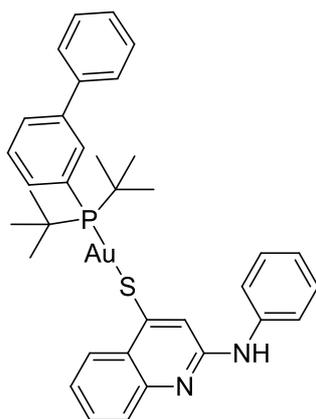
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 134.9$ (d, 6C, C_{orthoPPh_3} , $^2J_{\text{CP}} = 13.9$ Hz); 132.9 (s, 3C, C_{paraPPh_3}); 130.4 (d, 6C, C_{metaPPh_3} , $^3J_{\text{CP}} = 11.5$ Hz); 129.1 (s, 1C, C_2); 128.2 (s, 1C, C_1); 127.4 (s, 1C, C_4); 121.7 (s, 2C, C_6); 115.7 (s, 2C, C_7); 45.6 (s, 1C, CH_2).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{AuP}_2]^+$ 721.149. Found 721.1455; $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{AuN}_2\text{PS}]^+$ 724.605. Found 725.1413; Calcd for $[\text{C}_{54}\text{H}_{46}\text{Au}_3\text{P}_3\text{S}]^+$ 1410.829. Found 1409.1146.

++Synthesis of compound 50

To a solution of compound **44** (25.2 mg, 0.1 mmol) and AuClJohnPhos (53.1 mg, 0.1 mmol) were mixed in MeOH (20 ml) was added an excess of KOH (0.3 mmol, 16.8 mg) and the mixture stirred 5h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a light brown product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 72 %



50

^1H NMR (ppm) (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 8.49 (d, 1H, H_4 , $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz); 8.08 (m, 1H, *JohnPhos*); 7.84 (m, 2H, *Ph*); 7.63 (m, 2H, *JohnPhos*); 7.46 (t, 1H, H_{para} , $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz); 7.37-7.18 (m, 11H, *Ph* + *JohnPhos*); 6.92 (t, 1H, H_{para} , $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz); 1.39 (d, 18H, CH_3 , $^3J_{\text{HH}} = 15.3$ Hz).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 64.4 (s, 1P, *JohnPhos*).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 154.1 (s, 1C, $C_{\text{quaternary}}$); 150.9 (s, 1C, $C_{\text{quaternary}}$); 148.4 (s, 1C, $C_{\text{quaternary}}$); 143.6 (s, 1C, $C_{\text{quaternary}}$); 135.7 (d, 1C, C_{JohnPhos} , $^3J_{\text{CP}} = 1.5$ Hz); 133.8 (d, 1C, C_{JohnPhos} , $^2J_{\text{CP}} = 7.5$ Hz); 131.6 (s br, 1C, C_{JohnPhos}); 130.1 (s, 2C, C_{orthoPh}); 129.4 (s, 2C, C_{metaPh}); 129.3 (s, 1C, C_{paraPh}); 128.5 (s, 1C, C_{JohnPhos}); 128.3 (s, 1C, C_{ipso}); 128.1 (d, 1C, C_{JohnPhos} , $^2J_{\text{CP}} = 6.2$ Hz); 127.8 (s, 1C, *arom.*); 122.3 (s, 1C, *Ph*); 121.8 (s, 1C, C_{paraPh}); 119.9 (s, 1C, *Ph*); 116.3 (s, 1C, *Ph*); 38.3 (d, 2C, $C_{\text{ipso}}^{\text{tBu}}$, $^1J_{\text{CP}} = 23.1$ Hz); 31.2 (d, 2C, $^{\text{tBu}}$, $^1J_{\text{CP}} = 6.8$ Hz).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{AuN}_2\text{PS}]^+$ 747.2232. Found 747.2204.

Capítulo 2:

SÍNTESIS Y REACTIVIDAD DE
CARBENOS NHC DE ORO(I).

ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES
CITOTÓXICAS Y LUMINISCENTES

CAPÍTULO 2

2.1. Introducción	121
2.2. Objetivos	128
2.3. Síntesis de Sales de Imidazolio	130
2.4. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC	135
2.4.1. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC y la Fosfina JohnPhos	135
2.4.2. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC y Tiolatos	141
2.4.2.1. Síntesis de los Complejos Tiolato con 2-Mercaptopiridina	142
2.4.2.2. Síntesis de los Complejos Tiolatos con β -Tioglucosa	146
2.5. Síntesis de Biscarbenos de Oro(I)	149
2.6. Síntesis de Complejos Au-NHC con Interacciones Au-Au	153
2.7. Actividad Biológica sobre Células TumORAles Humanas	160
2.7.1. Estudio de Actividad Citotóxica. Método MTT	160
2.7.2. Estudio de la Selectividad Citotóxica, Jurkat. vs Linfocitos	162
2.7.3. Estudio de Muerte Celular	169
2.8. Estudios de Luminiscencia	173
2.9. Conclusiones	178
2.10. Experimental	179
2.10.1. Starting Materials	179
2.10.2. Instrumentation	179
2.10.2.1. Mass Spectrometry	179
2.10.2.2. NMR Spectroscopy	179

2.10.2.3. Crystallography	179
2.10.2.4. UV-vis Studies	180
2.10.2.5. Luminescence Studies	180
2.10.3. Cytotoxicity Studies	180
2.10.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay	180
2.10.3.2. Cell Death Studies	181
2.10.3.3. Study of Cytotoxic Selectivity, Jurkat. vs Lymphocytes	182
2.10.4. Distribution Coefficient (K_{ow})	183
2.10.5. Cell Fluorescence Microscopy Study	183
2.10.6. Synthesis	184

2.1. Introducción

Los carbenos son compuestos neutros divalentes en los que el átomo de carbono posee solamente seis electrones en su capa de valencia,¹ debido a esta característica, los carbenos fueron considerados especies transitorias muy reactivas,² aunque finalmente se lograron caracterizar y sintetizar como compuestos estables. Los carbenos presentan gran variedad de geometrías y estados de espín. Se pueden encontrar especies con una hibridación sp , que serían especies lineales, o con una hibridación sp^2 , que serían angulares. Las dos principales configuraciones electrónicas de los orbitales no enlazantes pueden dar lugar a una configuración de capa abierta, donde el carbeno posee un electrón en cada orbital con espines paralelos (estado triplete), así los dos electrones está desapareados, uno en el orbital p y otro en el orbital híbrido sp^2 o una configuración de capa cerrada donde los dos electrones están en el nivel de más baja energía (orbital σ), dejando así el orbital p_π vacío (estado singlete) (Figura 2.1).

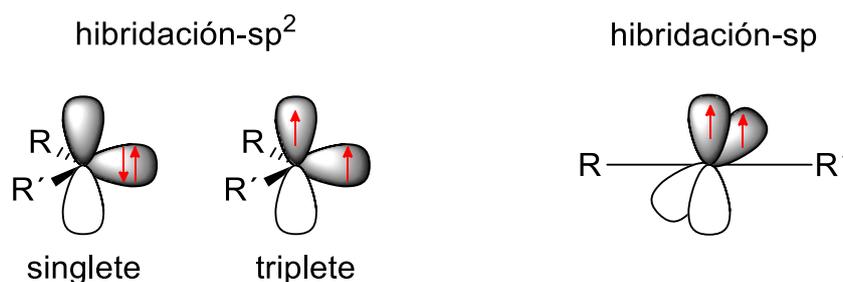


Figura 2.1. Estructura electrónica de los carbenos.

La diferencia energética entre estos dos niveles especifica el estado de espín del carbeno y viene determinada por las características estereoelectrónicas de los sustituyentes.³ Así los carbenos de tipo singlete angulares serán más estables si se les coordinan grupos que sean dadores π de densidad electrónica y fuertemente electronegativos, por ejemplo, grupos como $-NR_2$, $-OR$, $-SR$.⁴ Los carbenos singletes lineales se estabilizan con la combinación de un sustituyente π -dador con otro π -aceptor, como por ejemplo grupos PR_2 o SiR_3 .⁵

¹ (a) D. Bourissou, O. Guerret, F. P. Gabbaï, G. Bertrand, *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 39. (b) P. de Frémont, N. Marion, S. P. Nolan, *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, *253*, 862.

² (a) M. Herrman, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1855**, *95*, 211. (b) H. Staudinger, O. Kupfer, *Ver. Dtsch. Chem. Ges.*, **1912**, *45*, 401. (c) W. von E. Doering, A. K. Hoffmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, *76*, 6162.

³ R. Castarlenas, *Carbenos y Metales de Transición: el Tándem ideal para el Diseño de Catalizadores Eficaces*. Rev. Real Academia de Ciencias, Zaragoza, **2011**, *66*, 7-29. ISSN: 0370-3207.

⁴ A. J. Arduengo III, R. L. Harlow, M. Kline, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 361.

⁵ A. Igau, H. Grützmacher, A. Baceiredo, G. Bertrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 6463.

Otra manera de estabilizar los carbenos es mediante la formación de complejos con metales de transición.⁶ Los orbitales frontera de los carbenos pueden interactuar fácilmente con los orbitales ocupados y vacantes del metal, ya que tienen una simetría tal que hacen que el enlace sea eficiente.³

En 1954, Doering sintetizó el compuesto diclorocarbeno a partir de cloroformo,⁷ Fischer sintetizó el primer complejo carbénico en 1964,⁸ diez años más tarde Schrock sintetizó otro complejo donde el átomo de carbono del carbene tenía una naturaleza diferente.⁹ Debido a esto los carbenos de metales de transición se han dividido en dos tipos, los carbenos tipo Fischer y los carbenos tipo Schrock.

Los carbenos tipo Fischer se caracterizan por tener un carbono carbénico electrofílico, suelen estar formados por un metal con bajo estado de oxidación y un ligando carbénico del tipo CR₂, donde al menos uno de los sustituyentes es un heteroátomo O, N o S; el enlace con el metal presenta una doble donación electrónica ligando→metal, metal→ligando que involucra la donación desde el orbital σ del carbene en estado singlete y la retrodonación desde un orbital d ocupado del metal al orbital p_{π} vacante similar a la encontrada en los ligandos carbonilo o en las especies η^2 -olefina.³ Por otro lado, Pettit describió carbenos no estabilizados por heteroátomos de naturaleza electrófila, pudiendo generar confusión a la hora de asignar un carbene como tipo Fischer dependiendo si su estabilización es debida a la presencia de un heteroátomo o por su carácter electrófilo. Por ejemplo, los carbenos N-heterocíclicos (NHC) están estabilizados por un heteroátomo, pero no son electrófilos. Por tanto se puede hacer una nueva distinción y llamar como carbenos de Pettit a aquellos electrófilos no estabilizados con heteroátomos y como tipo Fischer a los estabilizados por heteroátomos.¹⁰

En los carbenos tipo Schrock el carbono carbénico muestra un carácter nucleofílico, están formados por metales de alto estado de oxidación y un ligando carbénico dador del tipo CR₂, donde los sustituyentes suelen ser átomos de hidrógeno o grupos alquilo.

⁶ (a) R. R. Schrock, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 145. (b) D. J. Mindiola, B. C. Bailey, F. Basuli, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2006**, 3135. (c) M. A. Esteruelas, A. M. López, M. Oliván, *Coord. Chem. Rev.*, **2007**, *251*, 795. (d) P. L. Arnold, *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 29. (e) H. Werner, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 4714. (f) S. T. Liddle, D. P. Mills, A. J. Wooles, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 2164.

⁷ W. v. E. Doering, A. K. Hoffmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, *76*, 6162.

⁸ E. O. Fischer, A. Maasböl, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1964**, *3*, 580.

⁹ R. R. Schrock, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, 6796.

¹⁰ D. Astruc, *New J. Chem.*, **2005**, *29*, 42.

La unión entre ambos es mediante la formación de dos enlaces covalentes entre fragmentos de capa abierta del metal y el carbeno³ (Figura 2.2).

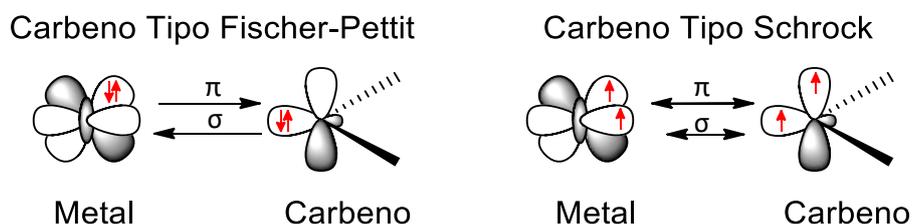


Figura 2.2. Enlace metal-carbeno.

Hemos mencionado anteriormente que los carbenos N-heterocíclicos (NHC) tenían un carácter de tipo Fischer debido a que están estabilizados por heteroátomos, pero químicamente se comportan como carbenos nucleófilos (Schrock). Fueron sintetizados por primera vez en 1968 por Öfele¹¹ y Wanzlick¹² a partir de derivados de sales de pirazolio e imidazolio, pero no fue hasta 1991 cuando Arduengo consiguiera aislar el primer carbeno libre¹³ (Figura 2.3).

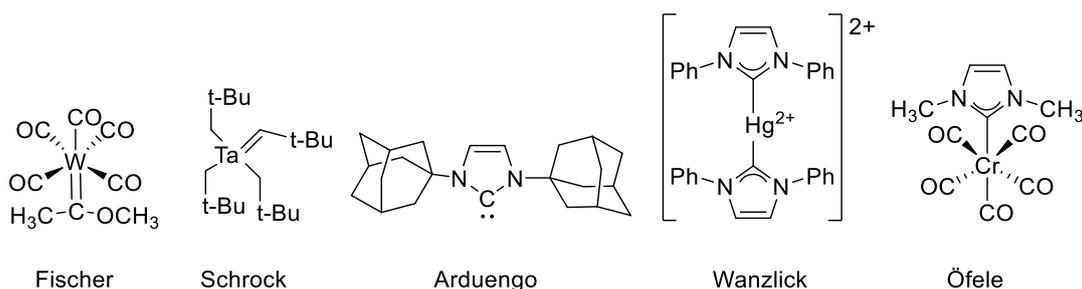


Figura 2.3. Tipos de carbenos.

Los carbenos N-heterocíclicos tienen un carbono dicoordinado en estado de oxidación cero con dos electrones no coordinantes. Como se puede ver en la Figura 2.4, en la configuración de capa abierta, los electrones están desapareados en diferentes orbitales (el híbrido sp^2 y el orbital p_π) y con espines paralelos (estado triplete). Sin embargo, en la configuración de capa cerrada, ambos se encuentran en el nivel de energía más bajo (sp^2), dejando vacío el orbital p_π .¹⁴ En ambos casos el carbono carbénico es sp^2 y por tanto posee una geometría trigonal plana.

¹¹ K. Öfele, *J. Organomet. Chem.*, **1968**, 12, 42.

¹² H. W. Wanzlick, H.-J. Schönherr, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1968**, 7(2), 141.

¹³ A. J. Arduengo, R. L. Harlow, M. Kline, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 361.

¹⁴ R. Sevinçek, H. Karabiyik, *J. Mol. Model.*, **2013**, 19, 12, 5327.

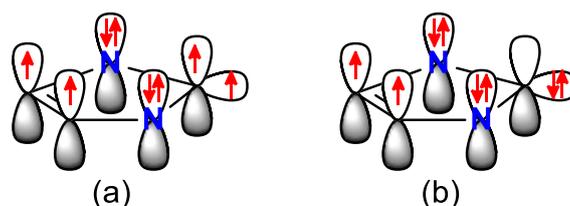


Figura 2.4. Estados triplete (a) y singlete (b).

La estabilidad de los NHC es debida al efecto estérico, electrónico y al efecto de los heteroátomos. Respecto al efecto estérico, los sustituyentes voluminosos en los átomos de nitrógeno hacen que los carbenos NHC libres sean más estables e impide la dimerización. El efecto estérico de los NHC se dispone en forma de paraguas, protegiendo las posiciones axiales del complejo, este contrasta con las fosfinas que tienen una disposición cónica del efecto estérico.³ Desde el punto de vista electrónico se pueden estabilizar mediante efectos inductivos (los átomos de nitrógeno que son σ -atractores estabilizan el orbital σ no enlazante del carbeno)¹⁵ y efectos mesoméricos (los pares de electrones libres de los átomos de nitrógeno ejercen una donación π en el orbital p_π del carbeno).¹⁶ Finalmente los efectos del heteroátomo son muy importantes, debido a que el carácter σ -electrodador y π -electrodador de los nitrógenos estabilizan a la molécula inductivamente debido a la reducción de energía en el orbital s ocupado y mesoméricamente por la donación de densidad electrónica al orbital p_π vacío, haciendo que estos compuestos tengan un carácter nucleofílico y puedan actuar como σ -dadores ante especies metálicas.¹⁷

La unión NHC-metal tiene lugar de forma que el ligando cede densidad electrónica al metal mediante un enlace σ y el metal a través de un enlace π , da densidad electrónica al ligando desde un orbital d ocupado hacia el LUMO del ligando del carbeno.¹⁸

El enlace NHC-metal se puede describir como una combinación entre sus orbitales, se pueden resaltar la donación σ de los NHC al metal, y la posterior retrodonación π del NHC a los orbitales d vacíos o semiocupados del metal. Por último se puede apreciar

¹⁵ D. Bourissou, O. Guerret, F. P. Gabbaï, G. Bertrand, *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 39.

¹⁶ (a) C. Heinemann, T. Müller, Y. Apeloig, H. Schwarz, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 2023.; (b) C. Boehme, G. Frenking, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 2039.

¹⁷ M. N. Hopkinson, C. Richter, M. Schedler, F. Glorius, *Nature*, **2014**, *485*, 485.

¹⁸ H. Diaz-Velazquez, F. Verpoort, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, 7032.

una retrodonación por parte de los orbitales ocupados o semiocupados del metal a los orbitales π^* del NHC.¹⁹

Los complejos de Au con ligandos NHC han despertado un gran interés debido a las diferentes y variadas aplicaciones que se están descubriendo, desde catalizadores homogéneos,²⁰ como compuestos con actividad biológica²¹ o con propiedades luminiscentes.²²

El primer carbeno NHC de oro(I) fue aislado en 1973 por Minghetti y Bonati.²³ Tradicionalmente este tipo de compuestos han sido sintetizados a través de dos rutas convencionales: mediante reacciones de transmetalación con carbenos de plata o a través del uso de carbenos NHC libres (Esquema 2.1). Ambos métodos presentan inconvenientes, la generación de NHC libres implica el uso de disolventes secos y trabajar bajo atmósfera inerte y es esencial usar la caja seca para conseguir aislarlo, consiguiendo rendimientos entre el 75-81%. Este tipo de reacciones funciona bien con derivados que contienen los sustituyentes voluminosos di-isopropilfenilo, IPr y SIPr, mientras que con derivados con sustituyentes metilo se observaba descomposición.²⁴ Los rendimientos que se obtienen con la ruta de transmetalación con plata llegan hasta el 70%,²⁵ pero a veces las reacciones son un poco sucias y se necesitaba carbón activado para eliminar algunas impurezas, además la pureza del óxido de plata es esencial para este tipo de reacciones.²⁶

Nolan sintetizó carbenos de oro con ligandos cloruro,²⁴ [Au(NHC)Cl], mediante reacciones de transmetalación con carbenos de plata con especies [Au(SMe₂)Cl] y también con grupos OH²⁷ como [(NHC)Au(OH)] con ayuda de una base.

¹⁹ H. Jacobsen, A. Correa, A. Poater, C. Costabile, L. Cavallo, *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, 253, 687.

²⁰ D. J. Gorin, B. D. Sherry, F. D. Toste, *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 3351.

²¹ I. Ott, *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, 253, 1670.

²² X. He, V.-W. Yam, *Coord. Chem. Rev.*, **2011**, 255, 2111.

²³ G. Minghetti, F. Bonati, *J. Organomet. Chem.*, **1973**, 54, 62.

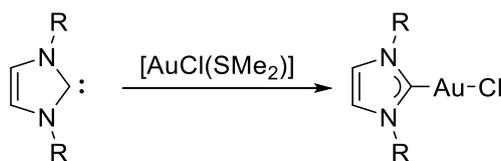
²⁴ P. de Frémont, N. M. Scott, E. D. Stevens, S. P. Nolan, *Organometallics*, **2005**, 24, 2411.

²⁵ J. C. Y. Lin, R. T. W. Huang, C. S. Lee, A. Bhattacharyya, W. S. Hwang, I. J. B. Lin, *Chem. Rev.*, **2009**, 109, 3561.

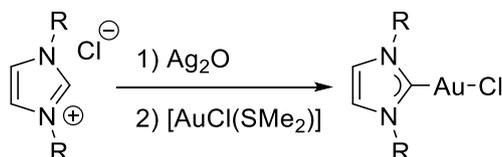
²⁶ R. Visbal, A. Laguna, M. C. Gimeno, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 5642.

²⁷ F. Nahra, S. R. Patrick, A. Collado, S. P. Nolan, *Polyhedron*, **2014**, 84, 59.

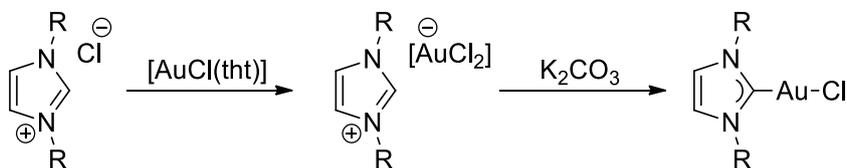
Carbeno Libre



Transmetalación con plata

**Esquema 2.1.** Reacciones para la formación de carbenos NHC-Au(I).

El grupo de investigación de la profesora Gimeno consiguió estabilizar sales de imidazolio teniendo como contraión el fragmento $[\text{Au}(\text{C}_6\text{F}_5)\text{Cl}]^-$ y consiguió sintetizar posteriormente el complejo $[\text{Au}(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{NHC})]$.²⁸ Del mismo modo se intentaron obtener los carbenos Au(I)-Cl, partiendo de la sal $[\text{NHC-H}]^+ [\text{AuCl}_2]^-$ y seguidamente la desprotonación con una base adecuada (capaz de desprotonar la sal de imidazol sin quitar el ligando cloruro, que va a estabilizar al carbeno), lo que permitiría la formación del carbeno $[\text{AuCl}(\text{NHC})]$ tal como muestra el siguiente esquema.

**Esquema 2.2.** Síntesis de carbenos NHC-Au(I) a través del intermedio $[\text{NHC-H}]^+ [\text{AuCl}_2]^-$.

El descubrimiento de las propiedades antitumorales del Auranofin propicio una gran investigación en diferentes complejos de oro para el tratamiento del cáncer. Existen varios factores que hay que considerar cuando se está trabajando en la preparación de compuestos con posible actividad antiproliferativa, uno es la solubilidad de los compuestos en el suero fisiológico y una vez que esto es posible su estabilidad en el mismo. Para ello los complejos con metales de transición, en este caso oro, deberían tener un fuerte enlace metal-ligando. Si el Auranofin es un compuesto que consta de un tiol y una fosfina, no sería raro pensar en la sustitución de la fosfina por un ligando NHC, que en teoría debería dar más estabilidad, debido al aumento de la fortaleza del enlace. Además, los carbenos han demostrado ser ligandos menos tóxicos que las

²⁸ M. C. Gimeno, A. Laguna, R. Visbal, *Organometallics*, **2012**, *31*, 7146.

fosfinas, aparte de ser fácilmente funcionalizables, lo que permite modificar su reactividad, lipofilidad, hidrosolubilidad o reconocimiento celular.²⁹ Muy importante es el hecho de que el ligando NHC tenga carga cero, ya que así no modifica la carga catiónica del ion metálico, lo cual es muy importante para la captación y unión con las biomoléculas.³⁰ Berner-Price y colaboradores describieron una familia de complejos catiónicos NHC-oro(I) lipofílicos mostrando excelentes propiedades antitumorales y una particular selectividad hacia determinadas proteínas de la mitocondria como la tioredoxina reductasa.³¹ Como ejemplo de un complejo similar al Auranofin pero con un ligando NHC podemos nombrar el sintetizado por el grupo de Gimeno mostrando grandes resultados en células cancerígenas de cáncer de páncreas, Miapaca.³²

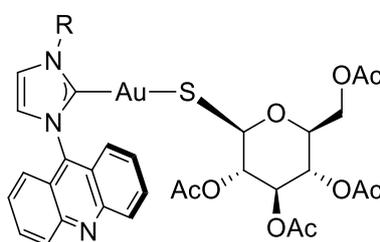


Figura 2.5. Complejo de oro con un ligando NHC similar al Auranofin.

Por otro lado, los biscarbenos de oro catiónicos han demostrado tener un carácter lipofílico y conseguir acumularse selectivamente en las mitocondrias de las células cancerígenas, debido al alto potencial de membrana que presentan. Aparte de la interacción con la tioredoxina reductasa y la generación de ROS hay otras dianas biológicas, como son aquellas proteínas que contengan átomos de azufre como por ejemplo el proteasoma-ubiquitina, tirosinokinasas y topoisomerasas, formando un fuerte interacción mediante un enlace con el átomo de oro, así como la interacción con las hebras de ADN.³³

²⁹ E. Chardon, G. Dahm, G. Guichard, S. Bellemin-Laponnaz, *Inorganica Chim. Acta*, **2017**, 467, 33.

³⁰ T. Zou, C. Lok, P. Wan, Z. Zhang, S. Fung, C. Che, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2018**, 43, 30.

³¹ P. J. Barnard, M. V. Baker, S. J. Berners-Price and D. A. Day, *J. Inorg. Biochem.*, **2004**, 96, 1642.

³² R. Visbal, V. Fernández-Moreira, I. Marzo, A. Laguna, M. C. Gimeno, *Dalton Trans.*, **2016**, 45, 15026.

³³ M. Mora, M. C. Gimeno, R. Visbal, *Chem. Soc. Rev.*, **2019**, 48, 447.

2.2. Objetivos

De acuerdo con todo lo comentado, los ligandos carbeno N-heterocíclico representan moléculas con unas excelentes propiedades para su utilización en la química inorgánica medicinal. Por ello en el siguiente capítulo nos propusimos la preparación de nuevas sales de imidazolio con grupos urea dentro de su estructura. Creemos que la introducción de dos moléculas con interesantes propiedades biológicas podría aportar un valor añadido a los complejos de oro(I) que se pretende desarrollar con este tipo de ligandos.

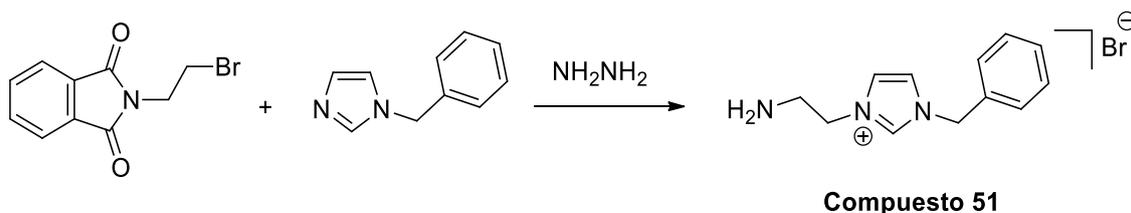
De este modo los objetivos concretos que se han planteado en este capítulo son los siguientes:

- Síntesis de diferentes sales de imidazolio que contienen grupos urea en su estructura.
- Formación de nuevos carbenos de oro(I), con diferentes sustituyentes, como fosfinas y tioles. La elección de estos sustituyentes tiene como objetivo la modificación de sus propiedades, haciendo a los nuevos complejos metálicos más liposolubles, más estables en el medio, para que así puedan presentar una mejor actividad antitumoral.
- Estudio de la actividad anticancerígena de estos carbenos como de sus sales de imidazolio en dos líneas de cáncer, A549 y HeLa.
- Estudio de la selectividad presentada por los mejores candidatos por medio de medidas en la línea celular Jurkat y en linfocitos T para poder comprobar si son dañinas a las células no cancerígenas.
- Estudio de la muerte celular por citometría de flujo para comprobar si es debida a procesos apoptóticos o a necroticos.
- Síntesis de compuestos dinucleares de oro(I) con el ligando coordinado como bidentado puente a través del carbono carbénico y el ligando amiduro consecuencia de la desprotonación de la urea.
- Estudio de las propiedades luminiscentes y biológicas de estos compuestos dinucleares.
- Estudio de la biodistribución celular por medio de la microscopia confocal de fluorescencia con la intención de obtener algún tipo de información acerca de

dónde se puede acumular dentro de las células y si podrían ser usados como agentes de contraste.

2.3. Síntesis de Sales de Imidazolio

Para la síntesis de las sales de imidazolio utilizadas en este capítulo, se modificó la ruta de obtención de ligandos NNC pincer.³⁴ Para ello se utilizaron como productos de partida los compuestos N-(2-bromoetil)ftalimida y bencilimidazol para obtener la sal de imidazolio correspondiente con el grupo NH₂ protegido; para su desprotección se utilizó hidracina en exceso, tal y como muestra el siguiente Esquema 2.3.

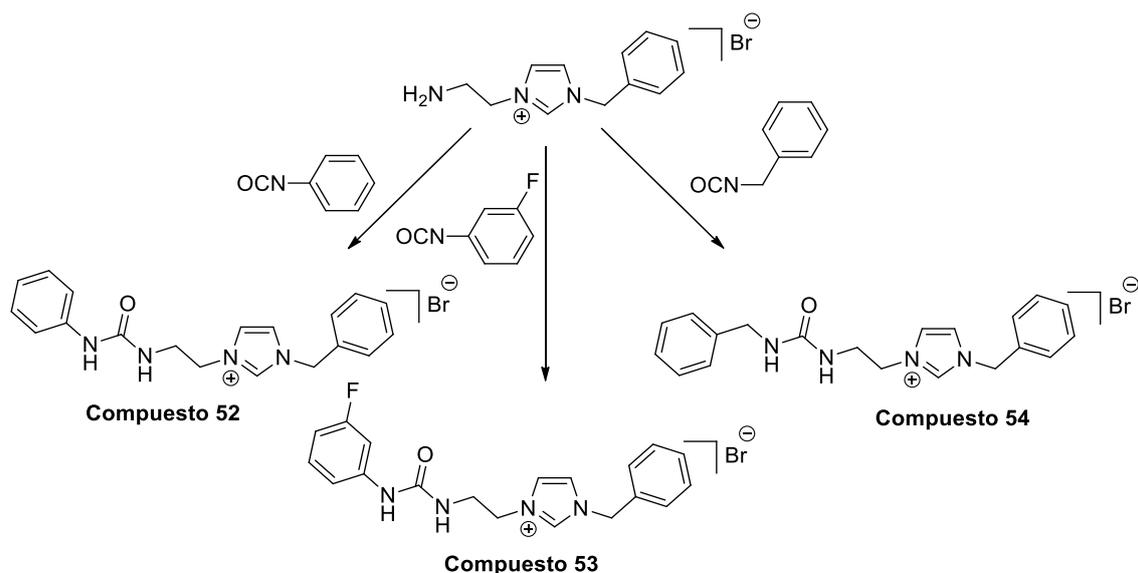


Esquema 2.3. Síntesis de la sal aminoetil-metilimidazolio.

Una forma sencilla de introducir el grupo urea en una de las ramificaciones del anillo imidazol podría ser haciendo reaccionar el grupo amino con ligandos isocianatos, obteniendo así sales de imidazolio que tuvieran estos grupos funcionales en su estructura. A partir de este intermedio se sintetizaron tres tipos de sales de imidazolio con tres grupos isocianato diferentes, fenilisocianato, bencilisocianato y 3-fluorofenilisocianato. La reacción se lleva a cabo en etanol durante 24 h, obteniéndose una turbidez blanca. Cuando la reacción había acabado y se había evaporado la muestra a un volumen mínimo de etanol, la adición de 5 ml de acetonitrilo hacía que se obtuviera un sólido blanco fácilmente manejable (Esquema 2.4).

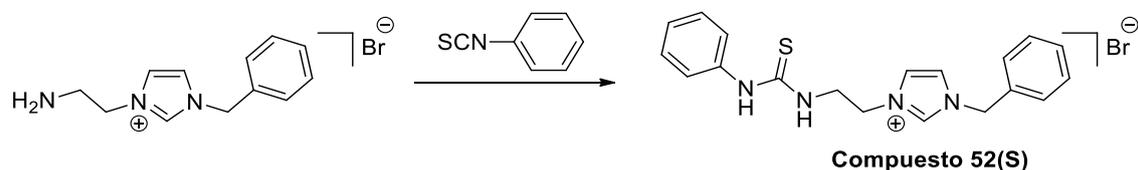
También se consiguieron sintetizar sales de imidazolio con un grupo metilo, en vez de bencilo en la posición N1, pero los compuestos eran más inestables a la hora de formar el carbeno correspondiente, por lo que se decidió continuar solamente con aquellas sales de imidazolio que llevaban el grupo bencilo.

³⁴ C. Mejuto, M. A. García-Eleno, G. Guisado-Barrios, D. Spasyuk, D. Gusev, E. Peris, *Org. Chem. Front.*, **2015**, *2*, 936.



Esquema 2.4. Síntesis de las sales de imidazolio con grupos urea.

A su vez se sintetizaron las mismas sales de imidazolio que contuvieran un grupo tiourea en la molécula, haciendo la reacción con los correspondientes tioisocyanatos (Esquema 2.5). Sin embargo, después de varios intentos con diferentes procedimientos que se explicarán más adelante en este capítulo, no se lograron obtener los carbenos de oro correspondientes, por lo que se abandonó el estudio de estos compuestos.



Esquema 2.5. Síntesis de las sales de imidazolio con grupos urea.

Los compuestos **52**, **53** y **54** fueron caracterizadas mediante espectroscopia ^1H - y ^{13}C -RMN. Los datos del ^1H -RMN mostrados en la Figura 2.6, mostraron como los protones correspondientes al grupo urea difieren bastante, siendo más ácido aquel que está unido al fenilo correspondiente al isocianato del producto de partida y aparece como un singlete (**NH**), en cambio, el protón del grupo amino de la urea que está unido a la cadena alquílica está más apantallado y aparece como un triplete debido a la coordinación con el metileno de la cadena (**NH**), su constante de acoplamiento es en torno a $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz. Hay que destacar, que los protones **NH** de los compuestos **52** y **53** salen a frecuencias más altas que los protones aromáticos, debido a que éstos los desapantallan. En cambio, en el compuesto **54** al tener un grupo metileno, el desapantallamiento por parte del anillo aromático es menor y por lo tanto sale a menos

ppm, y casi a la misma frecuencia que el **NH**, y en este caso también aparece como un triplete al poder acoplarse con el metileno del bencilo, con una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 6.0$ Hz.

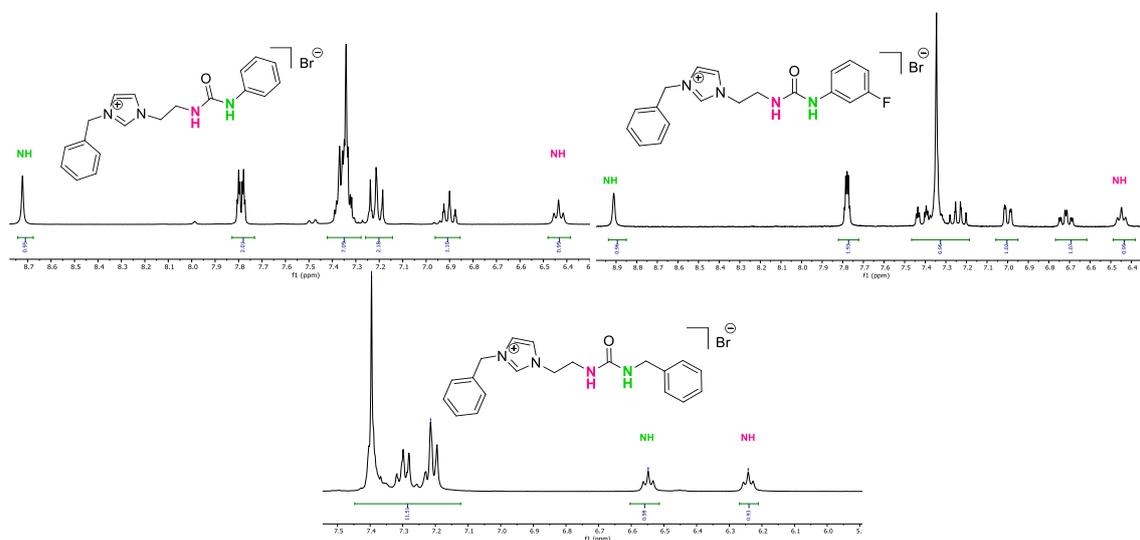


Figura 2.6. Posición de los protones de los NH.

Todo esto se dedujo por RMN con el experimento bidimensional COSY, que se muestra en la siguiente figura, donde se puede observar como la señal correspondiente al **NH** no se correlaciona con ninguna otra en el espectro. Además, se observa una correlación muy clara de **NH**, con los CH_2 de la cadena alquílica.

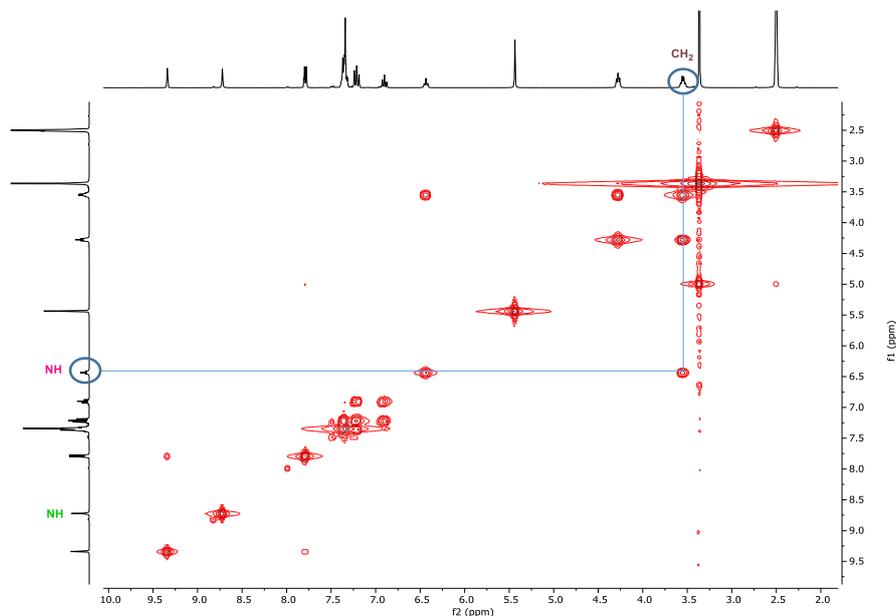


Figura 2.7. Espectro bidimensional COSY, compuesto **52**.

Respecto a los metilenos, el que sale más desapantallado es el que aparece entre el fenilo y el imidazol, aparece como un singlete en torno a 5 ppm. Se muestra el espectro del compuesto **54** (Figura 2.6), que presenta cuatro grupos metilenos diferentes, para explicar la forma y el desplazamiento de todos ellos. El grupo CH_2 más desapantallado corresponde al que está coloreado en rojo CH_2 , es decir, el perteneciente al grupo bencilo, tal y como se ha dicho anteriormente. Se muestra como un singlete debido a que no se correlaciona con ningún otro protón de la molécula. Los metilenos presentes en la cadena alquílica, CH_2 y CH_2 aparecen como triplete y multiplete, respectivamente, debido a que el primero se correlaciona con el segundo y éste a su vez se correlaciona con el protón de la urea. Finalmente, el grupo metileno correspondiente al fragmento de bencilisocianato (CH_2) se correlaciona con el protón de la urea NH , y forma un doblete con una constante de acoplamiento de ${}^3J_{HH} = 6.0$ Hz.

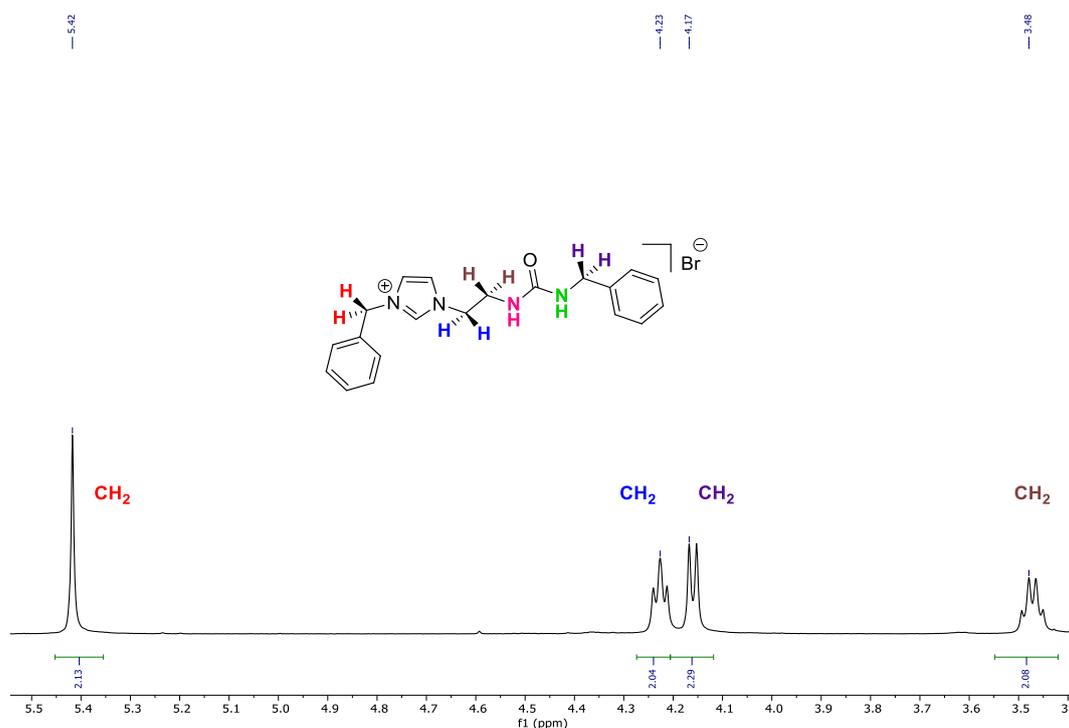


Figura 2.8. Posición de los distintos grupos metileno en el compuesto **54**.

Finalmente, los protones del anillo de imidazol salen en la zona aromática a excepción del protón imidazolico que aparece más desapantallado, sobre 9.3 ppm. Estas señales se aprecian muy levemente en el espectro de ${}^{13}C$ -RMN y la señal de este último casi ni se aprecia, aunque se puede observar su presencia en el espectro bidimensional HMBC por correlación con otras señales. Como ejemplo se puede destacar el espectro de carbono del compuesto **53**, debido a que se pueden diferenciar fácilmente los carbonos de ambos

grupos fenilos. Esto se debe a que uno de ellos presenta un átomo de flúor en posición 3, lo que hace que todos los carbonos de ese anillo aromático presenten un acoplamiento con ese heteroátomo (Figura 2.9). Por lo tanto, aquellos carbonos que estén a menos distancia del flúor tendrán una constante mayor e irá disminuyendo a medida que se alejen, esto se puede apreciar experimentalmente, el carbono con una mayor constante de acoplamiento es aquél que está unido directamente al átomo de flúor y da un valor de aproximadamente 240 Hz que corresponde con lo encontrado en la bibliografía, los carbonos contiguos al heteroátomo tienen una constante de unos 20 Hz, tanto el carbono que se ha nombrado con *II* como el carbono *ipso* unido al grupo metileno tienen una constante de unos 10 Hz y finalmente no se aprecia una constante de acoplamiento con el carbono denominado *I*, puede ser debido a que está a cuatro enlaces del heteroátomo haciendo muy difícil poder observar algún tipo de acoplamiento.

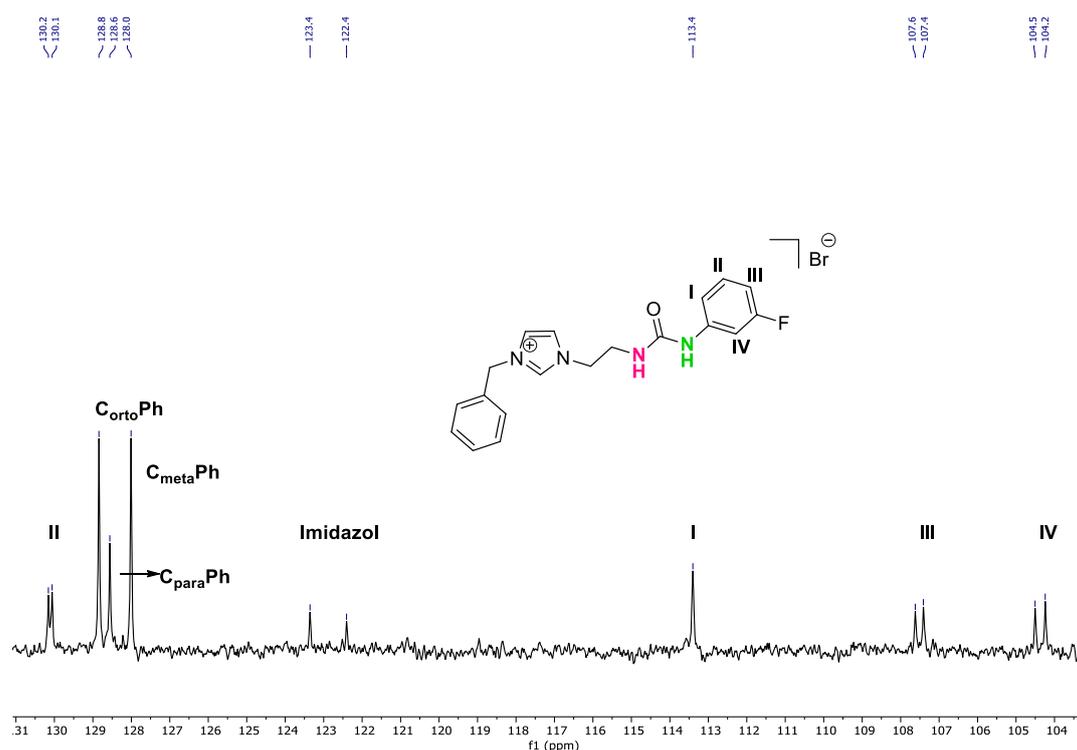


Figura 2.9. Espectro ^{13}C APT para la región aromática del compuesto 53.

2.4. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC

2.4.1. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC y la Fosfina JohnPhos

A partir de las sales mencionadas anteriormente se procedió a la formación de nuevos complejos de oro(I), con la intención de formar un enlace carbono-metal en la posición C2 del heterociclo del imidazol, con la consecuente formación del carbeno

Para ello se propusieron varios métodos, el primero de ellos fue el propuesto por Lin y colaboradores³⁵ que se basa en la formación de la especie [NHC-Ag(I)-X] haciendo reaccionar la sal de imidazolio correspondiente con la especie Ag₂O. Estos complejos se utilizan como agentes de transferencia de carbenos,³⁶ es decir, inicialmente se forma un carbeno de plata para posteriormente en la siguiente etapa reaccionar con los precursores de oro que se desee, en este caso sería con el complejo [AuCl(JohnPhos)], para obtener los carbenos de oro correspondientes.

Otro método que se utilizó en esta síntesis fue el método directo de hacer reaccionar la sal de imidazolio con el precursor metálico mencionado anteriormente [AuCl(JohnPhos)] con ayuda de diferentes bases como carbonato de potasio³⁷ o una base más fuerte como terbutóxido de sodio.

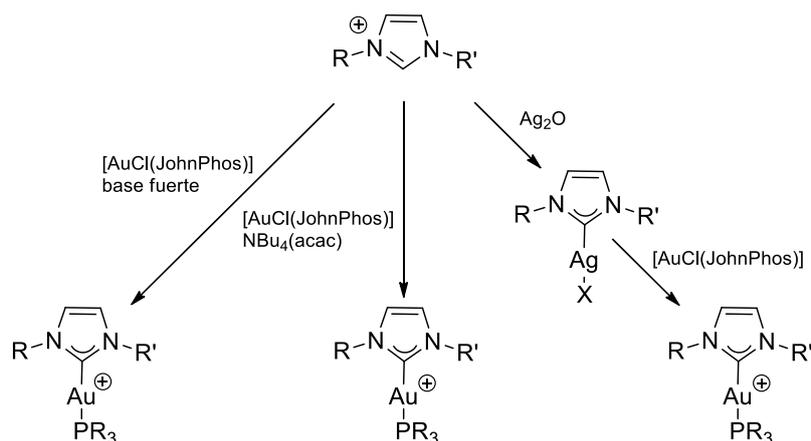
Finalmente el tercer método que se utilizó fue también un método *in situ* para la formación del carbeno, haciendo reaccionar la sal de imidazolio con el correspondiente precursor de oro metálico pero cambiando la base por NBu₄(acac).³⁸ Estos tres métodos se pueden ver en el Esquema 2.6.

³⁵ H. M. J. Wang, I. J. B. Lin, *Organometallics*, **1998**, *17*, 972.

³⁶ I. J. B. Lin, C. S. Vasam, *Coord. Chem. Rev.*, **2007**, *251*, 642.

³⁷ R. Visbal, A. Laguna, M. C. Gimeno, *Chem. Comm.*, **2013**, *49*, 5642.

³⁸ A. Johnson, M. C. Gimeno, *Chem. Comm.*, **2016**, *52*, 9664.



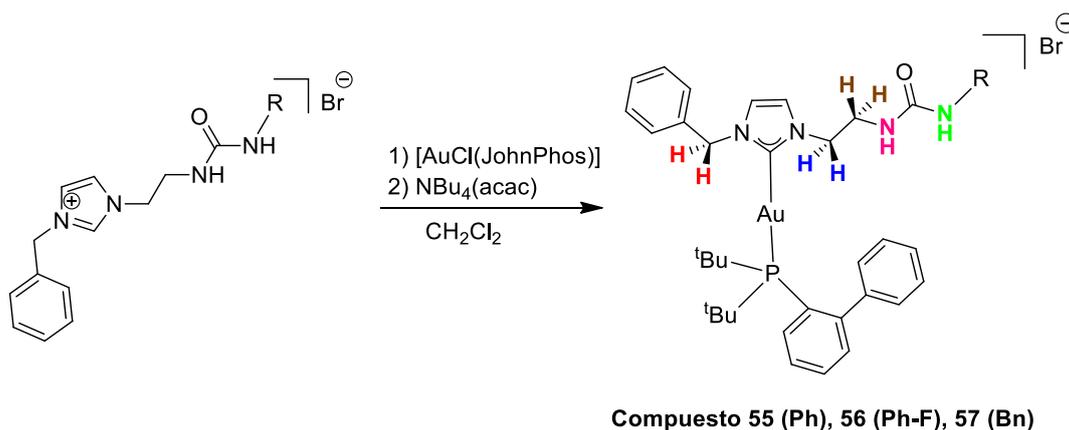
Esquema 2.6. Métodos de síntesis utilizados.

De estos tres métodos, sólo el que utilizaba $\text{NBu}_4(\text{acac})$ como base consiguió formar el carbeno con un rendimiento aceptable. Si la reacción se hacía con óxido de plata, la disolución adquiría un tono anaranjado y en ningún momento en el espectro de ^1H RMN desaparecía la señal correspondiente al protón de la posición C2 del heterociclo del imidazol; la reacción se dejó tapada de la luz entre 2 y 12 h.

Cuando se utilizaban bases más fuertes se originaban mezclas en el crudo de reacción y a veces también se apreciaba en el espectro de ^1H RMN la señal correspondiente al imidazol.

Con el tercer método propuesto, la reacción funcionaba entre dos horas y media y cuatro para el derivado que tiene el flúor en el anillo aromático, el problema en este caso fue eliminar la sal de cloruro de tetrabutilamonio formada como subproducto de la reacción. El problema se solventó haciendo una extracción en agua/diclorometano, aun siendo conscientes de que esa sal es un agente de transferencia de fase, haciendo que el rendimiento fuera menor que el que se podría pensar.³⁹ Otras alternativas fueron pasar la muestra por una columna de alúmina, pero el rendimiento se vio mucho más reducido. Finalmente, como se ha comentado, la síntesis más eficaz es la descrita en la Figura 2.7, utilizando el método descrito en nuestro grupo utilizando el compuesto $\text{Nbu}_4(\text{acac})$.

³⁹ R. Bar, L. Karpuj-Bar, Y. Sasson, J. Blum, *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 154, 203.



Esquema 2.7. Síntesis de los complejos [NHC-Au(I)-JohnPhos]Br.

Los complejos fueron caracterizados mediante espectroscopia ^1H y ^{13}C -RMN y espectrometría de masas (ESI+ μ -TOF). Los picos de los cationes moleculares de los complejos mencionados anteriormente fueron encontrados en los espectros de masas.

