



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



NUEVOS SISTEMAS BIOORGANOMETÁLICOS DERIVADOS DEL  
FRAGMENTO 1,2,4-TRIAZOL: DISEÑO, SÍNTESIS,  
CARACTERIZACIÓN, ESTUDIO DE PROPIEDADES  
ANTICANCERÍGENAS Y COMO POTENCIAL INHIBIDOR DE LA  
AROMATASA

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: MARIO FELIPE MALLEA CARVAJAL

Profesor guía: Dr. Rodrigo Sebastián Arancibia González

Concepción Chile, Marzo - 2025

©Concepción, Chile, 2025, Mario Felipe Mallea Carvajal. Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia en particular a mi madre María Isabel y a mi padre Mario, por la oportunidad, sin ellos y su apoyo esto no hubiera sido posible.

A mi profesor guía Dr. Rodrigo Arancibia por haberme recibido en su laboratorio, recogido cuando tropecé y por sus inigualables conversaciones de ciencia y de la vida.

A las personas presentes en el laboratorio de Química Organometálica, por sus risas y compañía. En particular al Dr. Miguel Gallardo y al Dr(c). Luis Peña, por convertirse en parte de mi familia y por nuestras incontables historias juntos.

A los miembros de la comisión: Dr. Néstor Novoa, Dr. Claudio Jiménez y Dr. Luis Lemus, por su disposición y orientación en este trabajo de tesis.

Al Dr. Diego Sierra de la Universidad de Valparaíso, por permitirme trabajar en su laboratorio y guiarme en la realización de algunos de los precursores utilizados en este trabajo.

Al Dr. David Villaman de la Universidad de Concepción y al proyecto FONDEQUIP EQM200138 por su contribución en la determinación de las estructuras cristalinas por difracción de rayos-X.

A la Dra. Patricia Toro de la Universidad Autónoma de Chile, por su apoyo con los estudios de estabilidad, y en particular por su gran calidad humana y mantener nuestra amistad después de todos estos años.

Al Dr. Felipe Zúñiga de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción por su apoyo y conocimientos con los ensayos de citotoxicidad y los ensayos como inhibidor de la Aromatasa.

Y por último al proyecto FONDECYT N° 1230296 por el financiamiento otorgado para la realización de este trabajo de tesis, y la Facultad de Química por la beca de manutención otorgada a mi persona.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>CONTENIDO</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	3
<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>ABSTRACT</b> .....	8
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	9
<b>2. HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	18
<b>3.1. Objetivo General</b> .....	18
<b>3.2. Objetivos Específicos</b> .....	18
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	19
<b>4.1. Metodología</b> .....	19
<b>4.1.1. Aspectos Generales</b> .....	19
<b>4.1.2. Técnicas de Caracterización</b> .....	20
<b>4.1.3. Síntesis de precursores</b> .....	21
<b>4.1.4. Síntesis de azoles organometálicos</b> .....	25
<b>4.1.5. Estudios de estabilidad en medio acuoso</b> .....	29
<b>4.1.6. Actividad Anticancerígena</b> .....	29
<b>4.1.7. Ensayos como inhibidor de la Aromatasa</b> .....	30
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	31
5.1. Síntesis y caracterización de precursores carbinoles del tipo $(\text{CO})_3\text{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$ ( <b>M</b> = Mn ( <b>1a</b> ), Re ( <b>1b</b> )).....	31
5.2. Síntesis y caracterización de precursores carbinoles <i>full</i> -organometálicos del tipo $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{M}(\text{CO})_3)$ ( <b>M</b> = Mn ( <b>1c</b> ) y Re ( <b>1d</b> )).....	34
<b>5.3. Síntesis y caracterización de azoles organometálicos</b> .....	36
<b>5.4. Estudios Cristalográficos</b> .....	39
<b>5.5. Estudios de estabilidad en medio acuoso</b> .....	43
<b>5.6. Citotoxicidad en células MCF-7 (ER+)</b> .....	45
<b>5.7. Ensayos como potenciales Inhibidores de la Aromatasa</b> .....	48
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	52
<b>7. REFERENCIAS</b> .....	53
<b>8. ANEXOS</b> .....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Drogas para el tratamiento del cáncer de mamas Letrozol ( <b>1a</b> ) [IA] y Tamoxifeno ( <b>1b</b> ) [SERM]	11
<b>Figura 2.</b> Mecanismos de los IA (izquierda) y SERM (Derecha)	12
<b>Figura 3.</b> Agentes alquilantes <b>a)</b> Cisplatino, <b>b)</b> Oxaliplatino y <b>c)</b> Carboplatino	13
<b>Figura 4.</b> <b>a)</b> Ferrocifeno y <b>b)</b> Ferrozol	15
<b>Figura 5.</b> Espectro HSQC del compuesto <b>1a</b> en CDCl <sub>3</sub> a 298K	34
<b>Figura 6.</b> Espectro HSQC del compuesto <b>2d</b> en CDCl <sub>3</sub> a 298K	38
<b>Figura 7.</b> Diagrama ORTEP del precursor <b>1a</b> (Mn(I)) y <b>1b</b> (Re(I)) Elipsoides termales con 30% probabilidad	40
<b>Figura 8.</b> Puentes de hidrógeno intermoleculares del compuesto <b>1b</b>	41
<b>Figura 9.</b> Diagrama ORTEP del compuesto <b>2a</b> Elipsoides termales con 30% probabilidad	42
<b>Figura 10.</b> Diagrama ORTEP del compuesto <b>2d</b> Elipsoides termales con 30% probabilidad	42
<b>Figura 11.</b> Estudios de estabilidad en medio acuoso por medio de UV-Vis en una mezcla de 1:1 DMSO:Hepes	44
<b>Figura 12.</b> Gráficas de Viabilidad celular (%) versus concentración (μM)	46
<b>Figura 13.</b> Citotoxicidad del Letrozol frente a las células MCF-7	48
<b>Figura 14.</b> Ensayo como Inhibidor de la Aromatasa	50

## ÍNDICE DE ESQUEMAS Y TABLAS

<b>Esquema 1.</b> Ruta sintética para la obtención de los precursores del tipo carbinol híbrido organometálico-orgánico ( <b>1a-b</b> )	21
<b>Esquema 2.</b> Ruta sintética para la obtención de los precursores del tipo carbinol <i>full</i> -organometálico ( <b>1c-d</b> )	23
<b>Esquema 3.</b> Síntesis de azoles organometálicos ( <b>2a-d</b> )	26
<b>Tabla 1.</b> Preparación de soluciones para análisis de inhibidor de la Aromatasa	30
<b>Tabla 2.</b> Comparación de datos espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H (en CDCl <sub>3</sub> a 298K) para los precursores derivados de ferrocenilo, cimatrenilo y ciretrenilo	33
<b>Tabla 3.</b> Señales protones grupo CH	35
<b>Tabla 4.</b> Bandas de absorción del grupo CO de los azoles organometálicos ( <b>2a-d</b> )	37
<b>Tabla 5.</b> Longitudes de enlace de los compuestos <b>1a</b> y <b>1b</b>	40
<b>Tabla 6.</b> Valores de IC <sub>50</sub> para los azoles organometálicos	47

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación, se planteó la síntesis y caracterización de precursores carbinoles organometálicos y su posterior derivación hacia azoles organometálicos que contienen los grupos ciretrenilo y cimantrenilo, junto con el fragmento bioactivo 1,2,4-triazol. Además, se llevó a cabo la evaluación de dichos azoles tanto en términos de sus propiedades anticancerígenas y como inhibidores de la aromatasasa.

Con este enfoque, se desarrolló una estrategia bioorganometálica orientada a la búsqueda de nuevos sistemas con potencial aplicación en la investigación oncológica, permitiendo no solo su síntesis y caracterización, sino también la evaluación de sus propiedades biológicas.

Las rutas sintéticas diseñadas, plantearon en una primera etapa la obtención de los carbinoles de tipo  $[(\text{CO})_3\mathbf{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{-CH(OH)-R}]$  donde  $\mathbf{M} = \text{Re (I) y Mn(I)}$ ;  $\text{R} = (\text{C}_6\text{H}_4\text{-4-CN})$ ,  $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3$ . Estos derivados fueron sintetizados mediante la reacción entre los precursores  $[(\text{CO})_3\mathbf{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CHO})]$  ( $\mathbf{M} = \text{Mn (I) y Re(I)}$ ) y  $[(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-Br})]$  o 4-bromobenzonitrilo, según sea el caso, por medio de una reacción de adición nucleofílica. Finalmente, se llevó a cabo sobre dichos carbinoles, una aminación directa utilizando 1,2,4-triazol, en presencia de triflato de aluminio (III).

A todos los azoles obtenidos se les realizó un estudio de estabilidad en medio acuoso a través de UV-Vis, para finalmente ser evaluados por sus propiedades anticancerígenas (células cancerígenas ER+ MCF-7) y como inhibidores de la aromatasasa. Los ensayos se llevaron a cabo en colaboración con el Dr. Felipe Zúñiga de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción.

## ABSTRACT

In this research work, the synthesis and characterization of organometallic carbinol precursors were proposed, followed by their derivation into organometallic azoles incorporating the cyrhetrenyl and cymantrenyl groups, along with the bioactive 1,2,4-triazole fragment. Additionally, these azoles were evaluated both in terms of their anticancer properties and as aromatase inhibitors.

With this approach, a bioorganometallic strategy was developed to search for new systems with potential applications in oncology research, enabling not only their synthesis and characterization but also the evaluation of their biological properties.

The designed synthetic routes initially involved obtaining carbinols of the type  $[(\text{CO})_3\text{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{-CH(OH)-R}]$ , where  $\text{M} = \text{Re (I)}$  and  $\text{Mn (I)}$ ;  $\text{R} = (\text{C}_6\text{H}_4\text{-4-CN})$ ,  $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3$ . These derivatives were synthesized via the reaction between the precursors  $[(\text{CO})_3\text{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CHO})]$  ( $\text{M} = \text{Mn (I)}$  and  $\text{Re (I)}$ ) and either  $[(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-Br})]$  or 4-bromobenzonitrile, as appropriate, through a nucleophilic addition. Finally, these carbinols underwent direct amination using 1,2,4-triazole in the presence of aluminum triflate.

All the obtained azoles were subjected to a stability study in an aqueous medium via UV-Vis analysis, before being evaluated for their anticancer properties (ER+ MCF-7 cancer cells) and as aromatase inhibitors. The assays were conducted in collaboration with Dr. Felipe Zúñiga from the Faculty of Pharmacy at the University of Concepción.

## 1. INTRODUCCIÓN

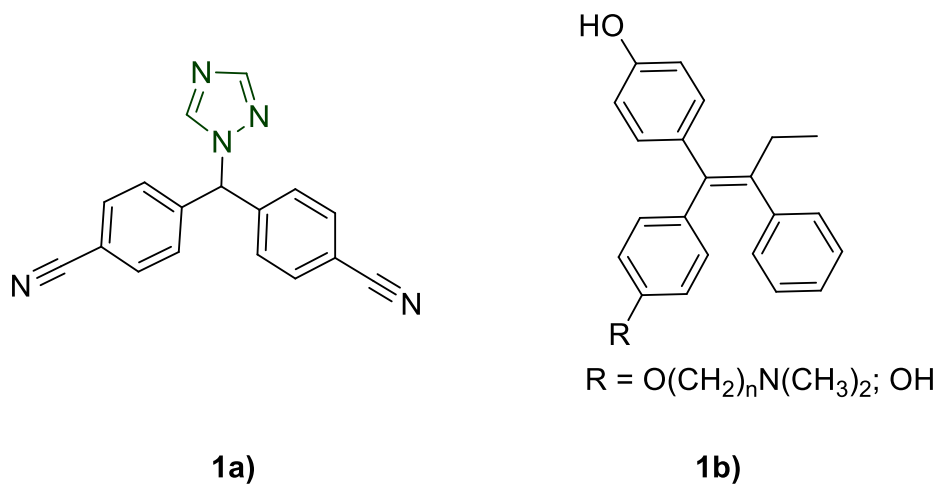
El cáncer es una enfermedad compleja que continúa siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en el año 2020 alrededor de 10 millones de personas fallecieron a causa de esta patología[1]. El cáncer se caracteriza por el crecimiento descontrolado y anormal de células en el organismo, que puede conducir a la formación de masas o tumores malignos en diversos órganos y tejidos. Su desarrollo está influenciado por una interacción multifactorial que involucra tanto componentes genéticos como factores ambientales y de estilo de vida[2].

Particularmente, el cáncer de mama se sitúa entre los tipos más frecuentes de cáncer (11.7% de nuevos casos), afectando predominantemente a mujeres, especialmente en el rango de edad de 50 a 69 años[1]. Sin embargo, también puede presentarse en mujeres más jóvenes y, en casos menos comunes, en hombres. La detección temprana desempeña un papel crucial en la mejora de los resultados del tratamiento, y los avances en la comprensión de la biología del cáncer han llevado al desarrollo de diversas estrategias terapéuticas[1,3,4]. Entre las opciones de tratamiento más comunes se encuentran la cirugía[5], la radioterapia[6], la quimioterapia[7], la terapia hormonal[8] y la terapia dirigida[9], las cuales se seleccionan de manera específica según las características individuales del paciente y la naturaleza de la enfermedad[3].

A medida que se profundiza en la investigación científica, se abre la posibilidad de mejorar la comprensión de los procesos biológicos y moleculares que subyacen al cáncer de mama y otros tipos de cáncer, lo

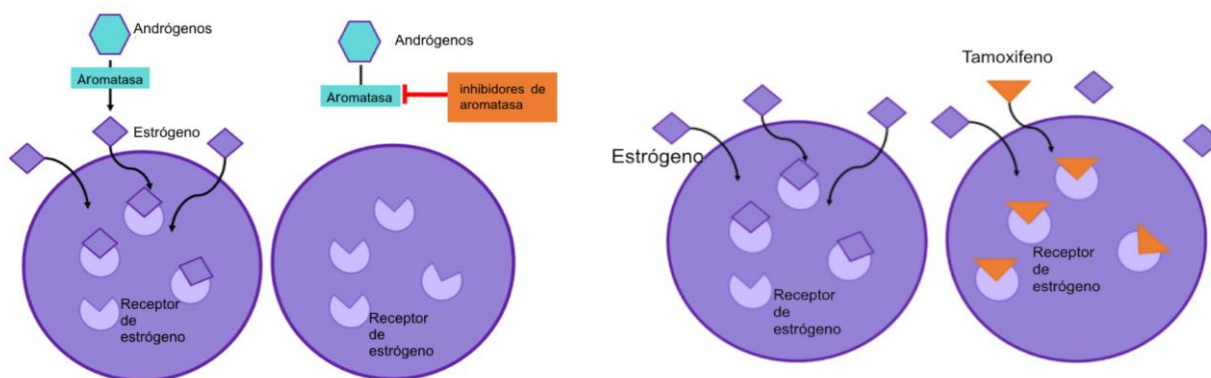
que a su vez proporciona una base sólida para el desarrollo de terapias más efectivas y personalizadas[10]. La constante investigación y el perfeccionamiento de las estrategias terapéuticas representan pilares fundamentales en la lucha contra esta enfermedad. En ese aspecto, la terapia hormonal ha demostrado ser eficaz en el tratamiento del cáncer de mamas y ha contribuido significativamente a mejorar las tasas de supervivencia y el manejo de la enfermedad. Esto se debe a que estos tipos de cáncer se caracterizan por la presencia de receptores en las células cancerosas que responden a las hormonas sexuales de estrógeno y la progesterona[11–13], a este tipo de cánceres se denomina como “cáncer ER (+)”, término que se asocia con la expresión de receptores de estrógeno por parte de las células tumorales[14].

Entre los tratamientos farmacológicos se encuentran los inhibidores de la aromatasas (IA)[15], una enzima encargada de la síntesis de estrógeno. A modo de ejemplo, las drogas letrozol[16], anastrozol[17], y exemestano[18] bloquean la acción de la enzima aromatasas, lo que genera una disminución en la síntesis de estrógenos, por parte de tejidos periféricos[19]. Esta reducción ayuda a prevenir el crecimiento y la propagación de las células cancerosas. Estructuralmente, el letrozol (**Figura 1a**), posee tres anillos aromáticos: dos anillos de benceno sustituidos con grupos nitrilo en posición 4 y un anillo de triazol (1,2,4-triazol). Con respecto al mecanismo de inhibición, el grupo 1,2,4-triazol cumple un papel fundamental al interactuar con el grupo hemo de la enzima[20].



**Figura 1.** Drogas para el tratamiento del cáncer de mamas Letrozol (**1a**) (IA) y Tamoxifeno (**1b**) (SERM)

Otra estrategia farmacológica utilizada para combatir el cáncer de mama, consiste en el uso de los moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERM), como el tamoxifeno (**Figura 1b**)[21]. A diferencia de los inhibidores de la aromatasa, el mecanismo de acción de los SERM (**Figura 2**) se basa en la unión a los receptores de estrógenos en distintas células, generando efecto antagonistas. Los antagonistas actúan bloqueando los receptores de estrógeno, evitando la unión del ligando endógeno. De esta manera, se puede lograr un efecto terapéutico por medio del bloqueo o degradación de los receptores en células tumorales[22].



**Figura 2.** Mecanismo de los IA (izquierda) y SERM (derecha)

En casos más avanzados de cáncer de mama con receptores hormonales positivos, los inhibidores de CDK4/6[23] en combinación con la terapia hormonal son administrados para frenar la proliferación celular. Algunos de estos inhibidores son los fármacos Palbociclib, Ribociclib y Abemaciclib.

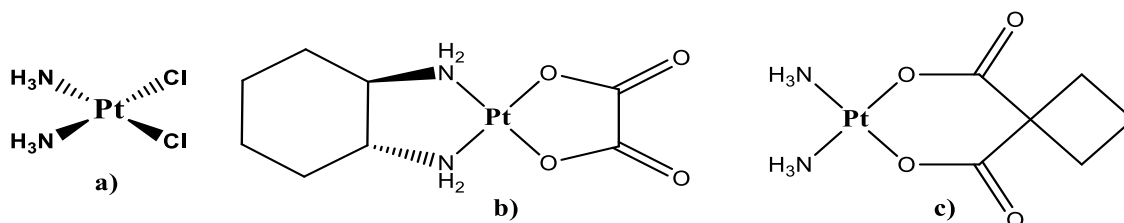
La elección del tratamiento hormonal específico depende de diversos factores, como la posible menopausia de la paciente y las recomendaciones del oncólogo[3]. Estos medicamentos han contribuido significativamente a mejorar las tasas de supervivencia y controlar el cáncer de mama con receptores hormonales positivos, desempeñando un papel esencial en la lucha contra esta enfermedad.

### **Compuestos inorgánicos en medicina**

A lo largo de la historia, la búsqueda de moléculas con potenciales aplicaciones farmacológicas ha sido uno de los enfoques más importantes de la química orgánica[24,25]. Esto se debe a la complejidad de ciertas enfermedades y a la resistencia de ciertos fármacos derivados de

compuestos orgánicos[26,27], lo que ha disminuido la eficacia de ciertos tratamientos y abre la posibilidad de que algunos fármacos de queden obsoletos.

Para combatir estas problemáticas se ha propuesto la búsqueda de alternativas en el diseño de nuevos fármacos, incluyendo aquellos que contienen iones metálicos. Entre los más relevantes, se destaca el descubrimiento de Rosenberg[28], que da cuenta de los efectos anticancerígenos del compuesto cisplatino (**Figura 3a**), pionero en el desarrollo de metalo-drogas. A raíz de estos hallazgos, se propusieron nuevos compuestos bioactivos que poseen en su estructura metales de transición que sean más eficientes para el combate de algunas enfermedades de alto riesgo o incurables, surgiendo la Química Inorgánica Medicinal como una sub-área de la Química Inorgánica[29].



**Figura 3.** Agentes alquilantes a) Cisplatino, b) Oxaliplatino y c) Carboplatino

Para el diseño de nuevos metalofármacos, se plantean diferentes estrategias sintéticas, las cuales incluyen factores como: i) el número de coordinación y geometría molecular, lo que permite obtener una alta diversidad estructural y una estereoquímica variada; ii) el intercambio de ligandos, que permite modular la solubilidad entre medio biológico y la lipofilia; iii) las propiedades electroquímicas de los metales que pueden

permitir la participación del ion metálico en distintas reacciones redox biológicas[30–32].

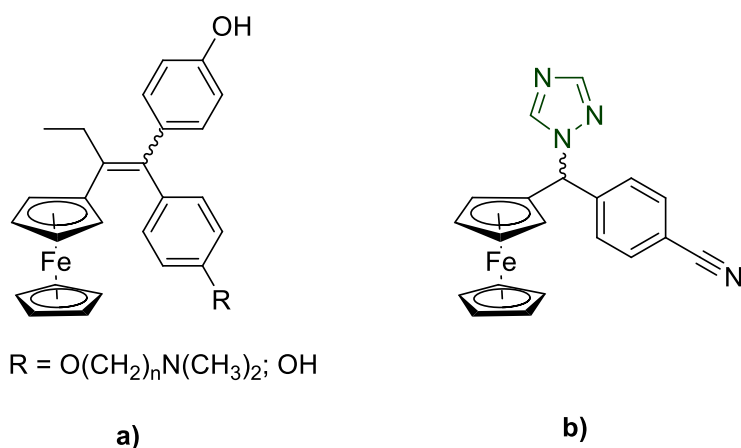
### **Compuestos bioorganometálicos en el tratamiento contra el cáncer**

Se define el nombre “Química Bioorganometálica” como “el estudio de biomoléculas o moléculas biológicamente activas que contienen en su estructura al menos un átomo de carbono directamente unido a un metal o un metaloide” según la definición proporcionada por Gerard Jaouen en 1985[33]. Aunque históricamente los compuestos organometálicos han presentado desafíos en su aplicación en sistemas biológicos asociados a ser tóxicos o incompatibles, es importante destacar que en los últimos años se ha avanzado significativamente en la superación de estas limitaciones[34]. El diseño racional de moléculas bioorganometálicas ha emergido como una estrategia prometedora para mitigar la toxicidad y mejorar la permeabilidad en membranas[33]. Este enfoque innovador ha permitido demostrar que un considerable número de compuestos organometálicos no necesariamente exhiben las desventajas asociadas con esta familia de compuestos. Este progreso alienta la exploración y aplicación de nuevos compuestos organometálicos en contextos biológicos con una base bibliográfica más definida, abriendo nuevas perspectivas para su integración exitosa en estudios y aplicaciones.

Dentro de los sistemas más estudiados se destacan los metallocenos, los cuales fueron establecidos como entidades organometálicas ideales para este propósito, debido a características como: tamaño pequeño, rigidez y carácter lipofílico, que le permite penetrar con facilidad las membranas

celulares[35–37]. Otra característica importante es que posee al menos una superficie que se asemeja a un núcleo aromático [Anillo ciclopentadienilo ( $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5$ )]. Con base a esto, se ha reemplazado un anillo aromático de una molécula bioactiva por un fragmento organometálico, enfocándose principalmente en las que contienen el fragmento ferrocenilo[38].

En lo que respecta al cáncer, Jaouen y col. desarrollaron compuestos derivados del medicamento tamoxifeno (fármaco SERM). En estos sistemas, el anillo  $\beta$ -fenilo del hidroxitamoxifeno (forma activa del tamoxifeno) fue reemplazado por un grupo ferrocenilo o rutenocenilo[39,40]. Tanto ferrocifeno (**Figura 4a**) como sus derivados fueron evaluados *in-vitro* e *in-vivo* en dos líneas celulares de cáncer. Los resultados demostraron que estos complejos fueron capaces de inhibir el crecimiento tumoral de la línea MCF-7 (sensible al estrógeno)[40]. Además, presentaron actividad antiproliferativa en células de la línea MDA-MB-231 (hormono independiente) que no es afectado por el tamoxifeno.



**Figura 4.** a) Ferrocifeno y b) Ferrozol

Por otra parte, el grupo de estudio de Diaz de Greñu y col[41], reportaron la síntesis de un derivado análogo al Letrozol, que posee el fragmento ferrocenilo y el grupo bioactivo 1,2,4-triazol (**Figura 4b**). Cabe mencionar que fueron estudiadas las propiedades anticancerígenas frente células “ER+” de MCF-7. Si bien algunos de sus compuestos demostraron resultados aceptables, el derivado del fragmento ferrocenilo y el fragmento 1,2,4-triazol no exhibió una actividad anticancerígena significativa según sus criterios de evaluación, lo cual no fue asociado a alguna razón en particular.

