

UNIVERSIDADE  
DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Facultade de Química

Catálisis de Rutenio en Química  
Bioortogonal: Viabilidad de nuevos  
métodos basados en intermedios  
vinilidénicos



GRAO EN QUÍMICA

Curso 2023/24

---

Alumno/a: Laura Parada Pérez

José Luis Mascareñas Cid, titor e docente do Departamento de Química Orgánica, e Fernando López García, cotitor e docente do Departamento de Química Orgánica, autorizan a presentación do Traballo de Fin de Grao da alumna Laura Parada Pérez na convocatoria de xullo do 2023-2024, o cal foi realizado baixo a súa dirección no Centro de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares da Universidade de Santiago de Compostela (CiQUS).

E para que así conste asinamos o presente informe en Santiago de Compostela o 28 de xuño de 2024.

# ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS</b> .....	1
<b>RESUMEN</b> .....	2
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	4
<b>1.1. Química bioortogonal</b> .....	4
<b>1.2. Catálisis con complejos de rutenio en medios de relevancia biológica</b> .....	5
<i>1.2.1. Reacciones de rotura de enlaces</i> .....	6
<i>1.2.2. Reacciones de formación de enlaces</i> .....	7
<i>1.2.3. Reacciones redox</i> .....	9
<i>1.2.4. Fotocatálisis bioortogonal</i> .....	10
<b>1.3. Vinilidenos metálicos: especies reactivas inexploradas en química bioortogonal</b> .....	10
<b>2. OBJETIVOS Y PLANIFICACIÓN</b> .....	13
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	14
<b>3.1. Optimización de la síntesis de indoles a través de vinilidenos de rutenio</b> .....	14
<i>3.1.1. Análisis por GC-MS</i> .....	14
<i>3.1.2. Análisis por <sup>1</sup>H-RMN</i> .....	16
<b>3.2. Ligandos azaryphos para la síntesis de indol a través de vinilidenos de rutenio</b> .....	25
<b>3.3. Alenilidenos de rutenio para la síntesis de furanos</b> .....	27
<b>3.4. Procedimientos experimentales</b> .....	29
<b>4. CONCLUSIONES</b> .....	37
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	39
<b>ANEXOS</b> .....	44
<b>Anexo I: Espectros de RMN</b> .....	44

## ABREVIATURAS

<b>ABTS</b>	2,2'-azinobis(3- etilbenzotiazolina-6-sulfonato de diamonio)	<b>IEDDA</b>	Diels-Alder de demanda electrónica inversa
<b>bis-CF<sub>3</sub>-bpy</b>	5,5'-bis(trifluorometil)-2,2'- bipiridina	<b>m</b>	multiplete
<b>bpy</b>	bipiridina	<b>Me</b>	metilo
<b>c</b>	cuadruplete	<b>NAD<sup>+</sup></b>	nicotinamida adenina dinucleótido (forma oxidada)
<b>COD</b>	1,5-ciclooctadieno	<b>OAc</b>	acetato
<b>Cp</b>	ciclopentadieno	<b>PBS</b>	tampón fosfato salino ( <i>phosphate buffer saline</i> )
<b>Cp*</b>	pentametilciclopentadieno	<b>Ph</b>	fenilo
<b>CuAAC</b>	cicloadición de azida-alquino catalizada por cobre	<b>ppm</b>	partes por millón
<b>d</b>	doblete	<b>r.t.</b>	temperatura ambiente
<b>dd</b>	doble doblete	<b>RMN</b>	resonancia magnética nuclear
<b>DMF</b>	N,N-dimetilformamida	<b>RuAAC</b>	cicloadición de azida-alquino catalizada por rutenio
<b>DMSO</b>	dimetilsulfóxido	<b>RuAtAC</b>	cicloadición de azida-tioalquino catalizada por rutenio
<b>dppf</b>	1,1'-bis (difenilfosfino) ferroceno	<b>SPAAC</b>	cicloadición de azida-alquino promovida por tensión
<b>dt</b>	doble triplete	<b>TBAF</b>	fluoruro de tetrabutilamonio
<b>Et</b>	etilo	<b>THF</b>	tetrahidrofurano
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>	<b>TLC</b>	cromatografía de capa fina ( <i>thin layer chromatography</i> )
<b>equiv.</b>	equivalente	<b>TMB</b>	1,3,5-trimetoxibenceno
<b>GC-MS</b>	cromatografía de gases- espectrometría de masas	<b>UV</b>	ultravioleta
<b>HeLa</b>	Henrietta Lacks		

## RESUMEN

El desarrollo de nuevas reacciones bioortogonales y biocompatibles ha supuesto una revolución en la química sintética y la química biológica, dado el potencial que éstas ofrecen en ámbitos como la biomedicina. En este sentido, el uso de complejos de metales de transición (como Ru, Cu y Au) como catalizadores de estas reacciones puede representar una poderosa herramienta, debido a la versatilidad mecanística que permiten. En concreto, la introducción de especies reactivas como los vinilidenos metálicos en química bioortogonal es de gran interés para los avances en este campo.

En este Trabajo de Fin de Grado, se presenta la optimización de la isomerización de *orto*-alquinil anilinas a indoles para su traslado a medios biológicos. Esta reacción transcurre a través de vinilidenos de rutenio, y permite la formación de moléculas de alto interés biológico.

Además, se ha sintetizado un complejo de rutenio con un ligando *azaryphos*, altamente eficiente en reacciones cuyo mecanismo involucra vinilidenos de rutenio. Este se ha utilizado para catalizar la reacción de formación de indoles estudiada, y ha permitido adaptarla a medios acuosos.

Por último, se ha preparado un complejo de rutenio que permite la formación de furanos a través de vinilidenos y alenilidenos de rutenio. Se ha conseguido llevar a cabo esta reacción en medios acuosos y a bajas temperaturas (40 °C), lo que abre la puerta a futuras investigaciones para su traslado a medios biológicos.

## RESUMO

O desenvolvemento de novas reaccións bioortogonais e biocompatibles supuxo unha revolución na química sintética e na química biolóxica, dado o potencial que estas ofrecen en ámbitos como a biomedicina. Neste sentido, o uso de complexos de metais de transición (como Ru, Cu e Au) como catalizadores destas reaccións pode representar unha poderosa ferramenta, debido á versatilidade mecanística que permiten. En concreto, a introdución de especies reactivas como os vinilidenos metálicos na química bioortogonal é de gran interese para os avances neste campo.

Neste Traballo de Fin de Grao, preséntase a optimización da isomerización de *orto*-alquinil anilinas a indois para o seu traslado a medios biolóxicos. Esta reacción transcorre a través de vinilidenos de rutenio, e permite a formación de moléculas de alto interese biolóxico.

Ademais, sintetizouse un complexo de rutenio cun ligando *azaryphos*, altamente eficiente en reaccións cuxo mecanismo involucra vinilidenos de rutenio. Este foi utilizado para catalizar a reacción de formación de indois estudada, e permitiu adaptala a medios acuosos.

Por último, preparouse un complexo de rutenio que permite a formación de furanos a través de vinilidenos e alenilidenos de rutenio. Conseguiuse levar a cabo esta reacción en medios acuosos

e a baixas temperaturas (40 °C), o que abre a porta a futuras investigacións para o seu traslado a medios biolóxicos.

## ABSTRACT

The development of new bioorthogonal and biocompatible reactions has meant a revolution in Synthetic Chemistry and Biological Chemistry, due to the potential they offer in areas such as biomedicine. In this sense, the use of transition metal complexes (such as Ru, Cu and Au) as catalysts in these reactions can constitute a powerful tool, given the mechanistic versatility they offer. Specifically, the introduction of reactive species such as metallic vinylidenes in Bioorthogonal Chemistry is of great interest for advances in this field.

In this Degree Final Project, we present the optimization of the isomerization of *ortho*-alkynyl anilines to indoles for its transfer to biological media. This reaction takes place through ruthenium vinylidenes, and it allows the formation of highly biologically interesting molecules.

Moreover, we have synthesized a ruthenium complex containing an *azaryphos* ligand, which is highly efficient in reactions whose mechanism involves ruthenium vinylidenes. This complex has been used to catalyse the formation of indoles, and it has allowed us to adapt it to aqueous media.

Lastly, we have prepared a ruthenium complex which catalyses the formation of furans through ruthenium vinylidenes and allenylidenes. It has been possible to perform this reaction in aqueous media and at low temperatures (40 °C), which opens a door for future investigations for its transfer to biological media.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Química bioortogonal

El concepto de química bioortogonal fue introducido por Carolyn R. Bertozzi en 2003,<sup>1</sup> y abarca el conjunto de reacciones químicas que pueden ser llevadas a cabo en el interior de un organismo vivo sin interferir en su funcionamiento. Estas reacciones se caracterizan por sus altos rendimientos y cinética rápida, su elevada selectividad y su especificidad, así como por la estabilidad y biocompatibilidad de los reactivos y productos en el medio celular.<sup>2,3</sup> Estas características suponen un reto, dada la alta complejidad que supone el interior de una célula: es necesario el uso de agua como disolvente (aunque se introduzcan pequeñas cantidades de disolventes orgánicos), un pH neutro, temperatura ambiente (hasta 40 °C), bajas concentraciones de reactivos y una mínima toxicidad de estos.<sup>4</sup>

Entre los primeros ejemplos de reacciones en este campo se encuentran la formación de oximas por condensación de cetonas y aldehídos con aminas nucleofílicas<sup>5</sup> de Rideout y la ligación de Staudinger entre azidas y triarilfosfinas.<sup>6</sup> Aunque en un principio la química bioortogonal se orientó principalmente hacia la modificación de proteínas, pronto las reacciones de formación de enlaces llamaron la atención y evolucionaron hacia objetivos más diversos.

Así, la química *click* -concepto introducido por Sharpless en 2001-<sup>7</sup> empezó a combinarse con la química bioortogonal gracias a la reacción de cicloadición [3+2] entre azidas y alquinos catalizada por cobre (CuAAC, Figura 1), publicada independientemente por Sharpless<sup>8</sup> y Meldal.<sup>9</sup> Ésta mejoraba algunas características de la cicloadición original 1,3-dipolar de Huisgen como su regioselectividad, velocidad y temperatura de reacción, entre otras; permitiendo unas condiciones de trabajo más suaves. Esta reacción supuso una revolución en este ámbito, y ha tenido numerosas aplicaciones en química biológica, entre otros campos.

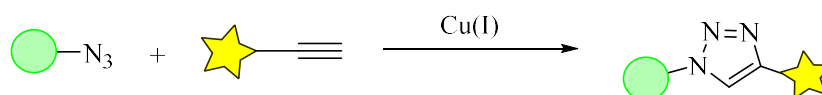


Figura 1: Cicloadición [3+2] entre azidas y alquinos catalizada por Cu (CuAAC).

Sin embargo, aunque el uso de metales como catalizadores resulta atractivo, se ha investigado la posibilidad de evitar su uso en las reacciones bioortogonales. Un ejemplo de esto es la cicloadición entre azidas y alquinos promovida por tensión anular (SPAAC, Figura 2),<sup>10</sup> desarrollada por el grupo de Bertozzi, inspirándose en el trabajo de Wittig y Krebs sobre cicloalquinos tensionados.<sup>11</sup> Pese a sus atractivas características, esta reacción presenta desventajas frente a la CuAAC, tales como su menor velocidad, la dificultad de preparación de los reactivos, su inestabilidad y las posibles reacciones inespecíficas con nucleófilos del medio.

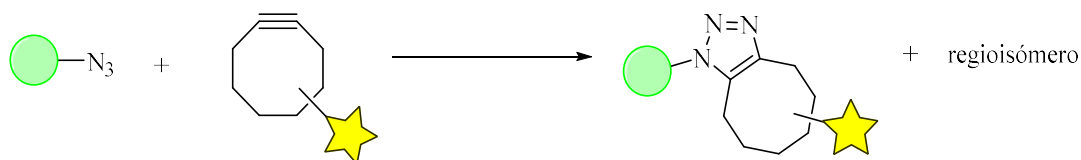


Figura 2: Cicloadición entre azidas y ciclooctinos promovida por la tensión anular de éstos (SPAAC).

Dados estos problemas, los esfuerzos por descubrir nuevas reacciones impulsadas por tensión estructural se han incrementado. De esta forma, la reacción de Diels-Alder de demanda electrónica inversa (IEDDA) se ha convertido en una de las reacciones bioortogonales más conocidas. El grupo de Fox la dio a conocer en 2008,<sup>12</sup> demostrando su biocompatibilidad y eficiencia en medios biológicos; lo que impulsó publicaciones profundizando en el posible alcance de este tipo de cicloadiciones.<sup>13</sup> Pese a su gran éxito, esta reacción presenta también problemas de reactividad no específica y de dificultad en la preparación de los sustratos.

Por otra parte, un área de creciente interés en química biológica es la fotoquímica bioortogonal, dados los altos rendimientos que este tipo de reacciones ofrecen y el hecho de no necesitar metales como catalizadores. De nuevo, esta área está estrechamente relacionada con la química *click*, como se ve en ejemplos como la cicloadición 1,3-dipolar inducida por luz, cuya bioortogonalidad fue demostrada por el grupo de Lin.<sup>14</sup> Este equipo ha conseguido trasladar la reacción a distintos medios biológicos, como bacterias *E. coli*<sup>15</sup> y células de mamíferos.<sup>16</sup>

Como es de esperar, este tipo de reacciones tienen un altísimo potencial, pero también presentan limitaciones como la menor velocidad con respecto a la CuAAC, problemas de selectividad y la necesidad de luz UV para su funcionamiento.<sup>17</sup> Pese a ello, su relevancia es innegable, con aplicaciones en reacciones como la SPAAC<sup>18</sup> y la IEDDA.<sup>19</sup>

## 1.2. Catálisis con complejos de rutenio en medios de relevancia biológica

El rutenio (Ru) es un metal de transición situado en el grupo 8 de la tabla periódica. Los complejos de este metal han sido ampliamente usados como catalizadores en química sintética, ya que suelen presentar muy buen balance entre reactividad y estabilidad, pueden modularse utilizando distintos ligandos y participan en las etapas típicas de los mecanismos organometálicos.

La mayoría de las reacciones en las que está involucrado implican intermedios organometálicos, con cambios de oxidación cíclicos en sus mecanismos (las valencias más comunes de este metal en catálisis varían entre +2 y +4). Además, el rutenio ofrece un gran abanico de posibilidades a nivel mecanístico, pudiendo utilizarse en reacciones de formación de enlaces, de desprotección, de cicloadición o isomerización, entre otras. Así, se conocen numerosos intermedios organometálicos con Ru, como carbenos, vinilidenos, alenilidenos,  $\pi$ -alilos, etc.

Atendiendo a su papel en catálisis, el rutenio no ha tenido un desarrollo tan visible como otros metales de transición como el Pd o el Rh, que poseen aplicaciones a nivel industrial como el proceso Wacker y la hidroformilación de alquenos.<sup>20</sup> Esto tiene su raíz en problemas de disponibilidad o de inactivación de especies de Ru<sup>0</sup> y Ru<sup>II</sup>. Sin embargo, poco a poco se ha descubierto el potencial de este metal como catalizador en síntesis orgánica, con características que no ofrecen metales como Pd o Rh.

En términos de química bioortogonal, los complejos metálicos más estudiados involucran metales como Pd<sup>21</sup> y Cu,<sup>22</sup> entre otros. Sin embargo, en muchas ocasiones estos compuestos no ofrecen buenos resultados a nivel de eficiencia, y se enfrentan a problemas de biocompatibilidad y desactivación en medios acuosos. En este sentido, el rutenio es una gran alternativa, gracias a sus altos niveles de biocompatibilidad y la variedad de reacciones que permite estudiar.<sup>23</sup>

De esta forma, la estrategia tradicional para las reacciones catalizadas por complejos de Ru (uso de disolventes orgánicos y ausencia de agua y oxígeno) se ha visto desplazada gracias al descubrimiento de la tolerancia de este metal a medios acuosos. Esto ha llevado a una investigación más profunda sobre este elemento, lo cual ha permitido encontrar aplicaciones incluso en el ámbito de la biomedicina, con agentes anticancerígenos de rutenio como potenciales herramientas.<sup>24</sup> En este apartado, se discutirán algunas de las reacciones catalizadas por Ru más relevantes para la química bioortogonal.

### 1.2.1. Reacciones de rotura de enlaces

Un hito en el campo de la catálisis organometálica en química bioortogonal fue el descubrimiento por parte del grupo de Meggers, en 2006,<sup>25</sup> de una desprotección de aminas catalizada por un complejo de Ru<sup>II</sup> (Figura 3), con la correspondiente rotura de los carbamatos de alilo presentes. La reacción, catalizada por el complejo [Cp\*<sub>2</sub>Ru(COD)Cl], transcurre en presencia de agua y aire, e incluso puede tener lugar en el interior de células de mamíferos. Así, se demostró la posibilidad de utilizar metales de transición para llevar a cabo reacciones dentro de células.

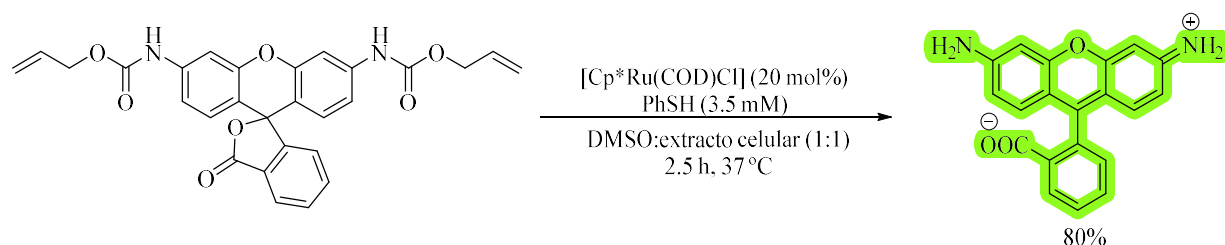


Figura 3: Desprotección de aminas catalizada por Ru<sup>II</sup> publicada por el grupo de Meggers.<sup>25</sup>

El mecanismo de la reacción es similar al propuesto por Tsuji-Trost para procesos de sustitución alílica catalizada por metales, involucrando una coordinación del alilo al complejo

metálico y la correspondiente adición oxidante para dar el complejo metal- $\pi$ -alílico. Para cerrar el ciclo y regenerar la especie de Ru<sup>II</sup>, se requiere el ataque de un nucleófilo externo, que se añade en exceso, lo que conlleva la liberación de la molécula desprotegida (en caso de los carbamatos, también con liberación de CO<sub>2</sub>).

Este descubrimiento sirvió como punto de partida para el desarrollo de otros complejos de rutenio con funciones similares pero características únicas. Por ejemplo, se han diseñado catalizadores que pueden dirigirse y acumularse en orgánulos concretos, como las mitocondrias.<sup>26</sup> El potencial de la estrategia de rotura de enlaces para liberar moléculas bioactivas es tal que se han desarrollado múltiples variantes de la reacción, incluso usando otros metales.

