



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



COMPLEJOS DE  $Ru^{II}$  CONTENIENDO ACILHIDRAZONAS  
ORGANOMETÁLICAS: SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN  
INHIBITORIA DE LA ENZIMA ANHIDRASA CARBÓNICA

Tesis presentada en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de  
Concepción para optar al grado académico de Magíster en Ciencias con  
mención en Química

POR: LUIS IGNACIO PEÑA MÉNDEZ

Profesor guía: Dr. Rodrigo Sebastián Arancibia González

Concepción Chile, Octubre - 2021

©Concepción, Chile, 2021, Luis Ignacio Peña Méndez. Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento



## AGRADECIMIENTOS

A mis padres Nancy y Marco por el apoyo incondicional hoy y siempre, por ser un pilar fundamental en este proceso y brindarme toda su confianza. No hay palabra que describa el sentimiento hacia ustedes. A mi hermano Marco y a Pamela, por regalarme la hermosa oportunidad de ser tío de Emiliano y Aurora. El amor experimentado fue fundamental para llegar a la meta

A mi profesor guía el Dr. Rodrigo Arancibia, por empujarme a explotar mis habilidades, por estar siempre dispuesto a corregirme y por transmitirme su conocimiento, ayudándome a comprender, pero también a difundir esta hermosa ciencia.

A mi pareja Carolina por ser una gran compañera, por siempre transmitirme tranquilidad y brindarme todo su amor. También por acompañarme en las jornadas de estudio, entregándome una palabra de aliento y ayudarme a creer en mis capacidades.

A Jocelyn y Felipe por ser familia y grandes amigos, por hacer más agradable este proceso, por brindarme su apoyo desde el día uno, por ayudarme con el inglés y por todas las conversaciones y momentos. También a Juan, Maritza, Estefanía y Catherine, por el apoyo que siempre me brindan junto a sus familias y por estar siempre presentes con una palabra de aliento.

A todos mis amigos por siempre creer en mí, todas las conversaciones y momentos compartidos me ayudaron a lograr mis objetivos.

Y por último, agradecer al proyecto FONDECYT #1190327 por los fondos económicos aportados para la realización de esta investigación, y a la Dirección de postgrado UdeC por el apoyo económico brindado.

## TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	ii
TABLA DE CONTENIDOS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE ESQUEMAS Y TABLAS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1 Sistemas inorgánicos con actividad biológica	1
1.2 Modificación de fármacos	2
1.3 Complejos <i>half sandwich</i> basados en Ru(II)	4
1.4 Ligandos acilhidrazonas	6
1.5 Derivados de sulfonamidas como inhibidores de la anhidrasa carbónica	7
1.6 Compuestos organometálicos como inhibidores de la anhidrasa carbonica (CAI's).	9
<b>2. HIPOTESIS</b>	11
<b>3. OBJETIVOS</b>	12
3.1. Objetivo Generale	12
3.2. Objetivos Específicos	13
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b>	14
4.1. Metodología	14
4.1.1 Consideraciones generales	14
4.1.2 Técnicas de caracterización	15
4.1.3 Estudio de las propiedades electroquímicas	15
4.1.3 Evaluación como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica	15
4.2 Procedimiento general para la síntesis de complejos del tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\eta^6\text{-cimen})(\text{N},\text{O})\text{Cl}]$	21
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	23
5.1 Síntesis y caracterización de complejos de Ru(II) del tipo <i>half sandwich</i>	23
5.2 Análisis de RMN $^{13}\text{C}$	27
5.3 Análisis de RMN 2D HSQC y HMBC	30
5.4 Estudio de las propiedades electroquímicas	35
5.5 Evaluación como Inhibidores de la anhidrasa carbónica	38
<b>6. CONCLUSIONES</b>	42
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	44
<b>8. ANEXOS</b>	54
8.1. Espectros IR (KBr)	54
8.1.1 $[(p\text{-cimen})\text{Ru}((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N}-\text{NH}-\text{CO}-(\text{C}_6\text{H}_4-4\text{-SO}_2\text{NH}_2))-\text{Re}(\text{CO})_3\text{Cl})]$ ( <b>1a</b> ).	54

8.1.2 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ))Cl] ( <b>2a</b> ).	54
8.1.3 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> )Cl] ( <b>1b</b> ).	55
8.1.4 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ))Cl] ( <b>2b</b> ).	55
8.2 Espectros de RMN <sup>1</sup> H	56
8.2.1 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> )Cl] ( <b>1a</b> ).	56
8.2.2 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ))Cl] ( <b>2a</b> ).	56
8.2.3 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> )Cl] ( <b>1b</b> ).	57
8.2.4 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ))Cl] ( <b>2b</b> ).	57
8.3 Espectros de RMN <sup>13</sup> C	58
8.3.1 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ))Cl] ( <b>2a</b> ).	58
8.3.2 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> )Cl] ( <b>1b</b> ).	58
8.3.3 [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ))Cl] ( <b>2b</b> ).	59
8.4 Espectro RMN 2D HSQC [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> )Cl] ( <b>1b</b> ).	59
8.5 Espectro RMN 2D HMBC [( <i>p</i> -cimeno)Ru( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ))Cl] ( <b>2a</b> ).	60
8.6 Espectros IR (KBr) ligandos precursores	61
8.6.1. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> ] ( <b>L<sub>1a</sub></b> ).	61
8.6.2. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> )] ( <b>L<sub>2a</sub></b> ).	61
8.6.3. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> ] ( <b>L<sub>1b</sub></b> ).	62
8.6.4. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> )] ( <b>L<sub>2b</sub></b> ).	62
8.7 Espectros de RMN <sup>1</sup> H ligandos precursores.	63
8.7.1. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> ] ( <b>L<sub>1a</sub></b> ).	63
8.7.2. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> )] ( <b>L<sub>2a</sub></b> ).	63
8.7.3. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Re(CO) <sub>3</sub> ] ( <b>L<sub>1b</sub></b> ).	64
8.7.4. [( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> CH=N-NH-CO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ))-Fe( $\eta^5$ -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> )] ( <b>L<sub>2b</sub></b> ).	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Complejos derivados del cisplatino como agentes anticancerígenos	1
<b>Figura 2.</b> Compuestos bioorganometálicos como potenciales agentes antitumorales	3
<b>Figura 3.</b> Complejos de Ru <sup>II</sup> modificados con fragmentos ferrocenilos	5
<b>Figura 4.</b> Complejos de Ru <sup>II</sup> con ligandos orgánicos sulfonamida	7
<b>Figura 5.</b> Acilhidrazonas organometálicas evaluadas como CAI's	10
<b>Figura 6.</b> Espectro RMN <sup>1</sup> H del complejo <b>1a</b> en la zona de 7,25-3,75 ppm	25
<b>Figura 7.</b> Espectro HSQC del complejo <b>1b</b> derivado de ciretreno	30
<b>Figura 8.</b> Espectro HSQC del complejo <b>1b</b> , en la zona de 7,10-4,70 ppm y 100,0-66,0 ppm	31
<b>Figura 9.</b> Espectro HMBC del complejo <b>2a</b> , en la zona de 8,90-7,70 ppm y 190-55 ppm	32
<b>Figura 10.</b> Espectro HMBC del complejo <b>2a</b> , en la zona de 5,75-4,55 ppm y 80-70 ppm	33
<b>Figura 11.</b> Voltamogramas de los complejos [(p-cimeno)Ru(acilhidrazona)Cl]	35

## ÍNDICE DE ESQUEMAS Y TABLAS

<b>Esquema 1.</b> Síntesis de complejos de rutenio del tipo <i>three legend piano stool</i>	16
<b>Tabla 1.</b> Inhibición de la CA en sus isoformas hCA I, II, IX y XII, frente a la droga control acetazolamida (AAZ) y los ligandos organometálicos, realizado por el ensayo hidrasa CO <sub>2</sub> de flujo interrumpido	39

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se diseñaron, sintetizaron y caracterizaron complejos heterobimetálicos del tipo *half sandwich* de Ru<sup>II</sup>, provistos de ligandos acilhidrazonas organometálicas de ciretreno y ferroceno que contienen en su estructura un grupo sulfonamida.

Los complejos *half sándwich* de rutenio del tipo [(*p*-cimeno)Ru(( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-ML<sub>n</sub>)Cl] (**1a,2a**) y [(*p*-cimeno)Ru(( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-ML<sub>n</sub>)Cl] (**1b,2b**), donde ML<sub>n</sub> = FeCp, Re(CO)<sub>3</sub>, fueron sintetizados mediante la reacción entre los ligandos acilhidrazonas organometálicas previamente reportadas por nuestro grupo de investigación, y el dimer de rutenio [Ru( $\eta^6$ -cimeno)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>.

Todos los compuestos fueron aislados y purificados mediante técnicas de recristalización. La caracterización de los complejos se llevó a cabo mediante las técnicas espectroscópicas de FT-IR, RMN 1D <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, como también 2D HSQC y HMBC. Además, de forma preliminar se midieron las propiedades electroquímicas mediante ensayos de voltametría cíclica para todas las especies sintetizadas.

Finalmente, todos los complejos fueron evaluados como agentes inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica (CAIs). Estos estudios se llevaron a cabo en colaboración internacional con el Dr. Supuran de la Universidad de Florencia, Italia. Los complejos obtenidos demostraron un efecto sinérgico contra la isoforma hCA I, como también un interesante perfil inhibitorio frente a las isoformas II, IX, XII. Además, se demostró una posible dependencia entre el comportamiento electroquímico de los fragmentos organometálicos combinados y su actividad inhibitoria, abriendo una nueva ventana de diseño a compuestos heterobimetálicos con potenciales aplicaciones farmacológicas como CAI's.

## ABSTRACT

In the present research work, heterobimetallic half sandwich Ru<sup>II</sup> complexes provided with cyretrene and ferrocene organometallic acylhydrazone ligands that contain a sulfonamide group in their structure, were designed, synthesized, and characterized.

The ruthenium half sandwich complexes [(*p*-cymene)Ru<sup>II</sup>((η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-ML<sub>n</sub>)Cl] (**1a,2a**) and [(*p*-cymene)Ru<sup>II</sup>((η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-ML<sub>n</sub>)Cl] (**1b,2b**), where ML<sub>n</sub> = FeCp, Re(CO)<sub>3</sub>, were synthesized by the coordination between the organometallic acylhydrazone ligands previously reported by our research group and the ruthenium dimer [Ru(η<sup>6</sup>-cymene)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>.

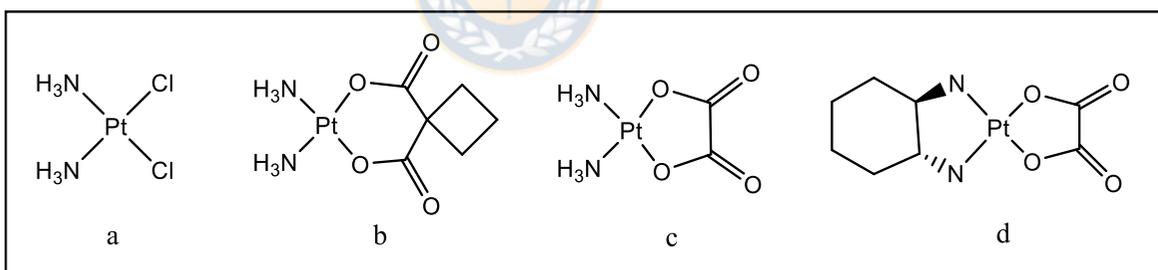
All compounds were isolated and purified by recrystallization techniques. The characterization of the complexes was carried out using the spectroscopic techniques of FT-IR, 1D <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, as well as 2D HSQC and HMBC NMR. In addition, the electrochemical properties were preliminarily measured by cyclic voltammetry tests for all synthesized species.

Finally, all complexes were evaluated as carbonic anhydrase enzyme inhibitors (CAIs). These studies were carried out in international collaboration with Dr. Supuran from the University of Florence, Italy. The complexes obtained demonstrated a synergistic effect against the hCA I isoform, as well as an interesting inhibitory profile against the II, IX, XII isoforms. In addition, a possible dependence between the electrochemical behavior of the combined organometallic fragments and their inhibitory activity was demonstrated, giving way to a new design window for heterobimetallic compounds with potential pharmacological applications such as CAIs.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Sistemas inorgánicos con actividad biológica.

La utilización de complejos de metales de transición con finalidades médico-biológicas es conocida desde el siglo XVII,<sup>[1]</sup> pero sólo a contar del descubrimiento de los efectos anticancerígenos del complejo inorgánico cisplatino (Figura 1a) por Rosenberg<sup>[2]</sup> en 1969, éstos han adquirido una destacada relevancia en el ámbito de la medicina, fomentando un número importante de investigaciones. En este contexto, diversas drogas derivadas del cisplatino han sido estudiadas (Figura 1b-d), donde los resultados clínicos han demostrado que un gran número de ellas presentan actividad biológica, y han sido comercializadas como fármacos anticancerígenos<sup>[3]</sup>.



**Figura 1.** Complejos derivados del cisplatino como agentes anticancerígenos.

Considerando que el cáncer es todavía una enfermedad incurable, muchos esfuerzos se han orientado en obtener compuestos orgánicos e inorgánicos capaces, al menos, de detener el crecimiento de este nefasto mal. En el caso de compuestos de coordinación se ha demostrado que factores como la naturaleza del metal, número de oxidación, números y tipos de ligandos enlazados, pueden jugar roles relevantes en la actividad biológica y anticancerígena de una determinada especie.<sup>[4]</sup>

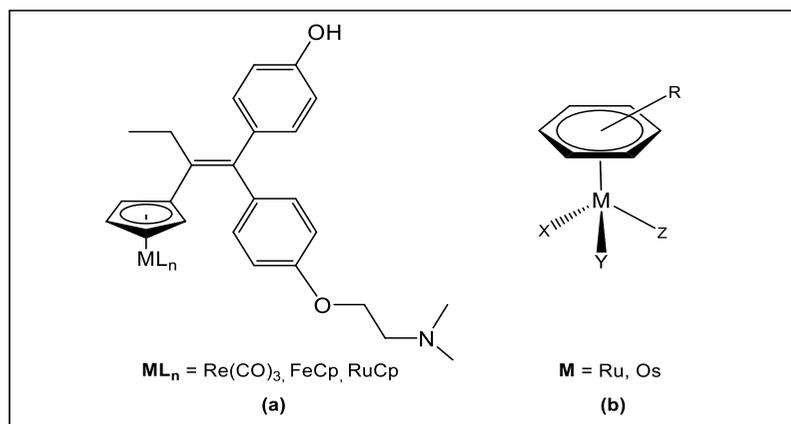
En paralelo a los numerosos estudios que involucran compuestos de coordinación con potencial actividad biológica, complejos organometálicos también han sido objeto de considerable interés en el campo de la química médica,<sup>[5]</sup> destacándose metalocenos y sistemas ciclopentadienílicos de metales como Ti, Fe, Mo, V, Re, Co, Mn y Ru.<sup>[6,7,8,9]</sup> Debido a las características fisicoquímicas que presentan los complejos organometálicos, su utilización en sistemas biológicos se orienta hacia las siguientes aplicaciones: a) Modificación de fármacos b) Inmunoensayos c) Modificación de enzimas, proteínas y péptidos. Dada la coyuntura, en esta revisión bibliográfica sólo se abordará el siguiente tópico:

## **1.2 Modificación de fármacos.**

La propuesta de utilizar metalocenos con finalidades médicas fue planteada por primera vez en 1970, debido a ciertas características que presentan estos sistemas, tales como baja toxicidad, tamaño, rigidez y lipofilia. Actualmente, tanto metalocenos como sistemas ciclopentadienílicos metálicos se han utilizado en reemplazo de anillos aromáticos de moléculas bioactivas, con el fin de modificar sus efectos.<sup>[10]</sup>

Pioneros en esta área, Edwards y colaboradores desarrollaron una serie de penicilinas y cefalosporinas que poseen en su estructura el fragmento ferrocenilo, como solución a la resistencia de bacterias frente a estos antibióticos.<sup>[11]</sup> Estos compuestos resultaron tener una alta actividad biológica, propiedad que se relacionó con la inhibición de la  $\beta$ -lactamasa, enzima producida como mecanismo de defensa por parte de las bacterias.<sup>[12]</sup>

En las últimas décadas, el interés de incorporar fragmentos organometálicos en ligandos activos se ha centrado en otros sistemas biológicos, particularmente hormonas receptoras y agentes antiparasitarios.<sup>[13]</sup> Es así como Jaouen y colaboradores han estudiado la modificación del hidroxitamoxifeno (fármaco suministrado en el tratamiento del cáncer de mamas), debido a que ciertos tumores no responden a la acción de este anticancerígeno. En este contexto, Jaouen sustituyó el anillo beta presente en el fármaco activo por ciclopentadienilos metálicos de Fe, Re y Ru (**Figura 2**), encontrando que derivados de ferroceno presentan una actividad citotóxica mayor que el medicamento original, la cual se encontraría relacionada al catión ferrocinio ( $\text{Fc}^+$ ).<sup>[14]</sup> En el caso de derivados de renio, sólo se evidenció un aumento en la lipofilia, no presentando un mejoramiento en la acción terapéutica del fármaco.<sup>[15]</sup> Los complejos de rutenio pese a poseer una alta actividad biológica, ésta fue muy breve, observándose una rápida descomposición del metalocompuesto, esto debido a la oxidación irreversible de la entidad organometálica.<sup>[16]</sup>



**Figura 2.** Compuestos bioorganometálicos como potenciales agentes antitumorales.

Actualmente, complejos organometálicos del tipo *half-sandwich* (**Figura 2b**) han sido ampliamente estudiados,<sup>[17]</sup> con la finalidad de diseñar nuevas series de complejos con propiedades anticancerígenas que puedan superar los problemas clínicos de los fármacos derivados del cisplatino, tales como su resistencia y efectos secundarios en los pacientes.<sup>[18]</sup> Basados en sus propiedades estructurales y variedad estereoquímica, estos sistemas ofrecen la posibilidad de realizar un diseño racional y evaluar diversos mecanismos de acción.<sup>[19]</sup>

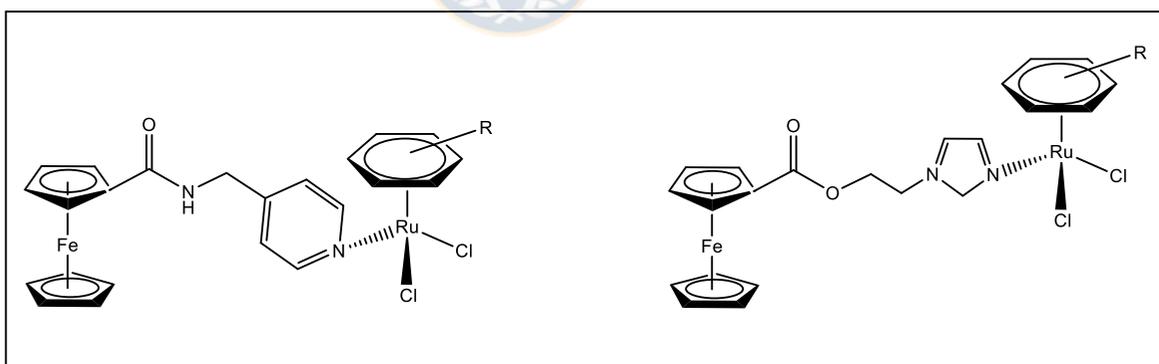
### 1.3 Complejos *half sandwich* basados en Ru<sup>II</sup>.