Basado en este reporte del 2023, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva y no se encontró artículos en literatura que describan estudios con fragmentos organometálicos con propiedades electrónicas del tipo electro-aceptor. En este contexto, la propuesta de esta tesis se centró en el diseño, síntesis, caracterización y evaluación de propiedades anticancerígenas de compuestos bioorganometálicos que integren el fragmento 1,2,4-triazol junto con los grupos ciretrenilo y cimantrenilo. Esta iniciativa se incorpora al estudio de contribuir al desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos contra el cáncer y/o como posibles inhibidores de la aromatasa.

## 2. HIPÓTESIS

- La incorporación de los grupos electro-aceptores ciretrenilo y cimantrenilo en el esqueleto del fragmento bioactivo 1,2,4-triazol presente en el fármaco letrozol, potenciará las propiedades anticancerígenas de los nuevos compuestos bioorganometálicos resultantes.
- La naturaleza lipofílica de los fragmentos organometálicos ciretrenilo y cimantrenilo mejorará la capacidad de actuar como inhibidor de la aromatasa.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General

Obtener nuevos 1,2,4-triazoles organometálicos que contengan en su estructura los fragmentos ciretrenilo y cimantrenilo y evaluar sus propiedades biológicas.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- 1.- Sintetizar y caracterizar los precursores organometálicos del tipo carbinol *full*-organometálicos  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{M}(\text{CO})_3)$  (M = Re y Mn) e híbridos organometálico-orgánicos  $(\text{CO})_3\text{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH))}\text{-C}_6\text{H}_4\text{-C}\equiv\text{N}$  (M = Re y Mn)
- 2.- Sintetizar y caracterizar los nuevos azoles organometálicos híbridos organometálicos-orgánicos y *full*-organometálicos que contengan un fragmento 1,2,4-triazol en su estructura.
- 3.- Evaluar la estabilidad en medio acuoso por medio de espectroscopía de UV-Vis.
- 4.- Evaluar las propiedades anticancerígenas frente a células de cáncer de la línea MCF-7.
- 5.- Evaluar la capacidad como potencial inhibidor de la aromatasas.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Metodología

#### 4.1.1. Aspectos Generales

Las reacciones se llevaron a cabo mediante técnicas convencionales de compuestos organometálicos, utilizando un aparato Schlenk conectado a una línea prevista de vacío y de nitrógeno.

Los precursores  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CHO})$ [42],  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CHO})$ [43] y  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-Br})$ [44] fueron sintetizados según procedimientos descritos en literatura. Los compuestos 4-bromobenzonitrilo (99%), Triflato de Aluminio ( $\text{Al}(\text{OTf})_3$  (99.9%)), Cloruro de isopropilmagnesio – Complejo de cloruro de litio (solución de 1,3 mol/L en THF) y 1,2,4-triazol (98%), fueron adquiridos de forma comercial en Sigma/Merck. Los solventes utilizados fueron secados y purificados de acuerdo a procedimientos convencionales[45].

Las reacciones fueron monitoreadas por cromatografía de capa fina delgada (TLC) usando placas de sílica gel  $\text{F}_{254}$  utilizando una variedad de sistemas de solventes. Las placas fueron reveladas bajo luz ultravioleta.

La purificación de precursores y productos finales se llevaron a cabo por técnicas convencionales de cromatografía en columna (Sílica gel 60, Merck, tamaño de partícula 0.063-0.200 mm, preparadas en hexano) y sucesivos procesos de cristalización.

Los compuestos que posean carbonos quirales (**1a**, **1b**, **1c**, **2a**, **2b** y **2c**) se tratarán como mezcla racémica y no se buscará separar los enantiómeros.

## 4.1.2. Técnicas de Caracterización

### Espectroscopía Infrarroja

Los espectros infrarrojos de todos los compuestos puros se registraron en líquido utilizando una celda de CaF<sub>2</sub> como soporte y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como solvente, en un espectrofotómetro Jasco FT-IR 4600.

### Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y HSQC, fueron registrados a 298K en un espectrómetro Bruker Modelo ASCENDTM 400MHz. (<sup>1</sup>H 400MHz, <sup>13</sup>C 100.6 MHz) usando cloroformo-d1 (99.9%) como solvente. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están reportados en ppm, las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hertz y las integraciones como números de protones. Los desplazamientos químicos de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C están referenciados a tetrametilsilano (TMS) a partir de solvente deuterado residual.

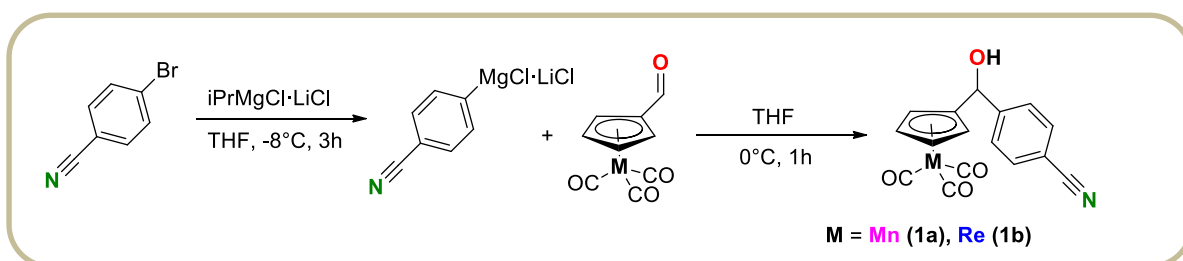
### Difracción de Rayos-X de monocristal

Toda la data cristalográfica fue obtenida en un difractor, Bruker, modelo D8 VENTURE con radiación Mo-K (0.71073 Å) a 296 K. El D8 VENTURE incorpora un detector bidimensional de siguiente generación CMOS Photon III-c14. Todos los patrones de difracción fueron integrados con un software APEX4 y las correcciones de multiscan con SADABS[46]. La data fue refinada con ShelXL[47] por mínimos cuadrados usando la versión OLEX2 1.5[48]. Las estructuras fueron resueltas con el programa ShelXT usando *Intrinsic Phasing method*. Todos los átomos fueron refinados con parámetros anisotrópicos. Los átomos de hidrógeno fueron calculados y refinados por parámetros isotrópicos termales con *riding coordinate*.

### 4.1.3. Síntesis de precursores

#### 4.1.3.1. Síntesis de precursores carbinoles del tipo $(\text{CO})_3\text{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$ ( $\text{M} = \text{Mn}$ (**1a**), $\text{Re}$ (**1b**))

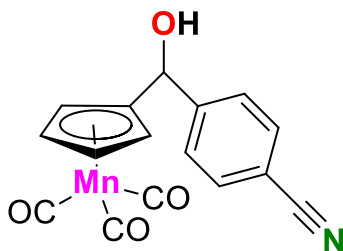
Estos precursores fueron sintetizados siguiendo los antecedentes reportados por Díaz de Greñu y col.[41] En un tubo Schlenk, 3mmol de 4-bromobenzonitrilo fueron disueltos en THF seco y enfriado a  $-8^\circ\text{C}$  en un baño de hielo/agua/sal, agitando 3h. Una disolución del complejo de isopropil cloruro de Litio-Magnesio en THF (3mmol) fue añadido por goteo y la disolución resultante fue agitada por 3h a  $0^\circ\text{C}$ . Pasado este tiempo, una disolución de 2mmol de  $(\text{CO})_3\text{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CHO})$  ( $\text{M} = \text{Mn}$  y  $\text{Re}$ ) en THF seco (10mL) fue añadido por goteo y se dejó agitar por 1h adicional en caso del compuesto **1a** y 3h adicionales en el compuesto **1b**. La reacción se apagó con una disolución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , para luego ser agregada en un vaso precipitado con agua y extraído con  $\text{Et}_2\text{O}$  ( $4 \times 30\text{mL}$ ). Las fases orgánicas fueron lavadas con salmuera, secadas sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtradas y evaporadas a sequedad. El crudo se purificó por columna cromatográfica utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo(8:2, v:v) como eluyente.



**Esquema 1.** Ruta sintética para la obtención de los precursores del tipo carbinol híbrido organometálico-orgánico **1a-b**

4.1.3.1.1.  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)})\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N}$  (**1a**)

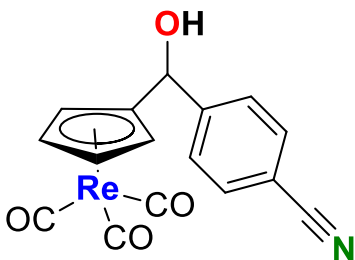
Sólido color café claro. Rendimiento = 82% (549.7 mg, 1.64 mmol)



**FT-IR** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ;  $\text{cm}^{-1}$ ): 2022, 1936 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.68 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 7.55 (d,  $J = 7.9$  Hz), 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 5.52 (s, 1H,  $\text{CH}$ ); 4.89 (s, 1H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 4.75 (s, 1H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 4.67 (d,  $J = 15.8$  Hz, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 2.36 (s, 1H, OH). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 224.4 ( $\text{CO}$ ); 147.4 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 132.6 ( $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 126.9 ( $\text{C}_6\text{H}_4$ ) 118.6 ( $\text{CN}$ ); 112.13 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 106.9 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 83.0 ( $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 82.9 ( $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 82.1 ( $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 81.1 ( $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 70.0 ( $\text{CH}$ ).

4.1.3.1.2.  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)})\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N}$  (**1b**)

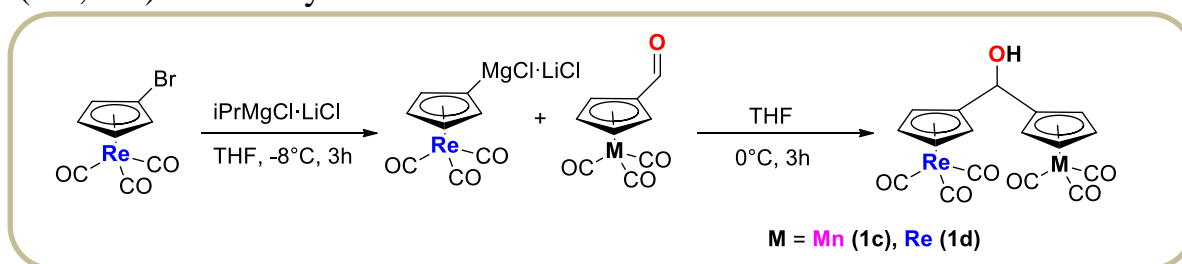
Cristales color café. Rendimiento = 78% (727.7 mg, 1.56 mmol)



**FT-IR** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ;  $\text{cm}^{-1}$ ): 2024, 1928 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.69 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 7.55 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 5.59 (s, 1H,  $\text{CH}$ ); 5.45 (t,  $J = 2.2$  Hz, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 5.31 (t,  $J = 2.2$  Hz, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 2.25 (s, 1H, OH).

4.1.3.2. Síntesis de precursores carbinoles *full*-organometálicos del tipo  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{M}(\text{CO})_3)$  ( $\text{M} = \text{Mn}$  y  $\text{Re}$ ) (**1c** y **1d**)

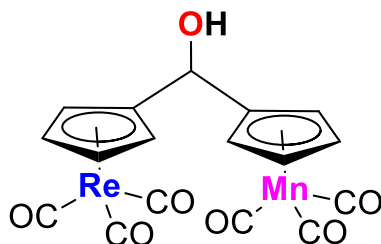
Para la obtención de este tipo de carbinoles, se utilizó el procedimiento anteriormente mencionado, haciendo reaccionar 1.00 mmol del precursor organometálico  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-Br})\text{Re}(\text{CO})_3]$  con 2.00 mmol de una disolución del complejo de isopropil cloruro de Litio-Magnesio en THF y la mezcla de reacción resultante fue agitada por 3h a 0°C. Luego se adicionó una disolución que contiene 0.66 mmol de  $(\text{CO})_3\text{M}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CHO})$  ( $\text{M} = \text{Mn}$  o  $\text{Re}$ ) y se dejó agitar por 3 horas adicionales. La reacción se apagó con una disolución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , para luego ser agregada en un vaso precipitado con agua y extraído con  $\text{Et}_2\text{O}$  ( $4 \times 20\text{mL}$ ). Los extractos orgánicos lavados con salmuera y secadas sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtradas y evaporadas a sequedad. El crudo se purificó por columna cromatográfica utilizando una mezcla de Hexano/Acetato de Etilo (8:2, v:v) como eluyente.



**Esquema 2:** Ruta sintética para la obtención de los precursores del tipo carbinol *full*-organometálico (**1c-d**)

4.1.3.2.1.  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Mn}(\text{CO})_3)$  (**1c**)

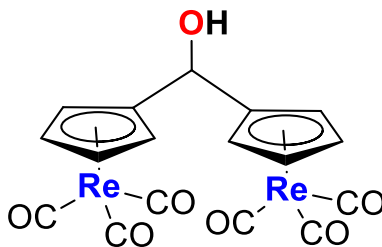
Sólido amarillo. Rendimiento = 67% (292.7 mg, 0.52 mmol)



**FT-IR** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ;  $\text{cm}^{-1}$ ): 2022, 1933 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.51 (d,  $J = 12.6$  Hz, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Re}$ ); 5.30 (d,  $J = 11.0$  Hz, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Re}$ ); 5.18 (s, 1H,  $\text{CH}$ ); 4.91 (d,  $J = 43.5$  Hz, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Mn}$ ); 4.71 (d,  $J = 19.9$  Hz, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Mn}$ ); 2.07 (s, 1H, OH). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 224.5 ( $\text{MnCO}$ ); 193.6 ( $\text{ReCO}$ ); 111.3 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Mn}$ ); 106.7 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Re}$ ); 84.4 ( $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Re}$ ); 84.2 ( $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Re}$ ); 83.8 ( $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Re}$ ); 83.3 ( $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Re}$ ); 82.8 ( $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Mn}$ ); 82.2 ( $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Mn}$ ); 81.1 ( $\text{C}_5\text{H}_4\text{-Mn}$ ); 64.8 ( $\text{CH}$ ).

#### 4.1.3.2.2. (CO)<sub>3</sub>Re(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>-CH(OH))-(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>)Re(CO)<sub>3</sub> (**1d**)

Sólido amarillo. Rendimiento = 62% (285.9 mg, 0.41 mmol)

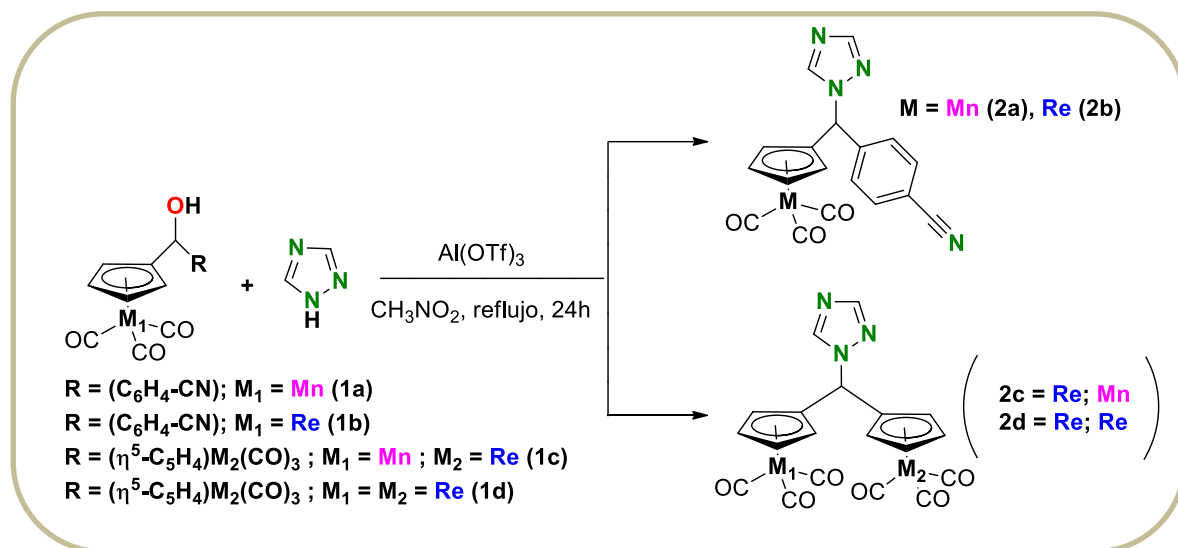


**FT-IR** (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; cm<sup>-1</sup>): 2023, 1935 (νC=O). **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.51 (dt, *J* = 12.6 Hz, 4H, C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5.32 (dq, *J* = 15.3 Hz, 4H, C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 5.25 (s, 1H, CH); 2.17 (s, 1H, OH). **RMN** <sup>13</sup>C (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 193.5 (CO); 110.8 (C<sub>ipso</sub>; C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 84.4 (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 84.3 (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 83.9 (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 83.2 (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>); 64.6 (CH).

#### 4.1.4. Síntesis de azoles organometálicos

Síntesis de compuestos finales *full*-organometálicos e híbridos orgánico-organometálico (**2a-d**)

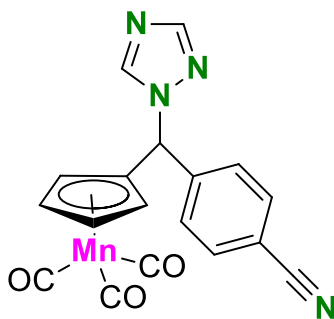
En un aparato Schlenk se disolvieron 0.71 mmol del respectivo precursor carbinol (**1a-d**) en 5 mL de CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>, luego se agregaron 17.0 mg (0.035mmol) de Al(OTf)<sub>3</sub> y se agitó por 15 minutos. A esta disolución se le añadieron 74.0 mg (1.07 mmol) de 1,2,4-triazol. La mezcla de reacción se llevó a reflujo por 24 horas. Transcurrido este tiempo, se removió el solvente mediante vacío y el sólido resultante se purificó por medio de columna cromatográfica. En primera instancia, se utilizó CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente para remover el precursor sin reaccionar, y Acetato de Etilo para remover el producto final.



**Esquema 3:** Síntesis de azoles organometálicos (2a-d)

4.1.4.1.  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3))\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N}$  (2a)

Cristales color café claro. Rendimiento = 51% (139.8 mg, 0.36 mmol)

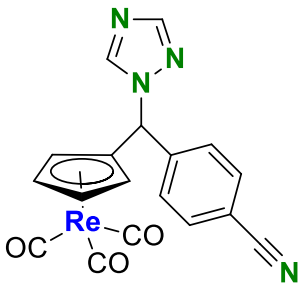


**FT-IR** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ;  $\text{cm}^{-1}$ ): 2026, 1944 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.23 (s, 1H,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 8.02 (s, 1H,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 7.70 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 7.43 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 6.26 (s, 1H,  $\text{CH}$ ); 5.15 (s, 1H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 4.78 (m, 3H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 223.5 ( $\text{CO}$ ); 142.3 ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3$ );

132.9 ( $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 128.3 ( $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ) 118.1 ( $\underline{\text{C}}\text{N}$ ); 113.3 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 98.8 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 85.9 ( $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 82.7 ( $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 81.6 ( $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 61.6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ ).

4.1.4.2.  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3))\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N}$  (**2b**)

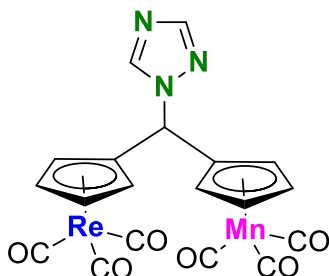
Aceite amarillento. Rendimiento = 53% (194.7 mg, 0.36 mmol)



**FT-IR** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ;  $\text{cm}^{-1}$ ): 2027, 1934 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.62 (s, 1H,  $\underline{\text{C}}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 8.10 (s, 1H,  $\underline{\text{C}}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 7.70 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H,  $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 7.47 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 6.26 (s, 1H,  $\underline{\text{C}}\text{H}$ ); 5.42 (d,  $J = 10.5$  Hz, 2H,  $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 5.34 (d,  $J = 3.7$  Hz, 2H,  $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 192.4 ( $\underline{\text{C}}\text{O}$ ); 141.7 ( $\underline{\text{C}}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 133.1 ( $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 128.5 ( $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ) 118.0 ( $\underline{\text{C}}\text{N}$ ); 113.6 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 102.3 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\underline{\text{C}}_6\text{H}_4$ ); 87.7 ( $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 87.3 ( $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 85.0 ( $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 83.5 ( $\underline{\text{C}}_5\text{H}_4$ ); 61.8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ ).

4.1.4.3.  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Mn}(\text{CO})_3)$  (**2c**)

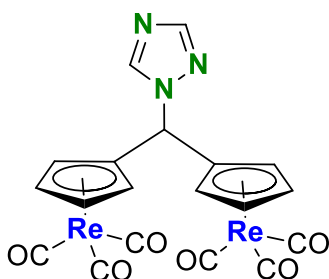
Sólido color amarillo. Rendimiento = 39% (171.2 mg, 0.277 mmol)



**FT-IR** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ;  $\text{cm}^{-1}$ ): 2024, 1936 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.1 (s, 2H,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 6.45 (s, 1H,  $\text{CH}$ ); 5.69 (s, 2H,  $(\text{Re})\text{C}_5\text{H}_4$ ); 5.30 (d, 2H,  $(\text{Re})\text{C}_5\text{H}_4$ ); 5.14 (s, 2H,  $(\text{Mn})\text{C}_5\text{H}_4$ ); 4.7(s, 2H,  $(\text{Mn})\text{C}_5\text{H}_4$ ).

4.1.4.4.  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3)$  (**2d**)

Cristales color amarillo. Rendimiento = 51% (271.5 mg, 0.3621 mmol)



**FT-IR** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ;  $\text{cm}^{-1}$ ): 2025, 1935 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.41 (s, 1H,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 8.04 (s, 1H,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3$ ); 6.03 (s, 1H,  $\text{CH}$ ); 5.76 (s, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 5.66 (s, 2H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ); 5.31 (s, 4H,  $\text{C}_5\text{H}_4$ ). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :

192.7 ( $\underline{\text{CO}}$ ); 151.2 ( $\underline{\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_5}$ ); 104.1 ( $\text{C}_{\text{ipso}}$ ;  $\underline{\text{C}_5\text{H}_4}$ ); 87.6 ( $\underline{\text{C}_5\text{H}_4}$ ); 86.7 ( $\underline{\text{C}_5\text{H}_4}$ ); 84.3 ( $\underline{\text{C}_5\text{H}_4}$ ); 83.1 ( $\underline{\text{C}_5\text{H}_4}$ ); 56.3 ( $\underline{\text{CH}}$ ).

#### 4.1.5. Estudios de estabilidad en medio acuoso

La estabilidad de los nuevos azoles organometálicos híbridos organometálicos-orgánicos y los *full*-organometálicos fue medida por espectroscopía UV-Vis, siendo cada muestra preparada en una concentración  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L en una mezcla DMSO/HEPES (1:1). Los espectros fueron registrados desde 0 hasta 24 horas a temperatura ambiente en intervalos de 3h.

#### 4.1.6. Actividad Anticancerígena

La evaluación antitumoral de los compuestos sintetizados fue analizada frente a la línea celular de cáncer de mamas con (ER+) MCF-7 mediante ensayo colorimétrico SRB[49]. Para todos los experimentos, las células fueron sembradas en platos de 96 pocillos (Sarstedt) con una densidad de  $1.00 \times 10^4$  células/pozo se mantuvieron a  $37^\circ\text{C}$ , 5% de  $\text{CO}_2$  en una atmosfera humidificada y se dejaron crecer en por 24 horas en un medio con suero. Las disoluciones *stock* de los compuestos fueron preparadas en DMSO, y la concentración final de DMSO se mantuvo constante con 1%, distintas concentraciones fueron agregadas a cada pocillo conteniendo 200  $\mu\text{L}$  del medio completamente crecido. Luego de 48 horas cada pozo fue fijado con 100  $\mu\text{L}$  de una disolución fría de ácido tricloroacético (TCA) al 10% m/v a  $4^\circ\text{C}$  por 1 hora. después de la fijación, el TCA fue descartado, y los pozos fueron lavados con un lento flujo de agua destilada y dejados a secar al aire. Una solución de SRB (0.057% masa/volumen) fue agregada a los pozos y se dejaron por 30 minutos a temperatura ambiente. Para disolver el pigmento que es soluble en proteínas, cada pocillo fue expuesto a 200  $\mu\text{L}$  de una solución de base de Tris a 10 mM

(pH = 10.5) por 30 minutos. La absorbancia fue medida a 510 nm utilizando distintas concentraciones.

#### 4.1.7. Ensayos como inhibidor de la Aromatasa

Los ensayos fueron realizados siguiendo la medida del Kit de inhibidor de la aromatasa “ab284522 – Aromatase (CYP19A) Inhibitor Screening Kit (Fluorometric)” Adquirido a través de la empresa Biosonda S.A.