Aunque estas reacciones presentan innumerables ventajas, también existen ciertas dificultades. En ocasiones, los complejos pueden enfrentarse a problemas de desactivación en el interior celular, por lo que se han desarrollado alternativas como la del grupo de Rotello, que propone la encapsulación del metal en nanopartículas.<sup>27</sup>

### 1.2.2. Reacciones de formación de enlaces

Aunque las reacciones de desprotección han sido ampliamente desarrolladas, los complejos catalíticos de rutenio suponen una gran herramienta para la formación de enlaces. Entre las posibilidades existentes, se encuentran las reacciones de metátesis de alquenos, reacciones en que intervienen carbenos de Ru y las reacciones de cicloadición, entre otras.

#### *Reacciones de metátesis de alquenos*

En primer lugar, las metátesis de alquenos catalizadas por complejos de Ru son reacciones de gran interés en química sintética dada su gran versatilidad. De hecho, se utilizan en la preparación de polímeros<sup>28</sup> y en la industria farmacéutica.<sup>29</sup>

Las reacciones de metátesis de apertura o cierre de anillos catalizadas por complejos de rutenio también pueden realizarse en medios acuosos.<sup>30</sup> En este sentido, el grupo de Davis ha investigado el papel de una segunda generación de catalizadores Hoveyda-Grubbs para la modificación de proteínas por metátesis con alquenos externos (Figura 4).<sup>31</sup>

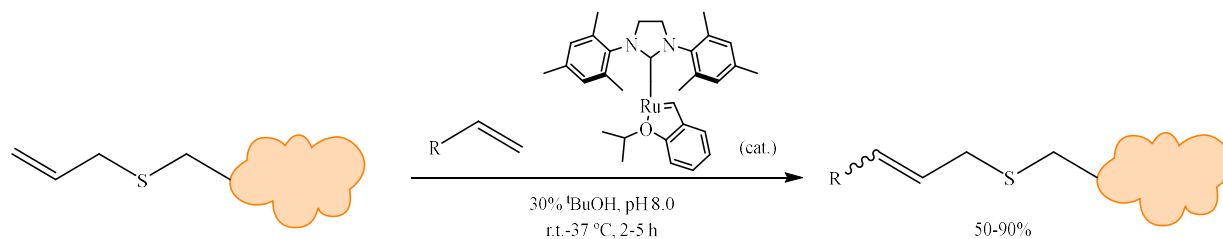


Figura 4: Modificación de proteínas por metátesis cruzada con alquenos externos catalizada por el complejo Hoveyda-Grubbs de segunda generación.<sup>31</sup>

Este catalizador se ha utilizado para generar moléculas fluorescentes (por ejemplo, cumarinas), lo que permite un fácil seguimiento de la reacción. Siguiendo esta estrategia, se han desarrollado metaloenzimas para realizar metátesis, por ejemplo, en el interior de *E. coli*.<sup>32</sup>

### *Reacciones con carbenos metálicos*

Los carbenos metálicos son un tipo de especie metálica de gran interés por su versatilidad sintética, pues pueden participar en una gran variedad de reacciones tales como inserciones C-H o ciclopropanaciones. Se han desarrollado multitud de reacciones que implican estas especies en disolventes orgánicos, pero su paso a medios acuosos o biológicos no ha recibido tanta atención. Pese a que los carbenos son, en general, entidades muy reactivas, la coordinación a un metal y el diseño de los ligandos adecuados pueden permitir su aplicación en el ámbito bioortogonal.<sup>33</sup>

El primer ejemplo de ciclopropanación catalizada por un metal en medios acuosos lo desarrolló el grupo de Nishiyama, que reportó la ciclopropanación del estireno utilizando  $\text{RuCl}_2(\text{p-cimeno})_2$  y ligandos quirales solubles en agua.<sup>34</sup> En esta línea, grupos como el de Simonneaux<sup>35</sup> o Teplý han desarrollado otras reacciones de este tipo en agua y en medios como PBS o lisados celulares. Sin embargo, las transferencias de carbenos metálicos a sistemas vivos son escasas.<sup>36</sup>

### *Cicloadición azida-alquino catalizada por rutenio (RuAAC)*

La cicloadición entre azidas y alquinos también puede ser catalizada por complejos de Ru (RuAAC), y constituye una alternativa muy interesante a la CuAAC, dados los problemas de biocompatibilidad que presentan algunas sales de cobre.

Originalmente, la RuAAC fue descrita en 2005 por Sharpless y Fokin en disolventes orgánicos y atmósfera inerte, con los complejos  $[\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{COD})]$  y  $[\text{Ru}(\text{OAc})_2(\text{PPh}_3)_3]$  como catalizadores.<sup>37</sup> No obstante, la RuAAC resultó ser más lenta que la CuAAC y, muchas veces, proporcionaba una mezcla de regioisómeros 1,4 y 1,5.

Sin embargo, estos problemas no impidieron el estudio más profundo de esta reacción. Así, en 2017, el grupo de Mascareñas demostró que el uso de tioalquinos permitía realizar la reacción, promovida por  $[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{COD})\text{Cl}]$ , en medios acuosos. Además, ofrece un amplio alcance y excelente regioselectividad en favor del isómero 1,5; convirtiéndose, así, en una reacción complementaria a la CuAAC.<sup>38</sup> Aunque esta RuAAC es compatible con medios biológicos y funciona incluso en presencia de bacterias vivas, su uso en células se vio limitado, dada la necesidad de trabajar en concentraciones del rango milimolar (20-100 mM).

Para solucionar esta limitación, nuestro grupo describió el uso de complejos como  $[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{MeCN})_3]\text{PF}_6$  (Figura 5). Éste permite llevar a cabo la reacción a concentraciones mucho menores que el anterior, además de reaccionar selectivamente con tioalquinos en presencia de

alquinos; lo que pone de manifiesto la ortogonalidad de la CuAAC y la RuAtAC.<sup>38</sup> También se consiguieron buenos resultados a partir de complejos de rutenio de tipo [Cp\*Ru(areno)]PF<sub>6</sub>, que deben ser irradiados con luz UV (de longitud de onda de 365 nm) para liberar el areno y, así, cumplir su función de catalizador. Pese a su alto potencial dada su eficiencia en medios biológicos, la reacción no se pudo transferir a células vivas, que son dañadas por la luz irradiada.<sup>39</sup>

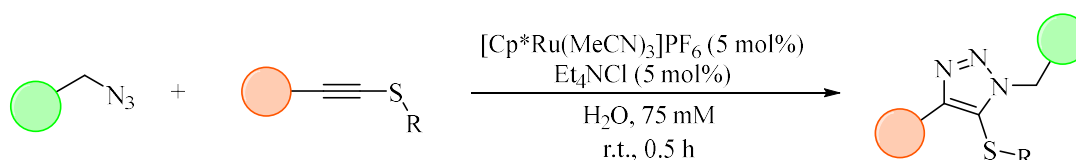


Figura 5: Cicloadición de azidas y tioalquinos catalizada por rutenio (RuAtAC).<sup>39</sup>

### Cicloadiciones [2+2+2]

Teniendo en cuenta el éxito de las cicloadiciones azida-alquino catalizadas por Cu y Ru, no sorprende que se hayan buscado otras reacciones en su misma línea, como las cicloadiciones [2+2+2]. Así, el grupo de Teplý consiguió llevar a cabo una reacción de este tipo gracias al uso de moléculas bidentadas, que permiten atrapar el metal en un primer momento gracias a su coordinación al complejo. Esto suple una característica ventajosa de la CuAAC o la RuAAC, que es la coordinación del grupo azida al metal, que favorece la reacción. Así, se pudieron sintetizar compuestos aromáticos a partir de triinos en medios acuosos e incluso en lisados de bacterias.<sup>40</sup>

Siguiendo esta estrategia, el grupo de Mascareñas desarrolló una cicloadición de este tipo entre diinos y alquinos que se pudo llevar a cabo en el interior de células HeLa, y cuyo seguimiento se realizó gracias a la fluorescencia de la antraquinona sintetizada.<sup>41</sup>

### 1.2.3. Reacciones redox

Pese al reto que supone introducir reacciones redox exógenas en un medio tan complejo como el celular, algunos grupos como el de Sadler han hecho aportaciones muy interesantes. Así, el grupo consiguió reducir NAD<sup>+</sup> con formato sódico y un complejo de Ru<sup>II</sup> dentro de células cancerígenas.<sup>42</sup>

Otro ejemplo a destacar es la reducción del ABTS ayudándose de un complejo de rutenio y de NAD<sup>+</sup> como reductor, llevada a cabo en medios acuosos. Por otra parte, el grupo de Mascareñas ha desarrollado una isomerización de alcoholes alílicos a etil cetonas catalizada por un complejo de Ru<sup>IV</sup>, viable en medios acuosos e incluso celulares (Figura 6).<sup>43</sup>

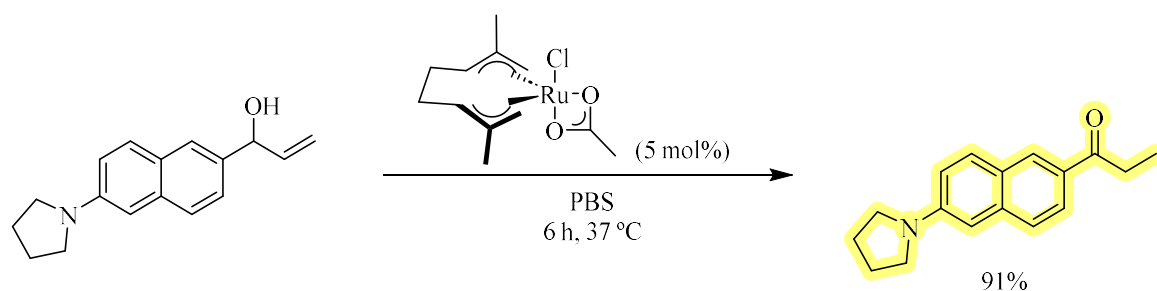


Figura 6: Isomerización de alcoholes alílicos a cetonas.<sup>43</sup>

#### 1.2.4. Fotocatálisis bioortogonal

Por último, es importante mencionar el ámbito de la fotocatalisis, dadas las ventajas a nivel medioambiental y sintético que ofrece, así como las suaves condiciones que permite emplear. En esta área han sido utilizados complejos como  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ , que pueden ser irradiados con luz visible para permitir, por ejemplo, la modificación de proteínas en sus metioninas.<sup>44</sup>

Asimismo, Nakamura ha aprovechado esta reactividad para el marcaje gracias a ligandos con proteínas en estos complejos,<sup>45</sup> y Winssinger ha conseguido incluso la isomerización de dobles enlaces *trans* a sus isómeros *cis*.<sup>46</sup>

### 1.3. Vinilidenos metálicos: especies reactivas inexploradas en química bioortogonal

Los vinilidenos son tautómeros de alquinos de alta energía, que cuentan con un par electrónico solitario en un orbital de hibridación  $sp$  y un orbital  $p$  perpendicular vacío. Su estudio se ha visto limitado debido a su difícil acceso y a su alta reactividad. Sin embargo, la coordinación de estas especies a un metal permite su estabilización y, por tanto, su aprovechamiento en química sintética.<sup>47</sup> Estas nuevas especies se pueden generar a través de diversos mecanismos, dependiendo del metal que interaccione con el alquino de interés. A continuación, se muestran las vías más comunes en metales de transición (Figura 7):

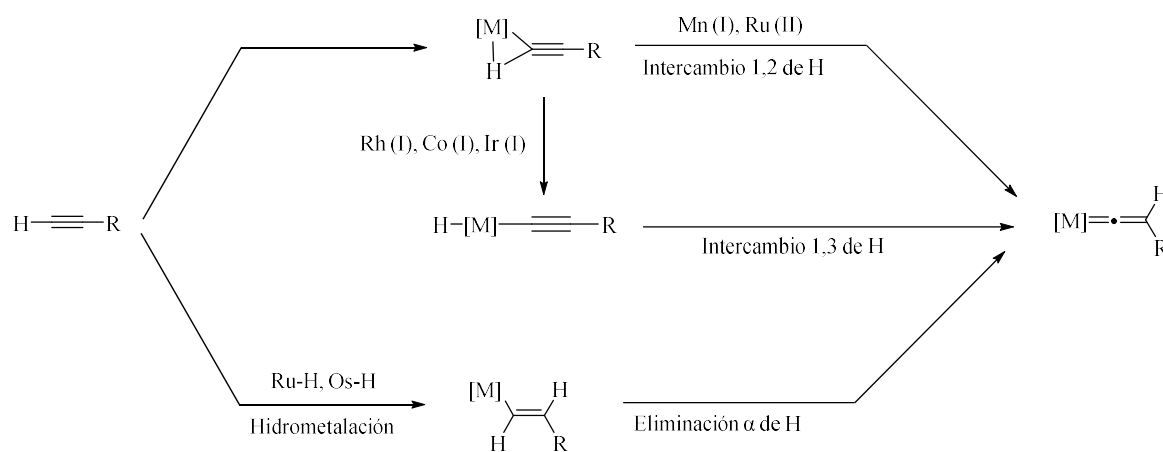


Figura 7: Vías para la formación de vinilidenos metálicos con metales de transición.<sup>47</sup>

Una vez estabilizados, los vinilidenos metálicos son de gran interés gracias a su versatilidad: el carbono- $\alpha$  al metal es electrofílico y, por tanto, puede sufrir ataques de nucleófilos, mientras que el carbono- $\beta$  puede reaccionar fácilmente con electrófilos. Así, los vinilidenos pueden participar en reacciones de adición nucleófila y electrófila, reacciones pericíclicas,<sup>48</sup> o incluso ser precursores para reacciones de metátesis.

De todas las opciones, la adición nucleófila al carbono- $\alpha$  es una de las más atractivas, por lo que ha sido ampliamente estudiada. Los compuestos obtenidos dependerán de la naturaleza del nucleófilo, destacando los átomos de O, P, N y C. Así, entre las adiciones de oxígeno destaca la hidratación de alquinos anti-Markovnikov (Figura 8a),<sup>49</sup> con catalizadores como  $[\text{CpRu}(\text{MeCN})_3]\text{PF}_6$  (comúnmente utilizado en otras reacciones que no involucran vinilidenos) acompañados de ligandos de tipo bipyridina y utilizando el agua como nucleófilo. Por otra parte, los ligandos conocidos como azaryphos, que contienen una fosfina enlazada a un anillo de piridina, proporcionan excelentes resultados en este tipo de reacciones.<sup>50</sup> Estos ligandos se han utilizado también en cicloisomerizaciones para obtener benzofuranos e indoles (Figura 8b).<sup>51</sup>

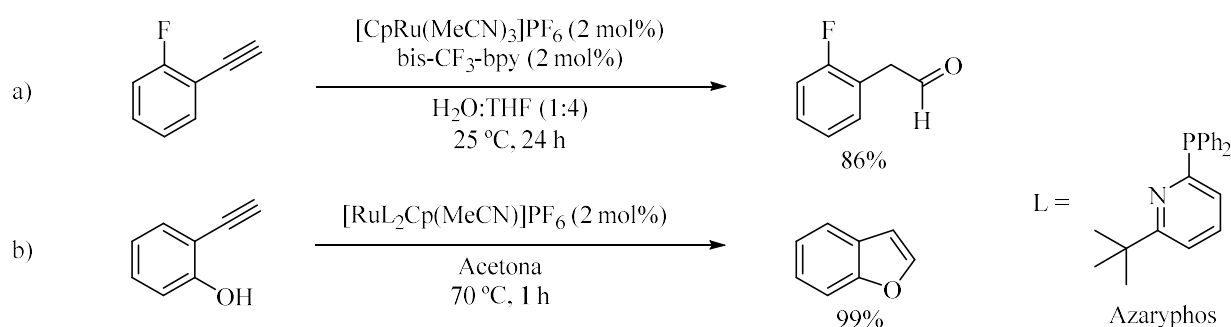


Figura 8: a) Hidratación de un alquino anti-Markovnikov a través de un vinilideno de Ru.<sup>49</sup> b) Formación de un benzofurano a través de un vinilideno de Ru.<sup>51</sup>

Por otra parte, también se pueden utilizar nucleófilos nitrogenados. Aunque las aminas pueden presentar más problemas de desactivación de complejos,<sup>52</sup> su papel es relevante para la construcción de moléculas interesantes a nivel biológico, como los indoles, citados anteriormente. Estos también se pudieron construir a partir de vinilidenos con la ayuda del catalizador  $[\text{CpRuCl}(\text{PPh}_3)_2]$ , utilizando piridina como disolvente y temperaturas de reacción de 90 °C.<sup>53,54</sup>

Pese a su gran potencial, los vinilidenos metálicos no han sido introducidos todavía en el ámbito de la química bioortogonal, probablemente por las dificultades asociadas a su generación a temperaturas biocompatibles (hasta 37 °C) y la facilidad con la que reaccionan con muchos nucleófilos presentes en ambientes biológicos (agua, tioles, aminoácidos, etc.). En cualquier caso, si se pudiera implementar la química de vinilidenos de rutenio en medio biológico se podrían abrir nuevas vías de gran interés en química bioortogonal.

En una exploración preliminar, previa a este TFG, los doctorandos Alejandro Gutiérrez y Fernando Salgado encontraron que el complejo de rutenio  $[(\eta^3:\eta^3\text{-C}_{10}\text{H}_{16})\text{RuCl}(\text{OAc})]$  es capaz de promover la formación de indol a partir de 2-etinilanilina, en medio acuoso a 37 °C (Figura 9). Se trata de una reacción que ya había sido descrita en disolventes orgánicos y a altas temperaturas, pero nunca en medios acuosos o a temperaturas biocompatibles.<sup>51,53</sup> No obstante, los datos preliminares, obtenidos mediante el análisis de las reacciones por GC-MS, indicaron que había un problema de reproducibilidad en los rendimientos y, además, las buenas conversiones observadas del reactivo no se correspondían con los rendimientos mucho más bajos de producto.

Como consecuencia, resultaba necesario un estudio en profundidad de la reacción, para detectar sus problemas y poder desarrollar el catalizador y las condiciones óptimas para realizar el proceso en medio acuoso y su posterior traslado a medios biológicos.

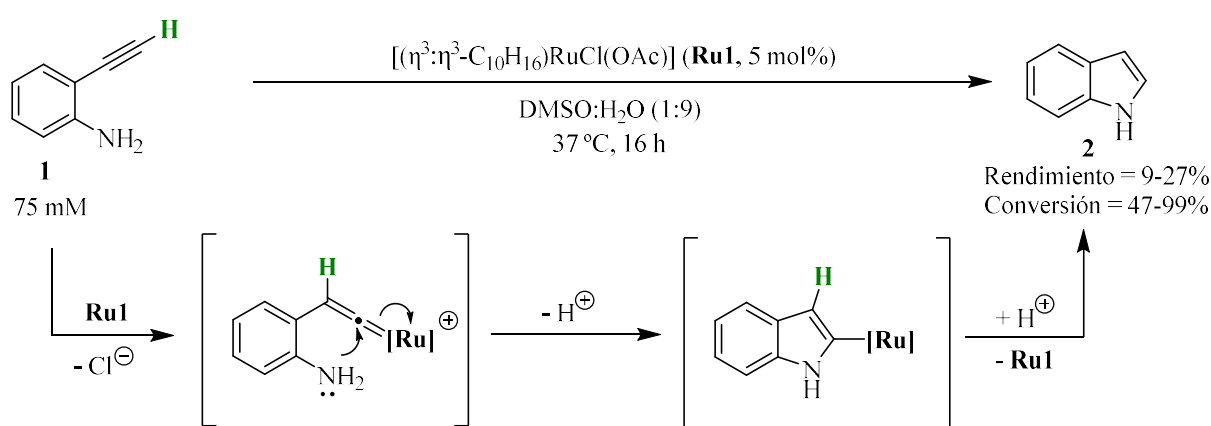


Figura 9: Reacción de formación de indol a partir de 2-etinilanilina a través de un vinilideno de Ru intermedio.