Bajo esta mirada, los grupos de investigación de Sadler y Dyson han estudiado estos tipos de complejos, incorporando diferentes iones metálicos y variaciones en el areno y co-ligandos<sup>[20,21]</sup>. La mayor parte de la literatura relacionada con estos tipos de compuestos se refiere a Ru<sup>II</sup> y, en menor proporción, derivados de Os<sup>II</sup>. En particular, complejos de rutenio<sup>II</sup>-areno del tipo  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno})\text{-XYZ}]^{n+}$  con X, Y y Z = ligandos monodentados o bidentados / monodentados. Dos principales familias de compuestos han surgido con distintos modos de acción<sup>[22,23]</sup>: i) los compuestos que contienen ligandos cloro y etilendiamina (en)  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno})(\text{en})\text{Cl}]^+$  son altamente citotóxicos *in vitro* e *in vivo* frente a células de cáncer de ovario humano, y ii) complejos con tres ligandos monodentados, incluyendo el ligando hidrofílico 1,3,5-triaza-7-fosfadadamantano (PTA), generando especies del tipo  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno})(\text{PTA})\text{Cl}_2]$  (denominado RAPTA), que no son citotóxicos *in vitro*<sup>[24]</sup> sino que muestran *in vivo* las propiedades antimetastásicas<sup>[25]</sup> y antiangiogénicas<sup>[26]</sup>, mediante un mecanismo desconocido hasta el momento.

Estudios de relación de estructura - actividad (SAR) han establecido que los complejos del tipo  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno})(\text{diamina})\text{Cl}]^+$  pueden activarse por hidrólisis del enlace Ru-Cl antes de unirse al ADN.<sup>[27]</sup> Informes cinéticos han mostrado que la

naturaleza de los coligandos puede afectar fuertemente la reacción de hidrólisis [28,29] y el proceso de unión directa a las bases de ADN. [30,31] Además, Sadler y colaboradores determinaron que los Ru<sup>II</sup>-areno complejos pueden unirse al ADN y presentar una actividad redox inusual durante su mecanismo de acción. [32-34]

Con respecto a los compuestos basados en Ru<sup>II</sup>, es importante mencionar que se han empleado diferentes estrategias sintéticas para incorporar fragmentos organometálicos en ligandos bidentados *N*-donadores (**Figura 3**). Bajo esta mirada, Kumar y sus colaboradores evaluaron las propiedades biológicas de complejos de Ru(II) provistos con ligandos salicilaldiminas *N,O* donadores los cuales poseen un fragmento ferrocenilo en su estructura, demostrando que frente a las líneas celulares cancerígenas cervicouterinas HeLa y de hepatoma humano HepG2, estos compuestos presentan una alta citotoxicidad, llegando a ser en algunos casos hasta tres veces más activos que el cisplatino [35].



**Figura 3.** Complejos de Ru<sup>II</sup> modificados con fragmentos ferrocenilos.

## 1.4 Ligandos acilhidrazonas

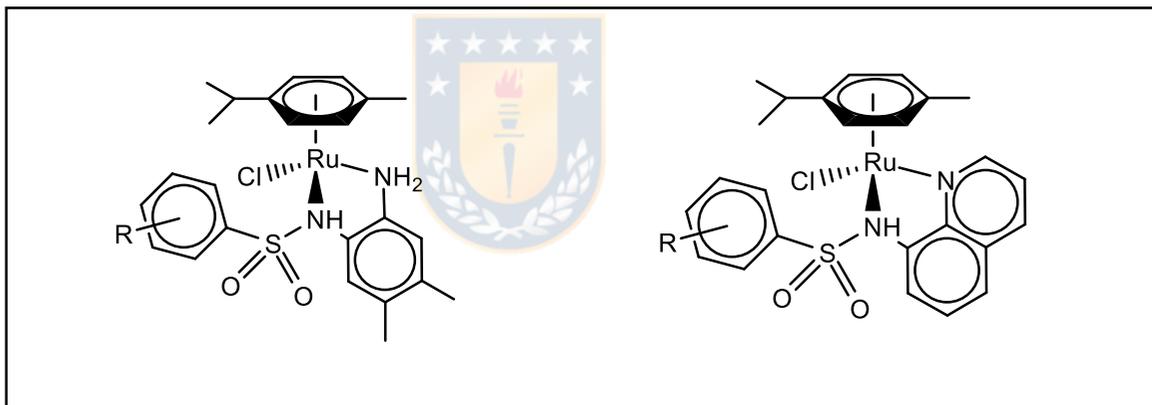
Del gran número de ligandos *N*-donadores, las acilhidrazonas han captado una considerable atención debido su amplio rango de aplicaciones biológicas. Esto se debe a que estos compuestos han demostrado poseer actividad antibacteriana<sup>[36]</sup>, anticancerígena<sup>[37]</sup>, antiviral<sup>[38]</sup>, antioxidante<sup>[39]</sup> y como inhibidores de enzimas<sup>[40,41]</sup>. Sumado a lo anterior, este tipo de sistemas permite llevar a cabo modificaciones en su estructura y modular el modo de coordinación, los cuales pueden ser del tipo tetradentado (*N,O,N,O* <sup>[42]</sup>), tridentado (*N,N,N* <sup>[43]</sup>; *N,N,O*; *N,O,N* <sup>[44]</sup> y *O,N,O* <sup>[45]</sup>) y bidentados (*N,N* <sup>[46]</sup> y *N,O* <sup>[47]</sup>).

Adicional a lo anterior, también se han diseñado acilhidrazonas que poseen en su estructura fragmentos organometálicos, de las cuales los autores proponen que la presencia de los grupos ferrocenilo y cimatrenilo puede aumentar la permeabilidad celular y la lipofilicidad de estas especies, aumentando de esta manera la actividad biológica. También sugirieron que la deslocalización de los electrones- $\pi$  y el impedimento estérico experimentado en los sitios de unión metal-enzima, los cuales son cruciales en los microorganismos, también podrían desempeñar un rol relevante al momento de modular dichas propiedades.

Sumado a lo anterior estudios teóricos afirman que, al ser coordinadas acilhidrazonas a metales de transición, estas especies experimentan una baja energía HOMO – LUMO y en consecuencia mejoran sus interacciones no covalentes con moléculas biológicas receptoras <sup>[48]</sup>. En este contexto, complejos de Ru<sup>II</sup> que presentan ligandos *N,O* donadores acilhidrazona han demostrado una considerable actividad anticancerígena *in vitro*, inhibiendo la proliferación celular por la vía de la síntesis mínima de ADN incluso a bajas concentraciones, atribuyéndolo también a la lipofilicidad de estas especies<sup>[49]</sup>.

## 1.5 Derivados de sulfonamidas como inhibidores de la anhidrasa carbónica

En los últimos años, complejos del tipo Ru(II)-areno que contienen ligandos orgánicos derivados de sulfonamidas ( $\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) (**Figura 4**) también han sido estudiados,<sup>[50-52]</sup> debido a su amplio rango de aplicaciones biológicas <sup>[53]</sup>, incluyendo la enfermedad del cáncer.<sup>[54]</sup> Hasta la fecha, se han reportado complejos que contienen ligandos de *o*-sulfonamida azobenceno que han sido aislados para estudiar su fotoisomerización,<sup>[55]</sup> y donde también han incluido una evaluación antiproliferativa<sup>[56,57,58]</sup> y el desarrollo de nuevos compuestos que actúan como inhibidores de la enzima Anhidrasa Carbónica (CA).



**Figura 4.** Complejos de Ru<sup>II</sup> con ligandos orgánicos sulfonamida.

Las anhidrasas carbónicas (CA) son metaloenzimas que catalizan la hidratación del dióxido de carbono a bicarbonato y protones, y están implicadas principalmente en la regulación del pH celular<sup>[59]</sup>. Hasta ahora se han reconocido siete familias genéticas distintas, lo que demuestra el papel crucial de esta enzima en el mantenimiento de la homeostasis celular en casi todas las especies vivas<sup>[60]</sup>. Por otro lado, los cambios en el pH celular están relacionados también con varios eventos patológicos, lo que hace que las CA también participen en el establecimiento y progreso de la enfermedad. Por lo tanto, desde el

descubrimiento de las sulfonamidas en 1940 como la primera clase de inhibidores de CA, la modulación de la actividad de las CA continúa considerándose una estrategia válida para combatir varias enfermedades [61].

La anhidrasa carbónica en humanos (hCA) a su vez se dividen en quince isoformas, que se diferencian en la localización celular, la distribución tisular y la participación en patologías específicas. Las hCA I y II son isoformas citosólicas, las cuales se expresan de manera ubicua en el cuerpo. Por otra parte, hCA VII es otra isoforma citosólica con expresión principalmente en el cerebro, involucrada en varias enfermedades neurológicas, como la epilepsia y el dolor neuropático. Se ha encontrado que hCA VA (una isoforma mitocondrial) participa directamente en la homeostasis de la glucosa y se considera un objetivo prometedor para la obesidad y otras enfermedades asociadas en humanos [62].

Además de sus propiedades inhibitorias, las sulfonamidas también han demostrado versatilidad con respecto a sus propiedades biológicas. Bajo esta mirada, los grupos de investigación de Chohan, Poulsen y Supuran han estudiado bases de Schiff y sistemas heterocíclicos derivados de sulfonamidas con variadas aplicaciones dentro del campo de la química médica [63]. Tanto ensayos antibacteriales como antifúngicos demostraron que estas especies poseen una alta actividad biológica, la cual se ve aumentada al ser coordinados con metales de transición, esto debido a la disminución de la polaridad del ión metálico por el intercambio parcial de la carga positiva con los grupos donadores, permitiendo una mayor deslocalización de electrones- $\pi$  en el anillo quelato y por consecuencia, una mayor lipofilidad y penetración en las membranas celulares [64].

En este contexto, Moumita y sus colaboradores sintetizaron complejos de Rutenio (II) con ligandos que poseen en su estructura un grupo sulfonamida,

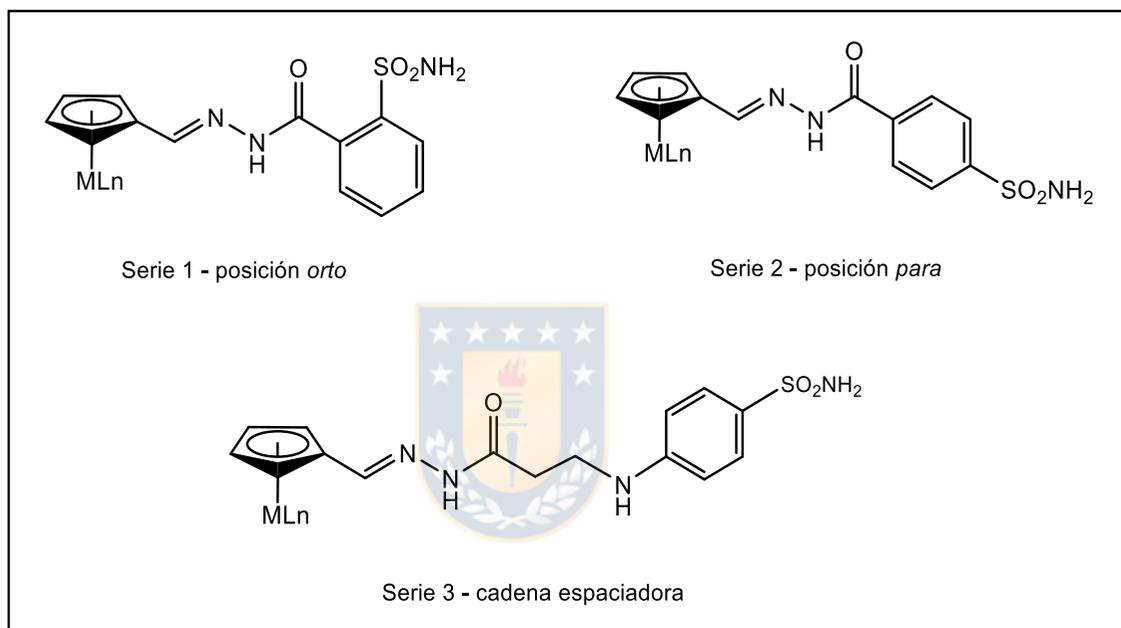
para estudiar sus propiedades citotóxicas y además ser evaluados como CAIs. Los autores concluyeron que estos complejos son altamente selectivos, exhibiendo citotoxicidad para las líneas celulares cancerígenas MDA-MB-231 y MIA PaCa-2, y siendo inactivos para las líneas celulares no cancerígenas CHO y MDCK. Esto se debe principalmente a que los compuestos demostraron actuar selectivamente como CAI's sobre la isoforma IX de la enzima anhidrasa carbónica, la cual se sobre expresa en distintas células cancerígenas, para de esta forma inducir la muerte celular a través del proceso de apoptosis, causado por la despolarización en el potencial de membrana mitocondrial, interrumpiendo el ciclo celular en la etapa SubG1<sup>[65]</sup>.

#### **1.6 Compuestos organometálicos como inhibidores de la Anhidrasa Carbónica (CAI's).**

En lo que respecta a compuestos organometálicos derivados de sulfonamidas<sup>[66]</sup>, también han sido estudiados como inhibidores de la anhidrasa carbónica (CAI's)<sup>[67]</sup>, sin embargo, su versatilidad permite variadas aplicaciones dentro de la bioorganometálica. Bajo este enfoque, diferentes estudios se han centrado en la incorporación de fragmentos organometálicos en compuestos de este tipo, y su capacidad coordinante frente a iones metálicos<sup>[68,69]</sup>. A modo de ejemplo, Quintana y colaboradores diseñaron y sintetizaron compuestos sulfonamidas con distintos fragmentos organometálicos (ciretrenilo y ferrocenilo) los cuales demostraron actividad antituberculosis *in-vitro*. Los autores concluyen que el efecto sustractor de densidad electrónica presente en el fragmento ciretrenilo, aumenta la actividad biológica en comparación a los compuestos que poseen un fragmento ferrocenilo (donador de densidad electrónica)<sup>[70]</sup>.

Recientemente, nuestro grupo de investigación reportó la síntesis de acilhidrazonas organometálicas, que poseen en su estructura un grupo

sulfonamida (**Figura 5**). Estos compuestos exhibieron una alta actividad de inhibición enzimática, y un grado de selectividad frente a la inhibición de distintas Isoformas de la enzima CA, siendo considerados como potenciales compuestos en tratamientos frente a los problemas asociados al mal funcionamiento de estas metaloenzimas en el organismo<sup>[71]</sup>.



**Figura 5.** Acilhidrazonas organometálicas evaluadas como CAI's.

Bajo esta premisa, aún no se ha reportado la síntesis de compuestos de coordinación que contengan ligandos acilhidrazonas organometálicas con un grupo sulfonamida en su estructura. En este contexto, la propuesta de este proyecto se encuentra centrada en la síntesis, caracterización y evaluación biológica de complejos de Rutenio(II) con geometría *three-legged piano stool* coordinados con ligandos acilhidrazonas que poseen un fragmento organometálico y un grupo sulfonamida, incorporándose así a los últimos estudios para el desarrollo de nuevos tratamientos como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica (CAIs).

## 2. HIPÓTESIS

- Acilhidrazonas que poseen en su estructura un fragmento organometálico y un grupo sulfonamida, actuarán como ligandos *N,O* donadores frente al dimero  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-cimeno})\text{Cl}_2]_2$  generando complejos del tipo *three-legged piano stool*.
- La incorporación de estos ligandos híbridos orgánicos–organometálicos modularán la actividad biológica de los nuevos complejos de  $\text{Ru}^{\text{II}}$ .



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general

- Diseñar, sintetizar, caracterizar y evaluar las propiedades biológicas de complejos de Ru<sup>II</sup> con ligandos acilhidrazonas organometálicos que contienen en su estructura un grupo sulfonamida.



### 3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar y caracterizar complejos de  $Ru^{II}$  del tipo  $[Ru(\eta^6\text{-cimeno})(N,O)Cl]$ , donde  $N,O$  = ligandos bidentados híbridos acilhidrazonas orgánicas-organometálicas del tipo  $[\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=N-NH-C(O)C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{NH}_2]ML_n$  y  $[\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=N-NH-C(O)-(CH}_2)_2\text{NH-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{NH}_2]ML_n$ , donde  $ML_n = FeCp, Re(CO)_3$ .
- Evaluar las propiedades inhibitorias de la enzima anhidrasa carbónica (CAIs) de los complejos de  $[Ru(\eta^6\text{-cimeno})(N,O)Cl]$ .



## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 Metodología

#### 4.1.1 Consideraciones generales.

Las reacciones se realizaron mediante técnicas convencionales de síntesis para compuestos organometálicos, utilizándose un aparato Schlenk conectado a una línea provista de nitrógeno y vacío.

Los ligandos acilhidrazonas híbridas orgánicas-organometálicas del tipo  $[\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=N-NH-C(O)C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{NH}_2\text{]MLn}$  y  $[\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=N-NH-C(O)-(CH}_2\text{)}_2\text{NH-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{NH}_2\text{]MLn}$  <sup>[71]</sup>, donde MLn = FeCp, Re(CO)<sub>3</sub>, y el complejo precursor  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-cimeno)Cl}_2]_2$  <sup>[72]</sup>, fueron sintetizados mediante procedimientos descritos en la literatura.

Los siguientes reactivos fueron adquiridos de forma comercial (Merck o Sigma Aldrich) y utilizados directamente:  $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CHO)Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$  (98%).

Los solventes utilizados fueron purificados de acuerdo a procedimientos convencionales descritos en literatura <sup>[73]</sup>.

Los complejos sintetizados fueron purificados mediante técnicas de recristalización por difusión y evaporación lenta.

#### 4.1.2 Técnicas de caracterización

Los compuestos obtenidos fueron caracterizados mediante espectroscopia FT-IR (KBr), en un espectrofotómetro Jasco modelo 1605 FTIR. Los espectros RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , 1D y 2D se realizaron en un espectrómetro Bruker, modelo ASCEND TM 400MHz.

#### 4.1.3 Estudio de las propiedades electroquímicas

Para todos los compuestos obtenidos se realizaron estudios preliminares de voltametría cíclica utilizando como solvente  $\text{CH}_3\text{CN}$  seco y recién destilado. Los electrodos de referencia, auxiliar y trabajo fueron Pt/ Ag/Ag<sup>+</sup>/ Pt respectivamente. Se utilizó una solución de hexafluorofosfato de terbutilamonio en acetonitrilo seco, a una concentración de 0,1 [mol/L] como electrolito de soporte. Los complejos medidos fueron preparados a una concentración de  $1,0 \times 10^{-3}$  [mol/L]. Para la desoxigenación de las distintas disoluciones, se burbujeó  $\text{N}_2(\text{g})$  de alta pureza, por un tiempo de cinco minutos antes de cada medición. Para la obtención del voltamperograma correspondiente se realizaron mediciones a distintas velocidades de barrido (50, 100, 150, 200 [mV/s])

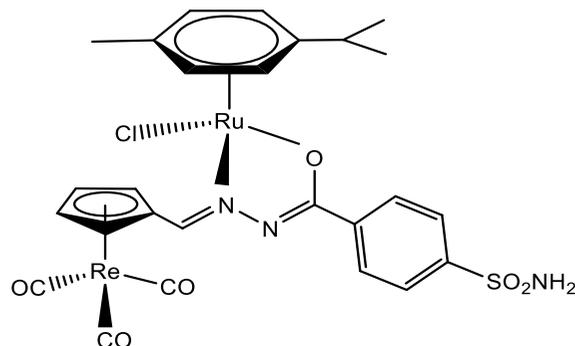
#### 4.1.4 Evaluación como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica

Los complejos sintetizados fueron evaluados *in vitro* como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica (CAIs) frente a sus distintas isoformas, en colaboración con el Dr. Claudiu Supuran de la Universidad de Florencia. Los datos de inhibición obtenidos con el ensayo  $\text{CO}_2$  de flujo interrumpido fueron comparados con la droga estándar acetazolamida (**AAZ**) y con los ligandos correspondientes ( $\text{L}_{1a}$ -  $\text{L}_{2b}$ ).



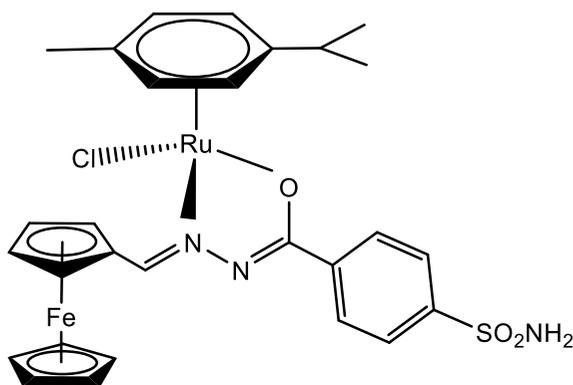
**[(*p*-cimeno)Ru(( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Re(CO)<sub>3</sub>)Cl] (1a).**

Sólido Amarillo. (Rendimiento=83%) (120 mg, 0.17 mmol).



