

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 845 653**

51 Int. Cl.:

C07F 15/00 (2006.01)

C07F 15/02 (2006.01)

C07F 9/50 (2006.01)

C07D 213/22 (2006.01)

A61K 31/787 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.12.2015 PCT/IB2015/002312**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2016 WO16087932**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.12.2015 E 15820592 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.10.2020 EP 3227307**

54 Título: **Complejos macromoleculares de metales de transición para el tratamiento del cáncer y procedimiento para su preparación**

30 Prioridad:

06.12.2014 PT 2014108082

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.07.2021

73 Titular/es:

**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE
DE LISBOA (100.0%)
Campo Grande, Edifício C5
1749-016 Lisboa, PT**

72 Inventor/es:

**ANSELMO VIEGAS GARCIA, MARIA HELENA;
MARQUES VALENTE, ANDREIA;
FERREIRA MORAIS, TÂNIA SOFIA y
ANTUNES TOMAZ DINIZ, ANA ISABEL**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 845 653 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Complejos macromoleculares de metales de transición para el tratamiento del cáncer y procedimiento para su preparación

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a complejos macromoleculares de metales de transición, a composiciones farmacéuticas que los contienen, a su uso en medicamentos, particularmente como agentes antitumorales y antimetastásicos, así como al procedimiento para su preparación.

Antecedentes de la técnica

- 10 Los complejos metálicos se reconocen actualmente como una clase emergente de agentes potencialmente muy eficaces para el tratamiento del cáncer.

- A. Valente, M.H. García, F. Marques, Y. Miao, C. Rousseau, P. Zinck, "First polymer 'ruthenium-cyclopentadienyl' complex as potential anticancer agent", *Journal of Inorganic Biochemistry* 2013, 127, 79-81 describen una clase de compuestos de rutenio sintetizados usando 2,3,4-tri-O-bencil- α -D-glucopiranosido de metilo (una molécula de interés biológico) como iniciador para la polimerización de la lactida catalizada por dimetilaminopiridina, dando lugar a una polilactida funcionalizada en el extremo de la cadena con una D-glucosa sustituida; posteriormente, este polímero se hizo reaccionar con dicloruro de 2,2'-bipiridina-4,4'-dicarbonilo dando lugar al macroligando que contiene un éster unido a cada uno de los anillos de la bipiridina, con una pureza de aproximadamente 75%. El compuesto final resulta de la síntesis entre este macroligando y $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}]$ en presencia de triflato de plata en diclorometano.

- 20 La publicación internacional WO 2007/128158A1 (DYSON, Paul, Joseph et al.) describe complejos de metales de transición para inhibir la resistencia en el tratamiento del cáncer y la metástasis. Esta solicitud de patente abarca varias familias de complejos de metales de transición; sin embargo, no describe complejos con macroligandos en su constitución.

- 25 Los compuestos organometálicos para el tratamiento del cáncer se describen en la solicitud de patente EP 07101258.7; sin embargo, no se da ni se describe en el mismo ninguna indicación de compuestos que contengan ligandos macromoleculares.

- 30 En el artículo de revisión "Polymer-Metal Complexes (PMC) for Cancer Therapy" (A. Valente, P. Zinck, *Recent Research Developments in Polymer Science*, 11 (2012): 99-128, publicado por Transworld Research Network, Trivandrum, India (ISBN: 978-81-7895-538-4)), se hace referencia a las principales familias de compuestos que contienen polímeros en su constitución. Se ha descrito que la mayoría de ellos usan platino como metal central y no usan el ligando ciclopentadienilo. La gran mayoría de los enfoques son multinucleares, es decir, cada molécula de compuesto presenta varios centros metálicos en su constitución.

- 35 El artículo de revisión sobre compuestos macromoleculares de rutenio "Syntheses of macromolecular ruthenium compounds: a new approach to the search of anticancer drugs" (A. Valente, M. H. García, *Inorganics* 2014, 2, 96-114) se refiere a enfoques para la terapia del cáncer que utilizan compuestos macromoleculares de rutenio. Todas las estrategias encontradas en la bibliografía son enfoques multinucleares y la única descripción que contempla el ligando ciclopentadienilo es el artículo antes mencionado (A. Valente, M.H. García, F. Marques, Y. Miao, C. Rousseau, P. Zinck, "First polymer 'ruthenium-cyclopentadienyl' complex as potential anticancer agent", *Journal of Inorganic Biochemistry* 2013, 127, 79-81). Ventajosamente, los complejos de la presente invención son mononucleares (es decir, contienen solo un átomo de metal por molécula), lo que permite un control preciso de la cantidad de fármaco a administrar.

- 40 El desarrollo de métodos eficaces mediante los cuales los fármacos se administran y se suministran en el objetivo es tan importante en la lucha contra el cáncer como la eficacia del fármaco en sí.

Además, existe la necesidad de compuestos que sean terapéuticamente más eficaces y también capaces de superar los efectos secundarios de la quimioterapia producidos por los fármacos actualmente disponibles.