Los datos de los espectros de ^1H -RMN muestran como la señal del protón unido en la posición C2 del anillo del imidazol ha desaparecido, indicando la formación del carbeno y la coordinación del centro metálico de oro(I). A su vez se aprecian más señales en la zona aromática correspondientes a los anillos aromáticos del ligando JohnPhos y una señal en torno a 1.5 ppm correspondientes los grupos metilo pertenecientes a los grupos tert-butilo unidos al fósforo (Figura 2.10).

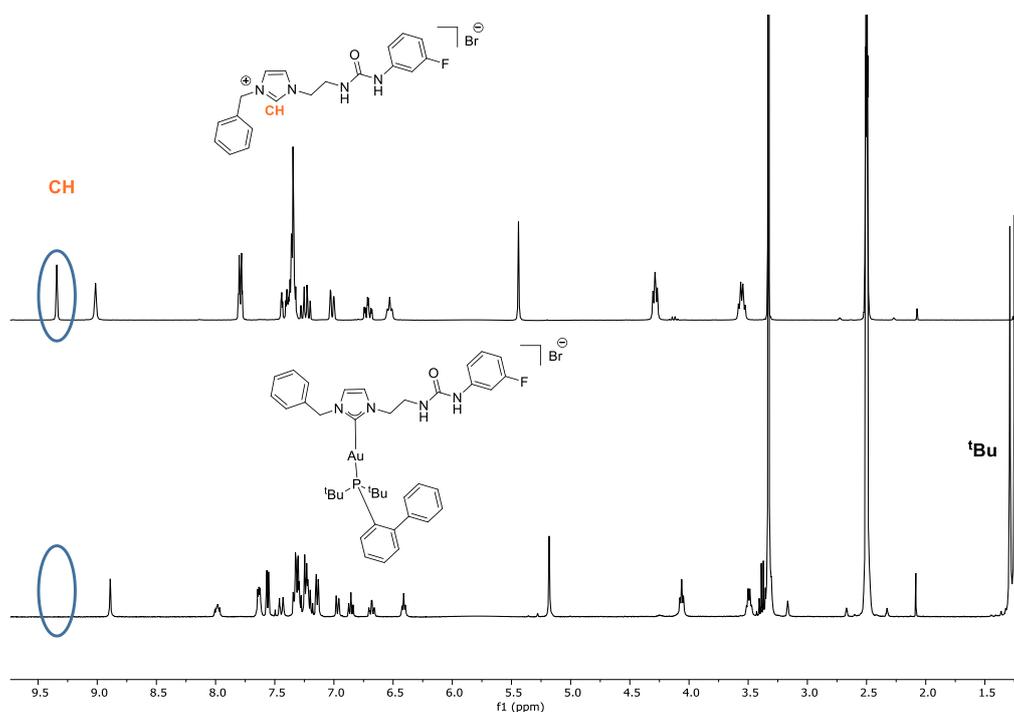


Figura 2.10. Espectro ^1H RMN del complejo **56**.

En el espectro de ^{13}C -RMN (Figura 2.11) también se puede verificar que el metal se ha unido a la sal de imidazolio formando un carbeno de oro(I), debido a que el carbono C2 del anillo de imidazol se desplaza unos 50 ppm.⁴⁰ Se va a considerar el espectro del compuesto **55** debido a que los carbonos que estén cerca del átomo de fósforo van a presentar un acoplamiento obteniendo señales en forma de dobletes.

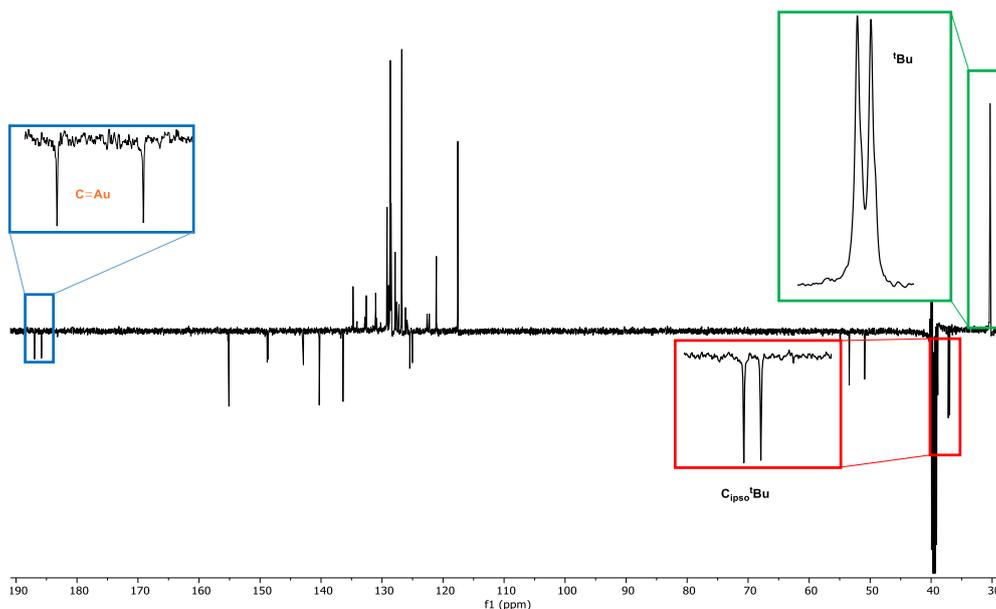
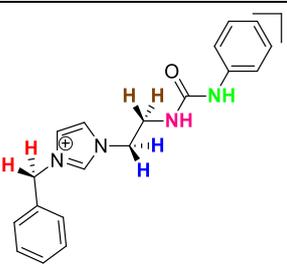


Figura 2.11. Espectro ^{13}C APT para la región aromática del compuesto **55**.

A modo de resumen mostramos varias tablas con los desplazamientos de las señales más relevantes.

Tabla 2.1. Datos de RMN de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ y ^{13}C en dmsol del complejo **55**.

		CH₂	CH₂	CH₂	C/CH	JohnPhos
 52	^1H	5.44 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.34 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.7 (s)	40.0 (s)	136.6 (s)	-

⁴⁰ C. Schmidt, B. Karge, R. Misgeld, A. Prokop, R. Franke, M. Bronstrup, I. Ott, *Chem. Eur. J.*, **2017**, *23*, 1869.

2.4. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC)

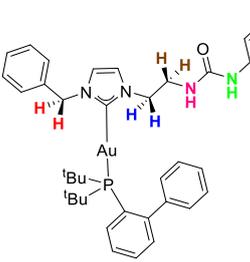
		CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/CH	JohnPhos
 <p style="text-align: right;">55</p>	¹ H	5.18 (s)	4.06 (t)	3.50 (m)	-	1.29 (d)
	³¹ P	63.8 (s)				
	¹³ C	53.4 (s)	50.9 (s)	39.8 (s)	187.0 (d)	37.0 (d)

Tabla 2.2. Datos de RMN de ¹H, ³¹P{¹H} y ¹³C en dmsO del complejo **56**.

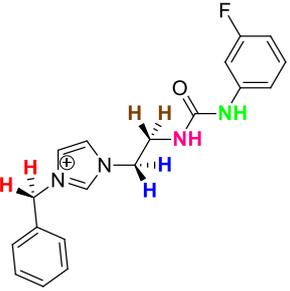
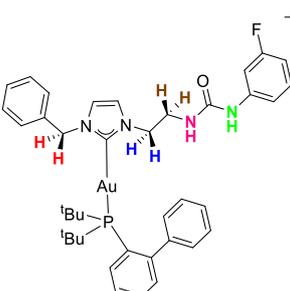
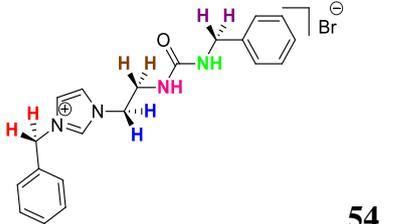
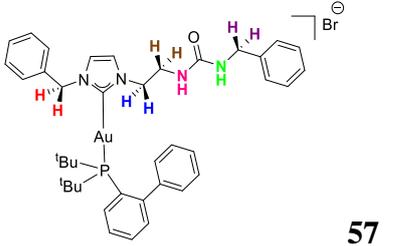
		CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/CH	JohnPhos
 <p style="text-align: right;">53</p>	¹ H	5.43 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.31 (s)	-
	¹³ C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	134.7 (s)	-
 <p style="text-align: right;">56</p>	¹ H	5.18 (s)	4.06 (t)	3.50 (m)	-	1.29 (d)
	³¹ P	64.1 (s)				
	¹³ C	53.4 (s)	50.8 (s)	39.8 (s)	187.0 (d)	30.3 (d)

Tabla 2.3. Datos de RMN de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ y ^{13}C en dmsO del complejo **56**.

		CH ₂	CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/CH	JohnPhos
 54	^1H	5.42 (s)	4.23 (t)	3.47 (q)	4.16 (d)	9.30 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	42.9 (s)	134.7 (s)	-
 57	^1H	5.18 (s)	4.01 (t)	3.42 (m)	4.16 (d)	-	1.28 (d)
	^{31}P	64.1 (s)					
	^{13}C	53.9 (s)	50.9 (s)	39.8 (s)	42.8 (s)	186.4 (d)	30.3 (d)

A parte de lo comentado anteriormente, donde se ve claramente la formación del carbeno al desaparecer la señal correspondiente del protón del carbono C2 del anillo de imidazol y el desapantallamiento de la señal del carbono C2 del anillo, se puede apreciar en los espectros de ^1H RMN como se desplazan las señales de los ligandos.

La estructura cristalina de estos compuestos se ha corroborado mediante un estudio por difracción de rayos X de un cristal del complejo **55**. En la Figura 2.12 se recoge la estructura molecular, donde puede observarse la coordinación del centro de oro a los ligandos carbeno y fosfina, con una geometría lineal, siendo el ángulo C-Au-P de $175.70(15)^\circ$, próximo al valor ideal. Los enlaces Au-C y Au-P son $2.028(5)$ Å y $2.2997(14)$ Å, que se corresponden bien con la presencia de dos ligandos con una gran influencia *trans*. El átomo de oro forma enlaces secundarios, con un enlace corto Au...H de 2.777 Å y una interacción de tipo π con los carbonos de uno de los anillos fenilo de la fosfina, distancias de 3.056 y 3.109 Å. Este tipo de interacción π de la fosfina JohnPhos es característica de complejos de oro(I).

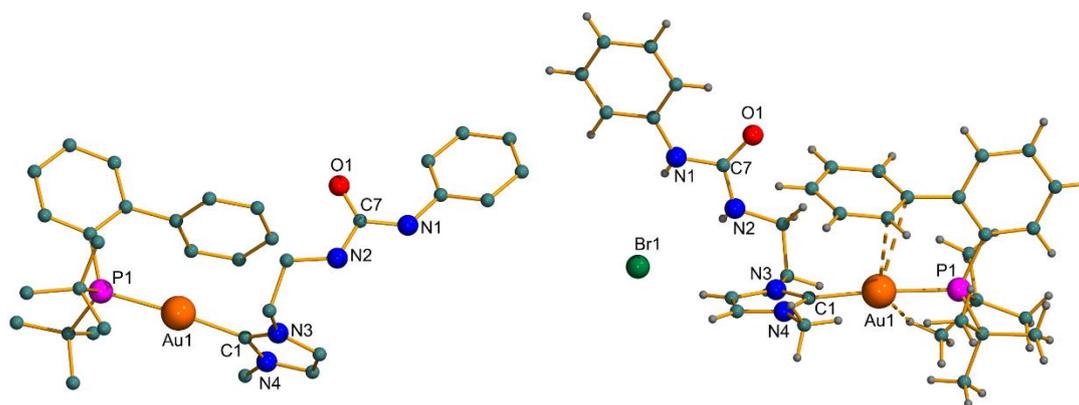


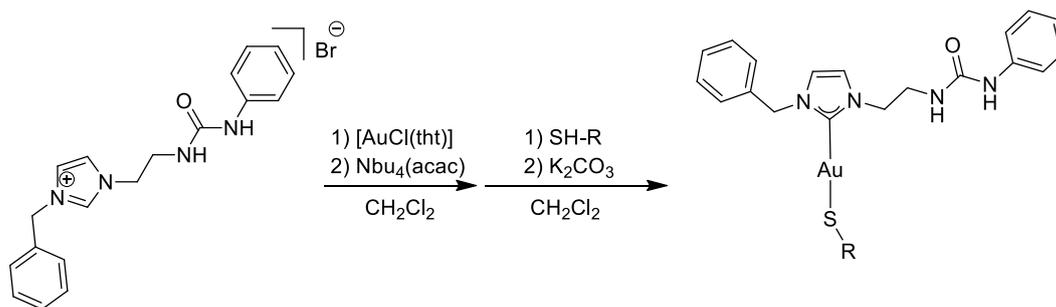
Figura 2.12. Estructura molecular del complejo **55**, izquierda sin mostrar los H y derecha con los H y mostrando los enlaces secundarios.

2.4.2. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC y Tioatos

Para la síntesis de estos complejos se siguieron también varias rutas de síntesis y se hicieron en dos fases, la primera sería formar el complejo [NHC-Au(I)-Cl], para posteriormente con ayuda de una base, extraer el ligando cloruro y sustituirlo por los respectivos ligandos tioles. En este capítulo se utilizaron el derivado de tiogluosa y la 2-mercaptopiridina. (Esquema 2.8).

Para la síntesis del derivado [NHC-Au(I)-Cl] se utilizaron los tres métodos mencionados anteriormente para la formación de carbenos con JohnPhos. El método de transmetalación con plata se descartó porque no se conseguía desprotonar el hidrógeno de la posición C2 del anillo de imidazol para formar el carbeno de plata. Cuando se intentó la reacción *in situ* con una base fuerte y añadiendo el complejo [AuCl(tht)]⁴¹ se originaban mezclas de compuestos que no pudieron ser separados. Finalmente, cuando se utilizó como base NBu₄(acac), sí se pudo obtener el carbeno [NHC-Au(I)-Cl]. No obstante, la purificación de este no fue posible debido a que fácilmente se descomponía al intentar hacer una extracción H₂O/CH₂Cl₂, y se quedaba retenido en la columna de sílice o se perdía mucho rendimiento al intentarlo purificar con una columna de alúmina. Por ello, se propuso hacer la reacción *one-pot*, es decir una vez formado el complejo [NHC-Au(I)-Cl] añadir en la misma mezcla de reacción el respectivo ligando tiol junto con un exceso de carbonato de potasio. La reacción se dejó 12 h y se experimentaba un cambio de color de incoloro a distintas tonalidades de amarillo.

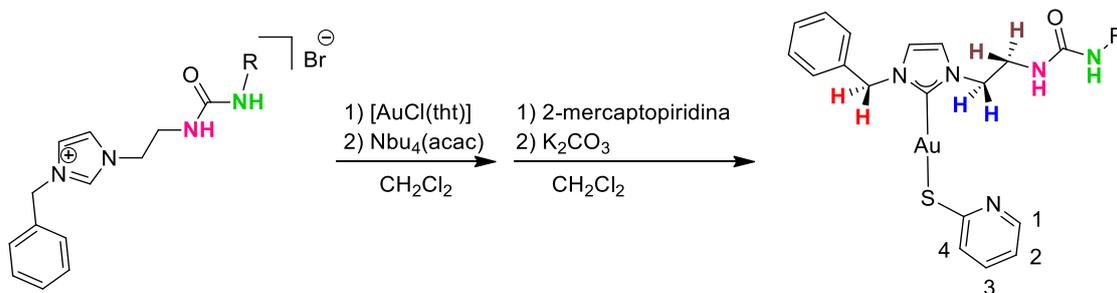
⁴¹ R. Usón, A. Laguna, M. Laguna, *Inorg. Synth.*, **1989**, 26, 85.



Esquema 2.8. Síntesis general de complejos de oro(I) con ligandos NHC y tiolatos

2.4.2.1. Síntesis de los Complejos Tiolato con 2-Mercaptopiridina

La síntesis de estos complejos de forma esquemática se puede describir tal como se especifica en el Esquema 2.9.



Compuesto 58 (Ph), 59 (Ph-F), 60 (Bn)

Esquema 2.9. Síntesis de complejos tiolato con 2-mercaptopyridina.

Los complejos fueron caracterizados mediante espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C -RMN y espectrometría de masas (ESI+ μ -TOF).

Los picos moleculares de los complejos mencionados anteriormente fueron encontrados en todos los casos en los espectros de masas (ESI+).

Los datos ^1H -RMN (Figura 2.13) muestran como la señal del protón unido en la posición C2 del anillo de imidazol ha desaparecido, indicando que efectivamente el metal, en este caso oro, se ha coordinado. A su vez se aprecian más señales en la zona aromática correspondientes al grupo piridina del ligando tiolato que se pueden diferenciar tanto el protón como el carbono 1 y 2 de nuestros compuestos mediante el espectro bidimensional HSQC, donde se relacionan las señales de los protones con su carbono correspondiente. Se selecciona el espectro del compuesto **59**, porque se puede apreciar con claridad los diferentes protones aromáticos de los diferentes grupos fenilo,

2.4. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC

3-fluorofenilo y mercaptopiridina, como muestra el espectro APT. En él se puede apreciar como los carbonos del anillo aromático que tiene un flúor en posición *meta* van a tener forma de doblete debido al acoplamiento con el heteroátomo, tal como se ha indicado anteriormente. Los protones 1 y 2 del ligando 2-mercaptopiridina se diferencian debido a que el primero sale más desapantallado y el segundo más apantallado en la zona aromática.

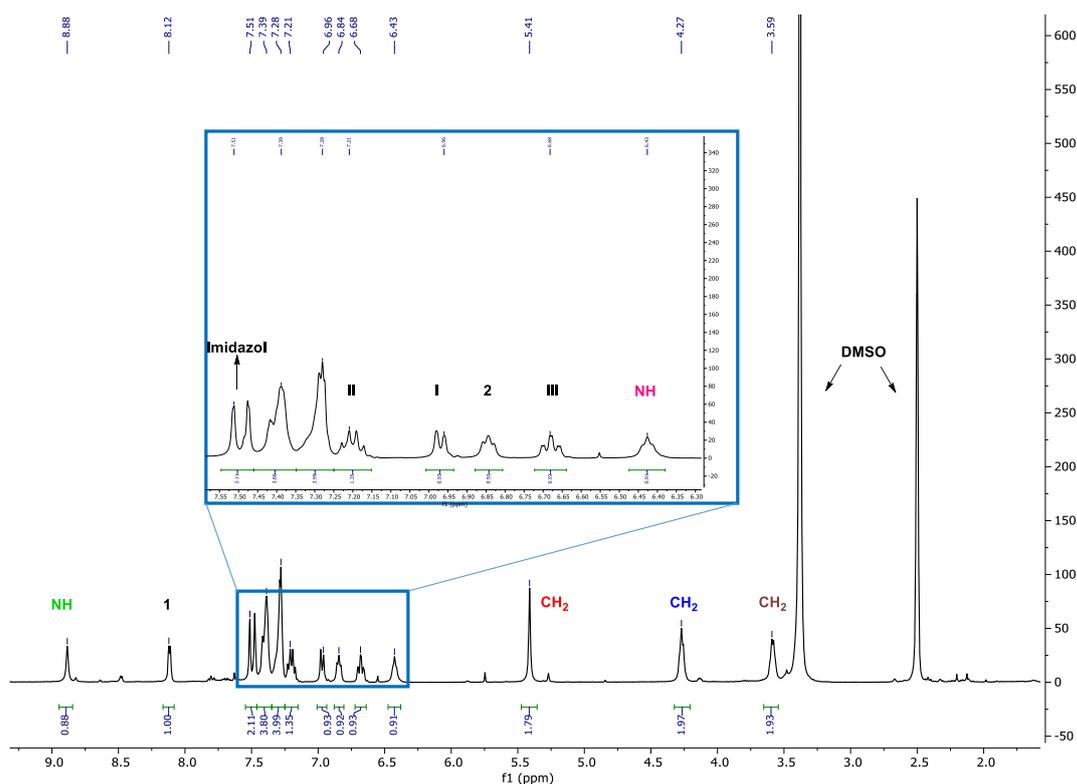
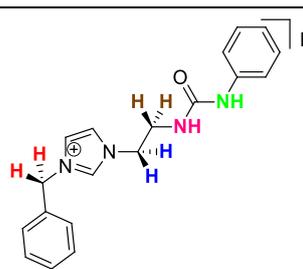


Figura 2.13. Espectro ^1H RMN del complejo **59**.

A modo de resumen mostramos unas tablas con los desplazamientos de las señales más relevantes.

Tabla 2.4. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmsó del complejo **58**.

		CH_2	CH_2	CH_2	C/CH	1
 <p style="text-align: center;">52</p>	^1H	5.44 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.34 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.7 (s)	40.0 (s)	136.6 (s)	-

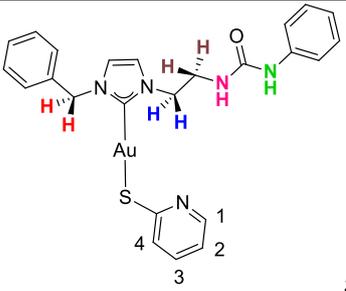
	^1H	5.42 (s)	4.27 (t)	3.59 (m)	-	8.13 (s)
	^{13}C	53.5 (s)	50.7 (s)	40.0 (s)	-	1.0 (s)

Tabla 2.5. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmso del complejo **59**.

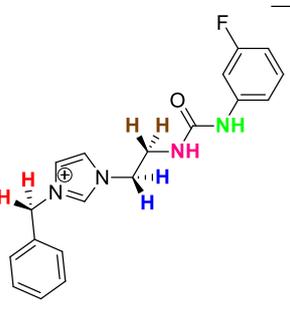
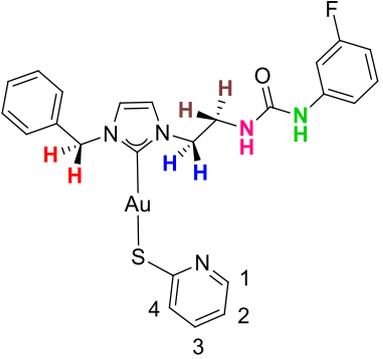
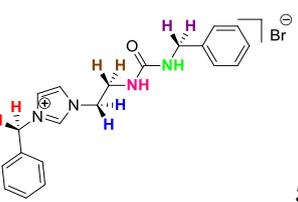
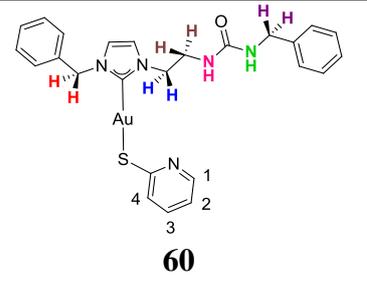
		CH₂	CH₂	CH₂	C/ CH	1
	^1H	5.43 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.31 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	134.7 (s)	-
	^1H	5.41 (s)	4.27 (t)	3.59 (m)	-	8.12 (s)
	^{13}C	53.5 (s)	50.7 (s)	39.8 (s)	183.2 (s)	149.7 (s)

Tabla 2.6. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmso del complejo **60**.

		CH₂	CH₂	CH₂	CH₂	C/ CH	1
	^1H	5.42 (s)	4.23 (t)	3.47 (q)	4.16 (d)	9.30 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	42.9 (s)	134.7 (s)	-

 <p style="text-align: center;">60</p>	¹ H	5.42 (s)	4.23 (t)	3.53 (m)	4.18 (d)	-	8.11 (s)
	¹³ C	53.5 (s)	50.8 (s)	40.1 (s)	42.9 (s)	183.1 (s)	148.3 (s)

Para estos compuestos los desplazamientos no son muy diferentes respecto de los ligandos, pero se aprecia la formación del carbeno al desaparecer la banda del protón C2 del anillo de imidazol en el espectro de ¹H RMN. También se observa el desapantallamiento del C2 del anillo de imidazol en el espectro de ¹³C RMN y la aparición de nuevas señales correspondientes a la ligando 2-mercaptopiridina.

Se ha determinado la estructura cristalina del complejo **58** por difracción de rayos X de un monocristal obtenido por difusión de n-hexano en una disolución del complejo en diclorometato. En la Figura 2.13 se recoge la estructura molecular en la que se puede apreciar que el átomo de oro está unido al átomo de carbono del ligando carbeno, con una distancia Au1-C1 de 2.018(3) Å, y al átomo de azufre del ligando tiolato con una distancia Au1-S1 de 2.2905(8) Å. Estos valores son similares a los obtenidos cuando estaba el ligando fosfina en posición trans. El centro de oro se encuentra también en un entorno lineal con un ángulo C1-Au1-S1 de 176.35(8)°.

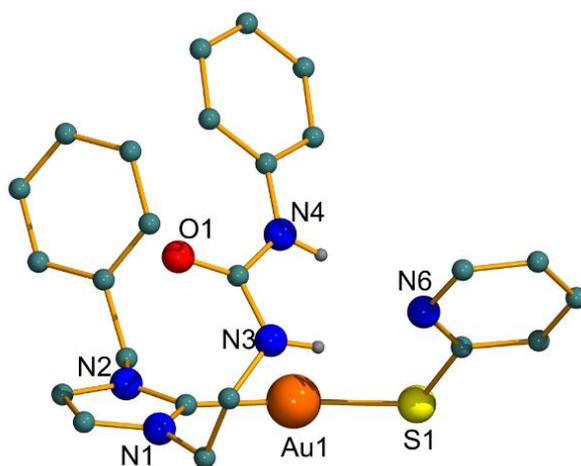
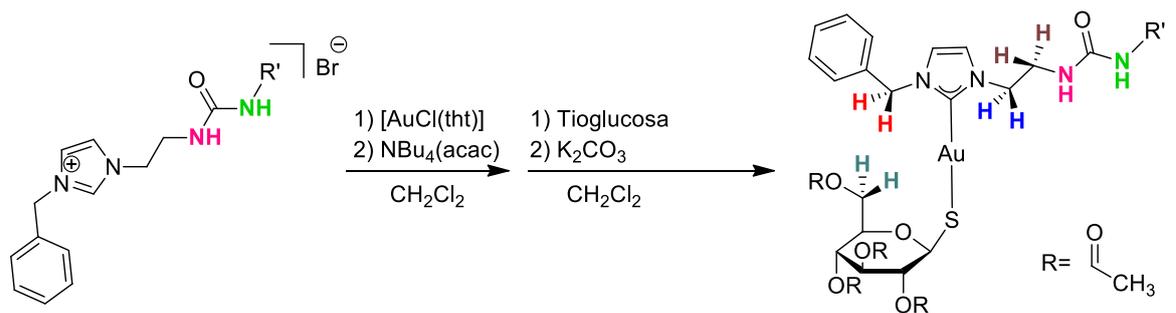


Figura 2.13. Estructura molecular del compuesto **58**; los átomos de hidrógeno se han omitido por claridad.

2.4.2.2. Síntesis de los Complejos Tiolato con β -Tioglucosa

La síntesis de estos compuestos se llevó a cabo tal y como muestra la siguiente figura, el procedimiento fue igual al que se utilizó en la síntesis de carbenos con el derivado mercaptopiridina, pero en este caso se utilizó el compuesto 1-tio- β -D-glucosa peracetilada, intentando emular al compuesto Auranofin, pero con un grupo NHC en vez del derivado de fosfina (Esquema 2.10).



Compuesto **61**(Ph), **62**(Ph-F), **63**(Bn)

Esquema 2.10. Síntesis tioles con tioglucosa.

Los complejos fueron caracterizados mediante espectroscopia ^1H y ^{13}C -RMN y espectrometría de masas (ESI+ μ -TOF).

Los picos moleculares de los complejos mencionados anteriormente fueron encontrados en los espectros de masas, pero en todos casos el pico molecular de los compuestos se obtenía con la masa de una molécula de sodio, que en el resto de compuestos no ocurre.

En el espectro de RMN de ^1H para el complejo **63** (Figura 2.14) se observa un ligero desplazamiento de las señales que corresponderían a la sal de imidazolio original. Por otro lado, aparecen nuevas señales correspondientes al ligando tioglucosa en la zona alifática del espectro.

2.4. Síntesis de Complejos de Oro(I) con Ligandos NHC)

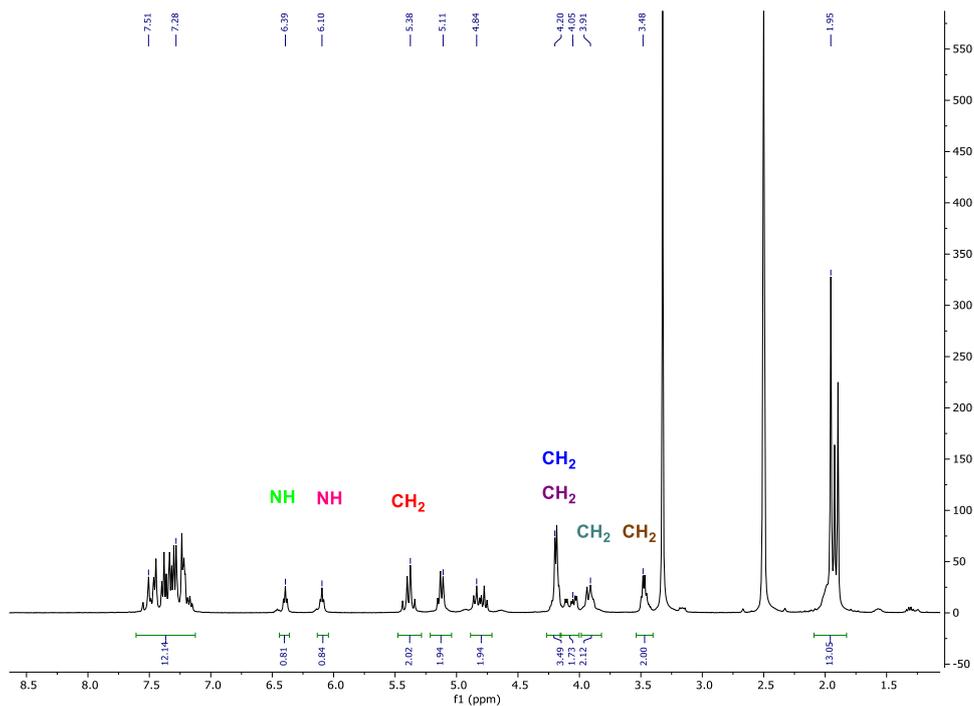


Figura 2.14. Espectro ^1H RMN del complejo **63**.

En las siguientes tablas se muestran las señales más relevantes de los complejos descritos anteriormente junto con sus sales de imidazolio.

Tabla 2.7. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmso del complejo **61**.

		CH_2	CH_2	CH_2	C/ CH	CH_2
<p style="text-align: center;">52</p>	^1H	5.44 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.34 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.7 (s)	40.0 (s)	136.6 (s)	-
<p style="text-align: center;">61</p>	^1H	5.39 (d)	4.23 (t)	3.57 (m)	-	4.05 (m)
	^{13}C	53.4 (s)	50.5 (s)	39.8 (s)	183.2 (s)	62.4 (s)

Tabla 2.8. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmsO del complejo **62**.

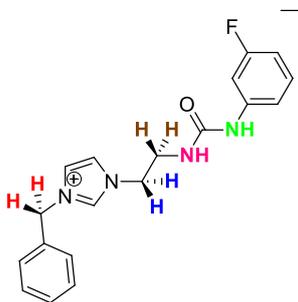
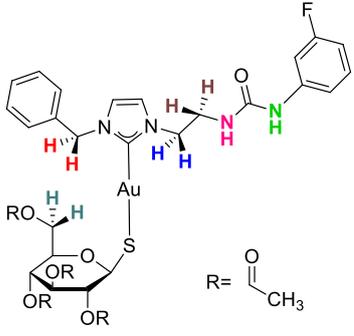
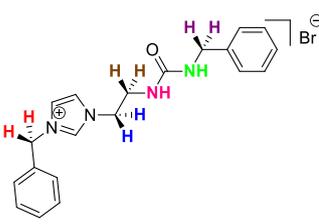
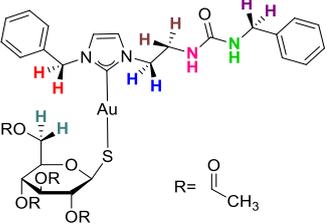
		CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/ CH	CH ₂
 53	^1H	5.43 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.31 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	134.7 (s)	-
 62	^1H	5.39 (d)	4.23 (t)	3.57 (m)	-	4.05 (m)
	^{13}C	53.4 (s)	50.4 (s)	39.8 (s)	181.1 (s)	62.4 (s)

Tabla 2.9. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmsO del complejo **63**.

		CH ₂	CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/ CH	CH ₂
 54	^1H	5.42 (s)	4.23 (t)	3.47 (q)	4.16 (d)	9.30 (s)	-
	^{13}C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	42.9 (s)	134.7 (s)	-
 63	^1H	5.38 (m)	4.20 (m)	3.48 (m)	4.20 (m)	-	4.05 (s)
	^{13}C	53.4 (s)	50.4 (s)	39.8 (s)	42.9 (s)	181.0 (s)	62.4 (s)

De la misma manera se puede observar la desaparición de la señal correspondiente al C2 del anillo de imidazol debido a la coordinación el átomo de oro con la consiguiente formación del carbeno. Esto queda confirmado por el desplazamiento a bajo campo de la señal correspondiente a dicho carbono en el espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ RMN.

Cabe destacar que el ligando tioglucosa aporta quiralidad a la molécula en sí, debido a que tiene varios centros estereogénicos, esto queda reflejado en el grupo metileno **CH₂**, que aparece en estos espectros dentro de las señales de los protones del grupo tioglucosa. Los protones del grupo metileno correspondientes al compuesto tioglucosa aparecen con doblete de dobletes o aparente triplete por acoplamiento con el otro protón del **CH₂** y con el protón del grupo CH adyacente. En una de las señales queda englobada la resonancia de los protones correspondientes al grupo metileno del ligando. (Figura 2.15).

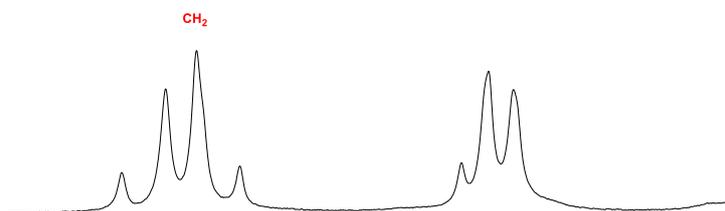
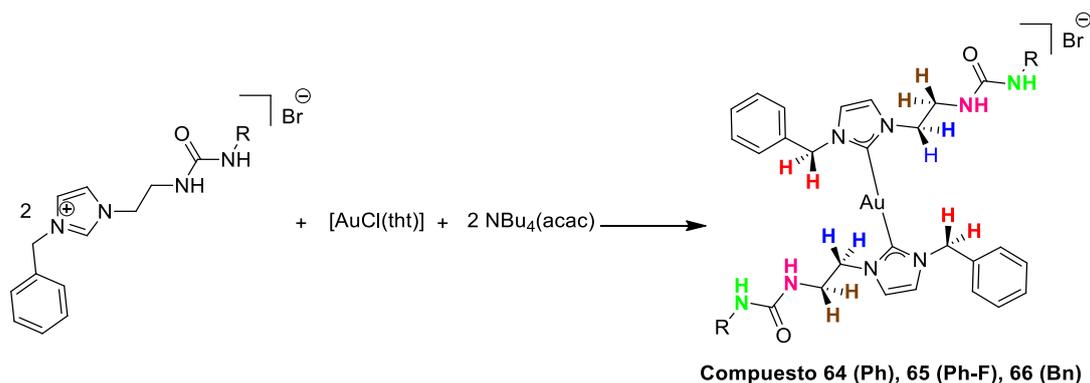


Figura 2.15. Señales para los protones **CH₂** diastereotópicos de la tioglucosa, englobando al grupo metileno del ligando.

2.5. Síntesis de Biscarbenos de Oro(I)

Para la síntesis de los complejos biscarbeno de oro(I) se utilizó la misma metodología que funcionó anteriormente, es decir, la síntesis *in situ*, utilizando la base de $\text{NBu}_4(\text{acac})$ y cambiando la estequiometría de la reacción (Esquema 2.11).



Esquema 2.11. Síntesis de los complejos biscarbena de oro(I).

La reacción se hizo en THF como disolvente en base a la experiencia previa del grupo, por ver si el compuesto precipitaba al formarse,⁴² pero no fue así y no fue posible eliminar el residuo de NBu_4Cl de nuestro compuesto. La reacción se llevó a cabo en diclorometano y posteriormente se realizó una extracción en diclorometano/agua.

Los complejos fueron caracterizados mediante espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C y espectrometría de masas (ESI+ μ -TOF). Los picos de los cationes moleculares de los complejos mencionados anteriormente fueron encontrados en los espectros de masas de todos los compuestos.

En el espectro de protón se puede observar la ausencia del protón que está unido a la posición C2 del anillo de imidazol, además en el espectro de carbono, esa misma señal se desplaza a más bajo campo.

A modo de ejemplo se recoge en las siguientes tablas los desplazamientos químicos de las señales más representativas.

Tabla 2.10. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmsO del complejo **64**.

		CH₂	CH₂	CH₂	C/ CH	Imidazol
<p style="text-align: center;">52</p>	^1H	5.44 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.34 (s)	7.80 (m)
	^{13}C	51.8 (s)	49.7 (s)	40.0 (s)	136.6 (s)	123.3-122.4 (s)

⁴² A. Johnson, M. C. Gimeno, *Organometallics*, **2017**, *36*, 1278.

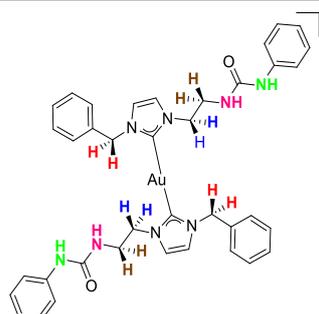
		CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/ CH	Imidazol
 64	¹ H	5.29 (d)	4.25 (t)	3.50 (m)	-	7.57 (m)
	¹³ C	53.4 (s)	50.6 (s)	40.2 (s)	183.2 (s)	1225-122.4 (s)

Tabla 2.11. Datos de RMN de ¹H y ¹³C en dmsO del complejo **65**.

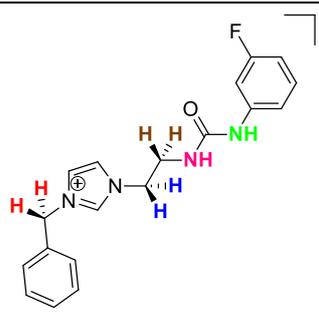
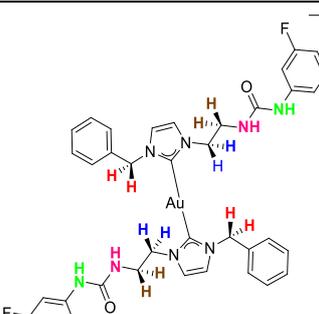
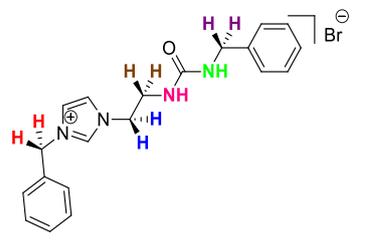
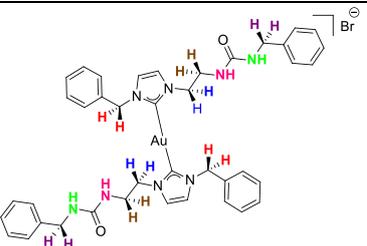
		CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/ CH	Imidazol
 53	¹ H	5.43 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.31 (s)	7.78 (m)
	¹³ C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	134.7 (s)	123.4-122.4 (s)
 65	¹ H	5.29 (s)	4.26 (t)	3.50 (m)	-	7.50 (m)
	¹³ C	53.4 (s)	50.4 (s)	40.0 (s)	183.2 (s)	122.5-122.4 (s)

Tabla 2.12. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmsO del complejo **66**.

		CH₂	CH₂	CH₂	CH₂	C/ CH imidazol	Imidazol
 <p style="text-align: center;">54</p>	^1H	5.42 (s)	4.23 (t)	3.47 (q)	4.16 (d)	9.30 (s)	7.77 (m)
	^{13}C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	42.9 (s)	134.7 (s)	123.3- 122.3 (s)
 <p style="text-align: center;">66</p>	^1H	4.92 (s)	3.77 (t)	3.00 (m)	3.66 (m)	-	
	^{13}C	53.4 (s)	50.7 (s)	39.8 (s)	42.8 (s)	183.1 (s)	122.6- 122.4 (s)

Los desplazamientos químicos observados para los distintos protones son pequeños excepto para el grupo **CH₂** donde los protones aparecen más desapantallados en todos los casos. En la Figura 2.16, se puede comparar el espectro ^1H RMN del complejo **64** con su sal de imidazolio correspondiente **52**. Como se puede apreciar ambos espectros son muy parecidos, a excepción del desplazamiento del grupo metileno entre el grupo fenilo y el anillo del imidazol. Además, estos protones del anillo de cinco miembros también sufren un pequeño desplazamiento. Por otro lado, como se ha comentado anteriormente, desaparición del protón **CH** evidencia la formación del biscarbena de oro(I)

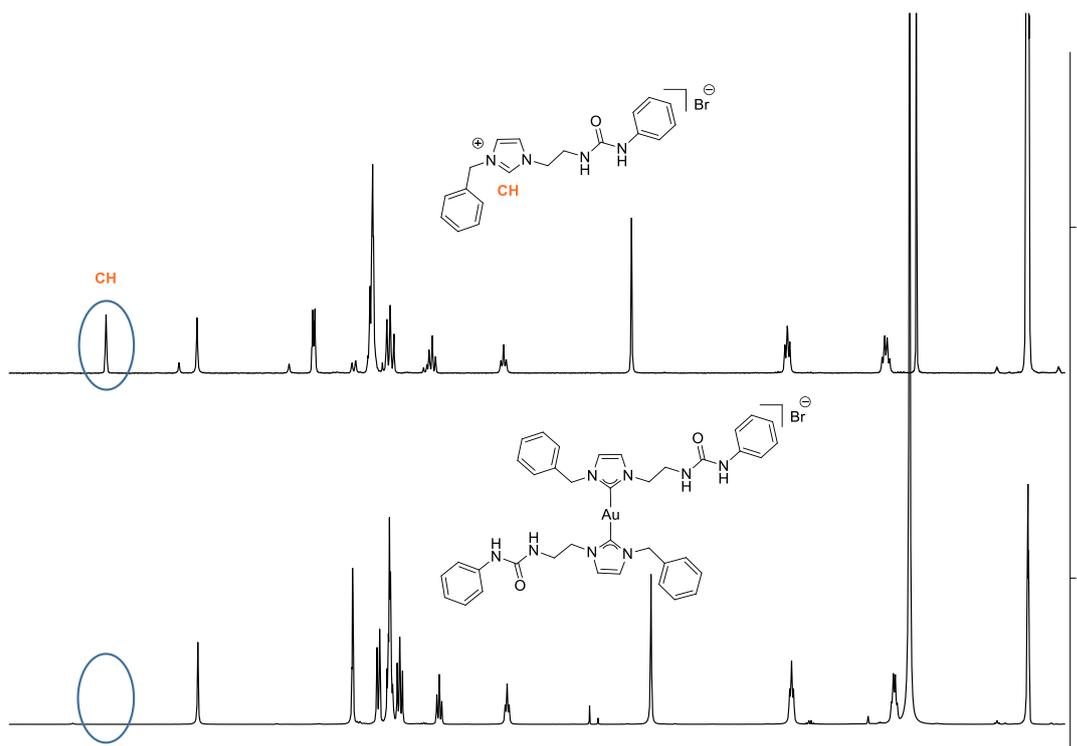


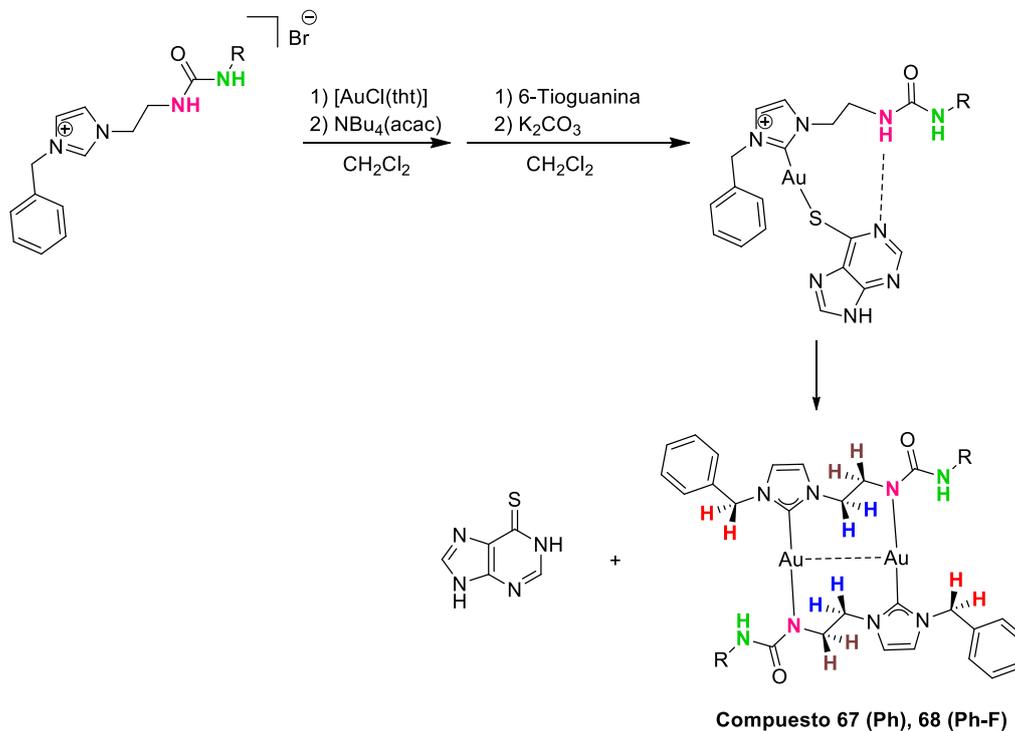
Figura 2.16. Espectro ^1H RMN del complejo **64**.

2.6. Síntesis de Complejos Au-NHC con Interacciones Au-Au

Se ha visto como a través de la reacción con $\text{NBu}_4(\text{acac})$ la desprotonación del C2 del anillo aromático fue sencilla y se formaba con rapidez el correspondiente carbeno o biscarbeno, dependiendo de que estequiometría utilizada. También hemos descrito la síntesis de tiolato-complejos derivados con los ligandos NHC. En el transcurso de este estudio se obtuvo un resultado sorprendente e inesperado. Con la intención de introducir la tioguanina como ligando tiolato en estos complejos, se llevó a cabo la reacción de formación del tiolato en “one pot”, tal como se ha descrito para los otros ligandos tiolato. El resultado fue la desprotonación de la urea y formación de un compuesto dinuclear cabeza-cola con interacciones aurofílicas.

Los compuestos formados en esta reacción son fruto de la desprotonación de la sal de imidazolio para formar el ligando NHC. Seguidamente, se propone la formación del tiolato derivado que evoluciona, probablemente debido a una menor estabilidad y a la formación de enlaces de hidrogeno fuertes con el grupo amino, a la eliminación de la

tionucleobase y desprotonación del grupo amino de la urea, para dar lugar finalmente a un compuesto dinuclear con el ligando bidentado puente (Esquema 2.12).



Esquema 2.12. Síntesis de los complejos dinucleares.

Es de destacar que estos son los primeros ejemplos donde se ha producido la desprotonación de la urea y coordinación al centro de oro. Este tipo de derivados no son muy frecuentes en la química de metales de transición y se han encontrado en complejos de metales de la primera serie de transición con ligandos polidentados que son miméticos de metaloenzimas, como por ejemplo el representado en la Figura 2.17, que es un derivado de Fe(II) en el que hay tres ureas unidas por un ligando trípode.

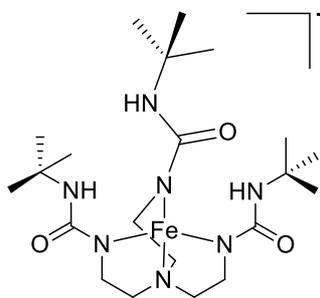


Figura 2.17. Complejo de hierro con un ligando trípode de urea.⁴³

⁴³C. E. MacBeth, R. Gupta, K. R. Mitchell-Koch, V. G. Young, G. H. Lushington, W. H. Thompson, M. P. Hendrich, A. S. Borovik, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 2556.

Los complejos fueron caracterizados mediante espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C . En los complejos **67** y **68** se observa la desaparición del grupo **NH**, mientras que la otra señal del grupo amino está más apantallada y se confunde con los protones aromáticos (Figura 2.18).

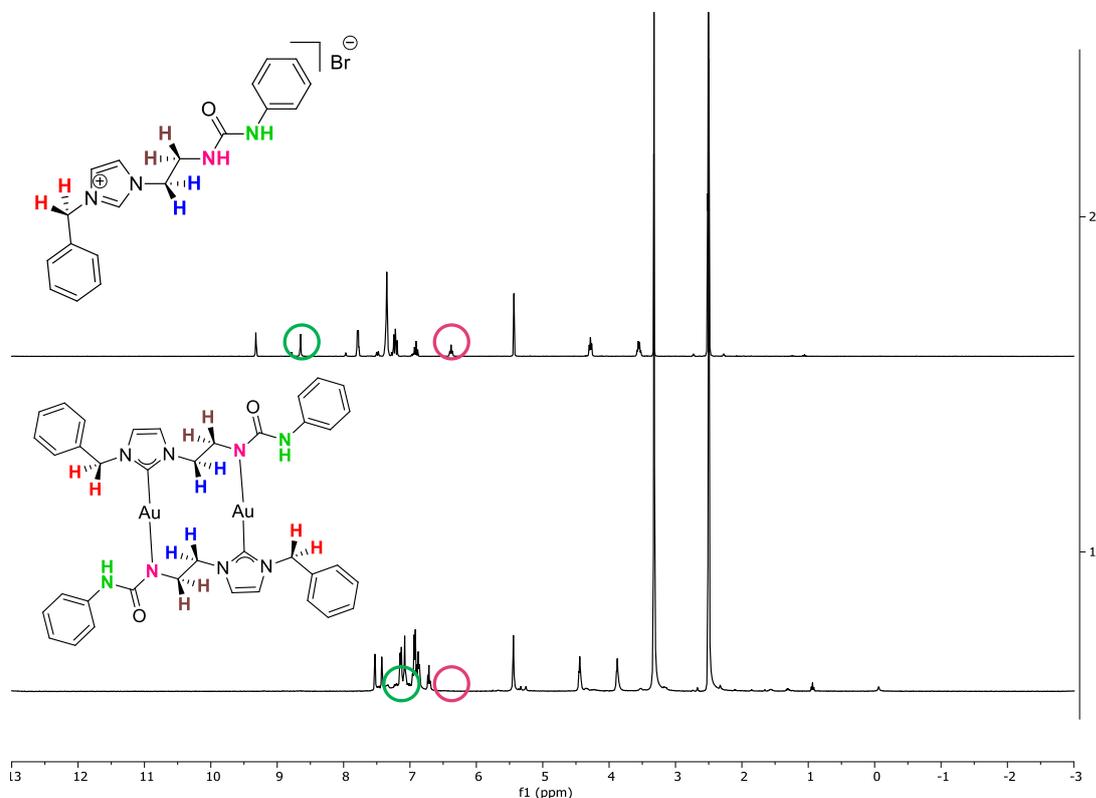
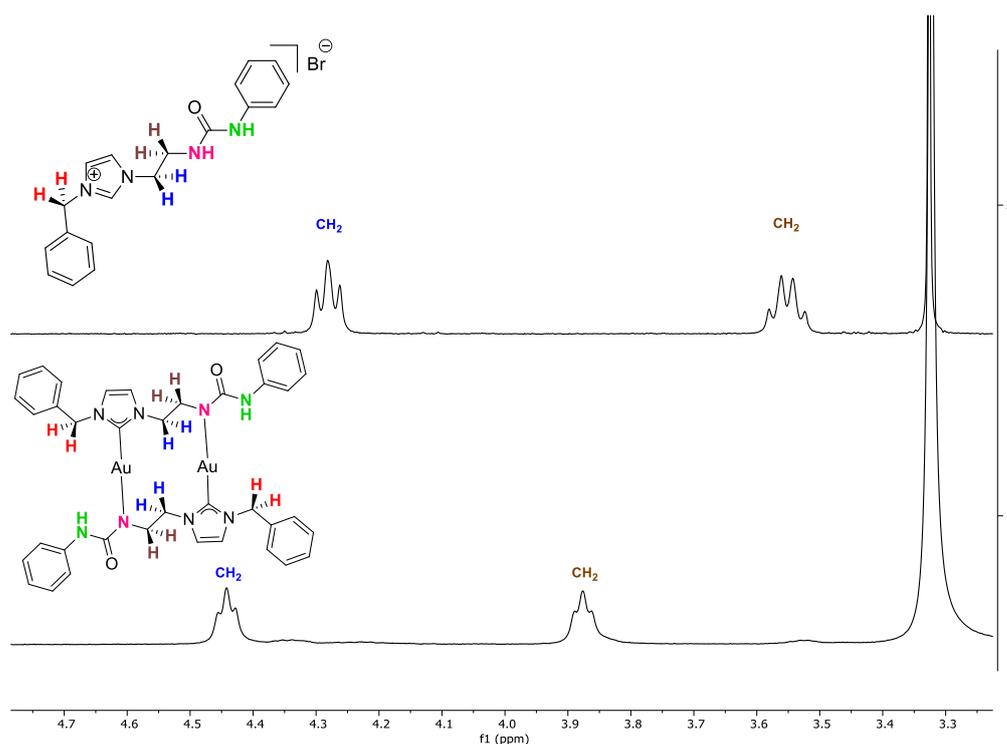


Figura 2.18. Espectro ^1H RMN del complejo **67**.