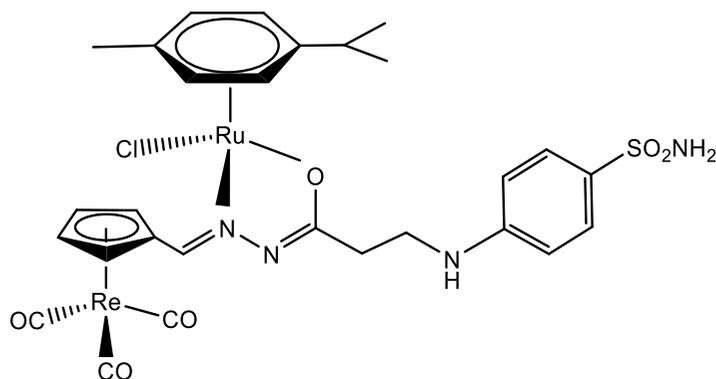
**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3392-3081 (νNH/NH<sub>2</sub>/C<sub>sp2</sub>-H); 2963 (νC<sub>sp3</sub>-H); 2023 (νRe-CO); 1919 (νRe-CO); 1522 (νC=N); 1383 (νS-O). **RMN <sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,51 (s, 1H, CH=N); 8,15 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7,87 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7,10 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5,90 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5,59 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 5,57 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5,55-5,52 (m, 2H, *p*-cy); 5,46 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5,23 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, *p*-cy); 4,91 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, *p*-cy); 2,65 (m, *J* = 7.0 Hz, 1H, CH); 2,36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,20 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,17 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**[(*p*-cimeno)Ru(( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-FeCp)Cl] (2a).** Sólido rojo. (Rendimiento=78%) (125 mg, 0.23 mmol).



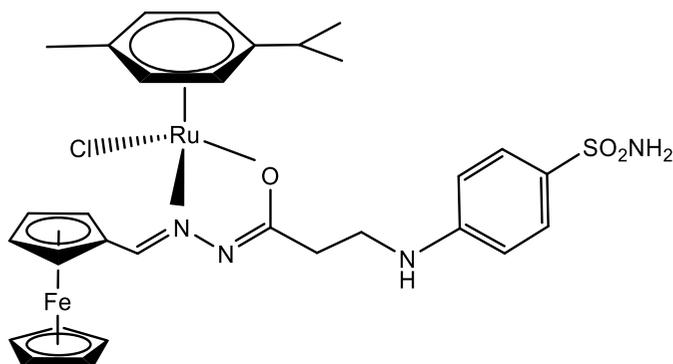
**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3435 (νNH/NH<sub>2</sub>/C<sub>sp2</sub>-H); 2929 (νC<sub>sp3</sub>-H); 1528 (νC=N); 1380 (νS-O). **<sup>1</sup>H RMN** (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,76 (s, 1H, CH=N), 8,06 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,81 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 5,72 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); (no se observa, NH<sub>2</sub>); 5,45 – 5,48 (m, 2H, *p*-cy); 5,08 (d, *J* = 6 Hz, 1H, *p*-cy); 4,84 (d, 1H, *p*-cy); 4,69 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 4,60 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 4,57 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 4,33 (s, 5H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>); 2,58 (m, *J* = 7.0 Hz, 1H, CH), 2,33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,13 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,11 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 197,7; 170,1; 160,3; 142,6; 135,8; 128,9; 125,8; 100,7; 100,1; 84,5; 82,1; 81,3; 81,1; 79,0; 72,6; 71,9; 70,8; 70,1; 69,8; 30,9; 22,6; 21,8; 18,9.

**[(*p*-cimeno)Ru(( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)Re(CO)<sub>3</sub>)Cl] (1b).** Sólido café oscuro. (Rendimiento=75%) (110 mg, 0.15 mmol).



**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3418 (νNH/NH<sub>2</sub>/C<sub>sp2</sub>-H); 2936 (νC<sub>sp3</sub>-H); 2023 (νRe-CO); 1919 (νRe-CO); 1532 (νC=N); 1391 (νS-O). **<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,31 (s, 1H, CH=N); 7,69 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7,00 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 6,62 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 5,84 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5,57 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5,44 (s, 1H,  $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5,37 (m, 2H, *p*-cy); 5,12 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, *p*-cy); 4,85 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, *p*-cy); 4,73 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 4,18 (s, 0,5H, NH); 3,46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2,65-2,58 (m, 3H, CH<sub>2</sub>/CH); 2,31 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,17 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,14 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 191,9; 178,4; 151,8; 151,2; 128,5; 128,4; 111,9; 102,1; 102,2; 97,8; 90,6; 87,2; 85,2; 84,5; 82,8; 81,7; 81,4; 81,2; 40,4; 31,1; 30,6; 22,4; 21,9; 18,9.

**[(*p*-cimeno)Ru( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)FeCp)Cl]**  
**(2b).** Sólido burdeo. (Rendimiento=77%) (124 mg, 0.21 mmol).



**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3425 (νNH/NH<sub>2</sub>/C<sub>sp2</sub>-H); 2933 (νC<sub>sp3</sub>-H); 1549 (νC=N); 1391 (νS-O). **<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,54 (s, 1H, CH=N); 7,68 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 6,61 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 5,61 (s, 1H, η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); (no se observa, NH<sub>2</sub>); 5,31 (s, 1H, *p*-cy); 5,25 (s, 1H, *p*-cy); 5,05 (m, 1H, NH); 4,98 (s, 1H, *p*-cy); 4,77 (s, 1H, *p*-cy); 4,63 (s, 1H, η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 4,61 (s, 1H, η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 4,54 (s, 1H, η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 4,50 (s, 1H, η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 4,25 (s, 5H, η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>); 3,43 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2,60-2,25 (m, 3H, CH<sub>2</sub>/CH); 2,25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,10 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,06 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). **<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>) δ 176,1; 158,6; 151,8; 128,5; 128,3; 111,7; 101,4; 101,1; 83,6; 82,1; 81,5; 81,0; 79,1; 72,3; 71,7; 70,6; 70,0; 69,8; 40,6; 30,9; 30,4; 22,5; 21,8; 18,8.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1 Síntesis y caracterización de complejos de Ru(II) tipo *half sandwich*.

De acuerdo con las condiciones detalladas en la sección experimental, los complejos **1a-b** y **2a-b** fueron obtenidos a partir de la reacción entre un equivalente del dimero  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-cimeno})\text{Cl}_2]_2$  y dos equivalentes de las correspondientes acil-hidrazonas híbridas orgánicas-organometálicas (**Esquema 1**). Los compuestos fueron aislados como sólidos café oscuro (**1a-b**) y burdeo (**2a-b**) en buenos rendimientos (75 - 83%), demostrando ser solubles en diclorometano, cloroformo, parcialmente en DMSO y presentan una alta estabilidad al aire.



Inicialmente, los complejos obtenidos fueron caracterizados mediante espectroscopia FT-IR en KBr. Para todos los complejos fue posible observar el *stretching*  $\nu\text{C}=\text{N}$  en el intervalo de  $1597\text{-}1628\text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente se registra la desaparición del *stretching*  $\nu\text{C}=\text{O}$  en la zona de  $1700\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  presente en el ligando libre (páginas **61,62**), lo cual indica un cambio tautomérico desde la forma amida hacia la forma imídica. Sumado a esto, para los complejos **1a-b** se registró un desplazamiento a baja energía de las bandas de los carbonilos organometálicos en el rango de  $2025 - 1919\text{ cm}^{-1}$ , en comparación con los ligandos libres ( $2029 - 1912\text{ cm}^{-1}$ ), lo cual se encuentra asociado a la coordinación de la acilhidrazona al centro metálico de rutenio (II).<sup>[74]</sup>

La evidencia de la formación de los compuestos de coordinación fue obtenida desde los respectivos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , donde se observa la desaparición de las señales correspondientes al grupo  $-\text{NH}-\text{CO}-$  (páginas **63,64**) registrada a bajo campo ( $\delta\sim 12$ ). De acuerdo con el análisis espectroscópico y en

concordancia con la información obtenida desde los análisis de FT-IR, se propone que las acilhidrazonas precursoras se comportan como ligandos bidentados monoaniónicos, permitiendo de esta manera formar complejos neutros. Similares resultados han sido descritos por Ramesh y colaboradores para complejos del tipo  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Ru}(\text{L})\text{Cl}]$  (L= dimetilaminobenzhidrazonas)<sup>[75]</sup>.

Por otra parte, los singletes presentes en la zona de 8,51-8,31 ppm para los complejos **1a-b**, y 8,76-8,54 ppm para los complejos **2a-b** fueron atribuidos al protón del grupo imina CH=N. De acuerdo con estos desplazamientos químicos, los complejos provistos de un fragmento ciretrenilo (**1a-b**) poseen señales que se desplazan hacia alto campo en comparación a sus análogos provistos de un fragmento ferrocenilo (**2a-b**). Lo anterior puede estar relacionado con los efectos electrónicos contrarios de los fragmentos organometálicos, los cuales actúan en el complejo y se ven reflejados en las señales más cercanas al modificar su entorno químico, cambiando la densidad electrónica cercana al protón imínico.

Asociado a las señales mencionadas anteriormente, los protones del anillo aromático disustituido presente en el ligando se registran como dos dobletes en la zona de 6,60-8,19 ppm, esto en concordancia con otros sistemas orgánicos y organometálicos que poseen anillos aromáticos con dos sustituyentes orientados en posición *-para-*. Adicionalmente, los complejos que poseen una cadena espaciadora presentan señales en 7,69 ppm (**1b**) y 6,62 ppm (**2b**), mientras que los complejos sin grupo espaciador (**1a,2a**) presentan estas señales en 7,81 y 8,15 ppm, respectivamente. Este fenómeno puede ser atribuido al efecto electrónico que aportan los sustituyentes del anillo aromático presentes en ambas estructuras, donde se puede apreciar que los compuestos provistos de una cadena espaciadora (**1b,2b**) se encuentran sustituidos por un grupo amina de efecto donador de densidad electrónica, el cual ocasiona desplazamientos

hacia alto campo de las señales en comparación a sus análogos sin cadena espaciadora (**1a,2a**), los cuales presentan un carbono carbonílico de efecto sustractor de densidad electrónica como grupo sustituyente.

Para los complejos **1a-b** que contienen el fragmento ciretrenilo en su estructura, se observan múltiples señales en la zona de 7,10 – 5,00 ppm correspondientes al anillo *p*-cimeno y al anillo ciclopentadienilo sustituido. Las señales del compuesto **2b** derivado de ferroceno, correspondientes a los protones aromáticos del anillo de *p*-cimeno y del anillo ciclopentadienilo en el rango de  $\delta$  5,61-4,25 presentan cuatro pares de dobletes que integran por un hidrógeno cada uno y cuatro singletes que integran por uno cada uno respectivamente. Este fenómeno tiene relación con la coordinación al centro metálico de Ru<sup>II</sup>, donde se evidencia que al reaccionar el dimerico con tres ligandos de distinta naturaleza o dos ligandos que poseen tres átomos coordinantes distintos, se produce la pérdida de simetría en el complejo generando un desdoblamiento de las señales, lo cual concuerda con el análisis espectroscópico propuesto Colina-Vegas y colaboradores para complejos *half sandwich* de Ru(II) aciltiourea<sup>[76]</sup>.

Contrario al caso anterior, se puede observar que en los demás complejos **1a-b** y **2a**, las señales correspondientes a los protones aromáticos del anillo *p*-cimeno se presentan como dos dobletes que integran por un hidrógeno y un multiplete que integra por dos hidrógenos, en lugar de cuatro dobletes que integran por un protón cada uno. Sumado a lo anterior, las señales correspondientes al grupo isopropilo presente en el anillo *p*-cimeno se observan como un triplete que integra por seis hidrógenos o dos dobletes que integran por tres protones cada una. Estos comportamientos se pueden atribuir a una posible interacción espacial, ocasionada por la pérdida de simetría en el complejo, observándose un acoplamiento entre la señal del grupo isopropilo y un protón aromático cercano.

Resultados similares fueron reportados por Rao y colaboradores para complejos del tipo  $[(p\text{-cimeno})\text{Ru}^{\text{II}}(\text{L})\kappa^2_{(\text{N,S})}\text{Cl}]^+$  con  $\text{L} = \text{N-fenil-N'piridil/pirimidil tiourea}$ .<sup>[77]</sup>

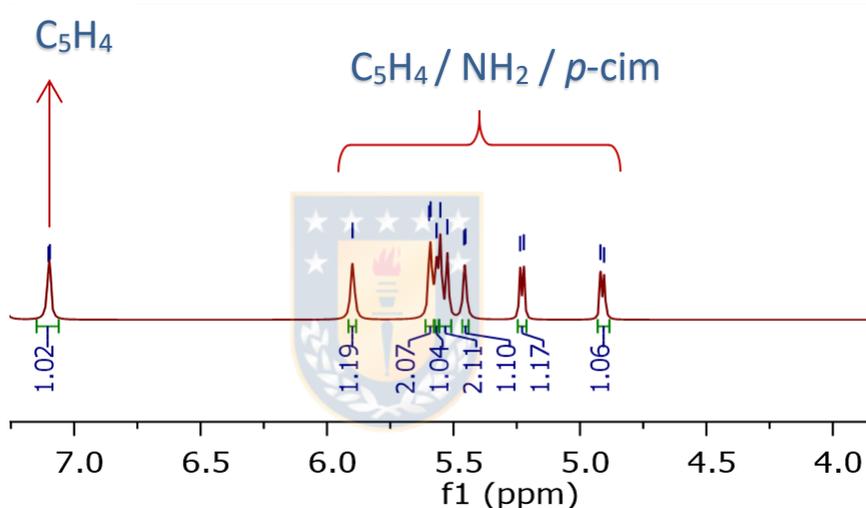
Es importante mencionar que, en la zona de los protones aromáticos del anillo  $p$ -cimeno, se puede apreciar para todos los complejos (**1a-b** y **2a-b**), que una de las cuatro señales se registra a alto campo en relación a las demás (4,91–4,85 ppm y 4,84-4,77 ppm respectivamente). Este efecto puede ser atribuido a una posible interacción  $\text{CH}/\pi$  entre el anillo aromático ciclopentadienilo presente en el ligando con un protón aromático del ligando  $p$ -cimeno a causa de la proximidad espacial de estos hidrógenos en la estructura. Fenómenos similares han sido registrados por Wei Su y colaboradores para complejos *three legged piano stool* de formula general  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Ru}^{\text{II}}(\text{TSC})\text{Cl}]^{+/0}$  con  $\text{TSC} = \text{tiosemicarbazona cetona-N}^4\text{-sustituida}$ .<sup>[78]</sup>



En relación con el fragmento organometálico presente en el ligando, se puede evidenciar en todos los compuestos (**1a-b** y **2a-b**) que las señales correspondientes al anillo ciclopentadienílico sustituido se desplazan a bajo campo respecto al ligando precursor. Además, se observan cuatro singletes que integran por un protón o dos singletes que integran por un hidrógeno y un multiplete que integra por dos protones, en lugar de dos tripletes que integran por dos hidrógenos. Esto coincide con el análisis espectroscópico para complejos de Rutenio (II), donde los ligandos poseen en su estructura un metalloceno o anillo ciclopentadienílico de la forma  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Ru}^{\text{II}}(\text{ferrocenil salicildimina})\text{Cl}]$  reportado por Cassells y colaboradores.<sup>[79]</sup>

En relación con el análisis anterior cabe mencionar que, para los complejos **1a-b** se registró una señal correspondiente a uno de los singletes atribuidos a la señal del anillo ciclopentadienilo, la cual se encuentra desplazada significativamente a bajo campo (7,10 ppm y 7,00 ppm respectivamente) en comparación a los demás singletes del fragmento organometálico (**Figura 6**).

Para este fenómeno se propone que, los protones más cercanos al carbono ipso experimentan interacciones intramoleculares con el protón imínico  $\text{CH}=\text{N}$  presente en el ligando, desapantallando las señales. Estos desplazamientos también se observa en los análogos de ferroceno (**2a-b**) para las señales de 5,72 ppm y 5,61 ppm respectivamente, lo cual concuerda con el análisis espectroscópico realizado por Adams y colaboradores para complejos del tipo  $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{TSC})(\text{Ar})\text{Cl}]$  con TSC = ferrocenil monotiosemicarbazonas.<sup>[80]</sup>

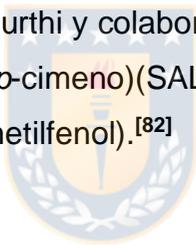


**Figura 6.** Espectro RMN  $^1\text{H}$  del complejo **1a** en la zona de 7,25-3,75 ppm.

Es importante mencionar que para los complejos **1a-b** se observó en la zona de 5,59-4,53 ppm las señales correspondientes al grupo sulfonamida  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ , mientras que no fue posible registrar estas señales para los análogos de ferrocenilo (**2a-b**). Sumado a estos antecedentes, para los compuestos **1b** y **2b** provistos con una cadena espaciadora fue posible apreciar que la integración de señales del grupo  $\text{NH}$  se reduce a la mitad. Las observaciones mencionadas pueden estar atribuidas a posibles interacciones no covalentes del tipo enlace de hidrógeno, promovidas por los distintos grupos funcionales presentes las estructuras de los complejos, lo cual concuerda con reportes en literatura de

Rutkauskas y colaboradores para compuestos hidrazonas bencenosulfonamidas del tipo 4-({2-[5-(etilsulfanil)-1,3,4-oxadiazol-2-il]etil}-amino)benceno-1-sulfonamida.<sup>[81]</sup>

Finalmente, para todos los complejos sintetizados se observan los grupos metino, metilo e isopropilo del anillo *p*-cimeno en la zona entre 2,65-1,10 ppm. Estas señales se presentan como un multiplete que integra por un hidrógeno en 2,65 ppm, un singlete que integra por tres protones en 2,31 ppm y dos dobletes o un triplete que integra por seis hidrógenos en total en 1,14-1,23 ppm, respectivamente. La naturaleza quiral del centro metálico y el comportamiento diastereotópico de los grupos metilo en el fragmento isopropilo, es posiblemente la causa de la asimetría en las señales observadas. Resultados similares fueron reportados por Viswanathamurthi y colaboradores, para complejos *three legged piano stool* del tipo  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{SAL-HBT})\text{Cl}]$  con SAL-HBT = salicil((2-(benzotiazol-2-il)hidrazono)metilfenol).<sup>[82]</sup>



## 5.2 Análisis RMN $^{13}\text{C}$

En relación con los análisis de RMN  $^{13}\text{C}$ , los espectros obtenidos para los compuestos **1b**, **2a** y **2b** corroboran la formación de los complejos. Por otra parte, debido a su baja solubilidad y el acotado tiempo de análisis, no fue posible obtener el espectro para el compuesto **1a**. Las señales correspondientes al carbono carbonílico coordinado  $\text{N}=\text{C}-\text{O}$  aparecen en el intervalo de 178,5-176,1 ppm para los compuestos provistos de cadena espaciadora (**1b,2b**), mientras que para el complejo **1a**, se observa en 171,2 ppm. Esta diferencia en el desplazamiento químico puede estar relacionada a un posible efecto electrónico, atribuido a las distintas estructuras resonantes que aporta el anillo aromático sobre el carbonilo. En este contexto, Alsaeedi y colaboradores han reportado desplazamientos químicos similares para complejos *three legged piano stool* del tipo  $\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{diamina})\text{PF}_6$ , donde diamina = 1,2-diaminoantraquinona.<sup>[83]</sup>