## 2. OBJETIVOS Y PLANIFICACIÓN

En base a estos precedentes, en este Trabajo de Fin de Grado se estudiará la optimización de la formación de indoles a partir de *orto*-alquil anilinas, mediante el uso de complejos de rutenio que permitan la formación de intermedios vinilidénicos estables en medio acuoso.

Todo ello se desarrolla en el marco de un objetivo más amplio, que pretende el desarrollo de nuevas reacciones bioortogonales y biocompatibles catalizadas por complejos de rutenio, a través de especies vinilidénicas intermedias.

En concreto, los objetivos específicos son: 1) Estudio en profundidad de la reacción de formación de indol para determinar el origen de la disparidad entre conversión y rendimiento y 2) síntesis de distintos complejos de rutenio para optimizar dicha reacción, incluyendo el análisis de las condiciones de reacción óptimas.

Todo el trabajo se ha llevado a cabo con la ayuda del doctorando Leonard G. Cool. El plan seguido es el mostrado en la Tabla 1.

Tabla 1: Cronograma de actividades

	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio
<i>Revisión bibliográfica</i>	X	X						
<i>Optimización de la reacción</i>	X	X	X	X				
<i>Síntesis de catalizadores</i>				X	X	X		
<i>Nuevas reacciones</i>						X	X	X
<i>Seminarios de grupo</i>				X	X	X	X	X
<i>Escritura del trabajo</i>							X	X

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Optimización de la síntesis de indoles a través de vinilidenos de rutenio

##### 3.1.1. *Análisis por GC-MS*

El primer objetivo de este trabajo fue tratar reproducir los resultados preliminares obtenidos previamente por este grupo, con el fin de familiarizarse con la reacción de interés (Figura 9) y analizar en profundidad la disparidad entre los datos de conversión y rendimiento. Para ello, se partió de las condiciones ensayadas, usando como catalizador el complejo  $[(\eta^3:\eta^3\text{-C}_{10}\text{H}_{16})\text{RuCl}(\text{OAc})]$  (**Ru1**, 5 mol%), y la reacción se llevó a cabo a 37 °C, en una mezcla DMSO:H<sub>2</sub>O (1:9) durante 16 horas.

Según los resultados anteriores, la conversión del reactivo inicial observada por GC-MS oscilaba entre el 47 y el 99% y el rendimiento del indol variaba entre el 9 y el 27%. Sin embargo, al analizar nuevamente la reacción, se observó una conversión completa del sustrato, mientras que no se encontró producto.

Para dar con el problema, se decidió repetir la optimización de las condiciones de la reacción utilizando diferentes disolventes y analizando los resultados mediante GC-MS. Para mejorar la precisión de los valores de conversión y rendimiento, se elaboraron dos rectas de calibrado para **1** (Figura 10a) y **2** (Figura 10b), utilizando como patrón interno: escatol (5-75 mM) y como disolvente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

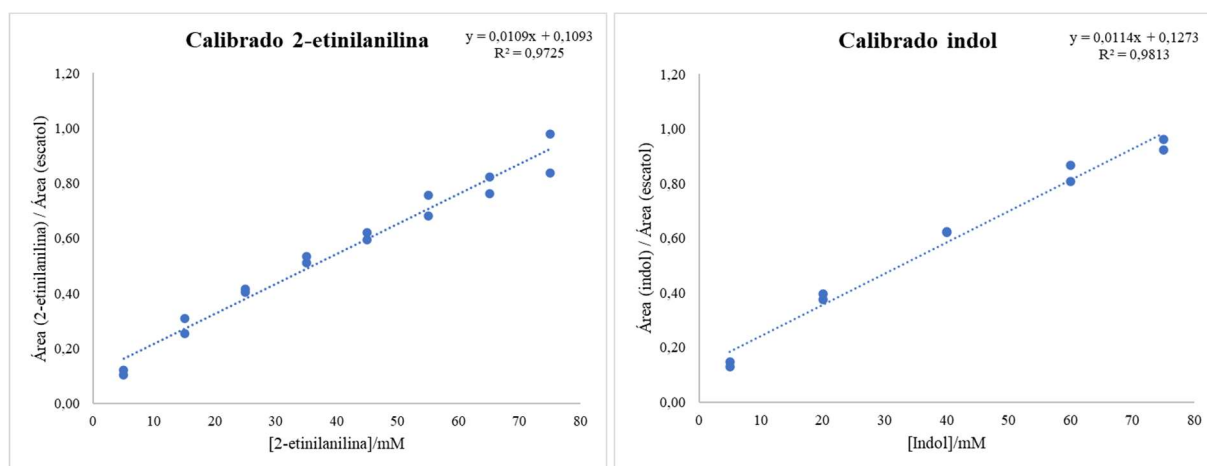


Figura 10: a) (izq.) Recta de calibrado de GC-MS de **1** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> utilizando escatol como patrón interno. b) (dcha.) Recta de calibrado de GC-MS de **2** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> utilizando escatol como patrón interno.

En estos experimentos (Figura 11), solamente se detectaron trazas de indol (**2**) por GC-MS, no pudiendo determinar el rendimiento de las reacciones en la recta de calibrado, ya que las cantidades obtenidas eran menores que el límite inferior de la recta, 5 mM.

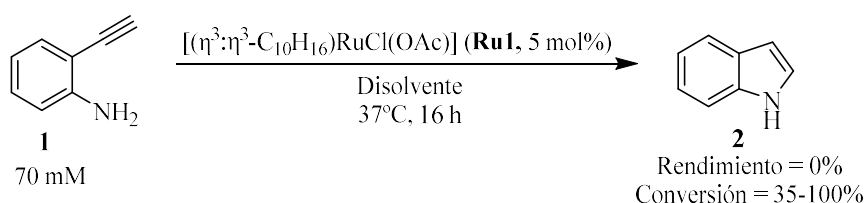
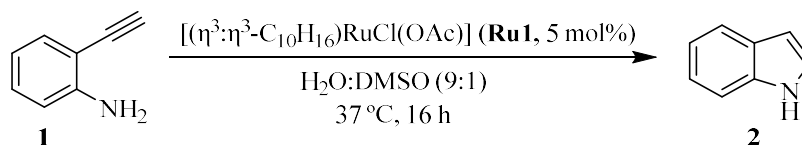


Figura 11: Reacción de **1** a **2** en diferentes disolventes. Condiciones: **1** (1 equiv., 70 mM), disolvente (1 mL), 37°C, 16 h, atmósfera de  $\text{N}_2$ . Rendimientos y conversiones calculados mediante rectas de calibrado en GC-MS.

Elaboración: dilución con  $\text{H}_2\text{O}$  (4 mL), extracción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x2 mL), evaporación en rotavapor y secado a vacío.

En este punto, consideramos que la diferencia entre las altas conversiones de **1** y los bajos rendimientos de **2** podría deberse al proceso de elaboración de la reacción, que implicaba el uso de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para extraer producto y reactivo de la fase acuosa. Decidimos cambiar este disolvente por EtOAc y, así, observamos por primera vez la formación de **2**, lo que podría indicar que el EtOAc lo extrae de manera más eficiente de la fase acuosa. No obstante, al llevar a cabo la misma reacción en las mismas condiciones varias veces (Tabla 2, entradas 1-4), los rendimientos observados no fueron repetibles, oscilando entre el 4 y el 22% (Tabla 3, entradas 2 y 3). Por tanto, la causa de esta disparidad seguía sin conocerse.

Tabla 2: Resultados de la reacción de **1** a **2** extrayendo con EtOAc durante la elaboración.



Entrada	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	7	72
2	4	79
3	22	95
4	9	72

(a) Condiciones de reacción: **1** (1 equiv., 75 mM, **Ru1** (5 mol%),  $\text{H}_2\text{O}:\text{DMSO}$  (9:1, 1 mL), 37 °C, 16 h, atmósfera de  $\text{N}_2$ . Rendimientos y conversiones calculados mediante rectas de calibrado en GC-MS. Elaboración: dilución con  $\text{H}_2\text{O}$  (4 mL), extracción con EtOAc (3x2 mL), evaporación en rotavapor y secado a vacío.

Para evitar el proceso de extracción, se hizo una prueba liofilizando las fases acuosas, y analizándose por GC-MS las muestras resultantes de las reacciones, redisueltas en  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1). Curiosamente, no se pudieron observar los compuestos **1** o **2**. Este resultado parecía indicar que la variabilidad en los rendimientos podría deberse a la volatilidad de los productos, que se podrían perder en las evaporaciones en el rotavapor o en la fase de secado en la línea de alto vacío, previas al análisis por GC-MS.

Para comprobar si **1** y **2** se estaban perdiendo en el proceso de evaporación del disolvente en el rotavapor, se prepararon muestras de ambos compuestos en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a una concentración conocida. A continuación, se evaporaron en el rotavapor durante 10 min y se secaron en la línea de alto vacío durante otros 10 min. Por último, se analizaron las muestras (redisueltas en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) por GC-MS, interpolando los resultados en las rectas de calibrado correspondientes (Tabla 3).

Tabla 3: Resultados de las pruebas de evaporación de **1** y **2**.

Entrada	[1] inicial (mM)	[2] inicial (mM)	[1] final (mM)	[2] final (mM)
1	70	-	4	-
2	-	70	-	53
3	35	35	11	31

(a) Condiciones: Disoluciones de **1** y **2** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Evaporación con ayuda de un rotavapor durante 10 min y secado posterior en línea de vacío durante 10 min. Resultados analizados mediante GC-MS.

De esta forma, se descubrió que ambos compuestos se perdían durante la evaporación en la línea de alto vacío (entradas 1 a 3), lo cual explicaba las altas conversiones y bajos rendimientos, así como la variabilidad de los resultados, que dependían de la cantidad de tiempo que la muestra estuviese a vacío. Además, se realizaron experimentos de control en los que se disolvió una cantidad conocida de **1** o **2** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se inyectó la muestra en GC-MS. Sorprendentemente, la cantidad medida por el equipo no coincidió con la teórica. Este resultado nos indicaba que, por algún motivo desconocido (por ejemplo, la falta de reproducibilidad en el volumen inyectado por el equipo o la calibración errónea de las micropipetas), el análisis de las muestras por GC-MS no era adecuado. Por ello, se decidió cambiar el método, y se optó por el análisis mediante <sup>1</sup>H-RMN.

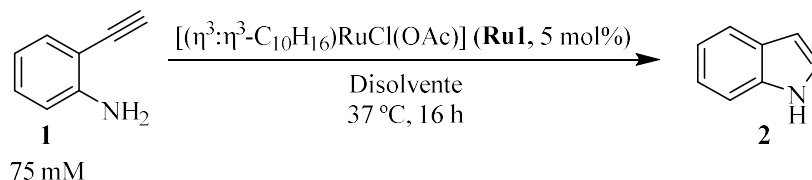
### 3.1.2. Análisis por <sup>1</sup>H-RMN

El nuevo análisis consistió en añadir 1,3,5-trimetoxibenceno (TMB) como patrón interno a las muestras (tras la extracción y evaporación) y diluir estas en CDCl<sub>3</sub> para determinar rendimientos y conversiones mediante <sup>1</sup>H-RMN. Así, se repitió la reacción en las condiciones optimizadas [DMSO:H<sub>2</sub>O (1:9), 37 °C, 16 h], evitándose la línea de vacío y reduciendo el tiempo en el rotavapor a 5 min. De esta manera, el rendimiento de indol (**2**) fue del 16% y la conversión de **1** del 76%. En este punto, se realizó una nueva optimización de disolventes, con el fin de comprobar si la mezcla previamente usada (DMSO:H<sub>2</sub>O 1:9) era la más adecuada (Tabla 4).

Los mejores resultados se observaron con mezclas de H<sub>2</sub>O:DMSO 6:4 y 9:1 (entradas 3 y 5), así como con H<sub>2</sub>O (entrada 15), pero no diferían mucho y, dada la baja solubilidad de **1** y **Ru1** en agua, se decidió continuar utilizando la mezcla H<sub>2</sub>O:DMSO (9:1). Aunque la disparidad entre rendimiento y conversión disminuía al usar MeCN como co-disolvente (entradas 6 a 10), los

rendimientos de indol eran también menores a los que ofrecía la reacción en DMSO. Dado que en ningún caso se observó la formación de subproductos significativos en los espectros de  $^1\text{H-RMN}$  de los crudos de reacción, se siguió intentando encontrar la causa de las discordancias entre rendimiento y conversión, hecho que consideramos fundamental para poder optimizar el proceso.

Tabla 4: Resultados de la optimización de disolventes para la reacción de **1** a **2**.



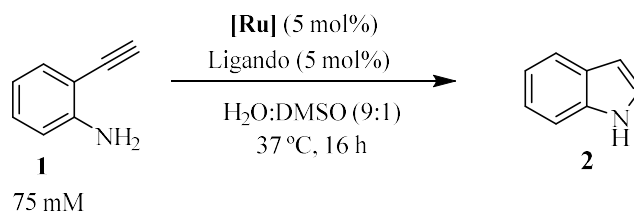
Entrada	Disolvente	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	DMSO	6	84
2	H <sub>2</sub> O:DMSO (1:1)	15	81
3	H <sub>2</sub> O:DMSO (6:4)	23	84
4	H <sub>2</sub> O:DMSO (8:2)	14	55
5	H <sub>2</sub> O:DMSO (9:1)	16	72
6	MeCN	13	55
7	H <sub>2</sub> O:MeCN (1:1)	4	25
8	H <sub>2</sub> O:MeCN (6:4)	10	27
9	H <sub>2</sub> O:MeCN (8:2)	5	39
10	H <sub>2</sub> O:MeCN (9:1)	5	22
11	DMF	4	64
12	THF	7	75
13	H <sub>2</sub> O	15	61
14	Acetona	5	36

(a) Condiciones: **1** (1 equiv., 75 mM), **Ru1** (5 mol%), disolvente (1 mL), 37 °C, 16 h, atmósfera de N<sub>2</sub>. Elaboración: dilución con H<sub>2</sub>O (4 mL), extracción con EtOAc (3x2 mL) y evaporación del disolvente 5 min en un rotavapor (40 °C, 200 mbar). Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en  $^1\text{H-RMN}$  (CDCl<sub>3</sub>).

Siguiendo con la optimización, se llevó a cabo la reacción con diferentes complejos de rutenio previamente utilizados en reacciones que transcurren a través de especies vinilidénicas, pero siempre en disolventes orgánicos y a altas temperaturas, como [CpRu(MeCN)<sub>3</sub>]PF<sub>6</sub>,<sup>49</sup> [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)(p-cimeno)],<sup>55</sup> [CpRuCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>],<sup>54</sup> [Cp\*RuCl(COD)]<sup>56</sup> y [(η<sup>3</sup>:η<sup>3</sup>-C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>)RuCl(OAc)].<sup>43</sup> Los resultados obtenidos (Tabla 5) siguieron la línea de lo que se había observado hasta el momento: altas conversiones de **1** y bajos rendimientos de **2**. Aun así, el complejo más eficiente -con rendimientos del 16 y 17%- fue el que previamente veníamos

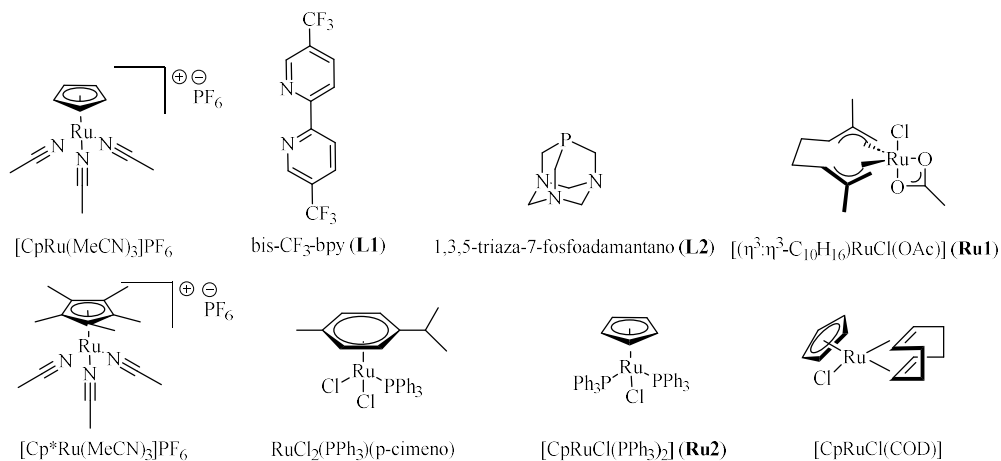
utilizando (**Ru1**, entradas 11 y 12), tanto usándolo por sí solo como añadiendo un ligando de tipo biperidina (**L1**) que incorpora grupos “-CF<sub>3</sub>” (entrada 12). Entre los complejos utilizados, también destacó el [CpRuCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (**Ru2**), que permitió obtener **2** con un rendimiento del 10% y una conversión de **1** más cercana a éste (42%, entrada 9).

Tabla 5: Resultados de la optimización de catalizadores para la reacción de **1** a **2**.



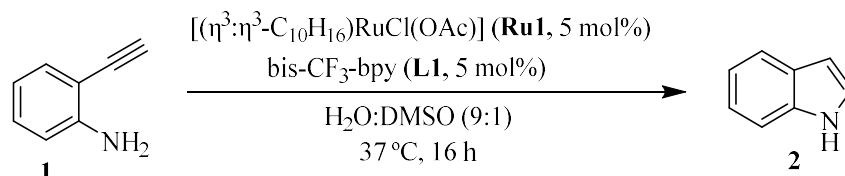
Entrada	Complejo	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	RuCl <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O	2	97
2	[CpRu(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub>	3	24
3	[CpRu(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub> + <b>L1</b>	3	51
4	[CpRu(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub> + <b>L2</b>	0	45
5	[Cp*Ru(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub>	0	42
6	[Cp*Ru(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub> + <b>L1</b>	0	63
7	[RuCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> )(p-cimeno)]	2	62
8	[RuCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (p-cimeno)] + NH <sub>4</sub> PF <sub>6</sub>	1	67
9	[CpRuCl(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] ( <b>Ru2</b> )	10	42
10	[Cp*RuCl(COD)]	1	32
11	<b>Ru1</b>	16	72
12	<b>Ru1</b> + <b>L1</b>	17	78

(a) Condiciones: **1** (1 equiv., 75 mM), [**Ru**] (5 mol%), ligando (5 mol%), H<sub>2</sub>O:DMSO (9:1, 1 mL), 37 °C, 16 h, atmósfera de N<sub>2</sub>. Elaboración: dilución con H<sub>2</sub>O (4 mL), extracción con EtOAc (3x2 mL) y evaporación durante 5 min en rotavapor (40 °C, 200 mbar) Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>).