Se prepararon pocillos de reacción que contenían compuestos de pruebas y los correspondientes controles sin inhibidores (que también pueden servir como control de disolvente), así como un control de fondo (que no contenga el sustrato fluorogénico de la Aromatasa) y un control positivo de inhibición utilizando 5  $\mu$ M de letrozol (solución 5X, concentración final de 1  $\mu$ M). Para el control de disolvente, se preparó una pequeña cantidad de tampón de ensayo de Aromatasa que contenga el disolvente orgánico utilizados para disolver los compuestos de prueba, a una concentración final de 5X:

**Tabla 1.** Preparación de soluciones para análisis de inhibidor de la Aromatasa

	Sin inhibidor	+ Compuestos de prueba	Control de blanco	Control de inhibición Positivo
2X Stock Aromatasa	50 $\mu$ L	50 $\mu$ L	50 $\mu$ L	50 $\mu$ L
5X Solución de prueba	-	20 $\mu$ L	-	-
5X Solución Letrozol 5 $\mu$ M	-	-	-	20 $\mu$ L
10X Buffer Ensayo Aromatasa (+5X de Solvente)	20 $\mu$ L	-	50 $\mu$ L	-

Se incubo la placa por al menos 10 minutos a 37°C para permitir que los ligandos de prueba interactúen con la aromatasa. El tiempo de preincubación puede optimizarse para otros ligandos de prueba según el mecanismo de acción. Durante la incubación, se prepara una mezcla de sustrato de Aromatasa/NADP+ (3X) agregando 6  $\mu$ L de la solución madre constituida de

sustrato de Aromatasa a 1.00 mM y 50  $\mu$ L de la solución madre constituida de  $\beta$ -NADP a 10 mM/ $\beta$ -NADP<sup>+</sup> (100X) a 1444  $\mu$ L de tampón de ensayo de Aromatasa para un volumen total de 1.5 mL. Esta preparación es suficiente para 50 reacciones, pero puede escalarse según el número de reacciones a realizar. Se inicia la reacción agregando 30  $\mu$ L de la mezcla de sustrato de Aromatasa/NADP<sup>+</sup> (3X) a cada pocillo (excepto al control de fondo) utilizando una pipeta multicanal, lo que proporciona un volumen final de reacción de 100 $\mu$ L por pocillo.

Mediciones: Se mide inmediatamente (dentro de 1 minuto) la fluorescencia en modo cinético durante 60 minutos en Ex/Em = 488/527nm. Aunque el ensayo se puede realizar en modo de punto final o en modo cinético, se recomienda encarecidamente la lectura en modo cinético para garantizar que las mediciones registradas estén dentro del rango lineal de la reacción. El tiempo ideal de medición para el rango lineal puede variar según la temperatura exacta de reacción y las condiciones experimentales.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Síntesis y caracterización de precursores carbinoles del tipo (CO)<sub>3</sub>M( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>-CH(OH))-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ N) (M = Mn (**1a**), Re (**1b**))

De acuerdo con las condiciones detalladas en la sección experimental (apartado 4.1.3.), los precursores híbridos organometálicos-orgánicos **1a** y **1b** fueron obtenidos a partir de la reacción entre 4-bromonitrobenceno con el respectivo aldehído organometálico en THF anhidro (**Esquema 2**). Los precursores fueron aislados como compuestos puros, con buenos rendimientos (82% para **1a** y 78% para **1b**), estables al aire y solubles en solventes orgánicos polares. Al no ser una reacción enantioselectiva, se obtuvo una mezcla racémica y no se buscó separar los enantiómeros.

Los análisis de los espectros infrarrojo (en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para los nuevos precursores carbinos híbridos mostraron las bandas de absorción características correspondientes a las vibraciones del enlace  $\nu(\text{C}=\text{O})$  en 2022 cm<sup>-1</sup> y 1936 cm<sup>-1</sup> para **1a**, así como en 2024 cm<sup>-1</sup> y 1928 cm<sup>-1</sup> para **1b**. Estas absorciones se encuentran dentro del rango para compuestos que posean estos fragmentos organometálicos[50].

En los espectros de RMN <sup>1</sup>H para los nuevos precursores, se observa la presencia de un nuevo singlete a 5.52 ppm para el compuesto **1a** y 5.59 ppm para el compuesto **1b**. Esta resonancia representa el protón central de la función -CH (**Tabla 2**) evidenciando el término de la reacción. Estos resultados son consistentes con resultados reportados para el análogo proveniente del fragmento ferrocenil publicado por Díaz de Greñu[41].

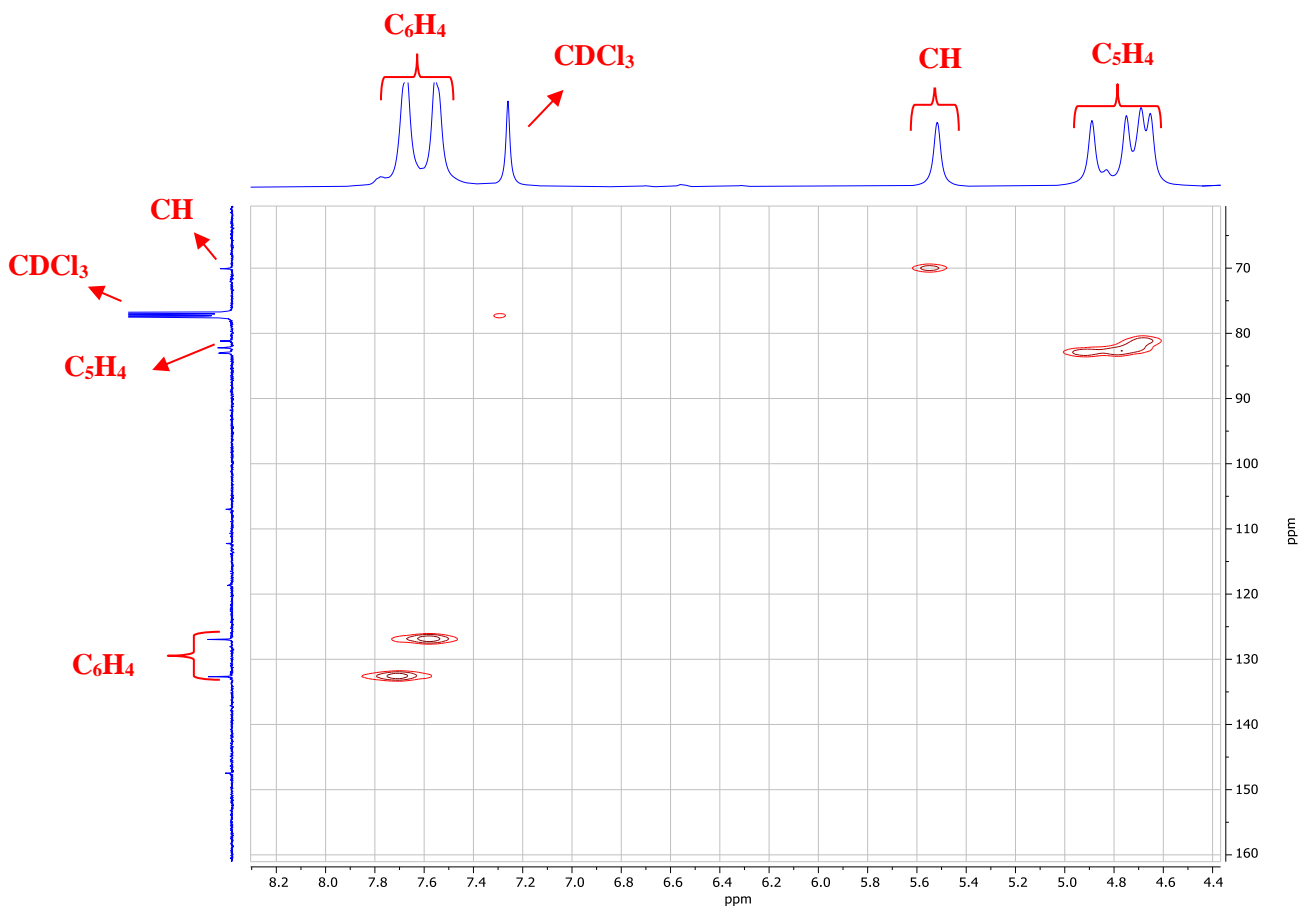
Sumado a lo anterior, para ambos compuestos (**1a-b**) los protones del anillo ciclopentadienilo se encuentran en los respectivos desplazamientos asociados a cada uno de los diferentes fragmentos. De esta forma, los protones del fragmento ciretrenilo (5.31 – 5.45 ppm) se encuentran desplazados hacia más bajo campo en comparación a sus análogos de cimantrenilo (4.65 – 4.89 ppm) y ferrocenilo (4.19 – 4.23 ppm). Esto puede estar relacionado con los efectos electrónicos de los fragmentos organometálicos (efecto electro-donador para el fragmento ferrocenilo y electroaceptor para el fragmento ciretrenilo y cimantrenilo), los cuales actúan en la estructura y se ven reflejadas en las señales al modificar su entorno químico. Esto trae como consecuencia, una modificación en la densidad electrónica en los protones del anillo ciclopentadienilo y en menor manera en el protón del carbono central del grupo -CH.

**Tabla 2.** Comparación de datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  (en  $\text{CDCl}_3$  a 298K) para los precursores derivados de ferrocenilo, cimantrenilo y ciretrenilo

Compuesto	$-\underline{\text{CH}}(\text{OH})-$	$\text{C}_6\underline{\text{H}}_4$	$\text{C}_5\underline{\text{H}}_4$
<b>1a</b>	s, 1H, 5.52 ppm	d, 2H, 7.68 ppm d, 2H, 7.55 ppm	s, 1H, 4.89 ppm 3H, 4.75-4.65 ppm
<b>1b</b>	s, 1H, 5.59 ppm	d, 2H, 7.69 ppm d, 2H, 7.55 ppm	t, 2H, 5.45 ppm 2H, 5.31 ppm
Ferrozole*	s, 1H, 5.38 ppm	d, 2H, 7.61 ppm d, 2H, 7.50 ppm	2H, 4.23 ppm 1H, 4.19 ppm 1H, 4.13 ppm

\*datos obtenidos de referencia[41]

De manera complementaria, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CDCl}_3$  a 298K del compuesto precursor **1a** presenta una resonancia en 70.0 ppm que es asignado al carbono central (centro quiral). Cabe mencionar que las asignaciones fueron ratificadas a través del registro de experimentos bidimensionales de HSQC (**Figura 5**). Además, se ve la presencia de una señal a 224.4 ppm la cual se asigna al carbono de la función CO coordinado directamente al ion  $\text{Mn}(\text{I})$ , en adición podemos observar la señal del carbono correspondiente al grupo Nitrilo, el cual se observa en 118.0 ppm.



**Figura 5.** Espectro HSQC del compuesto **1a** en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K

## 5.2. Síntesis y caracterización de precursores carbinoles *full*-organometálicos del tipo $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{M}(\text{CO})_3$ (**M** = Mn (**1c**) y Re (**1d**))

De acuerdo con las condiciones detalladas en la sección experimental (apartado 4.1.3.), los precursores *full*-organometálicos **1c** y **1d** fueron obtenidos a partir de la reacción entre  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-Br})$  con el respectivo aldehído organometálico (**Esquema 2**). Los precursores fueron aislados como compuestos puros, en moderados rendimientos (67% para **1c** y 62% para **1d**), fueron estables al aire y solubles en solventes orgánicos polares.

Los análisis de los espectros infrarrojo (en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) para los precursores carbinoles *full*-organometálicos mostraron las bandas de absorción

características correspondientes a las vibraciones del enlace  $\nu(\text{C}=\text{O})$  en  $2022\text{ cm}^{-1}$  y  $1933\text{ cm}^{-1}$  para **1c**, así como en  $2023\text{ cm}^{-1}$  y  $1930\text{ cm}^{-1}$  para **1d**. Cabe mencionar que no se registraron variaciones a compuestos análogos reportados en la literatura que contienen los mismos fragmentos organometálicos[50].

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  para los nuevos precursores se observa la presencia de un nuevo singlete a  $5.18\text{ ppm}$  para el compuesto **1c** y  $5.25\text{ ppm}$  para el compuesto **1d**. Esta señal se asocia al protón del grupo CH evidenciando la obtención del compuesto, consistente con otros sistemas organometálicos que posean dos fragmentos organometálicos (**Tabla 3**). Es notable que estas señales se encuentran a más alto campo que sus análogos híbridos (**1a-b**). En el compuesto **1c** es relevante mencionar que se pueden identificar las señales para los anillos ciclopentadienilo correspondientes a cada fragmento organometálico. En este sentido, a más bajo campo los correspondientes al fragmento ciretrenilo ( $5.30 - 5.51\text{ ppm}$ ) a diferencia de los asociados al fragmento cimantrenilo ( $4.71 - 4.91\text{ ppm}$ ), similar a lo descrito en bibliografía para sistemas que presenten estos fragmentos organometálicos y descrito para los precursores híbridos (**1a-b**)[50].

**Tabla 3.** Señales protones grupo CH

Compuesto	- <u>CH</u> (OH)-
<b>1c</b>	s, 1H, 5.18 ppm
<b>1d</b>	s, 1H, 5.25 ppm
<b>Derivado Diferrocénico*</b>	s, 1H, 5.23 ppm

\*Artículo sometido “M. Mallea, I. Almendras, M. Gallardo, P.Roussel, N. Henry, A. Steinbrück, N. Metzler-Nolte, R. Arancibia, Novel multinuclear organometallic compounds incorporating 1,2,4-triazole: Exploration of homo- and hetero-nuclear variable and evaluation of their anticancer potential, Polyhedron”

Por otra parte, de los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CDCl}_3$  a 298K para los compuestos **1c-d** se puede identificar una señal a 64.7 ppm para el compuesto **1c** y en 64.6 ppm para el compuesto **1d**, que fueron asignadas al carbono central de los precursores. Sumado a lo anterior, se logró identificar los carbonos de los grupos CO directamente enlazados a los centros metálicos en ambas especies. En el caso de **1c**, el carbono unido al Mn se detectó a 224.5 ppm, mientras que el enlazado a Re se registró a 193.6 ppm. Por otro lado, para el compuesto **1d**, solo se observó una señal a 193.5 ppm. Además, las señales adicionales fueron asignadas con ayuda de espectros HSQC, donde las señales de los carbonos de los fragmentos ciclopentadienilo se encuentran entre 81.1 ppm hasta 84.4 ppm para ambos fragmentos organometálicos, lo cual se encuentra dentro del rango para entidades que posean estos fragmentos organometálicos[50], como de igual manera es observado para los precursores híbridos (**1a-b**).

### 5.3. Síntesis y caracterización de azoles organometálicos

De acuerdo con las condiciones detalladas en el apartado 4.1.4. , los compuestos finales híbridos organometálicos (**2a-b**) y *full*-organometálicos (**2a-d**) fueron sintetizados a partir de una aminación directa entre el respectivo carbinol (**1a-d**) y el 1,2,4-triazol en  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  y utilizando  $\text{Al}(\text{OTf})_3$  como catalizador (**Esquema 3**). Posterior a la purificación, se consiguió aislar cristales del compuesto **2a** y **2d** aptos para difracción de rayos-X de monocristal.

Los compuestos fueron obtenidos puros, con rendimientos que varían entre 39-53% fueron solubles en solventes orgánicos polares.

En los espectros de IR las bandas de los grupos CO, no muestran cambios relevantes posteriores a la aminación, solo un leve desplazamiento a más alta energía en relación con el respectivo precursor del tipo carbinol (**Tabla 4**).

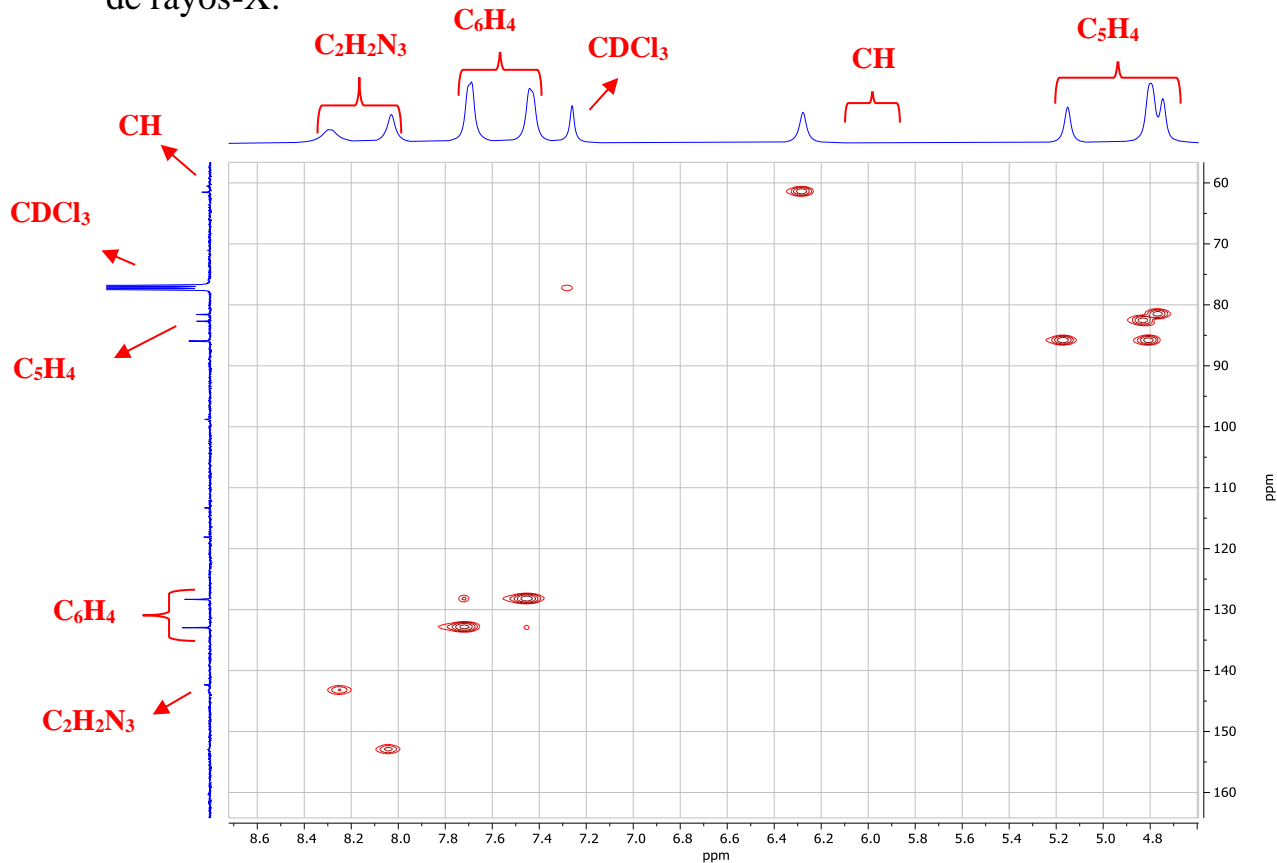
**Tabla 4.** Bandas de absorción del grupo CO de los azoles organometálicos (**2a-d**)

Compuesto	$\nu(\text{CO})$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
<b>2a</b>	2026, 1944
<b>2b</b>	2027, 1934
<b>2c</b>	2024, 1936
<b>2d</b>	2025, 1934

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  para los híbridos organometálicos-orgánicos (**2a-b**) dan cuenta de la desaparición de la señal asignada al protón del grupo OH. Sumado a esto, se registraron nuevas señales a 8.02 – 8.23 ppm para el caso de **2a**, así como 8.13 – 8.64 ppm para el caso de **2b**, que fueron asignados a los protones del fragmento 1,2,4-triazol. Probablemente la diferencia más evidente con los espectros de los precursores es el desplazamiento del protón del grupo -CH, a bajo campo. Bajo esta mirada, se registra para el derivado del fragmento cimantrenilo un desplazamiento de  $\Delta\delta = 1.1$  ppm y para el derivado del fragmento ciretrenilo un desplazamiento de  $\Delta\delta = 0.9$  ppm. Este fenómeno es atribuido al cambio en el entorno químico que se produce en el átomo de carbono quiral, al modificar el sustituyente como es el caso del 1,2,4-triazol. El resto de las señales que corresponden a los fragmentos cimantrenilo y ciretrenilo aparecen en el rango consistente para este tipo de sistemas (4.78 – 5.15 ppm para el caso del cimantrenilo) y 5.34 – 5.42 ppm (para el caso del ciretrenilo)[50]. En el caso del espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , uno de los desplazamientos más notables corresponde a la señal del carbono quiral (del grupo CH) de 70.0 ppm en el caso de **1a** a 61.6 ppm en **2a** y la aparición de una nueva señal a 142.3 ppm. Con base a la información entregada a través de un espectro de HSQC (**Figura 6**) se atribuye a la señal asociada a los carbonos del fragmento 1,2,4-triazol. Para el caso del compuesto **2b**, estas señales aparecen

en 61.6 ppm y 141.7 ppm respectivamente. Es relevante mencionar que de acuerdo a la bibliografía, el fragmento 1,2,4-triazol tiene la posibilidad de presentar tautomerismo, pero en las condiciones ensayadas este solo se encontraría en disolución bajo la forma de 1H-1,2,4-triazol (**Anexo 8.6.**).

Esta propuesta es confirmada más adelante mediante los estudios de difracción de rayos-X.



**Figura 6.** Espectro HSQC del compuesto **2a** en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K

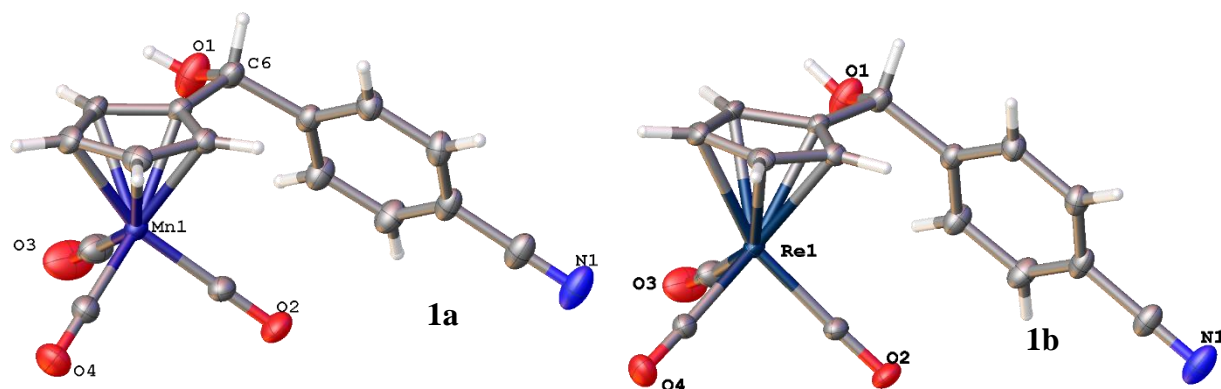
Por otra parte, la data espectroscópica recopilada a través de los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de los compuestos *full*-organometálicos (**2c-d**), se confirmó la obtención de los azoles organometálicos tras la desaparición de la señal asociada al protón de la función OH. Además de las nuevas señales del fragmento 1,2,4-triazol en 8.10 ppm para el caso de **2c** y en 8.04 – 8.41 ppm para el caso de **2d**. De forma análoga a **2a-b**, en estos compuestos se observa

de igual manera el desplazamiento a bajo campo del protón del grupo CH de  $\Delta\delta = 1.3$  ppm para el caso de **2c** y  $\Delta\delta = 0.8$  ppm para **2d**. Particularmente, el espectro del compuesto **2d** muestra la señal correspondiente al ligando CO unido al ion Re(I) a 192.7 ppm, que no sufre cambios en su desplazamiento químico tras la reacción de aminación. Sin embargo, el carbono del grupo CH que se desplaza a más alto campo desde 64.6 ppm en el precursor (**1d**) a 56.3 ppm en el compuesto final (**2d**) por la salida del grupo OH (grupo desapantallante). No obstante el resto de las señales no se ven afectadas por la aminación siendo asignadas en el rango para los carbonos del anillo ciclopentadienilo (83.1 – 87.6 ppm) consistentes con los reportados[41].

#### 5.4. Estudios Cristalográficos

Los compuestos **1a**, **1b**, **2a** y **2d** se disolvieron en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se colocaron en un tubo de recristalización, el cual fue introducido en otro tubo con hexano. Este procedimiento permitió obtener cristales adecuados para su análisis por difracción de rayos-X.

Los parámetros cristalográficos se presentan en el **Anexo 8.4**. En la **Figura 7**, se presentan los diagramas ORTEP de los precursores **1a** y **1b** los cuales presentan el grupo simétrico p-1 con un  $Z = 2$  ( $Z' = 1$ ).