Otra evidencia de la desaparición del protón del grupo amino **NH** se puede observar en la forma de las señales que presentan los grupos CH_2 , en especial aquel que está más apantallado (CH_2), que pasa de ser un pseudo-cuartete a triplete, debido a que únicamente puede acoplarse con el grupo CH_2 adyacente, tal y como se muestra en la Figura 2.19, en donde la sal de imidazolio aparece arriba de la imagen y el compuesto bimetalico debajom observando a parte del cambio de forma de las señales, un desplazamiento a bajo campo de los dos grupos CH_2 .


Figura 2.19. Espectro ^1H RMN del complejo **67**.

En las siguientes tablas se puede observar los diferentes desplazamientos de los complejos **67**, **68** respecto de sus correspondientes sales de imidazolio.

Tabla 2.13. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmsO del complejo **67**.

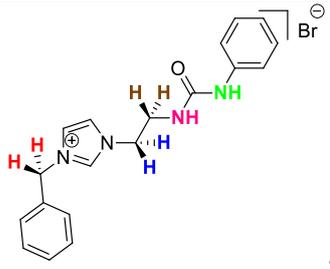
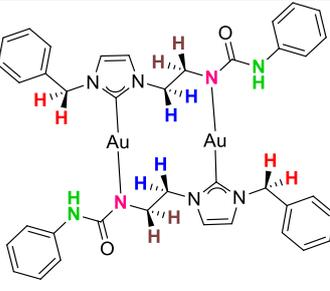
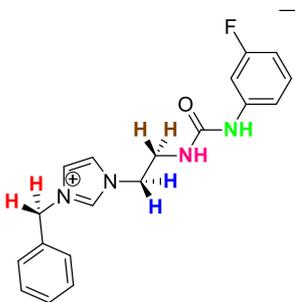
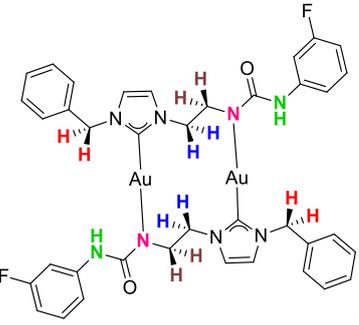
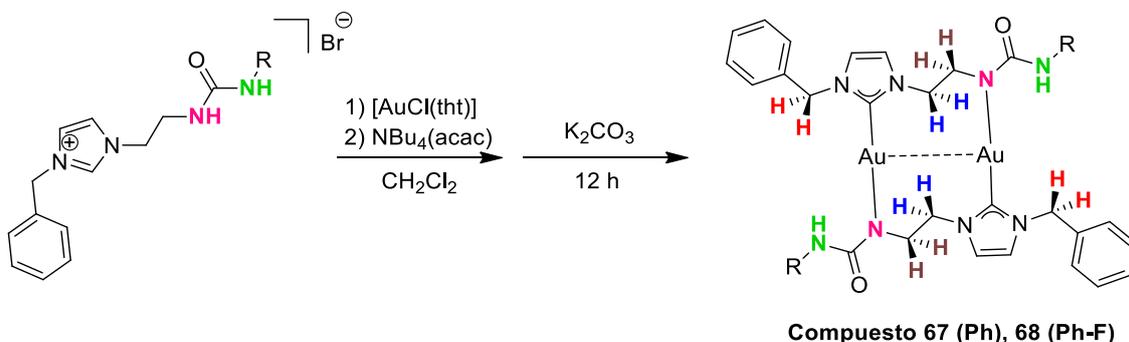
		CH₂	CH₂	CH₂	C/ CH	Imidazol
 52	^1H	5.44 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.34 (s)	7.80 (m)
	^{13}C	51.8 (s)	49.7 (s)	40.0 (s)	136.6 (s)	123.3-122.4 (s)
 67	^1H	5.44 (s)	4.44 (t)	3.88 (t)	-	7.53-7.43 (s)
	^{13}C	53.1 (s)	45.9 (s)	39.8 (s)	171.4 (s)	124.2-122.2 (s)

Tabla 2.14. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C en dmsO del complejo **68**.

		CH ₂	CH ₂	CH ₂	C/ CH	Imidazol
 53	^1H	5.43 (s)	4.28 (t)	3.55 (q)	9.31 (s)	7.78 (m)
	^{13}C	51.8 (s)	49.6 (s)	40.1 (s)	134.7 (s)	123.4-122.4 (s)
 68	^1H	5.45 (s)	4.44 (t)	3.86 (t)	-	7.53-7.44 (s)
	^{13}C	53.2 (s)	47.0 (s)	39.8 (s)	177.1 (s)	122.2 (s)

En un principio la tioguanina parece ejercer un papel fundamental en la reacción, formando un complejo intermedio que favorece la formación del complejo dinuclear. Con el objetivo de comprobar como de importante era su papel, se realizó la síntesis de este compuesto bajo las mismas condiciones de reacción, pero a excepción de la nucleobase. Efectivamente, la reacción transcurre con la formación de los compuestos dinucleares como se puede ver en el siguiente esquema, pero con una descomposición mayor. Por ello podemos concluir que, aunque no representa un papel primordial, sí que permite por medio de la estabilización del intermedio tiolato, una reacción más limpia.



Esquema 2.13. Síntesis de los complejos dinucleares.

La misma reacción fue llevada a cabo en las mismas condiciones de reacción para el compuesto **54**, esta vez no se llegó a desprotonar el grupo **NH** de la urea y, por lo tanto, no llegó a formar el producto deseado. En este caso el protón **NH** de la urea es más básico que en los complejos **67** y **68** por lo que es más difícil su desprotonación. Se utilizaron bases más fuertes como trietilamina, que es también soluble en diclorometano, para intentar formar el complejo deseado, pero tampoco se observó la desprotonación del grupo amino de la urea. La reacción se llevó a cabo en presencia de una base y $[\text{AuCl}(\text{tht})]$ y también en presencia de la tioguanina por ver si la tionucleobase ayudaba a la formación del complejo. El resultado fue sorprendente debido a que en ninguno de los casos se logró la desprotonación del grupo **NH**, pero la presencia de la tionucleobase en el medio ayudaba a que el compuesto final no se descompusiera, como se puede apreciar en la Figura 2.20.



Figura 2.20. Reacción sin tioguanina (izq) vs Reacción con tioguanina (dech).

A modo de comparación en la Figura 2.21 se pueden observar los espectros correspondientes al crudo de reacción para la preparación del complejo **69** (tanto en presencia como en ausencia de tioguanina, debido a que era prácticamente idéntico), el espectro final obtenido, y el complejo $[\text{AuBr}(\text{NHC})]$, impurificado con NBu_4Cl obtenido en el primer paso de la síntesis del complejo **69**. Comprobando efectivamente que las señales correspondientes en los dos últimos espectros coinciden, por lo tanto, en este caso se obtuvo el carbeno de oro unido a bromo. Se comprobó gracias a espectrometría de masas con la presencia de un pico $m/z = 633$ que se corresponde con el carbeno mencionado más un aumento de $+23$. También mediante espectroscopia de infrarrojo se determinó que el halógeno coordinado a oro era bromo y no cloro debido a que no se observaba la señal correspondiente a 320 cm^{-1} debido a la vibración $\nu(\text{Au-Cl})$.

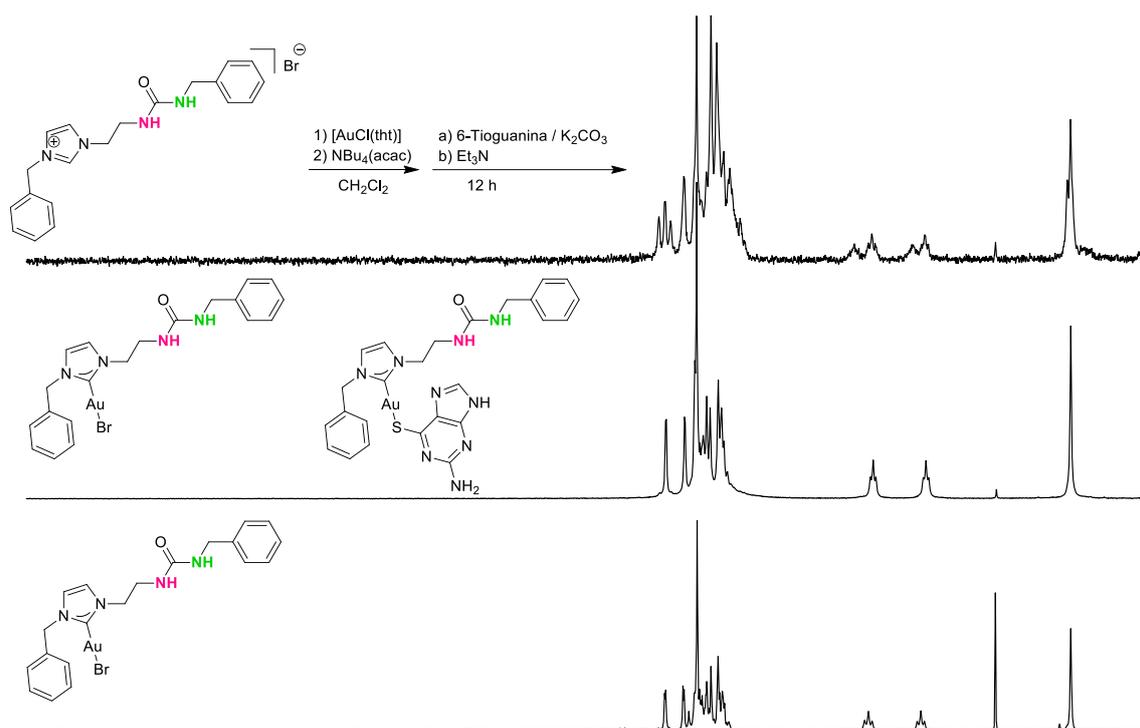


Figura 2.21. Comparación espectros en la síntesis del complejo **69**.

La estructura cristalina de uno del derivado dinuclear **68** ha determinado por difracción de rayos X y en la Figura 2.21 se representa su estructura molecular junto con una vista de la conformación tipo bote del compuesto. Como se puede observar el compuesto **68** es dinuclear, con dos átomos de oro puenteados por el ligandos carbeno-urea, que actúa como bidentado C^N aniónico. La estructura corresponde al isómero cabeza-cola y presenta una interacción aurofílica corta, Au1...Au2 de 3.3199(7) Å. Las distancias Au-C a los ligandos carbeno son Au1-C1 1.991(11) y Au2 C20 1.982(12) Å, que son muy cortas en comparación a otros carbenos de oro(I). Las distancias Au-N, Au1-N7 de 2.036(10) y Au2-N3 2.036(10) Å, también son más cortas que las distancias Au-N habituales, debido al carácter aniónico del nitrógeno. Los entornos de los centros metálicos son prácticamente lineales, C1-Au1-N7 177.4(4)° y C20-Au2-N3 178.4(4)°. El dímero presenta una estructura tipo bote con los eslabones de átomos de carbono situados hacia abajo.

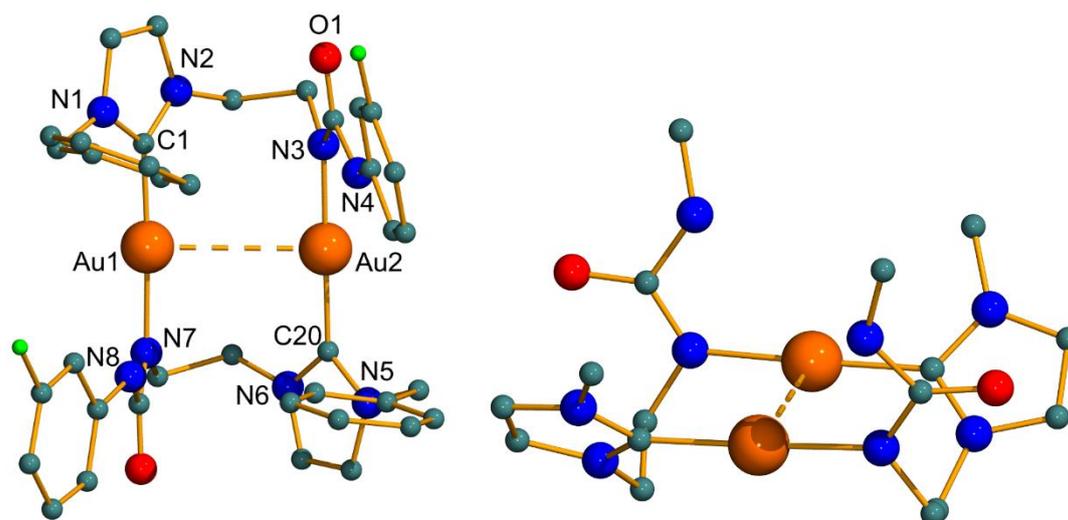


Figura 2.21. Estructura molecular del complejo **68** y vista de la conformación tipo bote.

2.7. Actividad Biológica sobre Células TumORAles Humanas

2.7.1. Estudio de Actividad Citotóxica. Método MTT

El estudio de la citotoxicidad de nuestros complejos se realizó mediante el método del MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol), que se utiliza para determinar el posible efecto citotóxico de los complejos sobre las células tumorales o cultivos primarios de células tumorales. Se llevó a cabo el estudio citotóxico en células tumorales humanas de A495 (pulmón) y HeLa (cáncer de cérvix o cuello uterino). El rango de concentraciones estudiado fue desde 2 μM A 50 μM . De esta forma se estudió la citotoxicidad de los nuevos complejos sintetizados, así como la de los ligandos correspondientes y se compararon con datos obtenidos de los compuestos Auranofin⁴⁴ y cisplatino,⁴⁵ tal y como se puede observar en la Tabla 2.15.

⁴⁴ L. Ortego, M. Gimeno, *Síntesis de complejos de metales del grupo 11 con ligandos derivados de aminoácidos y aminosfosfinas. Estudios biológicos* (tesis doctoral), **2011**, Universidad de Zaragoza, España.

⁴⁵ C. Marzano, V. Gandin, M. Pellei, D. Colavito, G. Papini, G. G. Lobbia, E. del Giudice, M. Porchia, F. Tisato, C. Santi, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 798.

Tabla 2.15. Valores de IC₅₀ en células tumorales A548 y HeLa a las 24 h de incubación (μM).

IC ₅₀	HeLa	A549
Cisplatino	10.50±1.51 (48h)	29.91±01.92 (48h)
Auranofin	5.99±0.014 (48h)	4.65±0.30 (48h)
52	>50	>50
53	>50	>50
54	>50	>50
55	4.57±0.41	5.67±1.00
56	1.40±0.46	0.029±0.68
57	6.38±0.45	8.88±0.60
58	6.15±0.07	12.77±2.22
59	16.82±0.42	6.88±0.18
60	17.94±2.00	15.09±0.38
61	3.86±0.068	12.74±1.26
62	6.15±0.20	9.25±3.26
63	11.35±0.28	>50
64	17.94±0.39	>50
65	5.94±0.41	14.68±1.32
66	26.80±1.15	>50
67	>50	>50
68	>50	>50
69	>50	>50

Si comparamos los valores que se encuentran en la Tabla 2.15 se puede observar como los compuestos metálicos en general son activos, mientras que las sales de imidazolio

sintetizadas no lo son. Por otro lado, los complejos dinucleares no son activos en ninguna de las dos líneas tumorales sintetizadas.

En la línea celular A549, los compuestos que contienen el átomo de flúor en su estructura presentan unos IC_{50} más bajos que sus homólogos sin flúor, obteniendo un valor muy prometedor y mucho mejor que el auranofin para el compuesto que contiene el ligando JohnPhos. En líneas generales los compuestos que conllevan el ligando fosfina son los que presentan valores más bajos que el resto. Por otro lado, los derivados biscarbenos apenas tienen actividad en esta línea celular. En la comparación de los compuestos con ligandos tiolato, los que llevan 2-mercaptopiridina son más activos que sus derivados con tioglucosa, pero aun así son valores mayores en comparación con el auranofin.

En la línea celular HeLa, cabe destacar que los compuestos biscarbeno sí que presentan actividad, aunque con valores más altos que el Auranofin, en este caso en particular el derivado de flúor sí que exhibe una actividad semejante. En esta cepa los compuestos de flúor no siguen la misma tendencia de ser los más activos igual que ocurre en A549, aunque también siguen una generalidad. Es decir, los derivados que contienen el átomo de flúor presentan mejor actividad para los ligandos con fosfina y para los derivados biscarbeno, pero no sigue esta tendencia para los derivados tiolato, donde los valores más bajos tanto para 2-mercaptopiridina y tioglucosa son para el derivado que lleva el grupo fenilo. En esta línea tumoral las respectivas sales de imidazolio no presentaban ningún tipo de actividad, así como tampoco los derivados que contenían los enlaces Au-Au.

2.7.2. Estudio de la Selectividad Citotóxica, Jurkat. vs Linfocitos

Los complejos con los que mejor IC_{50} se consiguió (**55**, **56**, **57** y **62**) fueron utilizados para comprobar si eran capaces de dañar a células vivas y ver su selectividad frente a las células cancerígenas.

Antes de realizar el ensayo se llevó a cabo un estudio de estabilidad de los compuestos, intentado recrear las condiciones del interior celular, para ello se disolvieron en DMSO, y con un buffer fosfato salino (PBS) hasta una concentración de $1 \cdot 10^{-6}$ M, para que no sobrepasara el valor de 1 en absorbancia, debido a que valores más altos no serían válidos debido a que perdería la linealidad, según la ecuación:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot [M]$$

Esquema 2.14. Ecuación de la absorbancia vs concentración

Las medidas de estabilidad se realizaron midiendo el espectro de ultravioleta-visible de los compuestos a diferentes intervalos de tiempo, $t = 0 \text{ h}$, $t = 8 \text{ h}$, $t = 24 \text{ h}$. Los espectros se representan en las siguientes figuras:

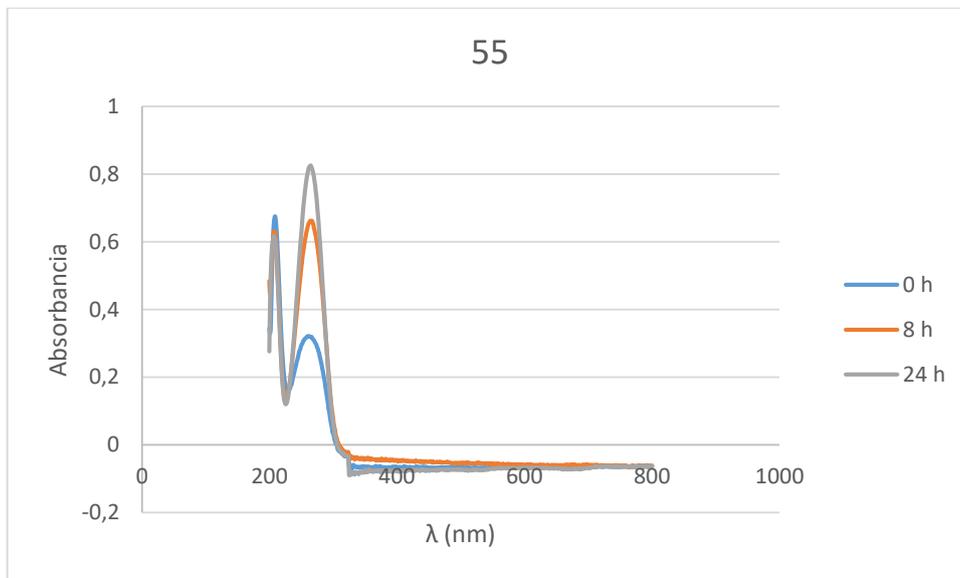


Figura2.22. Espectro UV-visible que muestra la evolución de la absorción a lo largo del tiempo para el complejo **55**.

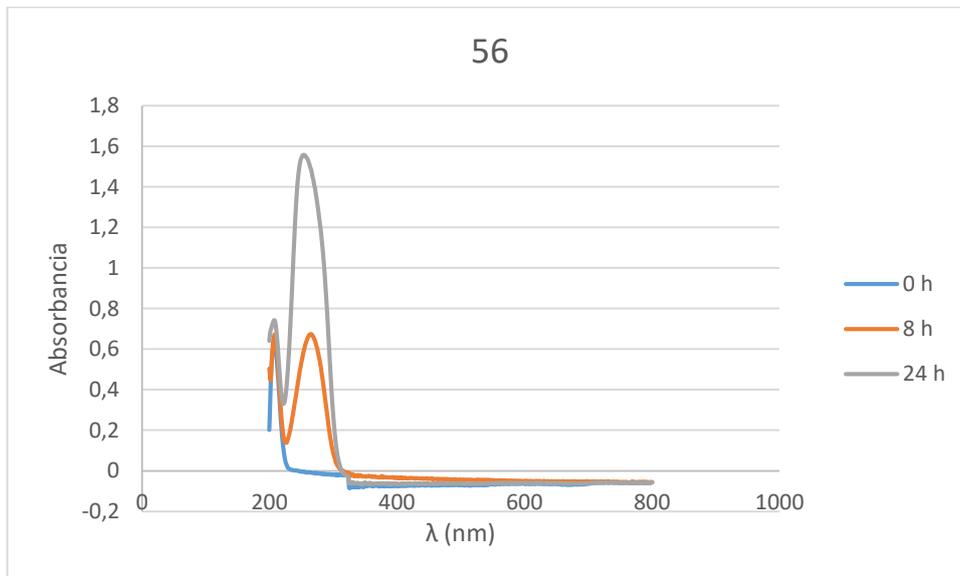


Figura2.23. Espectro UV-visible que muestra la evolución de la absorción a lo largo del tiempo para el complejo **56**.

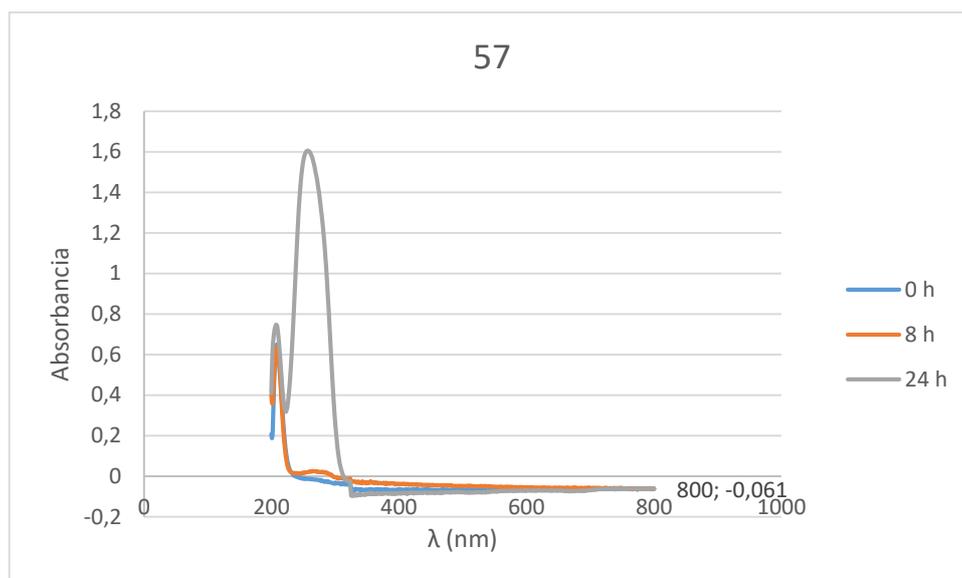


Figura 2.24. Espectro UV-visible que muestra la evolución de la absorción a lo largo del tiempo para el complejo **57**.

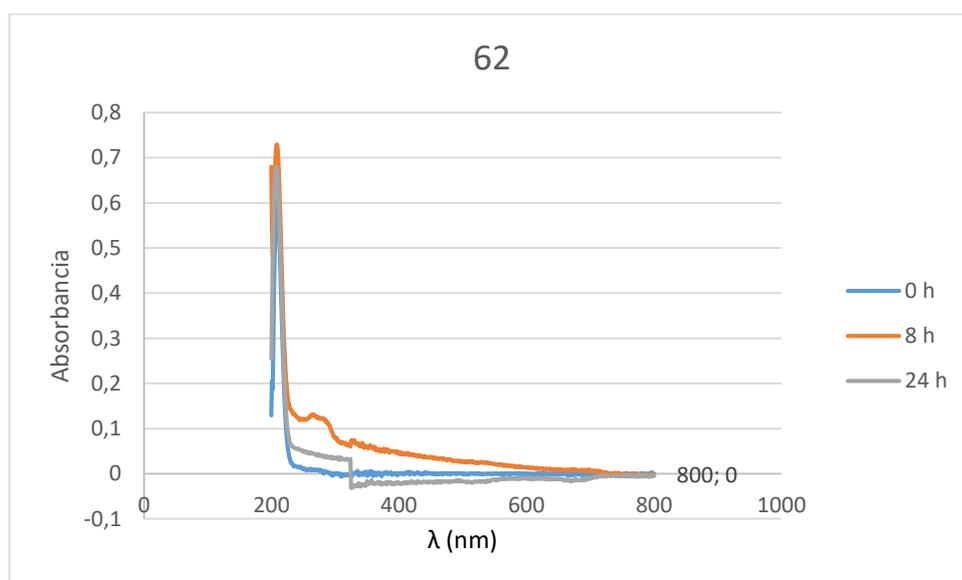


Figura 2.25. Espectro UV-visible que muestra la evolución de la absorción a lo largo del tiempo para el complejo **62**.

En estos espectros se puede observar una absorción alrededor de 200 nm, que no se modifica notablemente con el tiempo, y que puede ser debida a la asociación de las moléculas de urea por medio de enlaces de hidrogeno. Sin embargo, con el tiempo comienza a aparecer otra banda alrededor de 260 nm que va aumentando de intensidad con el tiempo y que puede indicar que esta asociación está desapareciendo. Estudios similares en compuestos urea se han encontrado con el mismo comportamiento en los

espectros UV-vis.⁴⁶ Por ello el método de UV-vis para medir la estabilidad de los compuestos con urea en medio biológico no es quizás el más indicado. Paralelamente se ha llevado a cabo un estudio de su estabilidad en disolución de dmsO por RMN, observándose que los compuestos son estables en este medio durante periodos prolongados de tiempo. En la Figura 2.26, se puede observar el espectro de ¹H RMN para el complejo **56**, donde efectivamente se observa que es estable incluso hasta 72 horas. Las muestras se guardaron en un baño termostatzado a 37°C, y se midió su espectro de protón cada 24 horas, es decir, 0, 24, 48 y 72 horas.

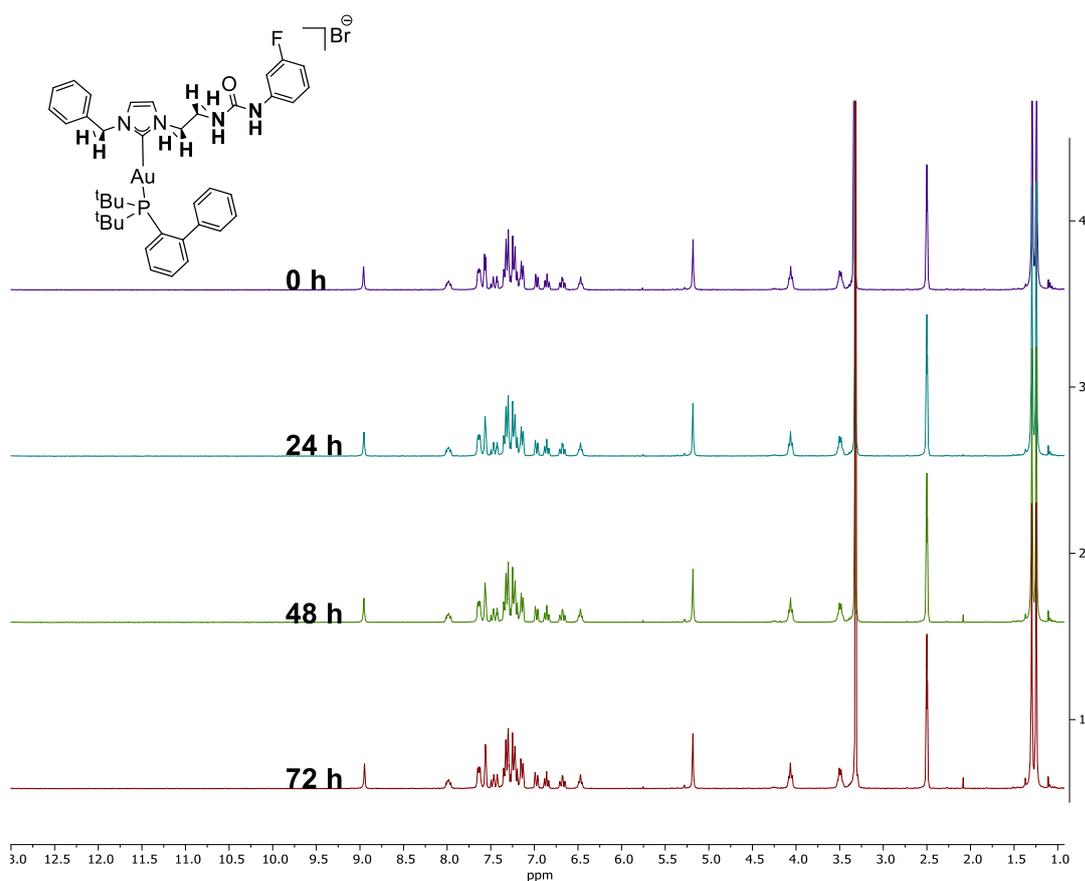


Figura 2.26. Espectro ¹H RMN para el complejo **56**, 0, 24, 48 y 72 h.

Se hizo un ensayo de lipofilidad, calculando el coeficiente de reparto octanol-agua (K_{OW}) de los cuatro complejos descritos anteriormente, también llamado coeficiente de partición (P_{OW}), se describe como el cociente entre las concentraciones de esa sustancia en una mezcla bifásica formada por dos disolventes inmiscibles (octanol y agua). Con esto se puede medir cuánto es de soluble nuestros complejos en ambos disolventes. El

⁴⁶ J. R. Hiscock, G. P. Bustone, B. Wilson, K. E. Belsey, Laura R. Blackholly, *Soft Matter*, **2016**,12,4221.

ensayo se ha realizado con n-octanol debido a que simula bien el material lipídico. Para la parte acuosa se utilizó un buffer fosfato salino (PBS).

Para medir estos valores se siguió el método estándar (Shake flask method). Las concentraciones en cada fase fueron calculadas a partir de espectros de ultravioleta-visible utilizando coeficientes de extinción determinados en agua saturada en octanol y octanol saturado en agua.⁴⁷ Los resultados fueron expresados como el log de los valores del coeficiente de partición octanol/agua.

$$K_{OW} = \frac{[M]_{octanol}}{[M]_{agua}}$$

Esquema2.15. Ecuación coeficiente de reparto octanol/agua.

Estas medidas se hicieron a temperatura ambiente. Los valores están reflejados en la siguiente tabla.

Tabla 2.16. Valores del coeficiente octanol/agua K_{ow} .

Compuesto	Log K_{ow}
55	0.43
56	0.15
57	0.17
62	0.77

Si nos fijamos en la literatura, valores de Log K_{ow} superiores a 5 indican una alta afinidad por los tejidos grasos animales, es decir, una alta lipofilidad.⁴⁸

Se comprobaron las gráficas de supervivencia celular de estos compuestos, para comprobar que realmente mataban a la célula, debido a que podrían únicamente inhibir el crecimiento. Como se observa en las siguientes gráficas, la curva tiende a cero y no se

⁴⁷ A. Albert, Selective Toxicity: The physicochemical basis of therapy. Chapman and Hall, London, 1985.

⁴⁸<https://web.archive.org/web/20100707235441/http://www.miliarium.com/prontuario/Tablas/Quimica/AfinidadOrganicos.htm>

queda constante en un valor fijo, evidenciando que no inhiben el crecimiento, sino que estos complejos son muy activos para las líneas tumorales A549 y HeLa.

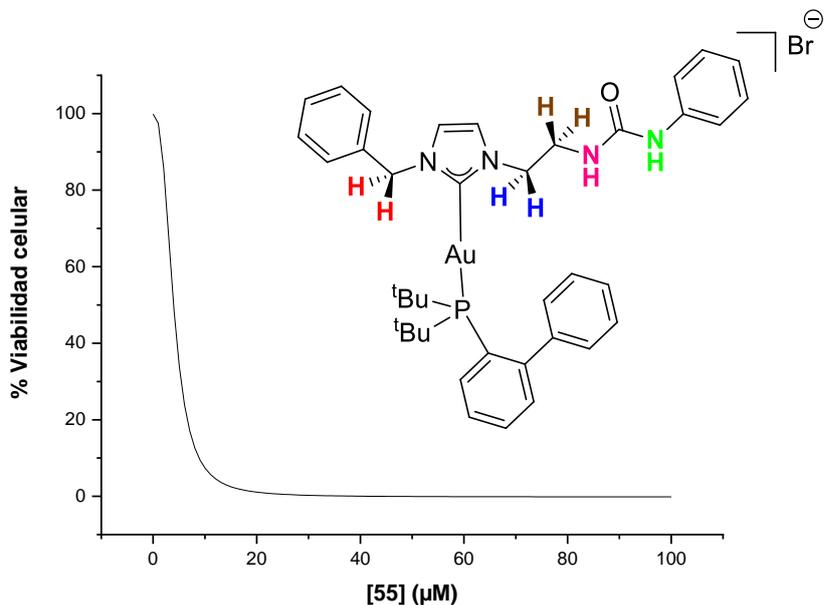


Figura 2.27. Gráfica % supervivencia celular vs concentración del complejo 55 en la línea tumoral HeLa.

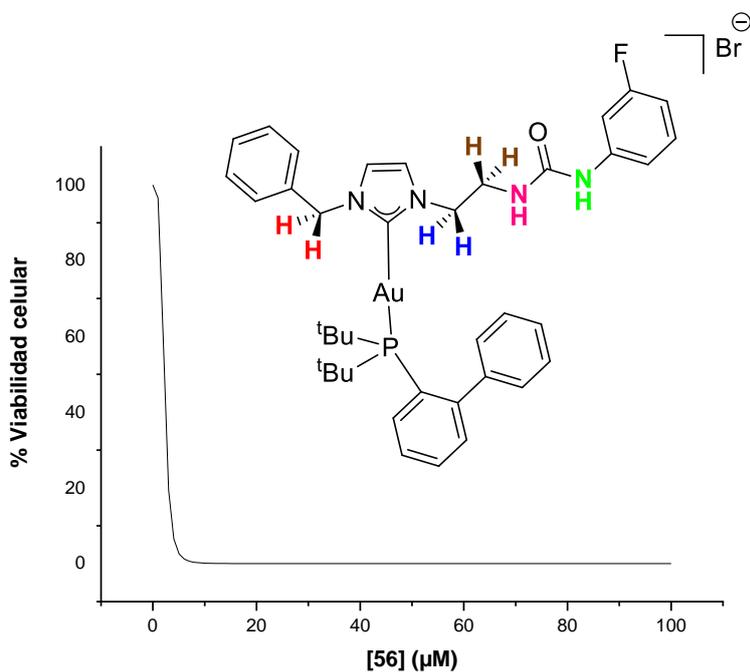


Figura 2.28. Gráfica % supervivencia celular vs concentración del complejo 56 en la línea tumoral HeLa.

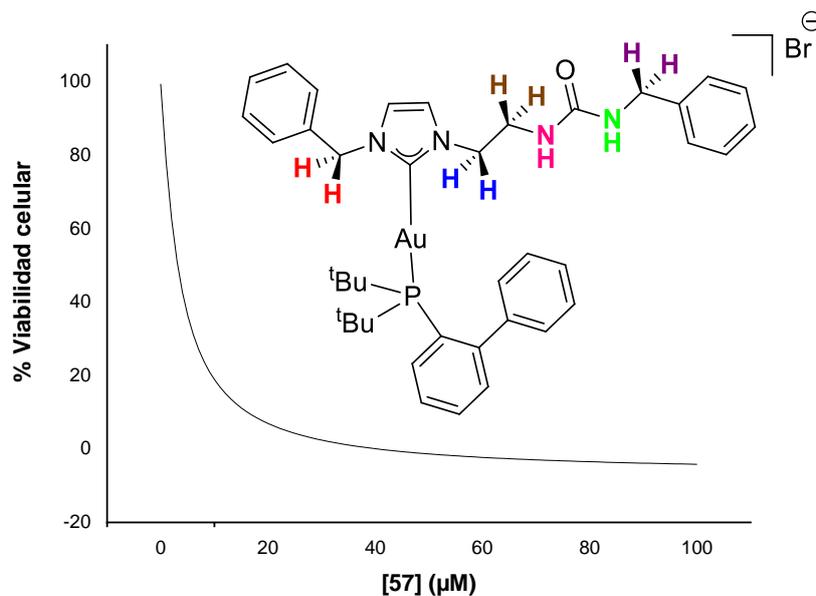


Figura 2.29. Gráfica % supervivencia celular vs concentración del complejo **57** en la línea tumoral HeLa

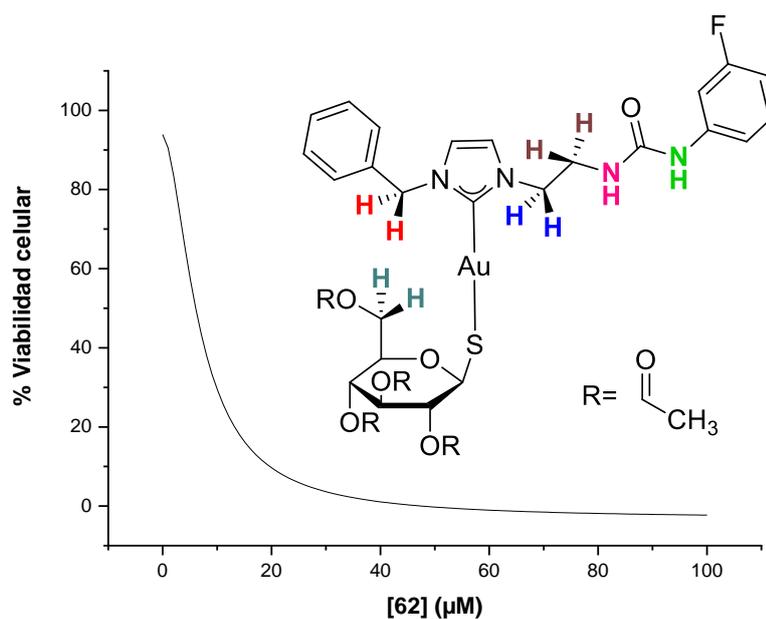


Figura 2.30. Gráfica % supervivencia celular vs concentración del complejo **62** en la línea tumoral HeLa. Para comprobar la selectividad frente a células sanas (Linfocitos, que fueron donados por el Banco de Sangre y Tejidos de Aragón), se tiene que hacer una medida de IC_{50} en células Jurkat, para poder compararlas con los valores que se obtengan en las células de linfocitos T. Para ello se procedió a realizar el mismo procedimiento que en las

anteriores, pero en estas dos nuevas líneas celulares, mostrando sus valores en la siguiente Tabla 2.17.

Tabla 2.17. Valores IC₅₀ para células Jurkat y Linfocitos T.

Compuesto	Jurkat	Linfocitos T
55	2.38±0.033	0.87±0.234
56	1.88±0.059	0.060±0.076
57	1.45±0.130	1.44±0.0572
62	6.02±0.124	3.24±0.194

Tabla 2.18. Valores de selectividad calculados a partir de los IC₅₀.

Compuesto	IC ₅₀ linfocitos/IC ₅₀ Jurkat
55	0.36
56	0.03
57	0.99
62	0.54

Se pueden observar muy buenos valores de IC₅₀ para la línea celular JurKat, pero también para los linfocitos T, dando a entender que estos complejos no son selectivos frente a células sanas en esta línea celular, por lo tanto, no podrían ser válidos para una futura utilización como fármacos en el tratamiento de leucemia.

2.7.3. Estudio de Muerte Celular

Una célula se considera que ha muerto cuando ha perdido su membrana celular, se ha fragmentado su núcleo y las diversas partes de la célula o se ha producido la fagocitación de la misma.⁴⁹ Se pueden diferenciar varios tipos de muerte celular, entre las que se pueden destacar dos, la necrosis y la apoptosis. En la necrosis se produce un aumento del volumen celular, tumefacción de los orgánulos y estallido de la membrana

⁴⁹ G. Kroemer; L. Galluzzi; P. Vandenabeele; J. Abrams; E. S. Alnemri; E. H. Baehrecke; M. V. Blagosklonny; W. S. El-Deiry; P. Golstein; D. R. Green; M. Hengartner; R. A. Knight; S. Kumar; S. A. Lipton; W. Malorni; G. Nuñez; M. E. Peter; J. Tschopp; J. Yuan; M. Piacentini; B. Zhivotovsky; G. Melino, *Cell. Death. Differ.*, **2009**, 16, 3.

plasmática, por lo que todo el contenido que había en la célula sale de ella originando un proceso inflamatorio. La necrosis suele considerarse a menudo una forma accidental o incontrolable de muerte celular, que ocurre después de una agresión grave a la célula. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que puede controlarse o iniciarse mediante vías de señalización específicas en las que intervienen enzimas RIP1 serina/treonina cinasas. Este tipo de necrosis se denomina necroptosis y se ha observado en células tumorales, en células proliferativas que han sufrido daño en el ADN y en células infectadas por ciertos virus como por ejemplo el virus vaccinia.⁵⁰

Una célula se considera que se ha muerto por vía apoptótica cuando tiene un mecanismo de muerte controlado. *Kerr* y colaboradores en 1972 desarrollaron el término de apoptosis⁵¹ y diferenciaron dos partes, en la primera se produciría la condensación del ADN y la célula se dividía en fragmentos que tienen una estructura definida. En la segunda parte del mecanismo los cuerpos apoptóticos que se habían formado en la parte anterior serían fagocitados.⁵² Dentro de la muerte por apoptosis, se pueden diferenciar dos métodos de actuación, por vía extrínseca o por vía intrínseca o mitocondrial, en la primera se desarrolla un fenotipo apoptótico como respuesta a una señal extracelular. En la segunda, las mitocondrias desempeñan un papel clave. La apoptosis es un proceso normal en la renovación de las células en los tejidos. No se produce inflamación y los componentes residuales de la célula muerta son retirados por las células fagocíticas.

Se llevó a cabo un estudio de muerte celular, con los mismos compuestos descritos en el apartado anterior, a través de la técnica de citometría de flujo, para entender un poco el mecanismo de acción, y saber si la muerte celular es debida a procesos apoptóticos o es debida a necrosis. La citometría de flujo es una tecnología biofísica basada en la utilización de luz láser, empleada en el recuento y clasificación de células según sus características morfológicas, presencia de biomarcadores y en la ingeniería de proteínas.

La preparación de este experimento está descrita en la parte experimental.

Hay que explicar que en el momento de la apoptosis se produce una modificación en la disposición de los fosfolípidos de la membrana celular, en concreto el denominado fosfatidil serina (PS) que pasa de la cara interna a la externa. Para poder determinar si la

⁵⁰ J. W. Baynes, ed., *Bioquímica Médica*, Elsevier Connect, **2019**, *Muerte celular: apoptosis, necrosis y autofagia*.

⁵¹ J. F. R. Kerr, A. H. Wyllie, A. R. Currie, *Br. J. Cancer*, **1972**, *26*, 239.

⁵² “Natural Human Genome Research Institute”, Glossary of Genetic Terms [Online]. Disponible: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Apoptosis>, [Accedido: 24-Sept-2019]

célula muere por vía apoptótica se utiliza un marcador luminiscente que se uniría a los receptores de PS en el exterior de la membrana, siempre y cuando la célula muera por apoptosis; otro mecanismo de muerte celular no expondría a estos fosfolípidos al exterior de la membrana. El marcador luminiscente es un derivado de AnexinaV conjugado con un fluorocromo FITC, pudiendo identificar así el grado de apoptosis de la población celular. La AnexinaV es una proteína que tiene mucha afinidad por la fosfatidilserina, de modo que se uniría a ella si se sobreexpresa en la cara externa de la membrana, en una reacción dependiente de los iones Ca^{2+} .

La AnexinaV se usa junto al compuesto 7-ADDD que penetra en la célula una vez que se ha roto la membrana plasmática, por lo que se podría saber si esta célula muere por necrosis, debido a que si ésta no llega a romperse no podría traspasar la bicapa lipídica.

El complejo AnexinaV-FITC presenta una luminiscencia de color verde, en cambio, el complejo 7-ADDD es de tono rojizo.

Por otro lado, las células apoptóticas al mantener la membrana celular excluyen al compuesto 7-ADDD y sus núcleos no son teñidos. Finalmente, las células en la apoptosis mueren pasando de ser 7-ADDD negativas a 7-ADDD positivas. Una vez que las células exponen la PS, ésta permanece en la superficie celular y las células que mueran serán AnexinaV-FITC positivas, 7-ADDD negativa. Pudiendo distinguir las células que se encuentran en apoptosis tardía (AnexinaV-FITC positiva, 7-ADDD positiva) o necrosis (Anexina V-FITC negativas, 7-ADDD positiva). Las células vivas serán negativas para ambos marcajes.

Como se muestra en la Figura 2.30, cada histograma se divide en 4 cuadrantes. El cuadrante superior a la izquierda detecta células necróticas. El cuadrante superior derecho, muestra células necróticas o una apoptosis tardía, pero positivas para ambos marcadores. El cuadrante inferior izquierdo corresponde con las células viables. Y finalmente el cuadrante inferior derecho indica la cantidad de células apoptóticas.

Tabla 2.19. Distribución de los cuadrantes del esquema de citometría de flujo.

Abajo izq	Células viables	Anxina+ y 7-ADDD+
Abajo dech	Células apoptóticas	Anexina+7-ADDD-
Arriba dech	Células apoptóticas tardías	Anexina+ 7-ADDD+
Arriba izq	Células necróticas	Anexina – 7-ADDD+

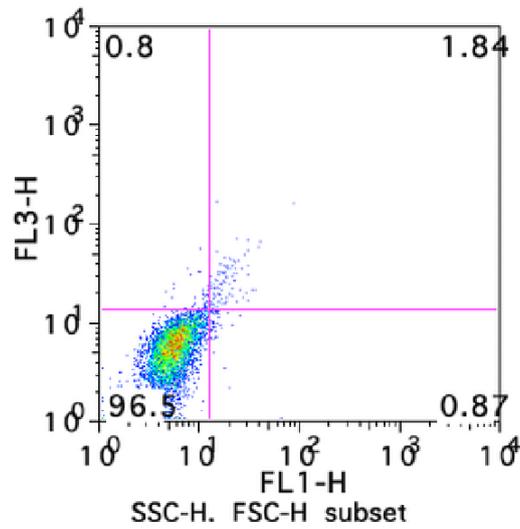


Figura 2.31. Blanco de citometría de flujo.

Como se puede observar en la Figura 2.31. que es el control de la citometría de flujo, todas las células están vivas como era de esperar.

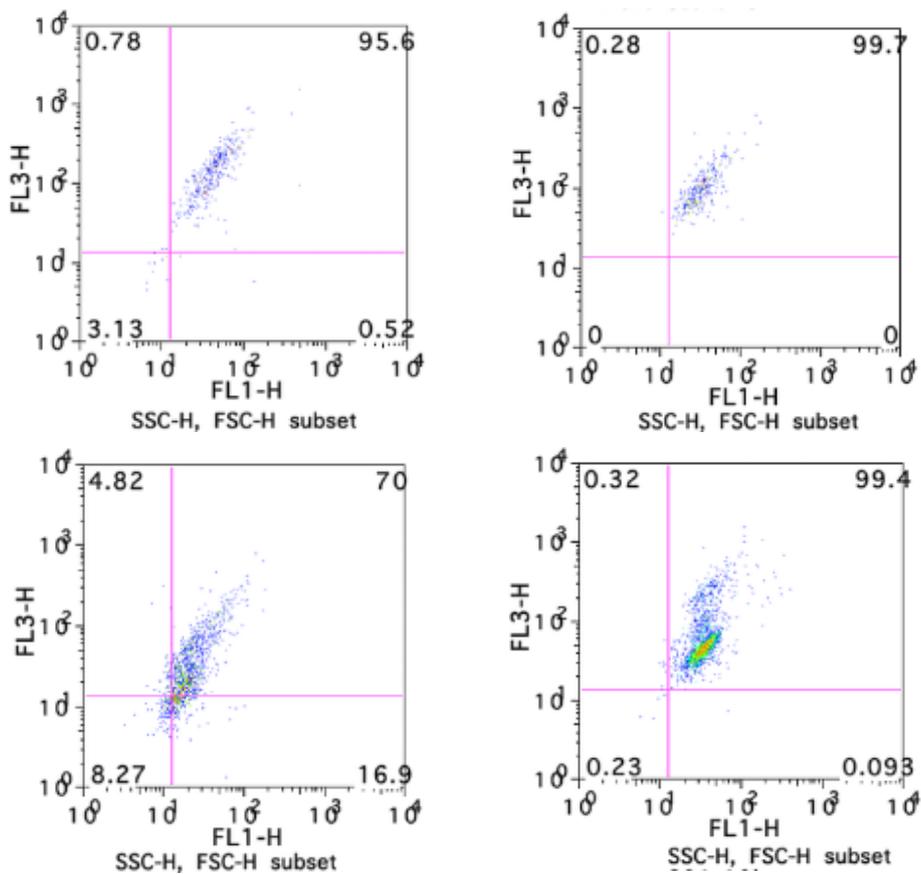


Figura 2.32. Citometría de flujo para los complejos 55 (arriba izq), 56 (arriba dech), 57 (abajo izq) y 62 (abajo dech).

Los complejos daban a una concentración de 10 micromolar una muerte por apoptosis tardía (Figura 2.32.). Es decir, que los compuestos no provocan la muerte celular de la célula tumoral mediante algún tipo de estrés, sino que interactúan con ella de alguna manera induciéndole a programar su muerte celular.

2.8. Estudios de Luminiscencia

Los compuestos **67**, **68** y **69**, que presentaban la interacción aurofílica mostraban una luminiscencia de color amarillo-rojo al ser expuesto a luz ultravioleta a 312 nm. Se decidió hacer un estudio de luminiscencia en disolución para comprobar si estos compuestos podrían ser utilizados en microscopia confocal de fluorescencia y así poder estudiar si estos compuestos se podrían utilizar como marcadores dentro de la célula o su biodistribución en la misma. Debido a su estructura, este tipo de complejos podría formar acoplamiento intermoleculares entre los grupos fenilos o interacciones por puentes de hidrógeno entre el oxígeno de la urea con los grupos N-H de moléculas adyacentes.

Para ello se hicieron medidas tanto de los espectros de emisión como de excitación del complejo **67** en disolución (DMSO) a una concentración de 0.01 M.