También se consideró la posibilidad de preformar el catalizador resultante de mezclar **Ru1** con el ligando **L1**, durante 10 min, antes de llevar a cabo la reacción (Tabla 6). De esta forma, pudimos comprobar que al preformar el catalizador durante 10 min a 60 °C, se podía incrementar el rendimiento de **2** desde un 14% (sin preformación, entrada 1) hasta un 22% (entrada 3). No obstante, la diferencia entre la conversión y el rendimiento de **2** seguía siendo demasiado alta (la conversión observada es de un 75%).

Tabla 6: Influencia de la preformación del catalizador en la reacción de **1** a **2**.



Entrada	Catalizador Ru1/L1 preformado	T (°C) de preformación	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	NO	-	14	76
2	SÍ	37	13	68
3	SÍ	60	22	75

(a) Condiciones: **1** (1 equiv., 75 mM), **Ru1** (5 mol%), H<sub>2</sub>O:DMSO (9:1, 1 mL), 37 °C, 16 h, atmósfera de N<sub>2</sub>, agitación previa: 10 min. Elaboración: dilución con H<sub>2</sub>O (4 mL), extracción con EtOAc (3x2 mL) y evaporación del disolvente 5 min en rotavapor (40 °C, 200 mbar). Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN.

Por otra parte, también se probó el complejo [CpRuCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (**Ru2**), que había llamado la atención durante la optimización de catalizadores (Tabla 6, entrada 9). Así, tomando como referencia el trabajo de Saá y Varela,<sup>54</sup> se utilizó piridina como disolvente y una temperatura de 90 °C (Figura 12) para llevar a cabo la reacción estudiada.

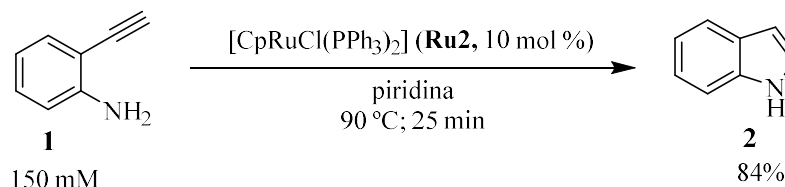


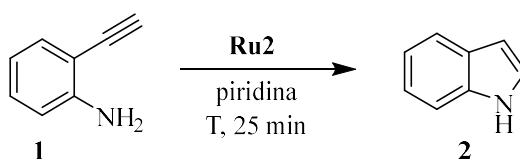
Figura 12: Reacción de **1** a **2** en las condiciones descritas por el grupo de Saá.<sup>54</sup>

Al reproducir estas condiciones, se obtuvo un rendimiento de **2** del 89% y una conversión del 100% de **1** tras 25 minutos de reacción (Tabla 7, entrada 1). Además, con el fin de comprobar la influencia del tiempo sobre los resultados, se llevó a cabo la reacción durante 16 h, lo que llevó a un aumento del rendimiento hasta el 99% (entrada 2).

A continuación, se comprobó la influencia de la disminución de la temperatura hasta 37 °C en piridina, el disolvente óptimo para este complejo. El rendimiento descendió hasta un 4% (entrada 3), lo que muestra la necesidad de temperaturas altas para que la reacción tenga lugar en estas condiciones y con este complejo.

Asimismo, se intentó disminuir la concentración de **Ru2**, lo que conllevó un brusco descenso del rendimiento (entrada 4). También tuvo un efecto considerable la disminución de la concentración de **1**, obteniéndose un rendimiento del 32% (entrada 5). Se consiguió un resultado similar disminuyendo a la vez la concentración de **1** y **Ru2** (entrada 6). Una vez más, al disminuir la temperatura hasta 37 °C, el rendimiento descendió drásticamente (entradas 7 y 8).

Tabla 7: Resultados de diferentes condiciones en la reacción de **1** a **2**.



Entrada	[1] (mM)	[Ru2] (mol %)	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	150	10	90	89	100
2 <sup>b</sup>	150	10	90	99	100
3	150	10	37	4	43
4	150	5	90	21	71
5	75	10	90	32	75
6	75	5	90	29	72
7	75	5	37	3	76
8	75	10	37	6	32

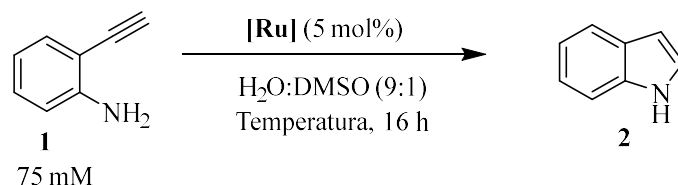
(a) Condiciones: **1** (1 equiv.), piridina (3 mL), 25 min, atmósfera de N<sub>2</sub>. Elaboración: dilución con H<sub>2</sub>O (4 mL), extracción con EtOAc (3x2 mL) y evaporación del disolvente durante 5 min en un rotavapor (40 °C, 200 mbar).

Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>). (b) Tiempo de reacción: 16 h.

A continuación, también evaluamos la influencia de la temperatura en las reacciones promovidas por otros complejos de rutenio. Se realizaron los experimentos a 37 y 60 °C. Aunque los rendimientos son, en general, bajos (Tabla 8), se observa que no existe una diferencia importante entre ambas temperaturas, excepto en el caso del complejo formado a partir de **Ru1** y **L1**, con el que se observó un aumento del rendimiento del 14 al 21% (entradas 9 y 10).

Por otra parte, se ensayó si, añadiendo una base al medio, se podrían mejorar los rendimientos. Sin embargo, el uso de KOAc (2.5 equiv., entrada 11) dio lugar al mismo resultado (17% de indol y 81% de conversión de **1**).

Tabla 8: Influencia de la temperatura para diferentes catalizadores en la reacción de 1 a 2.



Entrada	Complejo	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	[CpRu(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub> + L1	37	3	46
2	[CpRu(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub> + L1	60	2	72
3	[Cp*Ru(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub> + L1	37	0	52
4	[Cp*Ru(MeCN) <sub>3</sub> ]PF <sub>6</sub> + L1	60	0	62
5	[RuCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> )(p-cimeno)] + NH <sub>4</sub> PF <sub>6</sub>	37	1	67
6	[RuCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> )(p-cimeno)] + NH <sub>4</sub> PF <sub>6</sub>	60	2	87
7	<b>Ru1</b>	37	14	72
8	<b>Ru1</b>	60	12	78
9	<b>Ru1 + L1</b>	37	14	90
10	<b>Ru1 + L1</b>	60	21	94
11 <sup>b</sup>	<b>Ru1</b>	37	17	81

(a) Condiciones: **1** (1 equiv., 75 mM), **[Ru]** (5 mol%), H<sub>2</sub>O:DMSO (9:1, 1 mL), 16 h, atmósfera de N<sub>2</sub>. Elaboración: dilución con H<sub>2</sub>O (4 mL), extracción con EtOAc (3x2 mL) y evaporación del disolvente durante 5 min en un rotavapor (40 °C, 200 mbar). Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>). (b) KOAc (2.5 equiv.) añadido al medio de reacción.

También con el fin de favorecer el ataque nucleófilo de la amina al vinilideno, se preparó la alquinil anilina **3**, que incorpora un grupo metoxi en para al amino. Además, el mayor peso molecular debería disminuir la volatilidad del producto, favoreciendo la reproducibilidad del método. Una vez sintetizada la 4-metoxi-2-etinilanilina, se llevó a cabo la reacción en las condiciones iniciales [DMSO:H<sub>2</sub>O (1:9), 37 °C, 16 h, Figura 13], pero el rendimiento no aumentó, obteniéndose un 14% de indol, y una conversión del 72% (de nuevo, persistía la incoherencia entre conversión y rendimiento).

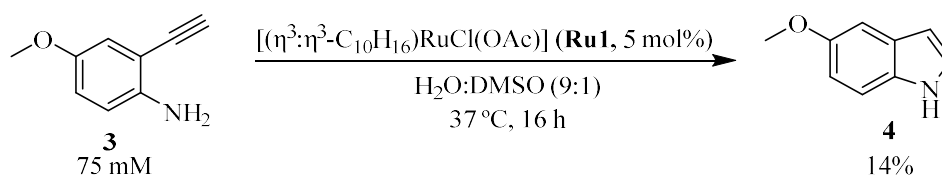


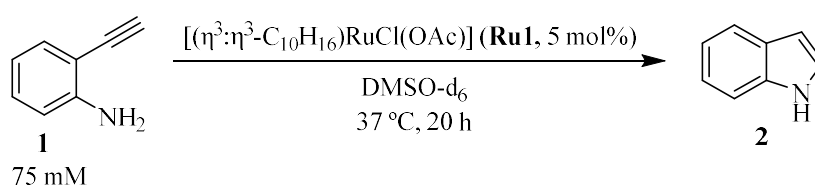
Figura 13: Reacción de formación del 5-metoxi-1H-indol a través de un vinilideno de Ru.

Asimismo, se realizaron experimentos añadiendo el total del catalizador en diferentes porciones a lo largo de 6 horas, con la finalidad de comprobar si el complejo estaba sufriendo algún proceso de desactivación en el medio antes de que tuviese lugar la reacción de interés. En concreto, se añadió un 5 mol% de **Ru1** al inicio de la reacción y un 2 mol% más al cabo de 2, 4 y 6 horas. Lamentablemente, el resultado no mejoró, con un rendimiento del 12% y una conversión del 84%.

#### Experimento en DMSO deuterado

Para tratar de obtener información sobre las causas de las altas conversiones, se realizó una reacción en DMSO deuterado, para visualizar mediante <sup>1</sup>H-RMN todas las especies presentes antes durante y al final de la reacción (Figura 14). De esta forma, se evita la elaboración de la reacción con la posible pérdida de reactivo y/o producto. El análisis de los datos obtenidos (Tabla 9) muestra que el rendimiento aumenta lentamente hasta alcanzar el 15% tras 20 h, mientras que la conversión llega al 45% en el mismo tiempo, un valor significativamente inferior al obtenido cuando la reacción se extraía con disolvente orgánico. Este dato indica que, de alguna manera, la anilina (**1**) se pierde durante los procesos de elaboración y evaporación. Por otra parte, aunque el espectro no muestra una aparición importante de ningún producto secundario que permitiese justificar ese valor de conversión (45%) ni, por tanto, la diferencia con el valor del rendimiento de **2** (15%), sí es importante indicar que se observan algunas señales en la zona aromática (Figura 15) no correspondientes a **1** ni a **2**, además de una señal a 11.5 ppm (Figura 16). Por tanto, podría tratarse de varios subproductos de diferente naturaleza, pero en cantidades pequeñas, lo que dificultaría su cuantificación e identificación. Además, es posible que alguno sea insoluble, lo que impide su observación por RMN de forma clara.

Tabla 9: Resultados de la reacción de **1** a **2** en DMSO-d<sub>6</sub>.



Entrada	Tiempo (h)	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	0	0	0
2	2	5	26
3	3	8	36
4	4	9	38
5	5	10	39
6	20	15	45

(a) Condiciones: **1** (1 equiv., 75 mM), **Ru1** (5 mol%), DMSO-d<sub>6</sub> (1 mL), 37 °C, 20 h, atmósfera de N<sub>2</sub>. Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>).

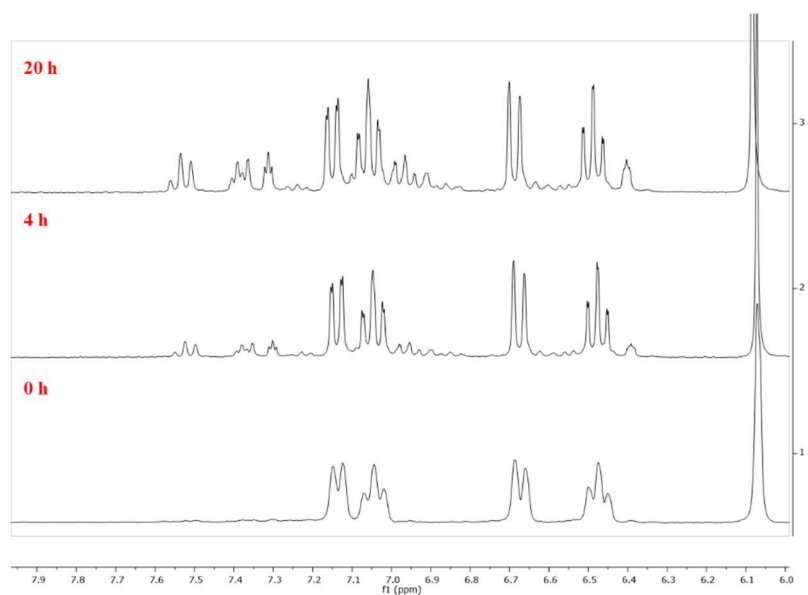


Figura 14: Evolución de la zona aromática del espectro de  $^1\text{H-RMN}$  durante el experimento en  $\text{DMSO-}d_6$ .

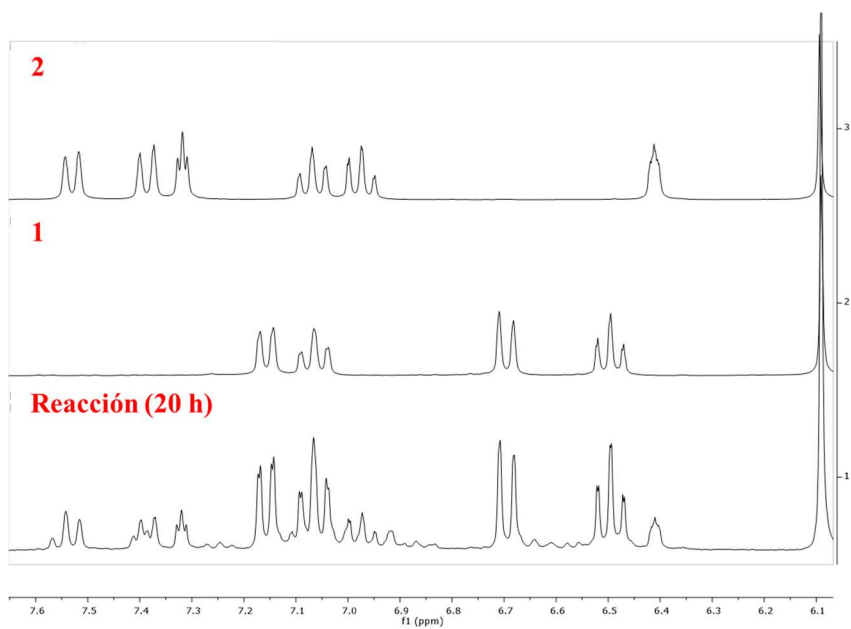


Figura 15: Comparación de la zona aromática del espectro de  $^1\text{H-RMN}$  del experimento en  $\text{DMSO-}d_6$  al cabo de 20 h con la de los espectros de **1** y **2**.

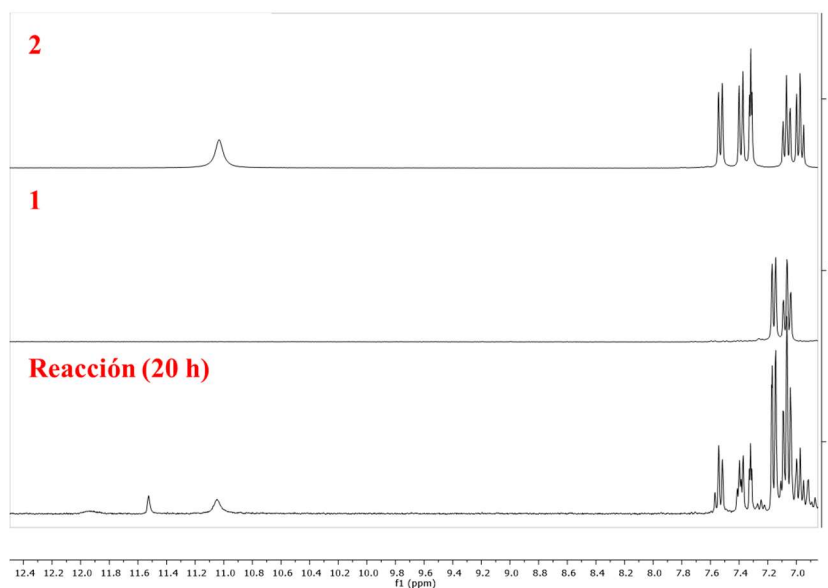
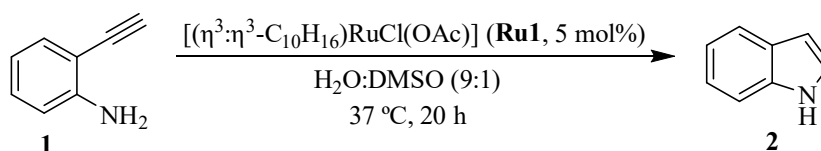


Figura 16: Ampliación del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN en el experimento en  $\text{DMSO-d}_6$  al cabo de 20 h y comparación con los de **1** y **2**.

A continuación, se decidió comprobar si la concentración de **1** afectaba a la eficacia de la reacción. Sin embargo, los rendimientos y conversiones (Tabla 10) no variaron significativamente, teniendo en cuenta los cambios en la concentración realizados (tanto al duplicar como al disminuir a la mitad la concentración de **1**, el rendimiento cae de un 15% en la entrada 2 a un 11%, como se ve en las entradas 1 y 3).

Tabla 10: Influencia de la concentración de **1** en la reacción de **1** a **2**.



Entrada	[ <b>1</b> ] (mM)	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	15	11	70
2	75	15	75
3	150	11	60

(a) Condiciones: **1** (1 equiv.), **Ru1** (5 mol%),  $\text{H}_2\text{O}:\text{DMSO}$  (9:1, 1 mL), 37 °C, 16 h, atmósfera de  $\text{N}_2$ . Elaboración: dilución con  $\text{H}_2\text{O}$  (4 mL), extracción con  $\text{EtOAc}$  (3x2 mL) y evaporación del disolvente 5 min en rotavapor (40 °C, 200 mbar). Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ).

Además, con el fin de detectar las diferentes especies formadas, se analizaron las fases orgánicas y acuosas de las tres reacciones de la Tabla 11 mediante HPLC-MS. Para ello, se tomaron alícuotas de ambas fases y se diluyeron en MeCN. De esta forma, en la fase orgánica se observó una especie a mayores de **1** y **2**, con una masa 16 unidades superior a ambas (que podría

corresponderse, por ejemplo, al aldehído producto del ataque del agua al vinilideno, Figura 17a). Además, se encontraron también señales correspondientes a una masa cuyo valor es el doble de la de **1** y **2**, lo que demuestra que, efectivamente, durante la reacción se forman especies diméricas (se incluyen dos propuestas preliminares en la Figura 17b, que no han podido corroborarse ya que no se han podido aislar todavía). También en las fases acuosas se encontraron señales correspondientes a estos posibles dímeros y una pequeña cantidad de **1**.