- 45 Varios enfoques de tratamiento con compuestos metálicos macromoleculares multinucleares presentan el problema de la administración en un porcentaje aproximado del metal para una cierta cantidad de fármaco y, por lo tanto, se considera que hay una gran necesidad de mayor precisión y control sobre la cantidad de metal que se administra.

Otra necesidad considerada es la estabilidad de los nuevos compuestos en medio acuoso.

- 50 La presente invención proporciona nuevos complejos metálicos y nuevos fármacos, así como composiciones farmacéuticas que los contienen, que se pueden suministrar a las células cancerosas con alta eficiencia y precisión, debido a la inclusión de macroligandos y/o moléculas de interés biológico en la esfera de coordinación de los metales utilizados.

Los nuevos complejos de la presente invención incluyen un ligando polimérico y, en consecuencia, presentan un alto peso molecular. Esta característica permite beneficiarse de una mayor permeación y retención en los tejidos tumorales,

lo que da como resultado una acumulación preferencial del complejo en estos tejidos en comparación con la que se puede producir en tejidos sanos ("*efecto de permeación y retención mejorados*", *efecto EPR* - J. Kopecek, P. Kopeckova, T. Minko, Z.R. Lu, "HPMA copolymer-anticancer drug conjugates: design, activity, and mechanism of action", 2000, *Eur. J. Pharm. Biopharm*; Y. Matsumura, H. Maeda, "A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy: Mechanism of Tumoritropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs", 1986, *Cancer Res.*). Esto es posible ya que los tumores, con un crecimiento celular muy rápido y anormal, tienen una vascularización deficiente, permitiendo que las moléculas con alta masa molecular penetren dentro de las células, pero tengan dificultad para salir, por lo que con el tiempo hay una mayor acumulación en el tejido tumoral. Así, se puede obtener una reducción drástica de los efectos secundarios cuando se compara con las moléculas con un peso molecular bajo, que pueden entrar y salir libremente de los tejidos tumorales (S. Parveen, R. Misra, S.K. Sahoo, "Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging", 2012, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*).

La presente invención también proporciona nuevas síntesis de complejos de metales de transición macromoleculares, que incluyen macromoléculas y metalofármacos. Además, las síntesis de la presente invención proporcionan moléculas de los compuestos de la presente invención con una cantidad precisa controlada de metal, con un grado de pureza de 80-95% y, en consecuencia, dichos compuestos son adecuados para la administración controlada.

Los resultados combinados indican que tanto los compuestos macromoleculares de la presente invención cuando se administran como sus fragmentos originados en las condiciones específicas encontradas en el tumor mantienen la actividad citotóxica deseada.

Los compuestos de la presente invención son estables en aire y en medio acuoso durante periodos adecuados para su uso como medicamentos y presentan una citotoxicidad mejorada en comparación con el fármaco de uso clínico, cisplatino. Estas son características importantes y ventajosas cuando se persigue el desarrollo de nuevos fármacos.

La nueva clase de compuestos objeto de la presente invención tiene aplicación en el tratamiento del cáncer, tanto del tumor primario como de las metástasis que origina.

Como los compuestos de la presente invención absorben luz visible, también pueden generar especies reactivas de oxígeno en estado excitado (singlete), y ser utilizados en terapia fotodinámica para tratar cánceres superficiales como los de piel y faringe, entre otros.

Las composiciones farmacéuticas son un objeto de la presente invención. Los complejos y composiciones según la invención se pueden utilizar por ejemplo como medicamentos en el tratamiento de tumores, tanto del tumor primario como de las metástasis que origina, incluyendo en terapia fotodinámica para el tratamiento de cánceres superficiales como cánceres de piel y faringe, entre otros.

Dichos complejos y composiciones están destinados a su uso por administración tópica, intravenosa, subcutánea e intraperitoneal.

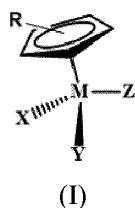
Estas y otras ventajas de la presente invención resultarán más evidentes y se entenderán mejor a partir de la siguiente descripción, reivindicaciones y dibujos adjuntos.

Objetivos, ventajas y características adicionales resultarán evidentes para los expertos en la técnica mediante el análisis de la descripción o la práctica de la invención.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, las palabras "comprender" e "incluir" y sus variaciones no deben entenderse como excluyentes de otras características técnicas o componentes.

Resumen de la invención

La presente invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier materia que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solo con fines informativos. La presente invención se ha llevado a cabo con el fin de superar las desventajas mencionadas en el estado de la técnica, y es un objeto de la presente invención proporcionar complejos macromoleculares de metales de transición caracterizados por tener la fórmula general (I):



representada por la fórmula molecular $[M(CpR)XYZ]$, en donde:

M es rutenio, hierro, rodio, iridio u osmio;