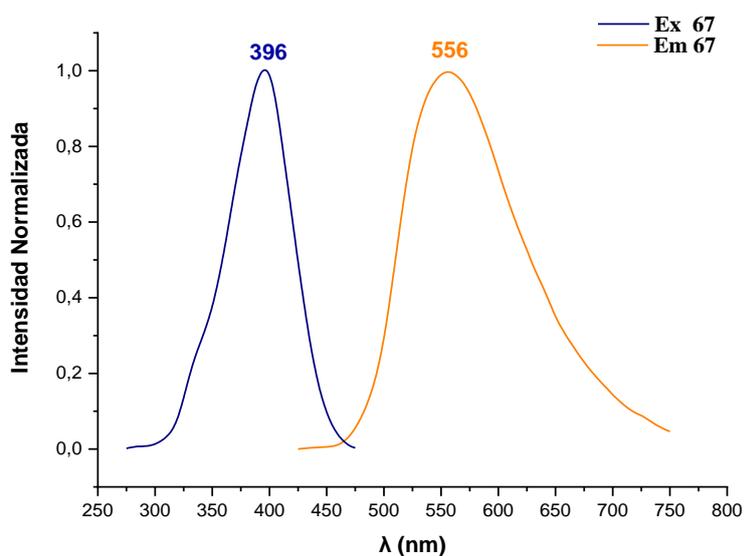


Figura 2.33. Espectro de excitación y emisión del complejo **67** a una concentración de 0.01 M.

En el espectro observamos una banda de excitación a 396 nm y otra banda de emisión a 556 nm. Esta banda no está estructurada y por ello no se asocia a una banda intraligando, por lo que puede tener su origen en una transferencia de carga del ligando al oro (LMCT) y/o a emisiones centradas en la interacción aurofílica. Por lo tanto, el origen de la emisión se podría atribuir a un estado excitado $^3[d_{\sigma^*}-p_{\sigma}]$ que se forma como consecuencia de dicha interacción entre los centros de oro(I).⁵³

El compuesto **68** presenta luminiscencia en disolución (DMSO) a temperatura ambiente. El complejo presenta perfiles muy similares tanto para la banda de emisión como de excitación. Los máximos de excitación localizados a 328 nm y 401 nm para el compuesto **68**, conducen a un único máximo de emisión a 599 nm. El origen de esta emisión se propone similar al descrito para el complejo anterior

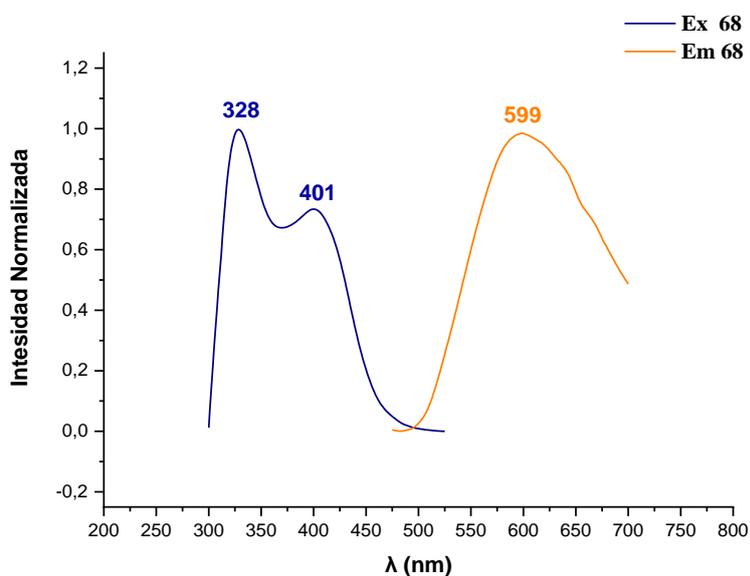


Figura 2.34. Espectro luminiscencia complejo **68**, donde se parecían las bandas de excitación y emisión.

El complejo **69**, también mostró propiedades luminiscentes a unas longitudes de onda de excitación y emisión similares a los compuestos bimetalícos, como se observa en la Figura 2.35.

⁵³ R. Echeverría, J. M. Lopez-de-Luzuriaga, M. Monge, *Estudio de las propiedades ópticas de complejos de Au(I) con elementos del grupo 14* (tesis doctoral), **2016**, Universidad de La Rioja, España.

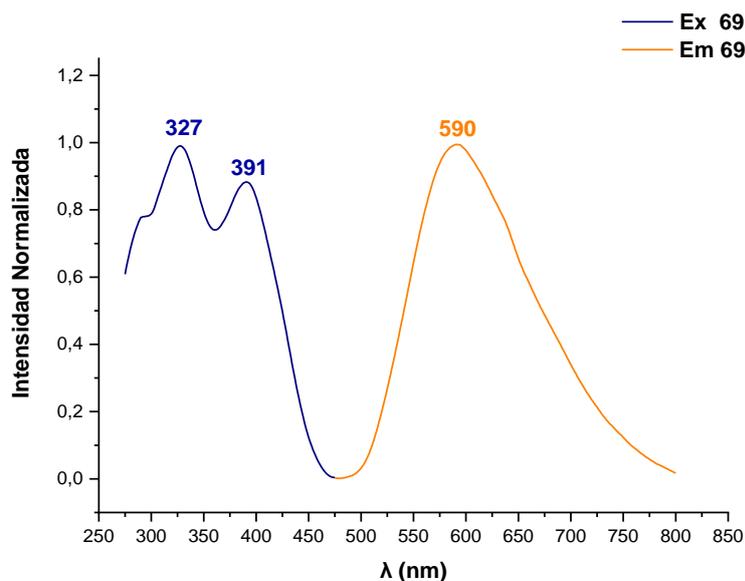


Figura 2.35. Espectro luminiscencia complejo **69**, donde se parecía las bandas de excitación y emisión.

El compuesto **69** presenta luminiscencia en disolución (DMSO) a temperatura ambiente. Además, al igual que el complejo **68**, también presenta dos máximos de excitación localizados a 327 y 391 nm, que conllevan a un único máximo de emisión a 590 nm. En este caso se trata del complejo mononuclear [AuBr(NHC)], que, aunque no posee interacciones Au...Au intramoleculares, sí que pudiese tener intermoleculares, por ello se propone un origen similar al caso anterior una mezcla de LMCT y MC.

Se realizó un estudio de la citotoxicidad de estos compuesto mediante método del MTT comentado en el capítulo anterior. Tras 24 h de incubación, en células cancerígenas de A549 (pulmón) y HeLa (carcinoma de cuello uterino), los complejos, **67**, **68**, y **69** no mostraron ningún tipo de actividad frente a estas dos líneas celulares. Esto es positivo si se quiere utilizar los compuestos para imagen celular por medio del microscopio confocal de fluorescencia, debido a que la célula estaría viva una vez que los complejos se han introducido dentro de la células y así se podría observar donde se localizan.

El procedimiento de siembra de las placas utilizadas para este experimento será descrito en la parte experimental de este capítulo, las placas utilizadas son placas ibidi de 8 pocillos, donde se sembraron células HeLa. Posteriormente se añaden los compuestos y se dejan incubar entre 3 y 4 h. En cada placa se repite la medida por duplicado y con una concentración final de compuesto de 15 micromolar.

Se utilizaron dos marcajes diferentes, uno para teñir las mitocondrias (Mitotracker), el segundo marcaría los lisosomas (Lisotracker). La longitud de onda del láser para irradiar la muestra fue de 578 nm para ambos marcajes.

Los complejos **67** y **68**, no fueron muy solubles y se observaba como cristalizaban en el medio. Esto puede correlacionarse con el nulo valor de IC_{50} , debido a que no eran capaces de entrar en la célula. (Figura 2.36).

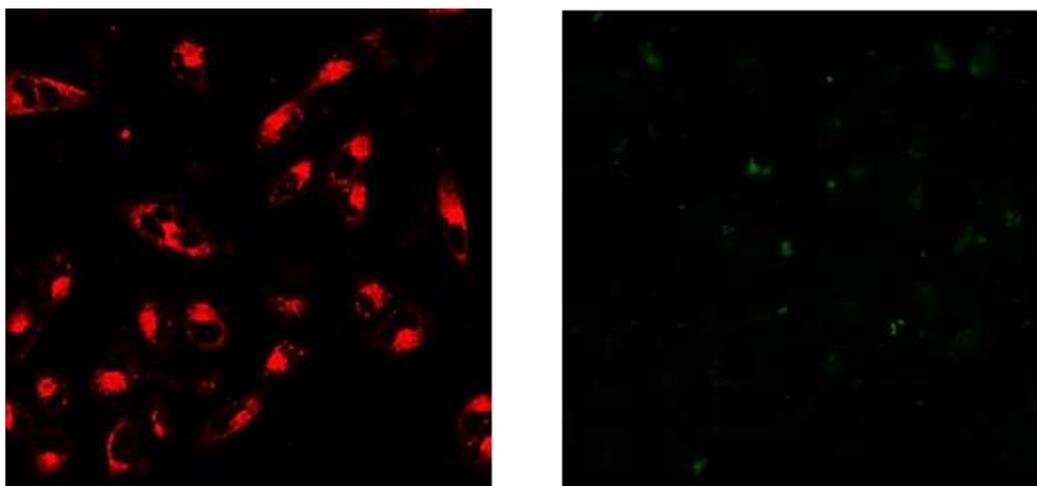


Figura 2.36. En la imagen de la izquierda se observan los lisosomas teñidos, en la de la izquierda, el complejo **68**.

Al superponerse las figuras, se observa como los complejos quedan fuera de las células (Figura 2.37).

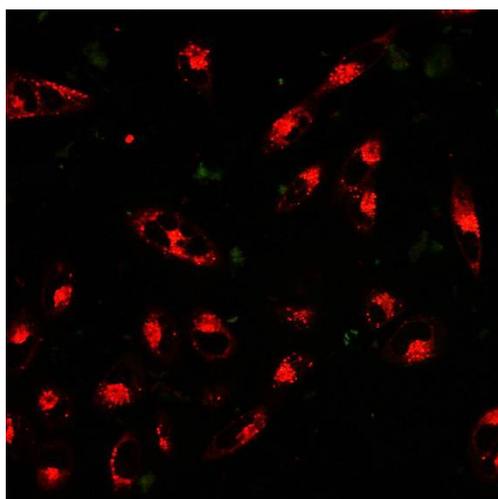


Figura 2.37. Superposición de las imágenes.

Sin embargo, el complejo **69** fue más soluble y fue capaz de entrar en la célula y parece que podría acumularse en los lisosomas. (Figura 2.38).

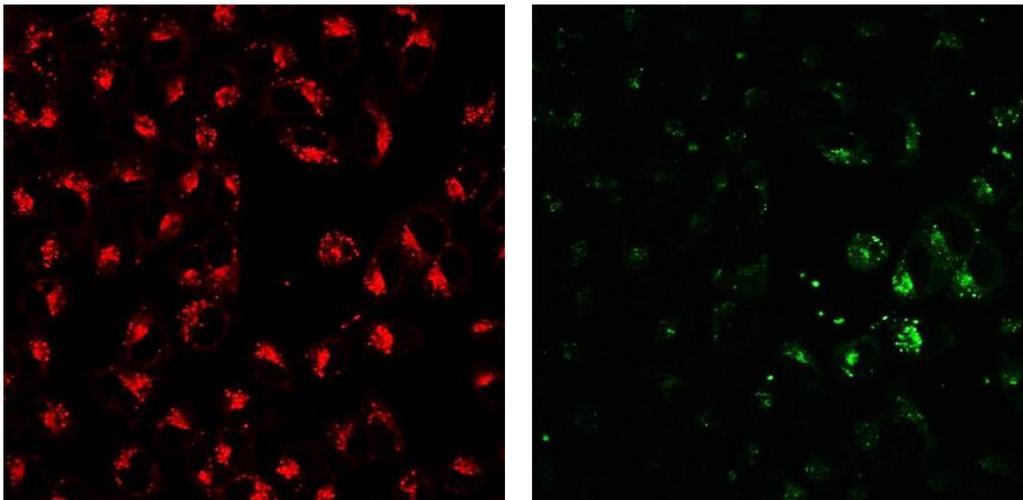


Figura 2.38. En la imagen de la izquierda se observan los lisosomas teñidos, en la de la izquierda, el complejo **69**.

Al superponer ambas figuras, se observa vagamente como el complejo parece que se deposita en el lisosoma, debido a que el tinte mostrado es el LisoTracker. Con el tinte que permite ver las mitocondrias no se observó que el complejo pudiera quedar alojado en estos orgánulos. (Figura 2.39).

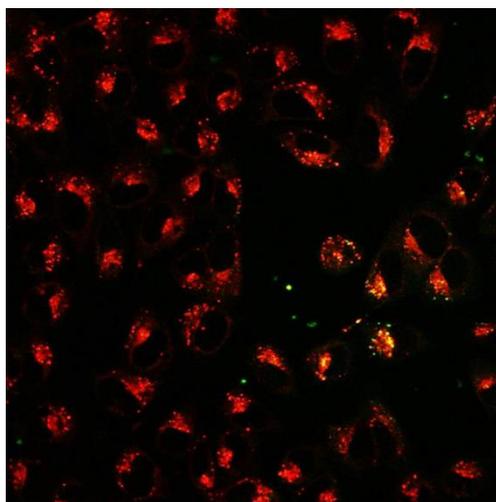


Figura 2.39. Superposición de las imágenes.

A diferencia de los complejos de oro(I) que tienen, normalmente, como diana biológica diferentes enzimas que presentan tioles o selenoles como centros activos dentro de la mitocondria, (tioredoxina reductasa), el complejo **69** parece que tiene preferencia a acumularse en los lisosomas.

2.9. Conclusiones

En este capítulo se han conseguido sintetizar tres sales de imidazolio diferentes y la formación de los correspondientes complejos de oro con los ligandos carbeno con derivados fosfinas como ligandos auxiliares. Con ello se ha intentado emular a la molécula de Auranofin, con el fin de obtener un fármaco que tuviera una actividad similar o mejor y que tuviera menos efectos secundarios.

Por otro lado, se lograron sintetizar diversos carbenos NHC de oro(I) con diferentes grupos tioles y también biscarbenos de oro(I), que desafortunadamente no consiguieron tener buenos valores de IC₅₀.

La síntesis de estos carbenos NHC de oro(I) siguió una vía inusual a las que estaban más aceptadas, como la transmetalación de un carbeno de plata o con bases como Cs₂CO₃ o K₂CO₃. Se utilizó como base el compuesto NBu₄(acac), que consiguió la desprotonación del protón del anillo de imidazol.

Se midió la actividad biológica de los nuevos carbenos sintetizados y de sus sales de imidazolio, donde los complejos con la fosfina JohnPhos (**55**, **56** y **57**) fueron los que obtuvieron un IC₅₀ más bajo. Desafortunadamente, los estudios llevados a cabo en la línea celular Jurkat y en Linfocitos demostraron también una gran actividad en las células sanas, por lo se concluye que estos nuevos complejos no eran selectivos en esta línea celular.

Finalmente se consiguió desprotonar uno de los dos grupos amino de la urea para dar lugar a novedosos complejos bimetálicos de oro(I), que presentaban una interacción Au(I)-Au(I) y una estructura cabeza-cola. Estos derivados son luminiscentes y presentan una emisión a una longitud de onda adecuada para poder hacer medidas de localización dentro de las células y ver, así, donde se acumulan. Los resultados no fueron muy reveladores para los compuestos dinucleares, debido a la precipitación en el medio. Sin embargo, el compuesto [AuBr(NHC)] (**69**) que también presenta una emisión similar a los complejos anteriores y una mayor solubilidad exhibe un patrón de distribución celular compatible con una acumulación en los lisosomas.

2.10. Experimental

2.10.1. Starting Materials

The starting materials [AuCl(tht)], [AuCl(JohnPhos)]⁵⁴, [NBu₄(acac)] and Ag₂O were prepared according to published procedures. All other reagents were commercially available and were used without further purification.

2.10.2. Instrumentation

2.10.2.1. Mass Spectrometry

Mass spectra were recorded on a Bruker Esquire 3000 PLUS, with the electrospray (ESI) technique and time of flight (Q-TOF) was used as the analyser.

2.10.2.2. NMR Spectroscopy

¹H, ¹³C{¹H}, ¹⁹F{¹H} and ³¹P{¹H} NMR, including 2D experiments like COSY (¹H-¹H), HSQC (¹H-¹³C) and HMBC (¹H-¹³C), were recorded at room temperature on a Bruker Avance 400 spectrometer (¹H 400.0 MHz, ¹³C 100.6 MHz, ¹⁹F 376.5, ³¹P 162.0 MHz), with chemical shifts (δ , ppm) reported relative to the solvent peaks of the deuterated solvent. All *J* values are given in Hz.

2.10.2.3. Crystallography

Crystals were mounted in inert oil on glass fibres and transferred to the cold gas stream of an Xcalibur Oxford Diffraction or a SMART Ape diffractometers equipped with a low-temperature attachment. Data were collected using monochromated Mo K α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Scan type ω . Absorption corrections based on multiple scans were applied with the program SADABS⁵⁵ or using spherical harmonics implemented in SCALE3 ABSPACK scaling algorithm⁵⁶. The structures were solved by direct methods and refined on F^2 using the program SHELXL-97⁵⁷. All nonhydrogen atoms were refined anisotropically. In most of the cases, hydrogen atoms were included in calculated positions and refined using a riding model; some of the hydrogen atoms have

⁵⁴ A. S. K. Hasmhi, B. Bechem, A. Loos, M. Hamzic, F. Rominger, H. Rabaa, *Aust. J. Chem.*, **2014**, 67,481.

⁵⁵ G. M. Sheldrick, *SADABS, Program for adsorption correction*, University of Göttingen, Göttingen, Germany, **1996**.

⁵⁶ *CrysAlisPro*, Agilent Technologies, Version 1.171.35.11. *Multi-scans absorption correction with SCALE3 ABSPACK scaling algorithm*.

⁵⁷ G. M. Sheldrick, *SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement*, University of Göttingen, Göttingen, Germany, **1996**.

been located in the diffraction map. Refinements were carried out by full-matrix least-squares on F^2 for all data.

2.10.2.4. UV-vis Studies

UV-Vis spectra were recorded with a 1 cm quartz cells on an Evolution 600 spectrophotometer.

2.10.2.5. Luminiscence Studies

Room temperature steady-state emission and excitation spectra were recorded with a Jobin-Yvon-Horiba fluorolog FL3-11 spectrometer fitted with a JY TBX picosecond detection module.

2.10.3. Cytotoxicity Studies

The previous steps to the MTT assay were:

- Cell growth in the culture medium.
- Culture cell count.
- Seeding cells in "multi-well" plates.
- Adding the complexes under study.
- Using the MTT assay.

The first three points were made by the group of Professor Isabel Marzo, in the Department of Biochemistry at the University of Zaragoza.

2.10.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay

A549 and HeLa cells were growth in DMEM medium supplemented with 5% fetal bovine serum (SFB), 100 mg · mL⁻¹ pyruvate, 2.2 g · L⁻¹ sodium bicarbonate, 5 mL non-essential amino acids (Invitrogen), 2 mM L-glutamine and antibiotics. Cells were grown at $2 \cdot 10^5$ cells / mL, in 96-well flat-bottomed microplates and allowed to attach for 24 h prior to addition of compounds.

The complexes were solved in DMSO and added at different concentrations between 1 and 50 µM in quadruplicate. Each complex was added in four different concentrations of the drugs obtained by different dilutions and with a column of negative controls

(cells with a DMSO concentration similar to which contain the solutions of the complexes) and another column of blank (medium only).

To make these dilutions, between 2 and 3 mg of the compound were weighed and dissolved in DMSO to obtain a stock solution of 0.1 M. It was then diluted to obtain a solution of 0.001 M in medium (DMEM) and finally from this, dilutions were made to obtain the different concentrations that would be added in the 96-well plate.

Cells were incubated with our compounds for 24 h hours at 37 ° C and with a 5% CO₂ atmosphere. Then, 10 µL of MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazole) of a concentration 5 mg · mL⁻¹ was added to each well and plates were incubated for 2 h at the same conditions as described above (37 °C and with a 5% CO₂ atmosphere). The crystals of blue formazan that it will have formed, it will be adhered to the bottom of the well, so before dissolving them it is necessary to remove the supernatant by the “flipping” technique and then dissolve them in DMSO (100 µL per well). The plates are shaken to help to dissolve the formazan precipitated. The optical density was measured at 550 nm using a 96-well multiscanner autoreader (ELISA). The IC₅₀ was calculated by nonlinear regression analysis.

The results are expressed in % of living cells and are obtained in the following formula:

$$\% \text{ living cells} = (A - B) \times 100$$

Being *A* the average optical density of treated cells and *B* the optical density of control cells.

Comparison values are made on a 50% growth inhibition basis (IC₅₀) in cells treated with specific agents.

2.10.3.2. Cell Death Studies

HeLa cell line was used for these studies; these cells were seeded in 24-well plates. HeLa cells were growth in DMEM medium supplemented with 5% fetal bovine serum (SFB), 100 mg · mL⁻¹ pyruvate, 2.2 g · L⁻¹ sodium bicarbonate, 5 mL non-essential amino acids (Invitrogen), 2 mM L-glutamine and antibiotics. Cells were grown at 2 · 10⁵ cells / mL, in 96-well flat-bottomed microplates and allowed to attach for 24 h prior to addition of compounds.

The plates were incubated in a HERA cell 150 model thermostated incubator (Thermo Fischer Scientific) for 24 hours at 37 ° C and with a 5% CO₂ atmosphere.

The complexes were solved in DMSO and added at different concentrations between 1 and 10 µM in duplicate. Each complex was added in four different concentrations (close to the concentration obtained by the MTT method, that is, their IC₅₀) of the drugs obtained by different dilutions and with a column of negative controls (cells with a DMSO concentration similar to which contain the solutions of the complexes) and another column of blank (medium only). After 24 hours the AnnexinV-FITC and 7-ADD + dyes were added. AnnexinV is left incubating for 20 minutes and then 7-add is added, after which luminescence is measured in the cytometer.

The cell death mechanism studies required the use of a BD FACS Calibur model cytometer (BD Biosciences), the data obtained were analyzed with the CellQuest Pro program.

2.10.3.3. Study of Cytotoxic Selectivity, Jurkat. vs Lymphocytes

For this study the Jurkat cell line was used. These cells were growth in RPMI medium supplemented with 5% fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine and antibiotics. In this method, for both the Jurkat cell line and lymphocytes, the cells that were cultured were 10,000 cells / mL in 96-well plates.

The plates were incubated in a HERA cell 150 model thermostated incubator (Thermo Fischer Scientific) for 24 hours at 37 °C and with a 5% CO₂ atmosphere. Then, 10 µL of MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazole) of a concentration 5 mg · mL⁻¹ was added to each well. It is allowed to incubate in an oven for two hours at the same conditions as described above (37 °C and with a 5% CO₂ atmosphere). The crystals of blue formazan that will have formed will be in the supernatant, therefore, it is necessary to centrifuge before dissolving them in DMSO (100 µL per well) and removing the supernatant by the "flipping" technique. The plates are shaken to help to dissolve the formazan precipitated. The optical density was measured at 550 nm using a 96-well multiscanner autoreader (ELISA). The IC₅₀ was calculated by nonlinear regression analysis.

The centrifugation process was carried out in an Allegra X-15R (Beckmancoulter) model centrifuge.

2.10.4. Distribution Coefficient (K_{ow})

The UV-Visible spectrum was measured at different time intervals, absorbance studies were recorded on a Unicam UV-4 and Evolution 600 spectrometer.

The n-octanol/water coefficients of the complexes were determined as previously reported⁵⁸ by using a shake-flask method. PBS-buffered distilled water (100 mL, phosphate buffer [PO_4^{3-}] = 10 μM , [NaCl] = 0.15 M, pH 7.4) and n-octanol (100 mL) were shaken together for 72 h to allow saturation of both phases. The complexes (1 mg) were mixed in aqueous and organic phase (1 mL), respectively, for 10 min. The resultant emulsion was centrifuged to separate the phases. The concentrations of the compound in each phase were determined by using UV absorbance spectroscopy. The value of $\log K_{ow}$ was defined as $[\text{compound}(\text{organic})]/[\text{compound}(\text{aqueous})]$.

2.10.5. Cell Fluorescence Microscopy Study

European Collection of Cell Cultures, were maintained in Hepes modified minimum essential medium (DMEM) supplemented with 5% fetal bovine serum, penicillin, and streptomycin. HeLa cells were detached from the plastic flask using trypsin-EDTA solution and suspended in an excess volume of growth medium. 300 μl of a homogeneous cell suspension was then distributed into μ -slide 8 well ibiTreat they were allowed to attach for 24 h prior to addition of compounds. Then, 200 μl of culture medium was removed and 100 μl of a solution of the corresponding complexes were added to the cells up to a final concentration of 5 or 25 μM . The complexes were incubated with the cells for 4 or 24 h at 37 °C, depending on the experiment. Thereafter, 50 μl of MitoTracker Red or LisoTracker red-DND99 was added up to a final concentration of 10 nM. They were incubated with the cells for 15 min (Mitotracker) or 30 min (lisoTracker) at room temperature. Eventually the medium was replaced with fresh medium without fenol red. Preparations were viewed using an Olympus FV10-i Oil type compact confocal laser microscope using a $\times 10$ or $\times 60$ objectives, with excitation wavelength at 578 nm.

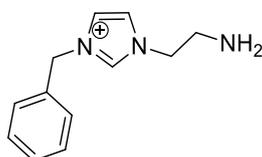
⁵⁸ C. Wetzel, P. C. Kunz, M. U. Kassak, A. Hamacher, P. Böhler, W. Watjen, I. Ott, R. Rubbiani, B. Spingler, *Dalton Trans.*, **2011**, 40, 9212.

2.10.6. Syntheses

Synthesis of Compound 51

To a solution of 1-Benzylimidazole (282.0 mg, 1 mmol) in toluene (20 ml), N-(2-Bromoethyl)phthalimide was added (108 μ L, 1 mmol) and the solution stirred for 72h (120°C). A white powder formed which was collected, and vacuum dried to give the product. Lately, this white powder was solved in ethanol (20 ml) and an excess of hydrazine was added. The solution stirred for 24 h. a white precipitated was formed and the solution was decanted and vacuum dried to give a transparent oil.

Yield: 99%



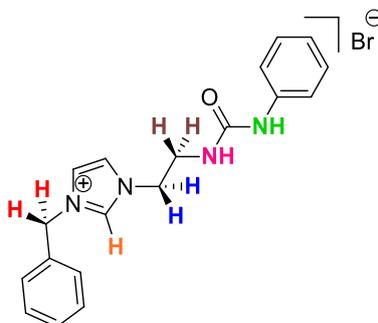
51

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.30 (s, 1H, *imidazole*); 7.78 (m, 2H, *imidazole*); 7.42 (m, 5H, *Ph-CH₂*); 5.44 (s, 2H, *Ph-CH₂-imidazole*); 4.13 (m, 2H, *NH₂-CH₂-CH₂*); 2.91 (m, 2H, *NH₂-CH₂-CH₂*).

Synthesis of Compound 52

To a solution of aminoethyl-benzylimidazolium salt (282.0 mg, 1 mmol), phenyl isothiocyanate was added (108 μ L, 1 mmol) and the solution stirred for 24h. A white precipitate formed which was collected, washed with acetonitrile and vacuum dried to give the product.

Yield: 84%



52

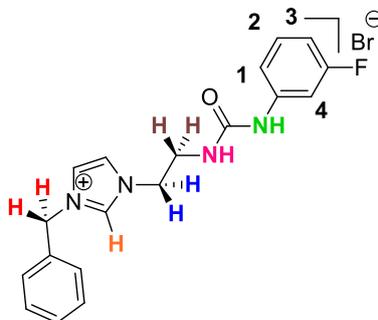
^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.34 (s, 1H, *imidazole*); 8.72 (s, 1H, CO-NH-Ph); 7.80 (m, 2H, *imidazole*); 7.34 (m, 7H, CH₂-Ph + *H*_{ortho}PH-NH); 7.21 (m, 2H, *H*_{meta}Ph-NH); 6.90 (m, 1H, *H*_{para}Ph-NH); 6.40 (t, 1H, CH₂-NH-CO, $^3J_{\text{H-H}} = 5.9$ Hz); 5.44 (s, 2H, Ph-CH₂-imidazole); 4.28 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂, $^3J_{\text{H-H}} = 5.5$ Hz); 3.55 (q, 2H, NH-CH₂-CH₂, $^3J_{\text{H-H}} = 5.7$ Hz).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 155.3 (s, 1C, CO); 140.2 (s, 1C, *C*_{ipso}Ph-NH); 136.6 (s, 1C, CH-imidazole); 134.8 (s, 1C, *C*_{ipso}Ph-CH₂); 128.9 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph-CH₂); 128.6 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph-NH); 128.6 (s, 1C, *C*_{para}Ph-CH₂); 128.1 (s, 2C, *C*_{meta}Ph-CH₂); 123.3 (s, 1C, *imidazole*); 122.4 (s, 1C, *imidazole*); 121.2 (s, 1C, *C*_{para}Ph-NH); 117.7 (s, 2C, *C*_{meta}Ph-NH); 51.8 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 49.7 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 40.0 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂).

Synthesis of compound 53

To a solution of aminoethyl-benzylimidazolium salt (282.0 mg, 1 mmol), 3-fluorophenyl isothiocyanate was added (114 μL , 1 mmol) and the solution stirred for 24h. A white precipitate formed which was collected, washed with acetonitrile and vacuum dried to give the product.

Yield: 92%



53

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.31 (s, 1H, *imidazole*); 8.91 (s, 1H, CO-NH-Ph); 7.78 (m, 2H, *imidazole*); 7.44 (m, 1H, 4); 7.35 (s, 5H, CH₂-Ph); 7.25 (m, 1H, 2); 7.00 (m, 1H, 1); 6.72 (m, 1H, 3); 6.45 (t, 1H, CO-NH-CH₂, $^3J_{\text{H-H}} = 5.9$ Hz); 5.43 (s, 2H, Ph-CH₂-imidazole); 4.28 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂, $^3J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz); 3.55 (q, 2H, NH-CH₂-CH₂, $^3J_{\text{H-H}} = 5.8$ Hz).

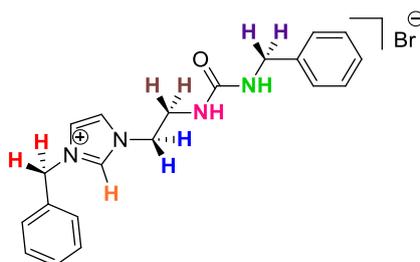
$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -112.3 (m, 1F, Ph-F).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): $\delta = 162.4$ (d, 1C, *C*_{ipso}Ph-F, ¹*J*_{C-F} = 240.0 Hz); 155.5 (s, 1C, CO); 142.1 (d, 1C, *C*_{ipso}Ph-NH, ³*J*_{C-F} = 11.5 Hz); 134.7 (s, 1C, CH imidazole); 130.1 (d, 1C, 2, ³*J*_{C-F} = 9.8 Hz); 128.8 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph); 128.6 (s, 1C, *C*_{para}Ph); 128.0 (s, 2C, *C*_{meta}Ph); 123.4 (s, 1C, imidazole); 122.4 (s, 1C, imidazole); 113.4 (s, 1C, I); 107.5 (d, 1C, 3, ²*J*_{C-F} = 21.3 Hz); 104.4 (d, 1C, 4, ²*J*_{C-F} = 26.5 Hz); 51.8 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 49.6 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 40.1 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂).

Synthesis of compound 54

To a solution of aminoethyl-benzylimidazolium salt (282.0 mg, 1 mmol), benzyl isothiocyanate was added (123 μ L, 1 mmol) and the solution stirred for 24h. A white precipitate formed which was collected, washed with acetonitrile and vacuum dried to give the product.

Yield: 73%



54

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): $\delta = 9.30$ (s, 1H, imidazole); 7.77 (m, 2H, imidazole); 7.40-7.21 (m, 10H, CH₂-Ph); 6.55 (t, 1H, CO-NH-CH₂-Ph, ³*J*_{H-H} = 6.0 Hz); 6.24 (t, 1H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³*J*_{H-H} = 5.9 Hz); 5.42 (s, 2H, Ph-CH₂-imidazole); 4.23 (t, 2H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³*J*_{H-H} = 5.6 Hz); 4.16 (d, 2H, NH-CH₂-Ph, ³*J*_{H-H} = 6.0 Hz); 3.47 (q, 2H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³*J*_{H-H} = 5.6 Hz).

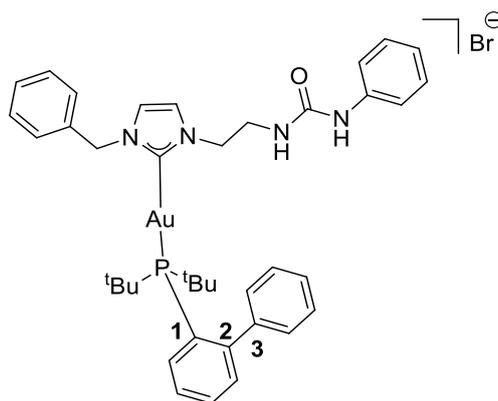
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): $\delta = 157.9$ (s, 1C, CO); 140.6 (s, 1C, *C*_{ipso}Ph-CH₂-NH); 136.5 (s, 1C, imidazole); 134.7 (s, 1C, *C*_{ipso}Ph-CH₂-imidazole); 128.9 (s, 2C, CH₂-Ph); 128.6 (s, 1C, *C*_{para}PhCH₂); 128.2 (s, 2C, CH₂-Ph); 128.1 (s, 2C, CH₂-Ph); 127.0 (s, 2C, CH₂-Ph); 126.6 (s, 1C, *C*_{para}Ph-CH₂); 123.3 (s, 1C, imidazole-CH₂-CH₂); 122.3 (s, 1C, imidazole-CH₂-Ph); 51.8 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 49.8 (s, 1C, CH₂-CH₂-NH-CO); 42.9 (s, 1C, NH-CH₂-Ph); 39.5 (s, 1C, CH₂-CH₂-NH-CO).

Synthesis of compound 55

2.10. Experimental

To a solution of compound **52** (80 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(JohnPhos)] (106 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred for 2.5h. The solution washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 62%



¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.57 (s br, 1H, CO-NH-Ph); 7.99-6.86 (m, 19H, CH₂-Ph+Ph); 7.57 (m, 2H, imidazole); 6.29 (t, 1H, CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.9 Hz); 5.18 (s, 2H, Ph-CH₂-imidazole); 4.06 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 6.0 Hz); 3.50 (m, 2H, NH-CH₂-CH₂); 1.29 (d, 18H, ^tBu, ³J_{H-P} = 15.4 Hz).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 63.8 (s, 1P, JohnPhos).

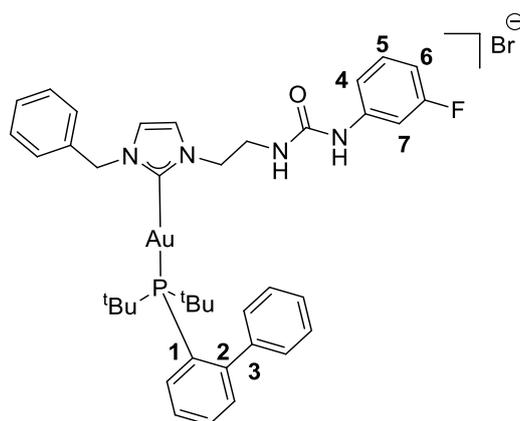
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 187.0 (d, 1C, C=Au, ²J_{C-P} = 115.0 Hz); 155.1 (s, 1C, CO); 148.8 (d, 1C, C_{ipso}-2, ²J_{C-P} = 14.3 Hz); 142.9 (d, 1C, C_{ipso}-3, ³J_{C-P} = 6.1 Hz); 140.3 (s, 1C, C_{ipso}Ph-NH); 136.4 (s, 1C, C_{ipso}Ph-CH₂); 134.7-117.6 (m, 19C, CH₂-Ph+Ph+JohnPhos); 125.5 (d, 1C, C_{ipso}-1, ¹J_{C-P} = 42.5 Hz); 122.6 (s, 1C, imidazole); 122.3 (s, 1C, imidazole); 53.4 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 50.9 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 39.8 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 37.0 (d, 2C, C_{ipso}^tBu, ¹J_{C-P} = 23.0 Hz); 30.3 (d, 6C, ^tBu, ¹J_{C-P} = 6.4 Hz).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₉H₄₇AuN₄O₂]⁺ 815.3148. Found 815.3113.

Synthesis of compound 56

To a solution of compound **53** (83.86 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(JohnPhos)] (106 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred for 4.5h. The solution washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 60%



56

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.95 (s br, 1H, CO-NH-Ph); 7.00-6.68 (m, 13H, CH₂-Ph+JohnPhos); 7.56 (m, 2H, imidazole); 7.46 (m, 1H, 7); 6.97 (m, 1H, 4); 6.68 (m, 1H, 6); 6.46 (t, 1H, CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.8 Hz); 5.18 (s, 2H, Ph-CH₂-imidazol); 4.06 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 6.0 Hz); 3.50 (m, 2H, NH-CH₂-CH₂); 1.29 (d, 18H, ^tBu, ³J_{H-P} = 15.4 Hz).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -112.5 (m, 1F, Ph-F).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 64.1 (s, 1P, JohnPhos).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 186.4 (d, 1C, C=Au, ²J_{C-P} = 115.2 Hz); 162.3 (d, 1C, C_{ipso}Ph-F, ¹J_{C-F} = 240.1 Hz); 154.9 (s, 1C, CO); 148.7 (d, 1C, C_{ipso}-2, ²J_{C-P} = 14.3 Hz); 142.9 (d, 1C, C_{ipso}-3, ³J_{C-P} = 6.0 Hz); 142.9 (s, 1C, C_{ipso}Ph-NH); 136.4 (s, 1C, C_{ipso}Ph-CH₂); 134.8-127.3 (m, 10C, 5+JohnPhos); 128.6 (s, 2C, C_{ortho}Ph); 127.8 (s, 1C, C_{para}Ph); 126.7 (s, 2C, C_{meta}Ph); 125.2 (d, 1C, C_{ipso}-1, ¹J_{C-P} = 42.5 Hz); 122.6 (s, 1C, imidazole); 122.2 (s, 1C, imidazole); 113.2 (d, 1C, 4, ⁴J_{C-F} = 2.3 Hz); 107.3 (d, 1C, 6, ²J_{C-F} = 21.2 Hz); 104.2 (d, 1C, 7, ²J_{C-F} = 26.6 Hz); 53.4 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 50.8

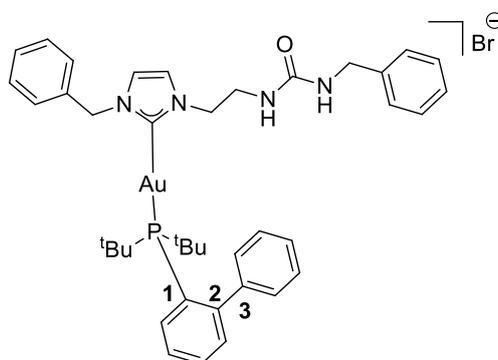
(s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 39.8 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 37.1 (d, 2C, C_{ipso}^tBu, ¹J_{C-P} = 23.0 Hz); 30.3 (d, 6C, ^tBu, ¹J_{C-P} = 6.4 Hz).

MS (ESI+ μ-TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₉H₄₆AuFN₄OP]⁺ 833.3053. Found 833.3034.

Synthesis of compound 57

To a solution of compound **54** (83 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(JohnPhos)] (106 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred for 2.5h. The solution washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 52%



57

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.00-6.85 (m, 21H, CH₂-Ph+JohnPhos); 6.45 (t, 1H, CO-NH-CH₂-Ph, ³J_{H-H} = 6.0 Hz); 6.10 (t, 1H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.8 Hz); 5.18 (s, 2H, Ph-CH₂-imidazole); 4.16 (d, 2H, NH-CH₂-Ph, ³J_{H-H} = 6.0 Hz); 4.01 (t, 2H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 6.1 Hz); 3.42 (m, 2H, CH₂-CH₂-NH-CO); 1.28 (d, 18H, ^tBu, ³J_{H-P} = 15.4 Hz).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 64.1 (s, 1P, JohnPhos).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 186.3 (d, 1C, C=Au, ²J_{C-P} = 115.2 Hz); 157.8 (s, 1C, CO); 148.7 (d, 1C, C_{ipso}-2, ²J_{C-P} = 14.3 Hz); 142.9 (d, 1C, C_{ipso}-3, ³J_{C-P} = 6.1

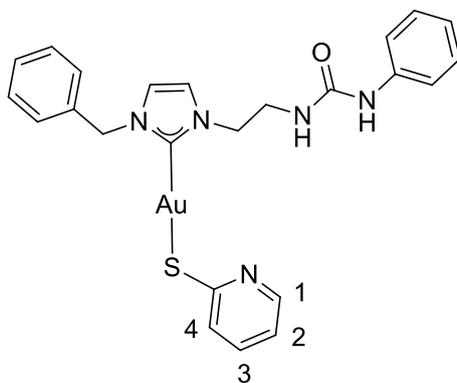
Hz); 140.7 (s, 1C, *C*_{ipso}*Ph*-CH₂-NH); 136.4 (s, 1C, *C*_{ipso}*Ph*-CH₂-imidazole); 134.7-126.5 (m, 19C, CH₂-*Ph*+*JohnPhos*); 125.5 (d, 1C, *C*_{ipso}-I, ¹*J*_{C-P} = 42.5 Hz); 122.4 (s, 1C, imidazole); 122.2 (s, 1C, imidazole); 53.9 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 50.9 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 42.8 (s, 1C, NH-CH₂-Ph); 39.8 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 37.1 (d, 2C, *C*_{ipso}^{*t*}*Bu*, ¹*J*_{C-P} = 23.0 Hz); 30.3 (d, 6C, ^{*t*}*Bu*, ¹*J*_{C-P} = 6.4 Hz).

MS (ESI+ μ-TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₄₀H₄₉AuN₄OP]⁺ 829.3304. Found 829.3274.

Synthesis of compound 58

To a solution of compound **52** (80 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(*t*ht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(*acac*) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 4.5h later, 2-mercaptopyridine was added (22 mg, 0.2 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 55%



58

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.58 (s br, 1H, CO-NH-Ph); 8.13 (s, 1H, *I*); 7.53 (m, 2H, imidazole); 7.32-6.88 (m, 13H, *Ph*+CH₂-*Ph*+*arom*); 6.32 (t, 1H, CH₂-NH-CO, ³*J*_{H-H} = 5.9 Hz); 5.42 (s, 2H, Ph-CH₂-imidazole); 4.27 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂, ³*J*_{H-H} = 5.7 Hz); 3.59 (m, 2H, NH-CH₂-CH₂).

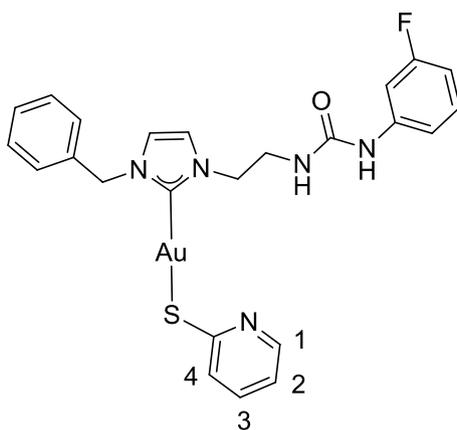
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 155.1 (s, 1C, CO); 148.0 (s, 1C, I); 140.3 (s, 1C, $C_{\text{ipsoPh-NH}}$); 136.8 (s, 1C, $C_{\text{ipsoPh-CH}_2}$); 136.6 (s, 1C, arom); 128.6 (s, 2C, $C_{\text{orthoPh-CH}_2}$); 128.5 (s, 2C, $C_{\text{orthoPh-NH}}$); 127.9 (s, 1C, $C_{\text{paraPh-CH}_2}$); 127.6 (s, 2C, $C_{\text{metaPh-CH}_2}$); 126.8 (s, 1C, arom); 122.3 (s, 1C, imidazole); 121.6 (s, 1C, imidazole); 121.1 (s, 1C, $C_{\text{paraPh-NH}}$); 117.8 (s, 2C, $C_{\text{metaPh-NH}}$); 117.7 (s, 1C, 2); 53.5 (s, 1C, Ph- CH_2 -imidazole); 50.7 (s, 1C, NH- CH_2 - CH_2); 40.0 (s, 1C, NH- CH_2 - CH_2).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{AuN}_5\text{OS}]^+$ 628.1440. Found 628.1412.

Synthesis of compound 59

To a solution of compound **53** (83.86 mg, 0.2 mmol) and $[\text{AuCl}(\text{tbt})]$ (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $\text{NBu}_4(\text{acac})$ (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 4.5h later, 2-mercaptopyridine was added (22 mg, 0.2 mmol) with an excess of K_2CO_3 and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H_2O (3 x 25 ml), dried over Na_2SO_4 and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 53%



59

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.88 (s br, 1H, CO-NH-Ph); 8.12 (s, 1H, I); 7.51 (m, 2H, imidazole); 7.39-7.28 (m, 9H, CH_2 -Ph+3+4+ IV); 7.21 (m, 1H, II); 6.96 (m, 1H, I); 6.84 (m, 1H, 2); 6.68 (m, 1H, III); 6.43 (t br, 1H, CH_2 -NH-CO); 5.41 (s, 2H, Ph- CH_2 -imidazole); 4.27 (t br, 2H, NH- CH_2 - CH_2); 3.59 (m, 2H, NH- CH_2 - CH_2).

^{19}F ^1H NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): $\delta = -112.5$ (m, 1F, *Ph-F*).

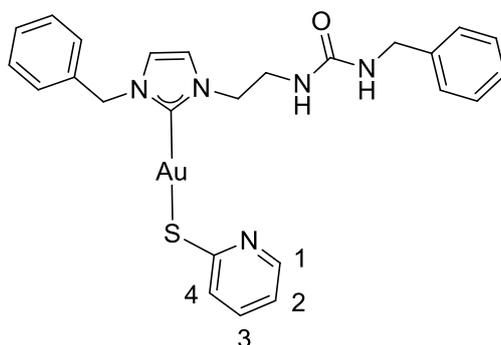
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): $\delta = 183.2$ (s, 1C, $\text{C}=\text{Au}$); 162.3 (d, 1C, $C_{\text{ipsoPh-F}}$, $^1J_{\text{C-F}} = 240.1$ Hz); 154.9 (s, 1C, CO); 149.7 (s, 1C, *I*); 142.2 (d, 1C, $C_{\text{ipsoPh-NH}}$, $^3J_{\text{C-F}} = 11.5$ Hz); 138.1 (s, 1C, *arom*); 136.8 (s, 1C, $C_{\text{ipsoPh-CH}_2}$); 136.1 (d, 1C, *II*, $^3J_{\text{C-F}} = 9.9$ Hz); 128.6 (s, 2C, C_{orthoPh}); 127.9 (s, 1C, C_{paraPh}); 127.6 (s, 2C, C_{metaPh}); 127.2 (s, 1C, *arom*); 122.4 (s, 1C, *imidazole*); 121.8 (s, 1C, *imidazole*); 119.6 (s, 1C, 2); 113.4 (s, 1C, *D*); 107.5 (d, 1C, *III*, $^2J_{\text{C-F}} = 21.2$ Hz); 104.2 (d, 1C, *IV*, $^2J_{\text{C-F}} = 26.5$ Hz); 53.5 (s, 1C, $\text{Ph-CH}_2\text{-imidazole}$); 50.7 (s, 1C, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$); 39.8 (s, 1C, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{AuFN}_5\text{OS}]^+$ 646.1346. Found 646.1329.

Synthesis of compound 60

To a solution of compound **54** (83.0 mg, 0.2 mmol) and $[\text{AuCl}(\text{tht})]$ (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH_2Cl_2 (10 ml) was added $\text{NBu}_4(\text{acac})$ (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 4.5h later, 2-mercaptopyridine was added (22 mg, 0.2 mmol) with an excess of K_2CO_3 and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H_2O (3 x 25 ml), dried over Na_2SO_4 and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 60%



60

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): $\delta = 8.11$ (s, 1H, *I*); 7.54-7.23 (m, 14H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$ + *imidazole* + *arom*); 6.83 (s, 1H, 2); 6.42 (t, 1H, $\text{CO-NH-CH}_2\text{-Ph}$, $^3J_{\text{H-H}} = 5.9$ Hz); 6.17 (t, 1H, $\text{CO-NH-CH}_2\text{-Ph}$, $^3J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz); 5.42 (s, 2H, $\text{Ph-CH}_2\text{-imidazole}$); 4.23 (t, 2H,

imidazole-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 5.4 Hz); 4.18 (d, 2H, CO-NH-CH₂-Ph, ³J_{H-H} = 5.8 Hz); 3.53 (m, 2H, imidazole-CH₂-CH₂-NH).

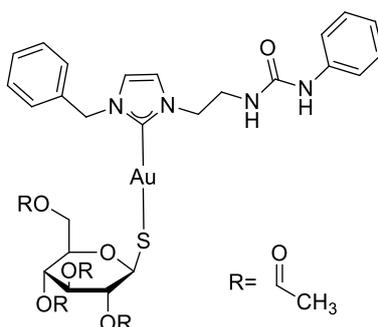
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 183.1 (s, 1C, C=Au); 157.9 (s, 1C, CO); 148.3 (s, 1C, I); 140.7 (s, 1C, C_{ipso}Ph-CH₂-NH); 136.8 (s, 1C, C_{ipso}Ph-CH₂-imidazole); 136.0 (s, 1C, arom); 128.6-126.4 (m, 11C, CH₂-Ph + arom); 122.2 (s, 1C, imidazole); 121.4 (s, 1C, imidazole); 117.3 (s, 1C, 2); 53.5 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 50.8 (s, 1C, imidazole-CH₂-CH₂-NH); 42.9 (CO-NH-CH₂-Ph); 40.1 (s, 1C, imidazole-CH₂-CH₂-NH)

MS (ESI+ μ-TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₂₅H₂₇AuN₅OS]⁺ 642.1597. Found 642.1582.

Synthesis of compound 61

To a solution of compound **52** (80.0 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 4.5h later, 1-Thio-beta-D-glucose tetraacetate was added (73 mg, 0.2 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 58%



61

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.47 (s br, 1H, CO-NH-Ph); 7.51-6.89 (m, 12H, CH₂-Ph + imidazole); 6.24 (t, 1H, CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.8 Hz); 5.39 (m, 2H, Ph-CH₂-imidazol); 5.12; 4.84; 3.91 (m, 5H, thioglucose); 4.05 (m, 2H, CH₃COO-CH₂-6-

member ring thioglucose); 4.23 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 5.9 Hz); 3.57 (m, 2H, NH-CH₂-CH₂); 1.96 (m, 12H, CH₃).

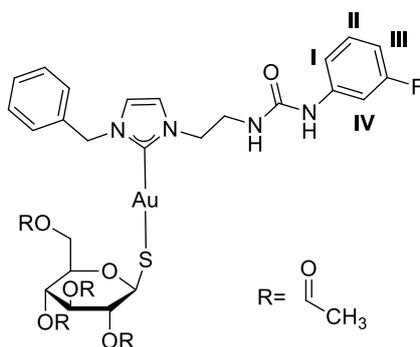
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 183.2 (s, 1C, C=Au); 170.0 (s, 4C, CO-thioglucose); 155.0 (s, 1C, CO); 140.2 (s, 1C, C_{ipso}Ph-NH); 136.8 (s, 1C, C_{ipso}Ph-CH₂); 128.6-117.8 (m, 12C, CH₂-Ph+imidazole); 81.7; 77.0; 74.3; 73.5; 68.6 (s, 5C, thioglucose-ring); 62.4 (s, 1C, CH₃COO-CH₂-6-member ring thioglucose); 53.4 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazol); 50.5 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 39.8 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 20.3 (s, 4C, CH₃).

MS (ESI+ μ-TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₃H₄₀AuN₄O₁₀S] 881.72. Found 903.1889 [C₃₃H₄₀AuN₄O₁₀S + Na]⁺.

Synthesis of compound 62

To a solution of compound **53** (83.86 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 4.5h later, 1-Thio-beta-D-glucose tetraacetate was added (73 mg, 0.2 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 54%



62

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.75 (s br, 1H, CO-NH-Ph); 7.51-7.23 (m, 9H, CH₂-Ph + imidazole + II + IV); 7.02 (m, 1H, I); 6.69 (m, 1H, III); 6.34 (t, 1H, CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.9 Hz); 5.39 (m, 2H, Ph-CH₂-imidazol); 5.09; 4.78; 3.90 (m, 5H,

thioglucose); 4.05 (m, 2H, CH₃COO-CH₂-6-member ring thioglucose); 4.23 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 5.9 Hz); 3.57 (m, 2H, NH-CH₂-CH₂); 1.96 (m, 12H, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -112.5 (s, 1F, *Ph-F*).