Asociado a las señales mencionadas, los desplazamientos químicos correspondientes al grupo imínico  $\text{CH}=\text{N}$  se registran en 160,3 ppm para el compuesto **2a**, mientras que para los complejos provistos de cadena espaciadora **1b** y **2b** se observan en 151,2 y 158,6 ppm, respectivamente. Los valores de los compuestos **2a** y **2b** aparecen relativamente cercanos debido a que ambos complejos poseen un fragmento ferrocenilo enlazado al carbono imínico, experimentando un efecto electrónico donador similar. De forma contraria, se observa una diferencia al comparar los valores de los complejos **1b** y **2b**, lo cual puede ser atribuido a los efectos electrónicos contrarios que aportan los fragmentos organometálicos de ciretrenilo y ferrocenilo respectivamente. Fenómenos similares han sido reportados por Arancibia y colaboradores, para tiosemicarbazonas organometálicas del tipo  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{-C}(\text{R}_1)=\text{NNHC}(\text{S})\text{NHR}_2]\text{M}$  con  $\text{M} = \text{Re}(\text{CO})_3, \text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)$ ;  $\text{R}_1 = \text{H}, \text{CH}_3$  y  $\text{R}_2 = \text{H}, \text{CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{C}_6\text{H}_5$ .<sup>[84]</sup>

En relación con los valores correspondientes a los núcleos de carbono del anillo aromático disustituido presente en el ligando acilhidrazona de los complejos **1b** y **2b**, se observó que en ambos casos los desplazamientos químicos coinciden en 128,3 ppm y 111,8 ppm. Por otra parte, las señales del complejo **2a** aparecen en 125,9 ppm y 128,9 ppm observándose que una de ellas se desplaza hacia bajo campo en comparación a su análogo **2b**. Bajo estos antecedentes, se ha propuesto que este fenómeno puede estar atribuido al efecto donador de densidad electrónica, proporcionado por el grupo amina enlazado directamente al anillo aromático presente en los complejos **1b** y **2b** provistos de una cadena espaciadora, el cual difiere del efecto sustractor de densidad electrónica que otorga el grupo carbonilo en el complejo **1a**. Se han reportado desplazamientos químicos similares por Ozpozan y colaboradores, para complejos del tipo  $[\text{RuCl}(\text{N},\text{O})(p\text{-cimeno})]$  donde  $(\text{N},\text{O}) = \text{N}-(3-(2\text{-hidroxibenzilidenamino)fenil})\text{bencenosulfonamidas}$ .<sup>[85]</sup>

Con respecto al fragmento organometálico, las señales correspondientes al anillo ciclopentadienilo de los compuestos **2a-b** derivados de ferroceno aparecen en el intervalo de  $\delta$  69,2-79,1 presentando una señal más intensa en  $\sim 70,0$  ppm asignada al anillo ciclopentadienilo no sustituido. En caso análogo, los desplazamientos atribuidos al anillo ciclopentadienilo del compuesto **1b** que presenta el grupo ciretrenilo, se desplazan hacia bajo campo en el intervalo de 82,8-97,8 ppm, lo cual es atribuido a la naturaleza sustractora de densidad electrónica de dicho fragmento organometálico. Sumado a lo anterior, para el complejo **1b** se observó una señal a bajo campo en 191,9 ppm, que corresponde a los carbonilos presentes en el fragmento ciretrenilo. Estos valores de desplazamiento químico también han sido reportados por distintos investigadores como Gómez y Biot, para compuestos derivadas de ciretreno del tipo  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{-C}(\text{R})=\text{N}=\text{N}=\text{CH}(5\text{-NO}_2\text{-2-C}_4\text{H}_2\text{O})]\text{Re}(\text{CO})_3$ <sup>[86]</sup> y  $[\eta^5\text{-1,2-}$

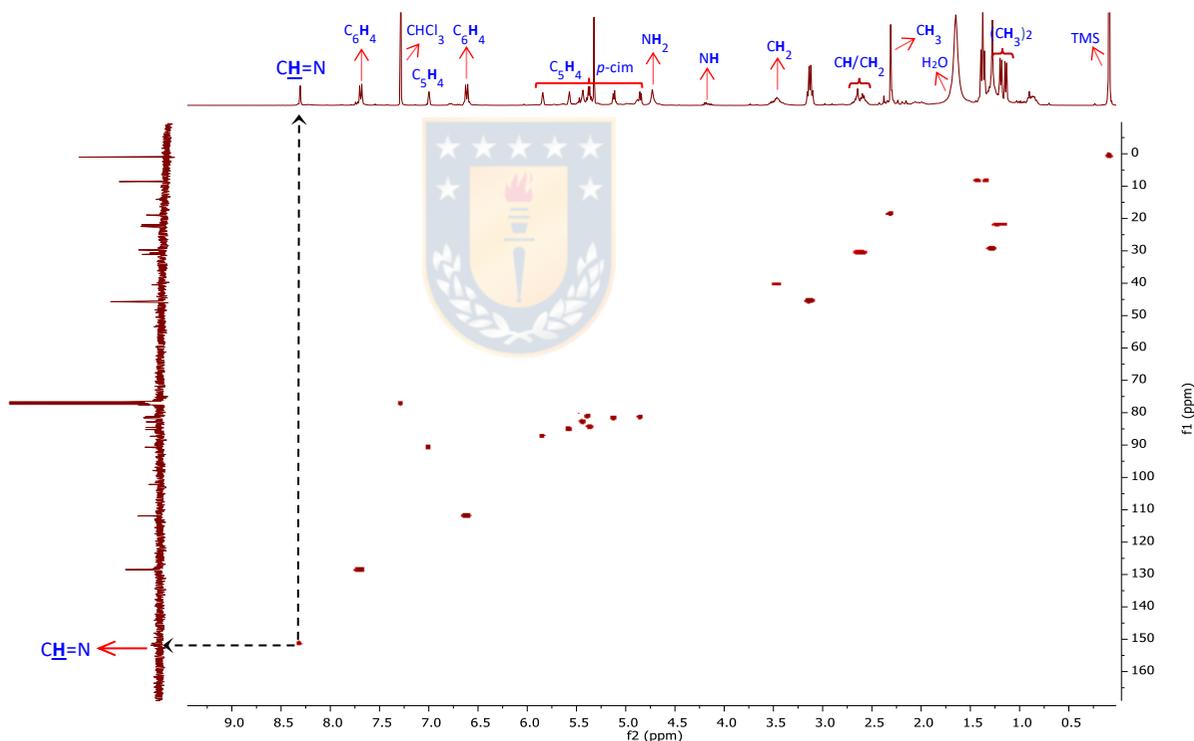
$C_5H_3(R)(CH=N-CH_2CH_2NH-QN)]Re(CO)_3$  con  $R = H$ ;  $R = CH_2OH$ ;  $QN = N-(7-Cl-4-quinolinil)$  <sup>[87]</sup> respectivamente.

Además, para todos los compuestos medidos fue posible identificar las señales correspondientes al fragmento *p*-cimeno, donde se observa el grupo metilo ( $CH_3$ ) en ~18,8 ppm, el grupo metino ( $CH$ ) del fragmento isopropilo en ~30,6 ppm, mientras que los carbonos aromáticos aparecen en el intervalo de  $\delta$  81,0-84,5. Es importante mencionar que los grupos metilo ( $(CH_3)_2$ ) se observan como dos señales en el intervalo de 21,8-22,6 ppm en lugar de una sola señal, lo cual puede ser atribuido a la no equivalencia de dichos grupos debido a la pérdida del plano de simetría en los complejos al momento de la coordinación. Este comportamiento también ha sido reportado por Haribabu y colaboradores, donde se encontraron valores de desplazamiento similares para sistemas  $[Ru(\eta^6-p-cimeno)(HL1)Cl]Cl$ , donde HL1 = (E)-2-((1H-Indol-3-il)metilen)hidrazinacarbotoamida. <sup>[88]</sup>

Los antecedentes presentados anteriormente han permitido confirmar la obtención de los complejos sintetizados, sin embargo, para una correcta y completa asignación de las señales observadas fue necesario realizar experimentos RMN 2D HSQC y HMBC a los compuestos **1b** y **2a** respectivamente.

### 5.3 Análisis RMN 2D HSQC y HMBC

Con la finalidad de asignar las señales de forma inequívoca, se registraron los espectros de  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$  HSQC y  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$  HMBC para los complejos **1b** y **2a** respectivamente. En el caso del complejo **1b** derivado de ciretreno, el espectro de HSQC permite reconocer la señal correspondiente al carbono del enlace imina  $\text{CH}=\text{N}$ , el cual aparece en 151,2 ppm, logrando una asignación pese a la baja intensidad de dicha señal (**Figura 7**).

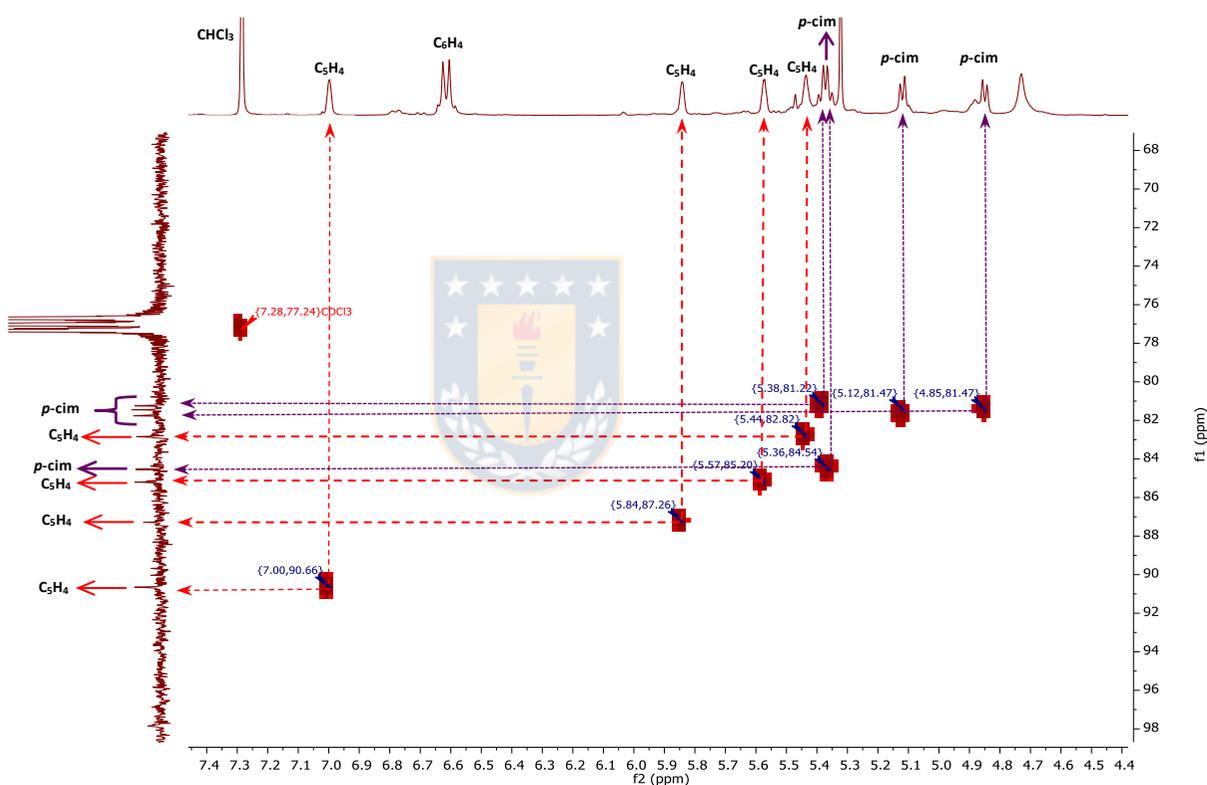


**Figura 7.** Espectro HSQC del complejo **1b** derivado de ciretreno

Adicional a la asignación de señales, se identificaron distintas zonas en el espectro las cuales se encuentran relacionadas con los grupos presentes en el compuesto. En la zona seleccionada de 92,0 - 80,0 ppm y 7,10 - 4,70 ppm

(Figura 8) se observan las señales correspondientes al fragmento ciretrenilo, como también los protones aromáticos del anillo *p*-cimeno.

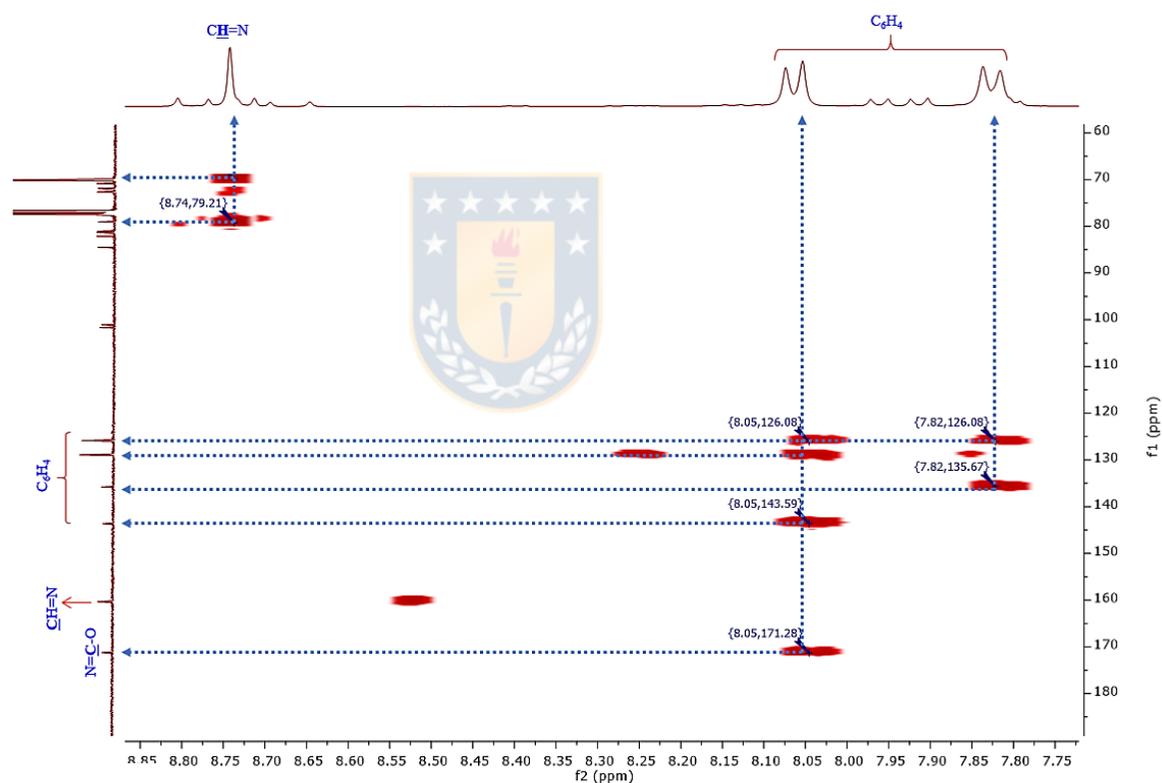
En este contexto, se logró establecer que las señales de  $^{13}\text{C}$  en 81,2 ppm y 84,5 ppm corresponden a una misma señal de protón, la cual se observa como un multiplete que integra por dos hidrógenos en 5,46 ppm correspondientes al anillo *p*-cimeno.



**Figura 8.** Espectro HSQC del complejo **1b**, en la zona de 7,10-4,70 ppm y 100,0-66,0 ppm.

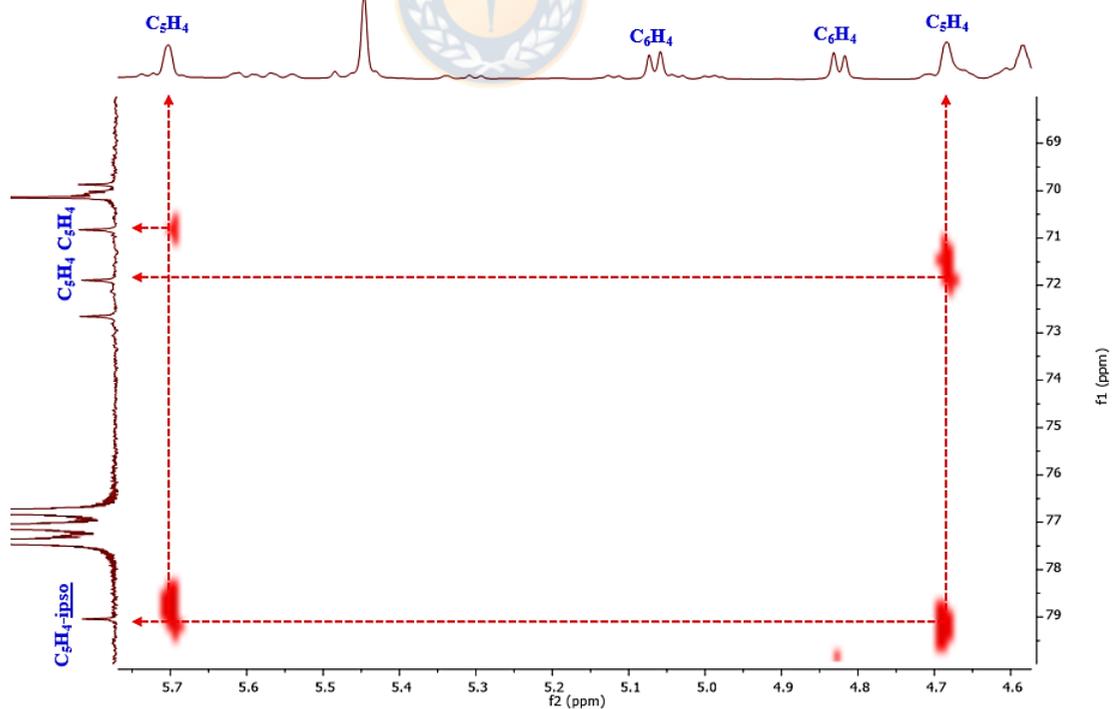
Con la finalidad de complementar la data espectroscópica y lograr una total caracterización de los complejos, se realizó adicionalmente un experimento RMN 2D de HMBC para el compuesto **2a** derivado de ferroceno. A diferencia del análisis HSQC, este experimento permite observar acoplamiento  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$  a una distancia de hasta tres enlaces, logrando de esta manera identificar las señales

presentes y establecer su relación con los distintos fragmentos dentro del complejo, como lo son el anillo *p*-cimeno, el fragmento orgánico del ligando y el fragmento ferrocenilo. Además, este experimento permitió reconocer las señales de carbono correspondientes al grupo imina **CH=N** y al carbonilo orgánico **N=C-O** en 158,2 ppm y 176,1 ppm respectivamente, como también ha permitido asignar las señales de los carbonos cuaternarios pertenecientes al anillo disustituido presentes en el ligando, los cuales se observan en 151,8-128,5 ppm como señales menos intensas (**Figura 9**).