CpR es ciclopentadienilo en donde R es H, o ciclopentadienilo sustituido seleccionándose R de: una biomolécula, preferiblemente seleccionada de aminoácidos, péptidos, oligopéptidos, proteínas, fragmentos de proteínas, estradiol y sus derivados, vitaminas, carbohidratos, agua, ácidos nucleicos, un ligando heteroaromático, un compuesto bioactivo o un radical -R₁, -R₁-NH₂, -R₁-COOH, -R₁-COO-, -R₁-OH, -R₁-COONCH₃, en donde R₁ es un grupo alquilo o arilo; los grupos R pueden estar unidos al anillo de ciclopentadienilo en cualquiera de los carbonos del anillo. R puede ocupar más de un átomo de carbono, lo que puede conducir a un anillo de ciclopentadienilo sustituido en las posiciones 1, 2, 3, 4 y/o 5;

uno de los ligandos X, Y o Z es un macroligando, que puede ser él mismo un ligando heteroaromático, X, Y y Z pueden seleccionarse de ligandos heteroaromáticos, macroligandos, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico, preferiblemente seleccionados de azúcares, estrógenos, moléculas que comprenden sistemas π conjugados, con las siguientes condiciones:

- al menos uno de X, Y o Z es un ligando heteroaromático, CO o dimetilsulfóxido; y

- al menos uno de los ligandos X, Y o Z comprende o es una biomolécula o una molécula de interés biológico;

y una de las siguientes condiciones:

- X, Y y Z son cualquier ligando monodentado adecuado, preferiblemente seleccionado de fosfanos; moléculas heteroaromáticas en donde el heteroátomo puede ser cualquier heteroátomo adecuado y se selecciona preferiblemente de O, S, P, N o Se; CO; dimetilsulfóxido; acetonitrilo; nitrilos; isonitrilos; dimetilformamida; una biomolécula o una molécula de interés biológico y al menos uno de X, Y o Z incluye un macroligando; o

- X e Y juntos representan cualquier macroligando bidentado adecuado seleccionado preferiblemente de difosfanos macromoleculares, moléculas heteroaromáticas macromoleculares que tienen al menos una función metilenoxi o aminooxi en el anillo o anillos heteroaromáticos, oxalatos macromoleculares o glicinatos macromoleculares y Z es cualquier ligando monodentado adecuado preferiblemente seleccionado de fosfanos, moléculas heteroaromáticas en donde el heteroátomo puede ser cualquier heteroátomo adecuado y se selecciona preferiblemente de O, S, P, N o Se; CO; dimetilsulfóxido; acetonitrilo; nitrilos; isonitrilos; o dimetilformamida;

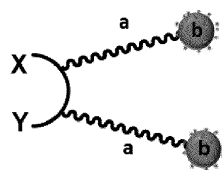
- X e Y juntos representan cualquier ligando bidentado adecuado preferiblemente seleccionado de difosfanos, moléculas heteroaromáticas, oxalatos, glicinatos, trimetiletilendiamina, etilendiamina, una biomolécula o una molécula de interés biológico, y Z es cualquier ligando monodentado adecuado preferiblemente seleccionado de fosfanos macromoleculares, moléculas heteroaromáticas macromoleculares en donde el heteroátomo puede ser cualquier heteroátomo adecuado y preferiblemente se selecciona de O, S, P, N o Se; nitrilos macromoleculares; o isonitrilos macromoleculares.

y sales farmacológicamente aceptables de los mismos.

Los macroligandos, los ligandos monodentados macromoleculares y los ligandos bidentados macromoleculares son moléculas con un peso molecular > 1000 g/mol, naturales o sintéticas, que tienen cadena lineal o ramificada, que comprenden una unidad que se repite, y que tienen al menos en uno de sus extremos de cadena una o más grupos funcionales que permitan su coordinación a un centro metálico y que tienen opcionalmente en uno de sus extremos de cadena biomoléculas, preferiblemente seleccionadas de aminoácidos, péptidos, oligopéptidos, proteínas, fragmentos de proteínas, estradiol y sus derivados, vitaminas, carbohidratos, agua, ácidos nucleicos o moléculas de interés biológico. En una realización, los macroligandos son polímeros naturales o sintéticos que tienen cadena lineal o ramificada, que contienen una o más unidades que se repiten seleccionadas preferiblemente de polilactida, policaprolactona, poli-N-(2-hidroxipropil)metacrilamida, poli(ácido γ ,L-glutámico), poli(ácido cítrico), poli(etilenglicol), poli(ácido aspártico); copolímeros seleccionados preferiblemente de poli(ácido γ ,L-glutámico)-ácido cítrico, poli(etilenglicol)-bloque-poli(ácido glutámico), poli(etilenglicol)-bloque-poli(ácido aspártico), poli(etilenglicol)-bloque-poli(ácido láctico), poli(etilenglicol)-poli(caprolactona); o biopolímeros, naturales o sintéticos, preferiblemente seleccionados de celulosa, almidón, quitina, proteínas, péptidos, ADN y ARN.

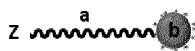
Las sales metálicas son sales de haluro, nitrito, fosfato, perclorato o carbonato.

En un aspecto, es un objeto de la presente invención proporcionar macroligandos bidentados de fórmula general (XIV):



(XIV)

macroligandos monodentados de fórmula general (XV):



(XV)

como se define en las reivindicaciones adjuntas.