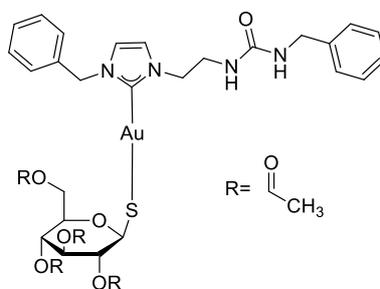
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 181.1 (s, 1C, C=Au); 169.5 (s, 4C, *CO-thioglucose*); 162.4 (d, 1C, *C_{ipsoPh-F}*, ¹J_{C-F} = 240.2 Hz); 154.9 (s, 1C, *CO*); 142.2 (d, 1C, *C_{ipsoPh-F}*, ³J_{C-F} = 11.5 Hz); 136.9 (s, 1C, *C_{ipsoPh-CH₂}*); 130.1 (d, 1C, *II*, ³J_{C-F} = 9.8 Hz); 128.6 (s, 2C, *C_{orthoPh}*); 128.0 (s, 1C, *C_{paraPh}*); 127.7 (s, 2C, *C_{metaPh}*); 122.3 (s, 1C, *imidazole*); 121.3 (s, 1C, *imidazole*); 113.5 (s, 1C, *I*); 107.4 (d, 1C, *III*, ²J_{C-F} = 21.1 Hz); 104.5 (d, 1C, *IV*, ³J_{C-F} = 26.4 Hz); 81.7; 77.0; 74.3; 73.5; 68.6 (s, 5C, *thioglucose-ring*); 62.4 (s, 1C, CH₃COO-CH₂-6-member ring thioglucose); 53.4 (s, 1C, *Ph-CH₂-imidazole*); 50.4 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 39.8 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 20.3 (s, 4C, CH₃).

MS (ESI+ μ-TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₃H₃₉AuFN₄O₁₀S] 899.714. Found 921.1815 [C₃₃H₃₉AuFN₄O₁₀S + Na]⁺.

Synthesis of compound 63

To a solution of compound **54** (83.0 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 2.5h later, 1-Thio-beta-D-glucose tetraacetate was added (73 mg, 0.2 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 50%



63

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 7.51-7.28 (m, 12H, CH₂-Ph + imidazole); 6.39 (t, 1H, CO-NH-CH₂-Ph, ³J_{H-H} = 5.9 Hz); 6.07 (t, 1H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.7 Hz); 5.38 (m, 2H, Ph-CH₂-imidazol); 5.11; 4.84; 3.91 (m, 5H, thioglucose); 4.20 (m, 2H, NH-CH₂-Ph + NH-CH₂-CH₂); 4.05 (m, 2H, CH₃COO-CH₂-6-member ring thioglucose); 3.48 (m, 2H, CH₂-CH₂-NH-CO); 1.95 (m, 12H, CH₃).

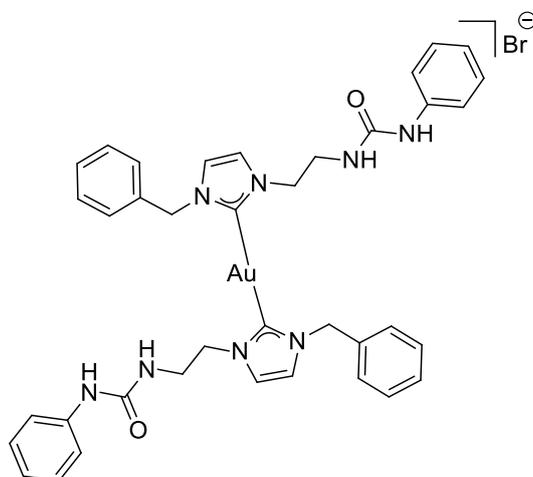
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 181.0 (s, 1C, C=Au); 169.5 (s, 4C, CO-thioglucose); 157.8 (s, 1C, CO); 140.7 (s, 1C, C_{ipso}Ph-CH₂); 136.8 (s, 1C, C_{ipso}Ph-CH₂); 128.7-126.5 (m, 10C, Ph); 122.1 (s, 1C, imidazole); 121.1 (s, 1C, imidazole); 81.7; 77.0; 74.3; 73.5; 68.6 (s, 5C, thioglucose-ring); 62.4 (s, 1C, CH₃COO-CH₂-6-member ring thioglucose); 53.4 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 50.4 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 42.9 (s, 1C, NH-CH₂-Ph); 39.8 (s, 1C, NH-CH₂-CH₂); 20.4 (s, 4C, CH₃).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₄H₄₂AuN₄O₁₀S] 895.229. Found 917.1920 [C₃₄H₄₂AuN₄O₁₀S + Na]⁺,

Synthesis of compound 64

To a solution of compound **52** (160.0 mg, 0.4 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) until a colourless solution formed (5 min). NBu₄(acac) (128 mg, 0.4 mmol) was added and the mixture stirred for 2.5h. The solution was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 63%



64

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.64 (s br, 2H, CO-NH-Ph); 7.57 (s br, 4H, imidazole); 7.30 (m, 4H, *H*_{ortho}Ph-NH); 7.22 (m, 10H, Ph-CH₂); 7.15 (m, 4H, *H*_{meta}Ph-NH); 6.86 (d, 2H, *H*_{para}Ph-NH); 6.35 (t, 2H, CH₂-NH-CO, ³*J*_{H-H} = 5.9 Hz); 5.29 (s, 4H, Ph-CH₂-imidazole); 4.25 (t, 4H, NH-CH₂-CH₂, ³*J*_{H-H} = 5.8 Hz); 3.50 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂).

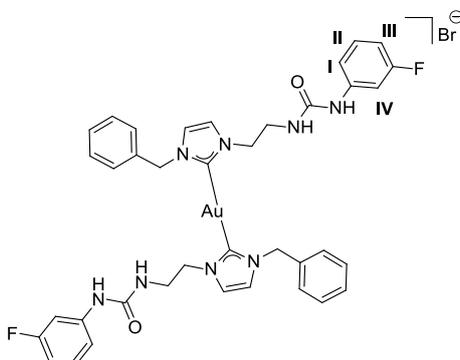
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 183.2 (s, 2C, C=O); 155.3 (s, 2C, CO); 140.2 (s, 2C, *C*_{ipso}Ph-NH); 136.8 (s, 2C, *C*_{ipso}Ph-CH₂); 128.6 (s, 4C, *C*_{ortho}Ph-CH₂); 128.6 (s, 4C, *C*_{ortho}Ph-NH); 127.8 (s, 2C, *C*_{para}Ph-CH₂); 127.2 (s, 4C, *C*_{meta}Ph-CH₂); 122.5 (s, 2C, imidazole); 122.4 (s, 2C, imidazole); 121.1 (s, 2C, *C*_{para}Ph-NH); 117.7 (s, 4C, *C*_{meta}Ph-CH₂); 53.4 (s, 2C, Ph-CH₂-imidazole); 50.6 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂); 40.2 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂).

MS (ESI+ μ -TOF): *m/z* (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₈H₄₀AuN₈O₂]⁺ 837.759. Found 837.2942.

Synthesis of compound 65

To a solution of compound **53** (167.7 mg, 0.4 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) until a colourless solution formed (5 min). NBu₄(acac) (128 mg, 0.4 mmol) was added and the mixture stirred for 2.5h. The solution was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 61%



65

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.87 (s br, 2H, CO-NH-Ph); 7.50 (s, 4H, imidazole); 7.34 (dt, 2H, IV, ³*J*_{F-H} = 12.3 Hz, ⁴*J*_{H-H} = 2.3 Hz); 7.23 (m, 10H, Ph-CH₂);

7.16 (m, 2H, *II*); 6.96 (d, 2H, *I*, $^5J_{F-H} = 9.3$ Hz); 6.66 (m, 2H, *III*); 6.40 (t, 2H, CH₂-NH-CO, $^3J_{H-H} = 5.9$ Hz); 5.29 (s, 4H, Ph-CH₂-imidazole); 4.26 (t, 4H, NH-CH₂-CH₂, $^3J_{H-H} = 5.9$ Hz); 3.50 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂);

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ RMN (ppm) (376 MHz, DMSO): $\delta = -112.3$ (m, 1F, *Ph-F*).

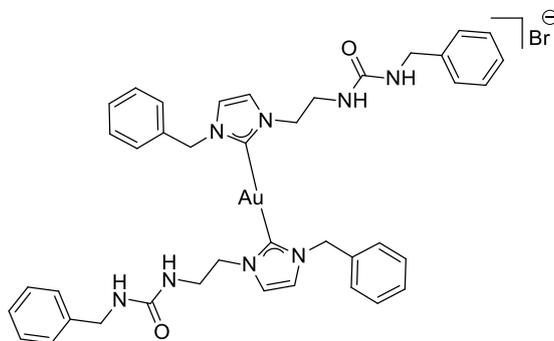
^{13}C APT (ppm) (400 MHz, DMSO): $\delta = 183.2$ (s, 2C, C=Au); 162.3 (d, 2C, *C_{ipsoPh-F}*, $^1J_{C-F} = 240.2$ Hz); 155.0 (s, 2C, CO); 142.1 (d, 2C, *C_{ipsoPh-F}*, $^3J_{C-F} = 11.5$ Hz); 136.7 (s, 2C, *C_{ipsoPh-CH₂}*) 129.9 (d, 2C, *II*, $^3J_{C-F} = 9.8$ Hz); 128.6 (s, 4C, *C_{orthoPh}*); 127.8 (s, 2C, *C_{paraPh}*); 127.2 (s, 4C, *C_{metaPh}*); 122.5 (s, 2C, imidazole); 122.4 (s, 2C, imidazole); 113.2 (d, 2C, *I*, $^3J_{C-F} = 2.1$ Hz); 107.3 (d, 2C, *III*, $^2J_{C-F} = 21.2$ Hz); 104.2 (d, 2C, *IV*, $^3J_{C-F} = 26.7$ Hz); 53.4 (s, 2C, Ph-CH₂-imidazole); 50.4 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂); 40.0 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₈H₃₈AuF₂N₈O₂]⁺ 873.2746. Found 873.2784.

Synthesis of compound 66

To a solution of compound **54** (166 mg, 0.4 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) until a colourless solution formed (5 min). NBu₄(acac) (128 mg, 0.4 mmol) was added and the mixture stirred for 2.5h. The solution was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 62%



66

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): $\delta = 7.05$ (m, 4H, imidazole); 6.83 (m, 20H, CH₂-Ph); 6.08 (t, 2H, CO-NH-CH₂-Ph, $^3J_{H-H} = 5.9$ Hz); 5.77 (t, 2H, CH₂-CH₂-NH-CO, $^3J_{H-H}$

= 5.6 Hz); 4.92 (s, 4H, Ph-CH₂-imidazole); 3.77 (t, 4H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.9 Hz); 3.66 (d, 4H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.9 Hz); 3.00 (m, 4H, CH₂-CH₂-NH-CO).

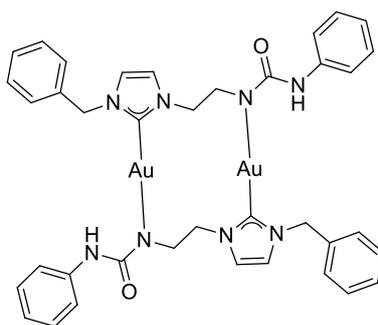
¹³C APT (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 183.1 (s, 2C, C=Au); 158.0 (s, 2C, CO); 140.6 (s, 2C, C_{ipso}Ph-CH₂-NH); 136.9 (s, 2C, C_{ipso}Ph-CH₂-imidazole); 128.6-126.4 (m, 20C, Ph); 122.6 (s, 2C, imidazole); 122.4 (s, 2C, imidazole); 53.4 (s, 2C, Ph-CH₂-imidazole); 50.7 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂); 42.8 (s, 2C, Ph-CH₂-NH-CO); 39.8 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂).

MS (ESI+ μ-TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₄₀H₄₄AuN₈O₂]⁺ 865.3247. Found 865.3229.

Synthesis of compound 67

To a solution of compound **52** (80.0 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 2h later, 6-thioguanine was added (33 mg, 0.2 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 84%



67

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 7.53 (m, 2H, imidazole); 7.43 (s, 2H, imidazole); 7.15-6.71 (m, 20H, arom); 5.44 (s, 4H, Ph-CH₂-imidazole); 4.44 (t, 4H, NH-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 5.4 Hz); 3.88 (t, 4H, NH-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 5.4 Hz).

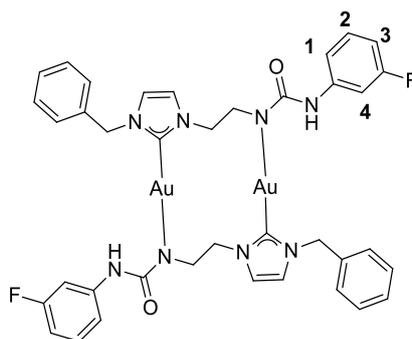
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 171.4 (s, 2C, C=Au); 160.7 (s, 2C, CO); 141.6 (s, 2C, C_{ipso}Ph-NH); 137.0 (s, 2C, C_{ipso}Ph-CH₂); 128.6 (s, 4C, Ph_{ortho}-NH); 127.3

(s, 2C, *Ph*_{para}-CH₂); 126.3(s, 4C, *Ph*_{meta}-CH₂); 124.2 (s, 2C, *imidazole*); 122.2 (s, 2C, *imidazole*); 119.4 (s, 2C, *Ph*_{para}-NH); 117,2 (s, 4C, *Ph*_{meta}-NH); 53.1 (s, 2C, Ph-CH₂-imidazole); 45.9 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂); 39.8 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂).

Synthesis of compound 68

To a solution of compound **53** (83.86 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 2h later, 6-thioguanine was added (33 mg, 0.2 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 65%.



68

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 7.53 (s, 2H, *imidazole*); 7.44 (s, 2H, *imidazole*); 7.32-6.96 (m, 14H, CH₂-Ph + 2 + 4); 6.51 (m, 2H, 1); 6.37 (m, 2H, 3); 5.45 (s, 4H, Ph-CH₂); 4.44 (t, 4H, CH₂-CH₂-NH-CO, ³J_{H-H} = 5.6 Hz); 3.86 (t, 4H, NH-CH₂-CH₂, ³J_{H-H} = 5.2 Hz).

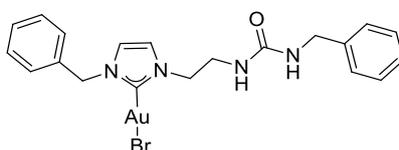
¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -113.3 (m, 1F, Ph-F).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 171.1 (s, 2C, C=Au); 162.4 (d, 2C, C_{ipso}Ph-F, ¹J_{C-F} = 238.8 Hz); 160.5 (s, 2C, CO); 143.5 (d, 2C, C_{ipso}Ph-NH, ³J_{C-F} = 11.8 Hz); 137.1 (s, 2C, C_{ipso}Ph-CH₂); 129.3 (d, 2C, 2, ³J_{C-F} = 10.7 Hz); 128.5 (s, 2C, C_{ortho}Ph); 127.4 (s, 2C, C_{para}Ph); 126.5 (s, 4C, C_{meta}Ph); 122.2 (s, 4C, *imidazole*); 112.9 (s, 4C, 1); 105.5 (d, 2C, 3, ²J_{C-F} = 20.9 Hz); 103.7 (d, 2C, 4, ²J_{C-F} = 26.3 Hz); 53.2 (s, 1C, Ph-CH₂-imidazole); 47.0 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂); 39.8 (s, 2C, NH-CH₂-CH₂).

Synthesis of compound 69

To a solution of compound **54** (83.0 mg, 0.2 mmol) and [AuCl(tht)] (64 mg, 0.2 mmol) were mixed in CH₂Cl₂ (10 ml) was added NBu₄(acac) (64 mg, 0.2 mmol) and the mixture stirred. 2h later, 6-thioguanine was added (33 mg, 0.2 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate was washed with H₂O (3 x 25 ml), dried over Na₂SO₄ and then concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml. Hexane (10 ml) was added to precipitate a white product which was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 73%



69

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 7.52-7.42 (m, 2H, *imidazole*); 7.35-7.22 (m, 10H, *CH₂-Ph*); 6.41 (t, 1H, *CO-NH-CH₂-Ph*, ³*J_{H-H}* = 6.1 Hz); 6.12 (t, 1H, *CH₂-CH₂-NH-CO*, ³*J_{H-H}* = 6.0 Hz); 5.35 (s, 2H, *Ph-CH₂-imidazole*); 4.18 (m, 4H, *CH₂-CH₂-NH-CO* + *CH₂-CH₂-NH-CO*); 3.48 (m, 2H, *CH₂-CH₂-NH-CO*).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 172.2 (s, 1C, *C=Au*); 157.8 (s, 1C, *CO*); 140.7 (s, 1C, *C_{ipsoPh}-CH₂-NH*); 136.6 (s, 1C, *C_{ipsoPh}-CH₂-imidazole*); 128.7-126.5 (m, 10C, *CH₂-Ph*); 122.2 (s, 1C, *imidazole*); 121.6 (s, 1C, *imidazole*); 53.7 (s, 1C, *Ph-CH₂-imidazole*); 50.9 (s, 1C, *NH-CH₂-CH₂*); 42.9 (s, 1C, *Ph-CH₂-NH-CO*); 39.8 (s, 1C, *NH-CH₂-CH₂*).

MS (ESI+ μ -TOF): *m/z* (%) = [M]⁺ Calcd for [C₂₀H₂₃AuBrN₄O] 611.2934. Found 633.0501 [C₂₀H₂₃AuBrN₄O + Na]⁺.

Capítulo 3:

SÍNTESIS DE NUEVAS
ESCUARAMIDAS CON COMPLEJOS
METÁLICOS DEL GRUPO 11.
ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES
CITOTÓXICAS Y GELIFICANTES

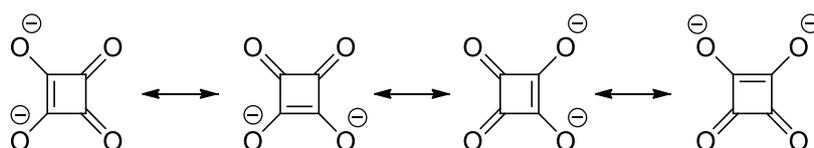
CAPÍTULO 3

3.1. Introducción	203
3.1.1. Síntesis de Escuaramidas	204
3.1.2. Una Nueva Vía de Investigación en Química Médica	207
3.1.3. Nuevas Aplicaciones en el Campo de la Química Biológica	208
3.1.4. Escuaramidas como Materiales	210
3.1.5. Escuaramidas como Catalizadores	211
3.2. Objetivos	213
3.3. Síntesis de Escuaramidas con Grupos CF ₃	214
3.3.1. Síntesis de Derivados de Plata con Escuaramidas	217
3.3.2. Síntesis de Derivados de Cobre con Escuaramidas	219
3.3.3. Síntesis de Derivados de Oro con Escuaramidas	221
3.3.4. Síntesis de Tiolatos de Oro con Escuaramidas	223
3.4. Actividad Biológica sobre Células TumORAles Humanas	224
3.4.1. Estudio de Actividad Citotóxica. Método MTT	224
3.4.2. Estudio de la Selectividad Citotóxica, Jurkat. vs Linfocitos	227
3.4.3. Estudio de Muerte Celular	233
3.5. Pruebas Catalíticas	235
3.5.1. Reacción de Mukaiyama	235
3.5.2. Reacción de Henry	237
3.6. Compuestos como Materiales Funcionales.	238
3.7. Conclusiones	248
3.8. Experimental	249

3.8.1. Starting Materials	249
3.8.2. Instrumentation	249
3.8.2.1. Mass Spectrometry	249
3.8.2.2. NMR Spectroscopy	249
3.8.2.4. UV-vis Studies	249
3.8.3. Cytotoxicity Studies	249
3.8.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay	250
3.8.3.2. Cell Death Studies	251
3.8.3.3. Study of Cytotoxic Selectivity, Jurkat. vs Lymphocytes	251
3.8.4. Distribution Coefficient (K_{ow})	252
3.8.5. Critical Gelation Concentration	252
3.8.6. Synthesis	253

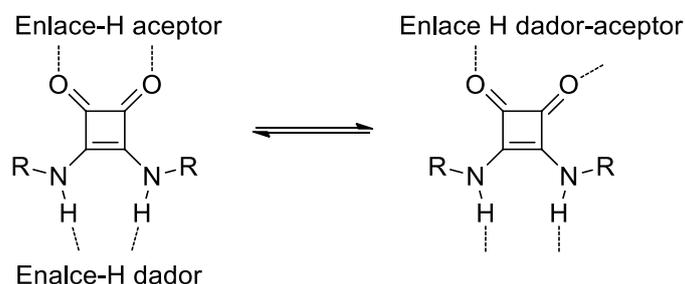
3.1. Introducción

Las escuaramidas son anillos de cuatro miembros formados a partir del ácido escuárico, capaces de formar hasta cuatro enlaces de hidrógeno diferentes. Esta tendencia a formar enlaces de hidrógeno aumenta conforme la aromaticidad del anillo es mayor.¹ El ácido escuárico tiene fórmula $C_4H_2O_4$ y es considerado un ácido oxocarbónico, es decir que tiene un anión oxocarbono como su base conjugada. El compuesto no es un cuadrado perfecto, debido a que sus enlaces C-C no tienen la misma longitud, pero sí lo es su dianión, debido a que la carga negativa está distribuida por igual en los cuatro átomos de oxígeno.² La formación del correspondiente dianión se caracteriza por la alta doble acidez, teniendo un $pK_{a1} = 0.54$ y $pK_{a2} = 3.84$.³ Esto lo convierte en uno de los pocos sistemas que puede acomodar la formación de una especie con una doble carga negativa. Cohen et al. atribuyen la acidez del dianión al hecho de que está estabilizado por resonancia,⁴ tal y como muestra el Esquema 3.1.



Esquema 3.1. Formas resonantes del dianión.

Se ha establecido en relación a la posibilidad de formar puentes de hidrógeno y, en el caso de las escuaramidas secundarias, la posibilidad de que éstas sean capaces de actuar como aceptores de protones, dadores o como un grupo dador-aceptor,⁵ como se aprecia en el Esquema 3.2.



Esquema 3.2. Comportamiento dador-aceptor de una escuaramida

¹ R. I. Storer, C. Aciroa, L. H. Jones, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 2330.

² R. West, D. L. Powell, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 2577.

³ L. M. Schwartz, L. O. Howard, *J. Phys. Chem.*, **1971**, 75, 1798.

⁴ S. Cohen, S. G. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88, 1533.

⁵ D. Quinonero, A. Frontera, P. Ballester, P. M. Deya, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 2001.

Se pueden apreciar evidentes similitudes entre amidas y escuaramidas, con la excepción de que éstas últimas son rígidas y planas, es decir, el anillo correspondiente a la ciclobutadiendiona contiene dos carbonilos coplanares y dos grupos NH que también son coplanares. Esta disposición se estabiliza por los nitrógenos que tienen una hibridación sp^2 , haciendo que los pares de electrones solitarios estén disponibles para la conjugación del orbital p del nitrógeno en el sistema p ortogonal al plano.

Además, se han reconocido como bioisósteres de ureas.⁶ En química médica, los bioisósteres son sustituyentes químicos o grupos con propiedades físicas o químicas similares que producen propiedades biológicas ampliamente similares a otro compuesto químico. El propósito de utilizar un bioisótero por otro es intentar mejorar las propiedades físicas y biológicas del compuesto deseado, sin realizar cambios significativos en la estructura química. Es decir, sintetizar compuestos que presenten una actividad biológica similar, pero reduciendo su toxicidad o aumentando la biodisponibilidad de estos compuestos.

De esta manera se están sintetizando nuevas escuaramidas que tengan propiedades atractivas para diferentes áreas de investigación, no solo como organocatalizadores, sino también su uso en biomedicina,¹ o como materiales funcionales.⁷

3.1.1. Síntesis de Escuaramidas

Se podrían diferenciar tres métodos para la síntesis de escuaramidas sustituidas, en las cuales las condiciones de reacción suelen ser relativamente suaves o incluso en condiciones acuosas, haciendo que estos compuestos puedan ser óptimos para bioconjugación o química supramolecular.

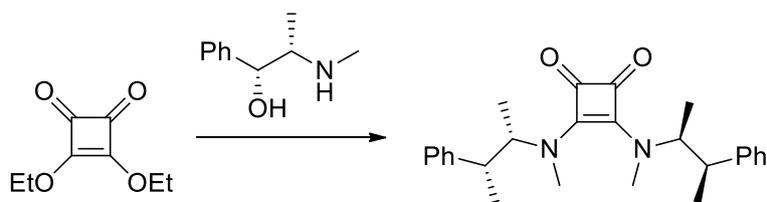
La primera síntesis que se propone es mediante la condensación de aminas alifáticas. En este método los sustratos más usados son derivados de dihidroxiciclobutendiona⁸ o derivados dicloruro.⁹ La reacción con estos sustratos reacciona con un exceso de amina primaria o secundaria para generar la correspondiente escuaramida simétrica. En estas reacciones normalmente se obtienen altos rendimientos y en condiciones suaves como muestra el Esquema 3.3.

⁶ J. R. Merritt, L. L. Rokosz, H. N. Kingsley, B. Kaiser, W. Wang, T. M. Stauffer, L. E. Ozgur, A. Schilling, G. Li, J. J. Baldwin, A. G. Taveras, M. P. Dwyer, J. P. Chao, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 4107.

⁷ Y. Ohseido, M. Miyamoto, A. Tanaka, H. Watanabe, *New J. Chem.*, **2013**, *37*, 2874.

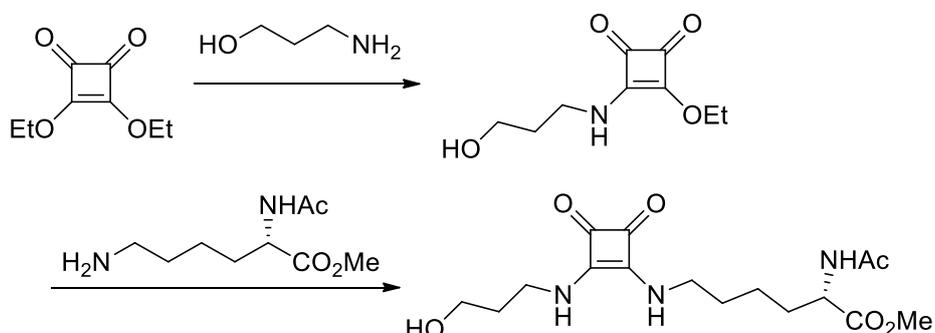
⁸ A. H. Schmidt, *Synthesis*, **1980**, 961.

⁹ E. W. Neuse, B. R. Green, *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 3881.



Esquema 3.3. Síntesis de escuaramidas simétricas a través de una condensación de aminas alifáticas.

La síntesis de escuaramidas asimétricas utilizando este método consistiría en la adición primero de una de las aminas (primaria o secundaria) que se desea introducir para conseguir la formación de un semiescuarato y, posteriormente, la adición de la segunda amina para dar lugar al compuesto deseado.¹⁰ Estas reacciones también se suelen hacer en condiciones suaves donde el disolvente suele ser etanol o diclorometano, Esquema 3.4.

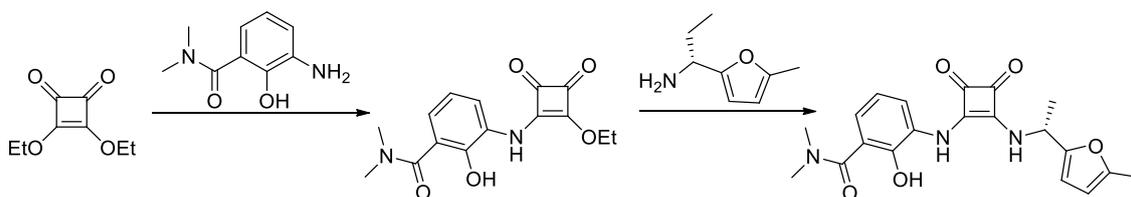


Esquema 3.4. Síntesis de escuaramidas asimétricas a través de una condensación de aminas alifáticas.

Sorprendentemente la reacción de monosustitución es fácilmente controlable, debido a que la semiescuaramida que se ha formado no sigue reaccionando para dar el compuesto simétrico. La baja reactividad del semiescuarato en comparación con el dietoxiescuarato puede explicarse debido al incremento de desestabilidad del anillo aromático. No obstante, la reacción podría darse si se añadiera más amina en el mismo paso. Esta síntesis ha sido utilizada para la preparación de una gran variedad de escuaramidas asimétricas, pero, en especial, aquellas que poseen una parte aromática y otra alifática, donde se obtienen rendimientos incluso superiores al 90% (Esquema 3.5). Los derivados de anilina se hacen reaccionar con dietilesquarato a temperatura ambiente para dar el monoescuarato y, posteriormente, la amina alifática que es más reactiva se

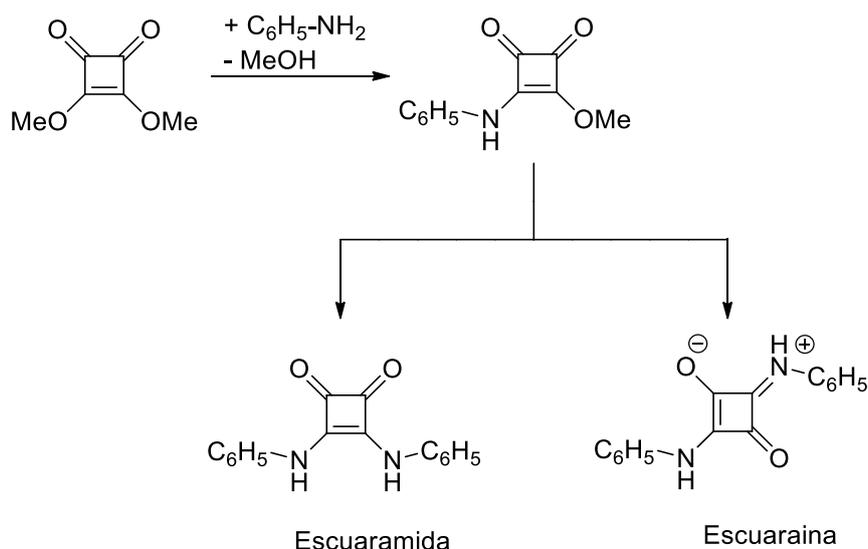
¹⁰ L. F. Tietze, M. Arlt, M. Beller, K. H. Gluesenkamp, E. Jaehde, M. F. Rajewsky, *Chem. Ber.*, **1991**, *124*, 1215.

adiciona en segundo lugar, las escuaramidas de este tipo han sido utilizadas para el tratamiento de varias enfermedades inflamatorias.¹¹



Esquema 3.5. Síntesis de una escuaramida para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Otra posible síntesis de escuaramidas es a través de una condensación de una amina aromática, Esquema 3.6. Sin embargo, el problema de estas reacciones es que se puede obtener otro intermedio de reacción “escuaraina”, dependiendo de cómo se produzca la adición de la segunda amina a la semiescuaramida formada previamente, es decir, una adición 1,4 para dar lugar a la bis-escuaramida o una adición 1,2 dando lugar a la correspondiente escuaraina.⁸



Esquema 3.6. Reacción secundaria en la síntesis de escuaramidas por condensación aromática.

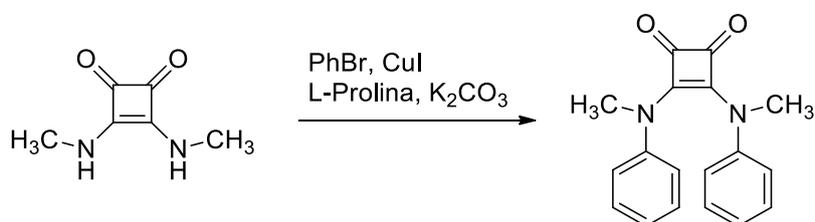
Sin embargo, se han desarrollado métodos para mejorar la síntesis hacia la obtención de la escuaramida y minimizar la formación de la escuaraina. Uno de ellos es utilizar como precursor un compuesto más reactivo como el dicloruro del ácido escuárico, en lugar de un éster escuárico.

¹¹ M. P. Dwyer, Y. Yu, J. Chao, C. Aki, J. Chao, P. Biju, V. Girjavallabhan, D. Rindgen, R. Bond, R. Mayer-Ezel, J. Jakway, R. W. Hipkin, J. Fossetta, W. Gonsiorek, H. Bian, X. Fan, C. Terminelli, J. Fine, D. Lundell, J. R. Merritt, L. L. Rokosz, B. Kaiser, G. Li, W. Wang, T. Stauffer, L. Ozgur, J. Baldwin, A. G. Taveras, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 7603.

Recientemente, se ha desarrollado un método para la síntesis directa a través del éster escuárico, para la formación de bis-escuaramidas aromáticas, sin que se forme el isómero escuaraina y con altos rendimientos. Se demostró que los ácidos de Lewis podían catalizar la reacción de adición de anilinas y 2-piridilaminas al escuarato de dietilo y en condiciones suaves, eliminando la formación de escuaraina.¹²

Para la síntesis de escuaramidas no simétricas, la adición de la primera amina es muy importante debido a que una conversión incompleta de los reactivos iniciales llevaría a cabo una disminución en el rendimiento final de la reacción. Por otro lado, si no reacciona completamente se podrían producir mezclas al añadir la segunda amina. Además, la elección del disolvente también es de vital importancia en estas reacciones, debido a que disolventes no polares como tolueno, mostraron que no había reacción.¹³ Esto también fue observado por *Luk et al*, quienes demostraron que la adición de la segunda amina en la síntesis de escuaramidas era más rápida cuando se emplearon disolventes polares próticos.¹⁴

La última síntesis sería un *cross-coupling* de escuaramidas, es decir, partir de una ya sintetizada para dar lugar a un nuevo compuesto utilizando un catalizador de cobre(I) (Esquema 3.7).¹⁵



Esquema 3.7. Síntesis de una escuaramida por *cross-coupling*.

3.1.2. Una Nueva Vía de Investigación en Química Médica

El interés de estos compuestos en el campo de la química médica ha sido bastante reciente. Uno de los motivos por los que se han empezado a utilizar es debido a que los compuestos bis-escuaramidas son bastante estables frente al ataque nucleofílico y eso hace que desplazar las aminas sea muy difícil, haciendo que sean viables para el diseño de medicamentos. Además, a priori deberían ser estables en el suero sanguíneo.¹

¹² A. Rostami, A. Colin, X. Y. Li, M. G. Chudzinski, A. J. Lough, M. S. Taylor, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, 3983.

¹³ J. V. Alegre-Requena, E. Marques-López, R.P. Herrera, *RSC Adv.*, **2015**, 5, 33450.

¹⁴ P. Sejwal, Y. Han, A. Shah and Y.-Y. Luk, *Org. Lett.*, **2007**, 9, 4897.

¹⁵ V. Ramalingam, N. Bhagirath and R. S. Muthyala, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 3976.

Como se ha comentado anteriormente, estos compuestos se pueden utilizar como bioisosteres de diferentes compuestos como ureas, guaninas, cianoguaninas, α -aminoácidos y grupos fosfatos, debido a que son capaces de reemplazar a todos estos grupos funcionales dada su capacidad de formar enlaces de hidrógeno. Las escuaramidas se están investigando para un amplio rango de dianas biológicas, incluyendo quinasas, metaloproteasas, receptores GPCR o canales de iones para el tratamiento de un amplio espectro de enfermedades.¹

Aunque la investigación con estos compuestos de bisescuaramidas está empezando, sí que algunos de ellos han progresado hasta fase clínica, como son, por ejemplo, BMY-25368 que está en fase III y SCH-527123, en fase II.¹ El primero de ellos se utiliza para el tratamiento de úlceras y el segundo como un inhibidor de los receptores CXCR1/2 de quimiocinas que son esenciales para la activación y el tráfico de mediadores inflamatorios, así como la progresión tumoral y metástasis, Figura 3.1.

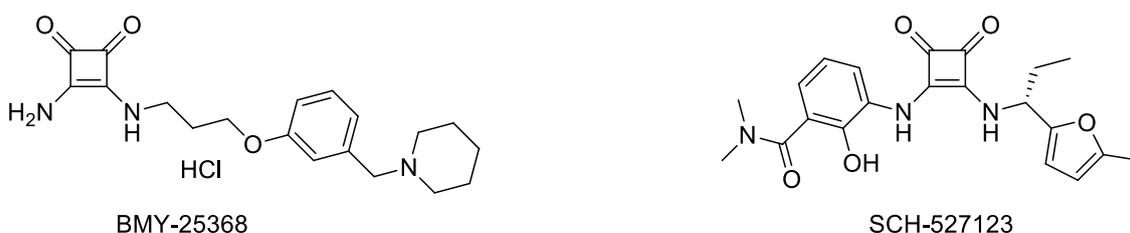


Figura 3.1. Escuaramidas que han pasado a Fase III y Fase II de estudios clínicos, respectivamente.

3.1.3. Nuevas Aplicaciones en el Campo de la Química Biológica

En este campo se pueden destacar a los compuestos escuaramidas en bioconjugación, como receptores de iones o como compuestos que inducen inmunización.

La bioconjugación lo que busca es encontrar nuevas combinaciones con biomoléculas, las cuales puedan modificarse a través de su unión con moléculas pequeñas, polímeros u otras biomoléculas, ya sea para ampliar las propiedades que tienen intrínsecas, así como para intentar evitar posibles reacciones secundarias. Las escuaramidas se han utilizado ampliamente en la formación de conjugados de glucoproteínas y glucopéptidos¹⁶ y, más recientemente, en la síntesis de compuestos que unen carbohidratos con oligonucleótidos a través de una escuaramida que actúa como linker.¹⁷ (Figura 3.2).

¹⁶ R. M. Owen, C. B. Carlson, J. Xu, P. Mowery, E. Fasella, L. L. Kiessling, *ChemBioChem*, **2007**, *8*, 68.

¹⁷ H. Yan, A. L. Aguilar, Y. Zhao, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 6535.

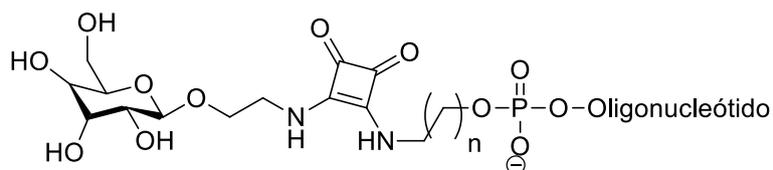


Figura 3.2. Escuaramida que actúa como linker.

Debido a la capacidad que tienen estos compuestos de formar enlaces de hidrógeno, se empezaron a utilizar en la preparación de varios receptores sintéticos que pudieran obtener aplicaciones en el campo de la química supramolecular (Figura 3.3). Así, se puede destacar el potencial de estos compuestos como receptores, tanto para reconocer como para regular selectivamente iones biológicamente relevantes.^{18,19,20}

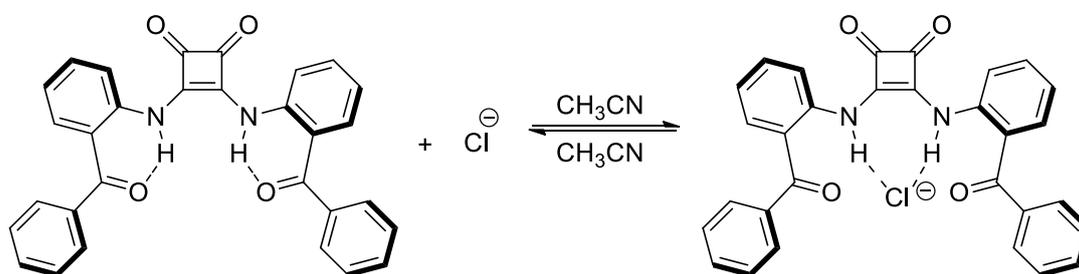


Figura 3.3. Escuaramida que capta iones selectivamente (Cl^-).

Se han desarrollado compuestos con escuaramidas que pueden utilizarse como haptenos (Figura 3.4). Un hapteno es una sustancia química de pequeño peso molecular (menos de 10.000 daltons) que no induce por sí misma la formación de anticuerpos, pero al unirse a una proteína transportadora como la albúmina estimula una respuesta inmunitaria.²¹

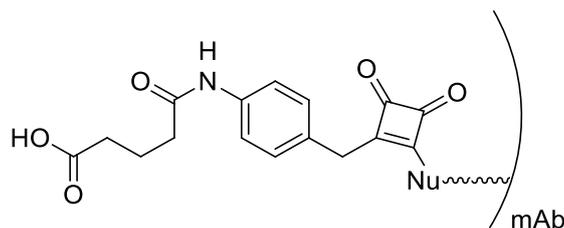


Figura 3.4. Escuaramida que se utiliza como hapteno.

¹⁸ G. Ambrosi, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, A. Guerri, M. Micheloni, P. Paoli, R. Pontellini, P. Rossi, *Chem.-Eur. J.*, **2007**, *13*, 702.

¹⁹ A. Frontera, M. Orell, C. Garau, D. Quinonero, E. Molins, I. Mata, J. Morey, *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 1437.

²⁰ V. Ramalingam, M. E. Domaradzki, S. Jang, R. S. Muthyala, *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 3315.

²¹ Y. Xu, N. Yamamoto, D. I. Ruiz, D. S. Kubitz, K. D. Janda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 4304.

3.1.4. Escuaramidas como Materiales

A diferencia de los geles químicos,²² que se basan en enlaces covalentes, los geles físicos se hacen típicamente con moléculas de bajo peso molecular autoensamblados a través de interacciones no covalentes (enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, transferencia de carga dipolo – dipolo, apilamiento y formación de interacciones $\pi - \pi$), que generalmente proporcionan transiciones reversibles gel-solución como respuesta a estímulos externos.²³

La apariencia sólida del gel y sus propiedades reológicas son resultado de la inmovilización del componente mayoritario (el líquido) dentro de las redes formadas por la matriz sólida (compuesto minoritario) a través de las fuerzas de capilaridad.^{23,24} La formación de la red 3D con numerosos puntos de unión^{25,26} es consecuencia del entrecruzamiento de las hebras poliméricas monodimensionales de las moléculas del gel.^{27,28}

Debido a sus propiedades tanto físicas como químicas, estos compuestos con capacidad para formar geles se han empezado a estudiar en la fabricación de sensores,²⁹ cristales líquidos,³⁰ compuestos con capacidad para conducir la electricidad,³¹ plantillas para el crecimiento de células y estructuras inorgánicas,³² catálisis química,³³ o en la industria cosmética y alimentaria.³⁴

²² S.-K. Ahn, R. M. Kasi, S.-C. Kim, N. Sharma, Y. Zhou, *Soft Matter*, **2008**, *4*, 1151.

²³ F. Ilmain, T. Tanaka, E. Kokufuta, *Nature*, **1991**, *349*, 400.

²⁴ X. Huang, P. Terech, S. R. Raghavan, R. G. Weiss, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 4336.

²⁵ J. H. Shin, M. L. Gardel, L. Mahadeva, P. Matsudaira, D. A. Weitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2004**, *101*, 9636.

²⁶ P. Terech, I. Furman, R. G. Weiss, *J. Phys. Chem.*, **1995**, *99*, 9558.

²⁷ H. Ihara, M. Takafuji, T. Sakurai, in *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, ed. H. S. Nalwa, *American Scientific, California, CA*, **2004**, *9*, 473.

²⁸ *Low Molecular Mass Gelators*, ed. F. Fages, *Top. Curr. Chem.*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, vol. 256, 2005.

²⁹ S. Li, V. T. John, G. C. Irvin, S. H. Bachakonda, G. L. McPherson, C. J. O'Connor, *J. Appl. Phys.*, **1999**, *85*, 5965

³⁰ T. Kato, *Science*, **2002**, *295*, 2414

³¹ J. Puigmarti-Luis, V. Laukhin, A. P. del Pino, J. VidalGancedo, C. Rovira, E. Laukhina, D. B. Amabilino, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, *46*, 238.

³² C. Sanchez, M. Llusar, *Chem. Mater.*, **2008**, *20*, 782.

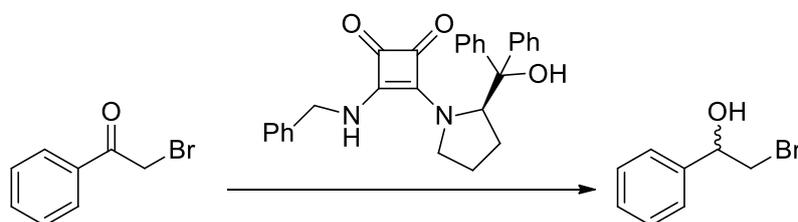
³³ D. D. Díaz, D. Kühbeck, R. J. Koopmans, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 427.

³⁴ D. J. Abdallah, R. G. Weiss, *Adv. Mater.*, **2000**, *12*, 1237.

3.1.5. Escuaramidas como Catalizadores

La capacidad de las escuaramidas para ser buenos catalizadores asimétricos radica en la facilidad de sustitución del sistema formado por el ácido escuárico. Además, la rigidez del anillo de 4 miembros proporciona un entorno quiral bien definido para la inducción asimétrica.

Se ha conseguido la reducción asimétrica de carbonilos a alcoholes secundarios enantioméricamente puros utilizando escuaramidas como organocatalizadores. (Esquema 3.8.).³⁵



Esquema 3.8. Reducción asimétrica de carbonilos.

El uso de escuaramidas como organocatalizadores se basa en su capacidad de formar enlaces de hidrógeno con otras moléculas para activarlas. En este campo, los organocatalizadores utilizados eran derivados de ureas o tioureas quirales, donde formaban enlaces de hidrógeno con grupos electrófilos y podían catalizar reacciones con otros grupos nucleófilos.³⁶ Debido a la similitud entre escuaramidas y tioureas si nos fijamos en la capacidad de formar enlaces de hidrógeno, se empezaron a utilizar con ese fin.³⁷

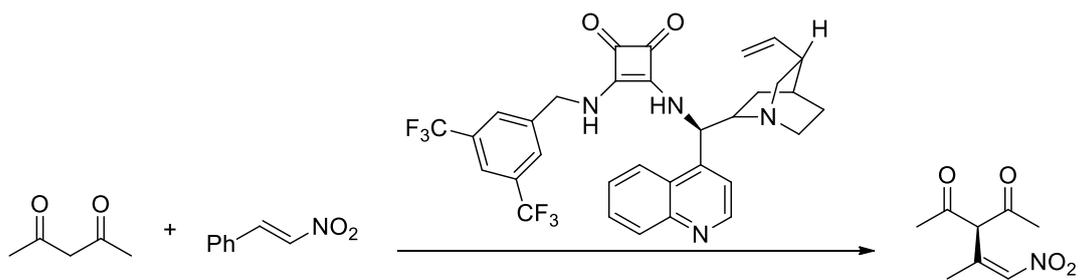
La rigidez del anillo en la escuaramida proporciona un centro quiral bien definido, tal como se ha mencionado anteriormente. Esto hizo que la enantioselectividad lograda en estas reacciones se mejorara. Además, posiblemente debido al aumento de la fuerza del enlace de hidrógeno en los estados de transición, las reacciones son generalmente más rápidas, si se compara con los organocatalizadores de tiourea.³⁸

³⁵ H.-B. Zhou, J. Zhang, S.-M. Lu, R.-G. Xie, Z.-Y. Zhou, M. C. K. Choi, A. S. C. Chan, T.-K. Yang, *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 9325.

³⁶ T. Okino, Y. Hoashi and Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 12672.

³⁷ J. P. Malerich, K. Hagihara, V. H. Rawal, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 14416.

³⁸ Y. Zhu, J. P. Malerich, V. H. Rawal, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2010**, *49*, 153.



Esquema 3.9. Transformaciones catalizadas por escuaramidas.

3.2. Objetivos

En este capítulo los objetivos marcados se centran en la síntesis de diferentes escuaramidas que contengan grupos CF_3 en su estructura. Se ha planteado la introducción de estos fragmentos debido al auge de estos grupos en el campo de la química médica, y también a que son grupos atractores de electrones y presentan una gran utilidad en el diseño de organocatalizadores que actúan por puentes de hidrogeno, ya que confieren una mayor acidez a los protones de la molécula y, por consiguiente, una mayor actividad. Además, se pretende estudiar la coordinación a metales del grupo 11 y sus propiedades biológicas, con la intención de aportar nuevas características a estos nuevos profármacos. A partir de estos complejos sintetizados se pueden modular sus propiedades por medio de la modificación de los ligandos coordinados. Algunas de estas propiedades podrían ser, aumentar la solubilidad, mejorar su actividad citotóxica o mejorar su estabilidad una vez dentro de las células.

Por otro lado, debido a la propiedad que tienen estas moléculas de formar puentes de hidrógeno, se probaron como organocatalizadores en diversas reacciones catalíticas (Mukaiyama y Henry).

Estos puentes de hidrógeno, junto con la elección de un buen disolvente podrían dar lugar a la formación de un nuevo sistema de agregado en las moléculas (gelificación) y su estudio puede dar lugar a compuestos muy interesantes como alcogeles o sistemas de captación de disolventes orgánicos.

De esta manera, los objetivos concretos que nos hemos marcado son los siguientes:

- Síntesis de diferentes escuaramidas asimétricas con doble funcionalidad, un grupo fosfina y un resto arilo con sustituyentes CF_3 .
- Estudio de la coordinación de estos ligandos a complejos de oro.
- Estudio de sus propiedades biológicas.
- Estudio de sus propiedades catalíticas.
- Estudio de sus propiedades gelificantes.

3.3. Síntesis de Escuaramidas con Grupos CF₃

Se buscó la síntesis de diferentes escuaramidas que tuvieran en su estructura grupos CF₃, debido a que se ha demostrado que el flúor juega un papel importante en medicina. Esto queda en evidencia viendo el número de compuestos fluorados que han sido aprobados por la FDA para usos médicos y en la agricultura.³⁹ Reemplazar un grupo C-H o C-O por un grupo C-F podría mejorar las propiedades farmacológicas de las moléculas. Aumenta la estabilidad metabólica de los compuestos, debido a que reduce la posibilidad de que se produzca una oxidación metabólica originada por enzimas del hígado y en concreto del citocromo P450, (Figura 3.5)⁴⁰ incrementa la unión con moléculas diana⁴¹ y mejora la permeabilidad a través de la membrana, debido a que reduce la basicidad de los complejos, mejorando su biodisponibilidad.⁴² Su pequeño radio atómico, alta electronegatividad, su spin nuclear de ½ y la baja polarizabilidad del enlace C-F hace que los compuestos fluorados tengan unas propiedades atractivas para la química medicinal y biológica.⁴³

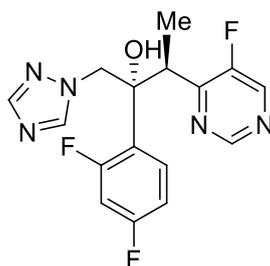


Figura 3.5. Voriconazol, presenta actividad antifúngica por inhibición de enzimas dependiente de P450.

Así, el primer compuesto con grupos CF₃ que se vio que tenía propiedades biológicas data de 1928.⁴⁴ A partir de entonces, se investigó cómo añadir estos grupos a las

³⁹ a) I. Ojima, *Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology*, Wiley-Blackwell, Chichester, 2009. b) K. Muller, C. Faeh, F. Diederich, *Science*, **2007**, *317*, 1881. c) J.-P. Begue, D. Bonnet-Delpon, *J. Fluor. Chem.*, **2006**, *127*, 992. d) C. Isanbor, D. O'Hagan, *J. Fluor. Chem.*, **2006**, *127*, 303. e) J. Wang, M. Sánchez-Roselló, J. L. Aceña, C. del Pozo, A. E. Sorochinsky, S. Fustero, V. A. Soloshonok, H. Liu, *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 2432.

⁴⁰ a) D. H. Smith, H. van de Waterbeemd, D. K. Walker, *Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design, Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, Vol. 13, Wiley-VCH, Weinheim, 2001. b) W. E. Barnette, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, **1984**, *15*, 201. c) M. van Heek, C. F. France, D. S. Compton, R. L. McLeod, N. P. Yumibe, K. B. Alton, E. J. Sybertz, H. R. Davies, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **1997**, *283*, 157. d) J. W. Clader, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 1.

⁴¹ C. Swain, N. M. J. Rupniak, *Ann. Rep. Med. Chem.* **1999**, *34*, 51.