**Figura 9:** Espectro HMBC del complejo **2a**, en la zona de 8,90-7,70 ppm y 190-55 ppm

En concordancia con los resultados obtenidos a partir del análisis HSQC realizado para el complejo **1b** derivado de ciretreno, fue posible corroborar en la zona de 5,75-4,55 ppm y 80,0-70,0 ppm, que la señal de protones desplazada hacia bajo campo (5,70 ppm para el complejo **2a**) corresponde al hidrógeno aromático perteneciente al anillo sustituido del fragmento ferrocenilo. Esta aproximación se logró establecer a partir de la relación entre las señales pertenecientes a dicho fragmento, lo cual adicionalmente favoreció una correcta asignación para la señal correspondiente al carbono ipso presente en el anillo ciclopentadienilo sustituido (**Figura 10**). La data espectroscópica y los desplazamientos químicos obtenidos han permitido lograr una caracterización completa para los complejos medidos, lo cual también concuerda con los valores reportados por Furrer y colaboradores para complejos *three legged piano stool* de rutenio (II) coordinados con aminoácidos.<sup>[89]</sup>



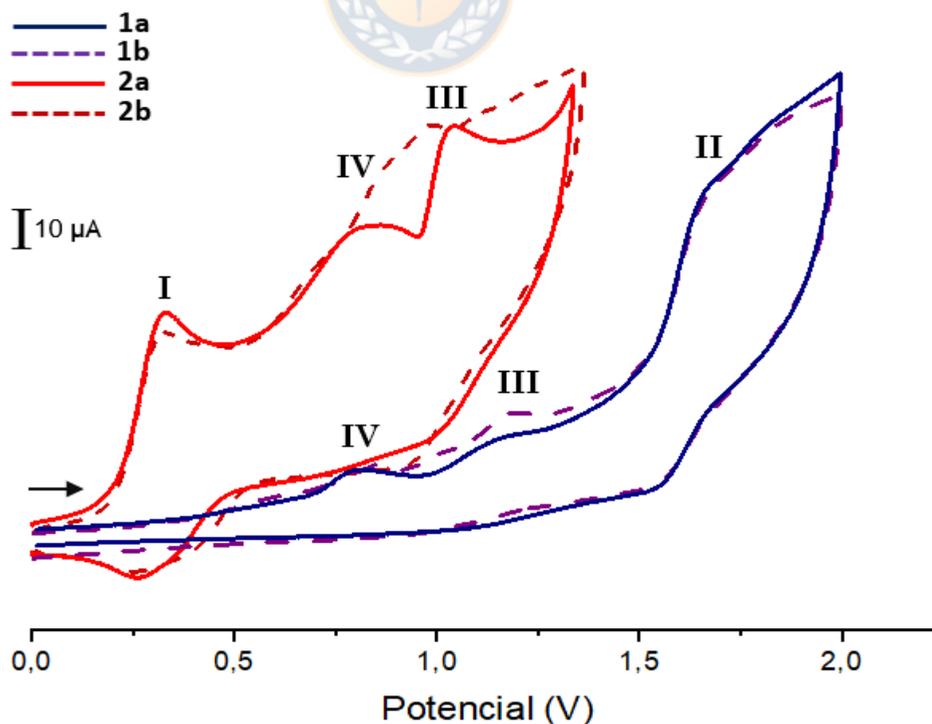
**Figura 10.** Espectro HMBC del complejo **2a**, en la zona de 5,75-4,55 ppm y 80-70 ppm

Para finalizar, es importante mencionar que, pese al gran esfuerzo empleado en la purificación y recristalización de los complejos, no ha sido posible obtener cristales que posean las condiciones necesarias para realizar un análisis de rayos X de monocristal. La dificultad en la obtención de cristales puede estar relacionada con la complicación para encontrar las condiciones ideales, sumado a la elevada cantidad de sitios capaces de experimentar interacciones no covalentes presentes en el complejo. Además, el acotado tiempo empleado para el procedimiento experimental, sumado a la poca experiencia en la obtención de cristales también han dificultado este proceso.



#### 5.4 Análisis de las propiedades Electroquímicas.

La versatilidad de los complejos de rutenio ha permitido su utilización en diferentes aplicaciones, donde sus propiedades electroquímicas juegan un rol fundamental. Además, se ha reportado que la facilidad de oxidación en sistemas biológicos cumple un rol relevante. Es por esto que se ha optado por realizar de forma preliminar, el estudio de las propiedades electroquímicas para todos los complejos sintetizados (**1a-b**, **2a-b**). Este análisis se llevó a cabo con la finalidad de establecer una posible relación entre los efectos electrónicos presentes en cada complejo y su actividad como (CAI's). En este contexto, fue posible obtener dicha información mediante voltametría cíclica (**Figura 11**), donde fue posible observar los procesos redox correspondientes a las especies  $Fe^{II}$  (I),  $Re^I$  (II) y  $Ru^{II}$  (III), además del fragmento orgánico presentes en las estructuras (IV).



**Figura 11.** Voltamogramas de los complejos [(*p*-cimeno)Ru(acil-hidrazona)Cl].

Bajo esta mirada, para los compuestos derivados de ciretreno (**1a-b**) se observó que no hay diferencia significativa en los potenciales de oxidación de ambos complejos. Además, para estas especies se registró un proceso de oxidación irreversible (**II**) en 1,6 V, el cual concuerda con valores atribuidos a la oxidación de la especie  $[(\text{Re(I)} \rightarrow \text{Re(II)})]$  reportados por Godoy y colaboradores en sistemas derivados ciretreno del tipo  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=N-M})\text{Re}(\text{CO})_3]$ , donde M = eter corona.<sup>[90]</sup>

En caso contrario, para los compuestos **2a-b** provistos de un fragmento ferrocenilo, se observa un proceso reversible en 0,3 V (**I**) atribuido a la oxidación de la especie  $[\text{Fe(II)} \rightarrow \text{Fe(III)}]$ , donde se logra evidenciar un desplazamiento hacia potenciales altos en comparación a valores reportados para el compuesto ferroceno libre (0,12 V) en condiciones similares. Este fenómeno puede estar atribuido al efecto sustractor de densidad electrónica que presenta el grupo imina unido directamente al fragmento organometálico, el cual además, se encuentra coordinado al centro metálico de Ru(II) incrementando la deficiencia de densidad electrónica. Bajo esta mirada, resultados similares fueron reportados por Govender y colaboradores para metalodendrimeros del tipo  $[\text{DAB-PPI}\{(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Ru}((\text{C}_7\text{H}_5\text{NO})\text{-}\kappa^2\text{-N,O})\text{PTA}(5\text{-ferrocenolvinil})\}_n][\text{PF}_6]_n$ .<sup>[91]</sup>

Sumado a estos antecedentes, para todos los complejos fue posible evidenciar un *peak* en la zona de 0,7 – 0,9 V, correspondiente al proceso de oxidación del fragmento orgánico (**IV**), donde se observa una señal de menor intensidad para los compuestos **1a-b**, en comparación a los análogos derivados de ferroceno (**2a-b**). Además, se puede observar que, para ambas familias de complejos los *peak* aparecen como señales anchas en valores de potencial similares. Este comportamiento puede estar relacionada con el tamaño de la porción orgánica, la cual debido a su gran envergadura no experimenta a gran escala los efectos electrónicos y se comporta de forma independiente a los fragmentos

organometálicos presentes, lo cual también ha sido observado por Godoy y colaboradores para compuestos organometálicos derivados de chalconas del tipo  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{CH}-4\text{-benzo-15-crown-5})\text{MLn}]$  donde  $\text{MLn}$  = ferrocenil, ciretrenil y cimantrenil) <sup>[92]</sup>.

Por último, para ambas familias de compuestos (**1a-b** y **2a-b**) se observa un proceso de oxidación irreversible (**III**) en 1,2 V y 1,0 V respectivamente, los cuales coinciden con los valores de oxidación del centro metálico  $[\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \text{Ru}(\text{III})]$  reportados por Mandal y colaboradores para complejos heterobimetálicos del tipo  $[\text{Ru}(\text{L})(\eta^6\text{-areno})\text{Cl}]$  provistos de un ligando ferrocenil-quinolina.<sup>[11]</sup> En este contexto, se puede observar una diferencia de 0,2 V entre ambas familias de compuestos, evidenciando desplazamientos hacia potenciales bajos para los complejos **2a-b** derivados de ferroceno en comparación a sus análogos provistos de un fragmento ciretrenilo (**1a-b**). Este comportamiento puede ser atribuido a una efectiva comunicación electrónica entre el fragmento organometálico ferrocenilo y el centro metálico de rutenio, donde la naturaleza donadora de densidad electrónica presente en el fragmento actúa sobre la densidad electrónica de la especie  $\text{Ru}(\text{II})$  facilitando su proceso de oxidación en comparación con el fragmento ciretrenilo, fenómeno que también ha sido reportado por Shapovalov y colaboradores para complejos heterometálicos half sandwich de Rutenio(II) provistos de ligandos pirazol /  $\beta$ -dicetona organometálicos derivados de ferroceno y cimantreno.<sup>[93]</sup>

## 5.5 Evaluación como inhibidores de la Anhidrasa Carbónica.

Como se estableció anteriormente, la naturaleza electrónica de un fragmento organometálico puede modular las propiedades biológicas de un compuesto, dependiendo del efecto que otorga en la estructura. Además, la coordinación de dichas especies a distintos metales puede modificar el efecto electrónico total del complejo otorgando un efecto sinérgico, como también puede modificar los potenciales de oxidación en los centros metálicos presentes, influyendo directamente en su actividad inhibitoria.

Bajo esta premisa, todos los complejos (**1a-b** y **2a-b**) fueron evaluados *in vitro* como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica (CAIs), en colaboración con el Dr. Claudiu Supuran de la Universidad de Florencia, Italia. En este contexto cabe destacar que, a causa del Covid-19 se experimentó una dificultad en el envío de los compuestos sintetizados, por lo que solo fue posible la medición en cuatro isoformas hCA, en las cuales se incluyeron dos isoformas citosólicas humanas (h) (hCA I y II) y dos isoformas transmembrana sobrepresadas en células cancerígenas (hCA IX y XII). Los datos fueron extraídos desde el ensayo hidrasa CO<sub>2</sub> de flujo interrumpido, obteniendo las constantes de inhibición (**K<sub>i</sub>**) las cuales describen la afinidad del complejo con el el sitio activo de la enzima CA (a menor valor de K<sub>i</sub>, mayor afinidad con el sitio activo). Estos valores se compararon con la droga control acetazolamida (AAZ) y con los ligandos correspondientes (L<sub>1a</sub>- L<sub>2b</sub>) (**Tabla 1**).

Este estudio se ha realizado con el objetivo de explorar las propiedades biológicas en este nuevo tipo de sistemas heterobimetálicos, como además establecer una relación entre la coordinación de ligandos orgánicos - organometálicos de distinta naturaleza electrónica al centro metálico de rutenio, y su rol como moduladores de las propiedades inhibitoras.

Cmp	K <sub>i</sub> (nM)			
	hCA I	hCAII	hCA IX	hCA XII
L <sub>1a</sub>	595.4	0.48	-	-
L <sub>2a</sub>	2817	4.02	-	-
L <sub>1b</sub>	7736	6.59	-	-
L <sub>2b</sub>	8090	18.2	-	-
<b>1a</b>	538.1	50.4	30.2	44.2
<b>2a</b>	483.6	56.4	79.2	79.5
<b>1b</b>	1608	650.5	275.6	297.4
<b>2b</b>	953.7	422.3	140.2	158.2
<b>AAZ</b>	250	12.1	25.7	5.7

**Tabla 1:** Inhibición de la CA en sus isoformas hCA I, II, IX y XII, frente a la droga control acetazolamida (**AAZ**) y los ligandos organometálicos, realizado por el ensayo hidrasa CO<sub>2</sub> de flujo interrumpido

En primer lugar, es importante mencionar que todos los complejos medidos resultaron ser activos en el rango nanomolar (nM) para inhibir las distintas isoformas de la enzima anhidrasa carbónica. Por otra parte, también se puede observar que, para todos los complejos obtenidos, las especies sin grupo espaciador **1a** y **2b**, presentan una mayor actividad que sus análogos provistos de cadena espaciadora (**1b** y **2b**). Este fenómeno puede estar relacionado con la comunicación electrónica presente en los complejos, donde se observa que para las especies sin cadena espaciadora, su estructura se encuentra con un mayor grado de comunicación electrónica, a diferencia de sus análogos que poseen un grupo espaciador -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, el cual interrumpe completa conjugación electrónica desde los fragmentos organometálicos hacia el grupo sulfonamida disminuyendo su afinidad, en concordancia con valores reportados Sethi y colaboradores, para compuestos orgánicos provistos de un fragmento bencenosulfonamida.<sup>[94]</sup>

En cuanto a los valores correspondientes a la Isoforma hCA I, es posible establecer que, en concordancia con la hipótesis postulada, todos los complejos medidos presentaron mayor actividad que sus ligandos precursores ( $L_{1a}$ - $L_{2b}$ ). Este fenómeno puede estar asociado a la coordinación de los ligandos con centro metálico de Ru(II), el cual proporciona un efecto sinérgico, que sumado al fragmento organometálico, favorece la afinidad del grupo sulfonamida con el sitio activo de la enzima hCA I. En relación a estos estudios, se han descrito resultados similares por Ul-Hassan y colaboradores para bases de schiff provistas de un grupo sulfonamida y coordinadas a distintos centros metálicos (Co(II), Ni(II), Cu(II)).<sup>[95]</sup>

Por otra parte, se observó que para los valores correspondientes a la Isoforma hCA II, los complejos sin grupo espaciador **1a** y **2a** (50,4 nM y 56,4 nM) presentan una actividad relativamente similar. Sin embargo, para los análogos con cadena espaciadora, el complejo provisto de un fragmento ferrocenilo **2b** (422,3 nM) posee una mayor actividad que su análogo de ciretrenilo **1b** (650,5 nM), dificultando establecer una relación entre el fragmento organometálico y su actividad como CAIs.

Con respecto a los valores obtenidos para las isoformas hCA IX y XII se observó que el complejo sin grupo espaciador provisto de un fragmento ciretrenilo **1a** exhibe el doble de actividad (30,2 nM ;44,2 nM) que su análogo ferrocenilo **2a** (79,2 nM; 79,5 nM), observándose valores cercanos al fármaco comercial **AAZ** (25,7 nM). Al contrario de este comportamiento, y en relación con los complejos provistos de un grupo espaciador (**1b**, **2b**), el complejo provisto de un fragmento ferrocenilo **2b** presenta el doble de actividad (140,2 nM; 158,2 nM) que su análogo de ciretrenilo **2a** (275,6 nM; 297,4 nM). Estos resultados confirman una posible dependencia entre el fragmento organometálico presente en el complejo y su actividad como CAIs, demostrando que la naturaleza electrónica de los fragmentos organometálicos juega un rol fundamental al momento de modular

interacciones en el sitio activo de la enzima hCA, en concordancia con estudios realizados por Salmon y colaboradores para bencenosulfonamidas provistas de un fragmento organometálico.<sup>[96]</sup>

Dicho fenómeno ha demostrado estar directamente relacionado con los potenciales de oxidación de los metales presentes en el complejo, observándose un aumento en la afinidad con el sitio activo, al aumentar el potencial de oxidación de los metales presentes en la estructura (Ciretreno > Ferroceno), dejando en evidencia que al dificultar los procesos de oxidación de los centros metálicos incorporando fragmentos organometálicos sustractores de densidad electrónica, se puede aumentar a más del doble la actividad inhibidora de la anhidrasa carbónica, como fue el caso de las isoformas asociadas a células cancerígenas hCA IX y hCA XII. En concordancia con estas observaciones, se han descrito valores similares por Supuran y colaboradores para complejos metálicos de Zn(II), Co(II), Ni(II) y Cu(II) provistos de ligandos bases de schiff's que poseen un fragmento sulfonamida, los cuales actúan como CAI's.<sup>[97]</sup>

Finalmente, cabe destacar que los complejos sintetizados en esta investigación son los primeros sistemas heterobimetálicos con ligandos híbridos provistos de fragmentos orgánicos - organometálicos en ser evaluados como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica (CAI's), abriendo la posibilidad a explorar nuevos diseños de compuestos, apostando a un efecto sinérgico entre los distintos centros metálicos para favorecer la actividad inhibitoria, como también la selectividad a las distintas isoformas de la anhidrasa carbónica.

## 6. CONCLUSIONES

- Los complejos *three legged piano stool* de Ru<sup>II</sup> provistos de ligandos acilhidrazonas híbridos orgánicos - organometálicos fueron sintetizados exitosamente, mediante la coordinación frente al dímero de rutenio [Ru(η<sup>6</sup>-cimeno)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>, con rendimientos sobre el 70%.
- La presencia de una base no nucleofílica en el medio de reacción (Et<sub>3</sub>N), facilitó la tautomerización de los ligandos organometálicos, favoreciendo una coordinación del tipo *N,O* donadora.
- Los espectros de RMN 1D (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) y 2D (<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C} HSQC, HMBC) registrados para las especies sintetizadas confirmaron el comportamiento monoanionico de los ligandos acilhidrazonas, corroborando la obtención de complejos neutros del tipo [Ru(η<sup>6</sup>-cimeno)(*N,O*)Cl].
- Los estudios electroquímicos demostraron para ambas familias de complejos (**1a-b**, **2a-b**) una estrecha relación entre el fragmento organometálico y el centro metálico de Ru<sup>II</sup>, evidenciando diferencias en el potencial de oxidación del rutenio, en respuesta a la naturaleza electrónica de la entidad organometálica.
- Todos los complejos sintetizados fueron biológicamente activos como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica en el rango nanomolar, presentando un efecto sinérgico para la isoforma hCA I, como también una selectividad frente a las isoformas hCA IX y XII, dando cuenta de potenciales aplicaciones farmacológicas.

- Los estudios realizados demostraron una posible relación entre el efecto electrónico experimentado por los complejos heterobimetálicos y sus propiedades como CAI's, observándose un aumento en la actividad inhibidora de los complejos derivados de ciretreno, en comparación a sus análogos provistos de un fragmento ferrocenilo.



## 7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Bunsen R.W. (1842). Untersuchungen über die Kakodylreihe, *Ann. Pharm.*, 42, 15.
- [2] Rosenberg B., Van Camp L. (1970). The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. *Cancer Res.*, 30, 1799.
- [3] Wang D., Lippard S.J. (2005). Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat., Rev. Drug Discov.*, 4, 307.
- [4] Martínez A., Rajapakse C., Naoulou B., Kopkalli Y., Davenport L., Sánchez-Delgado R. (2008). The mechanism of antimalarial action of the ruthenium (II)-chloroquine complex  $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$ . *J. Biol. Inorg. Chem.*, 13, 703.
- [5] Jaouen G.; *Biorganometallics: Biomolecules, Labeling, Medicine*. Wiley-VCH. (2006).
- [6] Harding M.M., Mokdsi G. (2000). Antitumour metallocenes: structure-activity studies and interactions with biomolecules. *Curr. Med. Chem.*, 7, 1289.
- [7] Kôpf-Maier P. (1994). Complexes of metals other than platinum as antitumour agents. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 47, 1.
- [8] Kôpf-Maier P., Kôpf H. (1987). Non-platinum group metal antitumor agents. History, current status, and perspectives. *Chem. Rev.*, 87, 1137.
- [9] Waern J.B., Harding M.M. (2004). Bioorganometallic chemistry of molybdocene dichloride. *J. Organomet. Chem.*, 689(25), 4655-4668.
- [10] Petr Stepnicka; *Ferrocenes: Ligands, Material and Biomolecules*. Wiley-VCH. 2008. (b) M. Smith, J. March; *March's Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms and Structure*.
- [11] Edwards E.I., Epton R., Marr G. (1975). Organometallic derivatives of penicillins and cephalosporins a new class of semi-synthetic antibiotics. *J. Organomet. Chem.*, 85(2), C23-C25.
- [12] Edwards E.I., Epton R., Marr G. (1976). A new class of semi-synthetic antibiotics: ferrocenyl-penicillins and -cephalosporins. *J. Organomet. Chem.*, 107(3), 351-357.