En otro aspecto, el procedimiento sintético para los complejos de la presente invención, incluyendo el de macroligandos, es un objeto de la presente invención como se define en las reivindicaciones adjuntas.

- 5 Otros objetos de la presente invención son composiciones farmacéuticas y medicamentos que comprenden una cantidad farmacéuticamente eficaz de al menos un complejo organometálico macromolecular de un metal de transición de fórmula (I), (II), (III) o (IV), así como su uso como medicamento, opcionalmente con otros principios activos y/o vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables, como se define en las reivindicaciones adjuntas.

- 10 Como se define en las reivindicaciones adjuntas, los complejos organometálicos macromoleculares de metal de transición y las composiciones farmacéuticas que los contienen, de acuerdo con la presente invención, pueden usarse como agentes antitumorales y/o como agentes radiosensibilizadores para la terapia del cáncer y/o la prevención del cáncer, en particular para su uso en el tratamiento de tumores sólidos, tumores líquidos y/o metástasis. La vía de administración puede ser tópica, intravenosa, subcutánea o intraperitoneal.

- 15 Estas y otras ventajas de la presente invención serán evidentes y se entenderán mejor a partir de la siguiente descripción y los dibujos y reivindicaciones adjuntos. Sin embargo, los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan para ilustrar los conceptos de la invención y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1a) a 1f) son gráficos que muestran la estabilidad química en medio acuoso de los compuestos 1, 2, 3, 4, 5 y 6, respectivamente.

- 20 Las figuras 2a) a 2f) son gráficos que muestran los resultados de la cromatografía de permeación en gel para los compuestos 1, 2, 3, 4, 5 y 6, respectivamente.

Las figuras 3a) y 3b) son gráficos que representan la actividad citotóxica de los compuestos 5 y 6 contra células tumorales humanas de adenocarcinoma de mama MCF-7, después de 24 h y 72 h de incubación, respectivamente.

- 25 Las figuras 4a) y 4b) son gráficos de dosis-respuesta que representan la actividad citotóxica de los compuestos 5 y 6, después de 72 h de incubación, contra células de carcinoma de ovario humano A2780 y contra células de carcinoma de mama humano MDA-MB-231, respectivamente.

Las figuras 5a) a 5d) son gráficos que representan la actividad citotóxica de los compuestos 1, 2, 3, 4 contra células tumorales humanas después de 48 h de incubación, contra líneas tumorales humanas de ovario A2780, mama MCF-7, glioma U87 y melanoma A345, respectivamente.

- 30 La figura 6 es un gráfico que representa la distribución celular de los compuestos 5 y 6 contra células tumorales de mama MCF-7 humanas después de 24 h de incubación.

La figura 7 es un gráfico que representa los resultados de los procesos apoptóticos en células de tumor de mama MCF-7 humano no tratadas y tratadas con los compuestos 5 y 6.

- 35 La figura 8 son gráficos que representan los resultados de los ensayos para determinar el tipo de mecanismo de muerte celular inducida por los compuestos 5 y 6 MCF-7 contra células tumorales, después de una incubación de 48 h.

La figura 9 es un gráfico que representa los resultados de los ensayos de inmunofluorescencia en células de cáncer de mama humano MCF-7 para determinar el efecto de los compuestos 5 y 6 sobre el citoesqueleto.

Descripción detallada de la invención

- 40 La presente invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier materia que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solo con fines informativos. Los términos "macroligando", "ligando monodentado macromolecular" y "ligando bidentado macromolecular" se refieren a una molécula de peso molecular relativamente alto (> 1000 g/mol), natural o sintética, que tiene una cadena lineal o ramificada que contiene una unidad que se repite, y que tiene al menos en uno de sus extremos de cadena uno o más grupos funcionales que permiten su coordinación con el(los) centro(s) metálico(s) y que también pueden tener en uno de sus extremos de cadena biomoléculas o
- 45 moléculas de interés biológico como se definen más adelante. Los polímeros, entendidos como que incluyen también copolímeros o biopolímeros, naturales o sintéticos, constituyentes de los macroligandos se definen a continuación.

Por "monómero de interés" se entiende cualquier molécula pequeña que pueda unirse a otros monómeros formando moléculas más grandes llamadas (co)polímeros.

El término "polimerización" que incluye también la(s) copolimerización(es) debe entenderse como la reacción química que da lugar a los (co)polímeros.

"Polímero" se refiere a una molécula, natural o sintética que tiene en su estructura una cadena lineal o ramificada, que contiene una o más unidades que se repiten llamadas monómeros. Ejemplos preferidos de polímeros son, pero sin limitación, polilactida, policaprolactona, poli-N-(2-hidroxipropil)metacrilamida, poli(ácido γ ,L-glutámico), poli(ácido cítrico), polietilenglicol, poli(ácido aspártico), entre otros. En la descripción de las síntesis y en las fórmulas (I) a (IV) según la invención, el término "polímero" comprende indistintamente también copolímeros o biopolímeros, naturales o sintéticos.