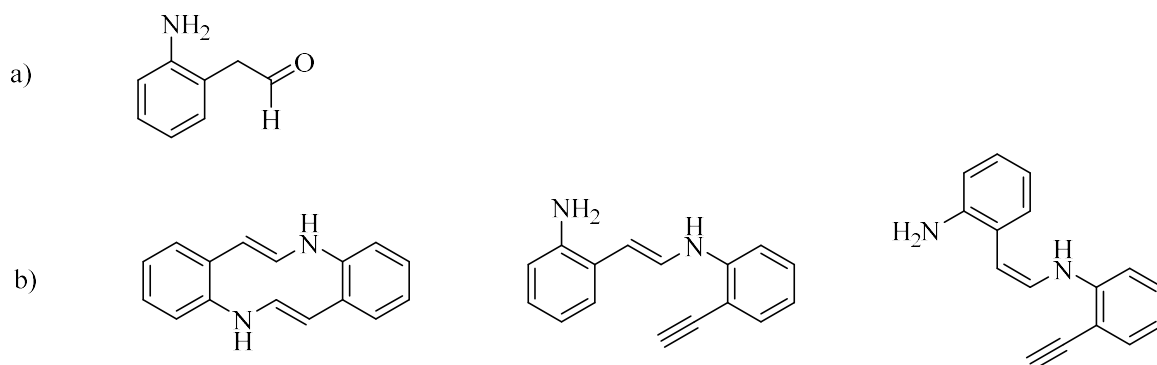


Figura 17: a) Producto del ataque por parte del H<sub>2</sub>O al vinilideno intermedio a partir de **1**. b) Propuestas de dímeros formados durante la reacción.

Estos datos reflejan que una pequeña parte del reactivo se podría quedar retenido en la fase acuosa al realizar la extracción, mientras que otra fracción podría estar formando los subproductos sugeridos en la Figura 15; lo que podría justificar las altas conversiones observadas (es posible que alguna especie no fuese soluble en los disolventes utilizados y, por tanto, no se pudiesen cuantificar o caracterizar por <sup>1</sup>H-RMN). Asimismo, se demostró que los rendimientos obtenidos sí eran fiables, puesto que no se perdía indol en la fase acuosa.

### 3.2. Ligandos azaryphos para la síntesis de indol a través de vinilidenos de rutenio

Como se ha mencionado anteriormente (apartado 1.3.), los complejos de rutenio con ligandos de tipo azaryphos (2-fosfino piridinas) son especialmente útiles en reacciones en que intervienen vinilidenos intermedios.<sup>51</sup> En este sentido, destaca la síntesis de indol a partir de **1** por parte del grupo de Grotjahn (Figura 18),<sup>51</sup> que obtuvo un 99% de **2** a 70 °C utilizando el complejo **Ru3** como catalizador y THF como disolvente.

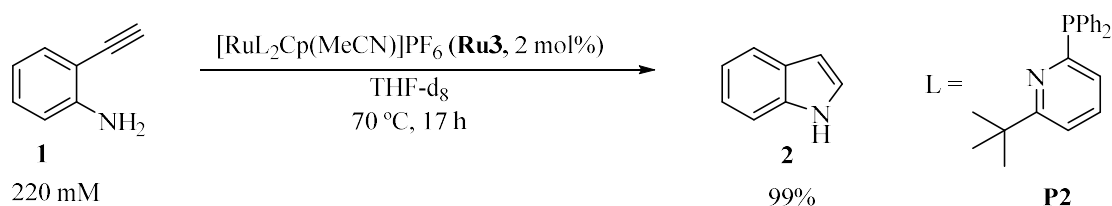


Figura 18: Reacción de **1** a **2** en las condiciones descritas por el grupo de Grotjahn.<sup>51</sup>

Con el fin de evaluar si el catalizador **Ru3** podría ser válido para trasladar a ambientes acuosos y temperaturas de reacción biocompatibles (37 °C), se sintetizó el complejo **Ru3** según el esquema mostrado en la Figura 19. La síntesis consiste en un primer acoplamiento catalizado por un complejo de Pd entre la 2-bromo-6-(tert-butil)piridina y el óxido de difenilfosfina, seguido de una reducción del óxido de fosfina obtenido con SiHCl<sub>3</sub>. A continuación, la fosfina se hace reaccionar con el complejo [CpRu(MeCN)<sub>3</sub>]PF<sub>6</sub> para obtener **Ru3**. Aunque en primer lugar se intentó preparar directamente **P2** utilizando difenil fosfina en vez del óxido de difenil fosfina, su sensibilidad al oxígeno dificultó su purificación. Por tanto, se decidió sintetizar primero **P1** y reducirla a **P2**. A continuación, en el mismo recipiente en el que se llevó a cabo la reducción y sin purificar **P2**, se introdujo el complejo [CpRu(MeCN)<sub>3</sub>]PF<sub>6</sub>. Así, se consiguió **Ru3**, pero no fue posible obtenerlo completamente puro, debido a algunas impurezas derivadas del óxido de fosfina precursor (**P1**).

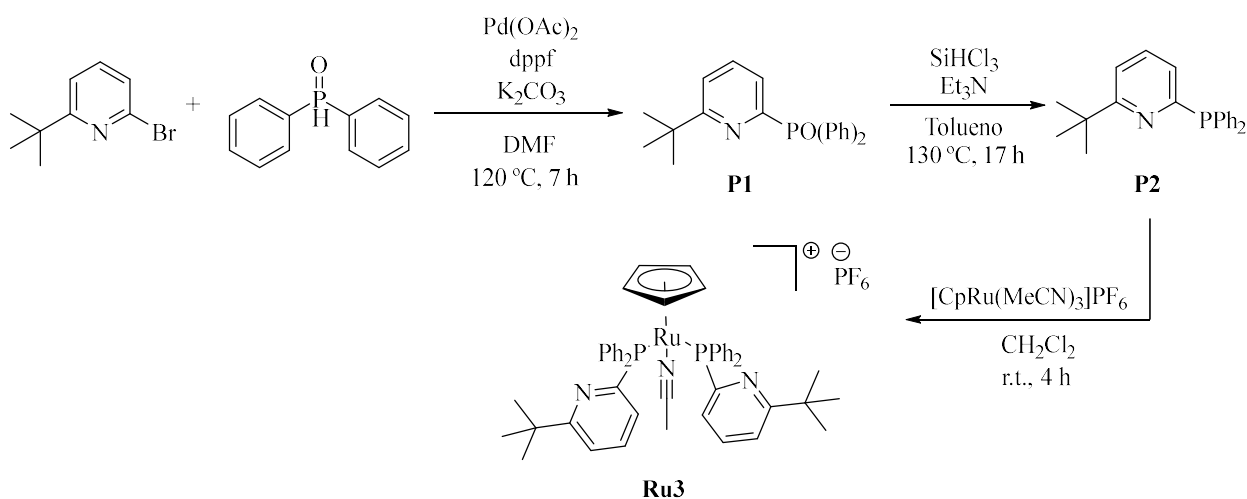
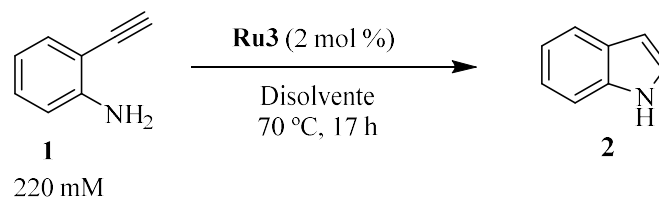


Figura 19: Síntesis del complejo **Ru3**.

No obstante, con este catalizador en mano, ensayamos la transformación de **1** en **2** en THF a 70 °C. Probablemente, dado que el catalizador **Ru3** no estaba completamente puro, el rendimiento obtenido fue de solo del 50%. No obstante, la conversión de **1** sí se correspondió con el rendimiento, ambas del 50%, aproximadamente.

En base a este resultado, se intentó llevar a cabo la reacción utilizando como disolvente cantidades crecientes de agua (Tabla 11). Aunque los rendimientos disminuyeron con la adición de agua, se pudo observar la compatibilidad de la reacción con el medio acuoso, consiguiéndose incluso un 39% de **2** en una mezcla THF:H<sub>2</sub>O en proporción 2:8 (entrada 3). Además, sorprendentemente el proceso se puede llevar a cabo en agua, con un rendimiento del 33%. En todos estos casos, los valores de conversión no fueron muy distintos a los de rendimiento, lo que nos indica que puede ser un catalizador prometedor para este tipo de procesos en medios acuosos.

Tabla 11: Reacción de 1 a 2 en mezclas de THF:H<sub>2</sub>O a 70 °C.

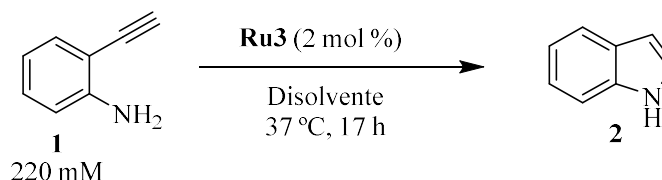


Entrada	Disolvente	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	THF	51	52
2	THF:H <sub>2</sub> O (1:1)	65	70
3	THF:H <sub>2</sub> O (2:8)	39	46
4	H <sub>2</sub> O	33	55

(a) Condiciones: 1 (1 equiv., 220 mM), disolvente (1 mL), 70 °C, 17 h, atmósfera de N<sub>2</sub>. Elaboración: dilución con H<sub>2</sub>O (4 mL), extracción con EtOAc (3x 2mL) y evaporación del disolvente durante 5 min en rotavapor (40 °C, 200 mbar). Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>).

Desafortunadamente, cuando ensayamos estas reacciones a una temperatura de 37 °C, la eficiencia de la reacción fue mucho menor (Tabla 12), lo que pone en evidencia la dificultad para encontrar catalizadores que promuevan estos procesos eficientemente en condiciones biocompatibles. Teniendo en cuenta estos resultados, en un futuro se continuará estudiando este proceso y se intentará optimizar para su traslado a medios biológicos.

Tabla 12: Reacción de 1 a 2 en mezclas de THF:H<sub>2</sub>O a 37 °C.



Entrada	Disolvente	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	THF	8	13
2	THF:H <sub>2</sub> O (1:1)	8	16
3	THF:H <sub>2</sub> O (2:8)	11	21

(a) Condiciones: 1 (1 equiv., 220 mM), disolvente (1 mL), 37 °C, 17 h, atmósfera de N<sub>2</sub>. Elaboración: dilución con H<sub>2</sub>O (4 mL), extracción con EtOAc (3x2 mL) y evaporación del disolvente durante 5 min en rotavapor (40 °C, 200 mbar) Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>).

### 3.3. Alenilidenos de rutenio para la síntesis de furanos

Paralelamente al trabajo descrito en el apartado anterior, se comenzó a estudiar otra reacción de adición nucleófila (en este caso, por parte de un nucleófilo de oxígeno), a través de vinilidenos

y alenilidenos de Ru. Se basa en el precedente descrito por Nishibayashi (Figura 20),<sup>57</sup> que llamó la atención debido a sus suaves condiciones, a 40 °C.

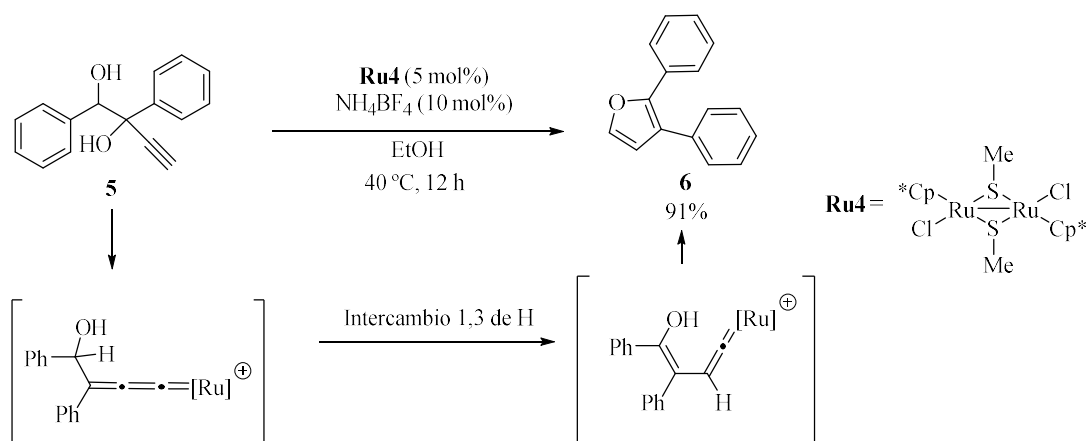
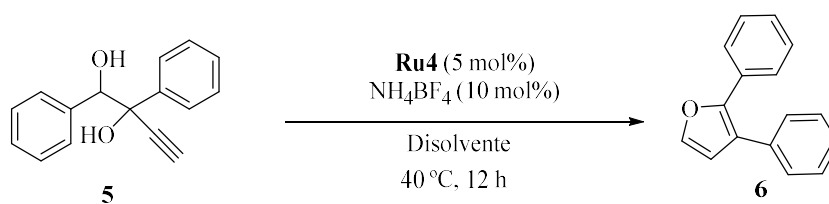


Figura 20: Reacción de formación de furanos a través de vinilidenos descrita por el grupo de Nishibayashi.<sup>57</sup>

Se procedió, por tanto, a la síntesis de **5** y de **Ru4** y, una vez preparados, se replicaron las condiciones citadas, con lo que se obtuvo un rendimiento de **6** de un 93% (Tabla 13, entrada 1). Además, se probó la reacción en mezclas de etanol y agua como disolvente, y se descubrió que, aunque el rendimiento disminuye al añadir agua al medio (los rendimientos de las reacciones en mezclas con agua disminuyen hasta alrededor de un 70%, entrada 2), este vuelve a aumentar si se sigue adicionando agua: el rendimiento vuelve a ser del 93% en una mezcla EtOH:H<sub>2</sub>O 3:7 (entrada 3); y se puede realizar incluso en una mezcla 1:9 con un 77% de rendimiento (entrada 4) Además, la reacción tiene lugar en H<sub>2</sub>O con un 55% de rendimiento (entrada 4).

Tabla 13: Reacción de **5** a **6** en mezclas de EtOH:H<sub>2</sub>O a 40 °C.



Entrada	Disolvente	Rendimiento (%)	Conversión (%)
1	EtOH	93	100
2	EtOH:H <sub>2</sub> O (1:1)	73	82
3	EtOH:H <sub>2</sub> O (3:7)	93	97
4	EtOH:H <sub>2</sub> O (1:9)	77	97
5	H <sub>2</sub> O	55	64

(a) Condiciones: **1** (1 equiv., 40 mM), disolvente (1 mL), 40 °C, 12 h, atmósfera de N<sub>2</sub>. Elaboración: evaporación del disolvente 5 min en rotavapor (40 °C, 100 mbar). Rendimientos y conversiones determinados mediante patrón interno de TMB en <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>).

Teniendo en cuenta que este proceso permite el uso de temperaturas suaves y medios acuosos, en un futuro se continuará estudiando su posible adaptación a condiciones biocompatibles. Además, se intentará utilizar este complejo **Ru4** como catalizador para la isomerización de **1** a **2**, dados los prometedores resultados en medios acuosos observados.

### 3.4. Procedimientos experimentales

#### Información general

##### *Condiciones de trabajo, disolventes y reactivos*

La preparación de los compuestos se llevó a cabo bajo atmósfera inerte de nitrógeno excepto que se especifique lo contrario, empleando una línea de vacío y técnicas estándar.

Las reacciones se realizaron en disolventes anhidros de la casa comercial Sigma Aldrich o Fisher y se usaron sin previa purificación. En caso de utilizarse agua como disolvente, se obtuvo a partir de un sistema de purificación de agua MilliQ integral de Millipore MilliQ. Además, los disolventes empleados en extracciones y en cromatografía de columna se emplearon con el grado de pureza necesario y sin purificación previa. Las adiciones de disolventes y disoluciones se llevaron a cabo vía jeringa de plástico y agujas de la casa comercial Braun.

Para la cromatografía en capa fina, se usó gel de sílice F-254 Merck, con revelado mediante exposición a luz ultravioleta ( $\lambda = 254$  nm,  $\lambda = 365$  nm). Los factores de retención ( $R_f$ ) se han obtenido sobre gel de sílice. Para la cromatografía en columna, se utilizó gel de sílice Silicagel 60A de Acros Organics. Los productos se concentraron eliminando los disolventes a presión reducida en un rotavapor Buchi y un posterior tratamiento en línea de alto vacío.

Los reactivos químicos empleados proceden de las casas comerciales Sigma Aldrich, Alfa Aesar, Merck o Fisher y se usaron sin previa purificación.

##### *Técnicas analíticas e instrumentales*

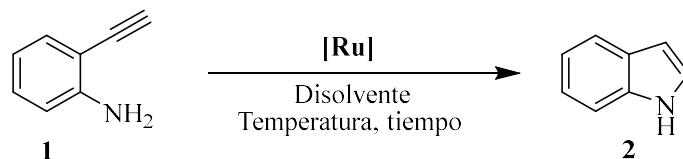
Los espectros de RMN se registraron en el espectrómetro AMX-300 (300.13 MHz para  $^1\text{H}$  y 75.37 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) y se procesaron con la ayuda del programa MestreNova<sup>®</sup>.

Los valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están expresados en partes por millón (ppm) y están referidos a la señal residual del disolvente utilizado (en  $^1\text{H}$ -RMN,  $\text{CDCl}_3$   $\delta = 7.260$  ppm,  $\text{DMSO-d}_6$   $\delta = 2.500$  ppm,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$   $\delta = 5.320$  ppm). Las abreviaturas utilizadas para indicar la multiplicidad de las señales en  $^1\text{H}$ -RMN son: (s) = singlete, (d) = doblete, (dd) = doble doblete, (dt) = doble triplete, (t) = triplete, (c) = cuadruplete y (m) = multiplete o señal sin resolver.

La HPLC analítica se realizó en un HPLC Thermo Ultimate 3000 acoplado a un espectrómetro de masas Bruker AmaZon SL, usando ionización por electrospray (ESI) a temperatura ambiente.

## Procedimientos experimentales

### Procedimiento general para la reacción de 1 a 2



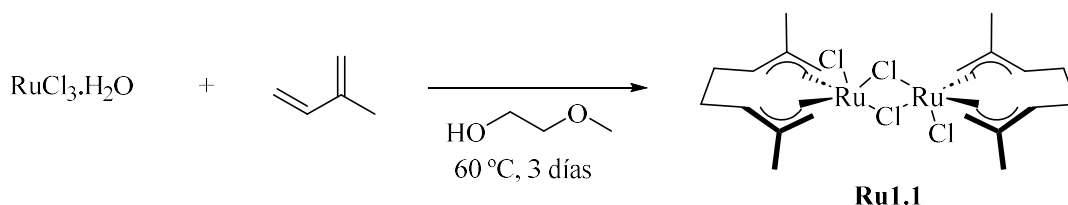
En un tubo Schlenk, se añade **[Ru]** (5 mol%) y se realizan ciclos de vacío-N<sub>2</sub>. Se adiciona 1 mL del disolvente o mezcla de disolventes previamente desoxigenados (mediante burbujeo de N<sub>2</sub> durante 20 minutos) bajo atmósfera inerte de N<sub>2</sub>. A continuación, se añade 1 equiv. de **1** bajo N<sub>2</sub> vía jeringa Hamilton. Se agita la mezcla durante el tiempo necesario a la temperatura adecuada. Finalizada la reacción, se diluye la mezcla en 4 mL de agua y extrae con EtOAc (3x2 mL). La fase orgánica se filtra sobre Florisil y se eliminan los disolventes a presión reducida (200 mbar) para obtener un aceite marrón.