- [13] Gambino, D., & Otero, L. (2018). Design of prospective antiparasitic metal-based compounds including selected organometallic cores. *Inorg. Chim. Acta*, 472, 58–75.
- [14] Top S., Vessières A., Leclercq G., Quivy J., Tang J., Vaissermann J., Huché M., Jaouen G. (2004). Synthesis, Biochemical Properties and Molecular Modelling Studies of Organometallic Specific Estrogen Receptor Modulators (SERMs), the Ferrocifens and Hydroxyferrocifens: Evidence for an Antiproliferative Effect of Hydroxyferrocifens on both Hormone-Dependent and Hormone-Independent Breast Cancer Cell Lines. *Chem. Eur. J.*, 9(21), 5223-5236.
- [15] Jaouen G., Top S., Vessières A., Pigeon P., Leclercq G., Laios I. (2001). First anti-oestrogen in the cyclopentadienyl rhenium tricarbonyl series. Synthesis and study of antiproliferative effects. *Chem. Commun.*, (4), 383-384.
- [16] Pigeon P., Top S., Vessières A., Huché M., Hillard E.A., Salomon E., Jaouen G. (2005). Selective estrogen receptor modulators in the ruthenocene series. Synthesis and biological behavior. *J. Med. Chem.*, 48(8), 2814-21.
- [17] Zhang P., Sadler P. (2017). Advances in the design of organometallic anticancer complexes. *J. Organomet. Chem.*, 839, 5-14.
- [18] Kelland L. (2007). The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Rev. Cancer*, 7(8), 573-84.
- [19] Hartinger C., Metzler-Nolte N., Dyson P. (2012). Challenges and Opportunities in the Development of Organometallic Anticancer Drugs. *Organometallics*, 31(16), 5677-5685.
- [20] Morris R., Aird R., Murdoch P., Chen H., Cummings J., Hughes N., Parsons S., Parkin A., Boyd G., Jodrell D. et al.. (2001). Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) arene complexes. *J. Med. Chem.* 44(22), 3616-21.
- [21] Allardyce C., Dyson P., Ellis D., Heath S. (2001). [Ru( $\eta^6$ -*p*-cymene)Cl<sub>2</sub>(pta)] (pta = 1,3,5-triaza-7-phosphatricyclo- [3.3.1.1]decane): a water soluble compound that exhibits pH dependent DNA binding providing selectivity for diseased cells. *Chem. Commun.*, (15), 1396-1397.
- [22] Clavel C., Paunescu E., Nowak-Sliwinska P., Griffioen A., Scopelliti R., Dyson P. (2014). Discovery of a highly tumor-selective organometallic ruthenium(II)-arene complex. *J. Med. Chem.*, 57(8), 3546-58.

- [23] Aird R., Cummings J., Ritchie A., Muir M., Morris R., Chen H., Sadler P., Jodrell D. (2002). *In vitro* and *in vivo* activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. *Br. J. Cancer*, 86(10), 1652-1657.
- [24] Scolaro C., Geldbach T., Rochat S., Dorcier A., Gossens C., Bergamo A., Cocchietto M., Tavernelli I., Sava G., Rothlisberger U., Dyson P. (2006). Influence of Hydrogen-Bonding Substituents on the Cytotoxicity of RAPTA Compounds. *Organometallics*, 25(3), 756-765.
- [25] Bergamo A., Gaiddon C., Schellens J., Beijnen J., Sava G. (2012). Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. *J. Inorg. Biochem.*, 106(1), 90-9.
- [26] Nowak-Sliwinska P., van Beijnum J., Casini A., Nazarov A., Wagnieres G., van den Bergh H., Dyson P. (2011). Organometallic ruthenium(II) arene compounds with antiangiogenic activity. *J. Med. Chem.*, 54(11), 3895-902.
- [27] Chen H., Parkinson J., Morris R., Sadler P. (2003). Highly selective binding of organometallic ruthenium ethylenediamine complexes to nucleic acids: novel recognition mechanisms. *J. Am. Chem. Soc.*, 125(1), 173-86.
- [28] Peacock A., Sadler P. (2008). Medicinal Organometallic Chemistry: Designing Metal Arene Complexes as Anticancer Agents. *Chem. Asian J.*, 3(11), 1890-1899.
- [29] Dougan S., Sadler P. (2007). The Design of Organometallic Ruthenium Arene Anticancer Agents. *Chimia*, 61(11), 704-715.
- [30] Liu H., Berners-Price S., Wang F., Parkinson J., Xu J., Bella J., Sadler P. (2006). Diversity in guanine-selective DNA binding modes for an organometallic ruthenium arene complex. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 45(48), 8153-6.
- [31] Liu H., Parkinson J., Bella J., Wang F., Sadler P. (2010). Penetrative DNA intercalation and G-base selectivity of an organometallic tetrahydroanthracene Rull anticancer complex. *Chem. Sci.*, 1(2), 258-270.
- [32] Wang F., Xu J., Habtemariam A., Bella J., Sadler P. (2005). Competition between glutathione and guanine for a ruthenium(II) arene anticancer complex: detection of a sulfenato intermediate. *J. Am. Chem. Soc.* 127(50), 17734-43.
- [33] Petzold H., Xu J., Sadler P. (2008). Metal and Ligand Control of Sulfenate Reactivity: Arene Ruthenium Thiolato-Mono-S-Oxides. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47(16), 3008-3011.

- [34] Sriskandakumar T., Petzold H., Bruijninx P., Habtemariam A., Sadler P., Kennepohl P. (2009). Influence of oxygenation on the reactivity of ruthenium-thiolato bonds in arene anticancer complexes: insights from XAS and DFT. *J. Am. Chem. Soc.*, 131(37), 13355-61.
- [35] Kumar, J. R., Reddy, E. R., Mirzadeh, N., Srinivasa Reddy, T., Kumar Vardhaman, A., Giribabu, L., Trivedi, R. (2020). ( $\eta$ -Arene) ruthenium(II) complexes with ferrocene-tethered salicylaldimine ligands: synthesis, characterization and anti-cancer properties. *Polyhedron*, 114829.
- [36] Tirkey, V., Mishra, S., Dash, H. R., Das, S., Nayak, B. P., Mobin, S. M., & Chatterjee, S. (2013). Synthesis, characterization and antibacterial studies of ferrocenyl and cymantrenyl hydrazone compounds. *J. Organomet. Chem.*, 732, 122–129.
- [37] Yu, X., Shi, L., & Ke, S. (2015). Acylhydrazone derivatives as potential anticancer agents: Synthesis, bio-evaluation and mechanism of action. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25(24), 5772–5776.
- [38] Barman, S., You, L., Chen, R., Codrea, V., Kago, G., Edupuganti, R., Anslyn, E. V. (2014). Exploring naphthyl-carbohydrazides as inhibitors of influenza A viruses. *Eur. J. Med. Chem.*, 71, 81-90.
- [39] Hadjipavlou-Litina, D., Samadi, A., Unzeta, M., & Marco-Contelles, J. (2013). Analysis of the antioxidant properties of differently substituted 2- and 3-indolyl carbohydrazides and related derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 63, 670–674.
- [40] Cordeiro, N. M., Freitas, R. H. C. N., Fraga, C. A. M., & Fernandes, P. D. (2016). Discovery of Novel Orally Active Tetrahydro-Naphthyl-N-Acylhydrazones with In Vivo Anti-TNF- $\alpha$  Effect and Remarkable Anti-Inflammatory Properties. *PLOS ONE*, 11(5), e0156271.
- [41] Šink, R., Kovač, A., Tomašić, T., Rupnik, V., Boniface, A., Bostock, J., Zega, A. (2008). Synthesis and Biological Evaluation of N-Acylhydrazones as Inhibitors of MurC and MurD Ligases. *ChemMedChem*, 3(9), 1362–1370.
- [42] Kargar, H., Torabi, V., Akbari, A., Behjatmanesh-Ardakani, R., & Tahir, M. N. (2019). Synthesis, characterization, crystal structure and DFT studies of a palladium(II) complex with an asymmetric Schiff base ligand. *J. Mol. Struct.*, 1179, 732–738.

- [43] Kitamura, F., Sawaguchi, K., Mori, A., Takagi, S., Suzuki, T., Kobayashi, A., Nakajima, K. (2015). Coordination Structure Conversion of Hydrazone–Palladium(II) Complexes in the Solid State and in Solution. *Inorg. Chem.*, *54*(17), 8436–8448.
- [44] Natić, M., Tešević, Z., Anđelić, K., Brčeski, I., Radulović, S., Manić, S., & Sladić, D. (2004). Synthesis and Biological Activity of Pd(II) and Cu(II) Complexes with Acylhydrazones of Usnic Acid. *Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.*, *34*(1), 101–113.
- [45] Ayyannan, G., Mohanraj, M., Raja, G., Bhuvanesh, N., Nandhakumar, R., & Jayabalakrishnan, C. (2016). New palladium(II) hydrazone complexes: Synthesis, structure and biological evaluation. *J. Photoch. Photobio. B.*, *163*, 1–13.
- [46] Kaya, Y., Icel, C., Yilmaz, V. T., & Buyukgungor, O. (2015). Structural, spectroscopic and quantum chemical studies of acetyl hydrazone oxime and its palladium(II) and platinum(II) complexes. *J. Mol. Struct.*, *1095*, 51–60.
- [47] Pettinari, R., Marchetti, F., Di Nicola, C., Pettinari, C., Galindo, A., Petrelli, R., Pombeiro, A. J. L. (2018). Ligand Design for N,O- or N,N-Pyrazolone-Based Hydrazones Ruthenium(II)-Arene Complexes and Investigation of Their Anticancer Activity. *Inorg. Chem.* *57*(22):14123-14133.
- [48] Özbek, N., Özdemir, Ü. Ö., Altun, A. F., & Şahin, E. (2019). Sulfonamide-derived hydrazone compounds and their Pd (II) complexes: Synthesis, spectroscopic characterization, X-ray structure determination, in vitro antibacterial activity and computational studies. *J. Mol. Struct.*, *1196*, 707–719.
- [49] Balaji, S., Mohamed Subarkhan, M. K., Ramesh, R., Wang, H., & Semeril, D. (2020). Synthesis and Structure of Arene Ru(II) N^O-Chelating Complexes: In Vitro Cytotoxicity and Cancer Cell Death Mechanism. *Organometallics*.
- [50] Canivet J., Labat G., Stoeckli-Evans H., Suss-Fink G. (2005). Water-Soluble Arene Ruthenium Complexes Containing a *trans*-1,2-Diaminocyclohexane Ligand as Enantioselective Transfer Hydrogenation Catalysts in Aqueous Solution. *Eur. J. Inorg. Chem.*, *2005*(22), 4493-4500.
- [51] Dayan S., Ozpozan Kalaycioglu N., Daran J., Labande A., Poli R. (2013). Synthesis and Characterization of Half-Sandwich Ruthenium Complexes Containing Aromatic Sulfonamides Bearing Pyridinyl Rings: Catalysts for Transfer Hydrogenation of Acetophenone Derivatives. *Eur. J. Inorg. Chem.*, *2013*(18), 3224-3232.

- [52] Kayaci N., Dayan S., Kalaycioglu Ozpozan N. (2015). Novel N-coordinate half-sandwich ruthenium(II) arene complexes bearing sulfonamide fragments: Catalytic activities in the TH of acetophenone derivatives. *J. Mol. Struct.*, 1099, 446-452.
- [53] Kolaczek A., Fusiarz I., Lawecka J., Branowska D. (2014). Biological activity and synthesis of sulfonamide derivatives: a brief review. *CHEMIK*, 68(6), 620-628.
- [54] Casini A., Scozzafava A., Mastrolorenzo A., Supuran C. (2002). Sulfonamides and sulfonylated derivatives as anticancer agents. *Curr. Cancer Drug Targets* 2(1), 55-75.
- [55] Deo C., Bogliotti N., Métivier R., Retailleau P., Xie J. (2015). Photoswitchable Arene Ruthenium Complexes Containing o-Sulfonamide Azobenzene Ligands. *Organometallics*, 34(24), 5775-5784.
- [56] Soldevila-Barreda J., Bruijninx P., Habtemariam A., Clarkson G., Deeth R., Sadler P. (2012). Improved catalytic activity of ruthenium–arene complexes in the reduction of NAD<sup>+</sup>. *Organometallics*, 31(16), 5958-5967.
- [57] Soldevila-Barreda J., Romero-Canelon I., Habtemariam A., Sadler P. (2015). Transfer hydrogenation catalysis in cells as a new approach to anticancer drug design. *Nat. Commun.*, 6, 6582.
- [58] Stringer, T., Seldon, R., Liu, N., Warner, D. F., Tam, C., Cheng, L. W., Smith, G. S. (2017). Antimicrobial activity of organometallic isonicotinyl and pyrazinyl ferrocenyl-derived complexes. *Dalton Trans.*, 46(30), 9875–9885.
- [59] Supuran CT, (2016). Structure and function of carbonic anhydrases. *Biochem. J.*, 473, 2023–2032.
- [60] Supuran CT, De Simone G. (Eds), (2015). Carbonic Anhydrases as biocatalysts: from Theory to medical and industrial applications. *Elsevier B.V.*, pp. 1-380.
- [61] Salmon, A. J., Williams, M. L., Wu, Q. K., Morizzi, J., Gregg, D., Charman, S. A., Poulsen, S.-A. (2012). Metallocene-Based Inhibitors of Cancer-Associated Carbonic Anhydrase Enzymes IX and XII. *J. Med. Chem.*, 55(11), 5506–5517.
- [62] Supuran CT. (2008). Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 7, 168–181

- [63] Loughrey, B. T., Williams, M. L., Healy, P. C., Innocenti, A., Vullo, D., Supuran, C. T., Poulsen, S.-A. (2009). Novel organometallic cationic ruthenium(II) pentamethylcyclopentadienyl benzenesulfonamide complexes targeted to inhibit carbonic anhydrase. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 14(6), 935–945.
- [64] Chohan, Z. H., Pervez, H., Khan, K. M., & Supuran, C. T. (2005). Organometallic-based antibacterial and antifungal compounds: transition metal complexes of 1,1'-diacetylferrocene-derived thiocarbohydrazone, carbohydrazone, thiosemicarbazone and semicarbazone. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem*, 20(1), 81–89.
- [65] Moumita Maji, Sourav Acharya, Indira Bhattacharya, Arnab Gupta, and Arindam Mukherjee (2021). Effect of an Imidazole-Containing Schiff Base of an Aromatic Sulfonamide on the Cytotoxic Efficacy of N,N-Coordinated Half-Sandwich Ruthenium(II) p-Cymene Complexes. *Inorg. Chem.*, 60 (7), 4744-4754
- [66] Chohan, Z. H. (2008). Synthesis of organometallic-based biologically active compounds: In vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of some sulfonamide incorporated ferrocenes. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, 24(1), 169–175.
- [67] Kumar, V., Singh, A., Lumb, I., & Mehra, V. (2019). Ferrocene-Appended Pharmacophores: An exciting approach for modulating biological potential of organic scaffolds. *Dalton Trans.*, 48(9):2840-2860
- [68] Feng, L., Hongyun, Z., Liying, C., Qingan, W., Huiyong, X., & Hongquan, Z. (1996). Synthesis and Characterization of Transition Metal Complexes with 1,1'-bis[Acetyl-(3-hydroxy-2-naphthoyl-hydrazone)]ferrocene. *Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.*, 26(2), 339–348.
- [69] Yongxiang, M., Feng, L., Hongsui, S., & Jishan, X. (1988). Preparation of some ferrocenylcarbonylhydrazones and their coordination compounds. *Inorg. Chim. Acta*, 149(2), 209–212.
- [70] Quintana, C., Silva, G., Klahn, A. H., Artigas, V., Fuentealba, M., Biot, C., Arancibia, R. (2017). New cyrhetrenyl and ferrocenyl sulfonamides: Synthesis, characterization, X-ray crystallography, theoretical study and anti-Myco bacterium tuberculosis activity. *Polyhedron*, 134, 166–172.
- [71] Huentupil, Y., Peña, L., Novoa, N., Berrino, E., Arancibia, R., & Supuran, C. T. (2019). New sulfonamides containing organometallic-acylhydrazones: synthesis, characterisation and biological evaluation as inhibitors of human carbonic anhydrases. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, 34(1), 451–458.

- [72] Zelonka, R. A., & Baird, M. C. (1972). Benzene Complexes of Ruthenium(II). *Can. J. Chem.*, 50(18), 3063–3072.
- [73] W.L.F. Armarego CLLC., (2003), Purification of Laboratory Chemicals. Fifth ed. Butterworth-Heinemann, editor.
- [74] Stringer, T., Seldon, R., Liu, N., Warner, D. F., Tam, C., Cheng, L. W., Smith, G. S. (2017). Antimicrobial activity of organometallic isonicotinyl and pyrazinyl ferrocenyl-derived complexes. *Dalton Trans.*, 46(30), 9875–9885.
- [75] Balaji S., Mohamed Subarkhan M. K., Ramesh R., Wang H., & Semeril D. (2020). Synthesis and Structure of Arene Ru(II) N<sup>∧</sup>O-Chelating Complexes: In Vitro Cytotoxicity and Cancer Cell Death Mechanism. *Organometallics.*, 39, 8, 1366–1375.
- [76] Colina-Vegas L., Luna-Dulcey L., Plutín A. M., Castellano E. E., Cominetti M. R., & Batista A. A. (2017). Half sandwich Ru(ii)-acylthiourea complexes: DNA/HSA-binding, anti-migration and cell death in a human breast tumor cell line. *Dalton. Trans.*, 46(38), 12865–12875.
- [77] Adhikari S., Hussain O., Phillips R. M., Kaminsky W., Kollipara M. R. (2018). Synthesis, structural and chemosensitivity studies of arene d<sup>6</sup> metal complexes having N-phenyl-N'-(pyridyl/pyrimidyl)thiourea derivatives. *Appl. Organomet.*, 32(6), e4362.
- [78] Su W., Qian Q., Li P., Lei X., Xiao Q., Huang S., Cui J. (2013). Synthesis, Characterization, and Anticancer Activity of a Series of Ketone-N4-Substituted Thiosemicarbazones and Their Ruthenium(II) Arene Complexes. *Inorg.*52(21), 12440–12449.
- [79] Cassells I., Stringer T., Hutton A. T., Prince S., & Smith G. S. (2018). Impact of various lipophilic substituents on ruthenium(II), rhodium(III) and iridium(III) salicylaldimine-based complexes: synthesis, in vitro cytotoxicity studies and DNA interactions. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 23(5), 763–774.
- [80] Adams M., Li Y., Khot H., De Kock C., Smith P. J., Land K., Smith G. S. (2013). The synthesis and antiparasitic activity of aryl- and ferrocenyl-derived thiosemicarbazone ruthenium(ii)–arene complexes. *Dalton Trans.*, 42(13), 4677.
- [81] Rutkauskas K., Zubrienė A., Tumosienė I., Kantminienė K., Kažemėkaitė M., Smirnov A., Matulis D. (2014). 4-Amino-substituted Benzenesulfonamides as Inhibitors of Human Carbonic Anhydrases. *Molecules*, 19(11), 17356–17380.
- [82] Vijayapritha S., & Viswanathamurthi P. (2020). New half-sandwich (η<sup>6</sup>-p-cymene)ruthenium(II) complexes with benzothiazole hydrazone Schiff base

ligand: Synthesis, structural characterization and catalysis in transamidation of carboxamide with primary amines. *J. Organomet. Chem.*, 121555.

[83] Alsaeedi, Mona S., Bandar A. Babgi, Magda H. Abdellattif, Abdesslem Jedidi, Mark G. Humphrey, and Mostafa A. Hussien 2021. "DNA-Binding Capabilities and Anticancer Activities of Ruthenium(II) Cymene Complexes with (Poly)cyclic Aromatic Diamine Ligands". *Molecules.*, 26, 1: 76.

[84] Arancibia, R., Klahn, A. H., Lapier, M., Maya, J. D., Ibañez, A., Garland, M. T., Carrère-Kramer S., Kremer L., Biot, C. (2014). Synthesis, characterization and in vitro anti-*Trypanosoma cruzi* and anti-*Mycobacterium tuberculosis* evaluations of cyrhetrenyl and ferrocenyl thiosemicarbazones. *J. Organomet. Chem*, 755, 1–6.

[85] Dayan S., Ozpazan, N. K., Özdemir N., & Dayan O. (2014). Synthesis of some ruthenium(II)–Schiff base complexes bearing sulfonamide fragment: New catalysts for transfer hydrogenation of ketones. *J. Organomet. Chem*, 770, 21–28.

[86] Gómez, J., Hugo Klahn, A., Fuentealba, M., Sierra, D., Olea-Azar, C., & Medina, M. E. (2015). Unsymmetrical cyrhetrenyl and ferrocenyl azines derived from 5-nitrofurane: Synthesis, structural characterization and electrochemistry. *Inorg. Chem. Commun.*, 61, 204–206.

[87] Arancibia R., Dubar F., Pradines B., Forfar I., Dive D., Klahn A. H., & Biot C. (2010). Synthesis and antimalarial activities of rhenium bioorganometallics based on the 4-aminoquinoline structure. *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, 18(22), 8085–8091.