Por "copolímero" se entiende un polímero formado por diferentes monómeros. Los ejemplos preferidos de copolímeros incluyen, pero sin limitación, poli(ácido γ ,L-glutámico)-ácido cítrico, poli(etilenglicol)-bloque-poli(ácido glutámico), poli(etilenglicol)-bloque-poli(ácido aspártico), poli(etilenglicol)-poli(ácido láctico), poli(etilenglicol)-poli(caprolactona).

En el contexto de la polimerización, "catalizador" es una molécula que acelera una reacción química, pero ella misma no se consume. El catalizador es parte de la reacción pero se regenera al final de cada ciclo de reacción. Por lo tanto, una unidad de catalizador da como resultado la conversión de varias unidades de reactivo. El catalizador debe distinguirse del "iniciador". El iniciador inicia una cadena de reacciones, pero se consume en la reacción. No es un catalizador. (IUPAC - Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units. Preparado para su publicación por Robert L. Burwell, Jr. Pergamon Press).

Por "biopolímeros", naturales o sintéticos, se entienden polímeros producidos por seres vivos o polímeros que imitan biopolímeros obtenidos por procedimientos químicos; ejemplos preferidos de biopolímeros son, pero sin limitación, celulosa, almidón, quitina, proteínas, péptidos, ADN y ARN.

Por "biomolécula" se entiende cualquier compuesto químico existente en los seres vivos o una molécula que imita una biomolécula, sintetizada por procedimientos químicos; biomoléculas preferidas son, pero sin limitación, aminoácidos, péptidos, oligopéptidos, proteínas, fragmentos de proteínas, estradiol y sus derivados, vitaminas, carbohidratos, agua, ácidos nucleicos, entre otros. Algunas biomoléculas debido a su estructura química que contiene átomos heteroaromáticos pueden entenderse ellas mismas como un "ligando heteroaromático".

Por "molécula de interés biológico" se entiende cualquier molécula natural o sintética con bioactividad potencial. Un compuesto se considera "bioactivo" si tiene una interacción o efecto hacia cualquier tejido celular vivo.

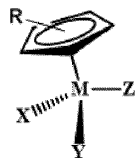
Por "ligando heteroaromático" se entiende cualquier molécula con un sistema de anillo único o de anillos múltiples en el que al menos uno de los anillos tiene al menos un heteroátomo, tal como N, O, S, Se, P, entre otros.

Por "ligando monodentado" se entiende cualquier molécula que tiene un átomo con disponibilidad electrónica para formar enlaces de coordinación con el metal de transición; los ligandos monodentados preferidos son, pero sin limitación, fosfanos, moléculas heteroaromáticas (cuyo heteroátomo puede ser O, S, P, N, Se, entre otros), CO, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, nitrilos, isonitrilos, dimetilformamida, entre otros.

Por "ligando bidentado" se entiende cualquier molécula que tenga dos átomos con disponibilidad electrónica para formar enlaces de coordinación con el mismo centro metálico; los ligandos bidentados preferidos son, pero sin limitación, difosfanos, moléculas heteroaromáticas, oxalatos, glicinato, trimetiletilendiamina, etilendiamina, entre otros.

Por sales metálicas (MX_3) se entienden sales de haluro, nitrito, fosfato, perclorato o carbonato representadas por X, de cualquier metal de transición adecuado representado por M, en particular rutenio, hierro, rodio, iridio u osmio.

Se encontró que los mejores resultados se obtienen utilizando como agentes antitumorales los compuestos de la presente invención que tienen la fórmula estructural general (I):



(I)

representada por la fórmula molecular $[M(CpR)XYZ]$,

en donde:

M es rutenio, hierro, rodio, iridio u osmio;

CpR es ciclopentadienilo en donde R es H, o ciclopentadienilo sustituido seleccionándose R de: una biomolécula, un ligando heteroaromático, un compuesto bioactivo o un radical $-R_1$, $-R_1-NH_2$, $-R_1-CCOH$, $-R_1-COO^-$, $-R_1-OH$, $-R_1-$

COONCH₃, en donde R₁ es un grupo alquilo o arilo; los grupos R pueden unirse al anillo de ciclopentadienilo en cualquiera de los carbonos del anillo. R puede ocupar más de un átomo de carbono, puede dar lugar a un anillo de ciclopentadienilo sustituido en las posiciones 1, 2, 3, 4 y/o 5;

- 5 uno de los ligandos X, Y o Z es un macroligando, que puede ser él mismo un ligando heteroaromático, X, Y y Z pueden seleccionarse de ligandos heteroaromáticos, macroligandos, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico con las siguientes condiciones:

- al menos uno de X, Y o Z es un ligando heteroaromático, CO o dimetilsulfóxido; y

- al menos uno de los ligandos X, Y o Z comprende o es una biomolécula o una molécula de interés biológico;

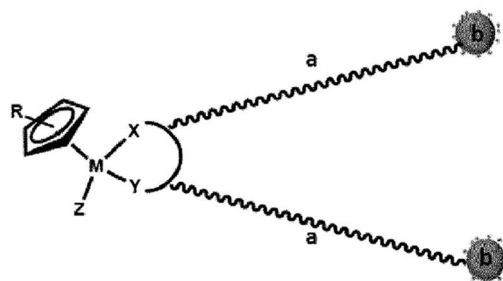
y una de las siguientes condiciones:

- 10 - X, Y y Z son cualquier ligando monodentado adecuado, preferiblemente seleccionado de fosfanos; moléculas heteroaromáticas en donde el heteroátomo puede ser cualquier heteroátomo adecuado y, preferiblemente, se selecciona de O, S, P, N o Se; CO; dimetilsulfóxido; acetonitrilo; nitrilos; isonitrilos; dimetilformamida; una biomolécula o una molécula de interés biológico y al menos uno de X, Y o Z incluye un macroligando; o

- 15 - X e Y juntos representan cualquier macroligando bidentado adecuado seleccionado preferiblemente de difosfanos macromoleculares, moléculas heteroaromáticas macromoleculares que tienen al menos una función metilenoxi o aminooxi en el anillo o anillos heteroaromáticos, oxalatos macromoleculares o glicinatos macromoleculares y Z es cualquier ligando monodentado adecuado seleccionado preferiblemente de fosfanos, moléculas heteroaromáticas en donde el heteroátomo puede ser cualquier heteroátomo adecuado y se selecciona preferiblemente de O, S, P, N o Se; CO; dimetilsulfóxido; acetonitrilo; nitrilos; isonitrilos; o dimetilformamida;

- 20 - X e Y juntos representan cualquier ligando bidentado adecuado preferiblemente seleccionado de difosfanos, moléculas heteroaromáticas, oxalatos, glicinatos, trimetiletilendiamina, etilendiamina, una biomolécula o una molécula de interés biológico, y Z es cualquier ligando monodentado adecuado preferiblemente seleccionado de fosfanos macromoleculares, moléculas heteroaromáticas macromoleculares en donde el heteroátomo puede ser cualquier heteroátomo adecuado y se selecciona preferiblemente de O, S, P, N o Se; nitrilos macromoleculares; o isonitrilos macromoleculares.

Por tanto, en un aspecto de la presente invención, un grupo de compuestos de fórmula (I) especialmente preferidos es el representado por la fórmula general (II):



Fórmula (II)

en donde

- 30 R es H;

M representa rutenio o hierro;

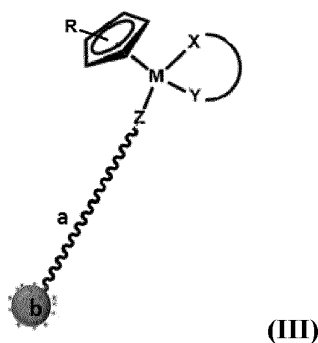
X e Y juntos representan un macroligando bidentado que tiene al menos una función metilenoxi o aminooxi en el anillo o anillos heteroaromáticos, que puede contener, preferiblemente, en su extremo de cadena una o más moléculas de interés biológico o una biomolécula;

- 35 Z representa fosfano, CO, dimetilsulfóxido, un ligando monodentado heteroaromático, una molécula de interés biológico o un ligando que incluye una molécula de interés biológico o biomolécula;

a representa polímero; y

b representa una molécula de interés biológico.

Otro grupo de compuestos de fórmula (I) especialmente preferidos es el representado por la fórmula general (III):



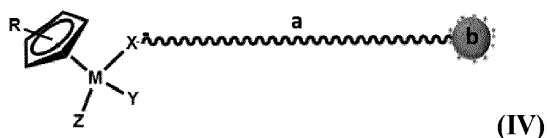
en donde

R es H;

M representa rutenio o hierro;

- 5 X e Y juntos representan un ligando heteroaromático bidentado o una molécula de interés biológico o biomolécula;
- Z representa un ligando fosfano monodentado macromolecular, que puede contener en su extremo de cadena una molécula de interés biológico o una biomolécula;
- a representa un polímero; y
- b representa una molécula de interés biológico.

- 10 Otro grupo de compuestos de fórmula (I) especialmente preferidos es el representado por la fórmula general (IV):



en donde

R es H;

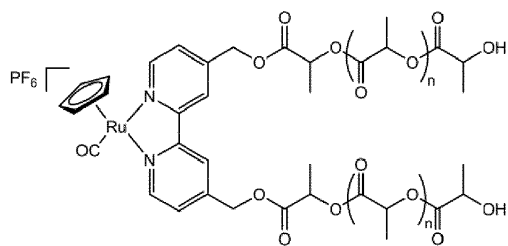
M representa rutenio o hierro;

- 15 Z representa un macroligando monodentado, en donde el polímero está preferiblemente unido a un fosfano o un ligando heteroaromático, que puede contener en su extremo de cadena una molécula de interés biológico;
- Y preferiblemente representa CO;
- X representa un haluro, un ligando de interés biológico o una biomolécula;
- a representa un polímero; y
- 20 b representa una molécula de interés biológico o una biomolécula.

Los compuestos de fórmula (I) pueden ser catiónicos o neutros y pueden estar en forma de sal cuyos aniones pueden ser, por ejemplo, haluros, fosfatos, triflatos, fenilboratos, hexafluorofosfatos, entre otros.