**Figura 7.** Diagrama ORTEP del

precursor **1a** (Mn(I)) y **1b** (Re(I)) Elipsoides termales con 30% probabilidad

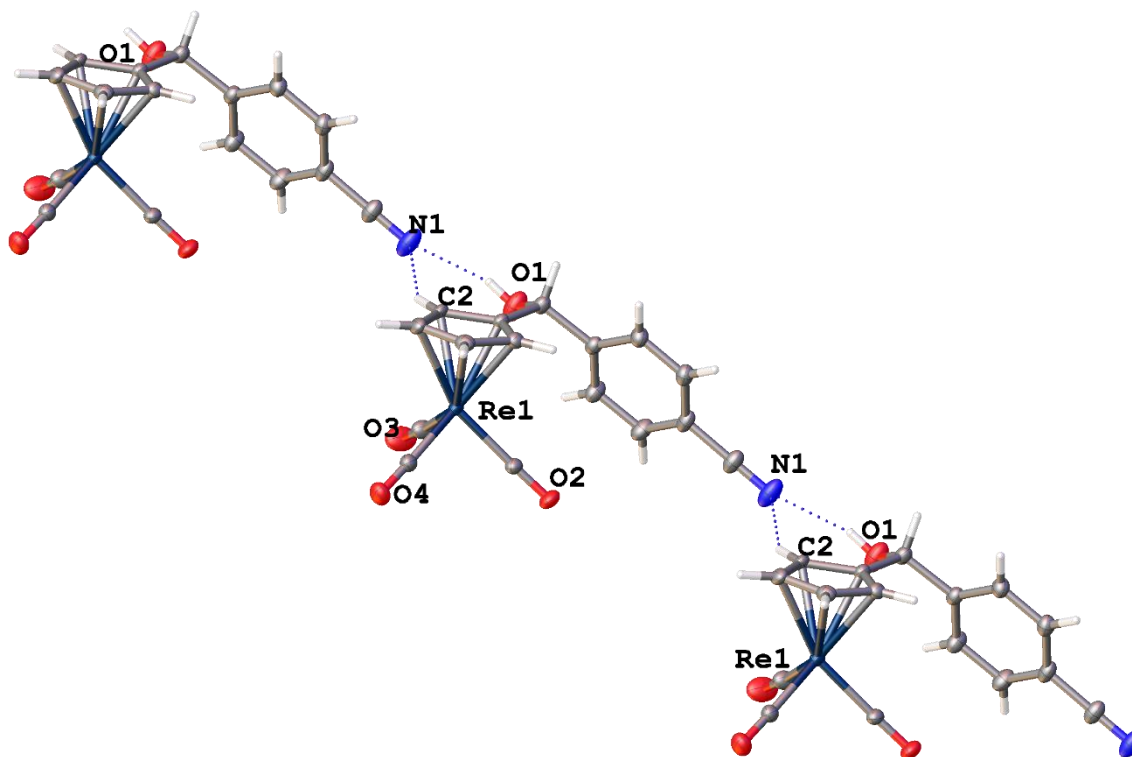
Las estructuras de los precursores híbridos orgánicos-organometálicos (**1a** y **1b**) muestran un tetraedro ligeramente distorsionado en base al carbono quiral C6. Tal como fue mencionado previamente al realizarse una síntesis no específica, se obtiene el racemato que se puede identificar en la celda donde se encuentran ambos isómeros.

**Tabla 5.** Longitudes de enlace de los compuestos **1a** y **1b**

Parámetro	<b>1a</b>	<b>1b</b>
Distancia Centroide Cp-M	1.767 Å	1.954 Å
Distancia M-CO	1.795 Å	1.916 Å
Distancia C≡N	1.137 Å	1.126 Å
Distancia C6-O1	1.412 Å	1.394 Å

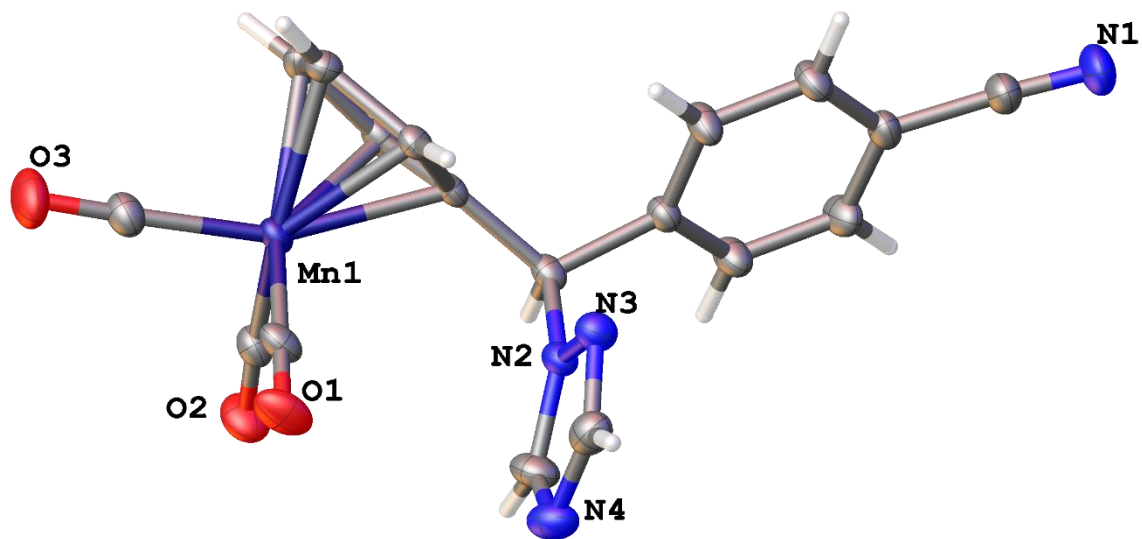
De los aspectos más relevantes a discutir, en la estructura de los compuestos **1a** y **1b**, se pueden distinguir dos enlaces por puentes de hidrógeno intermoleculares. El primero entre el grupo OH y el átomo de nitrógeno del grupo nitrilo (d1: 2.94 Å(N-O); d2: 2.13 Å (N-H); d3: 0.82 Å (H-O); Ángulo

N-H-O:  $158.3^\circ$  para **1a** y  $d_1$ :  $3.42 \text{ \AA}$  (N-C);  $d_2$ :  $2.58 \text{ \AA}$  (N-H);  $d_3$ :  $0.93 \text{ \AA}$  (H-C); Ángulo N-H-C:  $151.3^\circ$  para **1b**). Mientras que el segundo se encuentra entre el grupo OH y el hidrógeno del C2 de la molécula (**Figura 8**). Lo anterior podría tener relación con lo observado en los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  al evidenciar una diferencia entre los protones del anillo ciclopentadienilo del presente en cada fragmento organometálico.

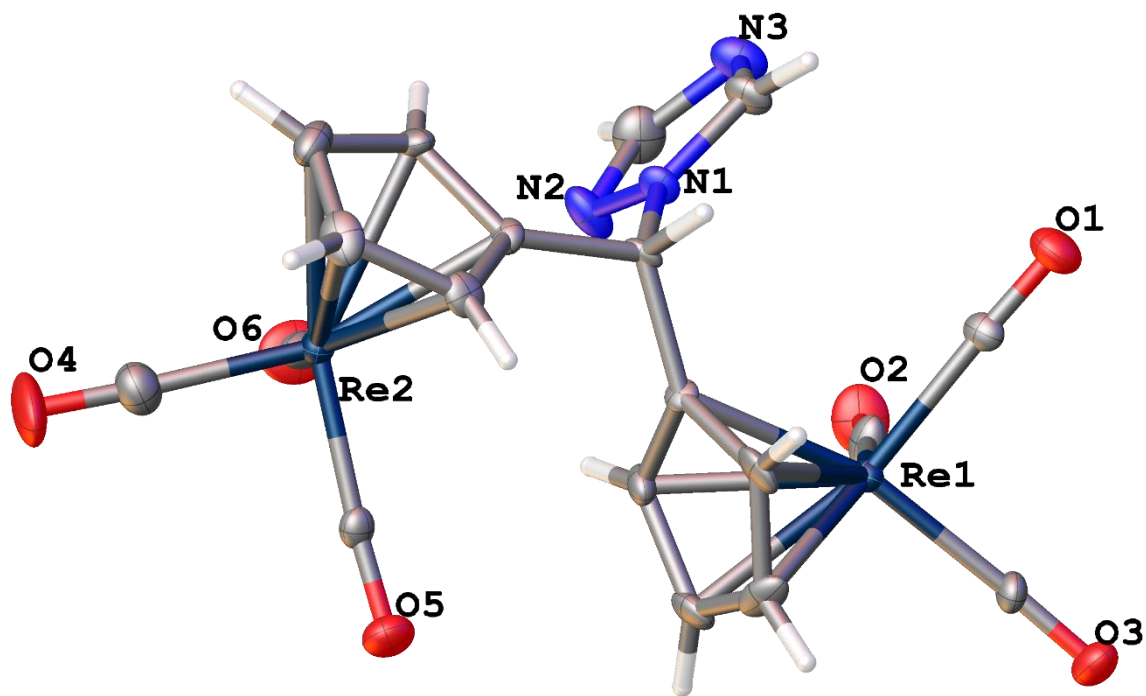


**Figura 8.** Enlaces por puentes de hidrógeno intermoleculares del compuesto **1b**  
Las distancias registradas entre el centroide del anillo ciclopentadienilo con el respectivo ion metálico, al igual que las distancias entre el carbono de los grupos funcionales carbonilos unidos al ion metálico son similares para

sistemas que presenten estos fragmentos organometálicos[51].



**Figura 9.** Diagrama ORTEP del compuesto **2a** Elipsoides termales con 30% probabilidad



**Figura 10.** Diagrama ORTEP del compuesto **2d** Elipsoides termales con 30% probabilidad

De los aspectos más relevantes es que se mantiene la geometría de tetraedro ligeramente distorsionado, con ángulos que varían desde 106.4° a 112.1°. Para el caso del compuesto **2a** se puede observar la presencia del racemato en la celda, por lo que se puede confirmar la presencia de ambos isómeros (R y S) en el resultado de la síntesis.

En todo lo que respecta a los azoles **2a** y **2d**, las **Figuras 9** y **10** las estructuras moleculares confirman la presencia del fragmento orgánico 1,2,4-triazol unido a las entidades por medio de un enlace C-N. Los fragmentos ciretrenilo y cimantrenilo presentan una geometría del tipo “*three-legged-piano-stool*”, con ángulos de enlace OC-Re-CO, OC-Mn-CO y las distancias de enlace promedio Mn-Cp (Centroide), Re-Cp (Centroide) y O-C-Re, O-C-Mn son correspondientes para este tipo de fragmentos[50]. Si bien en cuanto a este tipo de sistemas que contengan los grupos cimantrenilo o ciretrenilo unidos covalentemente al fragmento orgánico bioactivo 1,2,4-triazol no han sido reportados, estos resultados son concordantes con las registradas para diferentes complejos del tipo *half-sándwich* de Re(I) y Mn(I)[51].

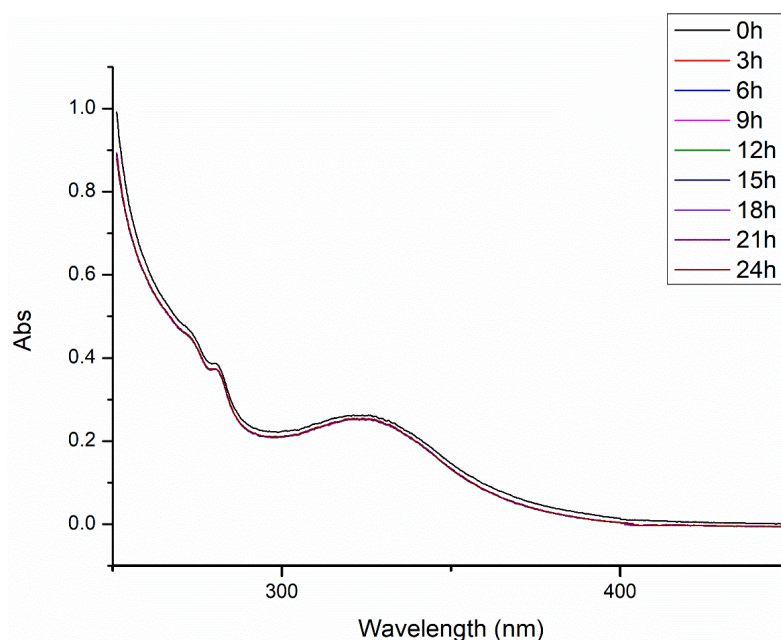
### **5.5. Estudios de estabilidad en medio acuoso**

Para complementar los estudios biológicos, es fundamental evaluar la estabilidad de los compuestos en el medio en el que serán analizados. Esto permitirá determinar con precisión su eficacia y garantizar la validez de los resultados.

De acuerdo a la bibliografía, se decide utilizar la metodología descrita[52], porque las células al crecer y metabolizar, el pH ambiental del medio de cultivo puede cambiar significativamente, lo que puede afectar las células. Para mantener un ambiente estable que promueva el crecimiento celular es ideal

utilizar *buffers* biológicos. La mayoría de las células prosperan en un pH ambiental de 7.2 a 7.4 en este sentido el *buffer* HEPES tiene un rango entre 6.8 y 8.2, volviéndolo ideal para el cultivo celular, y los tiempos a los que se miden es comparable con las 24 horas de cultivo que se utilizan en los ensayos de citotoxicidad para las células cancerígenas de MCF-7.

Como se observa en el **Anexo 8.5.** y en la **Figura 11,** los cuatro compuestos evaluados (**2a-d**) demostraron una alta estabilidad en las condiciones experimentales empleadas (en un rango de 0 a 24h, en intervalos de 3h) en una mezcla DMSO:HEPES (1:1). Si bien estas condiciones no replican exactamente el entorno de un medio de cultivo en estudios biológicos, proporcionan un indicio preliminar sobre su estabilidad en medios acuosos. Para complementar este análisis, resulta fundamental desarrollar en el futuro, el estudio en condiciones con una mayor proporción de disolución acuosa. Sin embargo, debido a restricciones de tiempo, esto no fue posible en la presente etapa, aunque se encuentra dentro de los planes a corto plazo.

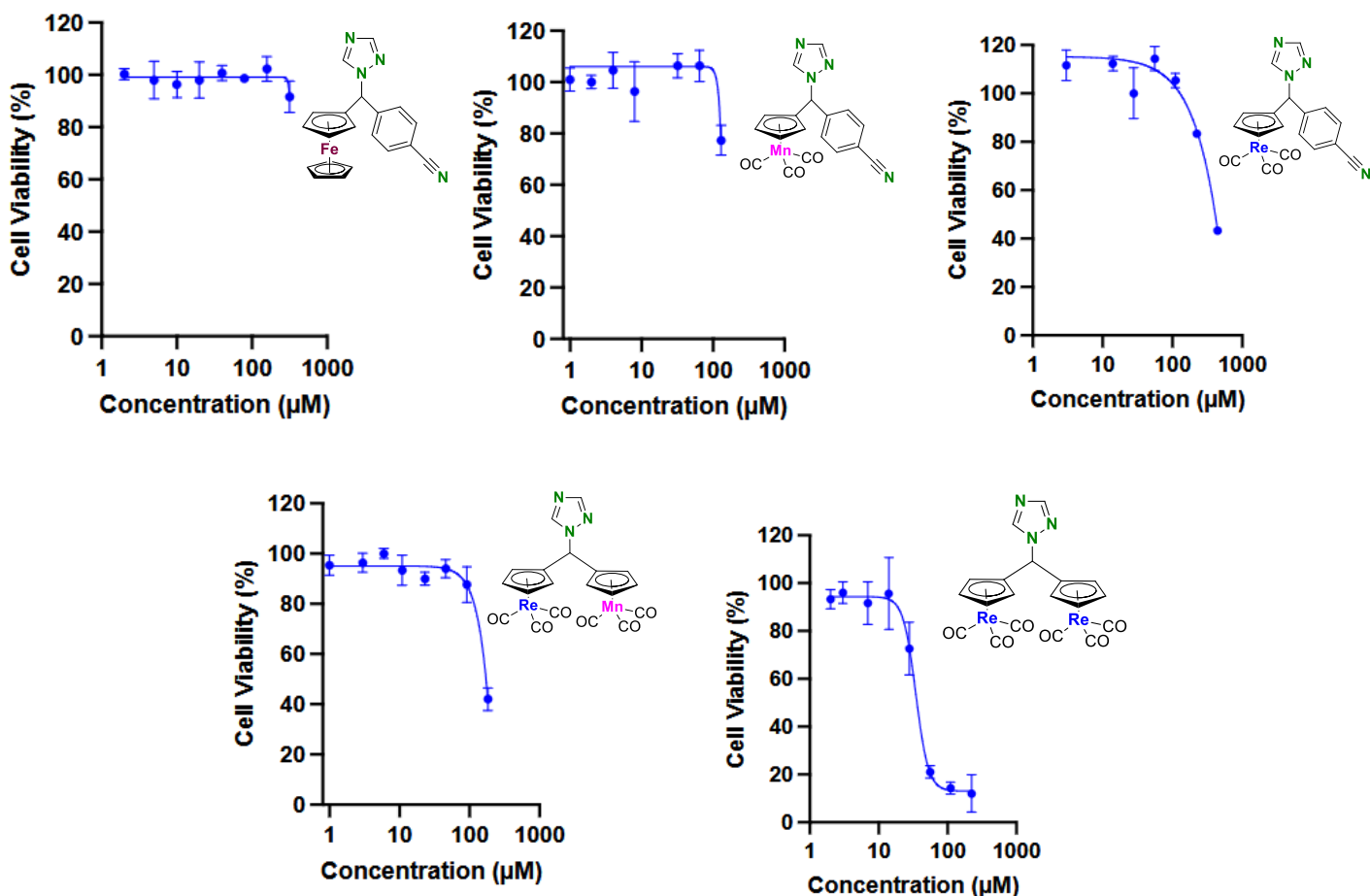


**Figura 11.** Estudio de estabilidad en medio acuoso por medio de UV-Vis en una mezcla de 1:1 DMSO:HEPES

## 5.6. Citotoxicidad en células MCF-7 (ER+)

Como fue mencionado en el apartado introductorio, numerosos compuestos orgánicos que contienen azoles en su estructura presenta diversas aplicaciones médicas. Entre los más relevantes para el tratamiento del cáncer de mama con receptores de estrógeno positivos (ER+) se encuentran aquellos que incorporan el fragmento 1,2,4-triazol. Sin embargo, los efectos secundarios de estos fármacos y el creciente desarrollo de resistencia han impulsado la búsqueda de nuevos compuestos con potencial citotóxico frente a estas células.

Con el fin de evaluar el potencial antitumoral de los compuestos sintetizados, y contrastar las hipótesis de trabajo, inicialmente se realizaron ensayos de citotoxicidad en células cancerígenas de mama MCF-7 (ER+). Se analizaron los compuestos **2a-d** y determinaron sus respectivas curvas de inhibición (**Figura 12**). Estos estudios permitieron identificar tendencias clave en la relación entre la estructura química de los compuestos y su actividad citotóxica. A modo de evaluar la relevancia de los efectos electrónicos de los fragmentos organometálicos en la citotoxicidad, se incluyó en los ensayos el compuesto análogo que contiene el fragmento ferrocenilo (de naturaleza electrodonadora)[41]. Como se observa en la **Tabla 5**, los compuestos que contienen los fragmentos electro-atrayentes cimantrenilo (**2a**) y ciretrenilo (**2b**), exhiben una mayor citotoxicidad en comparación con los derivados de ferrocenilo. Este resultado sugiere que la presencia de sustituyentes con carácter electro-atrayente juega un papel clave en la actividad antitumoral frente a células MCF-7. Esto ha sido reportado previamente para sistemas que contienen estos fragmentos frente a algunas enfermedades parasitarias[53] y tuberculosis[54].

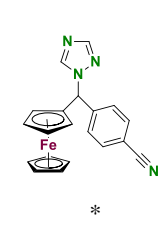
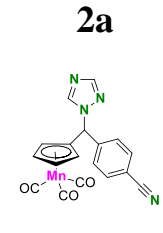
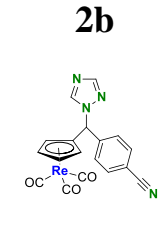
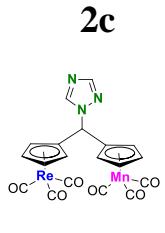
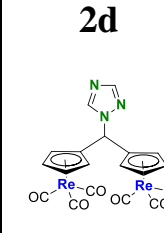


**Figura 12.** Gráficas de Viabilidad celular (%) versus Concentración (µM)

El tratamiento de las curvas permitió obtener los valores de  $IC_{50}$  para los compuestos estudiados (**2a-d**), todos los compuestos presentan valores en la escala µM que llegan hasta 34 µM. Sin embargo, al analizar los datos se observa que los compuestos *full*-organometálicos exhiben valores de  $IC_{50}$  más bajos (34 µM para **2d** y 51 µM para **2c**) en comparación con sus análogos híbridos orgánico-organometálicos (390 µM para **2b** y >500 µM para **2a**). Esta modificación estructural sugiere que la incorporación de dos fragmentos organometálicos en la misma molécula genera un efecto sinérgico que potencia su actividad citotóxica.

En este contexto la mayor eficacia citotóxica de los compuestos *full*-organometálicos podría estar relacionada con una mejor interacción con dianas moleculares o una mayor capacidad de internalización celular. Cabe mencionar que esta propuesta debe ser ratificada mediante estudios posteriores de lipofilia y *docking*.

**Tabla 6.** Valores de IC<sub>50</sub> para los azoles organometálicos

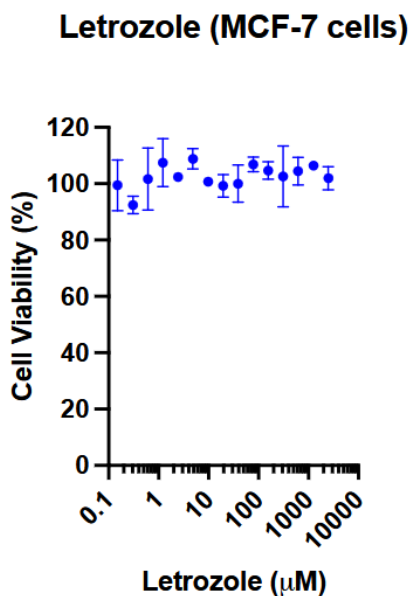
		<b>2a</b> 	<b>2b</b> 	<b>2c</b> 	<b>2d</b> 
IC <sub>50</sub>	>500 μM	>500 μM	390 μM	51 μM	34 μM

\*Compuesto sintetizado por Diaz de Greñu[41]

Un análisis más detallado da cuenta que el derivado homonuclear con dos fragmentos de ciretrenilo exhibió la mayor actividad (IC<sub>50</sub>: 34 μM). Esto puede atribuirse a la mayor intensidad del efecto electro-atrayente del fragmento ciretrenilo en comparación con el cimantrenilo[50] Lo anterior sugiere que la modulación electrónica de la estructura molecular tiene un impacto directo en su capacidad para inducir citotoxicidad en células MCF-7. Estos resultados destacan la importancia del diseño estructural en la optimización de nuevas moléculas con potencial actividad antitumoral. Esta propuesta debe ser confirmada mediante estudios computacionales

A modo comparativo de la droga como control, se evaluó la citotoxicidad del letrozol en las mismas condiciones experimentales (**Figura 13**). Como era de esperar, el fármaco no mostró actividad citotóxica frente a las células MCF-7, lo que confirma su mecanismo de acción específico como inhibidor de la

enzima aromatasa.



**Figura 13.** Citotoxicidad del Letrozol frente a las células MCF-7

### 5.7. Ensayos como potenciales Inhibidores de la Aromatasa

Como se mencionó en la introducción, entre los tratamientos farmacológicos para el cáncer de mama se encuentran los inhibidores de la aromatasa (IA), enzima clave en la síntesis de estrógenos. Dentro de esta categoría, el letrozol es uno de los fármacos más ampliamente utilizados para el tratamiento de la enfermedad, como se analizó en el **Apartado 5.6**. A diferencia de otros compuestos, el letrozol no presenta citotoxicidad frente a las células MCF-7, ya que su mecanismo de acción se basa exclusivamente en la inhibición de la aromatasa.

Con el fin de estudiar los probables mecanismos de acción de los nuevos azoles organometálicos diseñados en base al fármaco letrozol, se decidió evaluar su desempeño como potenciales inhibidores de la aromatasa. Para esto se adquirió

un Kit de inhibidor de la aromatasa “ab284522 – Aromatase (CYP19A) Inhibitor Screening Kit (Fluorometric)”. Dado el número acotado de pocillos, se seleccionaron cuatro compuestos representativos para realizar dicho ensayo. Así, se escogieron los compuestos **2b** y **2d** (provenientes del fragmento ciretrenilo). Para un mejor análisis comparativo, también se escogió el compuesto híbrido organometálico-orgánico proveniente del fragmento ferrocenilo ( $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$ ) (reportado por Díaz de Greñu y col.[41]) y el compuesto *full*-organometálico homonuclear con el fragmento ferrocenilo ( $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$ ) (Artículo sometido “M. Mallea, I. Almendras, M. Gallardo, P.Roussel, N. Henry, A. Steinbrück, N. Metzler-Nolte, R. Arancibia, Novel multinuclear organometallic compounds incorporating 1,2,4-triazole: Exploration of homo- and hetero-nuclear variable and evaluation of their anticancer potential, Polyhedron”).