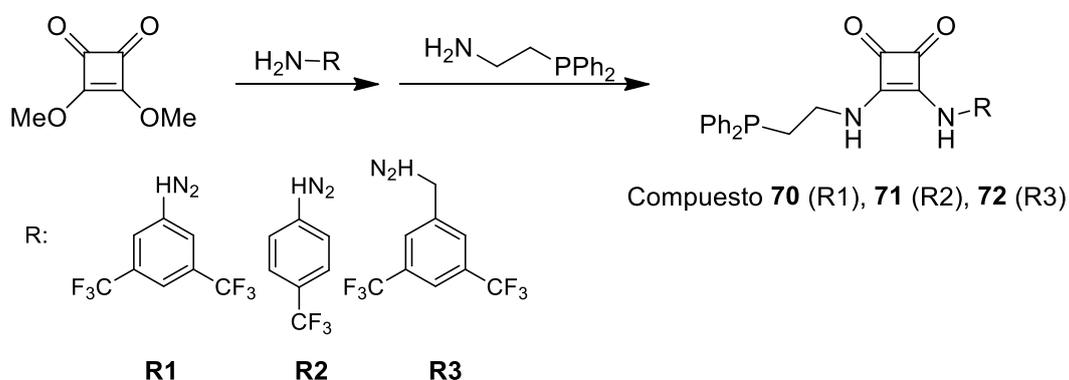
⁴² a) K.L. Kirk, *J. Fluorine Chem.*, **2006**, *127*, 1013. b) T. Yamazaki, T. Taguchi, I. Ojima, I. Ojima (Ed.), *Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology*, Wiley-Blackwell, Chichester, 2009, pp. 3–46.

⁴³ K. Haranahalli, T. Honda, I. Ojima, *J. Fluor. Chem.*, **2019**, *217*, 29.

⁴⁴ F. Lehmann, *Arch. Exptl. Path. Pharmacol.*, **1928**, *130*, 250.

moléculas debido a que ayudan a penetrar a través de la barrera hematoencefálica, lo que favorece al transporte de las moléculas.⁴⁵

El otro sustituyente de la escuaramida debe ser un grupo funcional capaz de poder tener algún tipo de coordinación con metales del grupo 11, oro, plata y cobre, que mejoren las propiedades biológicas de los complejos sintetizados. La síntesis de estas nuevas escuaramidas se hizo one-pot, utilizando metanol como disolvente.¹³ En el primer paso de la reacción se introduce el derivado de anilina que contiene los grupos CF₃ en su estructura. El segundo paso es la introducción de un derivado fosfina donde se pueda coordinar el metal posteriormente, como se observa en el siguiente esquema:



Esquema 3.10. Síntesis de los compuestos **70**, **71** y **72**.

Los compuestos se caracterizaron mediante técnicas de espectroscopia de RMN. Normalmente se pueden diferenciar los protones aromáticos correspondientes a los grupos fenilos del grupo difenilfosfino, que quedan englobados junto con los protones de la anilina, que se muestran como dos singletes que integran por uno y dos protones respectivamente para los compuestos **70** y **72**. En el caso del complejo **71**, aparecen dos señales que integran por dos protones cada una, debido a que el grupo CF₃ en este caso está en posición *para*, mientras que en los compuestos anteriores ocupan las posiciones *meta* del anillo aromático. Los grupos metilenos se pueden diferenciar debido a su desplazamiento químico y al espectro COSY, el más desapantallado es grupo metileno que está unido al NH, ya que se correlaciona con este, y aparece como un multiplete por acoplamiento con el otro grupo CH₂ y con el NH. El otro grupo metileno unido al átomo de fósforo aparece como un aparente triplete por acoplamiento a éste y a los protones del otro grupo metileno.

⁴⁵ F. Ye, F. Berger, H. Jia, J. Ford, A. Wortman, J. Börgel, C. Genicot, T. Ritter, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58, 14615.

Como ejemplo, se muestra el espectro de ^1H RMN del compuesto **72** donde se puede apreciar otra señal correspondiente al tercer metileno que está presente en la molécula y que corresponde a otro doblete por acoplamiento con el protón de la amina, como se representa en la Figura 3.6.

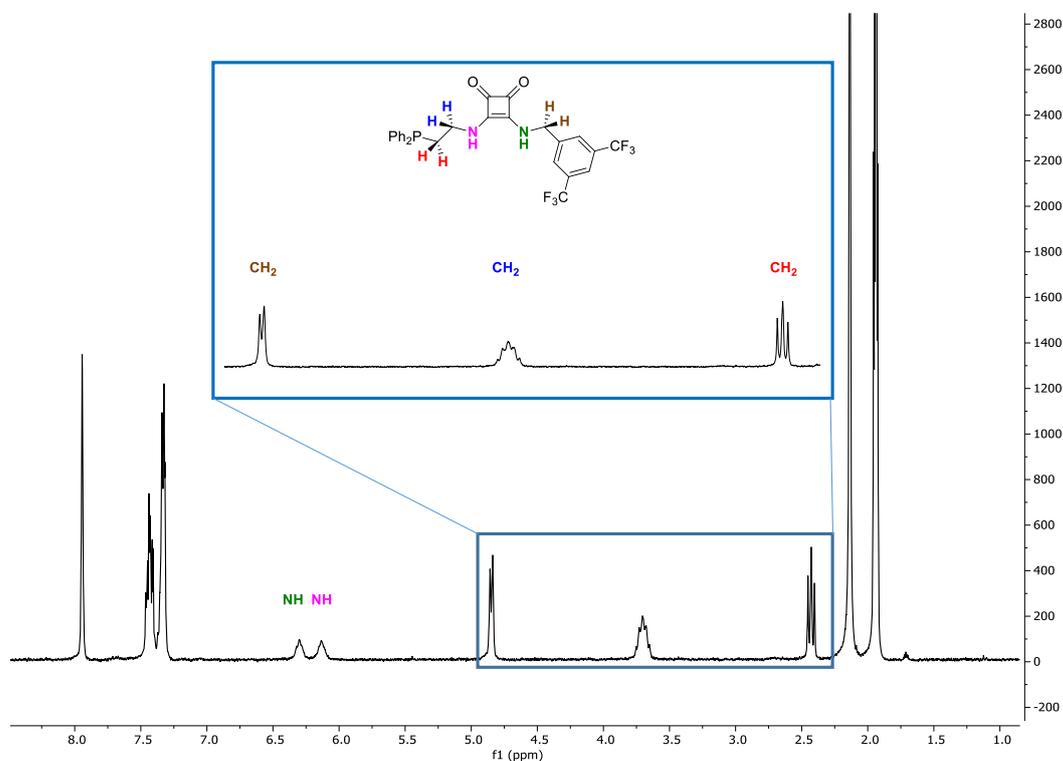


Figura 3.6. Espectro ^1H RMN del compuesto **72**.

En el espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN se observa una única señal que corresponde con el grupo difenilfosfino alrededor de -22 ppm (Figura 3.7).

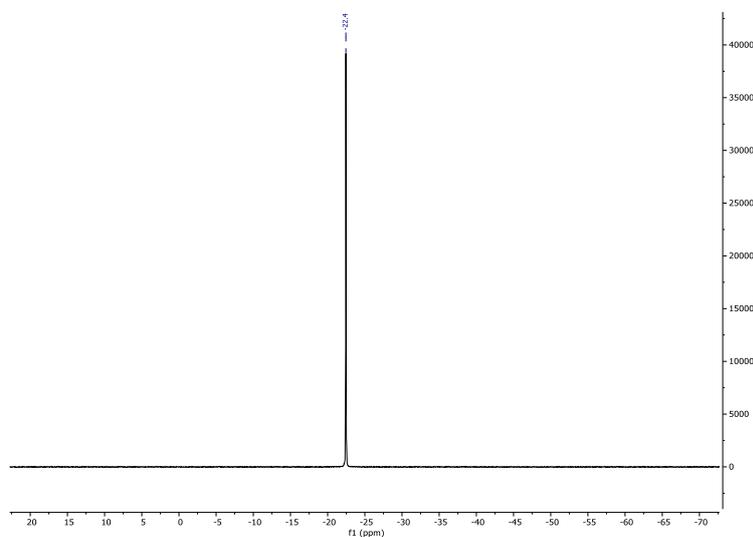
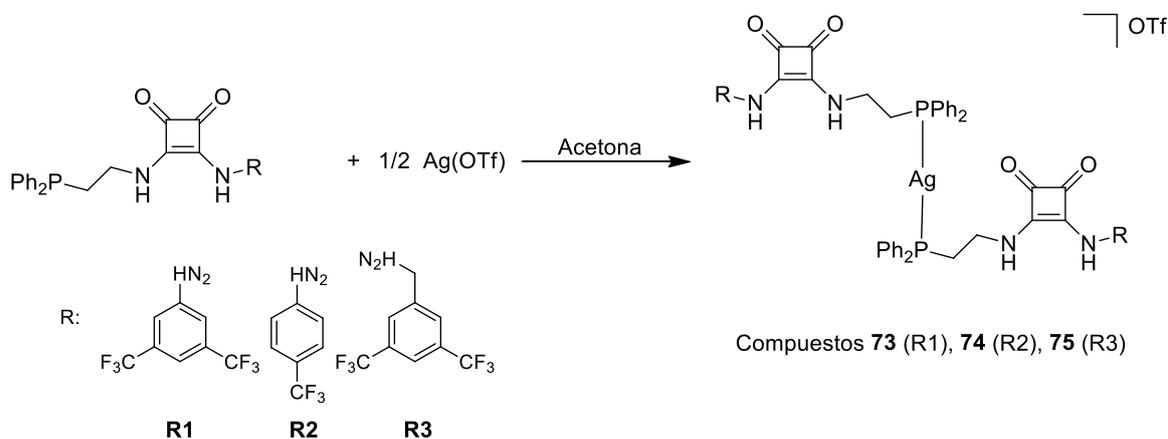


Figura 3.7. Espectro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN del compuesto **72**.

3.3.1. Síntesis de Derivados de Plata con Escuaramidas

La reacción de los compuestos **70**, **71** y **72** con el derivado de plata Ag(OTf), con una estequiometría 2:1, lleva a la obtención de los complejos catiónicos **73**, **74** y **75** teniendo como contraión el derivado triflato (Esquema 3.11).



Esquema 3.11. Síntesis de los complejos **73**, **74** y **75**.

Se sintetizaron los complejos de plata incorporando dos grupos escuaramidas con la intención de que hubiera dos moléculas del ligando que pudieran dar interacciones por puentes de hidrógeno. El átomo de plata en este caso serviría como unión entre los dos compuestos orgánicos.

Los compuestos se caracterizaron por técnicas espectroscópicas de ¹H RMN, ³¹P{¹H} RMN y ¹⁹F{¹H} RMN, y espectrometría de masas de alta resolución ESI+ (μ-TOF).

En el espectro de ¹H (Figura 3.8), se puede observar cómo los grupos metileno de los complejos metálicos sufren un desplazamiento a bajo campo al coordinarse el átomo de plata. Ambos dos aparecen ahora como multipletes debido a la presencia del átomo metálico.

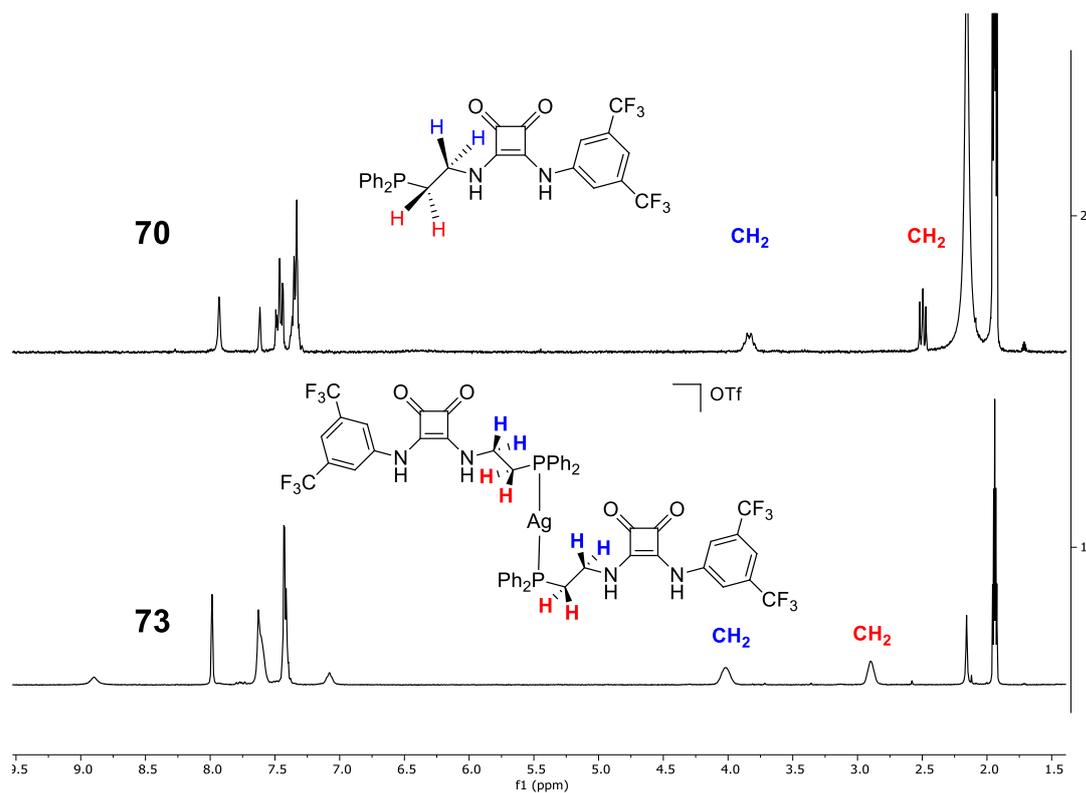


Figura 3.8. Comparación entre el compuesto **70** y su derivado metálico **73**.

En el espectro de ^{31}P RMN se observa una señal mucho más ancha y más desapantallada en torno a cero ppm, tal como se puede observar en la figura 3.9 comparando al complejo **73** y el compuesto de partida **70**. La señal aparece como un doblete ancho debido al acoplamiento de los átomos de fósforo equivalentes con los dos isótopos de plata ^{109}Ag y ^{107}Ag .

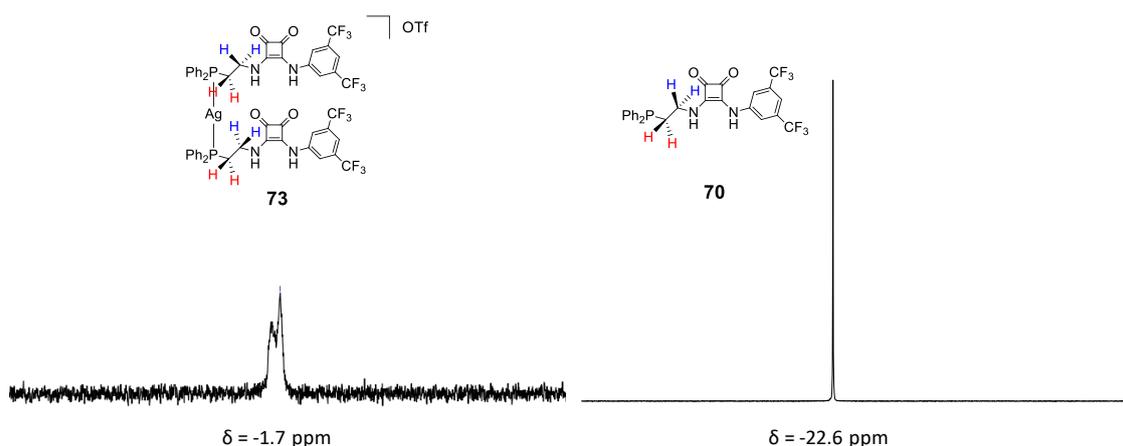
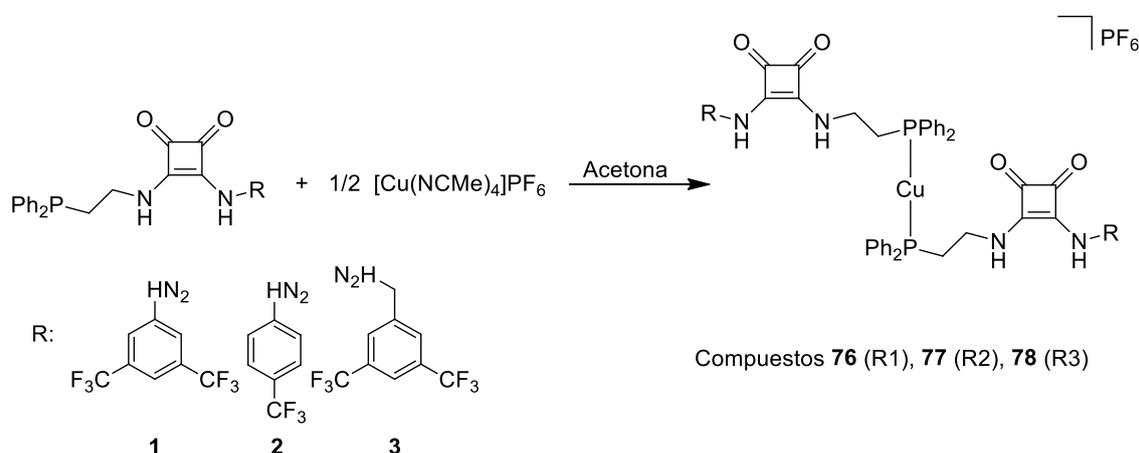


Figura 3.9. Comparación del espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN entre el compuesto **70** y su derivado metálico **73**.

3.3.2. Síntesis de Derivados de Cobre con Escuaramidas

La reacción de los ligandos **70**, **71** y **72** con el derivado de cobre [Cu(NCMe)₄]PF₆, en una estequiometría 2:1, lleva a la obtención de los complejos catiónicos **76**, **77** y **78** teniendo como contraión el derivado hexafluorofosfato (Esquema 3.12).



Esquema 3.12. Síntesis de los complejos **76**, **77** y **78**.

Los compuestos se caracterizaron por técnicas espectroscópicas de ¹H RMN, ³¹P{¹H} RMN y ¹⁹F{¹H} RMN y espectrometría de masas de alta resolución ESI+ (μ-TOF).

En el espectro de ¹H (Figura 3.10) se puede observar cómo los grupos metílenos de los complejos metálicos no sufren un desplazamiento significativo, como los que se podían observar cuando el átomo metálico era plata, quizás debido a una unión más débil con el centro metálico. Por otro lado, ambas señales aparecen ahora como multipletes, como ocurría con la plata, lo que podría indicar que el complejo se ha formado.

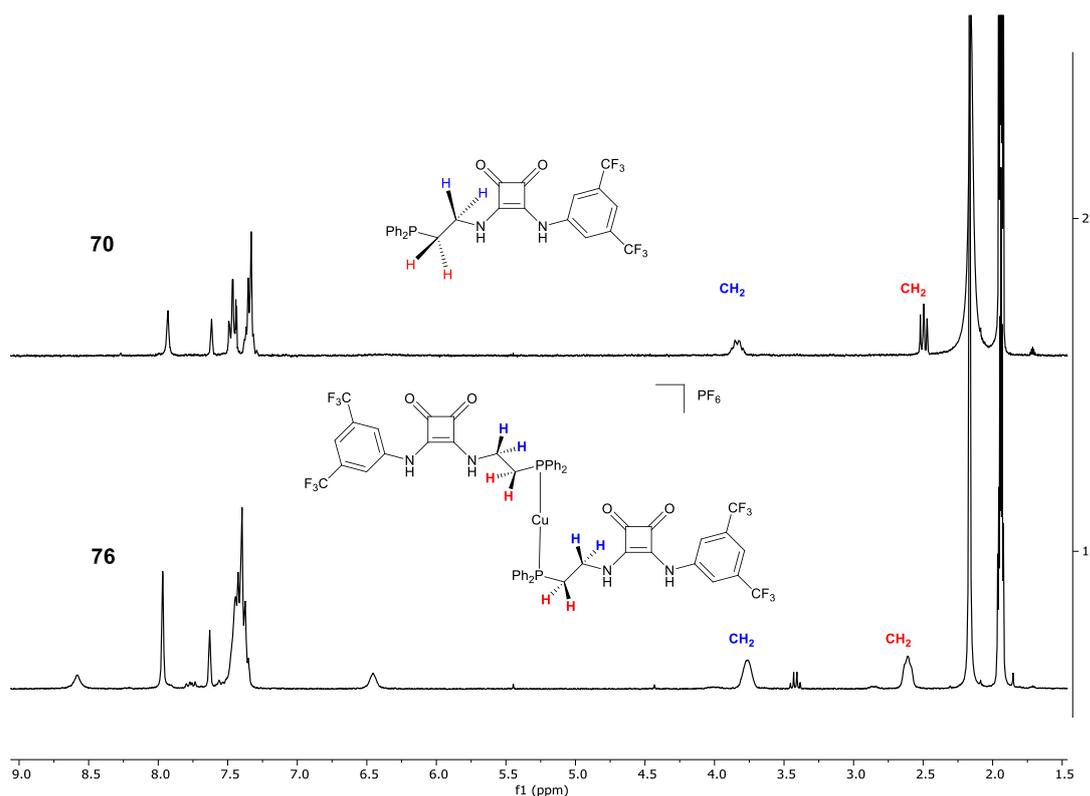


Figura 3.10. Comparación entre el compuesto **70** y su derivado metálico **76**.

En el espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN se puede observar un ligero desplazamiento a bajo campo de la señal correspondiente al grupo difosfino, lo que también parece indicar una coordinación débil del centro metálico.

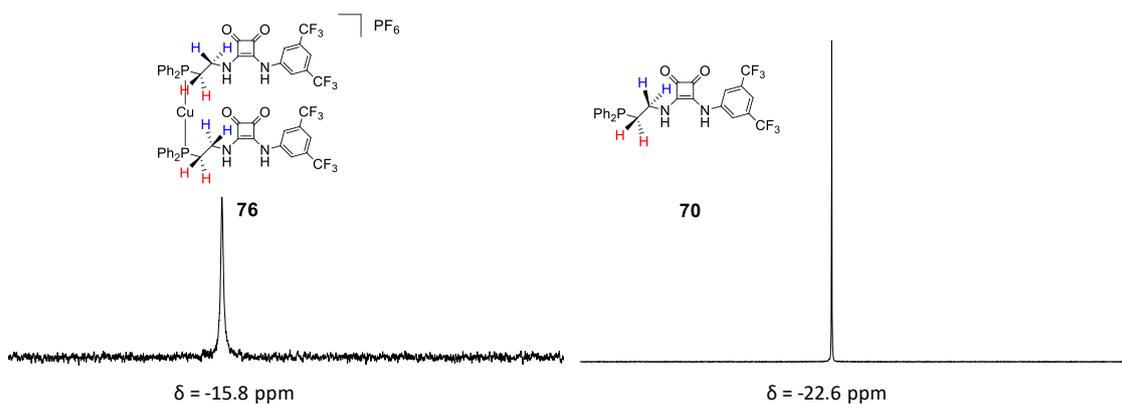


Figura 3.11. Comparación de los espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN entre el compuesto **70** y su derivado metálico **76**.

En el espectro del flúor de la figura 3.12 se puede apreciar las señales de los grupos CF_3 y un doblete para el grupo PF_6 , debido al acoplamiento entre los átomos de flúor y fósforo.

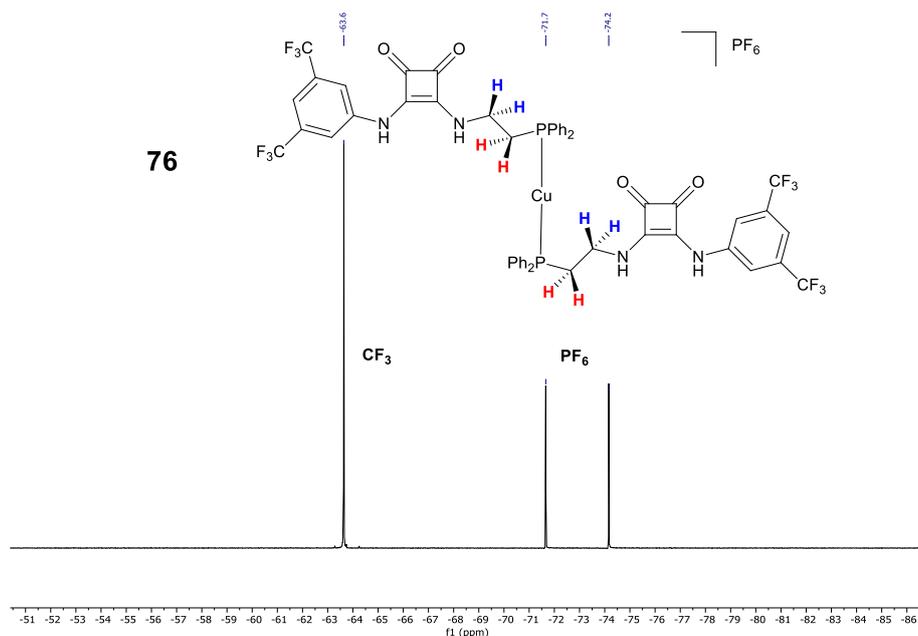
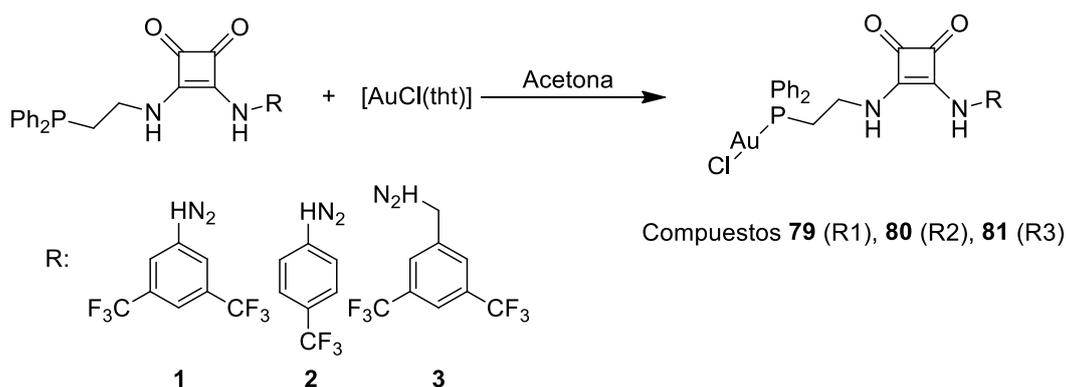


Figura 3.12. Espectro ¹⁹F RMN para el compuesto **76**.

3.3.3. Síntesis de Derivados de Oro con Escuaramidas

La reacción de los ligandos **70**, **71** y **72** con el derivado de oro [AuCl(tht)] lleva a la obtención de los complejos neutros **79**, **80** y **81** (Esquema 3.13). El fragmento Au-Cl se ha querido introducir en la molécula con el fin de conseguir compuestos con un ligando cloro lábil que se pueda sustituir por nuevos ligandos auxiliares que puedan dar lugar a complejos con una mejor actividad anticancerígena (Esquema 3.13)..⁴⁶



Esquema 3.13. Síntesis de los complejos **79**, **80** y **81**.

Los compuestos se caracterizaron por técnicas espectroscópicas de ¹H RMN, ³¹P{¹H} RMN y ¹⁹F{¹H} RMN y espectrometría de masas de alta resolución ESI+ (μ-TOF). Para

⁴⁶ Y. Zeng, J. Wang, Y. Zhang, S. Gei, Y. Wu, T. Fan, N. Wang, *Cell. Immunol.*, **2019**, *341*, 103923.

esta técnica los complejos **79**, **80** y **81** mostraron un incremento de masa de +23 en su pico molecular debido a la adquisición de un átomo de sodio.

El espectro de ^1H RMN (Figura 3.13) para estos complejos es muy similar a los descritos anteriormente para los derivados de plata y cobre. Los grupos metilenos se desapantallan por efecto de la coordinación del ligando al átomo de oro a través del grupo difenilfosfino.

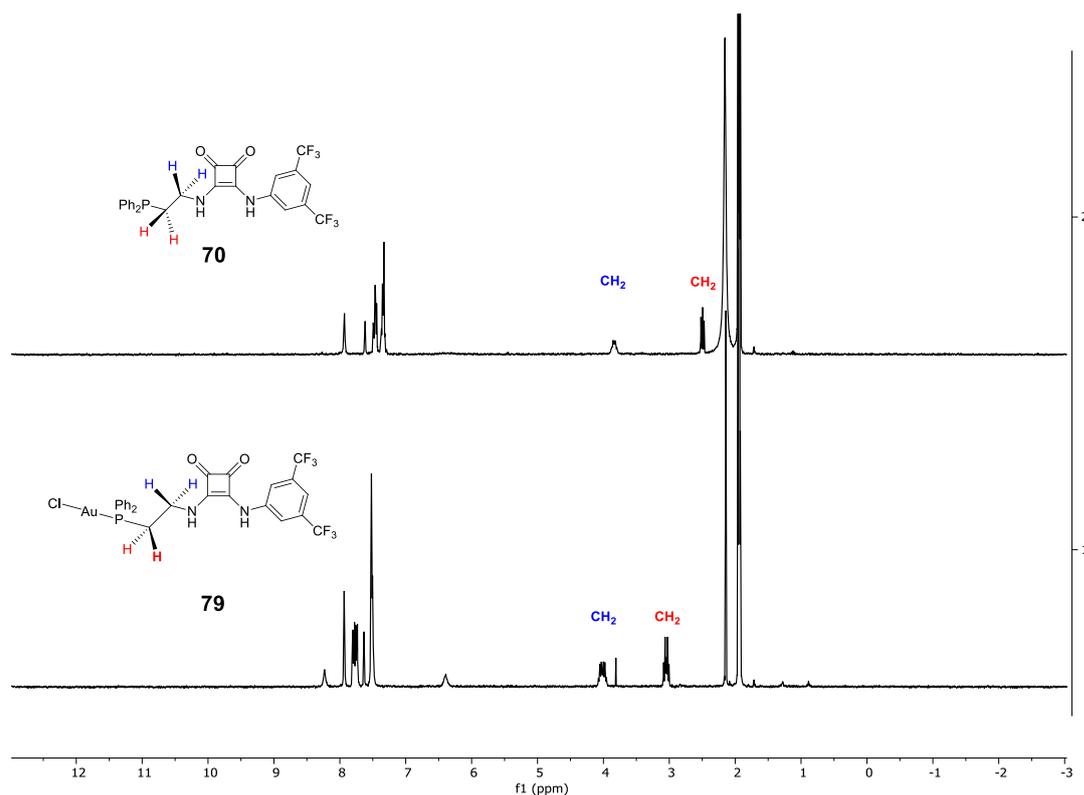


Figura 3.13. Comparación entre el compuesto **70** y su derivado metálico **79**.

Para estos complejos de oro(I), los espectros de ^{31}P muestran un desplazamiento muy significativo, obteniendo valores a muy bajo campo, como se muestra en la Figura 3.14.

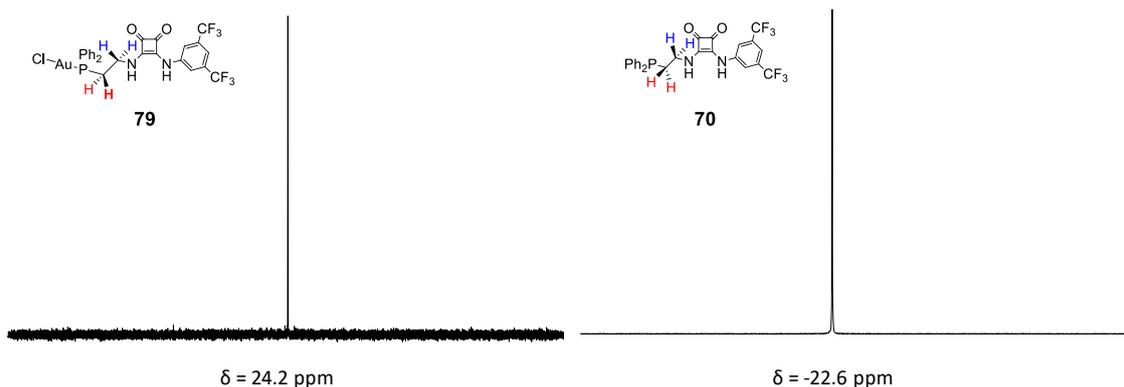
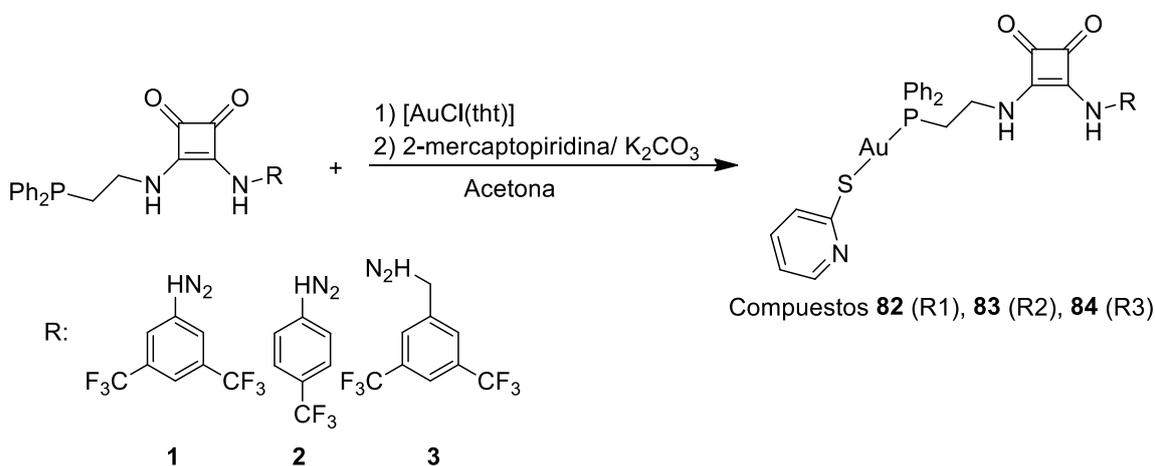


Figura 3.14. Comparación del espectro de ³¹P RMN entre el compuesto **70** y su derivado metálico **79**.

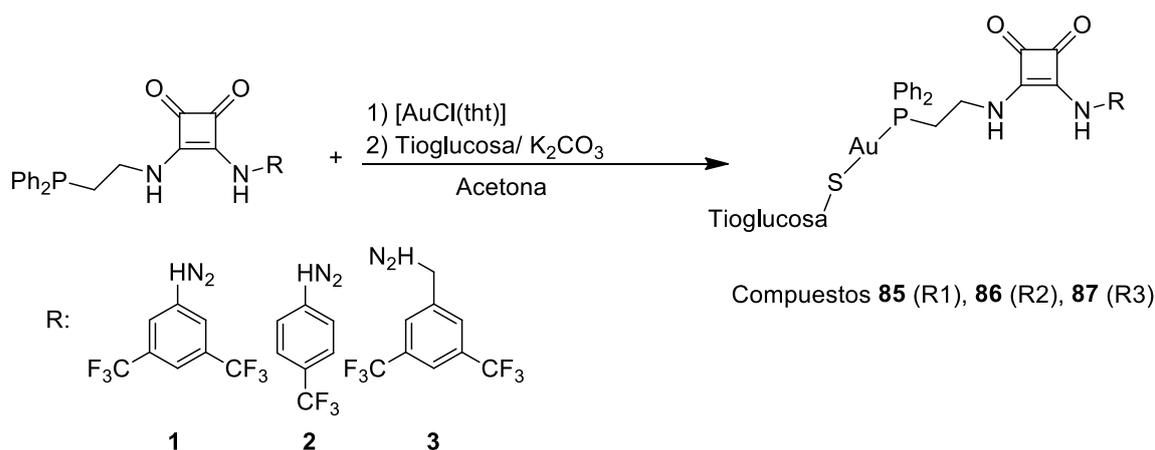
3.3.4. Síntesis de Tiolatos de Oro con Escuaramidas

Debido a que los compuestos sintetizados anteriormente no mostraban ningún tipo de actividad frente a células cancerígenas del tipo A549 o HeLa (apartado 3.4), se propuso la síntesis de derivados de oro con grupos tiolatos debido a que se sabe que estos grupos pueden ser claves para mejorar la solubilidad y/o la actividad de los complejos metálicos en el organismo. A partir de los compuestos **70**, **71** y **72** se sintetizaron los siguientes complejos, **82**, **83** y **84** con el derivado 2-mercaptopiridina y **85**, **86** y **87** con el ligando β-tioglucosa peracetilada. La síntesis de estos nuevos tioles se detalla en el Esquema 3.14 para los derivados de 2-mercaptopiridina.



Esquema 3.14. Síntesis de los complejos **82**, **83** y **84**.

La síntesis es similar a la formación de carbenos con grupos tiolatos mencionada en el capítulo 2. Se adiciona el ligando tiol correspondiente y una base, en este caso K₂CO₃. La reacción se deja agitando toda la noche y durante este tiempo se puede observar que la disolución se va tornando de un tono más amarillento. Lo mismo para aquellos en los que el ligando tiol es tioglucosa, como se aprecia en el Esquema 3.15.



Esquema 3.15. Síntesis de los complejos **85**, **86** y **87**.

Los compuestos se caracterizaron por espectroscopia de resonancia magnética nuclear de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ y $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$. En los espectros de ^1H RMN se pueden observar las señales correspondientes a estos nuevos ligandos; las señales correspondientes al compuesto orgánico no se desplazan significativamente respecto de los complejos con el grupo Au-Cl. En el espectro de ^{13}C APT también se pueden observar las señales de los nuevos ligandos coordinados, es muy característica, por ejemplo, la señal de los grupos carboxilo del grupo tioglucosa. Por otro lado los desplazamientos de la señal correspondiente al grupo PPh_2 , no son muy significativos.

Los complejos formados fueron caracterizados por espectrometría de masas ESI+ (μ -TOF), donde se pudo observar el pico molecular de todos los nuevos tiolatos sintetizados. La masa observada en todo ellos llevaba un incremento de +23, debido a átomo de sodio que puede aparecer al utilizar esta técnica, excepto para los complejos **82** y **84**, cuyos picos moleculares salían sin ningún tipo de incremento.

3.4. Actividad Biológica sobre Células TumORAles Humanas

3.4.1. Estudio de Actividad Citotóxica. Método MTT

El estudio de la citotoxicidad de nuestros complejos se realizó mediante el método del MTT, el procedimiento seguido fue el mismo que se comentó en el capítulo 2, también en colaboración con la doctora Isabel Marzo, en el departamento de Bioquímica en la Universidad de Zaragoza. El estudio de citotoxicidad se llevó a cabo en dos líneas tumorales humanas, A549 (pulmón) y HeLa (cáncer de cérvix o cuello uterino). Las concentraciones utilizadas estuvieron en el rango de 2 μM a 50 μM . Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Valores de IC₅₀ en células tumorales A549 y HeLa.

IC ₅₀	HeLa	A549
Cisplatino ⁴⁷	10.50±1.51 (48 h)	29.21±1.92 (48 h)
Auranofin ⁴⁸	5.99±0.014 (48 h)	4.65±0.30 (48 h)
70	>50	>50
71	>50	>50
72	>50	>50
73	17.36±3.23	>50
74	>50	>50
75	>50	>50
76	>50	>50
77	>50	>50
78	>50	>50
79	>50	>50
80	>50	>50
81	>50	>50
82	13.72±1.11	11.73±0.99
83	4.93±0.76	14.03±1.04
84	6.73± 0.089	33.15±1.25
85	2.16±0.026	14.53±0.03
86	1.90±0.061	12.77±1.56
87	4.41±1.05	9.83±0.84

⁴⁷ L. Ortego, M. Gimeno, *Síntesis de complejos de metales del grupo II con ligandos derivados de aminoácidos y aminosfosfinas. Estudios biológicos* (tesis doctoral)., **2011**, Universidad de Zaragoza, España.

⁴⁸ C. Marzano, V. Gandin, M. Pellei, D. Colavito, G. Papini, G. G. Lobbia, E. del Giudice, M. Porchia, F. Tisato, C. Santi, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 798.

Si comparamos los valores que se encuentran en la Tabla 3.1. se puede observar como las escuaramidas sin coordinar no presentan ningún tipo de actividad frente a estas células tumorales. Los resultados no mejoran para los complejos metálicos sintetizados debido a que el IC_{50} para estos es mayor de 50, excepto para el derivado de Ag (**73**) que no presenta actividad para la línea celular A549, pero da un valor similar al del cisplatino en células HeLa.

Sí que se aprecian unos valores más bajos para los compuestos que llevan el grupo tiolato coordinado en su estructura. En la línea tumoral HeLa, independientemente del ligando tiolato coordinado, los mejores resultados son con el ligando escuaramida que presenta un único grupo CF_3 , en posición *para*. En la línea tumoral A549 es más complicado hacer un diagnóstico general. No obstante, los complejos **85**, **86** y **87** (que contienen el grupo tioglucosa) muestran valores de IC_{50} más bajos en ambas líneas tumorales que los complejos análogos con el derivado de 2-mercaptopiridina.

La diferencia tan grande que se observa entre los complejos que contienen el grupo Au-Cl (**79**, **80** y **81**) que no presentan ningún tipo de citotoxicidad en estas líneas tumorales, respecto a los complejos formados por extracción del átomo de cloro y la consiguiente introducción de un grupo tiolato tiene que ver con la solubilidad de los complejos dentro en el suero celular. Así, los complejos Au-Cl no son solubles en él y por lo tanto precipitan, imposibilitando la entrada al citoplasma celular, por otro lado, al modificar esos complejos con la introducción de ligandos como 2-mercaptopiridina o tioglucosa, la solubilidad aumenta, logrando así unos valores de IC_{50} comparables a los ofrecidos por el auranofin e incluso más bajos en la línea tumoral HeLa. Como se puede observar en la Figura 3.15 los complejos **79**, **80** y **81** mostraban precipitado como se ha comentado anteriormente. Se puede observar también como las células A549 en contacto con estos compuestos son alargadas, debido a que están vivas porque no hay interacción. Por otro lado, las células presentan una fisiología más redondeada cuando están en contacto con los derivados tiolatos, debido a que están en proceso de muerte celular. Todas las células adherentes cuando entran en apoptosis se vuelven redondeadas, porque se despegan del sustrato en el que crecen

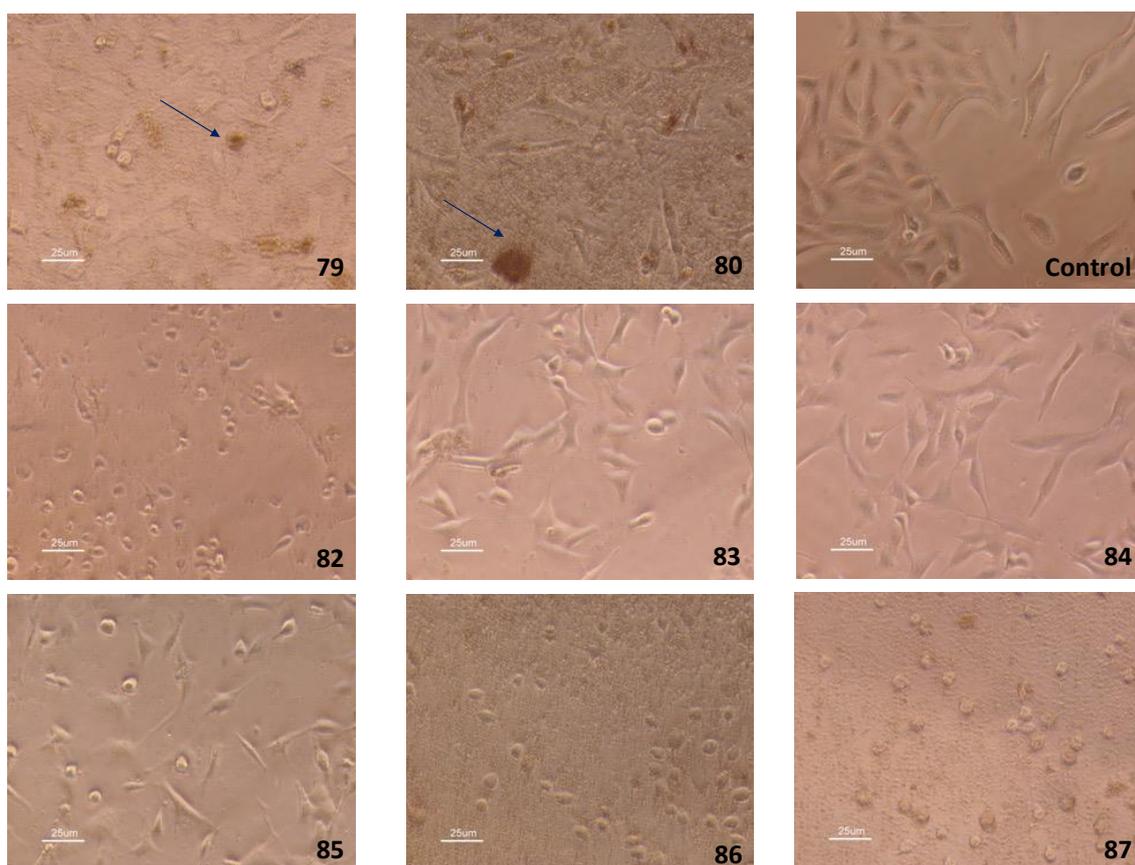


Figura 3.15. Fotografías de la fisiología celular (A549).

3.4.2. Estudio de la Selectividad Citotóxica, Jurkat. vs Linfocitos

Los complejos con los que mejor IC_{50} se consiguió (**85**, **86** y **87**) fueron utilizados para comprobar si eran capaces de dañar a células vivas y ver su selectividad frente a las células cancerígenas.

Para ello, se siguió el mismo procedimiento utilizado en el capítulo 2, es decir, primero se hicieron unas medidas de estabilidad en un buffer fosfato salino (PBS), que simula el interior celular, a unas concentraciones de $1 \cdot 10^{-6}$ M. Los complejos **85**, **86** y **87** fueron disueltos en DMSO previamente.

Las medidas de estabilidad se realizaron midiendo el espectro de ultravioleta-visible de los compuestos a diferentes intervalos de tiempo, $t = 0$ h, $t = 8$ h, $t = 24$ h. Los espectros se representan en las siguientes figuras:

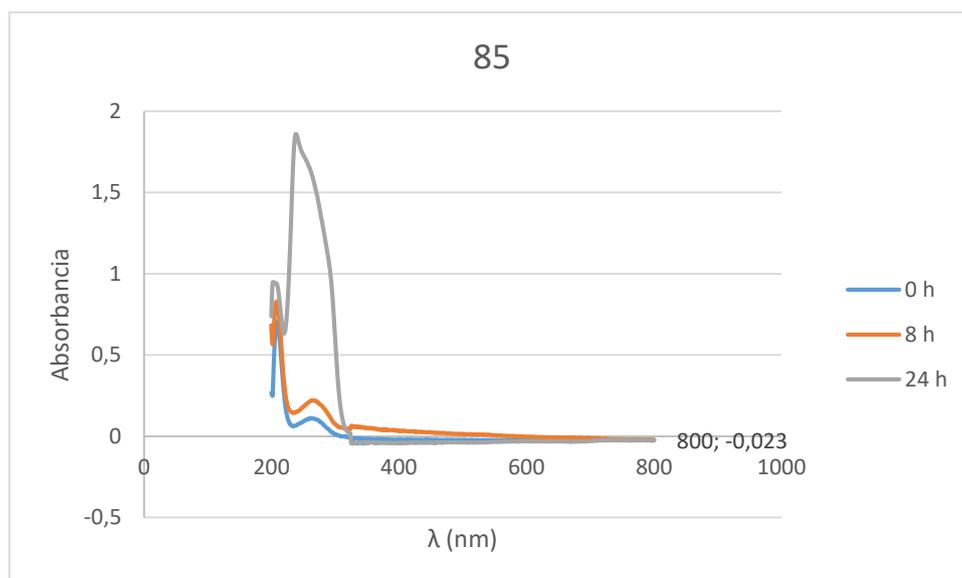


Figura 3.15. Espectro UV-visible que muestra la evolución de la absorción a lo largo del tiempo para el complejo **85**.

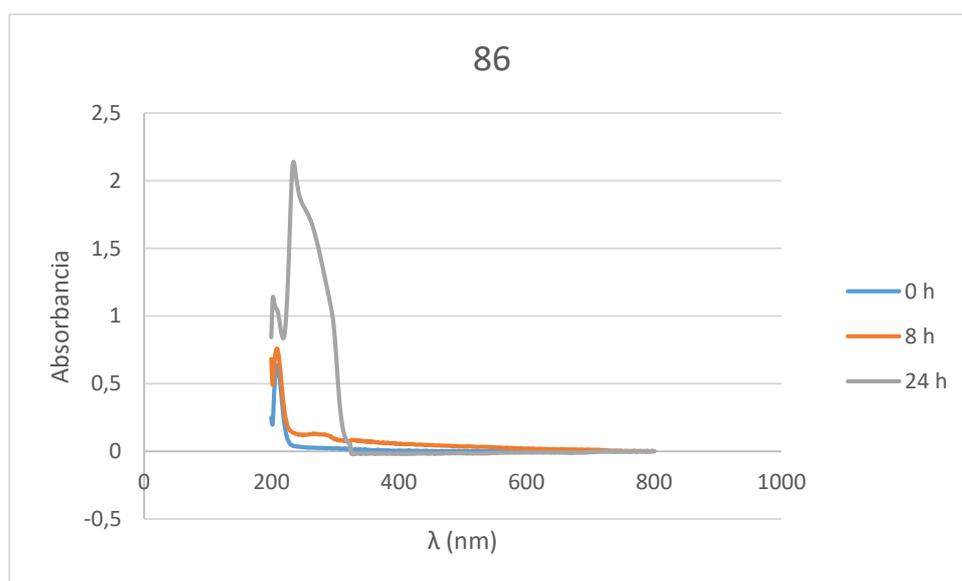


Figura 3.16. Espectro UV-visible que muestra la evolución de la absorción a lo largo del tiempo para el complejo **86**.

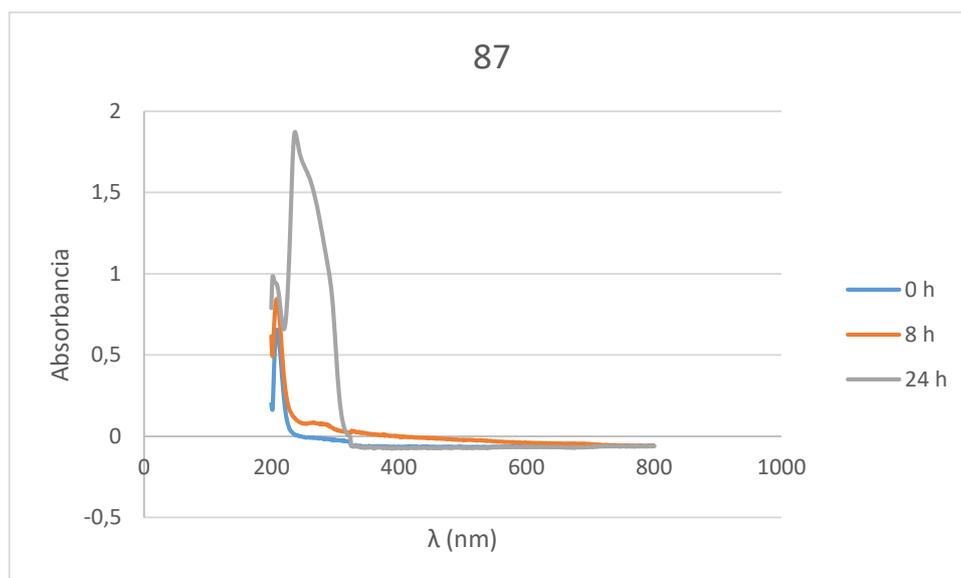


Figura 3.17. Espectro UV-visible que muestra la evolución de la absorción a lo largo del tiempo para el complejo **87**.

Las gráficas presentan una absorción alrededor de 200 nm y un pequeño hombro sobre 300 nm a $t = 0$ h. Se puede apreciar que el hombro sobre 300 nm va aumentando con las medidas en el tiempo, siendo el máximo de absorbancia a $t = 24$ h. Los picos son fijos independientemente del tiempo en el que se haya medido lo que hace indicar que los complejos son estables, debido a que los máximos de absorbancia cambiarían si hubiera aparecido algún tipo de descomposición o alteración de la molécula. Por otro lado, la forma de las señales sí que varía, ya que el hombro inicial a 300 nm cuando se mide a tiempo 0 va aumentando considerablemente cuando se mide a 24 h. De una manera similar a lo que ocurre en las ureas, las escuaramidas también se agrupan entre sí a través de puentes de hidrógeno, así que de nuevo esto puede deberse a que los complejos se agregan entre ellos, es decir, podrían estar apilados mediante interacciones intramoleculares que conforme pasa el tiempo a esa concentración van desapareciendo. En la Figura 3.18, se puede observar el espectro de ^1H RMN para el complejo **86**, donde efectivamente se observa que es estable incluso hasta 72 horas. Las muestras se guardaron en un baño termostático a 37°C , y se midió su espectro de protón cada 24 horas, es decir, 0, 24, 48 y 72 horas.