Para el análisis mediante GC-MS, se diluye el crudo en 1 mL de mezcla H<sub>2</sub>O:MeCN (1:1), se añade escatol como patrón interno (1 equiv.) y la muestra se filtra antes de trasladarla a un vial de HPLC.

Para el análisis mediante <sup>1</sup>H-RMN, se añade TMB como patrón interno (0.333 equiv.) y se diluye la mezcla en 0.7 mL de CDCl<sub>3</sub> para trasvasarla a un tubo de RMN. Para cuantificar los rendimientos de **2** y conversiones de **1**, se calculó una media de las integrales de los picos de la zona aromática de ambos y se comparó con la señal del TMB a 6.080 ppm (s, 3H); mientras que la señal correspondiente al H del alquino de **1** se comparó con la señal del TMB a 3.754 ppm (s, 9H).

### Síntesis de **Ru1**

#### Síntesis de **Ru1.1**



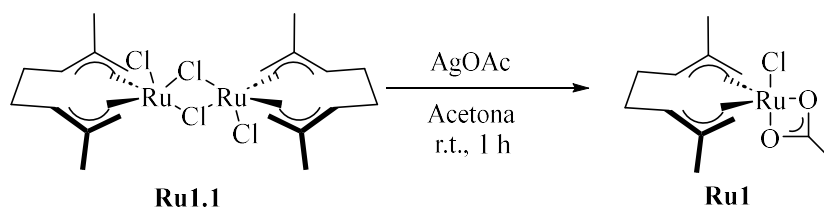
Procedimiento adaptado de: Toerien, J. G., van Rooyen, P. H., *J Chem Soc Dalton Trans.* **1991**, 1563.<sup>58</sup>

En un tubo sellado, se disuelve RuCl<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (500.0 mg, 2.218 mmol, 1.0 equiv.) en 2-metoxietanol (6.5 mL) y se añade isopreno (7.0 mL, 69.982 mmol, 31.554 equiv.). Se agita la mezcla durante 3 días a 60 °C. Por último, se evapora el disolvente y se filtra la solución para obtener 234.6 mg de un sólido rosa oscuro.

Rendimiento: 34%

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6.11 (s, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.39 (s, 1H), 5.24 (s, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.54 (s, 1H), 4.51 (s, 1H), 4.47 (s, 1H), 2.63-2.57 (m, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.26 (s, 3H). Datos de acuerdo con la literatura.<sup>58</sup>

Síntesis de  $[(\eta^3:\eta^3\text{-C}_{10}\text{H}_{16})\text{RuCl}(\text{OAc})]$  (**Ru1**):



Procedimiento adaptado de: Kavanagh, B., Steed, J. W., Tocher, D. A., *J Chem Soc Dalton Trans.* **1993**, 327.<sup>59</sup>

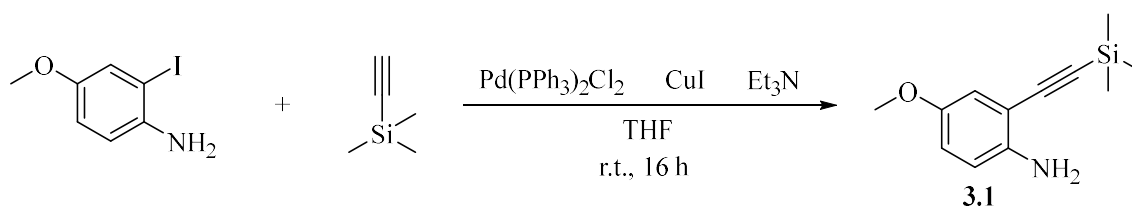
En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se suspende **Ru1.1** (234.6 mg, 0.381 mmol, 1.0 equiv.) en acetona desoxigenada (25.4 mL). Se añade AgOAc (127.1 mg, 0.761 mmol, 2.0 equiv.) y se agita la mezcla, protegida de la luz, durante 1 h. Transcurrido este tiempo, la solución se filtra sobre Celita para separar el precipitado de AgCl y se evapora el disolvente. El aceite naranja obtenido se recristaliza con dietiléter para dar **Ru1** como sólido granate (103.7 mg).

Rendimiento: 37%

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.53 (s, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.23 (s, 1H), 3.59 (s, 1H), 3.51 (s, 1H), 2.59 (m, 4H), 2.32 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.87 (s, 3H). Datos de acuerdo con la literatura.<sup>59</sup>

Síntesis de **3**

Síntesis de **3.1**



Procedimiento adaptado de: Varela-Fernández, A., Varela, J. A., Saá, C., *Synthesis*, **2012**, 44.<sup>54</sup>

En un tubo Schlenk, se añaden, bajo atmósfera de  $\text{N}_2$ , 2-yodo-4-metoxianilina (500.0 mg, 2.008 mmol, 1.0 equiv.), CuI (11.0 mg, 0.060 mmol, 3 mol%) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (1.1 mL, 8.030 mmol, 4.0 equiv.) y se disuelven en THF (8.0 mL). Se añade  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (14.0 mg, 0.020 mmol, 1 mol%) y se agita la mezcla a r.t. durante 16 h. A continuación, se filtra la solución sobre Florisil y se evapora

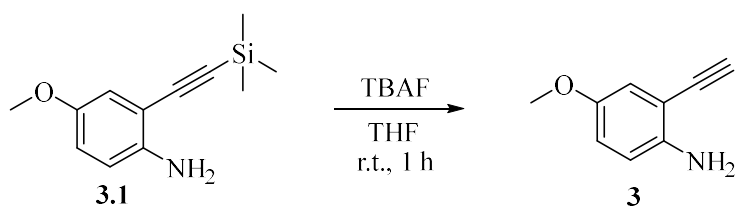
el disolvente. Se diluye la mezcla con EtOAc (10 mL) y se lava con NaCl saturado (3x10 mL). La fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro y se evapora el disolvente para obtener un aceite rojo.

El crudo se purifica mediante una cromatografía de columna sobre carga seca de sílica gel usando hexano:EtOAc (de 99:1 a 70:30), monitorizada por TLC en hexano:EtOAc (99:1). Se aísla el producto **3.1** como aceite rojo (200.2 mg).

Rendimiento: 46%

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.84 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 8.8, 2.9 Hz, 1H), 6.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 0.26 (s, 9H). Datos de acuerdo con la literatura.<sup>54</sup>

### Síntesis de **3**



Procedimiento adaptado de: Varela-Fernández, A., Varela, J. A., Saá, C., *Synthesis*, **2012**, 44.<sup>54</sup>

En un vial seco, se disuelve **Ru1.1** (200.0 mg, 0.912 mmol, 1.0 equiv.) en THF (1.8 mL). Se adiciona, gota a gota, TBAF (1.1 mL, 1.140 mmol, 1.3 equiv.), que causa un color naranja en la solución. Tras agitar a r.t. durante 1 h, se evapora el disolvente, se diluye la mezcla con agua (5 mL), se extrae con dietiléter (5 mL), se lava con NaCl saturado (5 mL) y la fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro. Se evapora el disolvente para obtener un aceite naranja.

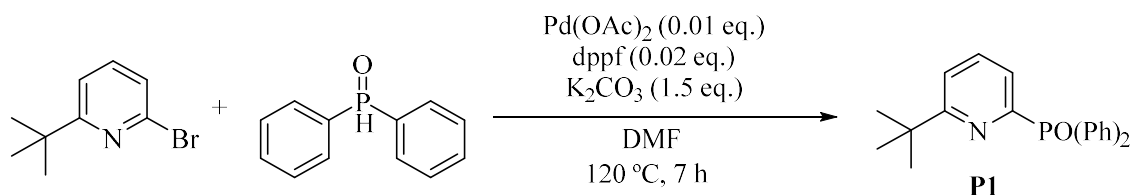
El crudo se purifica mediante una cromatografía de columna sobre carga seca de sílica gel usando hexano:EtOAc (de 90:10 a 80:20), monitorizada por TLC en hexano:EtOAc (70:30). Se aísla el producto **3** como aceite naranja (70.1 mg).

Rendimiento: 52%

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.87 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J* = 8.8, 2.9 Hz, 1H), 6.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.13 – 3.78 (br s, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.38 (s, 1H). Datos de acuerdo con la literatura.<sup>60</sup>

## Síntesis de **Ru3**

### Síntesis de **P1**



Procedimiento adaptado de: Zajkírova, G. G., Mladentsev, D. Y., Borisova, N. E., *Synthesis*, **2019**, 51.<sup>61</sup>

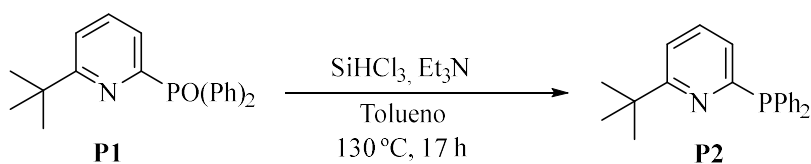
En un tubo Schlenk, se añaden, bajo Ar, 2-bromo-6-(*tert*-butil)piridina (416.8 mg, 1.947 mmol, 1.0 equiv.), óxido de difenilfosfina (472.3 mg, 2.336 mmol, 1.2 equiv.) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (403.6 mg, 2.920 mmol, 1.5 equiv.). Se adicionan de forma conjunta el complejo de Pd (4.4 mg, 0.019 mmol, 1 mol%) y el ligando dppf (21.6 mg, 0.039 mmol, 2 mol%) y se disuelve todo en DMF (10.0 mL). La mezcla se agita a 120 °C durante 7 h. A continuación, la solución se diluye con NaCl saturado (40 mL) y se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x80 mL). La fase orgánica se lava con NaCl saturado (40 mL) y se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro para proceder a secar el disolvente.

El crudo se purifica mediante una cromatografía de columna sobre carga seca de sílica gel usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH:Et<sub>3</sub>N (de 98:1:1 a 94:5:1) monitorizada por TLC en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH:Et<sub>3</sub>N (98:1:1). Se aíslan 358.7 mg de sólido **P1**.

Rendimiento: 55%

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.14–8.10 (m, 1H), 7.99–7.92 (m, 4H), 7.77 (td,  $J = 7.8$ , 4.1 Hz, 1H), 7.49 (td,  $J = 7.3$ , 1.5 Hz, 2H), 7.42 (ddt,  $J = 7.0$ , 5.4, 2.2 Hz, 5H), 1.32 (s, 9H). <sup>31</sup>P-RMN (202 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  19.26. Datos de acuerdo con la literatura.<sup>61</sup>

### Síntesis de **P2**



Procedimiento adaptado de: Iwasaki, T., Tsuge, K., Naito, N., *et al. Nat Commun*, **2023**, 14.<sup>62</sup>

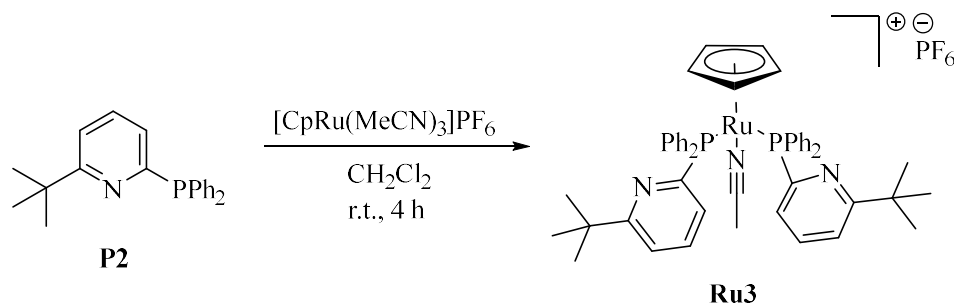
En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se disuelve **P1** (214.6 mg, 0.640 mmol, 1.0 equiv.) en tolueno (6.5 mL) y se añaden triclorosilano (566.8 mg, 4.185 mmol, 6.5 equiv.) y trietilamina (479.9 mg, 4.743 mmol, 7.4 equiv.) a 0 °C bajo nitrógeno. La mezcla se agita a reflujo durante 17 h. Tras evaporar el disolvente, se añade  $\text{NaHCO}_3$  desoxigenado (10 mL) y la solución

se extrae con dietiléter desoxigenado (3x8 mL) bajo Ar. La solución se concentra bajo presión reducida y el sólido se lava con hexano (5 mL) para obtener **P2** como sólido blanco (163.5 mg).

La purificación del compuesto **P2** no fue posible debido a su sensibilidad al oxígeno, por lo que el siguiente paso (síntesis de **Ru3**) se llevó a cabo en el mismo recipiente, sin purificación previa.

Rendimiento: 80%

### Síntesis de **Ru3**



Procedimiento adaptado de: Grotjahn, D. B., Lev, D. A., *J Am Chem Soc.* **2004**, 126.<sup>50</sup>

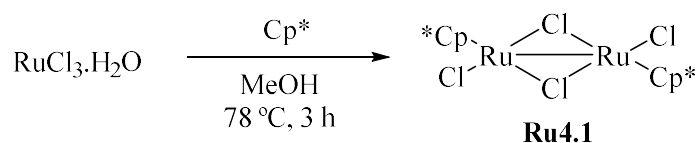
En el matraz redondo de 100 mL en el que se sintetizó **P2** (163.5 mg, 0.512 mmol, 1.0 equiv.) se añade CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.0 mL) desoxigenado. A continuación, se adiciona, bajo Ar, [CpRu(MeCN)<sub>3</sub>]PF<sub>6</sub> (117.18 mg, 0.256 mmol, 0.5 equiv.) se agita la mezcla a r.t. durante 4 h. A continuación, se lava el sólido obtenido con pentano desoxigenado (2x5 mL) y se seca a vacío, para obtener un sólido amarillo. El crudo se purifica mediante una cromatografía de columna sobre carga seca de sílica gel usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:IPA (de 99:1 a 97.5:2.5), monitorizada por TLC en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:IPA (97.5:2.5). Se aíslan 200.2 mg de **Ru3** como sólido amarillo.

Rendimiento: 79%

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ 7.38 – 7.29 (m, 12H), 7.23 – 7.19 (m, 4H), 7.13 – 7.06 (m, 8H), 6.57 – 6.53 (m, 2H), 4.36 (s, 5H), 2.09 (t, *J* = 1.5 Hz, 3H), 1.32 (s, 18H). <sup>31</sup>P-RMN (202 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ 43.73. Datos de acuerdo con la literatura.<sup>50</sup>

### Síntesis de **Ru4**

#### Síntesis de **Ru4.1**

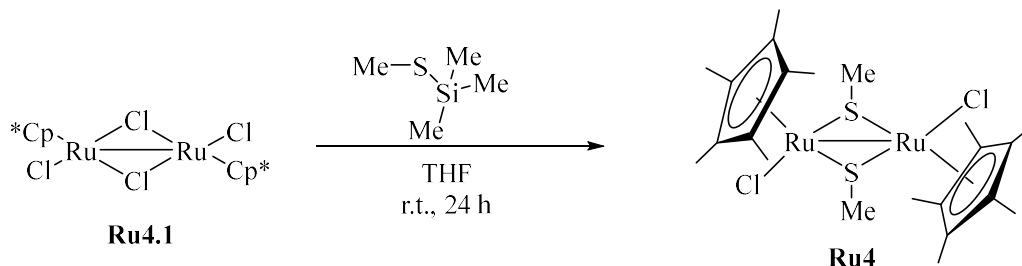


En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se disuelven RuCl<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (1260.5 mg, 4.281 mmol, 1.0 equiv.) y Cp\* (1.7 mL, 10.606 mmol, 2.2 equiv.) en MeOH (15 mL) y la mezcla se agita a reflujo durante 3 h. La solución marrón oscura se enfría en el congelador y el precipitado violeta

oscuro se filtra, se lava con MeOH frío (15 mL) y se seca bajo presión reducida. Se obtienen 1359.7 mg de **Ru4.1** como sólido cristalino violeta oscuro.

Rendimiento: 92%

#### Síntesis de **Ru4**



Procedimiento adaptado de: Nishibayashi, Y., Wakiji, I., Hidai, M., *J Am Chem Soc.* **2000**, *122*.<sup>63</sup>

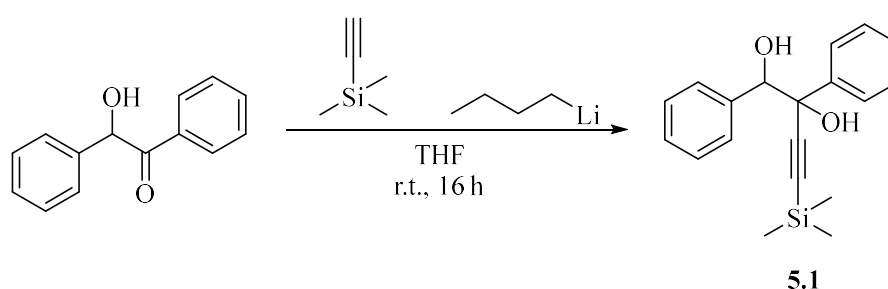
En un matraz de fondo redondo de 100 mL, a una suspensión de **Ru4.1** (1359.7 mg, 2.213 mmol, 1.0 equiv.) en THF (28 mL) se añade trimetil(metiltio)silano (0.78 mL, 5.533 mmol, 2.5 equiv.) y se agita a r.t. durante 24 h. El precipitado marrón se filtra, se lava con hexano (20 mL) y se recristaliza con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:hexano 1:1, para dar **Ru4** como sólido violeta oscuro (548.3 mg).

Rendimiento: 50%

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.53 (s, 6H), 1.53 (s, 30H). Datos de acuerdo con la literatura.<sup>63</sup> HRMS-ESI: Calculado para C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>Cl<sub>2</sub>Ru<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [M-Cl]<sup>+</sup>: 603.23; encontrado: 603.23.

#### Síntesis de **5**

##### Síntesis de **5.1**



Procedimiento adaptado de: Bew, S.P., El-Taeb, G.M.M., Jones, S., Knight, D.W. and Tan, W.-F., *Eur J Org Chem*, *2007*.<sup>60</sup>

En un tubo Schlenk, se disuelve etiniltrimetilsilano (1.3 mL, 9.423 mmol, 2.0 equiv.) en THF (19 mL). Se enfría la mezcla hasta -78 °C y se agita 15 min. Se añade n-butil-litio (4.1 mL, 10.365 mmol, 2.2 equiv.) y se agita durante 1 h a la misma temperatura. A continuación, se adiciona benzoína (1.000 g, 4.711 mmol, 1.0 equiv.). Se deja calentar hasta r.t. y se agita durante 16 h.