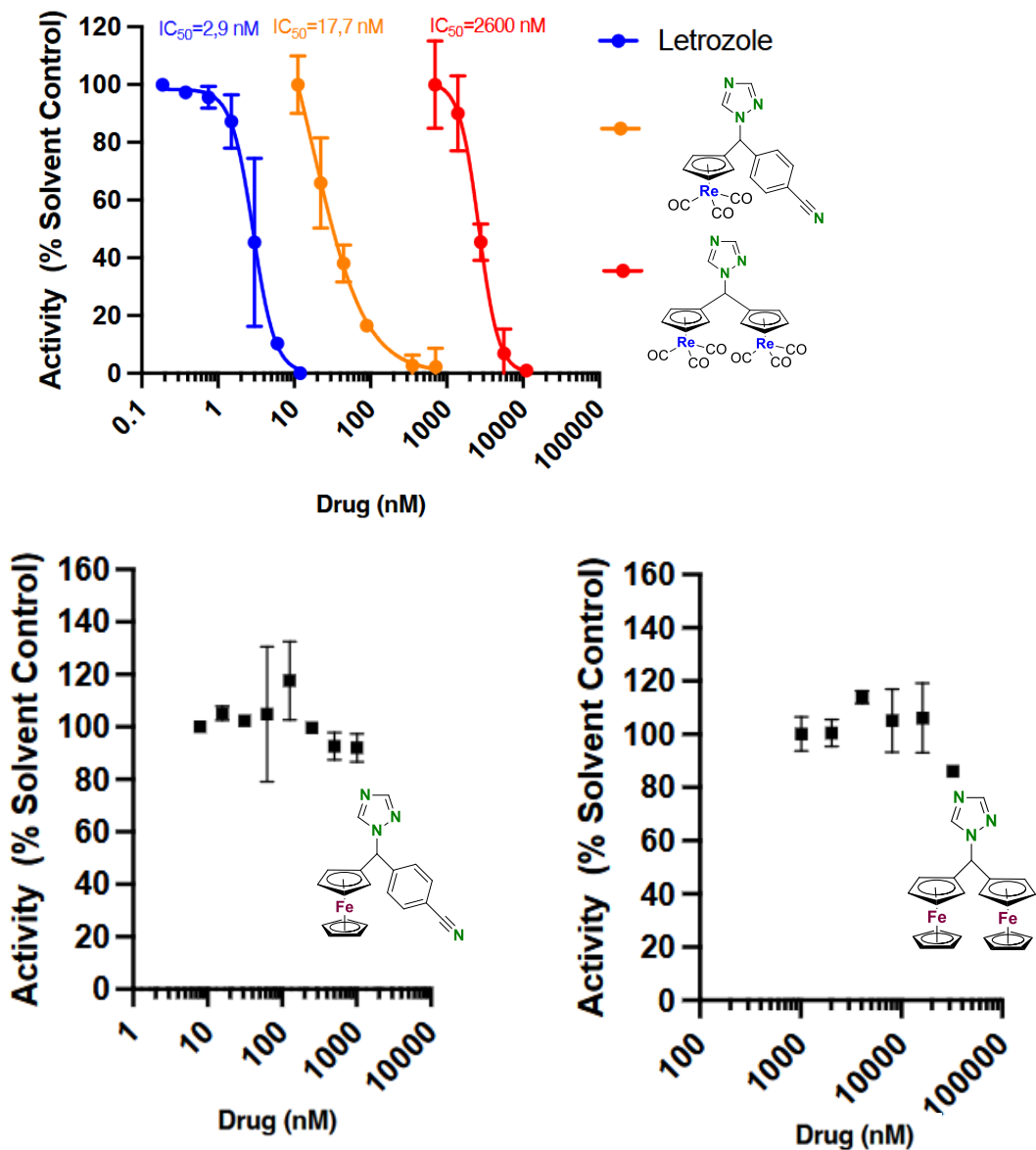


Figura 14. Ensayos como inhibidor de la Aromatasa

Como se puede observar en las curvas descritas en la **Figura 14**, los compuestos que contienen el fragmento ferrocenilo en su estructura demuestran ser inactivos como inhibidores de la enzima. Por el contrario, el compuesto completamente organometálico derivado del fragmento ciretrenilo (**2d**) muestra actividad como inhibidor de la enzima, aunque con un  $IC_{50}$  de 2.6  $\mu$ M, un valor significativamente mayor en comparación con el compuesto híbrido orgánico-organometálico (**2b**), que alcanza un  $IC_{50}$  de 17.7 nM. Este último exhibe una potencia similar a la del fármaco de referencia, Letrozol ( $IC_{50}$ : 2.9

nM).

Con base en estos resultados, se confirma una clara influencia del fragmento ciretrenilo en la actividad inhibitoria de los compuestos evaluados. El compuesto híbrido **2b** mostró una potencia comparable a la del fármaco letrozol, lo que sugiere que su estructura, en particular la presencia del grupo nitrilo, favorece la interacción con el sitio activo de la aromatasa. En contraste, los compuestos con fragmentos ferrocenilo, de naturaleza electro-donadora, resultaron inactivos, lo que indica que este tipo de sustituyentes reduce la actividad inhibitoria.

## 6. CONCLUSIONES

- ✓ Los nuevos precursores carbinoles *full*-organometálicos (**1c-d**) e híbridos organometálicos-orgánicos (**1a-b**) fueron sintetizados exitosamente con buenos rendimientos (62-82%).
- ✓ Los nuevos azoles que contienen el fragmento activo 1,2,4-triazol, ya sea híbridos organometálicos-orgánicos (**2a-b**) y *full*-organometálicos (**2c-d**) fueron sintetizados exitosamente, mediante una aminación directa utilizando Al(OTf)<sub>3</sub> como catalizador con rendimientos que varían entre 39-53%.
- ✓ La data espectroscópica de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y HSQC (cuando fue el caso), junto con los estudios de difracción de Rayos X confirman la estructura de los compuestos propuestos (**2a-d**).
- ✓ Los estudios mediante UV-Vis demostraron que todos los azoles organometálicos (**2a-d**) poseen estabilidad en medio acuoso.
- ✓ Los ensayos citotoxicidad en células de MCF-7 (ER+) mostraron una relación directa entre la estructura de los compuestos y su efectividad, donde los compuestos bimetálicos mostraron ser más citotóxicos (IC<sub>50</sub>: 51 μM para **2c** y 34 μM para **2d**) en comparación a los híbridos (>500 μM para **2a** y 390 μM para **2b**).
- ✓ Los estudios de inhibición de aromatasa demostraron que los compuestos que presentan en su estructura fragmentos organometálicos con efectos electroaceptores (**2b** y **2d**) son activos en comparación a aquellos electrodonadores (provenientes del fragmento ferrocenilo). En particular el compuesto **2b** mostró resultados comparables al fármaco letrozol. Por otra parte, el compuesto **2d** exhibió citotoxicidad frente a las células e inhibición de la aromatasa, lo que da cuenta de un posible efecto dual.

## 7. REFERENCIAS

- [1] J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram, D.M. Parkin, M. Piñeros, A. Znaor, F. Bray, Cancer statistics for the year 2020: An overview., *Int. J. Cancer* (2021). <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>.
- [2] D. Hanahan, R.A. Weinberg, Hallmarks of cancer: the next generation., *Cell* 144 (2011) 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.
- [3] A.G. Waks, E.P. Winer, Breast Cancer Treatment: A Review, *JAMA* 321 (2019) 288–300. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323>.
- [4] A. Costa, Y. Kieffer, A. Scholer-Dahirel, F. Pelon, B. Bourachot, M. Cardon, P. Sirven, I. Magagna, L. Fuhrmann, C. Bernard, C. Bonneau, M. Kondratova, I. Kuperstein, A. Zinovyev, A.-M. Givel, M.-C. Parrini, V. Soumelis, A. Vincent-Salomon, F. Mehta-Grigoriou, Fibroblast Heterogeneity and Immunosuppressive Environment in Human Breast Cancer, *Cancer Cell* 33 (2018) 463-479 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.01.011>.
- [5] D.M. Black, E.A. Mittendorf, Landmark trials affecting the surgical management of invasive breast cancer., *Surg. Clin. North Am.* 93 (2013) 501–518. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2012.12.007>.
- [6] C. Polgár, Z. Kahán, O. Ivanov, M. Chorváth, A. Ligačová, A. Csejtei, G. Gábor, L. Landherr, L. Mangel, Á. Mayer, J. Fodor, Radiotherapy of Breast Cancer-Professional Guideline 1st Central-Eastern European Professional Consensus Statement on Breast Cancer., *Pathol. Oncol. Res.* 28 (2022) 1610378. <https://doi.org/10.3389/pore.2022.1610378>.
- [7] M.S.U. Hassan, J. Ansari, D. Spooner, S.A. Hussain, Chemotherapy for breast cancer., *Oncol. Rep.* 24 (2010) 1121–1131. [https://doi.org/10.3892/or\\_00000963](https://doi.org/10.3892/or_00000963).
- [8] S. Puhalla, S. Bhattacharya, N.E. Davidson, Hormonal therapy in breast

- cancer: a model disease for the personalization of cancer care., *Mol. Oncol.* 6 (2012) 222–236. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.02.003>.
- [9] V. Masoud, G. Pagès, Targeted therapies in breast cancer: New challenges to fight against resistance., *World J. Clin. Oncol.* 8 (2017) 120–134. <https://doi.org/10.5306/wjco.v8.i2.120>.
- [10] J. Zhai, Y. Wu, F. Ma, V. Kaklamani, B. Xu, Advances in medical treatment of breast cancer in 2022, *Cancer Innov.* 2 (2023) 1–17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cai2.46>.
- [11] N. Howlader, S.F. Altekruse, C.I. Li, V.W. Chen, C.A. Clarke, L.A.G. Ries, K.A. Cronin, US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status., *J. Natl. Cancer Inst.* 106 (2014). <https://doi.org/10.1093/jnci/dju055>.
- [12] S.H. Giordano, S. Temin, S. Chandarlapaty, J.R. Crews, F.J. Esteva, J.J. Kirshner, I.E. Krop, J. Levinson, N.U. Lin, S. Modi, D.A. Patt, J. Perlmutter, N. Ramakrishna, E.P. Winer, N.E. Davidson, Systemic Therapy for Patients With Advanced Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update., *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 36 (2018) 2736–2740. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.79.2697>.
- [13] P. Vilquin, P. Cohen, T. Maudelonde, O. Tredan, I. Treilleux, T. Bachelot, P.-E. Heudel, New therapeutical strategies in metastatic hormone-dependent breast cancer., *Bull. Cancer* 102 (2015) 367–380. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2015.02.013>.
- [14] J.S. Reis-Filho, L. Pusztai, Gene expression profiling in breast cancer: classification, prognostication, and prediction., 378 (2011) 1812–1823. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61539-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61539-0).
- [15] A. Peters, P. Tadi, Aromatase Inhibitors., in: *Treasure Island*, (2023).

- [16] A.S. Bhatnagar, The early days of letrozole., *Breast Cancer Res. Treat.* 105 Suppl (2007) 3–5. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9699-0>.
- [17] J. Cuzick, I. Sestak, J.F. Forbes, M. Dowsett, S. Cawthorn, R.E. Mansel, S. Loibl, B. Bonanni, D.G. Evans, A. Howell, Use of anastrozole for breast cancer prevention: long-term results of a randomised controlled trial, *Lancet* 395 (2020) 117–122.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32955-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32955-1).
- [18] M. Valle, E. Di Salle, M.G. Jannuzzo, I. Poggesi, M. Rocchetti, R. Spinelli, D. Verotta, A predictive model for exemestane pharmacokinetics/pharmacodynamics incorporating the effect of food and formulation., *Br. J. Clin. Pharmacol.* 59 (2005) 355–364.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2005.02335.x>.
- [19] R. Carpenter, W.R. Miller, Role of aromatase inhibitors in breast cancer, *Br. J. Cancer* 93 (2005) S1–S5. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602688>.
- [20] A.S. Bhatnagar, The discovery and mechanism of action of letrozole., *Breast Cancer Res. Treat.* 105 Suppl (2007) 7–17.  
<https://doi.org/10.1007/s10549-007-9696-3>.
- [21] S. Mirkin, J.H. Pickar, Selective estrogen receptor modulators (SERMs): a review of clinical data., *Maturitas* 801 (2015) 52–57.  
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:206801164>.
- [22] M. Clemons, S. Danson, A. Howell, Tamoxifen (‘Nolvadex’): a review: Antitumour treatment, *Cancer Treat. Rev.* 28 (2002) 165–180.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0305-7372\(02\)00036-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0305-7372(02)00036-1).
- [23] M. Shah, M.R. Nunes, V. Stearns, CDK4/6 Inhibitors: Game Changers in the Management of Hormone Receptor–Positive Advanced Breast Cancer?, *Oncology (Williston Park)*. 32 (2018) 216–222.
- [24] M.A. Fox, J.K. Whitesell, *Química Orgánica*, Addison We, (2000).

- [25] J.M. Beale, J.H. Block, Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, 12th Edition, (2011).
- [26] D.A. van Schalkwyk, T.J. Egan, Quinoline-resistance reversing agents for the malaria parasite *Plasmodium falciparum*, Drug Resist. Updat. 9 (2006) 211–226.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.drug.2006.09.002>.
- [27] B. Mansoori, A. Mohammadi, S. Davudian, S. Shirjang, B. Baradaran, The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review., Adv. Pharm. Bull. 7 (2017) 339–348.  
<https://doi.org/10.15171/apb.2017.041>.
- [28] B. Rosenberg, L. VanCamp, The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds., Cancer Res. 30 (1970) 1799–1802.
- [29] D. Gaynor, D.M. Griffith, The prevalence of metal-based drugs as therapeutic or diagnostic agents: beyond platinum, Dalton. Trans. 41 (2012) 13239–13257. <https://doi.org/10.1039/C2DT31601C>.
- [30] K.D. Mjos, C. Orvig, Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry, Chem. Rev. 114 (2014) 4540–4563. <https://doi.org/10.1021/cr400460s>.
- [31] M.A. Jakupec, M.S. Galanski, V.B. Arion, C.G. Hartinger, B.K. Keppler, Antitumour metal compounds: more than theme and variations, Dalton. Trans. (2008) 183–194. <https://doi.org/10.1039/B712656P>.
- [32] N. Muhammad, Z. Guo, Metal-based anticancer chemotherapeutic agents., Curr. Opin. Chem. Biol. 19 (2014) 144–153.  
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.02.003>.
- [33] G. Jaouen, Bioorganometallics: Biomolecules, Labeling, Medicine, (2006).
- [34] C.G. Hartinger, P.J. Dyson, Bioorganometallic chemistry—from

- teaching paradigms to medicinal applications, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 391–401. <https://doi.org/10.1039/B707077M>.
- [35] G. Gasser, N. Metzler-Nolte, The potential of organometallic complexes in medicinal chemistry., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 16 (2012) 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.01.013>.
- [36] R.H. Fish, G. Jaouen, *Bioorganometallic Chemistry: Structural Diversity of Organometallic Complexes with Bioligands and Molecular Recognition Studies of Several Supramolecular Hosts with Biomolecules, Alkali-Metal Ions, and Organometallic Pharmaceuticals, Organometallics* 22 (2003) 2166–2177. <https://doi.org/10.1021/om0300777>.
- [37] D.R. van Staveren, N. Metzler-Nolte, *Bioorganometallic Chemistry of Ferrocene*, *Chem. Rev.* 104 (2004) 5931–5986. <https://doi.org/10.1021/cr0101510>.
- [38] E. Hillard, A. Vessières, L. Thouin, G. Jaouen, C. Amatore, Ferrocene-mediated proton-coupled electron transfer in a series of ferrocifen-type breast-cancer drug candidates., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 45 (2005) 285–290. <https://doi.org/10.1002/anie.200502925>.
- [39] S. Top, A. Vessières, G. Leclercq, J. Quivy, J. Tang, J. Vaissermann, M. Huché, G. Jaouen, 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-depe, *Chemistry* 9 (2003) 5223–5236. <https://doi.org/10.1002/chem.200305024>.
- [40] G. Jaouen, A. Vessières, S. Top, Ferrocifen type anti cancer drugs, *Chem. Soc. Rev.* 44 (2015) 8802–8817.

<https://doi.org/10.1039/C5CS00486A>.

- [41] B. Diaz de Greñu, D.M. Fernández-Aroca, J.A. Organero, G. Durá, F.A. Jalón, R. Sánchez-Prieto, M.J. Ruiz-Hidalgo, A.M. Rodríguez, L. Santos, J.L. Albasanz, B.R. Manzano, Ferrozoles: Ferrocenyl derivatives of letrozole with dual effects as potent aromatase inhibitors and cytostatic agents, *J. Biol. Inorg. Chem.* 28 (2023) 531–547.  
<https://doi.org/10.1007/s00775-023-02006-0>.
- [42] M. Hromadová, M. Salmain, R. Sokolová, L. Pospíšil, G. Jaouen, Novel redox label for proteins.: Electron transfer properties of ( $\eta^5$ -cyclopentadienyl) tricarbonyl manganese bound to bovine serum albumin, *J. Organomet. Chem.* 668 (2003) 17–24.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0022-328X\(02\)02093-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0022-328X(02)02093-4).
- [43] J.-M. Heldt, N. Fischer-Durand, M. Salmain, A. Vessières, G. Jaouen, Preparation and characterization of poly(amidoamine) dendrimers functionalized with a rhenium carbonyl complex and PEG as new IR probes for carbonyl metallo immunoassay, *J. Organomet. Chem.* 689 (2004) 4775–4782.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2004.09.035>.
- [44] D. Sierra, N. Bhuvanesh, J.H. Reibenspies, J.A. Gladysz, A.H. Klahn, Syntheses, structures, and reactions of cyrhetrenylphosphines; applications in palladium catalyzed Suzuki cross-coupling reactions, *J. Organomet. Chem.* 749 (2014) 416–420.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2013.10.029>.
- [45] W.L.F. Amarego, C. Chai, Purification of laboratory chemicals, 6th ed., Amsterdam Elsevier/Butterworth-Heinemann, (2009).
- [46] L. Krause, R. Herbst-Irmer, G.M. Sheldrick, D. Stalke, Comparison of silver and molybdenum microfocus X-ray sources for single-crystal

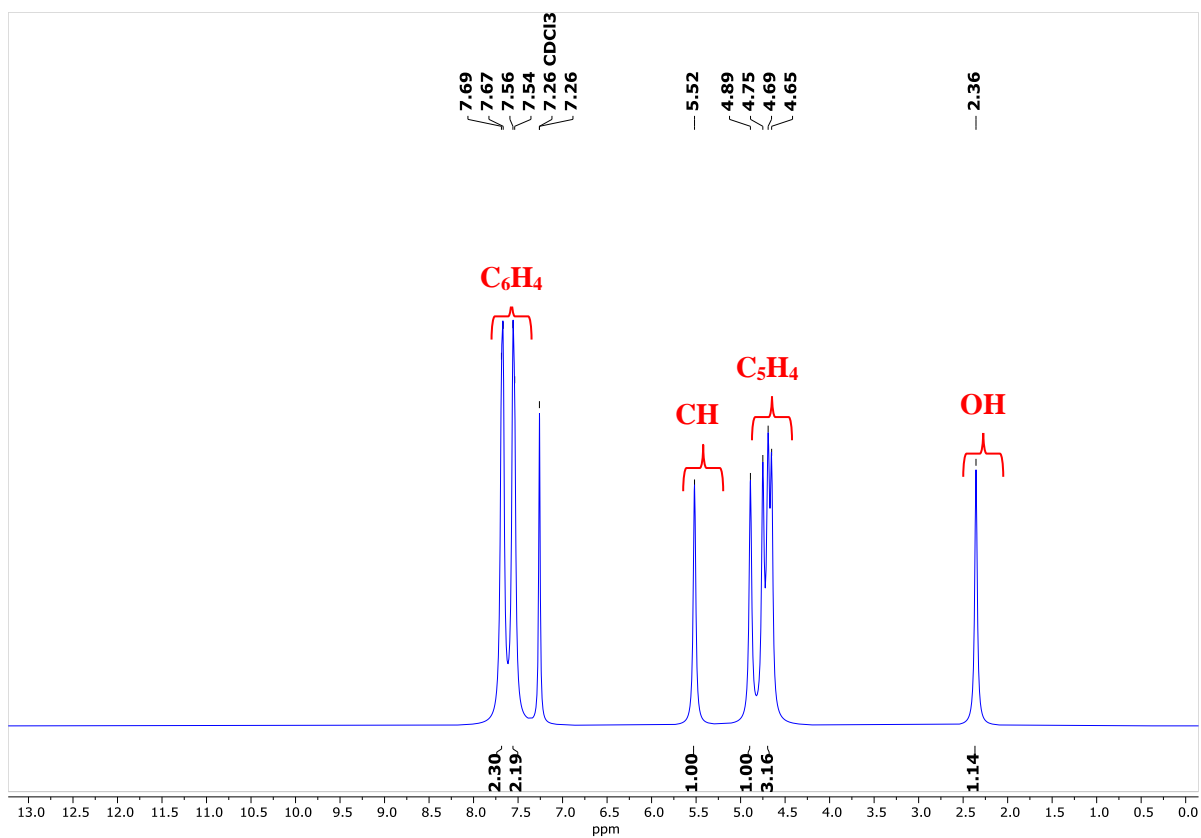
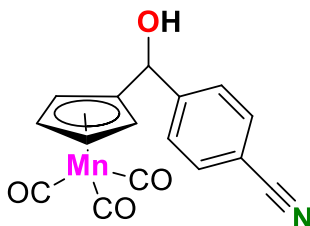
- structure determination, *J. Appl. Crystallogr.* 48 (2015) 3–10.  
<https://doi.org/10.1107/S1600576714022985>.
- [47] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with *SHELXL*, *Acta Crystallogr. Sect. C* 71 (2015) 3–8.  
<https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- [48] O. V Dolomanov, L.J. Bourhis, R.J. Gildea, J.A.K. Howard, H. Puschmann, *OLEX2*: a complete structure solution, refinement and analysis program, *J. Appl. Crystallogr.* 42 (2009) 339–341.  
<https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>.
- [49] V. Vichai, K. Kirtikara, Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening., *Nat. Protoc.* 1 (2006) 1112–1116.  
<https://doi.org/10.1038/nprot.2006.179>.
- [50] J. Oyarzo, R. Bosque, P. Toro, C.P. Silva, R. Arancibia, M. Font-Bardía, V. Artigas, C. Calvis, R. Messeguer, A.H. Klahn, C. López, A novel type of organometallic 2-R-2,4-dihydro-1H-3,1-benzoxazine with R =  $[M(\eta^5-C_5H_4)(CO)_3]$  (M = Re or Mn) units. Experimental and computational studies of the effect of substituent R on ring-chain tautomerism, *Dalton Trans.* 48 (2019) 1023–1039.  
<https://doi.org/10.1039/C8DT03265C>.
- [51] P.J. Fitzpatrick, Y. Le Page, I.S. Butler, The structure of tricarbonyl-cyclopentadienylrhenium(I), *Acta Crystallogr. Sect. B* 37 (1981) 1052–1058. <https://doi.org/10.1107/S0567740881005049>.
- [52] S. Naddaf Dezfuli, Z. Huan, J.M.C. Mol, M.A. Leeftang, J. Chang, J. Zhou, Influence of HEPES buffer on the local pH and formation of surface layer during in vitro degradation tests of magnesium in DMEM, *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.* 24 (2014) 531–538.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2014.08.009>.

- [53] P.M. Toro, F. Peralta, J. Oyarzo, S.R. Wilkinson, M. Zavala, R. Arancibia, M. Moncada-Basualto, I. Brito, J. Cisterna, A.H. Klahn, C. López, Evaluation of trypanocidal properties of ferrocenyl and cyrhetyrenyl N-acylhydrazones with pendant 5-nitrofuryl group, *J. Inorg. Biochem.* 219 (2021) 111428.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111428>.
- [54] C. Concha, C. Quintana, A.H. Klahn, V. Artigas, M. Fuentealba, C. Biot, I. Halloum, L. Kremer, R. López, J. Romanos, Y. Huentupil, R. Arancibia, Organometallic tosyl hydrazones: Synthesis, characterization, crystal structures and in vitro evaluation for anti-*Mycobacterium tuberculosis* and antiproliferative activities, *Polyhedron* 131 (2017) 40–45.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.04.031>.