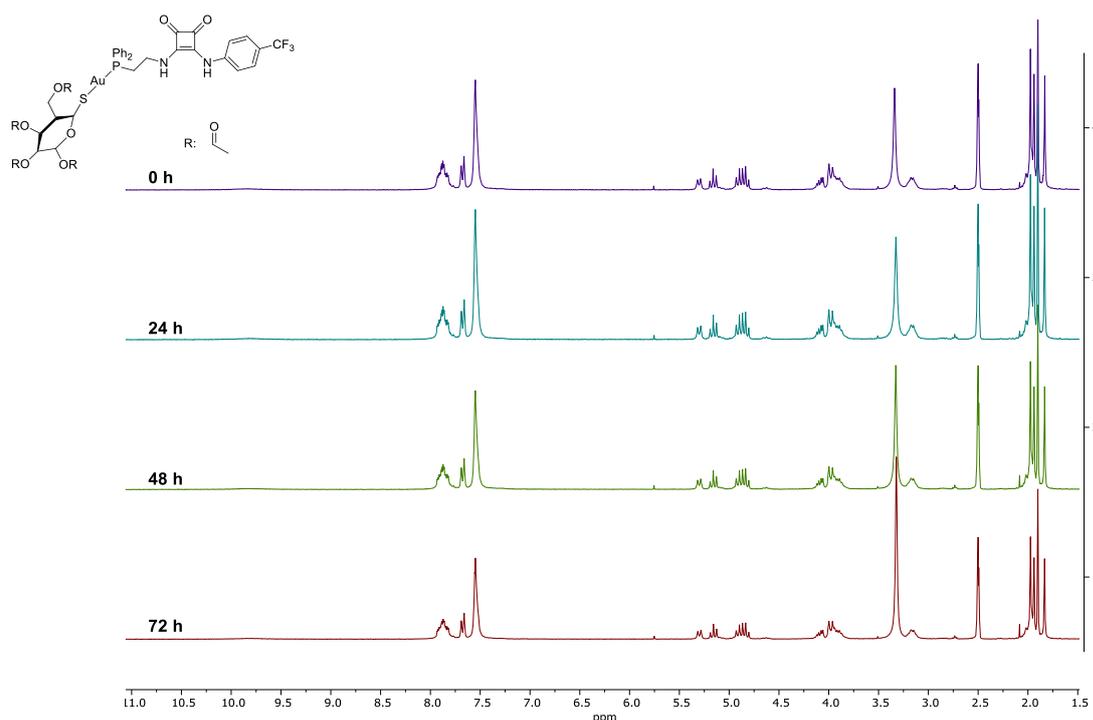


Figura 3.18. Espectro ^1H RMN para el complejo **86**, 0, 24, 48 y 72 h.

Se hizo, además, un ensayo de lipofilidad, calculando el coeficiente de reparto octanol-agua (K_{ow}) de los cuatro tiolatos que mejor IC_{50} mostraron en las líneas tumorales A549 y HeLa en los complejos descritos anteriormente. Para medir estos valores se siguió el método estándar (Shake flask method), los resultados fueron expresados como el log de los valores del coeficiente de partición octanol/agua, igual que se comentó en el capítulo 2. Estas medidas se hicieron a temperatura ambiente. Los valores están reflejados en la siguiente tabla.

Tabla 3.2. Valores del coeficiente octanol/agua K_{ow} .

Compuesto	Log K_{ow}
85	0.79
86	0.51
87	0.77

Si nos fijamos en la literatura, valores de $\text{Log}K_{ow}$ superiores a 5 indican una alta afinidad por los tejidos grasos animales, es decir, una alta lipofilidad⁴⁹ mientras que

⁴⁹<https://web.archive.org/web/20100707235441/http://www.miliarium.com/prontuario/Tablas/Quimica/AfinidadOrganicos.htm>

3.4. Actividad Biológica sobre Células Tumorales Humanas

valores bajos (<1-3) corresponderían con compuestos hidrofílicos. A la vista de nuestros resultados, los complejos **85**, **86** y **87** son hidrofílicos y por tanto verifica la solubilidad de estos compuestos en el medio biológico.

De nuevo se comprobaron que las gráficas de supervivencia celular para los complejos, **85**, **86** y **87** mostraban efectivamente que se producía la muerte de las células tumorales y no que sólo inhibían su crecimiento. En las siguientes figuras se muestra como las gráficas de los complejos con ligandos tiolato baja prácticamente a cero, indicando la muerte de las células al estar en contacto con los complejos. HeLa es la línea tumoral que se representa en estas gráficas.

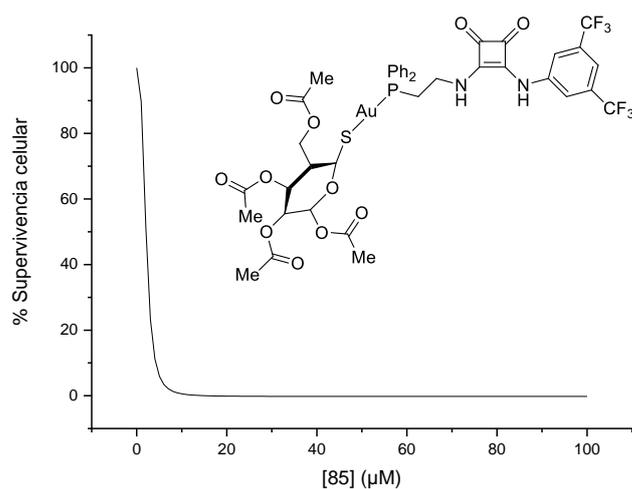


Figura 3.19. Gráfica % supervivencia celular vs concentración del complejo **85** en la línea tumoral HeLa.

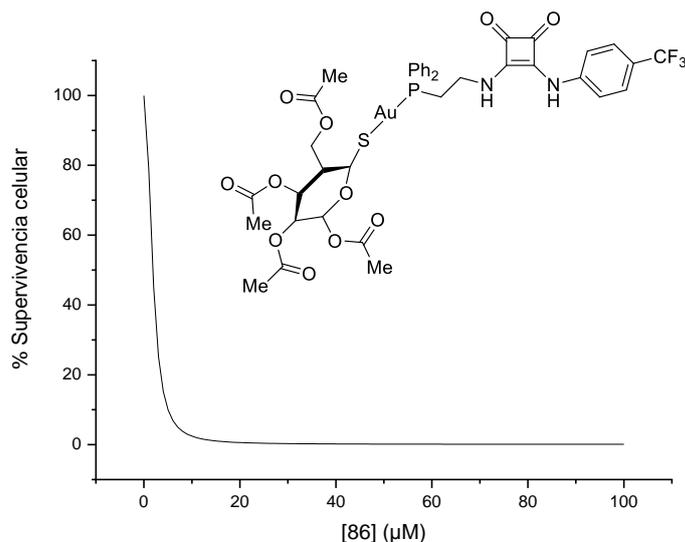


Figura 3.20. Gráfica % supervivencia celular vs concentración del complejo **86** en la línea tumoral HeLa

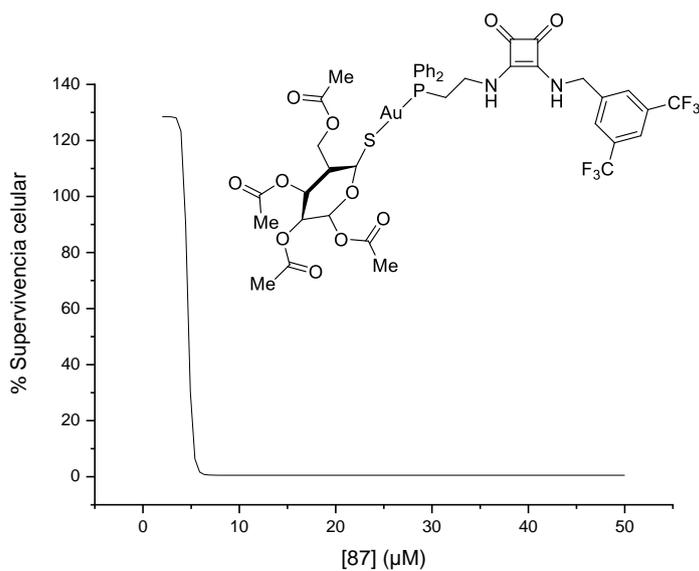


Figura 3.21. Gráfica % supervivencia celular vs concentración del complejo **87** en la línea tumoral HeLa.

Se realizó el método de MTT con la línea celular Jurkat y con células sanas de linfocitos (donados por el Banco de Sangre y Tejidos de Aragón), para los complejos **85**, **86** y **87** y así poder comparar la selectividad de los complejos entre células sanas y células tumorales. Los valores son mostrados en la siguiente Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Valores IC₅₀ para células Jurkat y Linfocitos T.

Compuesto	Jurkat	Linfocitos T
85	2.87±1.205	4.05±1.576
86	2.05±0.063	3.06±0.218
87	2.36±0.154	3.17±0.368

Tabla 3.4. Valores de selectividad calculados a partir de los IC₅₀.

Compuesto	IC ₅₀ linfocitos/IC ₅₀ Jurkat
85	1.41
86	1.49
87	1.34

Los valores de IC₅₀ en la línea tumoral Jurkat son muy esperanzadores, pero la selectividad frente a células sanas (linfocitos) no es muy buena debido a que los valores de IC₅₀ mostrados en la Tabla 3.4. son muy bajos.

3.4.3. Estudio de Muerte Celular

A través de la técnica de citometría de flujo descrita en el capítulo 2 se comprobó si los complejos **85**, **86** y **87** producían la muerte por necrosis o apoptosis. Los tintes celulares fueron la AnexinaV conjugada con FITC como fluorocromo que presenta una luminiscencia de color verde. Este se une a fosfolípidos de la membrana celular, en concreto a los grupos fosfatidilserina (PS) que se expresan en células apoptóticas. Además, se utilizó otro tinte llamado 7-ADDD que es capaz de entrar en la célula una vez que su membrana se ha roto, indicando que ha muerto por necrosis, su luminiscencia es de color rojo.

Como se muestra en la Figura 3.22 el histograma se divide en 4 secciones, abajo a la izquierda corresponde a células vivas, que darán negativas en ambos marcajes. El cuadrante de abajo a la derecha son células que han muerto por apoptosis, dará positivo en el marcador de AnexinaV y negativo en 7-ADDD. Lo contrario ocurre en el

cuadrante de arriba a la izquierda que corresponde a células que han muerto por necrosis (AnexinaV- y 7-ADDD+). Finalmente, el cuadrante de arriba a la derecha, da positivo para ambos marcajes, esto es debido a que son células que han muerto en una apoptosis tardía. Es decir, aunque se hayan expresado mecanismos de apoptosis y los fosfolípidos PS se hayan expresado en la membrana plasmática, ésta se ha quebrado también y el marcador celular 7-ADDD ha podido entrar en el citoplasma.

Tabla 3.5. Distribución de los cuadrantes del esquema de citometría de flujo.

Abajo izq	Células viables	Anexina+ y 7-ADDD+
Abajo dech	Células apoptóticas	Anexina+7-ADDD-
Arriba dech	Células apoptóticas tardías	Anexina+ 7-ADDD+
Arriba izq	Células necróticas	Anexina – 7-ADDD+

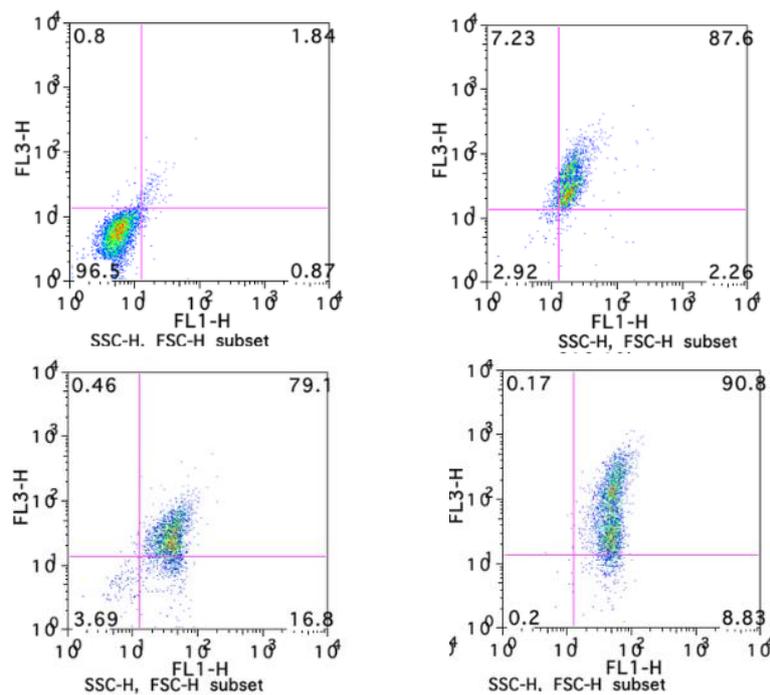


Figura 3.22. Citometría de flujo para los complejos Control (arriba izq), **85** (arriba dech), **86** (abajo izq) y **87** (abajo dech).

Las células están vivas en el experimento de control, en él hay células tumorales de HeLa en el medio de cultivo DMEM, pero no se le ha añadido ningún complejo.

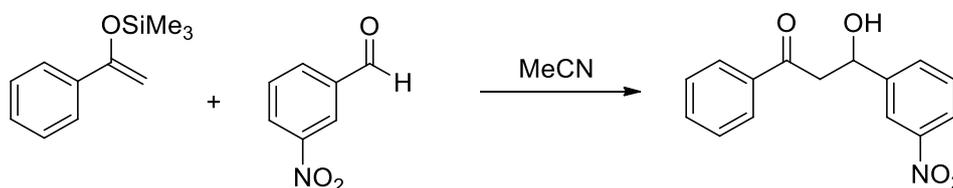
En los histogramas de los complejos **85**, **86** y **87** a una concentración de 10 μM , las células se agrupan en la sección de arriba a la derecha. Por lo tanto, presentan una muerte por apoptosis tardía. Los complejos a una concentración de 10 μM una muerte por apoptosis tardía (figura 3.21). Esto significa que los complejos no dañan la célula por si solos, si no que interactúan con ella o la modifica para que empiece a programar la muerte celular.

3.5. Pruebas Catalíticas

Debido a que los compuestos metálicos con plata y cobre contienen un gran número de protones que pueden dar lugar a puentes de hidrógeno, se intentó mejorar diversas reacciones catalíticas, utilizando estos compuestos como catalizadores. Se probó la reacción de Mukaiyama y Henry.

3.5.1 Reacción de Mukaiyama

La reacción aldólica es uno de los métodos sintéticos más versátiles para la generación de compuestos de β -hidroxicarbonilos, también conocidos como aldoles, que se originan como consecuencia de la formación de un enlace C-C a partir de dos derivados carbonilos bajo condiciones ácidas o básicas.⁵⁰ Sin embargo, presenta otro tipo de reacciones indeseadas como reacciones de autocondensación o policondensación. En 1973, Mukaiyama desarrolló la síntesis de aldoles a temperatura ambiente entre un silil enol éter y un aldehído o formiato⁵¹ en presencia de un ácido de Lewis (TiCl_4). Más adelante, se describió la reacción entre cetonas α - β -insaturadas y silil-enol-eteres.⁵² Esta transformación se denomina reacción de Mukaiyama, debido a que se forma el mismo producto, como en la reacción de Michael tradicional.



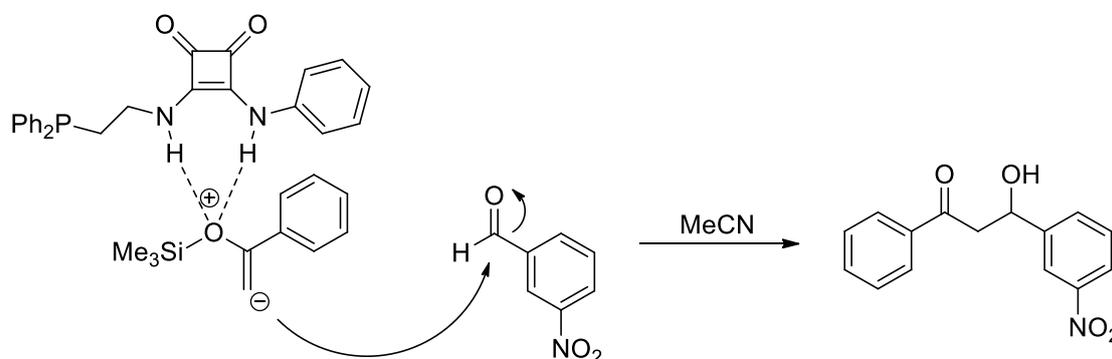
Esquema 3.16. Reacción de Mukaiyama

⁵⁰ R. Mahrwald, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 1095.

⁵¹ T. Mukaiyama, S. Kobayashi. *Organic Reactions*; John Wiley & Son, Inc.: New York, **1994**; Vol. 46; pp 1-103.

⁵² K. Narasaka, K. Soai, T. Mukaiyama, *Chem. Lett.*, **1974**, 3, 1223.

El mecanismo de reacción propuesto se ve en el siguiente Esquema 3.17, la escuaramida hace más nucleófilo al carbono del doble enlace favoreciendo el posterior ataque al carbono del aldehído



Esquema 3.17. Mecanismo propuesto para la reacción de Mukaiyama.

La reacción se llevó a cabo en acetonitrilo en 500 μ L, con un 5% de catalizador **[70]** y un exceso de silano (Tabla 3.6).

Tabla 3.6. Pruebas reacción Mukaiyama.

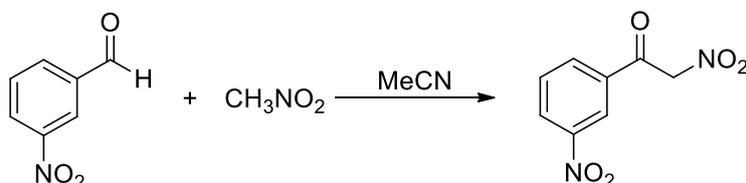
Entrada	Catalizador 70 (5%)			Tiempo	
1	–	0.15 mmol	0.10 mmol	4 días	–
2	ligando	0.15 mmol	0.10 mmol	4 días	–
3	Ag	0.15 mmol	0.10 mmol	4 días	–
4	Cu	0.15 mmol	0.10 mmol	4 días	–
5	Au	0.15 mmol	0.10 mmol	4 días	–
6	Au+AgOTf	0.15 mmol	0.10 mmol	4 días	–
7	AgOTf	0.15 mmol	0.10 mmol	4 días	–

La reacción se probó sin utilizar ningún tipo de catalizador, para comprobar que no se formaba el producto final (entrada 1). Desgraciadamente, ni usando el compuesto **70** como organocatalizador (entrada 2) ni utilizando como catalizadores los complejos metálicos **73** (entrada 3), **76** (entrada 4) y **79** (entrada 5), la reacción no formaba el producto final deseado.

Para el complejo de oro se quiso estudiar si el átomo metálico podría influir en la reacción catalítica, por ello se utilizó junto a un complejo de plata. Así podría para extraer el Cl del complejo de oro y originar así una vacante que podría ser un punto catalítico para iniciar la reacción (entrada 6). El derivado de plata también podría inducir la catálisis por el mismo, por lo que se hizo una prueba para corroborar que no ocurría la reacción solamente con esta especie (entrada 7).

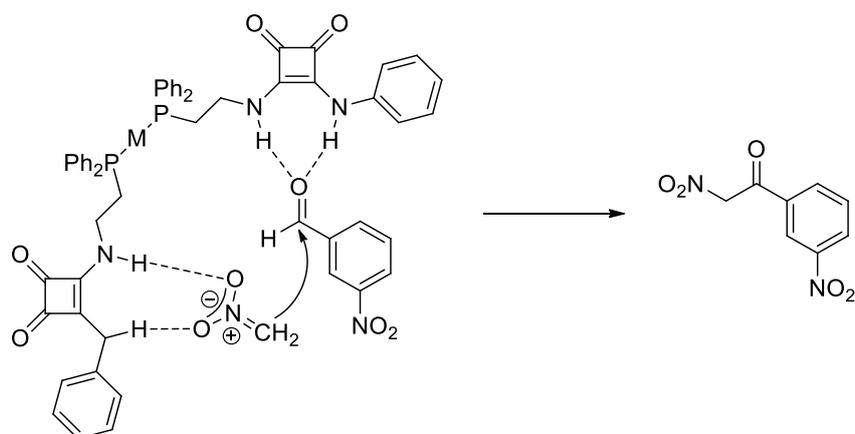
3.5.2. Reacción de Henry

La reacción de Henry es una reacción nitro aldólica entre un aldehído o cetona y un nitroalcano (primario o secundario) y fue descubierta por el químico belga Louis Henry en 1895. La reacción consiste en la adición nucleofílica por parte del nitroalcano al carbono electrofílico del aldehído o cetona, generando un nuevo enlace C-C.



Esquema 3.18. Reacción de Henry.

El mecanismo sería el siguiente, donde se propone un intermedio de reacción, se eligieron solamente las escuaramidas dobles debido a que se necesitaba un parte de los puentes de hidrógeno para hacer más nucleófilo al nitrometano y otra para hacer más electrófilo al aldehído.⁵³



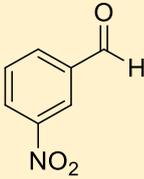
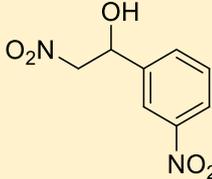
M: Ag, Cu

Esquema 3.19. Mecanismo propuesto para reacción de Mukaiyama.

⁵³ D. Susam, C. Tanyeli, *New J. Chem.*, **2017**, *41*, 3555.

La reacción se llevó a cabo en THF en 250 μ L. Se hicieron dos pruebas con un 5% y un 10% de catalizador. Para la reacción se utilizó un exceso de uno de los dos productos de partida (nitrometano) y se utilizó trietilamina como base (1.8 μ L) (Tabla 3.7).

Tabla 3.7. Pruebas reacción Henry.

Entrada	Catalizador 70	CH ₃ NO ₂		Tiempo	
1	–	1 mmol	0.10 mmol	7 días	-
2	Ligando (5%)	1 mmol	0.10 mmol	7 días	-
3	Ligando (5%)	1 mmol	0.10 mmol	7 días	-
4	Ag (5%)	1 mmol	0.10 mmol	7 días	-
5	Ag (10%)	1 mmol	0.10 mmol	7 días	-
6	Cu (5%)	1 mmol	0.10 mmol	7 días	-
7	Cu (10%)	1 mmol	0.10 mmol	7 días	-

La reacción se probó inicialmente sin catalizador ni base (entrada 1) para corroborar que la reacción no se producía espontáneamente. Se probó la reacción tanto sin base y solamente con el compuesto **70** como organocatalizador a un 5% (entrada 2), como con base y organocatalizador (entrada 3) y tampoco se obtuvo el compuesto final esperado. Finalmente se hicieron reacciones catalíticas con los complejos **73** y **76** modificando el porcentaje de catalizador en las reacciones (entradas 4-7) las cuales desgraciadamente tampoco se obtuvieron los resultados esperados.

3.6. Compuestos como Materiales Funcionales

Durante la síntesis de los compuestos **70**, **71** y **72**, ya se observó una tendencia en la que aumentaba la viscosidad del disolvente (metanol) durante la reacción. Anteriormente, se habían descrito geles a partir de escuaramidas con monoalquilamidas y dialquilamidas⁵⁴ y, más recientemente, se han sintetizado diferentes escuaramidas con anilinas y diversos sustituyentes.⁵⁵

⁵⁴ Y. Ohseido, M. Miyamoto, A. Tanaka, H. Watanabe, *New J. Chem.*, **2013**, *37*, 2874.

⁵⁵ J. V. Alegre-Requena, I. G. Sonsona, E. Marques-López, R. P. Herrera, M. Haring, A. Abramov, D. D. Diaz, *Beilstein Chemistry. Org. Chem.*, **2018**, *14*, 2065.

La habilidad para la formación de un gel a partir de nuestros compuestos se exploró con varios disolventes diferentes usando el protocolo de “*heating-cooling*” y utilizando diferentes concentraciones. La técnica de “*heating-cooling*” consiste en solubilizar el compuesto calentando y, posteriormente, dejando enfriar en reposo. Aunque para nuestros compuestos, se hizo una pequeña modificación debido a que se comprobó experimentalmente que después de calentar la muestra se conseguía una concentración más baja en casi todos los disolventes si se dejaba primero la muestra 10 minutos en el baño de ultrasonidos y posteriormente se dejaba reposar a temperatura ambiente. Se estudió el proceso de gelificación en 4 disolventes tipo, que fueron, metanol, acetonitrilo, cloroformo y tolueno. Inicialmente se confirmó la presencia de que se había formado un gel con nuestro compuesto debido a la ausencia de disolvente en la superficie del recipiente donde se ha formado.

El compuesto **70** fue insoluble en acetonitrilo, tolueno y cloroformo (Figura 3.23), y solo parecía formar gel en metanol a una concentración de 10 g/L.



Figura 3.23. Pruebas de gelificación compuesto **70**.

Sin embargo, sí que presentó cierta tendencia a formar gel en metanol, por lo que se intentó gelificar en diferentes alcoholes (Figura 3.24).

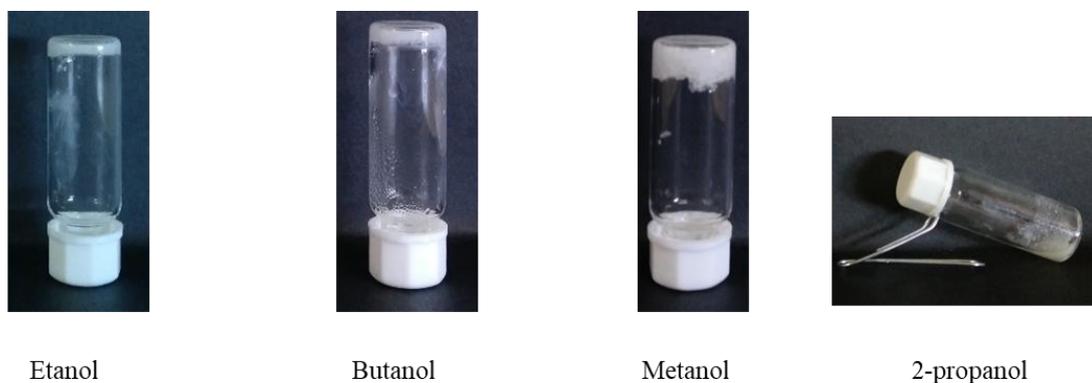


Figura 3.24. Pruebas de gelificación compuesto **70** en diferentes alcoholes.

Aun así, no tenía tendencia a formar gel, si no a un sólido encapsulado en el disolvente. Este comportamiento se observó en tres alcoholes diferentes, mientras que en 2-propanol precipitaba.

Tabla 3.8. Pruebas de gelificación del compuesto **70** en diferentes alcoholes.

Entrada	Disolvente	Fase	Apariencia Óptica	CGC (g L ⁻¹)	Procedimiento
1	Etanol	G+U	Opaco	918.7	Heating-Cooling
2	Butanol	G+U	Opaco	355.9	Heating-Cooling
3	Metanol	G+U	Opaco	1324.3	Heating-Cooling
4	2-propanol	P	Opaco	Nd	Heating-Cooling

Para intentar formar gel con este compuesto se utilizó otro procedimiento denominado “*Heating-ultrasound*”, en el cual después de disolver la muestra calentando se dejaba aplicando ultrasonidos durante 10 minutos, la técnica no fue efectiva debido a que precipitaba en el disolvente.

Se procedió a hacer el mismo procedimiento con el compuesto **72**, cuya única modificación es la adición de un grupo metileno en la molécula. Para ello, se intentó formar el gel en los cuatro disolventes mencionados anteriormente, metanol acetonitrilo, cloroformo y tolueno. Este compuesto mostró tendencia en gelificar en todos los disolventes excepto en cloroformo, tal y como se muestra en la Figura 3.25. Con él se llegó a una concentración mínima de 5 g/L en tolueno y acetonitrilo y de 10 g/L en metanol.

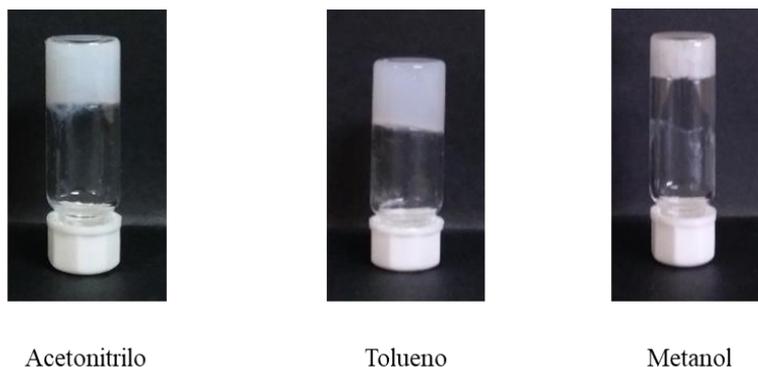


Figura 3.25. Pruebas de gelificación compuesto 72.

Por ello, se intentó gelificar este producto en otros disolventes como acetato de etilo, nitrometano, dmsó, xileno, clorobenceno, benzonitrilo y mesitileno. Pero como se puede ver en la Tabla 3.9 solo se mejoraron sus propiedades con los disolventes acetato de etilo y nitrometano, con los que se consiguió bajar la concentración a 4 g/L.

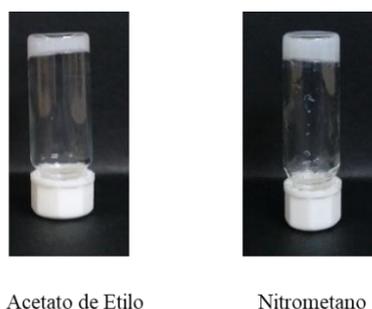


Figura 3.26. Pruebas de gelificación compuesto 72 en una concentración de 4 g/L.

Tabla 3.9. Pruebas de gelificación con el compuesto 72.

Entrada	Disolvente	Fase	Apariencia Óptica	CGC (g L ⁻¹)	Procedimiento
1	Metanol	G+U	Opaco	-	Heating-Cooling
2	CH ₃ CN	G+U	Opaco	2105.7	Heating-Cooling
3	Tolueno	G+U	Opaco	1028.7	Heating-Cooling
4	Acetato de Etilo	G+U	Opaco	1394.3	Heating-Cooling
5	CH ₃ NO ₂	G+U	Opaco	2553.0	Heating-Cooling

La apariencia óptica de estos geles era similar a los logrados con el compuesto **70** y por lo tanto eran más agregados sólidos encapsulados en los diferentes disolventes utilizados. El método “*Heating-Ultrasound*” tampoco mejoró el aspecto óptico de estos agregados.

Finalmente, se procedió a intentar gelificar el compuesto **71** mediante el mismo procedimiento de “*Heating-Cooling*”. Inicialmente se utilizó como disolvente, tolueno, cloroformo, acetonitrilo y metanol. Se consiguió formar gel tanto en metanol como en acetonitrilo (Figura 3.27).

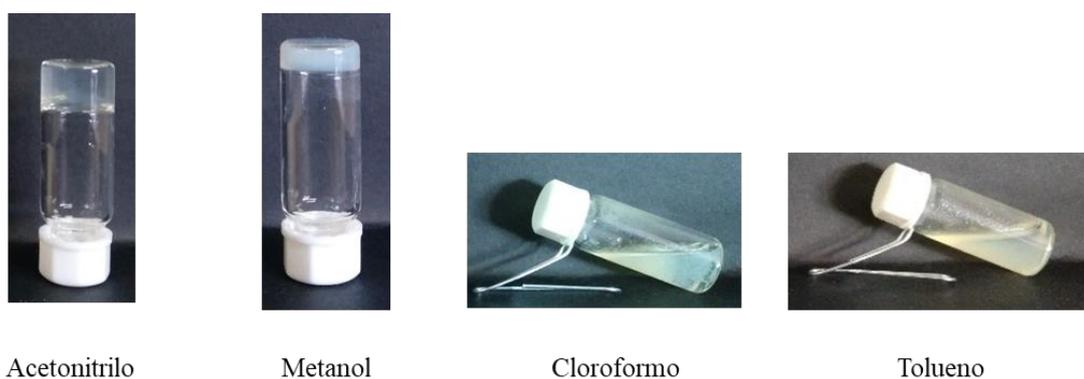


Figura 3.27. Pruebas de gelificación del compuesto **71**.

Se consiguió una concentración crítica de gelificación de 2 g/L utilizando acetonitrilo como disolvente y es la concentración más baja obtenida con las escuaramidas sintetizadas en este capítulo. Por ello, se intentó la formación de geles en otros disolventes similares como acetato de etilo, nitrometano y dmsó, donde solo se consiguió formar gel en nitrometano llegando también a una concentración de 2 g/L.

Por otro lado, se hizo un estudio con diferentes alcoholes, debido a la tendencia que tenía este compuesto en gelificar en ellos (alcoholes) mostrando una estabilidad en tanto en alcoholes primarios, secundarios, terciarios, lineales y ramificados. Estos resultados sugieren una única interacción molecular y un equilibrio hidrofílico/hidrofóbico que favorece el autoensamblado en alcoholes.⁵⁶ Los alcoholes formados se muestran en la siguiente Tabla 3.10.

⁵⁶ J. Schiller, J. V. Alegre-Requena, E. Marqués-López, R. P. Herrera, J. Casanovas, C. Alemán, D. Díaz, *Soft Matter*, **2016**, *12*, 4361.

Tabla 3.10. Pruebas de gelificación con el compuesto **71** para diferentes alcoholes.

Entrada	Disolvente	Fase	Apariencia Óptica	CGC (g L ⁻¹)	Procedimiento
1	Metanol	G	Opaco	2894.7	Heating-Cooling
2	Butanol	G	Opaco	509.7	Heating-Cooling
3	Etanol	G+U	-	-	Heating-Cooling
4	2-propanol	P	-	-	Heating-Cooling
5	5-fenil-1-pentanol	G	Translúcido	274.7	Heating-Cooling
6	3-fenil-2-propin-1-ol	-	-	-	-
7	3-Hidroxipropionitrilo	G	Opaco	407.9	Heating-Cooling
8	1-pentanol	G	Translúcido	1135.2	Heating-Cooling
9	2,2,2-trifluoroetanol	G	Opaco	637.7	Heating-Cooling
10	Tetrahidrofurfuril alcohol	-	-	-	Heating-Cooling
11	5-hexen-1-ol	G	Opaco	154.7	Heating-Cooling
12	Butan-2-ol	G	Opaco	501.3	Heating-Cooling
13	Alcohol bencílico	-	-	-	Heating-Cooling
14	Tert-butilalcohol	G	Translúcido	485.79	Heating-Cooling

Se consiguió el proceso de gelificación con los alcoholes nombrados en las entradas 1, 2, 5, 7, 8, 9, 11, 12 y 14. Para los geles formados con estos alcoholes se estuvo observando la estabilidad del gel, es decir, hasta que precipita o se descompone.

Tabla 3.11. Medidas de estabilidad de geles con el compuesto **71**.

Entrada	Disolvente	CGC (g L ⁻¹)	Procedimiento	Estabilidad
1	Metanol	2894.7	Heating-Cooling	2 meses
2	Butanol	509.7	Heating-Cooling	2 meses
3	5-fenil-1-pentanol	274.7	Heating-Cooling	1 mes
4	3-Hidroxipropionitrilo	407.9	Heating-Cooling	3 meses

5	1-pentanol	1135.2	Heating- Cooling	4 meses
6	2,2,2-trifluoroetanol	637.7	Heating- Cooling	2 meses
7	5-hexen-1-ol	154.7	Heating- Cooling	1 mes
8	Butan-2-ol	501.3	Heating- Cooling	4 meses
9	Tert-butilalcohol	485.79	Heating- Cooling	3 meses

Las estabildades de los geles formados estaban entre 1 y 2 meses, siendo para 1-pentanol y butan-2-ol donde se lograron tiempos mayores, llegando incluso a 4 meses.

La concentración de gelificación crítica (CGC) varía entre 25 y 4 g L⁻¹. Estos valores indican que cientos o miles de moléculas de disolvente se inmovilizan por las moléculas del gel, aunque el mayor radio disolvente/gelator fue encontrado para nitrometano y acetonitrilo con unos valores de 4398:1 y 4484:1 respectivamente.

Para intentar mejorar la concentración de gelificación crítica, se cambió de procedimiento y se utilizó un aparato de ultrasonidos para sonicar los compuestos una vez que estuvieran disueltos. Primero se calentaba la muestra hasta que estaba disuelta “heating” y posteriormente se dejaban 10 minutos en la máquina de ultrasonidos “ultrasound”. En ese tiempo algunos de los compuestos gelificaban y otros lo hacían al dejarlos reposar durante un tiempo “cooling”. Los disolventes en los que se probó este nuevo método están descritos en la siguiente tabla.

Tabla 3.12. Pruebas de gelificación con el compuesto **71** con el método “Heating-Ultrasound”.

Entrada	Disolvente	Fase	Apariencia Óptica	CGC (g L ⁻¹)	Procedimiento	Estabilidad
1	Metanol	G	Opaco	2894.7	Heating- Ultrasound	2 meses
2	5-fenil-1-pentanol	G	Translúcido	549.54	Heating- Ultrasound	2 meses
3	3-Hidroxipropionitrilo	G	Opaco	-	Heating- Ultrasound	3 meses

4	1-pentanol	G	Translúcido	2894.7	Heating- Ultrasound	4 meses
5	2,2,2-trifluoroetanol	-	-	-	Heating- Ultrasound	2 meses
6	5-hexen-1-ol	G	Opaco	154.7	Heating- Ultrasound	2 meses
7	Butan-2-ol	G	Translúcido	1002.7	Heating- Ultrasound	3 meses
8	Tert-butilalcohol	G	Translúcido	485.79	Heating- Ultrasound	

El uso de ultrasonidos confería a los geles una mayor estabilidad, además de necesitarse tiempos menores de reposo para conseguir el gel formado, esto queda reflejado en la siguiente tabla

Tabla 3.13. Comparación método “*Heating-Cooling*” y “*Heating-Ultrasound*”

Entrada	Disolvente	<i>Heating-Cooling</i>		<i>Heating-Ultrasound</i>	
		Tiempo de gelificación (min)	Concentración (g·L ⁻¹)	Tiempo de gelificación (min)	Concentración (g·L ⁻¹)
1	Metanol	32	4	10	4
2	5-fenil-1-pentanol	4	16	1440	5
3	3-Hidroxipropionitrilo	10	16	10	16
4	1-pentanol	11	10	1440	5
5	2,2,2-trifluoroetanol	12	5	-	-
6	5-hexan-1-ol	10	25	10	25
7	Butan-2-ol	14	10	120	5
8	Tert-butilalcohol	12	10	10	10

El método de “*Heating-Ultrasound*” mejora el tiempo de gelificación utilizando disolventes como metanol (entrada 1) y terbutanol (entrada 8), sin disminuir la concentración lograda con el método “*Heating-Cooling*”. Curiosamente utilizando el disolvente 2,2,2-trifluoroetanol, el compuesto precipitaba al utilizar la técnica de ultrasonidos, por lo que no mejoraba la técnica anterior (entrada 5). Cabe destacar que para los disolventes 5-fenil-1-pentanol (entrada 2) y 1-pentanol (entrada 4) los geles

formados con el método que conlleva ultrasonidos hacía mejorar la concentración del gel final, es decir, se conseguían las mismas concentraciones en el mismo rango de tiempo, pero mientras que usando el método “*Heating-Cooling*” no se lograba disminuir la concentración. Se lograba utilizando ultrasonidos llegando a conseguir concentraciones de $5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, aunque por otro lado se aumentaba el tiempo de reposo. Utilizando el disolvente 3-OH-propionitrilo (entrada 3) se consiguió mejorar la apariencia óptica del gel, debido a que no se formaba perfectamente cuando no se procedía a dejarlo 10 minutos en la máquina de ultrasonidos.

Para comprobar si el grupo difenilfosfino de la escuaramida era causante del proceso de gelificación de los compuestos, se sintetizaron los compuestos **88**, **89** y **90**, mostrados en la Figura 3.28.

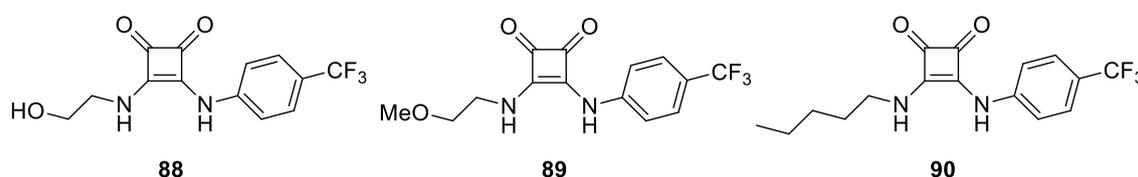


Figura 3.28. Compuestos **88**, **89** y **90**.

Se siguieron los dos métodos mencionados anteriormente y se probó inicialmente en cuatro disolventes, tolueno, acetonitrilo, metanol y cloroformo. Los datos se observan en la siguiente tabla.

Tabla 3.14. Formación de geles con los compuestos **88**, **89**, y **90**

Entrada	Disolvente	88	89	90
1	Tolueno	Insoluble	Insoluble	Insoluble
2	Acetonitrilo	Agregado	Insoluble	Agregado
3	Metanol	Insoluble	Agregado	Agregado
4	Cloroformo	Insoluble	Insoluble	Insoluble

Ninguno de los agregados formados con estos compuestos llegó a ser un gel como los descritos anteriormente con el compuesto **71**, demostrando que en este caso la presencia del grupo PPh_2 favorece la formación del gel en disolventes polares como alcoholes, y otros disolventes como nitrometano y acetonitrilo. En la siguiente figura se puede observar como los compuestos no consiguen llegar a ser geles, sino más bien agregados sólidos encapsulados en el disolvente como se puede observar en la Figura 3.29.



88
Acetonitrilo



89
Metanol



90
Acetonitrilo

Figura 3.29. Agregados de **88**, **89** y **90**.

3.7. Conclusiones

Se ha logrado sintetizar diversas escuaramidas, donde uno de los sustituyentes es un derivado de anilina que contiene uno o varios grupos CF_3 y el otro sustituyente contiene un grupo fosfina. Este grupo fosfina sirve como punto de coordinación con diferentes metales del grupo 11.

Así, se han preparado compuestos de cobre y plata con dos ligandos escuaramida coordinados al metal central y también derivados de oro con ligandos cloro o tiolatos como ligandos auxiliares.

Se midió el IC_{50} de los compuestos orgánicos y sus derivados metálicos de oro, plata y cobre, pero su actividad citotóxica no fue la deseada. Debido a ello se modificaron los derivados de oro, formando nuevos complejos con grupos tiolato que favorecen la solubilidad en el suero sanguíneo y, así, han mostrado valores de IC_{50} muy similares a los del Auranofin.

Los complejos de plata y cobre debido a la multitud de puente de hidrógeno que se pueden originar en las moléculas se utilizaron como catalizadores en dos reacciones diferentes (Mukaiyama y Henry), pero no dieron los resultados esperados.

Finalmente se hizo un estudio de gelificación para los compuestos **70**, **71** y **72** en diferentes disolventes, donde se obtuvieron geles con muy baja concentración para el compuesto **71** y se llevó a cabo un estudio donde se verificó que el grupo fosfina ayudaba a la formación de los geles.

3.8. Experimental

3.8.1. Starting Materials

The starting materials [AuCl(tht)], [Ag(OTf)], [Cu(NCMe)₄]PF₆ were prepared according to published procedures. All other reagents were commercially available and were used without further purification.

3.8.2. Instrumentation

3.8.2.1. Mass Spectrometry

Mass spectra were recorded on a Bruker Esquire 3000 PLUS, with the electrospray (ESI) technique and time of flight (Q-TOF) was used as the analyser, and on a Bruker Microflex (MALDI-TOF).

3.8.2.2. NMR Spectroscopy

¹H, ¹³C{¹H}, ¹⁹F and ³¹P{¹H} NMR, including 2D experiments like COSY (¹H-¹H), HSQC (¹H-¹³C) and HMBC (¹H-¹³C), were recorded at room temperature on a Bruker Avance 400 spectrometer (¹H 400.0 MHz, ¹³C 100.6 MHz, ¹⁹F 376.5, ³¹P 162.0 MHz), with chemical shifts (δ, ppm) reported relative to the solvent peaks of the deuterated solvent. All *J* values are given in Hz.

3.8.2.3. UV-vis Studies

UV-Vis spectra were recorded with a 1 cm quartz cells on an Evolution 600 spectrophotometer.

3.8.2.4. Luminiscence Studies

Room temperature steady-state emission and excitation spectra were recorded with a Jobin-Yvon-Horiba fluorolog FL3-11 spectrometer fitted with a JY TBX picosecond detection module.

3.8.3. Cytotoxicity Studies

The previous steps to the MTT assay were:

- Cell growth in the culture medium.
- Culture cell count.
- Seeding cells in "multi-well" plates.

-Adding the complexes under study.

-Using the MTT assay.

The first three points were made by the group of Professor Isabel Marzo, in the Department of Biochemistry at the University of Zaragoza.

3.8.3.1. Antiproliferative Studies: MTT Assay

A549 and HeLa cells were grown in DMEM medium supplemented with 5% fetal bovine serum (SFB), 100 mg · mL⁻¹ pyruvate, 2.2 g · L⁻¹ sodium bicarbonate, 5 mL non-essential amino acids (Invitrogen), 2mM L-glutamine and antibiotics. Cells were grown at 2 · 10⁵ cells / mL, in 96-well flat-bottomed microplates and allowed to attach for 24 h prior to addition of compounds.

The complexes were solved in DMSO and added at different concentrations between 1 and 50 µM in quadruplicate. Each complex was added in four different concentrations of the drugs obtained by different dilutions and with a column of negative controls (cells with a DMSO concentration similar to which contain the solutions of the complexes) and another column of blank (medium only).

To make these dilutions, between 2 and 3 mg of the compound were weighed and dissolved in DMSO to obtain a stock solution of 0.1M. It was then diluted to obtain a solution of 0.001 M in medium (DMEM) and finally from this, dilutions were made to obtain the different concentrations that would be added in the 96-well plate.

Cells were incubated with our compounds for 24 h hours at 37 °C and with a 5 % CO₂ atmosphere. Then, 10 µL of MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazole) of a concentration 5 mg · mL⁻¹ was added to each well and plates were incubated for 2 h at the same conditions as described above (37 °C and with a 5 % CO₂ atmosphere). The crystals of blue formazan that it will have formed, it will be adhered to the bottom of the well, so before dissolving them it is necessary to remove the supernatant by the “flipping” technique and then dissolve them in DMSO (100 µL per well). The plates are shaken to help to dissolve the formazan precipitated. The optical density was measured at 550 nm using a 96-well multiscanner autoreader (ELISA). The IC₅₀ was calculated by nonlinear regression analysis.

The results are expressed in % of living cells and are obtained in the following formula:

$$\% \text{ living cells} = (A - B) \times 100$$

Being *A* the average optical density of treated cells and *B* the optical density of control cells.

Comparison values are made on a 50% growth inhibition basis (IC₅₀) in cells treated with specific agents.

3.8.3.2. Cell Death Studies

HeLa cell line was used for these studies; these cells were seeded in 24-well plates. HeLa cells were grown in DMEM medium supplemented with 5 % fetal bovine serum (SFB), 100 mg·mL⁻¹ pyruvate, 2.2 g·L⁻¹ sodium bicarbonate, 5 mL non-essential amino acids (Invitrogen), 2m M L-glutamine and antibiotics. Cells were grown at 2·10⁵ cells / mL, in 96-well flat-bottomed microplates and allowed to attach for 24 h prior to addition of compounds.

The plates were incubated in a HERA cell 150 model thermostated incubator (Thermo Fischer Scientific) for 24 hours at 37 °C and with a 5 % CO₂ atmosphere

The complexes were solved in DMSO and added at different concentrations between 1 and 10 μM in duplicate. Each complex was added in four different concentrations (close to the concentration obtained by the MTT method, that is, their IC₅₀) of the drugs obtained by different dilutions and with a column of negative controls (cells with a DMSO concentration similar to which contain the solutions of the complexes) and another column of blank (medium only). After 24 hours the AnnexinV-FITC and 7-ADD dyes were added. AnnexinV is left incubating for 20 minutes and then 7-add is added, after which luminescence is measured in the cytometer.

The cell death mechanism studies required the use of a BD FACS Calibur model cytometer (BD Biosciences), the data obtained were analyzed with the CellQuest Pro program.

3.8.3.3. Study of Cytotoxic Selectivity, Jurkat. vs Lymphocytes.

For this study the Jurkat cell line was used. These cells were grown in RPMI medium supplemented with 5 % fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine and antibiotics. In this method, for both the Jurkat cell line and lymphocytes, the cells that were cultured were 10,000 cells / mL in 96-well plates.

The plates were incubated in a HERA cell 150 model thermostated incubator (Thermo Fischer Scientific) for 24 hours at 37 °C and with a 5 % CO₂ atmosphere. Then, 10 µL of MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazole) of a concentration 5 mg·mL⁻¹ was added to each well. It is allowed to incubate in an oven for two hours at the same conditions as described above (37 °C and with a 5 % CO₂ atmosphere). The crystals of blue formazan that will have formed will be in the supernatant, therefore, it is necessary to centrifuge before dissolving them in DMSO (100 µL per well) and removing the supernatant by the "flipping" technique. The plates are shaken to help to dissolve the formazan precipitated. The optical density was measured at 550 nm using a 96-well multiscanner autoreader (ELISA). The IC₅₀ was calculated by nonlinear regression analysis.

The centrifugation process was carried out in an Allegra X-15R (Beckmancoulter) model centrifuge.

3.8.4. Distribution Coefficient (K_{ow})

The UV-Visible spectrum was measured at different time intervals, absorbance studies were recorded on a Unicam UV-4 and Evolution 600 spectrometer. The n-octanol/water coefficients of the complexes were determined as previously reported⁵⁷ by using a shake-flask method. PBS-buffered distilled water (100 mL, phosphate buffer [PO₄³⁻] = 10 µM, [NaCl] = 0.15 M, pH 7.4) and n-octanol (100 mL) were shaken together for 72 h to allow saturation of both phases. The complexes (1 mg) were mixed in aqueous and organic phase (1 mL), respectively, for 10 min. The resultant emulsion was centrifuged to separate the phases. The concentrations of the compound in each phase were determined by using UV absorbance spectroscopy. The value of logK_{ow} was defined as [compound(organic)]/[compound(aqueous)].

3.8.5. Critical Gelation Concentration (CGC)

The critical gelation concentration was calculated using the following equation:

$$\frac{\text{Mol solvent}}{\text{Mol compound}} = \frac{(g = \rho \times L)/PM}{g/PM}$$

Being ρ the density of the solvent and L the volume used in the experiment.

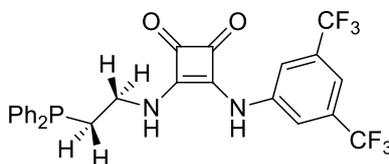
⁵⁷ C. Wetzel, P. C. Kunz, M. U. Kassak, A. Hamacher, P. Böhler, W. Watjen, I. Ott, R. Rubbiani, B. Spingler, *Dalton Trans.*, **2011**, 40, 9212.

3.8.6. Synthesis

Synthesis of compound 70

To a solution of 3,4-Dimethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (29 mg, 0.2 mmol) in methanol (5 ml) was added 3,5-bis(trifluoromethyl)aniline (32 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred. 80 h later, 2-(diphenylphosphino)ethylamine was added (46 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 77 %.



70

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 10.04 (s, 1H, *NH*-Ph); 7.96 (s, 2H, *H*_{ortho}Ph-CF₃); 7.79 (s, 1H, *NH*-CH₂); 7.60 (s, 1H, *H*_{para}Ph-CF₃); 7.41 (m, 4H, *H*_{ortho}PPh₂); 7.31 (m, 6H, *H*_{meta}+*H*_{para}PPh₂); 3.72 (s br, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂); 2.47 (s br, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.8 (s, 3F, CF₃).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -22.6 (s, 1P, PPh₂).