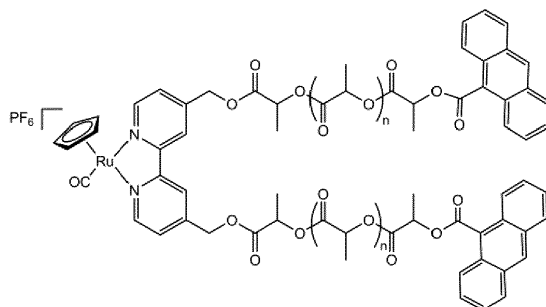
Los compuestos especialmente preferidos de acuerdo con la presente invención son los siguientes:

- 25 hexafluorofosfato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)-k²N,N')(carbonil)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II) (Compuesto 1) de fórmula (V):



(V)

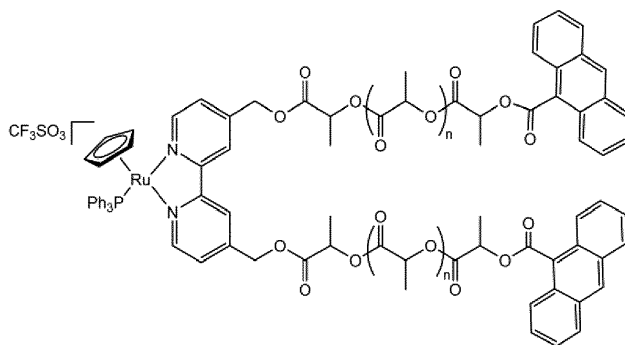
hexafluorofosfato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)})bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k²N,N'](carbonil)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) - (Compuesto 2) de fórmula (VI):



(VI)

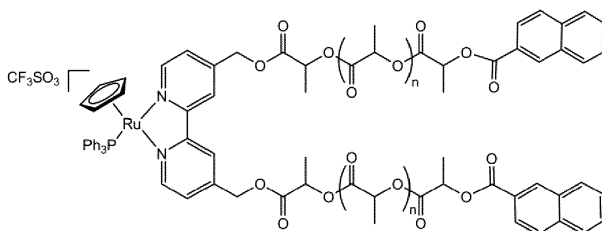
5

triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)})bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k²N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) (Compuesto 3) de fórmula (VII):



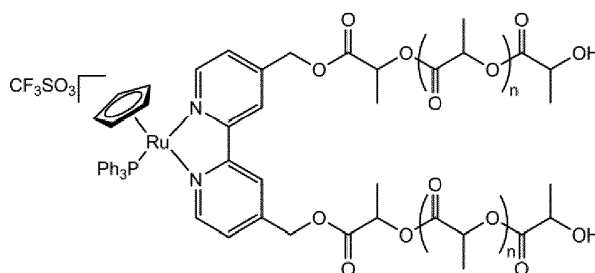
(VII)

10 triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)})bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)dinaftaleno-2-carboxilato)-k²N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) (Compuesto 4) de fórmula (VIII):



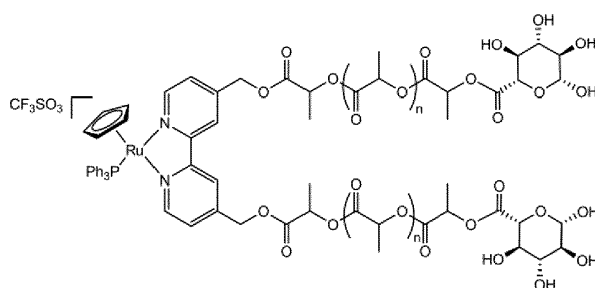
(VIII)

triflato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)- k^2N,N')(trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) (Compuesto 5) de fórmula (IX):



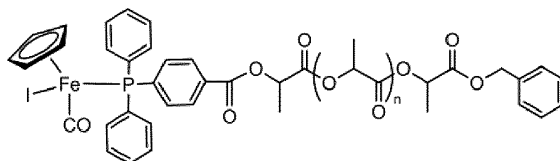
(IX)

5 triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil}bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil}di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahidroxioxano-2-carboxilato)- k^2N,N')(trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)-rutenio(II) (Compuesto 6) de fórmula (X):



(X)

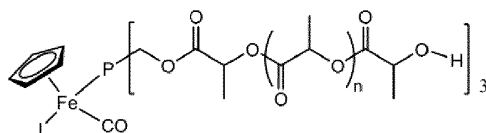
[1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico))}-1-oxopropano-2-il-4-(difenilfosfino)benzoato- k^1P](carbonilo)(yodo)(η^5 -ciclopentadienilo)hierro(II) (Compuesto 7) de fórmula (XI):



(XI)

10

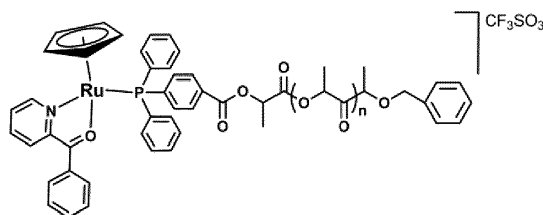
[Tris(1-{1-(1-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)fosfano- k^1P](carbonilo)-(yodo)(η^5 -ciclopentadienil)-hierro(II) (Compuesto 8) de fórmula (XII):