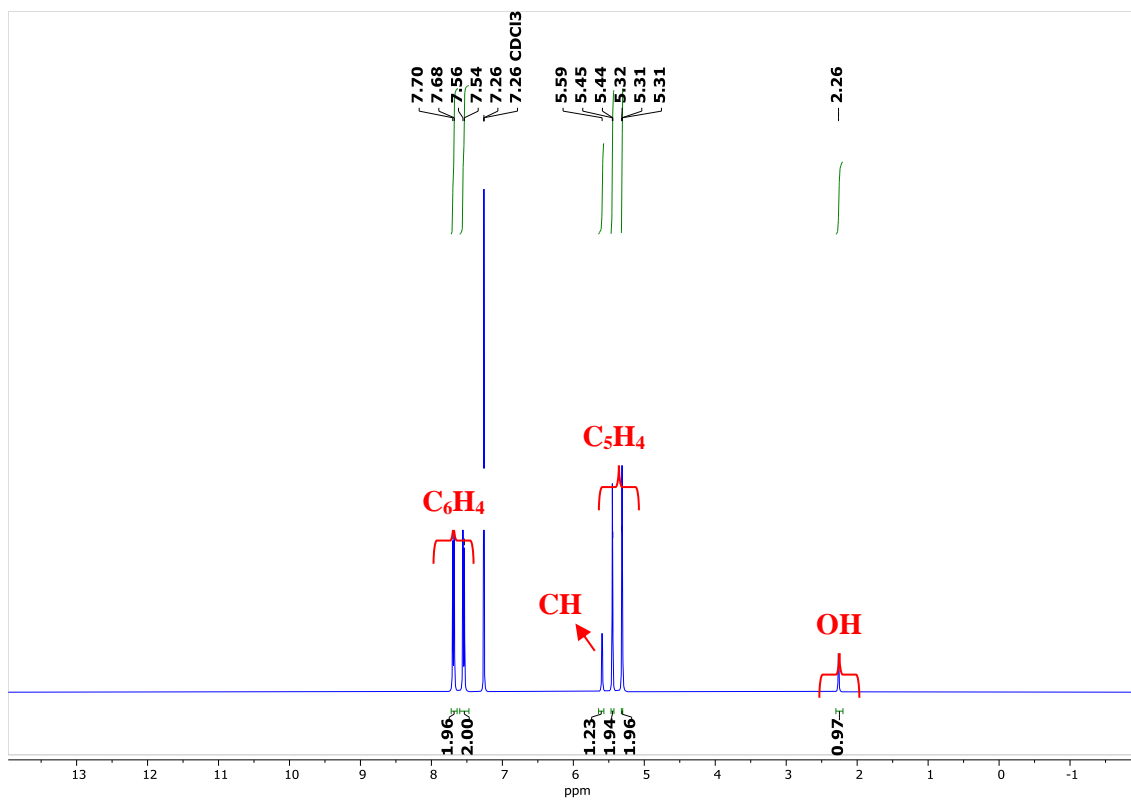
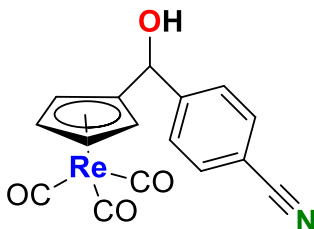
## 8. ANEXOS

### 8.1. Espectro de RMN $^1\text{H}$

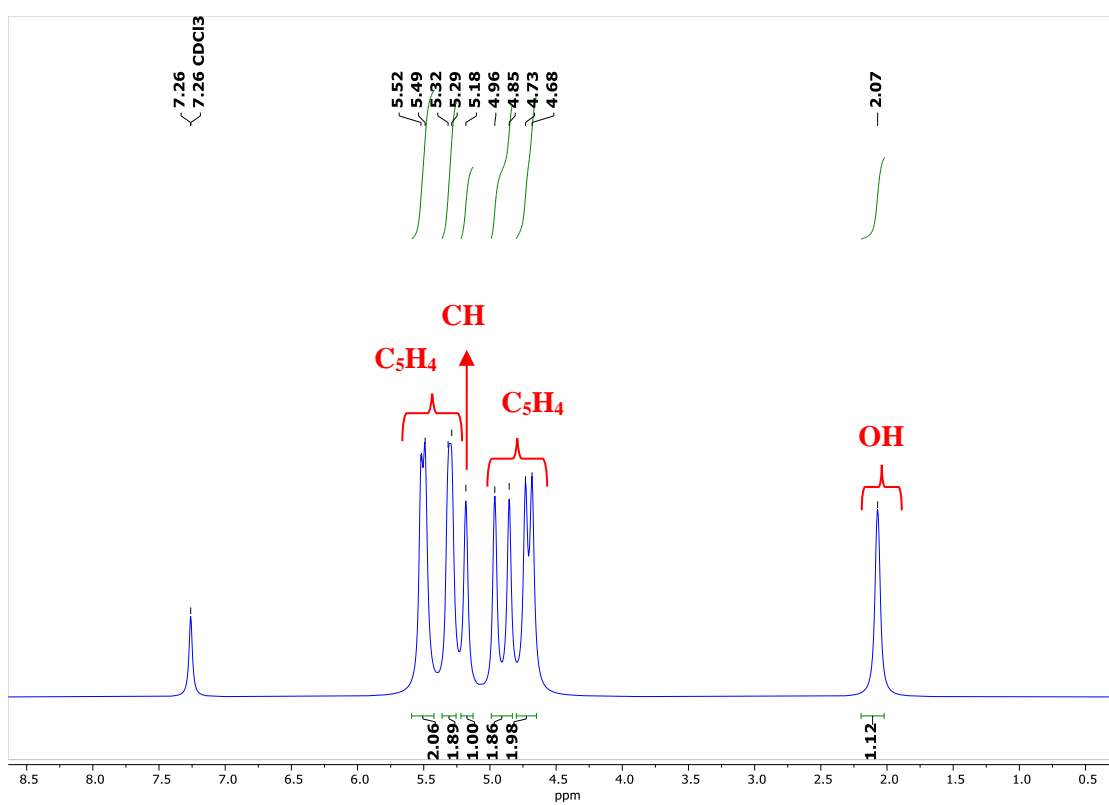
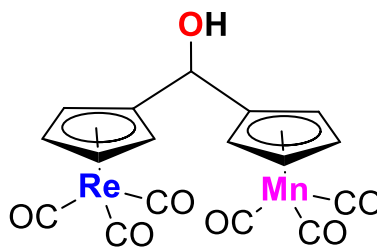
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})(\mathbf{1a})$  en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



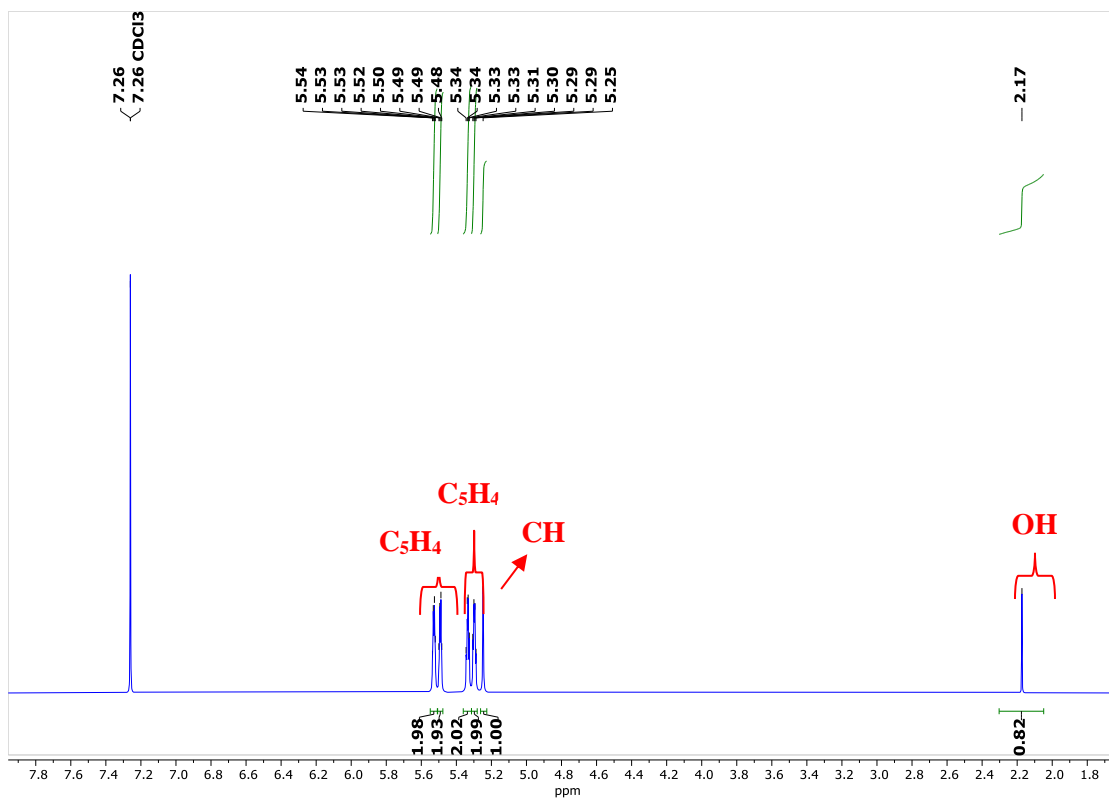
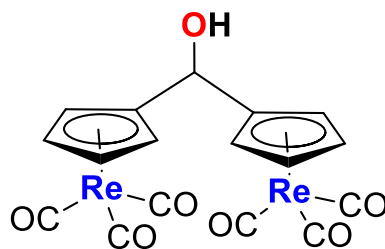
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$  (**1b**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



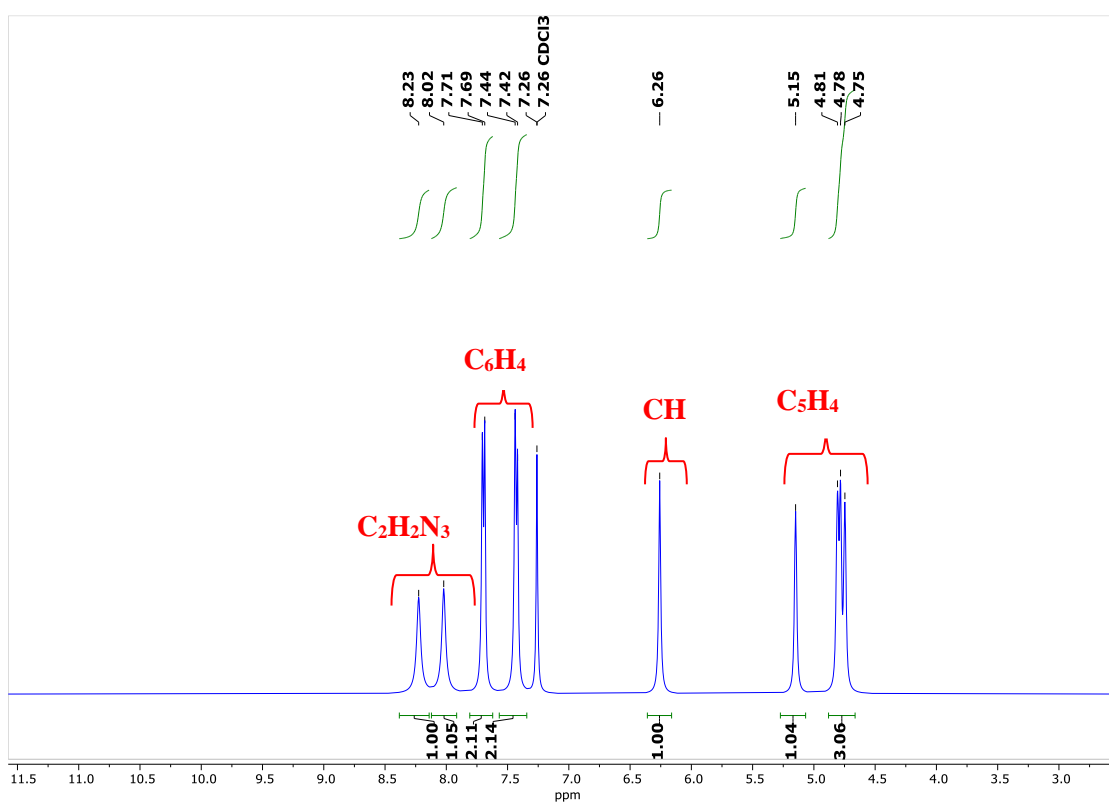
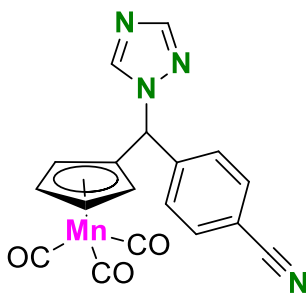
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Mn}(\text{CO})_3)$  (**1c**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



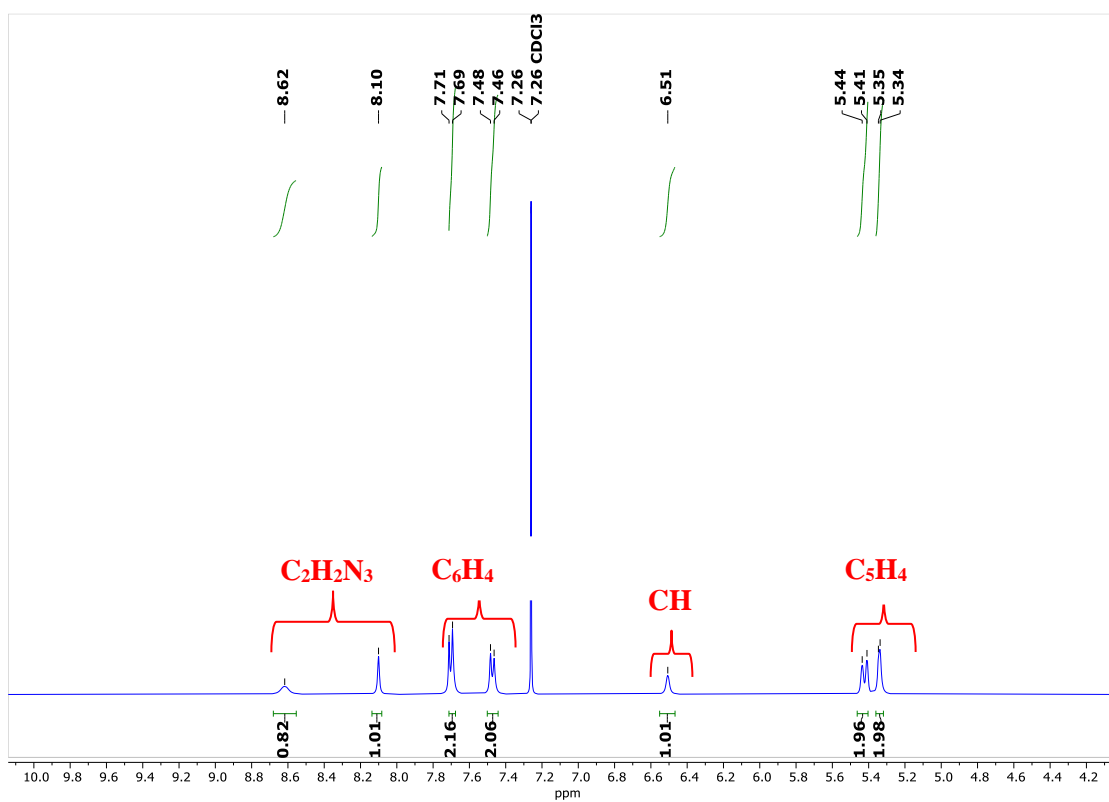
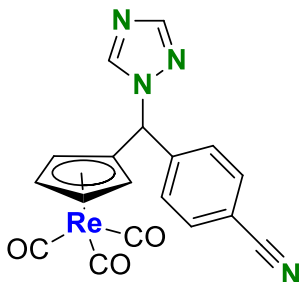
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3)$  (**1d**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298K.



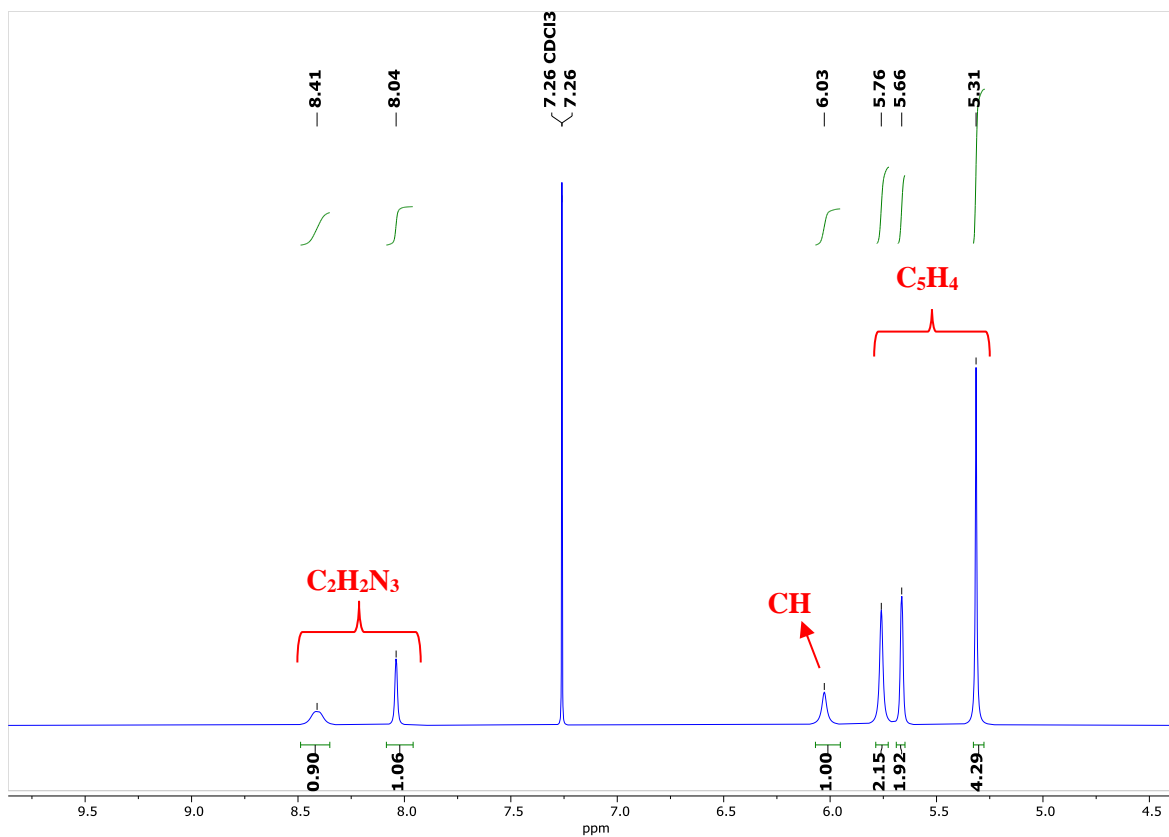
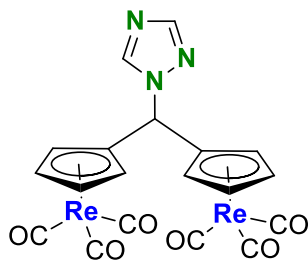
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$  (**2a**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298K.



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$  (**2b**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298K

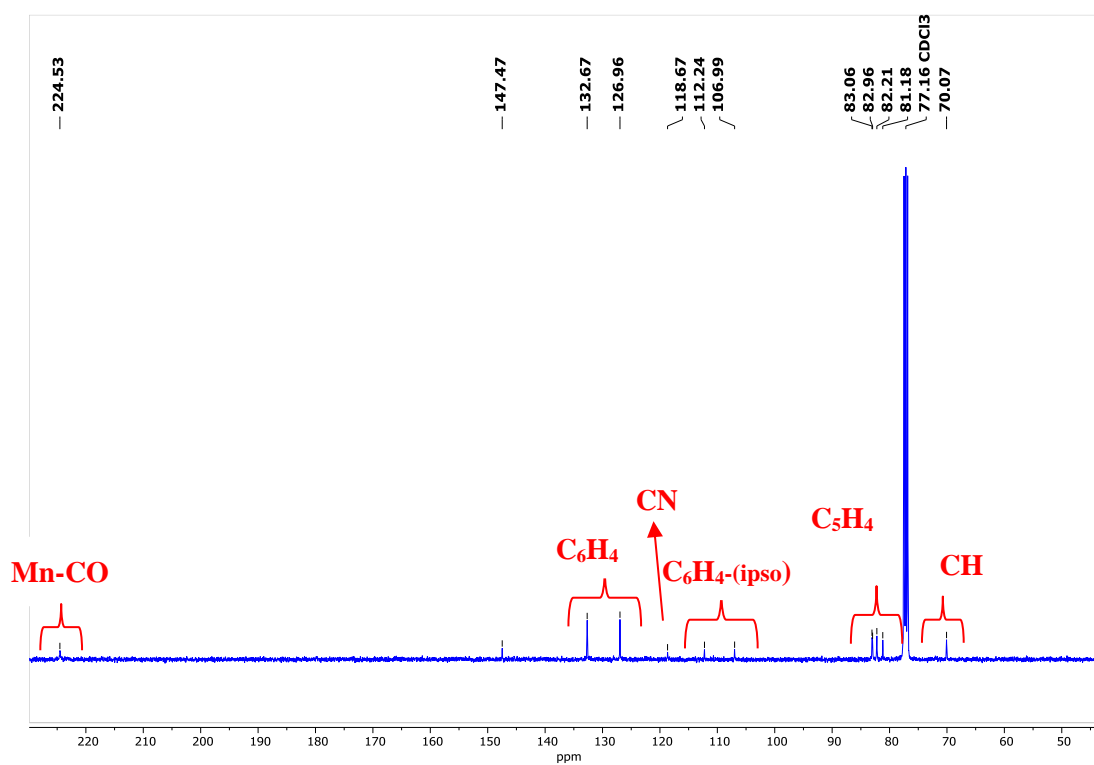
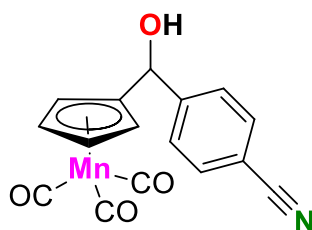


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3$  (**2d**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.