[88] Haribabu J., Sabapathi G., Tamizh M. M., Balachandran C., Bhuvanesh N. S. P., Venuvanalingam P., Karvembu R. (2018). Water-Soluble Mono- and Binuclear Ru( $\eta^6$ -p-cymene) Complexes Containing Indole Thiosemicarbazones: Synthesis, DFT Modeling, Biomolecular Interactions, and In Vitro Anticancer Activity through Apoptosis. *Organometallics*, 37(8), 1242–1257.

[89] Egbewande F. A., Paul L. E. H., Therrien B., Furrer J. (2014). Synthesis, Characterization and Cytotoxicity of ( $\eta^6$ -p-cymene)ruthenium(II) Complexes of  $\alpha$ -Amino Acids. *Eur. J. Inorg.*, 2014(7), 1174–1184.

[90] Godoy F., Gómez A., Agurto N., Muñoz M., Segura R., Silva C. P., Garland M. T. (2015). Synthesis, reactivity, electrochemical behaviour, and molecular structure of crown ether cyrhetrene complexes. *J. Organomet. Chem*, 788, 42–48.

[91] Govender P., Lemmerhirt H., Hutton A. T., Therrien B., Bednarski P. J., Smith G. S. (2014). First- and Second-Generation Heterometallic Dendrimers

Containing Ferrocenyl–Ruthenium(II)–Arene Motifs: Synthesis, Structure, Electrochemistry, and Preliminary Cell Proliferation Studies. *Organometallics*, 33(19), 5535–5545.

[92] Agurto N., Maldonado T., Godoy F., Gómez A., Silva C. P., Pavez J., Lappin A. G. (2017). Synthesis and characterization of organometallic chalcones functionalized with a crown ether fragment. Spectroscopic and electrochemical behavior. *J. Organomet. Chem*, 827, 32–40.

[93] Shapovalov S. S., Tikhonova O. G., Kolos A. V., Pasynskii A. A., Skabitsky I. V., Denisov G. L., Grinberg V. A. (2018). Synthesis, structure and electrochemical properties of 1-ferrocenyl-3-cymantrenyl-containing  $\beta$ -diketone, pyrazole and mixed-metal chelated complex of p-cymene-ruthenium-iodide. *Polyhedron*, 149, 73–78.

[94] Sethi, K., Mishra, K., Verma, S., Vullo, D., Carta, F., & Supuran, C. (2021). Synthesis and Human Carbonic Anhydrase I, II, IX, and XII Inhibition Studies of Sulphonamides Incorporating Mono-, Bi- and Tricyclic Imide Moieties. *Pharmaceuticals*, 14(7), 693.

[95] Ul-Hassan, M., Scozzafava, A., Chohan, Z. H., & Supuran, C. T. (2001). Carbonic anhydrase inhibitors: metal complexes of a sulfanilamide derived Schiff base and their interaction with isozymes I, II and IV. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*, 16(6), 499–505

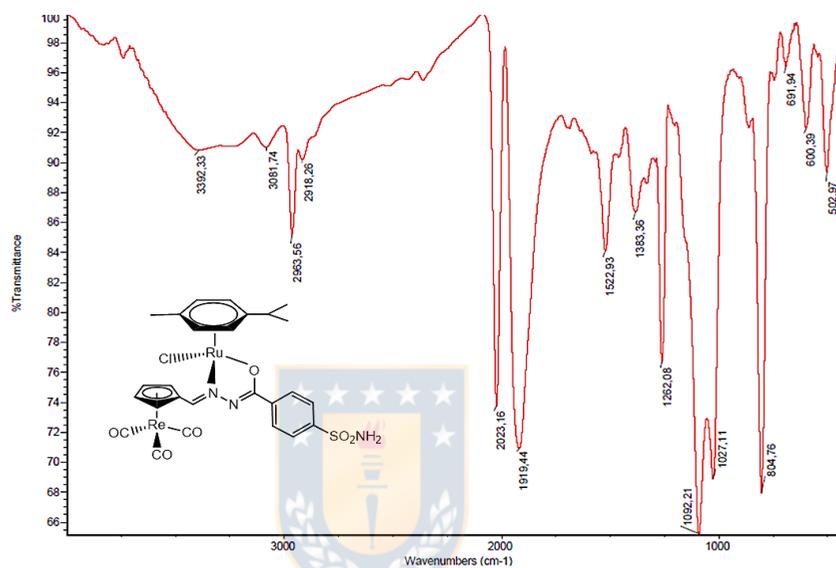
[96] Salmon A. J., Williams M. L., Innocenti A., Vullo, D., Supuran, C. T., & Poulsen, S.-A. (2007). Inhibition of carbonic anhydrase isozymes I, II and IX with benzenesulfonamides containing an organometallic moiety. *Bioorganic Med. Chem. Lett*, 17(18), 5032–5035.

[97] Mahmood-Ul-Hassan, Chohan, Z. H., Scozzafava, A., & Supuran, C. T. (2004). Carbonic anhydrase inhibitors: Schiff's bases of aromatic and heterocyclic sulfonamides and their metal complexes. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 19(3), 263–267.

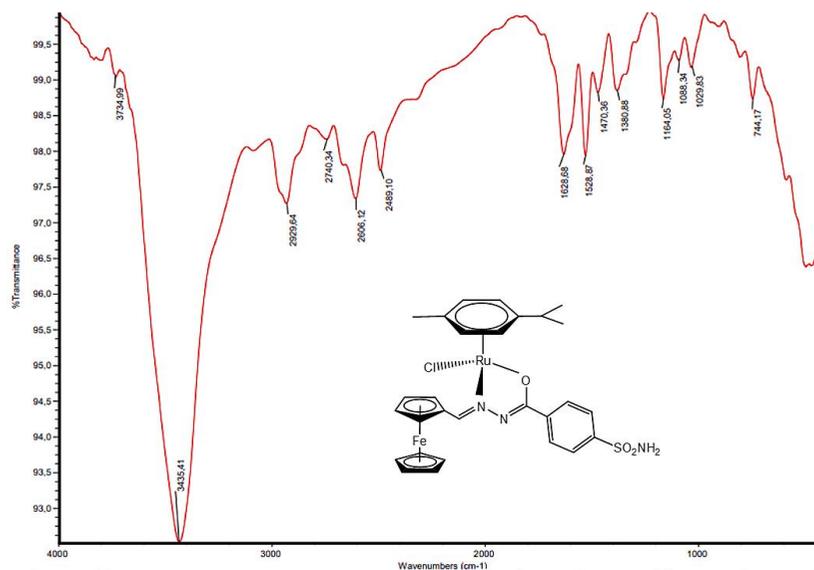
## 8. ANEXOS

### 8.1 Espectros IR (KBr)

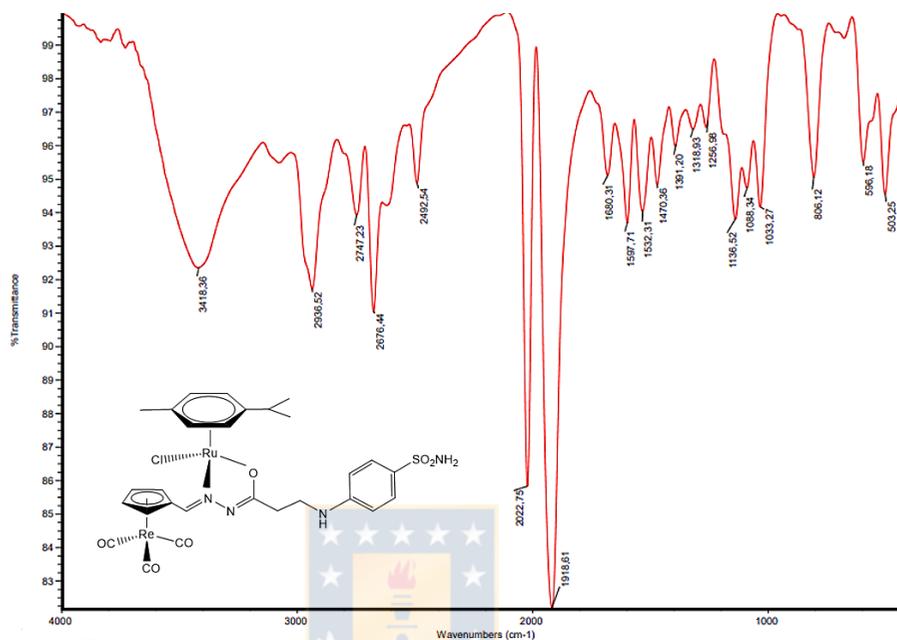
#### 8.1.1 $[(p\text{-cimeno})\text{Ru}((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2))\text{-Re(CO)}_3\text{Cl)]}$ (1a).



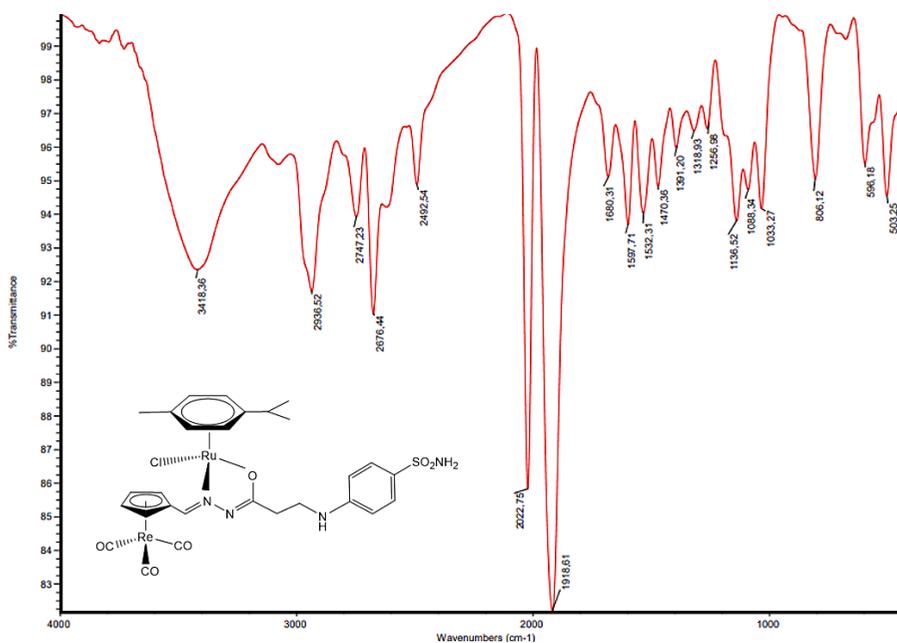
#### 8.1.2 $[(p\text{-cimeno})\text{Ru}((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2))\text{-Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)\text{Cl)]}$ (2a).



**8.1.3 [(*p*-cimeno)Ru( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Re(CO)<sub>3</sub>Cl] (1b).**

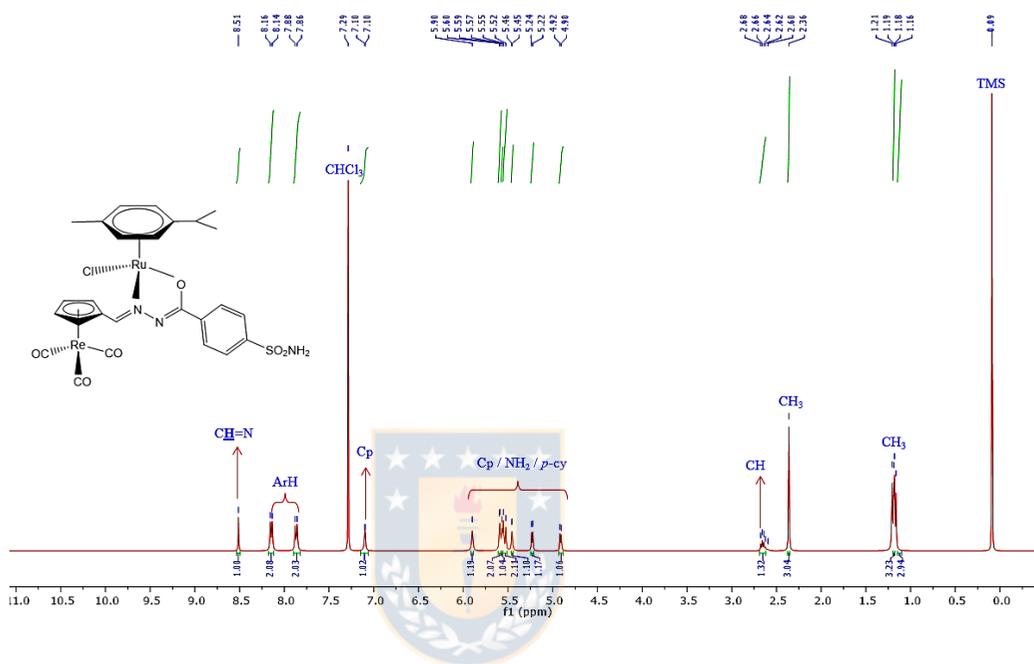


**8.1.4 [(*p*-cimeno)Ru( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Fe( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)Cl] (2b).**

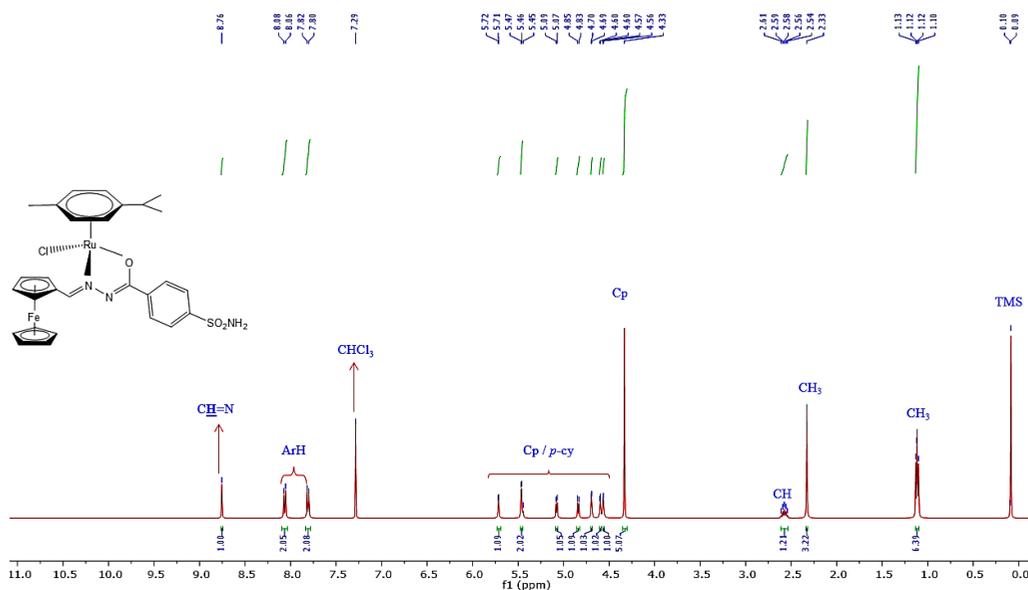


## 8.2 Espectros RMN <sup>1</sup>H

### 8.2.1 [(*p*-cimeno)Ru((η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Re(CO)<sub>3</sub>)Cl] (1a).



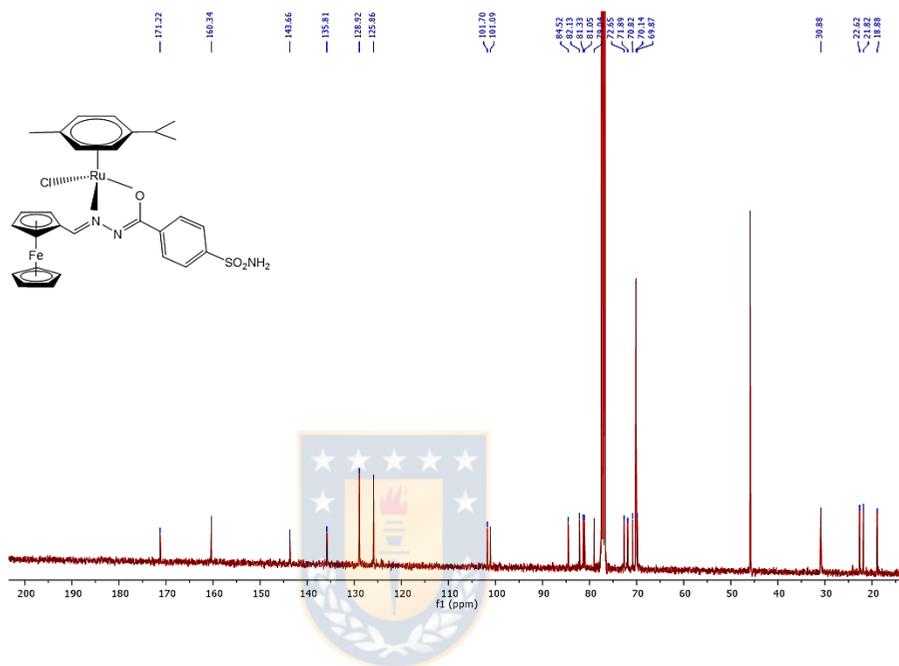
### 8.2.2 [(*p*-cimeno)Ru((η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Fe(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>))Cl] (2a).



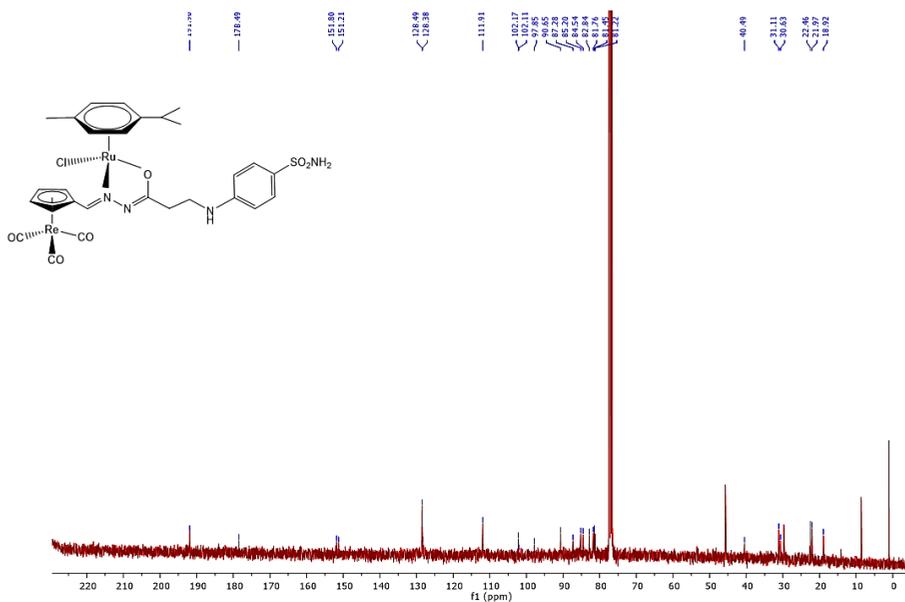


### 8.3 Espectros de RMN $^{13}\text{C}$

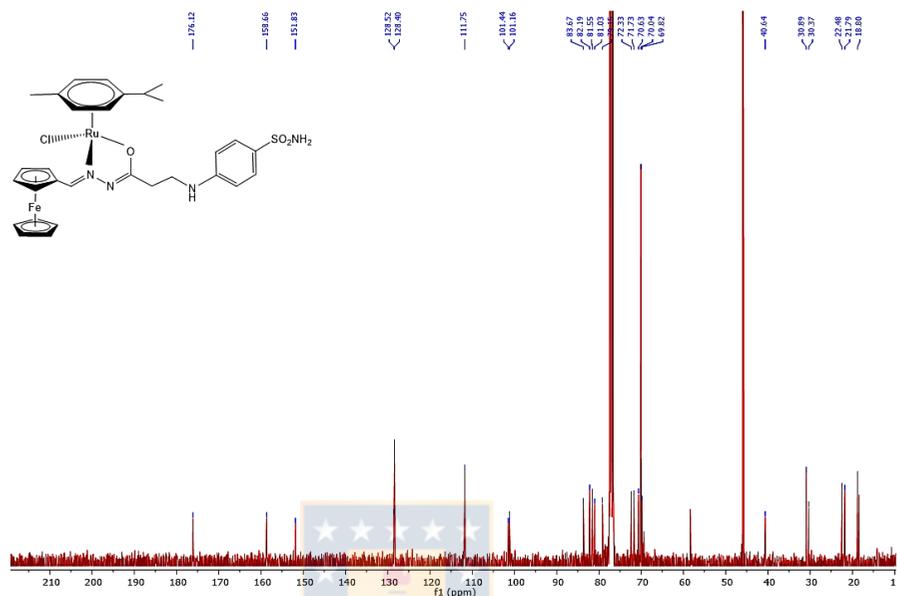
#### 8.3.1 $[(p\text{-cimeno})\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2\text{))-Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5\text{)Cl}]$ (2a).