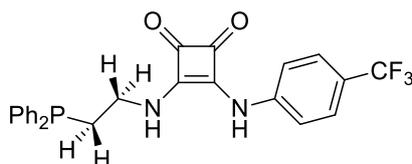
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.7 (s, 1C, C=O); 180.5 (s, 1C, C=O); 169.6 (s, 1C, Ph-C=C-NH-CH₂); 162.7 (s, 1C, Ph-NHC=C-CH₂); 141.1 (s, 1C, *C*_{ipso}-Ph-CF₃); 137.5 (d, 2C, *C*_{ipso}-PPh₂, ¹*J*_{CP} = 12.8 Hz); 132.4 (d, 4C, *C*_{ortho}PPh₂, ²*J*_{CP} = 19.0 Hz); 131.3 (q, 1C, *C*_{ipso}-Ph-CF₃, ²*J*_{CP} = 32.2 Hz); 128.8 (s, 2C, *C*_{para}PPh₂); 128.6 (d, 4C, *C*_{meta}PPh₂, ²*J*_{CP} = 6.8 Hz); 123.2 (q, 2C, CF₃, ¹*J*_{CF} = 272.9 Hz); 118.0 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph-CF₃); 114.4 (s, 1C, *C*_{para}Ph-CF₃); 41.4 (d, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ²*J*_{CP} = 22.6 Hz); 28.4 (d, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ²*J*_{CP} = 13.1 Hz).

MS (ESI+ μ -TOF): *m/z* (%) = [M]⁺ Calcd for [C₂₆H₁₉F₆N₂O₂P] 536.1083. Found 559.0960 [C₂₆H₁₉F₆N₂O₂P + Na]⁺.

Synthesis of compound 71

To a solution of 3,4-dimethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (29 mg, 0.2 mmol) in methanol (5 ml) was added 4-(trifluoromethyl)aniline (25 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred. 64 hours later, 2-(diphenylphosphino)ethylamine was added (46 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 98 %.



71.

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.88 (s, 1H, NH-Ph); 7.85 (s, 1H, NH-CH₂); 7.66 (s, 2H, H_{ortho}Ph-CF₃); 7.58 (s, 1H, H_{meta}Ph-CF₃); 7.45 (m, 4H, H_{ortho}PPh₂); 7.34 (m, 6H, H_{meta}+H_{para}PPh₂); 3.74 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂); 2.50 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -60.2 (s, 3F, CF₃).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -22.4 (s, 1P, PPh₂).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.6 (s, 1C, C=O); 180.2 (s, 1C, C=O); 169.4 (s, 1C, Ph-C=C-NH-CH₂); 162.9 (s, 1C, Ph-NH-C=C-CH₂); 142.5 (s, 1C, C_{ipso}-Ph-CF₃); 137.5 (d, 2C, C_{ipso}-PPh₂, ¹J_{CP} = 12.8 Hz); 132.4 (d, 4C, C_{ortho}PPh₂, ²J_{CP} = 19.0 Hz); 128.8 (s, 2C, C_{para}PPh₂); 128.6 (d, 4C, C_{meta}PPh₂, ²J_{CP} = 6.8 Hz); 126.6 (s, 2C, C_{ortho}Ph-CF₃); 123.6 (m, 2C, CF₃); 122.3 (q, 1C, C_{ipso}-Ph-CF₃, ²J_{CP} = 32.0 Hz); 117.9 (s, 2C, C_{meta}Ph-CF₃); 41.3 (d, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ²J_{CP} = 22.6 Hz); 29.3 (d, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ²J_{CP} = 13.2 Hz).

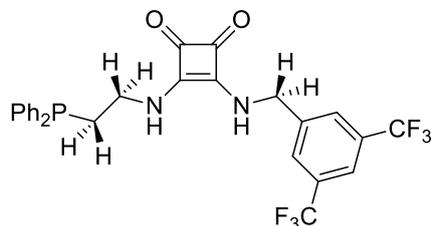
MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₂₅H₂₀F₃N₂O₂P] 468.1209. Found 491.1090 [C₂₅H₂₀F₃N₂O₂P + Na]⁺.

Synthesis 72

To a solution of 3,4-dimethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (29 mg, 0.2 mmol) in methanol (5 ml) was added 3,5-bis(trifluoromethyl)benzylamine (50 mg, 0.2 mmol) and the solution stirred. 21 hours later, 2-(diphenylphosphino)ethylamine was added (46 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced

pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 95 %.



72

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.06 (m, 3H, *H*_{ortho}Ph-CF₃+*H*_{para}Ph-CF₃); 7.33 (m, 10H, *PPh*₂); 4.86 (s, 2H, NH-CH₂-Ph-CF₃); 3.63 (t, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂, ³*J*_{H-H} = 7.3 Hz); 2.42 (s, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂).

¹H NMR (ppm) (400 MHz, CD₃CN): δ = 7.97 (s, 2H, *H*_{ortho}Ph-CF₃); 7.46-7.36 (m, 11H, *H*_{para}Ph-CF₃+*PPh*₂); 6.30 (s, 1H, NH); 6.12 (s, 1H, NH); 4.86 (d, 2H, NH-CH₂-Ph-CF₃, ³*J*_{H-H} = 6.0 Hz); 3.72 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂, ³*J*_{H-H} = 6.6 Hz); 2.45 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.3 (s, 6F, CF₃).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -22.4 (s br, 1P, *PPh*₂).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 182.8 (s, 1C, C=O); 182.5 (s, 1C, C=O); 167.9 (s, 1C, Ph-C=C-CH₂); 167.2 (s, 1C, Ph-C=C-CH₂); 142.6 (s, 1C, *C*_{ipso}-Ph); 137.6 (d, 2C, *C*_{ipso}PPh₂, ¹*J*_{CP} = 12.9 Hz); 132.3 (d, 4C, *C*_{ortho}PPh₂, ²*J*_{CP} = 18.9 Hz); 130.4 (q, 2C, *C*_{ipso}C-CF₃, ²*J*_{CF} = 32.7 Hz); 128.7 (s, 1C, *C*_{para}PPh₂); 128.5 (s br, 4C, *C*_{meta}PPh₂, ³*J*_{CP} = 6.7 Hz); 128.3 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph-CF₃); 123.3 (q, 2C, CF₃, ¹*J*_{CF} = 272.9 Hz); 121.9 (s, 1C, *C*_{para}Ph-CF₃); 45.7 (s, 1C, NH-CH₂-Ph-CF₃); 40.9 (s, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ²*J*_{CP} = 23.1 Hz); 29.47 (s, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ¹*J*_{CP} = 13.2 Hz).

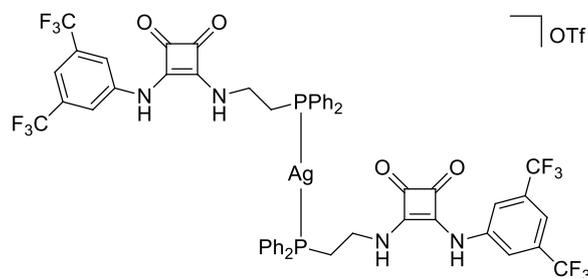
MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₂₇H₂₁F₆N₂O₂P] 550.1239. Found 573.1115 [C₂₇H₂₁F₆N₂O₂P + Na]⁺.

Synthesis of compound 73

To a solution of compound **70** (53 mg, 0.1 mmol) in acetone (5 ml) was added AgOTf (12 mg, 0.05 mmol) and the solution stirred for 2 hours with exclusion of light. The

solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 40%.



73

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 10.20 (s, 1H, *NH*-PPh₂); 7.98 (s, 2H, *H*_{ortho}Ph-CF₃); 7.72 (m, 5H, *H*_{ortho}PPh₂ + *NH*-CH₂); 7.50 (m, 7H, *H*_{para}Ph-CF₃ + *H*_{meta}+*H*_{para}PPh₂); 3.83(m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂); 2.93(m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.8 (s, 6F, CF₃); -77.7 (s, 3F, OTf).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -1.7 (d, 1P, PPh₂, ¹J_{Ag-P} = 394.8Hz).

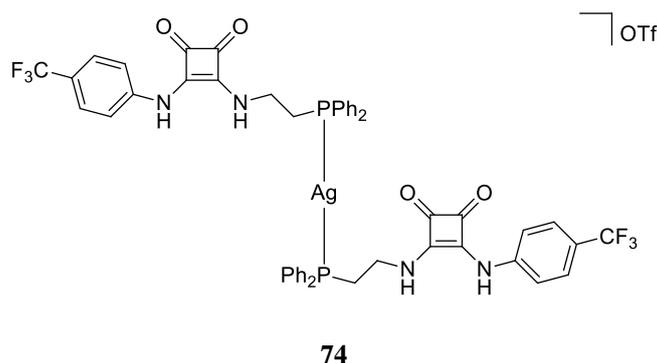
¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.8 (s, 1C, C=O); 180.2 (s, 1C, C=O); 169.0 (s, 1C, Ph-C=C-CH₂); 162.8 (s, 1C, Ph-C=C-CH₂); 140.8 (s, 1C, C_{ipso}-Ph); 133.0 (s br, 4C, C_{ortho}PPh₂); 131.2 (d, 2C, C_{ipso}PPh₂, ¹J_{CP} = 33.2 Hz); 130.9 (s br, 1C, C_{para}PPh₂); 129.1 (s br, 4C, C_{meta}PPh₂); 123.1 (q, 2C, CF₃, ¹J_{CF} = 272.7 Hz); 117.8 (s, 2C, C_{ortho}Ph-CF₃); 114.7 (s, 1C, C_{para}Ph-CF₃); 40.0 (m, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂); 29.6 (s, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₅₂H₃₈AgF₁₂N₄O₄P₂] 1179.1222. Found 1179.1188.

Synthesis of compound 74

To a solution of compound **71** (46 mg, 0.1 mmol) in acetone (5 ml) was added AgOTf (12 mg, 0.05 mmol) and the solution stirred for 2 hours with exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and hexane (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 46%.



^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.90 (s, 1H, NH-PPh_2); 7.70 (m, 5H, $H_{ortho}\text{PPh}_2$ + NH-CH_2); 7.57 (s, 2H, $H_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 7.48 (m, 8H, $H_{meta}\text{Ph-CF}_3$ + $H_{meta}+H_{para}\text{PPh}_2$); 3.84 (s br, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 2.93 (s br, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -60.3 (s, 3F, CF_3); -77.7 (s, 3F, OTf).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -1.1 (s br, 1P, PPh_2).

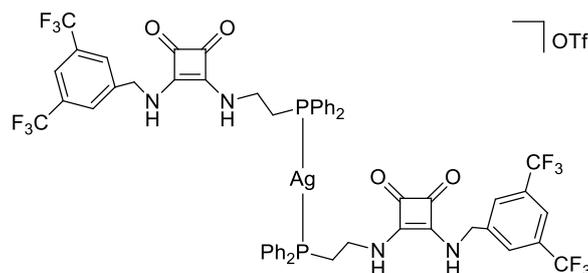
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.8 (s, 1C, C=O); 179.9 (s, 1C, C=O); 168.8 (s, 1C, C=C); 163.4 (s, 1C, C=C); 142.82 (s, 1C, $\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$); 132.8 (d, 4C, $\text{C}_{ortho}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP}$ = 13.8 Hz); 131.6 (d, 2C, $\text{C}_{ipso}\text{PPh}_2$, $^1J_{CP}$ = 29.5 Hz); 130.7 (s br, 1C, $\text{C}_{para}\text{PPh}_2$); 129.0 (s br, 4C, $\text{C}_{meta}\text{PPh}_2$, $^3J_{CP}$ = 5.1 Hz); 126.5 (s, 2C, $\text{C}_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 122.6 (m, 1C, CF_3); 118.0 (s, 2C, $\text{C}_{meta}\text{Ph-CF}_3$); 41.1 (m, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 27.8 (s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{50}\text{H}_{40}\text{AgF}_6\text{N}_4\text{O}_4\text{P}_2]$ 1043.1474. Found 1043.1491.

Synthesis of compound 75

To a solution of compound **72** (56 mg, 0.1 mmol) in acetone (5 ml) was added AgOTf (12 mg, 0.05 mmol) and the solution stirred for 2 hours with exclusion of light. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 38%.



75

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.06 (s, 1H, $H_{para}\text{Ph-CF}_3$); 8.04 (s, 2H, $H_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 7.66 (s, 4H, $H_{ortho}\text{PPh}_2$); 7.43 (s, 6H, $H_{meta}+H_{para}\text{PPh}_2$); 4.81 (s, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-Ph-CF}_3$); 3.78 (s, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 2.82 (s, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.3 (s, 6F, CF_3); -77.7 (s, 3F, OTf).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -0.2 (s br, 1P, PPh_2).

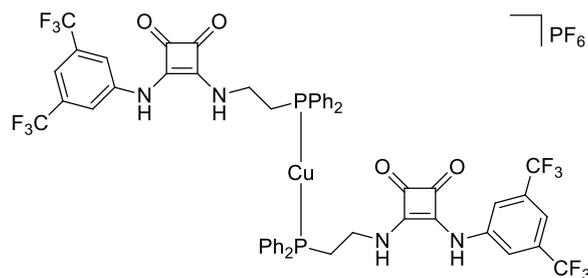
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 183.0 (s, 1C, C=O); 182.1 (s, 1C, C=O); 167.7 (s, 1C, C=C); 167.3 (s, 1C, C=C); 142.3 (s, 1C, $\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$); 132.9 (d, 4C, $\text{C}_{ortho}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP} = 9.2$ Hz); 131.7 (d, 2C, $\text{C}_{ipso}\text{PPh}_2$, $^1J_{CP} = 28.1$ Hz); 130.7 (s br, 1C, $\text{C}_{para}\text{PPh}_2$); 130.4 (q, 2C, $\text{C}_{ipso}\text{C-CF}_3$, $^2J_{CF} = 33.0$ Hz); 129.0 (s br, 4C, $\text{C}_{meta}\text{PPh}_2$); 128.6 (s, 2C, $\text{C}_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 123.3 (q, 2C, CF_3 , $^1J_{CF} = 272.7$ Hz); 121.2 (s, 1C, $\text{C}_{para}\text{Ph-CF}_3$); 45.8 (s, 1C, $\text{NH-CH}_2\text{-Ph-CF}_3$); 40.9 (s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 28.3 (s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{54}\text{H}_{42}\text{AgF}_{12}\text{N}_4\text{O}_4\text{P}_2]$ 1207.1535 Found 1207.1570.

Synthesis of compound 76

To a solution of compound **70** (53 mg, 0.2 mmol) in acetonitrile (50 ml) was added $[\text{Cu}(\text{NCMe})_4]\text{PF}_6$ (18.6 mg, 0.05 mmol) and the solution stirred for 2 hours. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and pentane (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 38%.



76

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 10.17 (s, 1H, *NH*-PPh₂); 7.87 (s, 2H, *H*_{ortho}Ph-CF₃); 7.73 (s, 1H, *NH*-CH₂); 7.57 (m, 4H, *H*_{ortho}PPh₂); 7.52 (s, 1H, *H*_{para}Ph-CF₃); 7.43 (m, 6H, *H*_{meta}+*H*_{para}PPh₂); 3.71 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂); 2.76 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.9 (s, 6F, CF₃); -69.2, -71.1 (s, 6F, PF₆).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -15.8 (s, 1P, PPh₂).

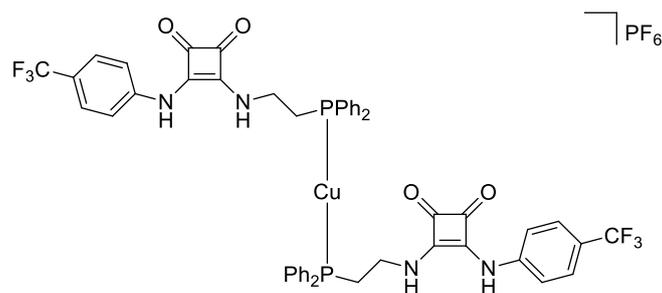
^{13}C APT (100 MHz, DMSO): δ = 184.7 (s, 1C, C=O); 180.2 (s, 1C, C=O); 169.0 (s, 1C, Ph-C=C-CH₂); 162.7 (s, 1C, Ph-C=C-CH₂); 140.8 (s, 1C, *C*_{ipso}-Ph); 132.5 (s br, 4C, *C*_{ortho}PPh₂); 131.2 (d, 2C, *C*_{ipso}PPh₂, $^1J_{\text{CP}}$ = 33.1 Hz); 130.2 (s br, 1C, *C*_{para}PPh₂); 128.8 (s br, 4C, *C*_{meta}PPh₂); 123.0 (q, 2C, CF₃, $^1J_{\text{CF}}$ = 272.7 Hz); 117.8 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph-CF₃); 114.7 (s, 1C, *C*_{para}Ph-CF₃); 40.1 (s, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂); 27.5 (m, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂).

MS (ESI+ μ -TOF): *m/z* (%) = [M]⁺ Calcd for [C₅₂H₃₈CuF₁₂N₄O₄P₂] 1135.1467. Found 1135.1499.

Synthesis of compound 77

To a solution of compound **71** (46 mg, 0.2 mmol) in acetonitrile (50 ml) was added [Cu(NCMe)₄]PF₆ (18.6 mg, 0.05 mmol) and the solution stirred for 2 hours. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and pentane (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 30%.



77

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.91 (s, 1H, NH-Ph-CF_3); 7.72-7.56 (m, 15H, $H_{ortho}\text{Ph-CF}_3$ + $H_{meta}\text{Ph-CF}_3$ + $H_{ortho}\text{PPh}_2$ + $H_{meta}\text{PPh}_2$ + $H_{para}\text{PPh}_2$ + NH-CH_2); 3.72 (m, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 2.73 (m, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -60.3 (s, 6F, CF_3); -69.2, -71.1 (s, 6F, PF_6).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = -15.4 (s, 1P, PPh_2).

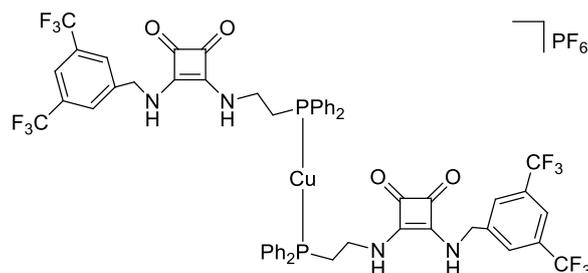
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.7 (s, 1C, C=O); 179.9 (s, 1C, C=O); 168.9 (s, 1C, C=C); 163.3 (s, 1C, C=C); 142.3 (s, 1C, $\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$); 132.5 (s br, 4C, $\text{C}_{ortho}\text{PPh}_2$); 130.2 (s br, 1C, $\text{C}_{para}\text{PPh}_2$); 128.8 (s br, 4C, $\text{C}_{meta}\text{PPh}_2$); 126.5 (s, 2C, $\text{C}_{para}\text{Ph-CF}_3$); 123.0 (m, 2C, CF_3); 118.0 (s, 2C, $\text{C}_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 40.7 (s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 27.8 (s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{50}\text{H}_{40}\text{CuF}_6\text{N}_4\text{O}_4\text{P}_2]$ 999.1719. Found 999.1731.

Synthesis of compound 78

To a solution of compound **72** (55 mg, 0.1 mmol) in acetonitrile (50 ml) was added $[\text{Cu}(\text{NCMe})_4]\text{PF}_6$ (18.6 mg, 0.05 mmol) and the solution stirred for 2 hours. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and pentane (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 35%.



78

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.05 (m, 3H, $H_{ortho}\text{Ph-CF}_3$ + $H_{para}\text{Ph-CF}_3$); 7.50 (s, 4H, $H_{ortho}\text{PPh}_2$); 7.37 (s, 1H, $H_{para}\text{Ph-CF}_3$); 4.82 (s, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-Ph-CF}_3$); 3.64(s, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 2.59(s, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.9 (s, 6F, CF_3); -69.2, -71.1 (s, 6F, PF_6).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = -14.8 (s, 1P, PPh_2).

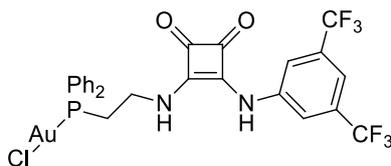
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 183.1(s, 1C, C=O); 142.3 (s, 1C, $\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$); 132.4 (s br, 4C, $\text{C}_{ortho}\text{PPh}_2$); 130.6 (m, 2C, $\text{C}_{ipso}\text{C-CF}_3$); 130.1 (s, 1C, $\text{C}_{para}\text{PPh}_2$); 128.7 (s br, 4C, $\text{C}_{meta}\text{PPh}_2$); 128.6 (s, 2C, $\text{C}_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 123.3 (q, 2C, CF_3 , $^1J_{\text{CF}} = 273.0$ Hz); 121.3 (s, 1C, $\text{C}_{para}\text{Ph-CF}_3$); 45.8 (s, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-Ph-CF}_3$); 40.3(s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 28.2 (m, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{54}\text{H}_{42}\text{CuF}_{12}\text{N}_4\text{O}_4\text{P}_2]$ 1163.1780. Found 1163.1799.

Synthesis of compound 79

To a solution of compound **70** (53 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added $[\text{AuCl}(\text{tht})]$ (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 2 hours. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and pentane (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 27%.



79

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): $\delta = 10.14$ (s, 1H, NH-Ph-CF_3); 7.98 (s, 2H, $H_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 7.81 (m, 5H, $H_{ortho}\text{PPh}_2 + \text{NH-CH}_2$); 7.68 (s, 1H, $H_{para}\text{Ph-CF}_3$); 7.56 (s, 6H, $H_{meta}+H_{para}\text{PPh}_2$); 3.18 (m, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 3.94 (m, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): $\delta = -63.6$ (s, 3F, CF_3).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): $\delta = 24.2$ (s, 1P, PPh_2).

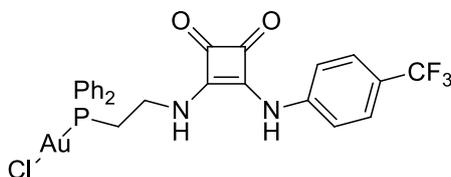
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): $\delta = 184.5$ (s, 1C, C=O); 180.7 (s, 1C, C=O); 169.5 (s, 1C, Ph-C=C-CH_2); 162.7 (s, 1C, Ph-C=C-CH_2); 140.9 (s, 1C, $C_{ipso}\text{-Ph}$); 133.2 (d, 4C, $C_{ortho}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP} = 13.5$ Hz); 132.1 (d, 2C, $C_{para}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP} = 2.2$ Hz); 131.3 (q, 1C, $C_{ipso}\text{-Ph-CF}_3$); 129.4 (d, 4C, $C_{meta}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP} = 11.6$ Hz); 129.0 (d, 2C, $C_{ipso}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP} = 60.8$ Hz); 123.2 (q, 2C, CF_3 , $^1J_{CF} = 272.8$ Hz); 118.3 (s, 2C, $C_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 114.9 (s, 1C, $C_{para}\text{Ph-CF}_3$); 39.8 (m, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 28.4 (d, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $^2J_{CP} = 37.7\text{Hz}$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{AuClF}_6\text{N}_2\text{O}_2\text{P}]$ 768.0137. Found 791.0318 $[\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{AuClF}_6\text{N}_2\text{O}_2\text{P} + \text{Na}]^+$.

Synthesis of compound 80

To a solution of compound **71** (46 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added $[\text{AuCl}(\text{tht})]$ (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 2 hours. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and pentane (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 32%.



80

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): $\delta = 9.87$ (s, 1H, NH-Ph-CF_3); 7.89 (s, 1H, NH-CH_2); 7.78 (m, 4H, $H_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 7.67-7.54 (m, 10H, $H_{meta}+H_{para}\text{PPh}_2 + H_{ortho}\text{Ph-CF}_3 + H_{meta}\text{Ph-CF}_3$); 3.96 (m, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 3.18 (m, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): $\delta = -57.3$ (s, 3F, CF_3).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): $\delta = 27.5$ (s, 1P, PPh_2).

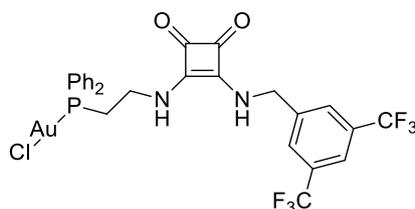
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.4 (s, 1C, C=O); 180.4 (s, 1C, C=O); 169.3 (s, 1C, C=C); 163.3 (s, 1C, C=C); 142.4 (s, 1C, $C_{ipso}\text{-Ph}$); 133.2 (d, 4C, $C_{ortho}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP}$ = 13.5 Hz); 132.0 (d, 2C, $C_{para}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP}$ = 2.7 Hz); 131.3 (d, 1C, $C_{ipso}\text{PPh}_2$, $^1J_{CP}$ = 34.3 Hz); 129.4 (d, 4C, $C_{meta}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP}$ = 11.7 Hz); 128.7 (s, 2C, $C_{ipso}\text{-Ph-CF}_3$); 126.6 (s, 2C, $C_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 122.5 (m, 1C, CF_3); 118.1 (s, 2C, $C_{meta}\text{Ph-CF}_3$); 39.8 (m, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 28.7 (d, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $^2J_{CP}$ = 32.2 Hz).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[\text{M}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{AuClF}_3\text{N}_2\text{O}_2\text{P}]$ 700.0584. Found 723.0442 $[\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{AuClF}_3\text{N}_2\text{O}_2\text{P} + \text{Na}]^+$.

Synthesis of compound 81

To a solution of compound **72** (55 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added $[\text{AuCl}(\text{tht})]$ (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred for 2 hours. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and pentane (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 38%.



81

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 7.95 (m, 3H, Ph-CF_3); 7.73 (m, 4H, $ortho\text{PPh}_2$); 7.49 (m, 6H, $meta, para\text{PPh}_2$); 6.69 (s br, 1H, $\text{NH-CH}_2\text{-Ph-CF}_3$); 6.53 (s br, 1H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$); 4.83 (d, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-Ph-CF}_3$, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz); 3.90 (m, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$); 3.01 (m, 2H, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -63.2 (s, 1P, CF_3).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 24.6 (s, 1P, PPh_2).

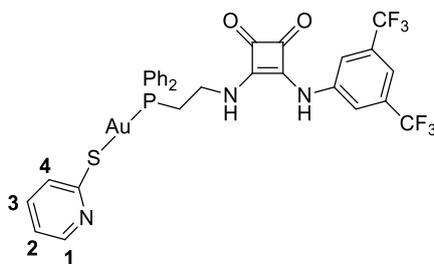
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.2 (s, 1C, C=O); 168.7 (s, 1C, C=C); 142.9 (s, 1C, $C_{ipso}\text{-Ph}$); 134.3 (d, 4C, $C_{ortho}\text{PPh}_2$, $^2J_{CP} = 13.5$ Hz); 133.0 (d, 2C, $C_{para}\text{PPh}_2$, $^4J_{CP} = 2.6$ Hz); 132.2 (d, $C_{ipso}\text{PPh}_2$); 130.3 (d, 4C, $C_{meta}\text{PPh}_2$, $^3J_{CP} = 11.7$ Hz); 129.9 (m, 2C, CF_3); 129.5 (s, 2C, $C_{ortho}\text{Ph-CF}_3$); 122.5 (s, 1C, $C_{para}\text{Ph-CF}_3$); 47.4 (s, 1C, $\text{NH-CH}_2\text{-Ph-CF}_3$); 43.4 (s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$); 30.7 (s, 1C, $\text{PPh}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[M]^+$ Calcd for $[C_{27}H_{21}AuClF_6N_2O_2P]$ 782.0593. Found 805.0477 $[C_{27}H_{21}AuClF_6N_2O_2P + Na]^+$.

Synthesis of compound 82

To a solution of compound **70** (53 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added $[AuCl(tht)]$ (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred. 2 hours later, 2-mercaptopyridine was added (11 mg, 0.1 mmol) with an excess of K_2CO_3 and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et_2O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 40%.



82

1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.22 (d, 1H, 1, $^1J_{HH}$ = 4.2 Hz); 7.91 (m, 4H, $H_{ortho}PPh_2$); 7.56 (m, 8H, $H_{meta}+H_{para}PPh_2+H_{ortho}Ph-CF_3$); 7.33 (m, 3H, 3+4+ $H_{para}Ph-CF_3$); 6.89 (t, 1H, 2, $^1J_{HH}$ = 6.4 Hz); 3.71 (m, 2H, $PPh_2-CH_2-CH_2$); 3.17 (m, 2H, $PPh_2-CH_2-CH_2$).

$^{19}F\{^1H\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.5 (s, 1F, CF_3).

$^{31}P\{^1H\}$ NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 29.3 (s, 1P, PPh_2).

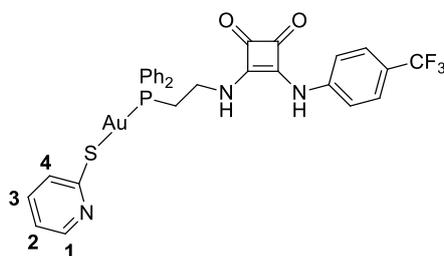
^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 148.4 (s, 1C, 1); 136.6;125.8 (s, 2C, 3,4); 133.3 (d, 4C, $C_{ortho}PPh_2$, $^2J_{CP}$ = 33.1 Hz); 131.7 (s, 2C, $C_{para}PPh_2$); 130.0 (m, 2C, CF_3); 129.4 (d, 4C, $C_{meta}PPh_2$, $^3J_{CP}$ = 11.3 Hz); 118.0 (s, 1C, 2); 39.6 (s, 1C, $PPh_2-CH_2-CH_2$); 29.6 (m, 1C, $PPh_2-CH_2-CH_2$).

MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[M]^+$ Calcd for $[C_{31}H_{24}AuF_6N_3O_2PS]$ 844.0891. Found 844.0856.

Synthesis of compound 83

To a solution of compound **71** (46 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added [AuCl(tht)] (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred. 2 hours later, 2-mercaptopyridine was added (11 mg, 0.1 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite and concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 52%.



83

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.21 (m, 1H, 1); 7.94 (m, 4H, *H*_{ortho}PPh₂); 7.55 (m, 8H, *H*_{meta}PPh₂ + *H*_{ortho}Ph-CF₃ + *H*_{meta}Ph-CF₃); 7.31 (m, 2H, 3+4); 6.88 (m, 1H, 2); 3.94 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂); 3.19 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -59.9 (s, 3F, CF₃).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 29.4 (s, 1P, PPh₂).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 148.3 (s, 1C, 1); 136.6;125.8 (s, 2C, 3,4); 133.4 (d, 4C, *C*_{ortho}PPh₂, ²*J*_{CP} = 13.7 Hz); 131.8 (s, 2C, *C*_{para}PPh₂); 130.3 (s, 2C, *C*_{ortho}Ph-CF₃); 129.8 (s, 1C, *C*_{ipso}PPh₂); 129.3 (d, 4C, *C*_{meta}PPh₂, ³*J*_{CP} = 11.3 Hz); 128.6 (s, 2C, *C*_{meta}Ph-CF₃); 118.0 (s, 1C, 2); 41.1 (s, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂); 28.6 (m, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂).

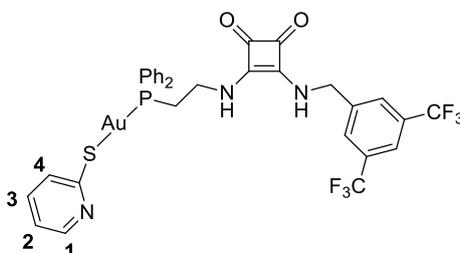
MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₀H₂₄AuF₃N₃O₂PS] 775.0939. Found 798.0804 [C₃₀H₂₄AuF₂N₃O₂PS + Na]⁺.

Synthesis of compound 84

To a solution of compound **72** (55 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added [AuCl(tht)] (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred. 2 hours later, 2-

mercaptopyridine was added (11 mg, 0.1 mmol) with an excess of K_2CO_3 and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite and concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et_2O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 39%.



84

1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.20 (s, 1H, 1); 8.04 (m, 3H, $H_{ortho}Ph-CF_3 + H_{para}Ph-CF_3$); 7.90 (m, 4H, $H_{ortho}PPh_2$); 7.54 (m, 6H, $H_{meta} + H_{para}PPh_2$); 7.33 (m, 2H, 3+4); 6.90 (s, 1H, 2); 4.81 (s, 2H, $NH-CH_2-Ph-CF_3$); 3.89 (m, 2H, $PPh_2-CH_2-CH_2$); 3.12 (m, 2H, $PPh_2-CH_2-CH_2$).

$^{19}F\{^1H\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.2 (s, 1F, CF_3).

$^{31}P\{^1H\}$ NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 29.7 (s, 1P, PPh_2).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 182.6 (s, 1C, $C=O$); 148.3 (s, 1C, 1); 142.4 (s, 1C, $C_{ipso-Ph}$); 136.6; 125.8 (s, 2C, 3,4); 133.3 (d, 4C, $C_{ortho}PPh_2$, $^2J_{CP} = 13.7$ Hz); 131.7 (s, 2C, $C_{para}PPh_2$); 130.4 (m, 2C, $C_{ipso}C-CF_3$); 129.3 (d, 4C, $C_{meta}PPh_2$, $^3J_{CP} = 11.2$ Hz); 128.6 (s, 2C, $C_{ortho}Ph-CF_3$); 124.6 (m, 2C, CF_3); 121.3 (s, 1C, $C_{para}Ph-CF_3$); 118.1 (s, 1C, 2); 45.8 (s, 2H, $NH-CH_2-Ph-CF_3$); 40.1 (s, 1C, $PPh_2-CH_2-CH_2$); 28.7 (s, 1C, $PPh_2-CH_2-CH_2$).

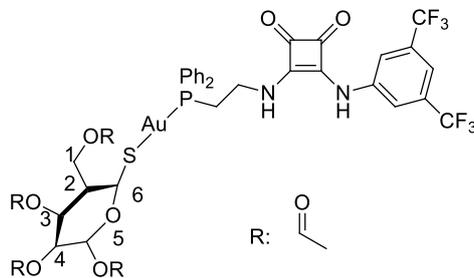
MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = $[M]^+$ Calcd for $[C_{32}H_{26}AuF_6N_3O_2PS]$ 858.1048. Found 858.1013.

Synthesis of compound 85

To a solution of compound **70** (53 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added $[AuCl(tht)]$ (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred. 2 hours later, thioglucose was added (36 mg, 0.1 mmol) with an excess of K_2CO_3 and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite, the filtrate concentrated under reduced pressure

to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 52%.



85

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 7.88 (m, 4H, *H*_{ortho}PPh); 7.83 (s br, 2H, *H*_{ortho}Ph-CF₃); 7.55 (s br, 6H, *H*_{meta}+*H*_{para}PPh₂); 7.22 (s br, 1H, *H*_{para}Ph-CF₃); 5.30 (d, 1H, 6, ³*J*_{H-H} = 9.2 Hz); 5.15 (t, 1H, 4, ³*J*_{H-H} = 9.5 Hz); 4.90 (t, 1H, 3, ³*J*_{H-H} = 9.7 Hz); 4.83 (t, 1H, 5, ³*J*_{H-H} = 9.5 Hz); 4.09 (dt, 1H, 2, ³*J*_{H-H} = 9.1, 12.5 Hz); 3.98 (d, 2H, 1, ³*J*_{H-H} = 11.2 Hz); 3.85 (s br, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂); 3.12 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂), 1.97-1.83 (m, 12H, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.5 (s, 1F, CF₃).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 29.8 (s, 1P, PPh₂).

¹³C APT (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 170.0-169.0 (s, 4C, OC=O); 133.4 (m, 4C, *C*_{ortho}PPh₂); 131.7 (s, 2C, *C*_{para}PPh₂); 130.2 (m, 1C, *C*_{ipso}PPh₂); 129.2 (d, 4C, *C*_{meta}PPh₂, ²*J*_{CP} = 11.2 z); 125.3 (m, 2C, CF₃); 81.7 (s, 1C, 6); 77.1 (s, 1C, 5); 74.3 (s, 1C, 2); 73.3 (s, 1C, 4); 68.6 (s, 1C, 3); 62.3 (s, 1C, 1); 39.8 (m, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂); 31.1 (d, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ²*J*_{CP} = 43.5 Hz); 20.7-20.3 (s, 4C, CH₃).

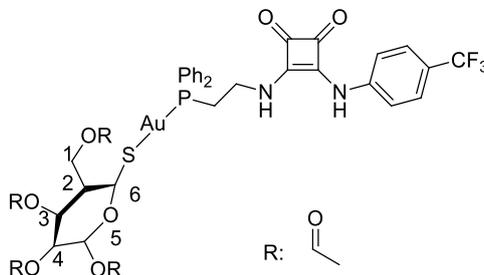
MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%) = [M]⁺ Calcd for [C₄₀H₃₈AuF₆N₂O₁₁PS] 775.0939. Found 1096.1498 [C₄₀H₃₈AuF₆N₂O₁₁PS + Na]⁺.

Synthesis of compound 86

To a solution of compound **71** (46 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added [AuCl(tht)] (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred. 2 hours later, thioglucose was added (36 mg, 0.1 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite and concentrated under reduced pressure to

approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 56%.



86

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 7.87-7.55 (m, 14H, *PPh*₂ + *Ph-CF*₃); 5.32 (d, 1H, 6, ³*J*_{H-H} = 9.3 Hz); 5.16 (t, 1H, 4, ³*J*_{H-H} = 9.5 Hz); 4.90 (m, 2H, 5 + 3); 4.10 (m, 1H, 2); 4.00 (m, 2H, 1); 3.90 (m, 2H, *PPh*₂-CH₂-CH₂); 3.16 (s br, 2H, *PPh*₂-CH₂-CH₂); 1.97-1.83 (m, 12H, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -60.1 (s, 1F, CF₃).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 29.9 (s, 1P, *PPh*₂).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.4 (s, 1C, C=O); 180.4 (s, 1C, C=O); 169.5 (s, 4C, OC=O); 163.5 (s, 1C, C=C); 142.6 (s, 1C, *C*_{ipso}-*Ph*); 133.3 (m, 4C, *C*_{ortho}*PPh*₂, ²*J*_{CP} = 24.9 Hz); 131.8 (s, 2C, *C*_{para}*PPh*₂); 130.3 (m, 1C, *C*_{ipso}*PPh*₂); 129.2 (d, 4C, *C*_{meta}*PPh*₂, ³*J*_{CP} = 11.2 Hz); 126.6 (s, 2C, *C*_{ortho}*Ph-CF*₃); 125.8 (m, 1C, CF₃); 118.2 (s, 2C, *C*_{meta}*Ph-CF*₃); 81.7 (s, 1C, 6); 77.1 (s, 1C, 5); 74.3 (s, 1C, 2); 73.3 (s, 1C, 4); 68.6 (s, 1C, 3); 62.4 (s, 1C, 1); 40.1 (m, 1C, *PPh*₂-CH₂-CH₂); 28.4 (d, 1C, *PPh*₂-CH₂-CH₂, ²*J*_{CP} = 33.9 Hz); 20.4 (s, 4C, CH₃).

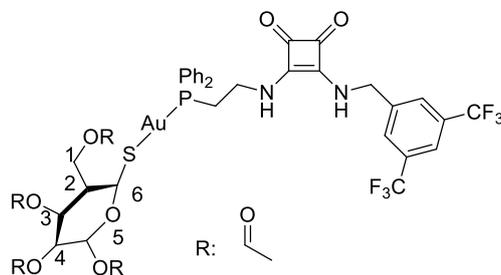
MS (ESI+ μ -TOF): *m/z* (%) = [M]⁺ Calcd for [C₃₉H₃₉AuF₃N₂O₁₁PS] 1028.1624. Found 1051.1557 [C₃₉H₃₉AuF₃N₂O₁₁PS + Na]⁺.

Synthesis of compound 87

To a solution of compound **72** (55 mg, 0.1 mmol) in acetone (20 ml) was added [AuCl(*tht*)] (32 mg, 0.1 mmol) and the solution stirred. 2 hours later, thioglucose was added (36 mg, 0.1 mmol) with an excess of K₂CO₃ and the solution stirred overnight. The solution was filtered through celite and concentrated under reduced pressure to

approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 53%.



87

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 8.05 (s, 3H, *H*_{ortho}Ph-CF₃+ *H*_{para}Ph-CF₃); 7.84 (m, 4H, *H*_{ortho}PPh); 7.54 (s, 6H, *H*_{meta}+*H*_{para}PPh₂); 5.33 (m, 1H, 6); 5.17 (t, 1H, 4, ³*J*_{H-H} = 9.5 Hz); 4.90 (m, 4H, 3+5+ NH-CH₂-Ph-CF₃); 4.10 (m, 1H, 2,); 3.99 (d, 2H, 1, ³*J*_{H-H} = 10.5 Hz); 3.84(s br, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂); 3.11 (m, 2H, PPh₂-CH₂-CH₂), 1.98 (m, 12H, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -61.2 (s, 1F, CF₃).

³¹P{¹H} NMR (ppm) (162 MHz, DMSO): δ = 30.2 (s, 1P, PPh₂).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 182.6 (s, 1C, C=O); 170.0 (s, 4C, OC=O); 142.4 (s, 1C, *C*_{ipso}-Ph); 133.2 (m, 4C, *C*_{ortho}PPh₂, ²*J*_{CP} = 24.7 Hz); 131.7 (s, 2C, *C*_{para}PPh₂); 130.2 (m, 3C, *C*_{ipso}PPh₂+ *C*_{ipso}C-CF₃); 129.2 (d, 4C, *C*_{meta}PPh₂, ²*J*_{CP} = 11.2 z); 128.6 (s, *C*_{ortho}Ph-CF₃); 123.3 (q, 2C, CF₃, ¹*J*_{CF} = 272.9 Hz); 121.3 (s, 1C, *C*_{para}Ph-CF₃); 81.7 (s, 1C, 6); 77.2 (s, 1C, 5); 74.3 (s, 1C, 2); 73.3 (s, 1C, 4); 68.6 (s, 1C, 3); 62.3 (s, 1C, 1); 45.7 (s, 2H, NH-CH₂-Ph-CF₃); 38.9 (m, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂); 31.1 (d, 1C, PPh₂-CH₂-CH₂, ²*J*_{CP} = 38.7 Hz); 20.4(s, 4C, CH₃).

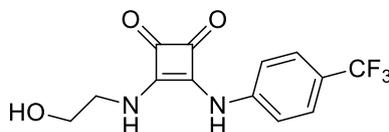
MS (ESI+ μ -TOF): m/z (%)= [M]⁺ Calcd for [C₄₁H₄₀AuF₆N₂O₁₁PS] 1110.1651. Found 1133.1549 [C₄₁H₄₀AuF₆N₂O₁₁PS + Na]⁺.

Synthesis of compound 88

To a solution of 3,4-dimethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (29 mg, 0.2 mmol) in methanol (5 ml) was added 4-(trifluoromethyl)aniline (25 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred. 21 hours later, 2-aminoethanol was added (12 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and

Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 70 %.



88

¹H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 10.01 (s, 1H, *NH*-Ph); 7.91 (s, 1H, *NH*-CH₂); 7.67-7.61 (m, 4H, *Ph*); 5.03 (s, 1H, *OH*); 3.67 (m, 2H, OH-CH₂-CH₂-NH); 3.58 (m, 2H, OH-CH₂-CH₂-NH).

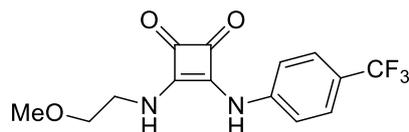
¹⁹F{¹H} NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -60.1 (s, 3F, *CF*₃).

¹³C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.8 (s, 1C, *C=O*); 180.1 (s, 1C, *C=O*); 169.8 (s, 1C, *Ph-C=C-CH*₂); 162.9 (s, 1C, *Ph-C=C-CH*₂); 142.7 (s, 1C, *C*_{ipso}-*Ph*); 126.6 (s, 2C, *C*_{ortho}*Ph-CF*₃); 124.5 (q, 2C, *CF*₃, ¹*J*_{CF} = 271.2 Hz); 122.2 (q, 1C, *C*_{ipso}-*Ph-CF*₃, ²*J*_{CP} = 32.1 Hz); 117.8 (s, 2C, *C*_{meta}*Ph-CF*₃); 60.5 (s, 2H, OH-CH₂-CH₂-NH); 46.3 (s, 2H, OH-CH₂-CH₂-NH).

Synthesis of compound 89

To a solution of 3,4-dimethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (29 mg, 0.2 mmol) in methanol (5 ml) was added 4-(trifluoromethyl)aniline (25 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred. 21 hours later, 2-methoxyethylamine was added (17 μ L, 0.2 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 65%.



89

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.99 (s, 1H, *NH*-Ph); 7.88 (s, 1H, *NH*-CH₂); 7.67-7.62 (m, 4H, *Ph*); 3.78 (s, 2H, MeO-CH₂-CH₂-NH); 3.52 (t, 2H, MeO-CH₂-CH₂-NH, $^3J_{CP}$ = 5.0 Hz); 3.32 (s, 3H, *OMe*).

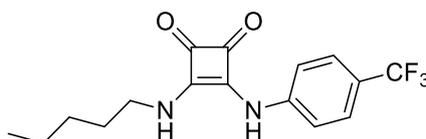
^{19}F $\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -60.1 (s, 3F, *CF*₃).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.7 (s, 1C, *C=O*); 180.2 (s, 1C, *C=O*); 169.7 (s, 1C, *Ph-C=C-CH*₂); 162.9 (s, 1C, *Ph-C=C-CH*₂); 142.7 (s, 1C, *C*_{ipso}-*Ph*); 126.7 (s, 2C, *C*_{ortho}-*Ph-CF*₃); 124.5 (q, 2C, *CF*₃, $^1J_{CF}$ = 271.2 Hz); 122.3 (q, 1C, *C*_{ipso}-*Ph-CF*₃, $^2J_{CP}$ = 31.9 Hz); 117.9 (s, 2C, *C*_{meta}-*Ph-CF*₃); 71.3 (s, 2H, *OMe-CH*₂-CH₂-NH); 58.0 (s, 1C, *OMe*); 43.5 (s, 2H, *OMe-CH*₂-CH₂-NH).

Synthesis of compound 90

To a solution of 3,4-dimethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (29 mg, 0.2 mmol) in methanol (5 ml) was added 4-(trifluoromethyl)aniline (25 μL , 0.2 mmol) and the solution stirred. 21 hours later, 1-pentamine was added (23 μL , 0.2 mmol) and the solution stirred for 24 h. The solution was concentrated under reduced pressure to approximately 1 ml and Et₂O (10 ml) added to precipitate a white solid was collected and vacuum dried to give the product.

Yield: 84%.



90

^1H NMR (ppm) (400 MHz, DMSO): δ = 9.88 (s, 1H, *NH*-Ph); 7.72 (s, 1H, *NH*-CH₂); 7.66-7.61 (m, 4H, *Ph*); 3.59 (m, 2H, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 1.57 (m, 2H, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 1.31 (m, 4H, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 0.88 (t, 3H, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH, $^3J_{HH}$ = 6.5 Hz).

^{19}F $\{^1\text{H}\}$ NMR (ppm) (376 MHz, DMSO): δ = -60.1 (s, 3F, *CF*₃).

^{13}C APT (ppm) (100 MHz, DMSO): δ = 184.7 (s, 1C, *C=O*); 180.0 (s, 1C, *C=O*); 169.7 (s, 1C, *Ph-C=C-CH*₂); 162.8 (s, 1C, *Ph-C=C-CH*₂); 142.6 (s, 1C, *C*_{ipso}-*Ph*); 126.6 (s, 2C, *C*_{ortho}-*Ph-CF*₃); 124.5 (q, 2C, *CF*₃, $^1J_{CF}$ = 271.1 Hz); 122.3 (q, 1C, *C*_{ipso}-*Ph-CF*₃, $^2J_{CP}$ = 32.1 Hz); 117.9 (s, 2C, *C*_{meta}-*Ph-CF*₃); 43.7 (s, 1C, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH);

30.2 (s, 1C, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 28.0, 21.7 (s, 2C, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 13.8 (s, 1C, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH

CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

En el capítulo 1 se ha conseguido la síntesis de nuevos heterociclos tiazolidina a través de la reacción de isotiocianatos con propargilaminas secundarias y tiazolinas utilizando en este caso propargilaminas primarias. A partir de éstas tiazolinas se han preparado los derivados tiourea-tiazolidina cambiando la estequiometría de la reacción. Se han llevado a cabo estudios de coordinación de estos heterociclos a derivados metálicos de plata y oro a través del átomo de azufre del grupo tiourea y se han estudiado sus propiedades anticancerígenas en la línea tumoral A549 (cáncer de pulmón), logrando buenos valores de IC₅₀.

Por otro lado, se ha intentado la formación de nuevos heterociclos a través de tioureas, sintetizadas a través de la reacción de 2-etinilanilina con diversos isotiocianatos, ayudada a través de diferentes complejos de oro en condiciones catalíticas. De las diferentes posibilidades se ha optimizado el catalizador y las condiciones para la obtención selectiva de un heterociclo de 6 miembros del tipo tiomorfolina, que ha sido caracterizado por difracción de rayos X. Finalmente, estos compuestos orgánicos se hicieron reaccionar con complejos de oro, en presencia de una base, para lograr la formación de tioquinolinas coordinadas al átomo de oro, a través de un proceso de aromatización del ciclo sin precedentes.

En el capítulo 2 se sintetizaron tres sales de imidazolio diferentes que contienen grupos urea en su estructura. Se ha estudiado la formación de los correspondientes carbenos de oro(I), intentando recrear el entorno del Auranofin pero modificando el grupo fosfina por un grupo NHC, y utilizando diferentes ligandos auxiliares, como ligandos tiolato (2-mercaptopiridina y tioglucosa), el derivado JohnPhos como fosfina y los compuestos biscarbena. Se midieron las propiedades antitumorales en dos líneas celulares tumorales humanas A549 y HeLa (cáncer de cuello uterino). Los mejores valores se consiguieron con los grupos fosfinas, demostrando que estos grupos ayudan a la permeabilización de la membrana celular y aumentan la actividad citotóxica. Mediante la técnica de citometría de flujo se realizaron los experimentos para obtener más información acerca del mecanismo de muerte celular que provocaban estos complejos, llegando a la conclusión de que provocaban una apoptosis tardía.

Finalmente se sintetizaron los dos primeros complejos de oro, en los que este metal está coordinado al átomo de carbono del carbeno y a un nitrógeno del grupo urea, tras una previa desprotonación. Estos complejos bimetalicos de oro muestran una interacción aurofílica, que da lugar a una luminiscencia a una longitud de onda adecuada para poder ser estudiados como marcadores celulares. Sin embargo, aunque eran estables en el medio celular, su poca solubilidad impidió la internalización dentro de ella.

En el capítulo 3 se sintetizaron diferentes escuaramidas con grupos CF_3 y sustituyentes fosfina para lograr el anclaje con diferentes metales del grupo 11. Así, se prepararon compuestos de cobre y plata con dos ligandos escuaramida coordinados al metal central y también derivados de oro con ligandos cloro o tiolatos como ligandos auxiliares.

Se midió el IC_{50} de los compuestos orgánicos y sus derivados metálicos de oro, plata y cobre, pero su actividad citotóxica no fue la deseada. Debido a ello se modificaron los derivados de oro, formando nuevos complejos con grupos tiolato que favorecen la solubilidad en el suero sanguíneo y, así, han mostrado valores de IC_{50} muy similares a los del Auranofin.

Los complejos de plata y cobre debido a la multitud de puente de hidrógeno que se pueden originar en las moléculas se utilizaron como catalizadores en dos reacciones diferentes (Mukaiyama y Henry), pero no dieron los resultados esperados.

Finalmente, debido a la posibilidad de formar puentes de hidrógeno, se buscaron las condiciones ideales para poder formar geles con estas escuaramidas orgánicas. Lo sorprendente fue descubrir que el grupo fosfina ayudaba a la formación de estos geles, y para el complejo **71** se descubrió que tenía tendencia a gelificar en diferentes alcoholes (alcogel), aunque se lograron las mejores concentraciones en nitrometano y acetonitrilo, llegando hasta $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Varios de los compuestos sintetizados en este capítulo fueron elegidos por la plataforma Open Innovation Drug Discovery (OIDD) de Lilly, entre ellos varias tiazolidinas y tioureas-tiazolidinas, para probar su actividad en distintas enfermedades. Desafortunadamente Lilly decidió cerrar esta plataforma a principios de 2019, por lo que no dio tiempo a que los compuestos fuesen testeados de una forma más exhaustiva. Además, también merece la pena destacar que varios compuestos de esta tesis están siendo estudiados por la empresa GlaxoSmithKline (GSK) en varios tipos de enfermedades del tercer mundo, para las cuales se invierte poco dinero en investigación,

entre ellas la enfermedad de Chagas, la tuberculosis con resistencia a los fármacos (TB-DR), shigella y malaria. Los resultados obtenidos hasta la fecha, aun sujetos a confidencialidad, son prometedores.