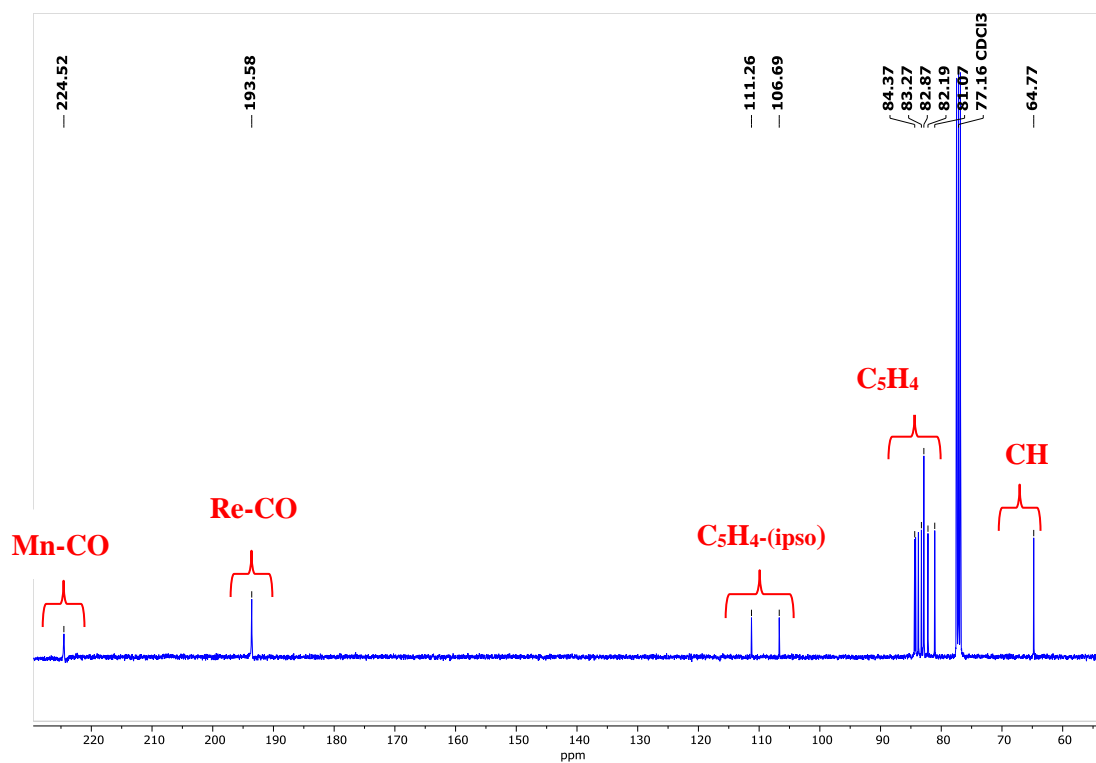
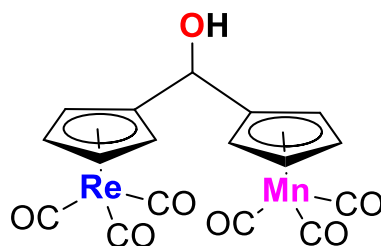


## 8.2. Espectro RMN $^{13}\text{C}$

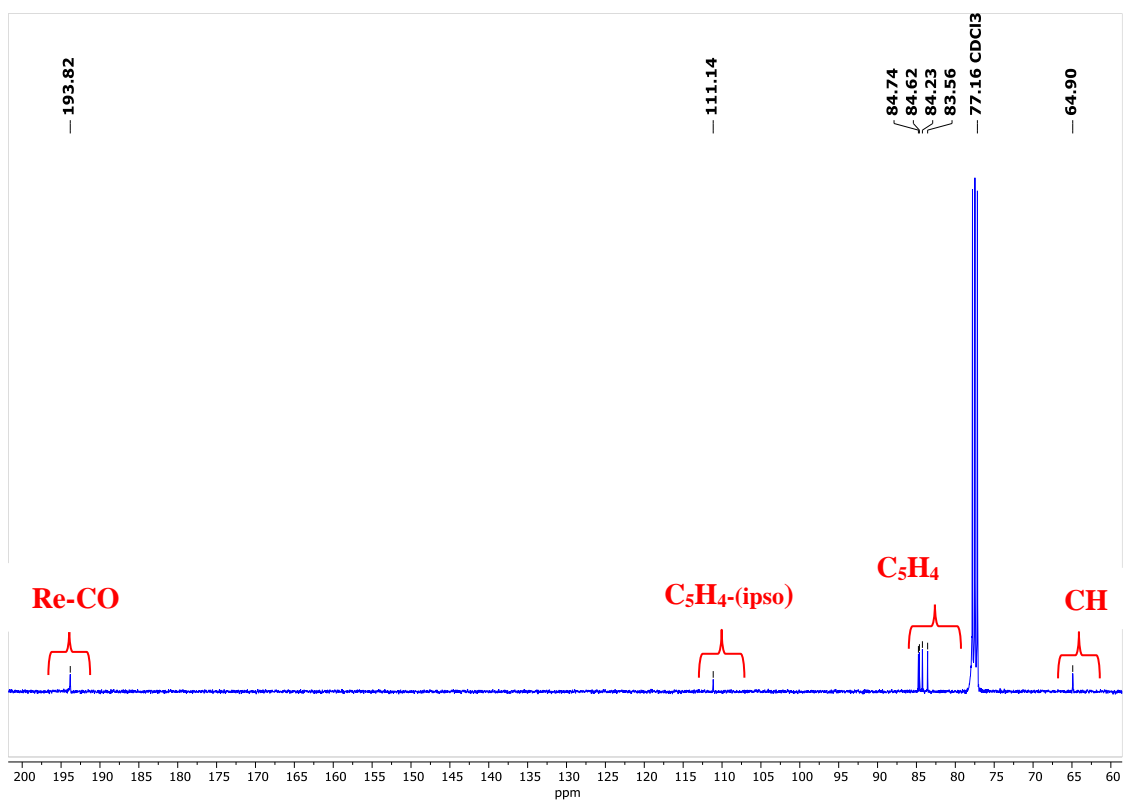
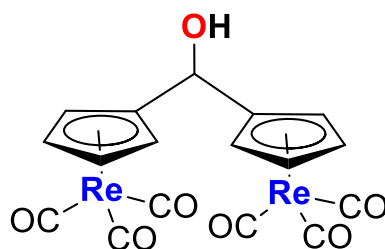
Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})(\mathbf{1a})$  en  $\text{CDCl}_3$  a 298K



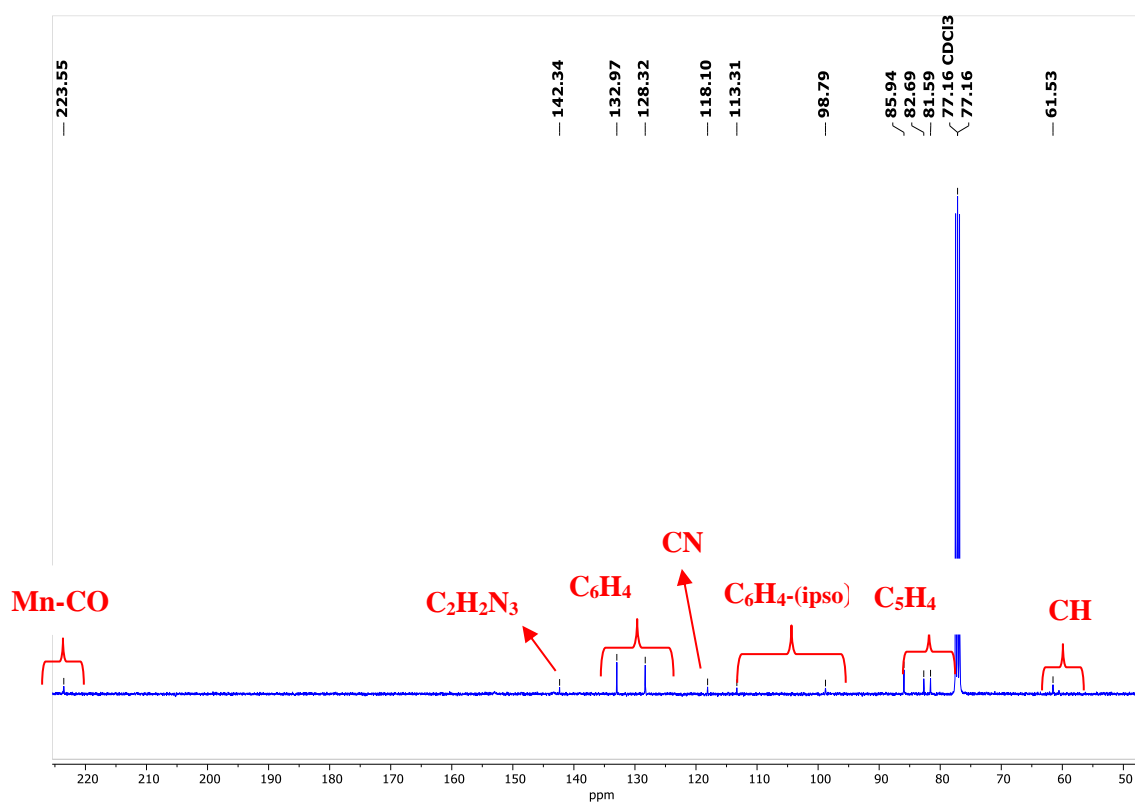
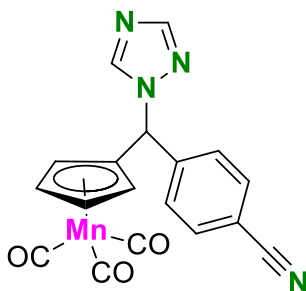
Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Mn}(\text{CO})_3$  (**1c**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



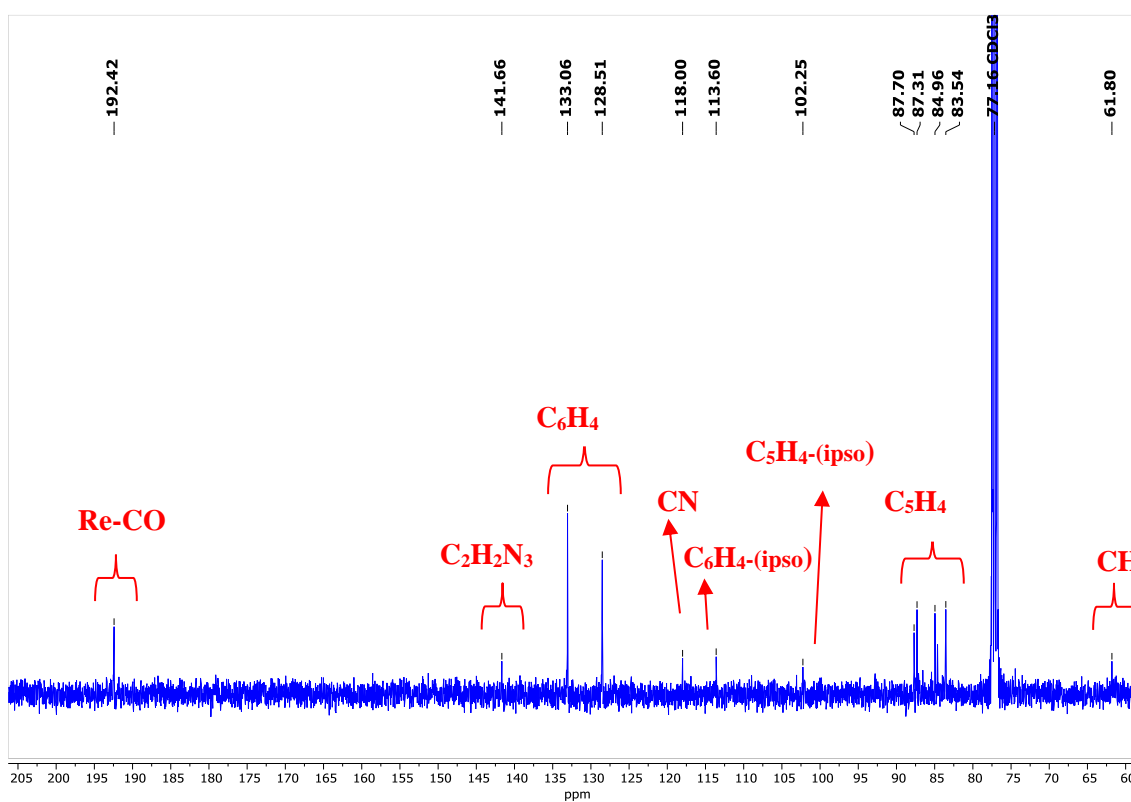
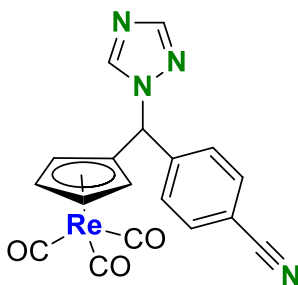
Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3)$  (**1d**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



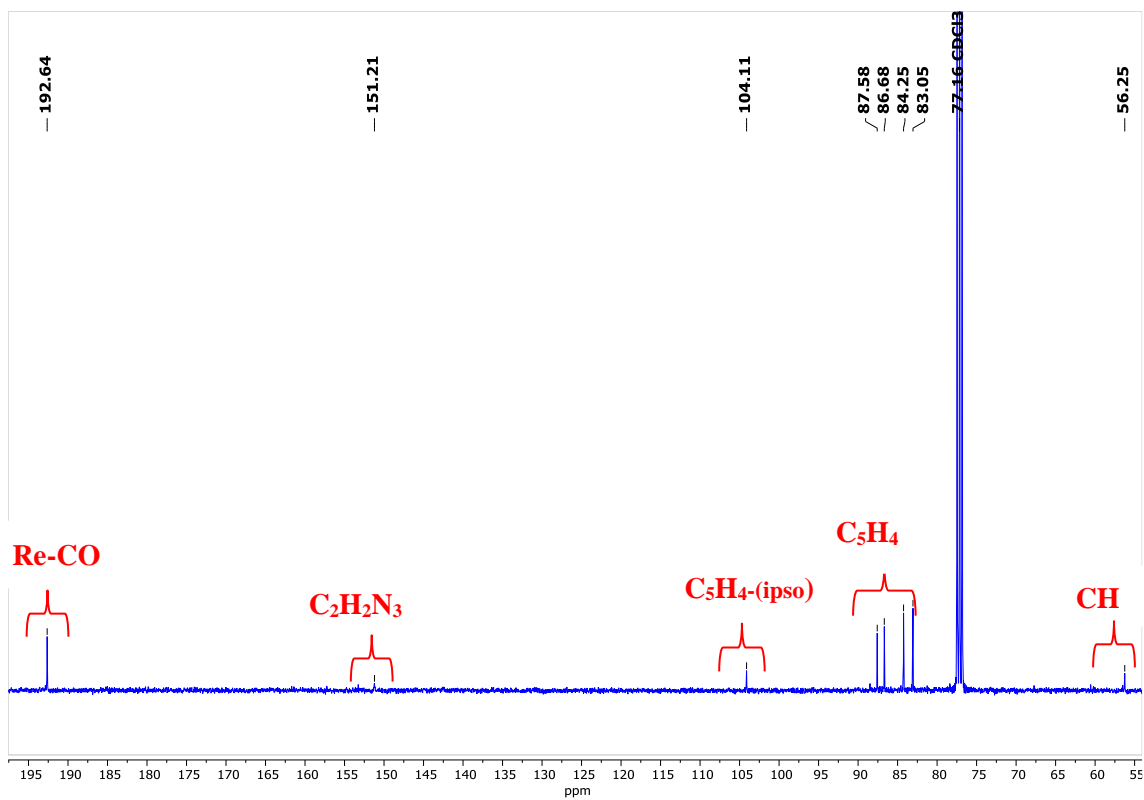
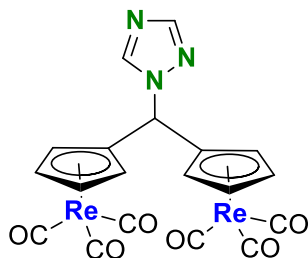
Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$  (**2a**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})$  (**2b**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.

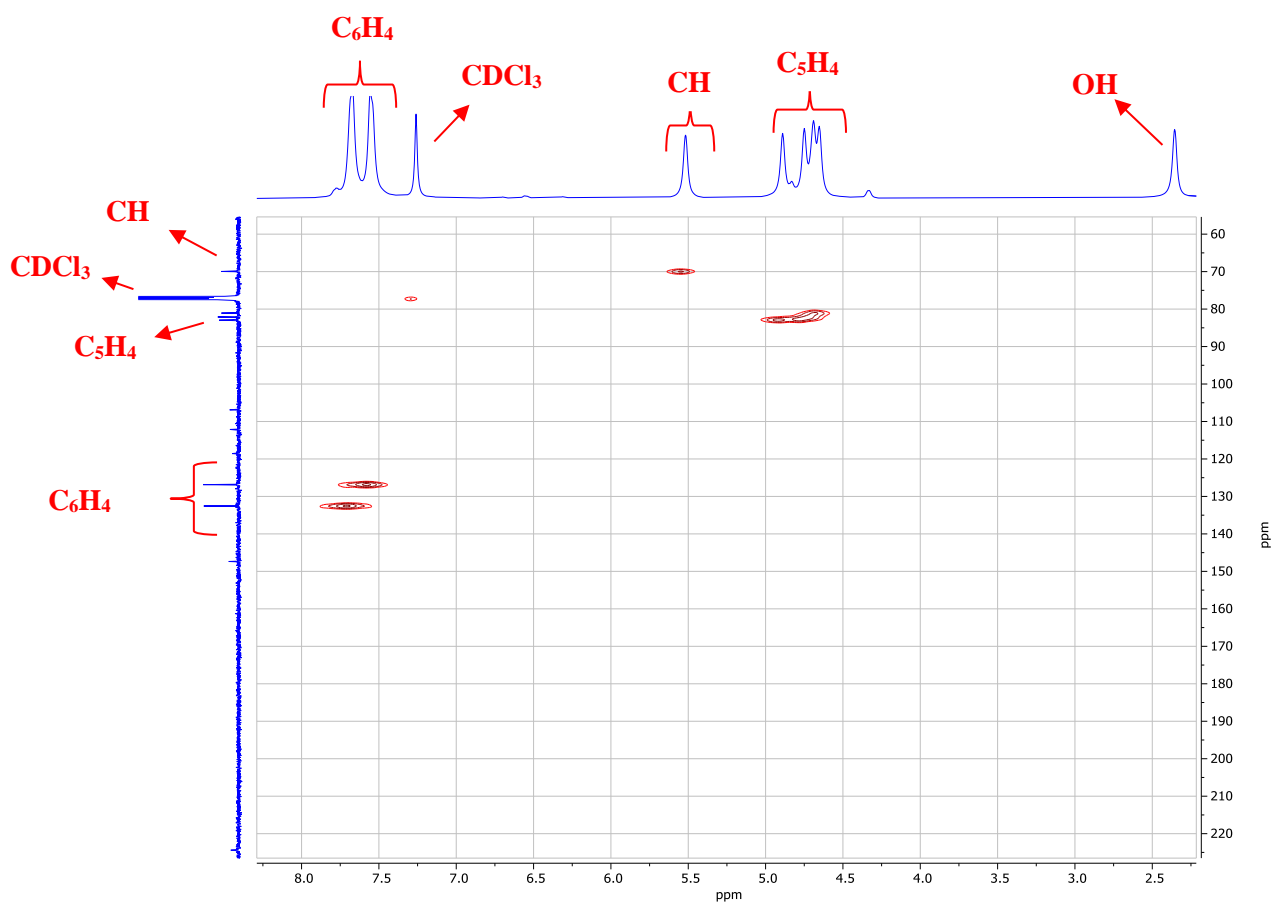
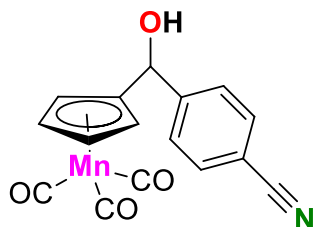


Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3)\text{-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3$  (**2d**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.

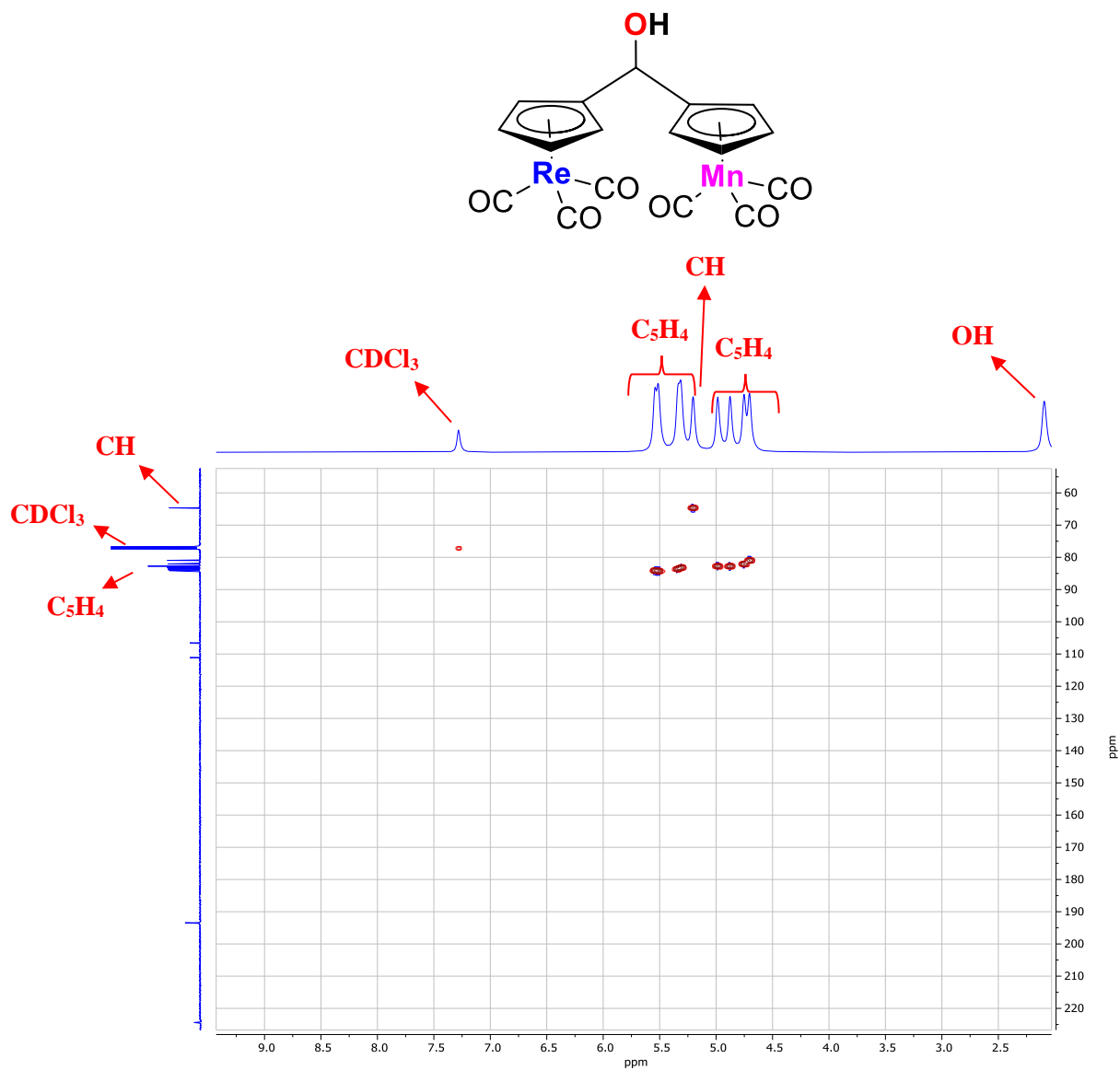


### 8.3. Espectro HSQC

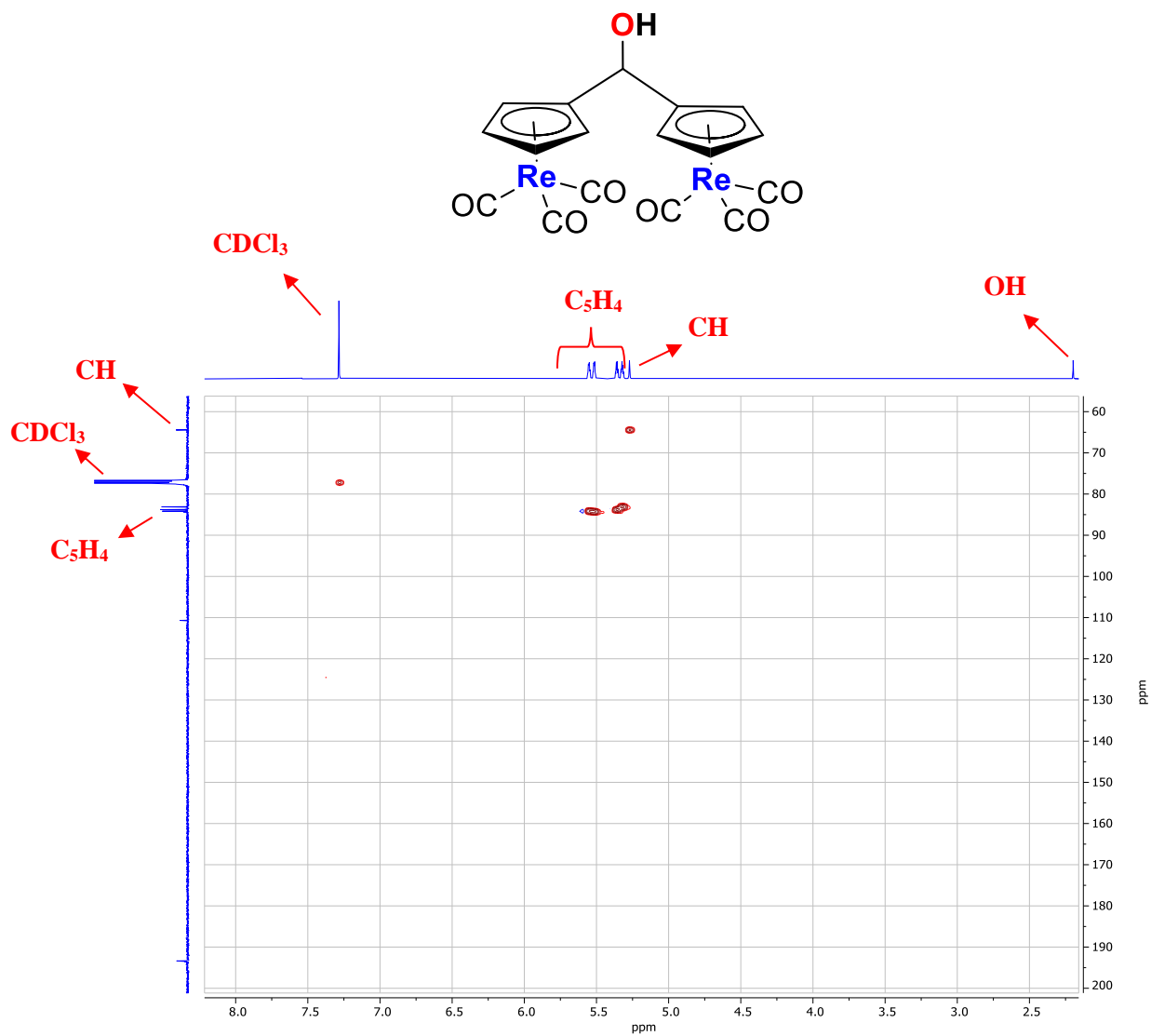
Espectro HSQC para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N})(\mathbf{1a})$  en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