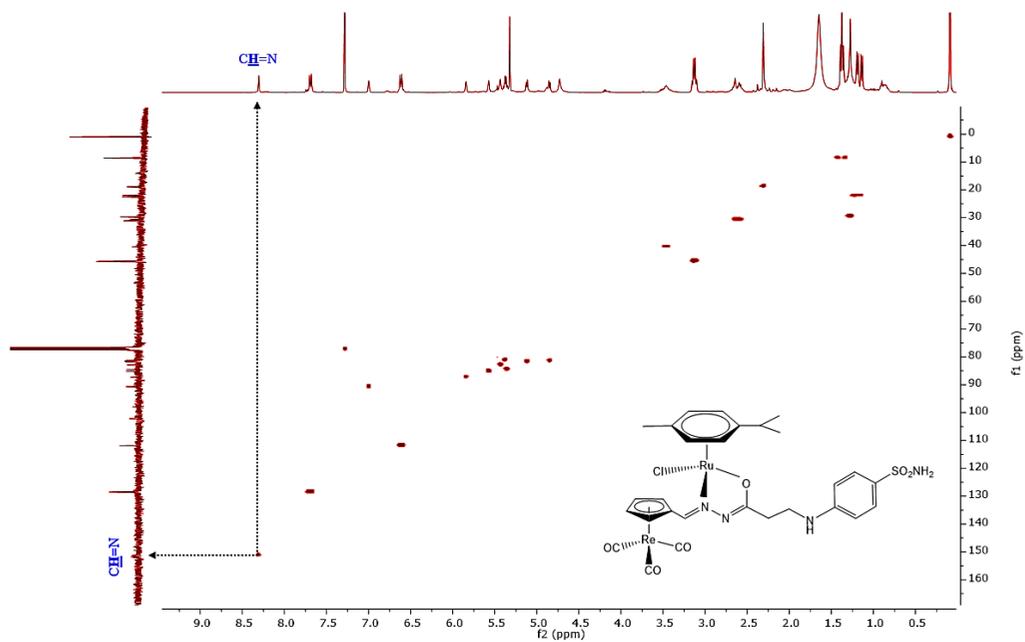
#### 8.3.2 $[(p\text{-cimeno})\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(CH}_2\text{)}_2\text{NH-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2\text{))-Re(CO)}_3\text{Cl}]$ (1b).



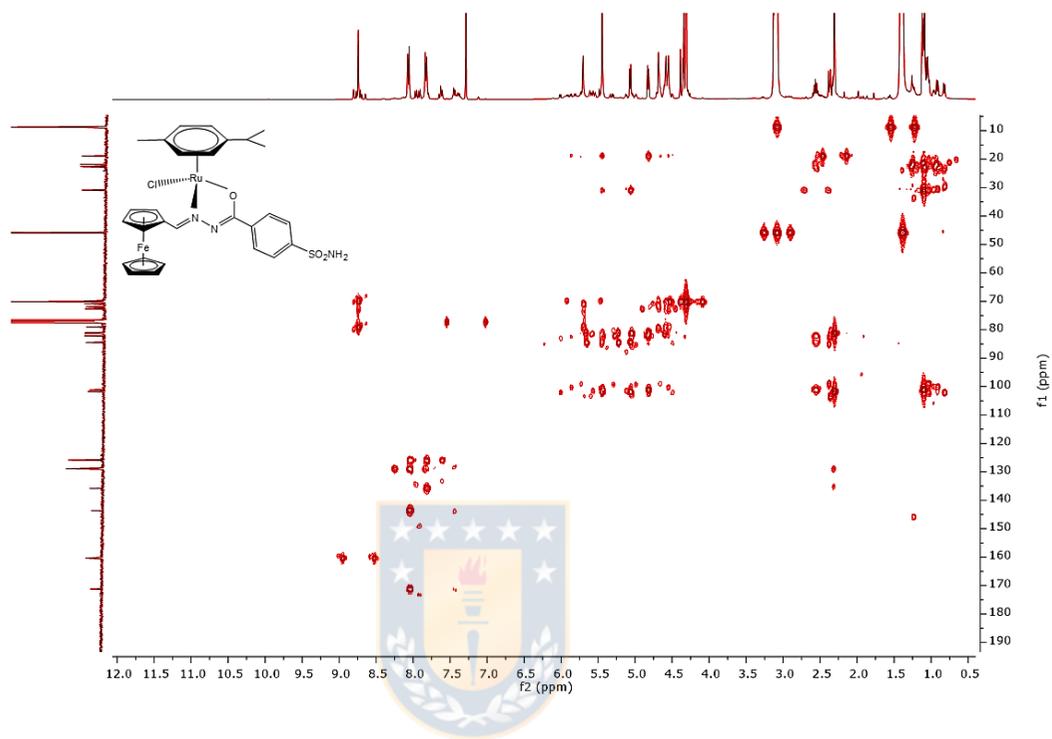
8.3.3 [(*p*-cimeno)Ru( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Fe( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)]Cl] (2b).



8.4 Espectro RMN 2D HSQC [(*p*-cimeno)Ru( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Re(CO)<sub>3</sub>Cl] (1b).

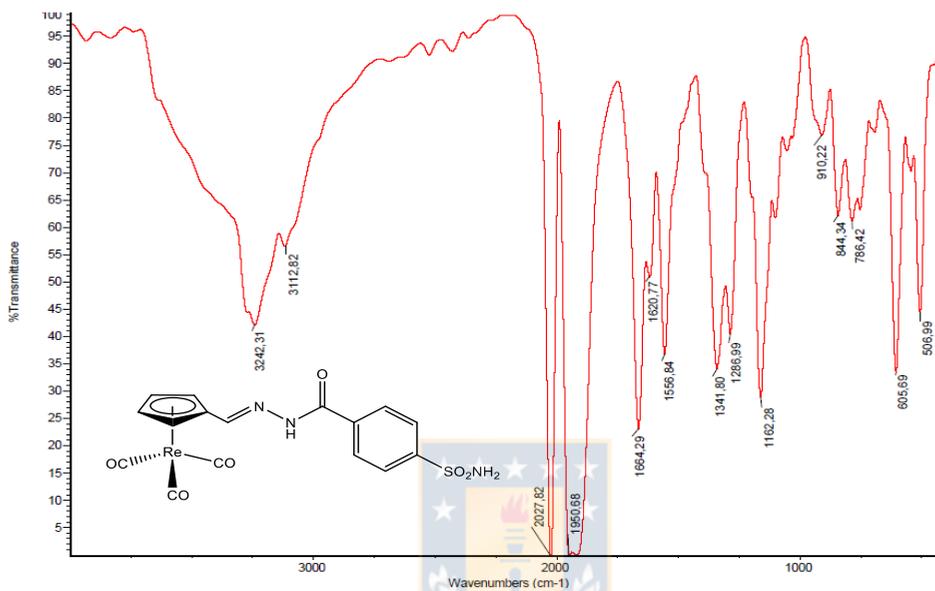


**8.5 Espectro RMN 2D HMBC [(*p*-cimeno)Ru(( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>CH=N-NH-CO-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>))-Fe( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>))Cl] (2a).**

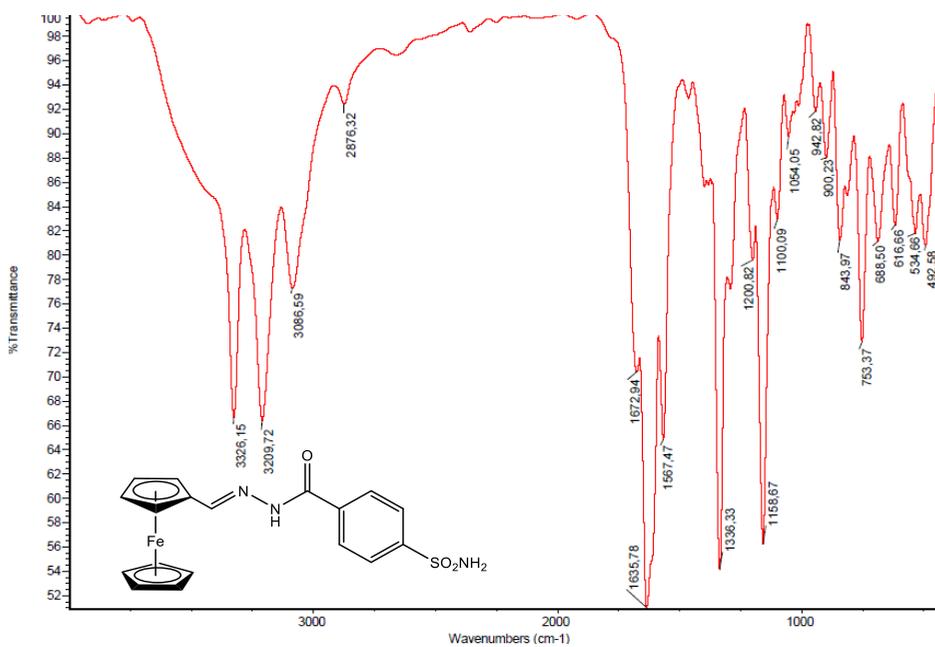


## 8.6 Espectros IR (KBr) ligandos precursores

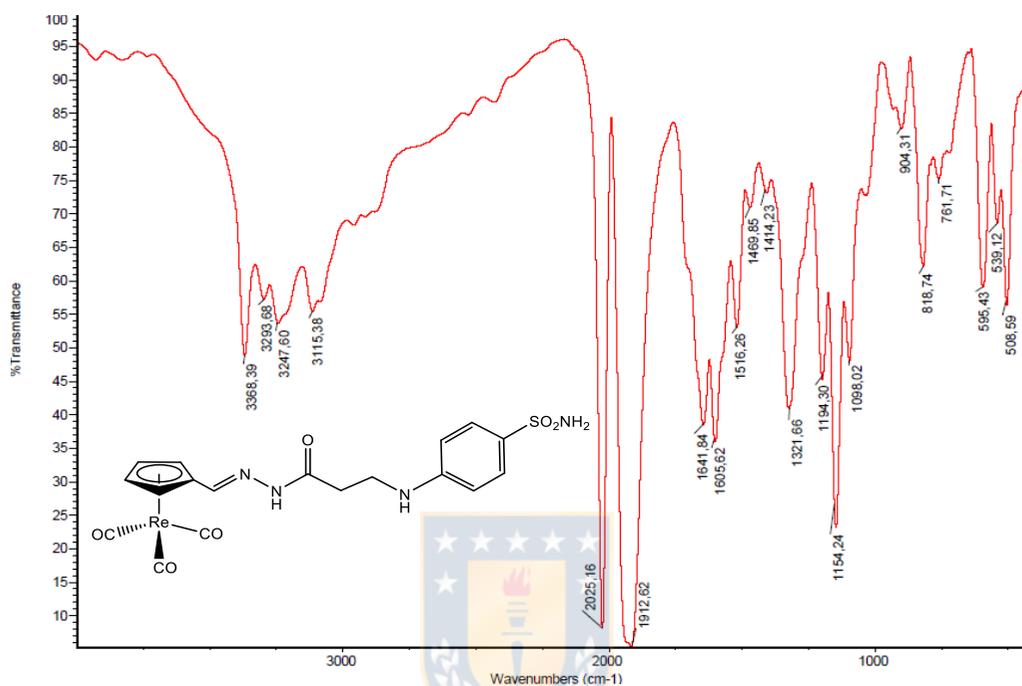
### 8.6.1. $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2))\text{-Re(CO)}_3]$ (L<sub>1a</sub>).



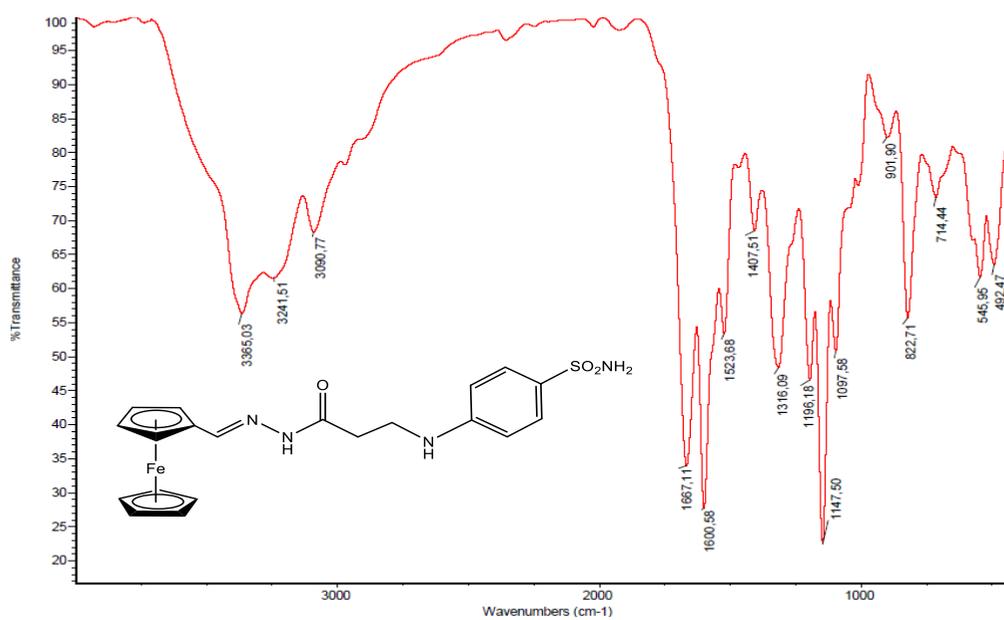
### 8.6.2. $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2))\text{-Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)]$ (L<sub>2a</sub>).



8.6.3.  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=N-NH-CO-(CH}_2)_2\text{NH-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2\text{))-Re(CO)}_3]$  (L<sub>1b</sub>).

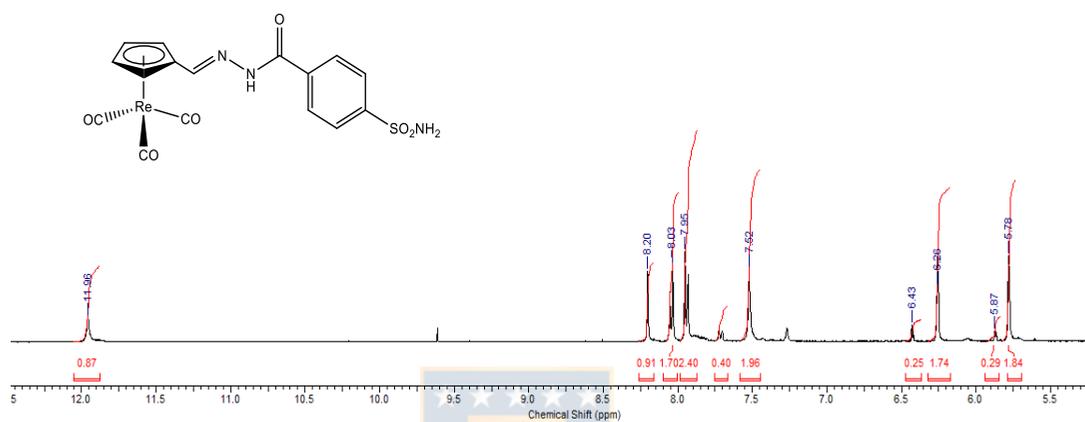


8.6.4.  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=N-NH-CO-(CH}_2)_2\text{NH-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2\text{))-Fe(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)]$  (L<sub>2b</sub>).

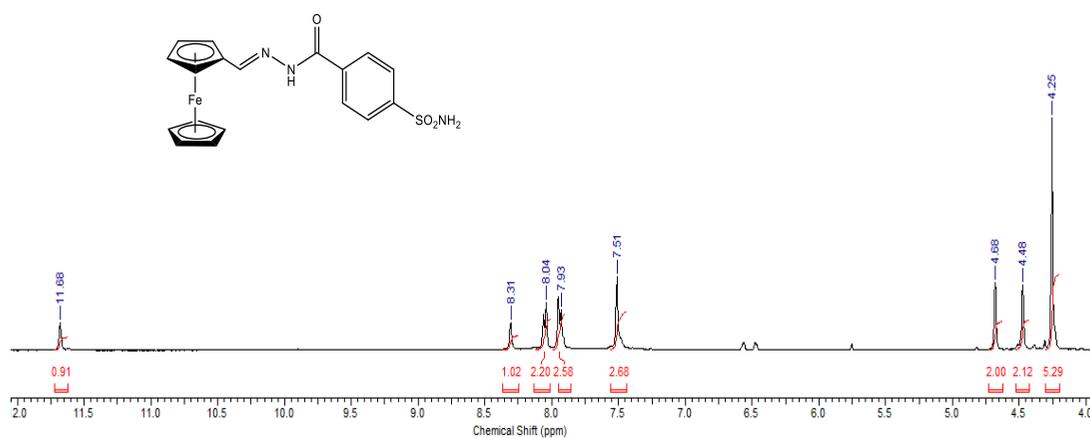


## 8.7 Espectros de RMN $^1\text{H}$ ligandos precursores.

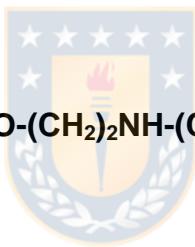
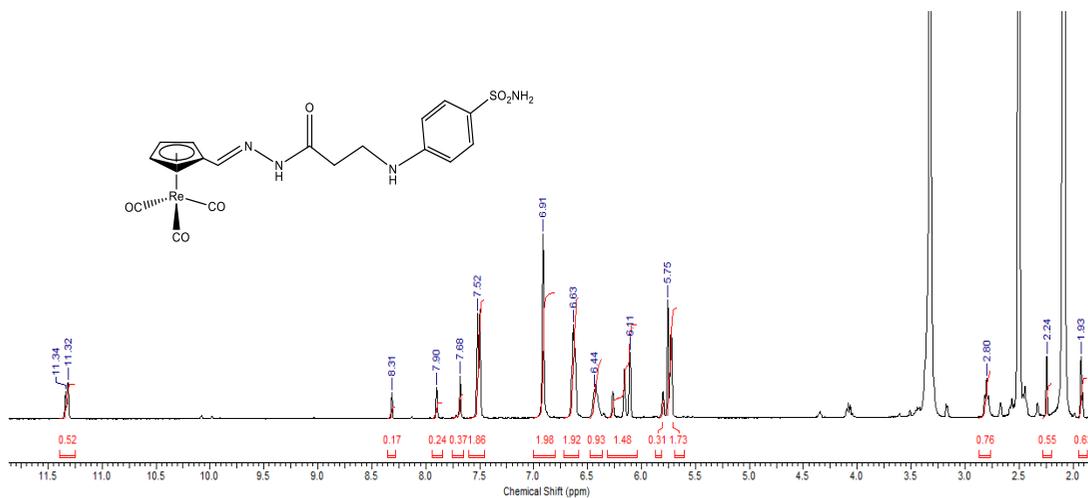
### 8.7.1. $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2))\text{-Re(CO)}_3]$ (L<sub>1a</sub>).



### 8.7.2. $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2))\text{-Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)]$ (L<sub>2a</sub>).



8.7.3.  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(CH}_2)_2\text{NH-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2\text{))-Re(CO)}_3]$  (1c).



8.7.4.  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{N-NH-CO-(CH}_2)_2\text{NH-(C}_6\text{H}_4\text{-4-SO}_2\text{NH}_2\text{))-Fe(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)]$  (3c).