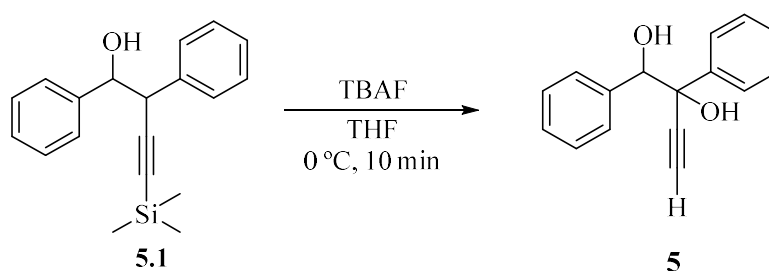
Se diluye la solución con NH<sub>4</sub>Cl (30 mL), se extrae con EtOAc (3x30 mL) y se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtiene un precipitado blanco.

El crudo se purifica mediante una cromatografía de columna sobre carga seca de sílica gel usando hexano:EtOAc (80:20) monitorizada por TLC en hexano:EtOAc (80:20). Se aíslan 747.9 mg de **5.1** como sólido blanco.

Rendimiento: 51%

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.48–7.41 (m, 2H), 7.33 – 7.15 (m, 8H), 4.89 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 3.02 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 2.86 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 0.26 (s, 9H). Datos de acuerdo con la literatura.<sup>60</sup>

### Síntesis de **5**



Procedimiento adaptado de: Bew, S.P., El-Taeb, G.M.M., Jones, S., Knight, D.W. and Tan, W.-F., **2007**, *Eur J Org Chem*, *2007*.<sup>60</sup>

En un tubo Schlenk, se disuelve **5.1** (500.0 mg, 1.610 mmol, 1.0 equiv.) en THF (8.1 mL). Se enfría la solución a 0 °C y se agita durante 10 min. A continuación, se añade el TBAF (1.6 mL, 1.610 mmol, 1.0 equiv.) gota a gota, lo que conlleva un cambio de color de amarillo a naranja. Una vez transcurrido el tiempo, se diluye la mezcla con agua (10 mL) y se extrae con dietiléter (3x10 mL). Se vuelve a lavar con agua (10 mL) para eliminar los restos de THF y se seca la fase orgánica con MgSO<sub>4</sub> anhidro. Tras evaporar el disolvente, se redisuelve el aceite en EtOAc (2 mL) y se diluye con hexano (8 mL). Se enfría en el congelador durante 2 h y se obtiene **5** (252.0 mg) como sólido cristalino blanco tras decantar el disolvente y secar el precipitado bajo presión reducida.

Rendimiento: 66%

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.44 (m, 2H), 7.31–7.27 (m, 3H), 7.24–7.12 (m, 5H), 4.90 (s, 1H), 2.90 (br s, 1H, OH), 2.75 (br s, 1H, OH), 2.69 (s, 1H). Datos de acuerdo con la literatura.<sup>60</sup>

## 4. CONCLUSIONES

En este proyecto, se ha estudiado la optimización de la isomerización de *orto*-alquil anilinas a indoles para su traslado a medios biológicos. Esta reacción transcurre a través de vinilidenos de rutenio, que habitualmente participan en procesos que requieren altas temperaturas para ser eficientes. En concreto, se ha intentado adaptar a condiciones biocompatibles la formación de indol a partir de 2-etinilanilina catalizada por complejos de rutenio que han sido utilizados en reacciones que involucran vinilidenos metálicos, pero siempre en disolventes orgánicos y a altas temperaturas. Gratamente, se ha conseguido llevar a cabo la reacción en medios acuosos, y en un futuro se intentará mejorar el método para conseguir realizarla a temperaturas biocompatibles.

Además, se ha sintetizado un complejo de rutenio con un ligando azaryphos, previamente estudiado por su eficiencia en hidrataciones de alquinos anti-Markovnikov y síntesis de indoles a través de vinilidenos. Se ha demostrado que la formación de indol a partir de 2-etinilanilina catalizada por este complejo puede tener lugar en medios acuosos con buenos resultados. En un futuro, se pretende mejorar el procedimiento para conseguir disminuir la temperatura hasta 37 °C.

Por último, se ha preparado un complejo de rutenio capaz de catalizar la formación de furanos a través de vinilidenos y alenilidenos de rutenio. Esta reacción había sido descrita en etanol, pero se ha conseguido llevar a cabo en medios acuosos a 40 °C con resultados muy prometedores, lo cual favorece su traslado a medios biológicos.

Estas reacciones abren la puerta a futuras investigaciones acerca de la introducción de los vinilidenos metálicos en Química Bioortogonal, permitiendo una mayor versatilidad mecanística en las reacciones realizadas en el interior celular y la formación de moléculas de alto interés biológico como los indoles y los furanos.

## CONCLUSIÓN

Neste proxecto, estudouse a optimización da isomerización de *orto*-alquil anilinas a indois para o seu traslado a medios biolóxicos. Esta reacción transcorre a través de vinilidenos de rutenio, que habitualmente participan en procesos que requiren altas temperaturas para ser eficientes. En concreto, intentouse adaptar a condicións biocompatibles a formación de indol a partir de 2-etinilanilina catalizada por complexos de rutenio utilizados en reaccións que involucran vinilidenos metálicos, pero sempre en disolventes orgánicos e a altas temperaturas. Gratamente, conseguíuse levar a cabo a reacción en medios acuosos, e nun futuro intentarase mellorar o método para conseguir realizala a temperaturas biocompatibles.

Ademais, sintetizouse un complexo de rutenio cun ligando azaryphos, previamente estudado pola súa eficiencia en hidratacións de alquinos anti-Markovnikov e síntese de indois a

través de vinilidenos. Demostrouse que a formación de indol a partir de 2-etinilanilina catalizada por este complexo pode ter lugar en medios acuosos con bos resultados. Nun futuro, preténdese mellorar o procedemento para conseguir diminuír a temperatura ata 37 °C.

Por último, preparouse un complexo de rutenio capaz de catalizar a formación de furanos a través de vinilidenos e alenilidenos de rutenio. Esta reacción fora descrita en etanol, pero conseguíuse levar a cabo en medios acuosos a 40 °C, con resultados moi prometedores, o cal favorece o seu traslado a medios biolóxicos.

Estas reaccións abren a porta a futuras investigacións sobre a introdución dos vinilidenos metálicos en Química Bioortogonal, permitindo unha maior versatilidade mecanística nas reaccións realizadas no interior celular e a formación de moléculas de alto interese biolóxico como os indois e os furanos.

## CONCLUSIONS

In this project, we have studied the optimization of the isomerization of ortho-alkynyl anilines to indoles for its transfer to biological media. This reaction takes place through ruthenium vinylidenes, which usually participate in processes that require high temperatures for them to be efficient. Specifically, we have tried to adapt to biocompatible conditions the formation of indole from 2-ethynylaniline catalysed by ruthenium complexes which have been used in reactions that involve metallic vinylidenes, but always in organic solvents and at high temperatures. Gratifyingly, we have achieved to perform the reaction in aqueous media, and, in the future, we will try to improve the method to be able to perform it at biocompatible temperatures.

Furthermore, we have synthesized a ruthenium complex containing an azaryphos ligand, which has been previously studied because of its efficiency in anti-Markovnikov alkyne hydrations and indole synthesis through vinylidenes. We have demonstrated that the formation of indole from 2-ethynylaniline catalysed by this complex can take place in aqueous media with good results. In the future, we will try to improve the procedure to be able to lower the temperature down to 37 °C.

Finally, we have prepared a ruthenium complex capable of catalysing the formation of furans through ruthenium vinylidenes and allenylidenes. This reaction had been described in ethanol, but we managed to perform it in aqueous media at 40 °C with very promising results, which favours its transfer to biological media.

These reactions open the door to future investigations on the introduction of metallic vinylidenes into Bioorthogonal Chemistry, allowing a greater mechanistic versatility in the reactions we perform in cells, as well as the formation of highly biologically interesting molecules such as indoles and furans.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hang, H. C.; Yu, C.; Kato, D. L.; Bertozzi, C. R.; Simons, K. A metabolic Labeling Approach toward Proteomic Analysis of Mucin-Type O-Linked Glycosylation. *Proc Natl Acad Sci. U. S. A.* **2003**, *100* (25), 14846-14851.
2. Scinto, S. L.; Bilodeau, D. A.; Hincapie, R.; Lee, W.; Nguyen, S. S.; Xu, M.; Am Ende, C. W.; Finn, M. G.; Lang, K.; Lin, Q.; Pezacki, J. P.; Prescher, J. A.; Robillard, M. S.; Fox, J. M. Bioorthogonal Chemistry. *Nat Rev Methods Primers* **2021**, *1* (30).
3. Sletten, E. M.; Bertozzi, C. R. Bioorthogonal Chemistry: Fishing for Selectivity in a Sea of Functionality. *Angew Chem Int Ed* **2009**, *48* (38), 6974-6998.
4. Lim, R. K. V.; Lin, Q. Bioorthogonal Chemistry: Recent Progress and Future Directions. *Chem Commun* **2010**, *46* (10), 1589-1600.
5. Rideout, D. Self-assembling cytotoxins. *Science* **1986**, *233* (4763), 561-563.
6. Saxon, E.; Bertozzi, C. R. Cell Surface Engineering by a Modified Staudinger Reaction. *Science* **2000**, *287* (5460), 2007-2010.
7. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew Chem Int Ed.* **2001**, *40* (11), 2004-2021.
8. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes. *Angew Chem Int Ed.* **2002**, *41* (14), 2596-2599.
9. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J Org Chem.* **2002**, *67* (9), 3057-3064.
10. Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R. Copper-Free Click Chemistry for Dynamic *in vivo* Imaging. *Proc Nat. Acad Sci U. S. A.* **2007**, *104* (43), 16793-16797.
11. Wittig, G.; Krebs, A. Zur Existenz niedergliedriger Cycloalkine, I. *Chem Ber.* **1961**, *94* (12), 3260-3275.
12. Blackman, M. L.; Royzen, M.; Fox, J. M. Tetrazine Ligation: Fast Bioconjugation Based on Inverse-Electron-Demand Diels–Alder Reactivity. *J Am Chem Soc.* **2008**, *130* (41), 13518-13519.
13. Devaraj, N. K.; Weissleder, R.; Hilderbrand, S. A. Tetrazine-Based Cycloadditions: Application to Pretargeted Live Cell Imaging. *Bioconjug Chem.* **2008**, *19* (12), 2297-2299.
14. Lim, R. K. V.; Lin, Q. Photoinducible Bioorthogonal Chemistry: A Spatiotemporally Controllable Tool to Visualize and Perturb Proteins in Live Cells. *Acc Chem Res.* **2011**, *44* (9), 828-839.

15. Song, W.; Wang, Y.; Qu, J.; Lin, Q. Selective Functionalization of a Genetically Encoded Alkene-Containing Protein via “Photoclick Chemistry” in Bacterial Cells. *J Am Chem Soc.* **2008**, *130* (30), 9654-9655.
16. Song, W.; Wang, Y.; Yu, Z.; Vera, C. I. R.; Qu, J.; Lin, Q. A Metabolic Alkene Reporter for Spatiotemporally Controlled Imaging of Newly Synthesized Proteins in Mammalian Cells. *ACS Chem Biol.* **2010**, *5* (9), 875-885.
17. Li, Z.; Qian, L.; Li, L.; Bernhammer, J. C.; Huynh, H. V.; Lee, J. S.; Yao, S. Q. Tetrazole Photoclick Chemistry: Reinvestigating Its Suitability as a Bioorthogonal Reaction and Potential Applications. *Angew Chem Int Ed.* **2016**, *55* (6), 2002-2006.
18. Poloukhine, A. A.; Mbua, N. E.; Wolfert, M. A.; Boons, G.; Popik, V. V. Selective Labeling of Living Cells by a Photo-Triggered Click Reaction. *J Am Chem Soc.* **2009**, *131* (43), 15769-15776.
19. Arumugam, S.; Popik, V. V. Light-Induced Hetero-Diels-Alder Cycloaddition: A Facile and Selective Photoclick Reaction. *J Am Chem Soc.* **2011**, *133* (14), 5573-5579.
20. Kondo, T. Ruthenium: Organometallic Chemistry. In *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, R.A. Scott (Ed.), **2020**, 1-42.
21. Martínez-Calvo, M.; Couceiro, J. R.; Destito, P.; Rodríguez, J.; Mosquera, J.; Mascareñas, J. L. Intracellular Deprotection Reactions Mediated by Palladium Complexes Equipped with Designed Phosphine Ligands. *ACS Catal.* **2018**, *8* (7), 6055-6061.
22. Wang, X.; Liu, Y.; Fan, X.; Wang, J.; Ngai, W. S. C.; Zhang, H.; Li, J.; Zhang, G.; Lin, J.; Chen, P. R. Copper-Triggered Bioorthogonal Cleavage Reactions for Reversible Protein and Cell Surface Modifications. *J Am Chem Soc.* **2019**, *141* (43), 17133-17141.
23. Gutiérrez-González, A.; López, F.; Mascareñas, J. L. Ruthenium Catalysis in Biological Habitats. *Helv Chim Acta* **2023**, *106* (4).
24. Keppler, B. K.; Rupp, W.; Juhl, U. M.; Endres, H.; Niebl, R.; Balzer, W. Synthesis, molecular structure, and tumor-inhibiting properties of imidazolium trans-bis(imidazole)tetrachlororuthenate(III) and its methyl-substituted derivatives. *Inorg Chem.* **1987**, *26* (26), 4366-4370.
25. Streu, C.; Meggers, E. Ruthenium-Induced Allylcarbamate Cleavage in Living Cells. *Angew Chem Int Ed.* **2006**, *45* (34), 5645-5648.
26. Tomás-Gamasa, M.; Martínez-Calvo, M.; Couceiro, J. R.; Mascareñas, J. L. Transition metal catalysis in the mitochondria of living cells. *Nat Commun.* **2016**, *7* (12538).
27. Tonga, G. Y.; Jeong, Y.; Duncan, B.; Mizuhara, T.; Mout, R.; Das, R.; Kim, S. T.; Yeh, Y.; Yan, B.; Hou, S.; Rotello, V. M. Supramolecular regulation of bioorthogonal catalysis in cells using nanoparticle-embedded transition metal catalysts. *Nat Chem.* **2015**, *7* (7), 597-603.

28. Novak, B. M.; Grubbs, R. H. Catalytic organometallic chemistry in water: the aqueous ring-opening metathesis polymerization of 7-oxanorbornene derivatives. *J Am Chem Soc.* **1988**, *110* (22), 7542-7543.
29. Tsantrizos, Y. S.; Ferland, J.; McClory, A.; Poirier, M.; Farina, V.; Yee, N. K.; Wang, X.; Haddad, N.; Wei, X.; Xu, J.; Zhang, L. Olefin ring-closing metathesis as a powerful tool in drug discovery and development – potent macrocyclic inhibitors of the hepatitis C virus NS3 protease. *J Organ Chem*, **2006**, *691* (24), 5163-5171.
30. Hong, S. H.; Grubbs, R. H. Highly Active Water-Soluble Olefin Metathesis Catalyst. *J Am Chem Soc.* **2006**, *128* (11), 3508-3509.
31. Lin, Y. A.; Chalker, J. M.; Floyd, N.; Bernardes, G. J. L.; Davis, B. G. Allyl Sulfides Are Privileged Substrates in Aqueous Cross-Metathesis: Application to Site-Selective Protein Modification. *J Am Chem Soc.* **2008**, *130* (30), 9642-9643.
32. Jeschek, M.; Reuter, R.; Heinisch, T.; Trindler, C.; Klehr, J.; Panke, S.; Ward, T. R. Directed evolution of artificial metalloenzymes for in vivo metathesis. *Nature* **2016**, *537*, 661-665.
33. Gutiérrez, S.; Tomás-Gamasa, M.; Mascareñas, J. L. Organometallic catalysis in aqueous and biological environments: harnessing the power of metal carbenes. *Chem Sci.* **2022**, *13* (22), 6478-6495.
34. Iwasa, S.; Takezawa, F.; Tuchiya, Y.; Nishiyama, H. Asymmetric cyclopropanation in protic media conducted by chiral bis(hydroxymethyl-dihydrooxazolyl)pyridine–ruthenium catalysts. *Chem Commun.* **2001**, (1), 59-60.
35. Nicolas, I.; Maux, P. L.; Simonneaux, G. Synthesis of chiral water-soluble metalloporphyrins (Fe, Ru.): new catalysts for asymmetric carbene transfer in water. *Tet Lett.* **2008**, *49* (40), 5793-5795.
36. Gutiérrez, S.; Tomás-Gamasa, M.; Mascareñas, J. L. Exporting Metal-Carbene Chemistry to Live Mammalian Cells: Copper-Catalyzed Intracellular Synthesis of Quinoxalines Enabled by N–H Carbene Insertions. *Angew Chem Int Ed.* **2021**, *60* (40), 22017-22025.
37. Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Jia, G. Ruthenium-Catalyzed Cycloaddition of Alkynes and Organic Azides. *J Am Chem Soc.* **2005**, *127* (46), 15998-15999.
38. Destito, P.; Couceiro, J. R.; Faustino, H.; López, F.; Mascareñas, J. L. Ruthenium-Catalyzed Azide–Thioalkyne Cycloadditions in Aqueous Media: A Mild, Orthogonal, and Biocompatible Chemical Ligation. *Angew Chem Int Ed.* **2017**, *56* (36), 10766-10770.