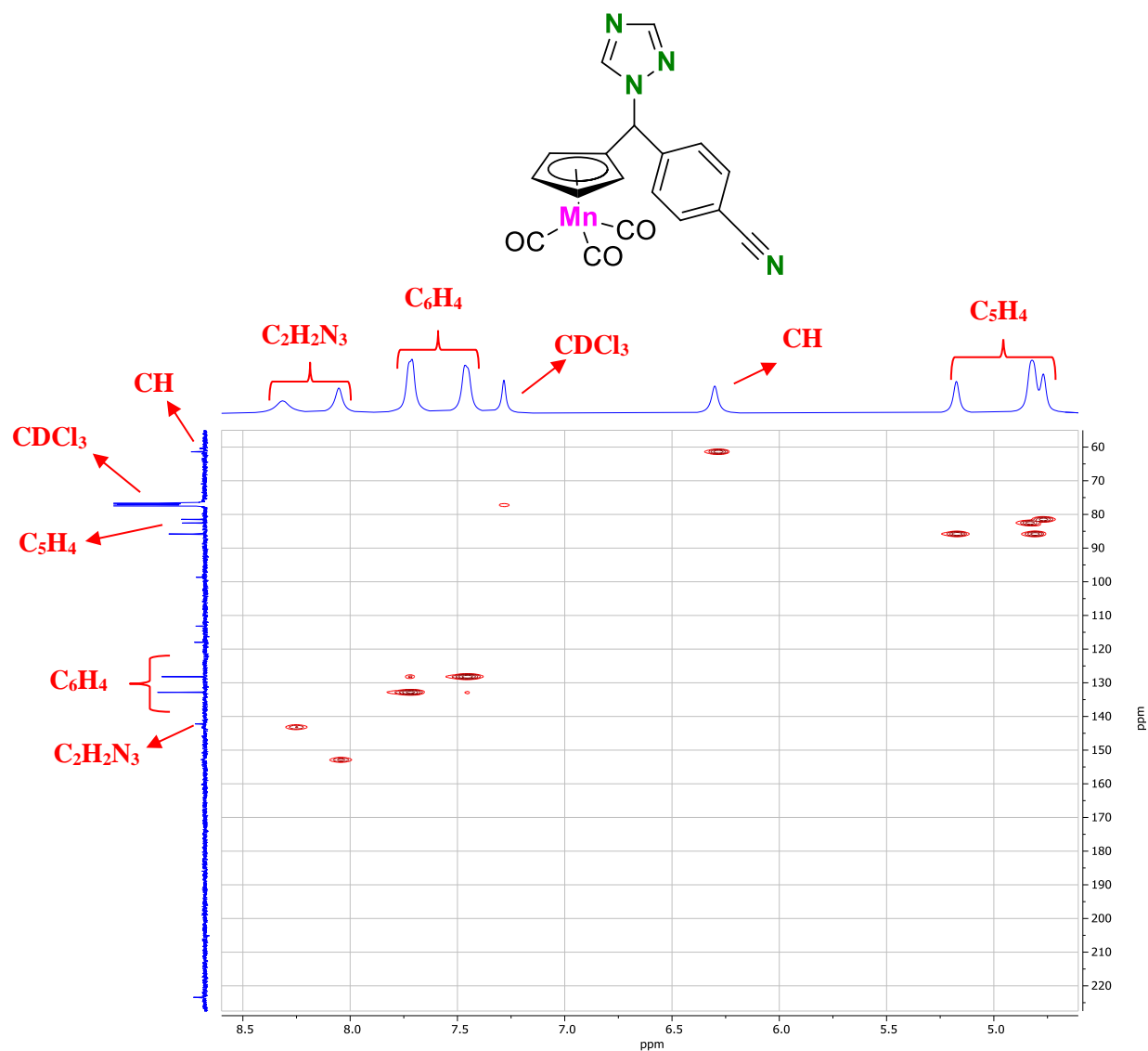
Espectro HSQC para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Mn(CO)}_3)$  (**1c**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



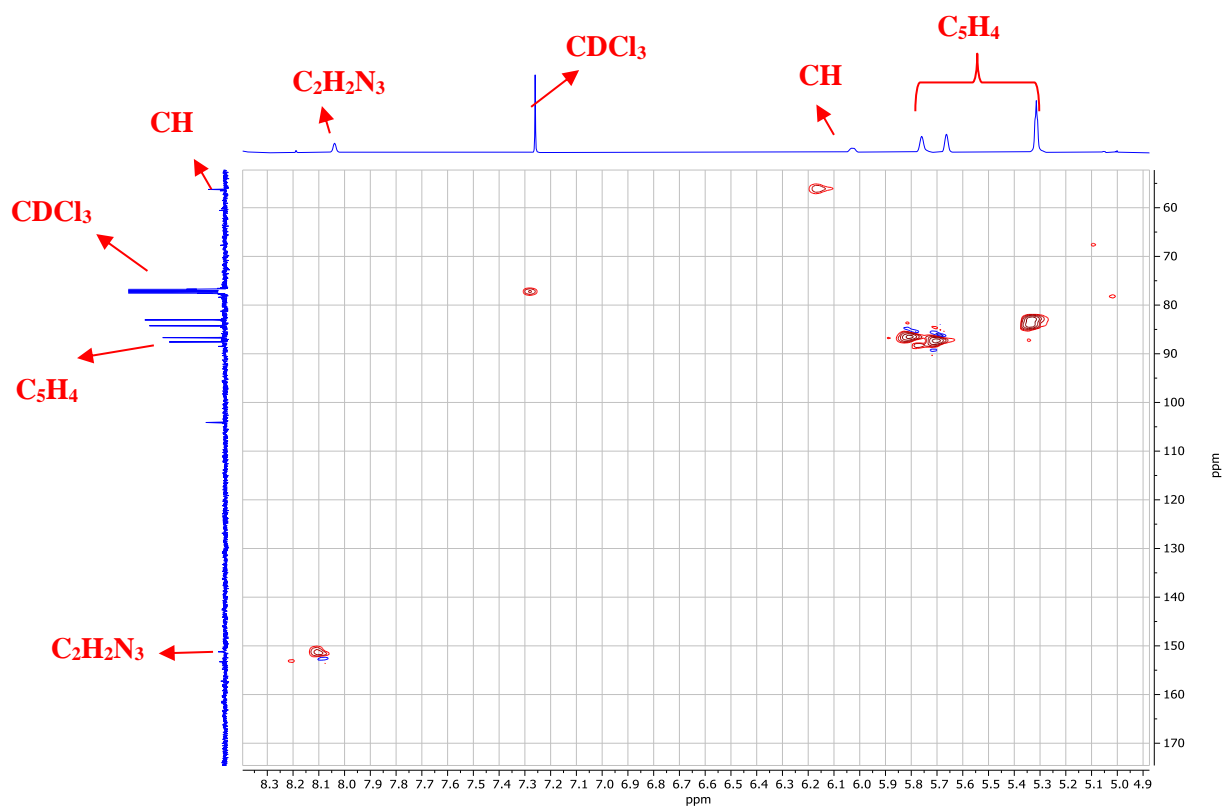
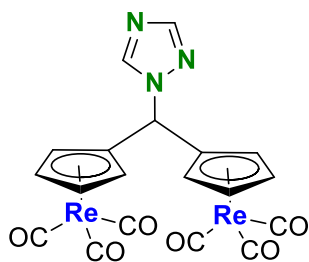
Espectro HSQC para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH(OH)-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3)$  (**1d**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



Espectro HSQC para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Mn}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3))\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{N}$  (**2a**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



Espectro HSQC para el compuesto  $(\text{CO})_3\text{Re}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{-CH}(\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_3))\text{-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Re}(\text{CO})_3$  (**2d**) en  $\text{CDCl}_3$  a 298 K.



## 8.4. Parámetros Cristalográficos



Identification code	RA_MNOHCN
Empirical formula	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> MnNO <sub>4</sub>
Formula weight	335.19
Temperature/K	296.15
Crystal system	triclinic
Space group	P-1
a/Å	6.3520(2)
b/Å	10.2025(3)
c/Å	12.3529(3)
α/°	104.3690(10)
β/°	103.0860(10)
γ/°	106.3940(10)
Volume/Å <sup>3</sup>	705.10(4)
Z	2
ρ <sub>calc</sub> /cm <sup>3</sup>	1.579
μ/mm <sup>-1</sup>	0.953
F(000)	340.0
Crystal size/mm <sup>3</sup>	0.164 × 0.129 × 0.06
Radiation	MoKα (λ = 0.71073)
2θ range for data collection/°	4.67 to 64.256
Index ranges	-9 ≤ h ≤ 9, -15 ≤ k ≤ 15, -18 ≤ l ≤ 18
Reflections collected	25138
Independent reflections	4910 [R <sub>int</sub> = 0.0287, R <sub>sigma</sub> = 0.0234]
Data/restraints/parameters	4910/0/200
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.087
Final R indexes [I ≥ 2σ (I)]	R <sub>1</sub> = 0.0465, wR <sub>2</sub> = 0.1437
Final R indexes [all data]	R <sub>1</sub> = 0.0493, wR <sub>2</sub> = 0.1464
Largest diff. peak/hole / e Å <sup>-3</sup>	2.27/-0.67

(CO)<sub>3</sub>Re(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>-CH(OH))-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C≡N (**1b**)

Identification code	RA_ReOHCN
Empirical formula	C <sub>4</sub> H <sub>2.5</sub> N <sub>0.25</sub> ORe <sub>0.25</sub>
Formula weight	116.61
Temperature/K	296.15
Crystal system	triclinic
Space group	P-1
a/Å	6.6205(4)
b/Å	10.2634(6)
c/Å	12.2633(7)
α/°	103.129(2)
β/°	104.967(2)
γ/°	107.600(2)
Volume/Å <sup>3</sup>	723.95(7)
Z	8
ρ <sub>calc</sub> /cm <sup>3</sup>	2.140
μ/mm <sup>-1</sup>	8.409
F(000)	440.0
Crystal size/mm <sup>3</sup>	0.233 × 0.22 × 0.047
Radiation	MoKα (λ = 0.71073)
2θ range for data collection/°	7.068 to 59.142
Index ranges	-9 ≤ h ≤ 9, -14 ≤ k ≤ 14, -17 ≤ l ≤ 17
Reflections collected	14281
Independent reflections	3630 [R <sub>int</sub> = 0.0360, R <sub>sigma</sub> = 0.0347]
Data/restraints/parameters	3630/0/200
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.123
Final R indexes [I >= 2σ (I)]	R <sub>1</sub> = 0.0240, wR <sub>2</sub> = 0.0655
Final R indexes [all data]	R <sub>1</sub> = 0.0248, wR <sub>2</sub> = 0.0660
Largest diff. peak/hole / e Å <sup>-3</sup>	1.77/-0.96

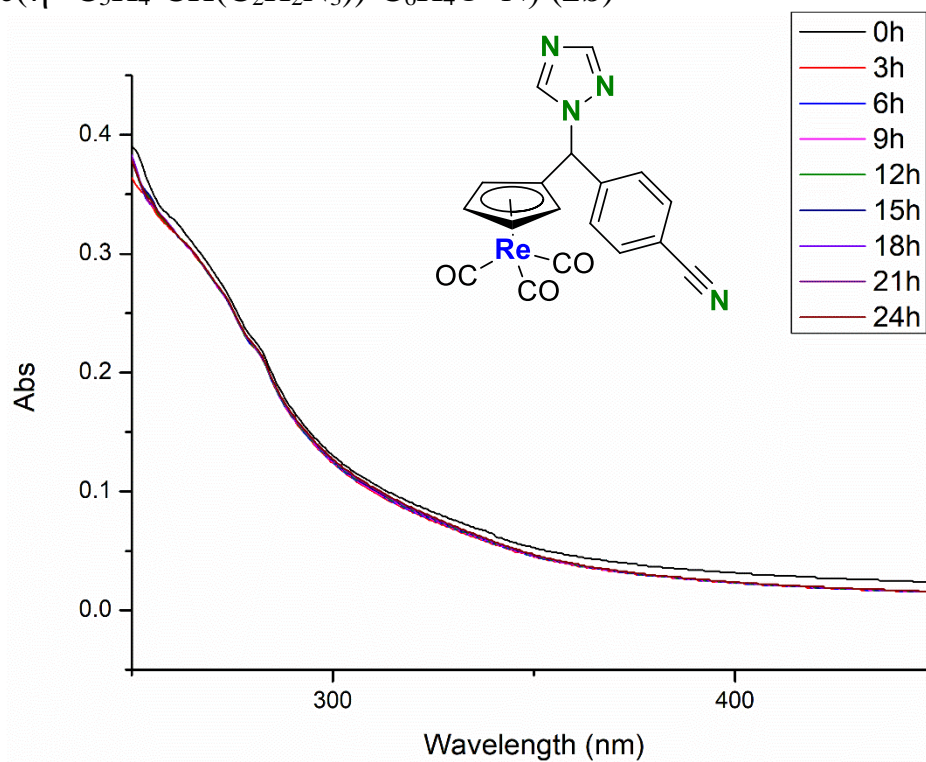
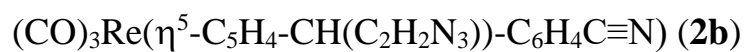
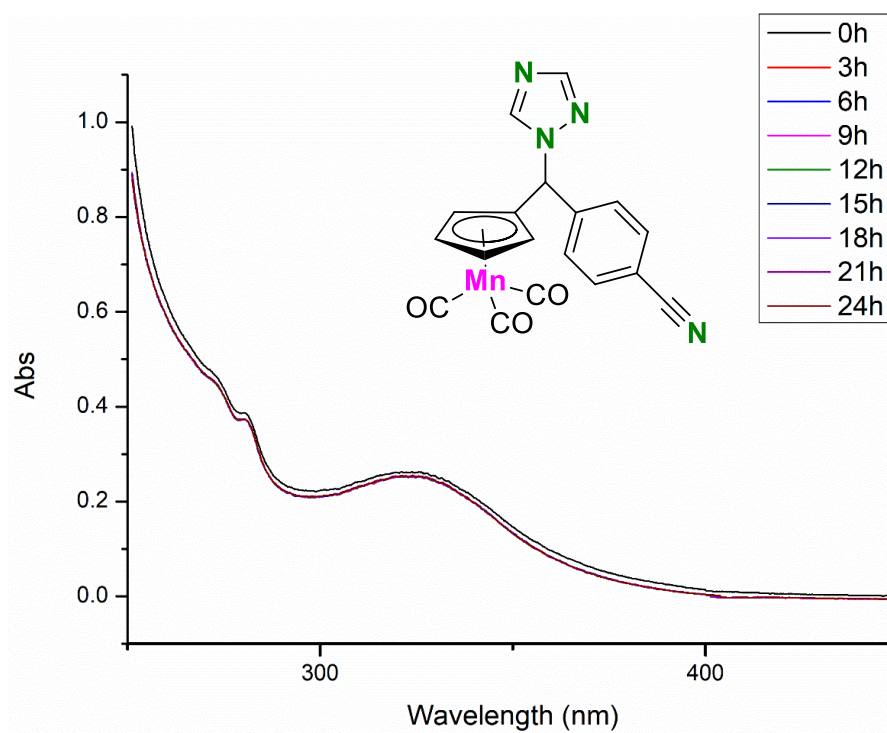
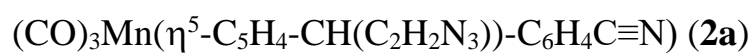
(CO)<sub>3</sub>Mn( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>-CH(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>N<sub>3</sub>))-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C $\equiv$ N) (**2a**)

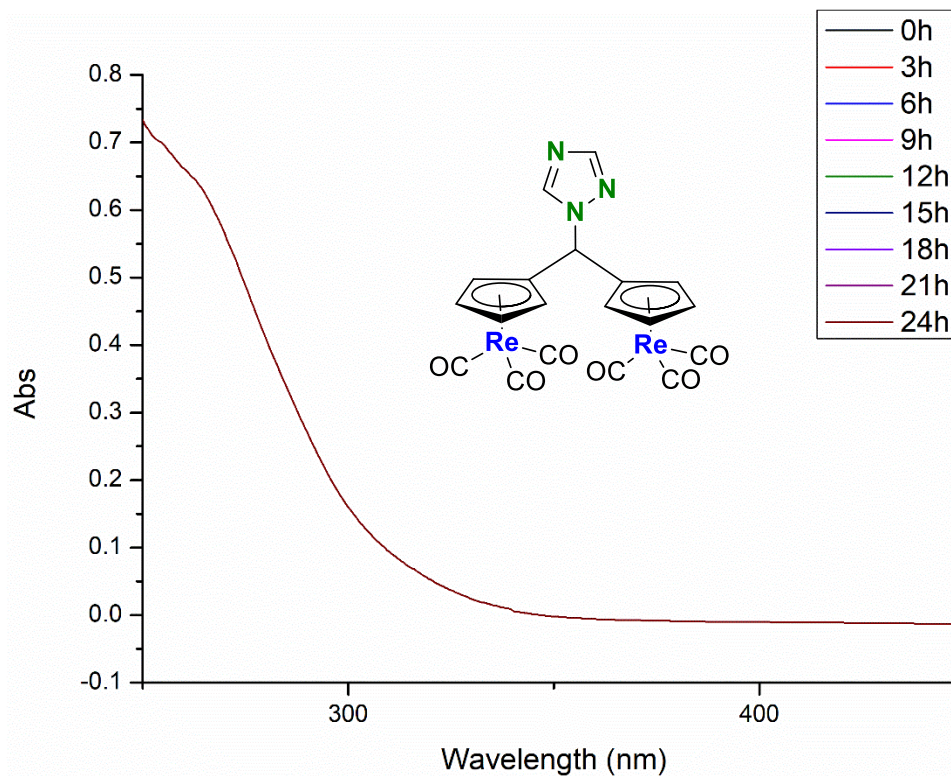
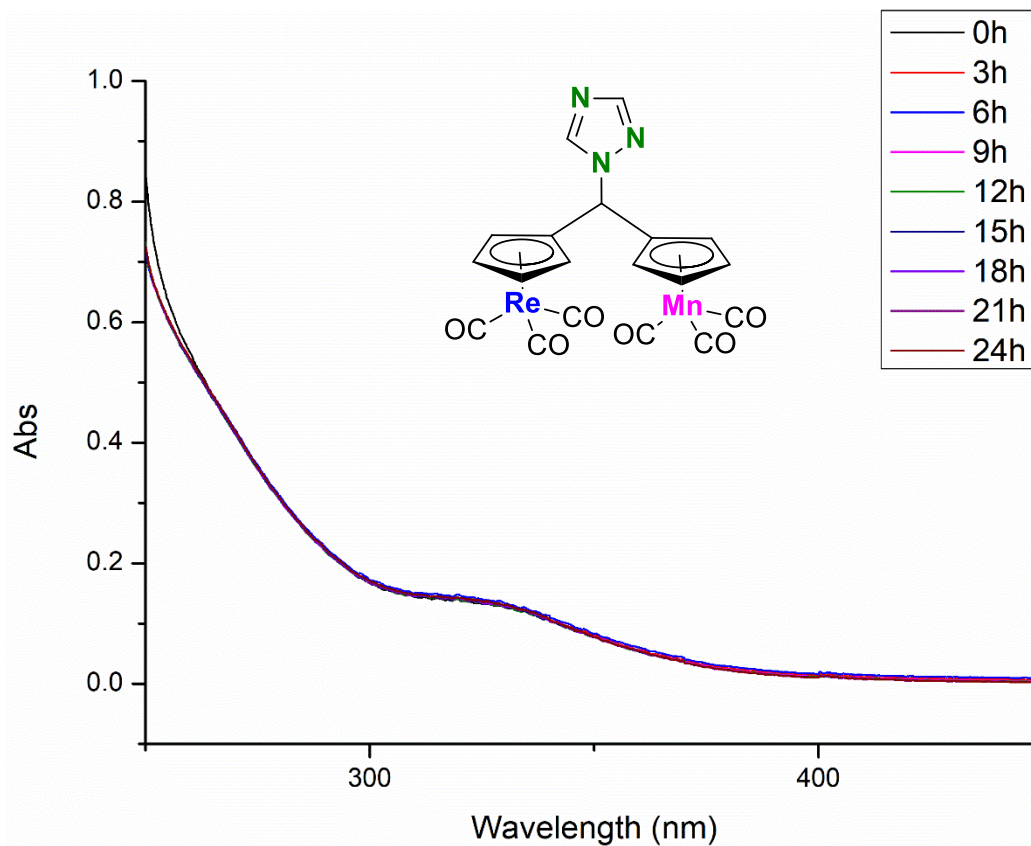
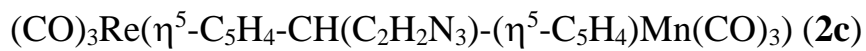
Identification code	mo_RA_Cimantrexole_0m
Empirical formula	C <sub>18</sub> H <sub>11</sub> MnN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
Formula weight	386.25
Temperature/K	296.15
Crystal system	monoclinic
Space group	P2/c
a/Å	7.9097(2)
b/Å	13.4285(4)
c/Å	16.6367(4)
$\alpha$ /°	90
$\beta$ /°	102.9210(10)
$\gamma$ /°	90
Volume/Å <sup>3</sup>	1722.33(8)
Z	4
$\rho_{\text{calc}}$ /cm <sup>3</sup>	1.490
$\mu$ /mm <sup>-1</sup>	0.792
F(000)	784.0
Crystal size/mm <sup>3</sup>	0.117 × 0.061 × 0.05
Radiation	MoK $\alpha$ ( $\lambda$ = 0.71073)
2 $\Theta$ range for data collection/°	5.024 to 54.296
Index ranges	-10 ≤ h ≤ 10, -17 ≤ k ≤ 17, -21 ≤ l ≤ 19
Reflections collected	28067
Independent reflections	3808 [R <sub>int</sub> = 0.0529, R <sub>sigma</sub> = 0.0315]
Data/restraints/parameters	3808/0/235
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.076
Final R indexes [I >= 2 $\sigma$ (I)]	R <sub>1</sub> = 0.0390, wR <sub>2</sub> = 0.0956
Final R indexes [all data]	R <sub>1</sub> = 0.0532, wR <sub>2</sub> = 0.1039
Largest diff. peak/hole / e Å <sup>-3</sup>	0.35/-0.21

(CO)<sub>3</sub>Re(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>-CH(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>N<sub>3</sub>)-(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>)Re(CO)<sub>3</sub>) (**2d**)

Identification code	RA_Re2troxol
Empirical formula	C <sub>19</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> Re <sub>2</sub>
Formula weight	749.71
Temperature/K	296.15
Crystal system	orthorhombic
Space group	Pbca
a/Å	13.2739(7)
b/Å	8.3417(4)
c/Å	35.9014(16)
α/°	90
β/°	90
γ/°	90
Volume/Å <sup>3</sup>	3975.3(3)
Z	8
ρ <sub>calc</sub> /cm <sup>3</sup>	2.505
μ/mm <sup>-1</sup>	12.211
F(000)	2752.0
Crystal size/mm <sup>3</sup>	0.075 × 0.045 × 0.04
Radiation	MoKα (λ = 0.71073)
2θ range for data collection/°	3.816 to 55.004
Index ranges	-16 ≤ h ≤ 17, -9 ≤ k ≤ 10, -46 ≤ l ≤ 46
Reflections collected	81383
Independent reflections	4557 [R <sub>int</sub> = 0.0874, R <sub>sigma</sub> = 0.0318]
Data/restraints/parameters	4557/0/271
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.200
Final R indexes [I >= 2σ (I)]	R <sub>1</sub> = 0.0652, wR <sub>2</sub> = 0.1425
Final R indexes [all data]	R <sub>1</sub> = 0.0730, wR <sub>2</sub> = 0.1459
Largest diff. peak/hole / e Å <sup>-3</sup>	2.45/-3.44

## 8.5. Estudios de Estabilidad en medio acuoso





### 8.6. Tautomerismo 1,2,4-triazol