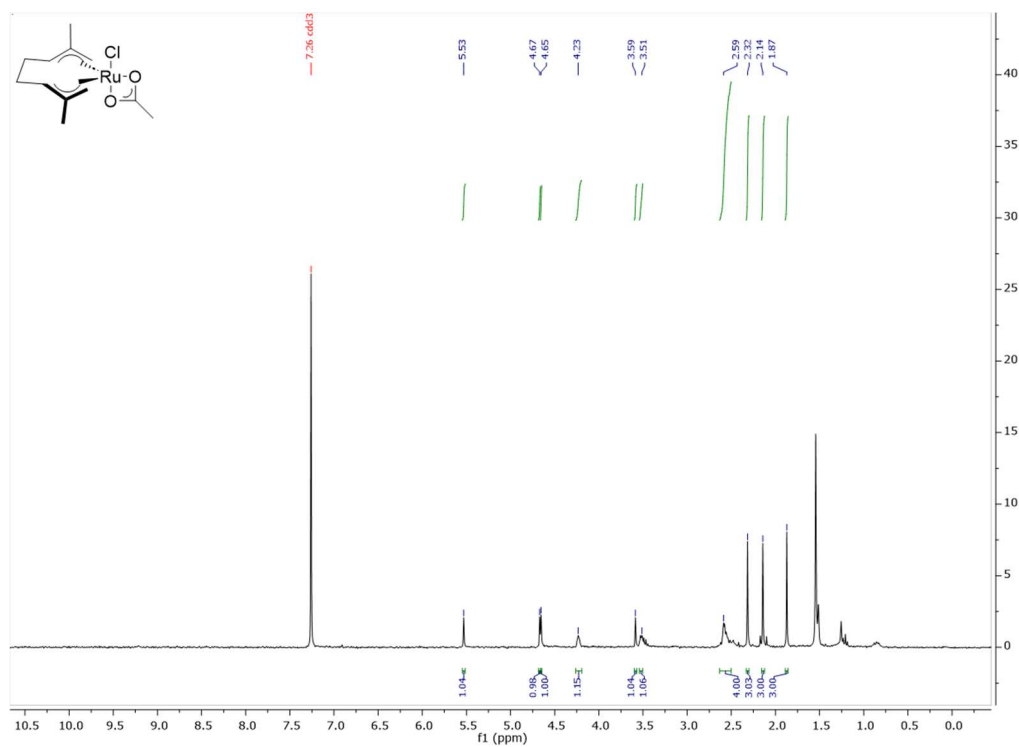
39. Gutiérrez-González, A.; Destito, P.; Couceiro, J. R.; Pérez-González, C.; López, F.; Mascareñas, J. L. Bioorthogonal Azide–Thioalkyne Cycloaddition Catalyzed by Photoactivatable Ruthenium (II) Complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60* (29), 16059-16066.
40. Adriaenssens, L.; Severa, L.; Vavra, J.; Šálová, T.; Hývl, J.; Čížková, M.; Pohl, R.; Šaman, D.; Teplý, F. Bio- and air-tolerant carbon–carbon bond formations via organometallic ruthenium catalysis. *Collect Czech Chem Commun.* **2009**, *74* (7-8), 1023-1034.
41. Miguel-Ávila, J.; Tomás-Gamasa, M.; Mascareñas, J. L. Intracellular Ruthenium-Promoted (2+2) Cycloadditions. *Angew Chem Int Ed.* **2020**, *59* (40), 17628-17633.
42. Betanzos-Lara, S.; Liu, Z.; Habtemariam, A.; Pizarro, A. M.; Qamar, B.; Sadler, P. J. Organometallic Ruthenium and Iridium Transfer-Hydrogenation Catalysts Using Coenzyme NADH as a Cofactor. *Angew Chem Int Ed.* **2012**, *51* (16), 3897-3900.
43. Vidal, C.; Tomás-Gamasa, M.; Gutiérrez-González, A.; Mascareñas, J. L. Ruthenium-Catalyzed Redox Isomerizations inside Living Cells. *J Am Chem Soc.* **2019**, *141* (13), 5125-5129.
44. Taylor, M. T.; Nelson, J. E.; Suero, M. G.; Gaunt, M. J. A protein functionalization platform based on selective reactions at methionine residues. *Nature.* **2018**, *562* (7728), 563-568.
45. Sato, S.; Nakamura, H. Ligand-Directed Selective Protein Modification Based on Local Single-Electron-Transfer Catalysis. *Angew Chem Int Ed.* **2013**, *52* (33), 8681-8684.
46. Watson, E. E.; Russo, F.; Moreau, D.; Winssinger, N. Optochemical Control of Therapeutic Agents through Photocatalyzed Isomerization. *Angew Chem Int Ed.* **2022**, *61* (28).
47. Roh, S. W.; Choi, K.; Lee, C. Transition Metal Vinylidene- and Allenylidene-Mediated Catalysis in Organic Synthesis. *Chem Rev* **2019**, *119* (6), 4293-4356.
48. Donovan, P. M.; Scott, L. T. Elaboration of Diaryl Ketones into Naphthalenes Fused on Two or Four Sides: A Naphthoannulation Procedure. *J Am Chem Soc.* **2004**, *126* (10), 3108-3112.
49. Li, L.; Zeng, M.; Herzon, S. B. Broad-Spectrum Catalysts for the Ambient Temperature Anti-Markovnikov Hydration of Alkynes. *Angew Chem Int Ed.* **2014**, *53* (30), 7892-7895.
50. Grotjahn, D. B.; Lev, D. A. A General Bifunctional Catalyst for the Anti-Markovnikov Hydration of Terminal Alkynes to Aldehydes Gives Enzyme-Like Rate and Selectivity Enhancements. *J Am Chem Soc.* **2004**, *126* (39), 12232-12233.
51. Nair, R.; Lee, P.; Rheingold, A.; Grotjahn, D. Single Bifunctional Ruthenium Catalyst for One-Pot Cyclization and Hydration giving Functionalized Indoles and Benzofurans. *Chemistry.* **2010**, *16* (27), 7992-7995.
52. Varela, J. A.; González-Rodríguez, C.; Saá, C. Catalytic Transformations of Alkynes via Ruthenium Vinylidene and Allenylidene Intermediates. In *Ruthenium in Catalysis*; Dixneuf, P. H., Bruneau, C., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2014; pp 237-287.

53. Varela-Fernández, A.; Varela, J. A.; Saá, C. Ruthenium-Catalyzed Cycloisomerization of Aromatic Homo- and Bis-Homopropargylic Amines/Amides: Formation of Indoles, Dihydroisoquinolines and Dihydroquinolines. *Adv Synth Catal.* **2011**, *353* (11-12), 1933-1937.
54. Varela-Fernández, A.; Varela, J. A.; Saá, C. Formation of Indoles, Dihydroisoquinolines, and Dihydroquinolines by Ruthenium-Catalyzed Heterocyclizations. *Synthesis* **2012**, *44*, 3285-3295.
55. Merlic, C. A., Pauly, M. E. Ruthenium-Catalyzed Cyclizations of Dienylalkynes Via Vinylidene Intermediates. *J Am Chem Soc.* **1996**, *118* (45), 11319-11320.
56. Bianchini, C.; Peruzzini, M.; Zanobini, F.; Frediani, P.; Albinati, A. A ruthenium(II) enynyl complex mediates the catalytic dimerization of 1-alkynes to Z-1,4-disubstituted enynes. *J Am Chem Soc.* **1991**, *113* (14), 5453-5454.
57. Yada, Y.; Miyake, Y.; Nishibayashi, Y. Ruthenium-Catalyzed Intramolecular Cyclization of 3-Butyne-1,2-diols into Furans. *Organometallics* **2008**, *27* (14), 3614-3617.
58. Toerien, J. G.; van Rooyen, P. H. Bis(allyl) ruthenium (IV) complexes. Part 2. Ruthenium complexes containing  $\sigma$ - and  $\mu$ -pyrazine and  $\sigma$ - and  $\mu$ -bis(diphenylphosphino)methane (dppm) ligands. Crystal structures of [ $\{\text{Ru}(\eta^3:\eta^3\text{-C}_{10}\text{H}_{16})\text{Cl}_2\}_2(\mu\text{-dppm})\} \cdot \text{Me}_2\text{CO} \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ ] and [ $\{\text{Ru}(\eta^3:\eta^3\text{-C}_{10}\text{H}_{16})\text{Cl}_2\} \{\text{Ru}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Cl}_2\}(\mu\text{-dppm})\} \cdot 1.5\text{CHCl}_3$ ]. *J Chem Soc, Dalton Trans.* **1991**, *10* (1), 2693-2702.
58. Kavanagh, B.; Steed, J. W.; Tocher, D. A. Mono- and bi-dentate carboxylato complexes of ruthenium (IV). *J Chem Soc, Dalton Trans.* **1993**, *2* (1), 327-335.
60. Bew, S. P.; El-Taeb, G.; Jones, S.; Knight, D. W.; Tan, W. Expedient Syntheses of  $\beta$ -Iodofurans by 5-endo-dig Cyclisations. *Eur J Org Chem.* **2007**, *2007* (34), 5759-5770.
61. Zakirova, G. G.; Mladentsev, D. Y.; Borisova, N. E. Palladium-Catalyzed C–P Cross-Coupling between (Het)aryl Halides and Secondary Phosphine Oxides. *Synthesis.* **2019**, *51* (11), 2379-2386.
62. Iwasaki, T.; Tsuge, K.; Naito, N.; Nozaki, K. Chemoselectivity change in catalytic hydrogenolysis enabling urea-reduction to formamide/amine over more reactive carbonyl compounds. *Nat Commun.* **2023**, *14* (3279).
63. Nishibayashi, Y.; Wakiji, I.; Hidai, M. Novel Propargylic Substitution Reactions Catalyzed by Thiolate-Bridged Diruthenium Complexes via Allenylidene Intermediates. *J Am Chem Soc.* **2000**, *122* (44), 11019-11020.

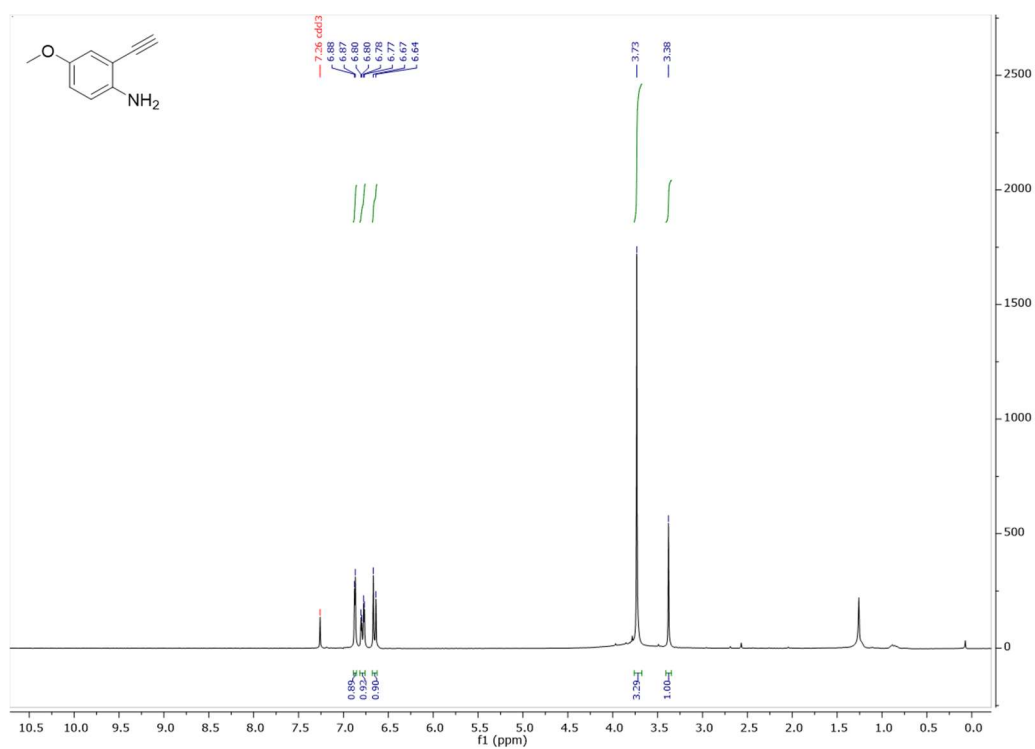
# ANEXOS

## Anexo I: Espectros de RMN

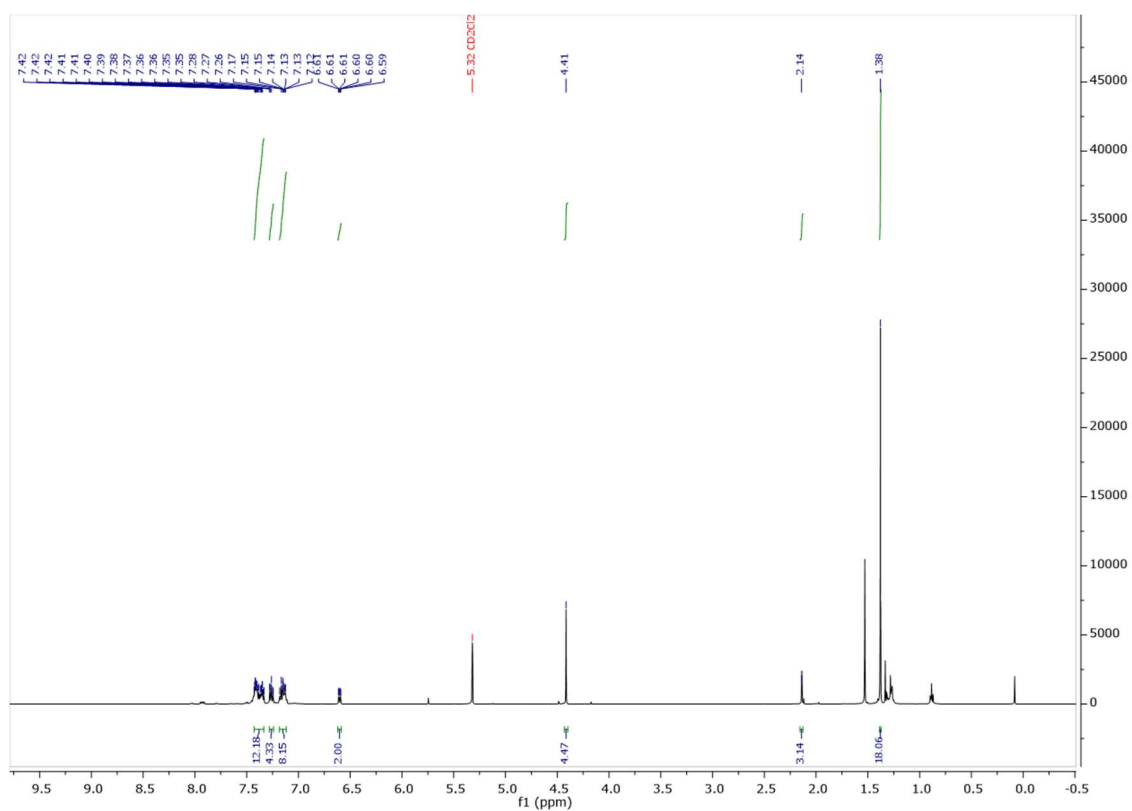
Ru1:  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



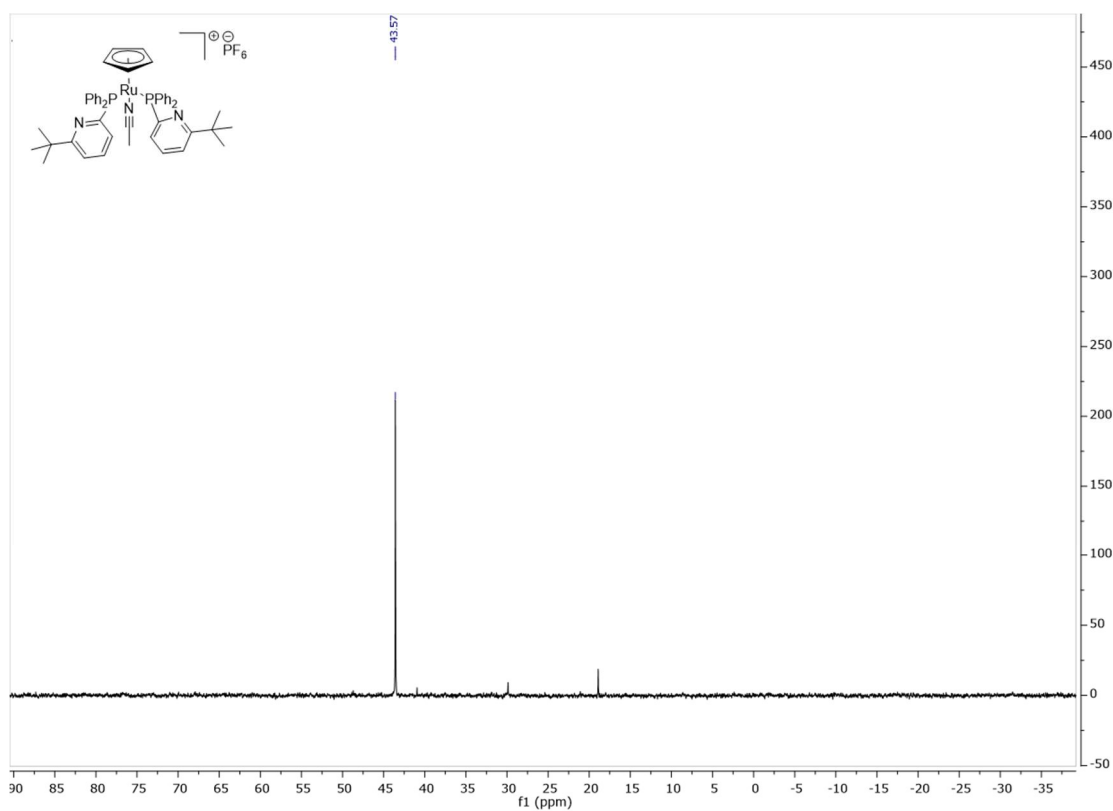
3:  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



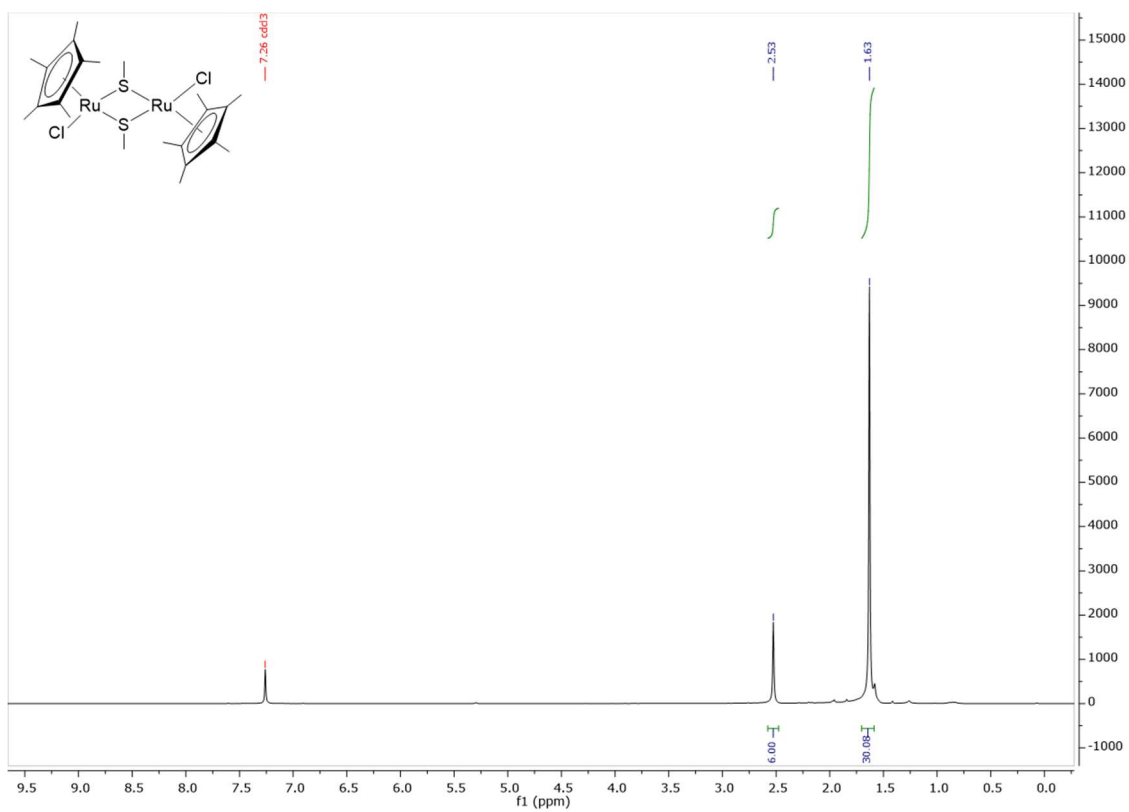
**Ru3:**  $^1\text{H}$ -RMN (500 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )



**Ru3:**  $^{31}\text{P}$ -RMN (202 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ )



**Ru4:**  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



**5:**  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