(XII)

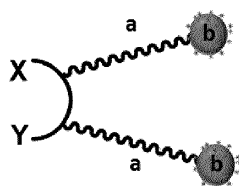
15

triflato de [(1-({1-({1-(Benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico))}-1-oxopropano-2-il)-4-(difenilfosfino)benzoato- k^1P](2-benzoilpiridina)- k^2N,O)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) - (Compuesto 9) de fórmula (XIII):



(XIII)

La presente invención se refiere a macroligandos bidentados de fórmula general (XIV):



(XIV)

en donde

- 5 X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular o un ligando heteroaromático bidentado macromolecular que tiene al menos una función metilenoxy o aminooxy en el anillo o anillos heteroaromáticos, y puede contener, preferiblemente, en su extremo de cadena una o más moléculas de interés biológico o una biomolécula;

a representa un polímero;

b representa una molécula de interés biológico o una biomolécula.

- 10 La presente invención también se refiere a macroligandos monodentados de fórmula general (XV):



(XV)

en donde

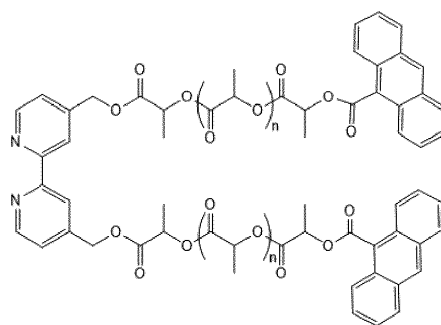
Z representa un ligando monodentado heteroaromático macromolecular o un fosfano monodentado macromolecular y puede contener en su extremo de cadena una o más moléculas de interés biológico o una biomolécula;

- 15 a representa polímero;

b representa una molécula de interés biológico o una biomolécula.

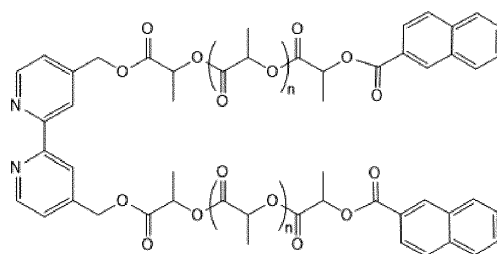
Los ligandos heteroaromáticos bidentados macromoleculares preferidos de la presente invención son los siguientes:

a) diantraceno-9-carboxilato de 1,1'-{1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-di-ilbis(metilen))bis(oxi))bis(1-oxopropano-2,1-diil))-bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi))bis(1-oxopropano-2,1-diilo) de fórmula (XVI):



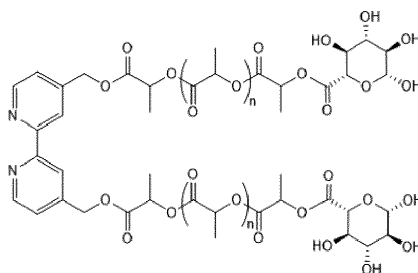
(XVI)

b) dinaftaleno-2-carboxilato de 1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-di-ilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-il))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-ilo) de fórmula (XVII):



(XVII)

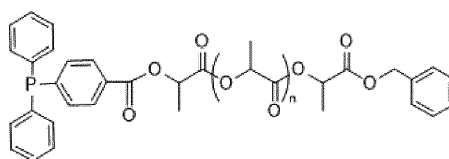
5 c) di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetra-hidroxioxano-2-carboxilato de 1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-di-ilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-il))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-ilo) de fórmula (XVIII):



(XVIII)

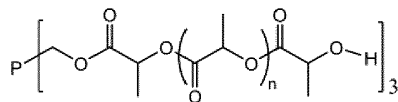
Los ligandos de fosfano monodentados macromoleculares preferidos de la presente invención son los siguientes:

10 d) 4-(difenilfosfino)benzoato de 1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il)oxi)-1-(poli(ácido láctico))}-1-oxopropano-2-ilo) de fórmula (XIX):



(XIX)

e) tris(1-{1-(1-hidroxipropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)fosfano de fórmula (XX):



(XX)

En otro aspecto, es un objeto de la presente invención proporcionar un procedimiento sintético para los nuevos compuestos organometálicos.

5 Etapa 1) Síntesis de macroligandos

a) Síntesis de macroligandos heteroaromáticos

La síntesis de macroligandos heteroaromáticos se puede llevar a cabo como sigue:

10 i) Un ligando heteroaromático, seleccionado de piridinas, bupiridinas, imidazoles, entre otros, que contiene, por ejemplo, una función amina primaria o alcohol, actúa como iniciador y/o catalizador de polimerización del(los) monómero(s) de interés, para proporcionar el macroligando heteroaromático. El macroligando heteroaromático obtenido se puede purificar, si es necesario, por las técnicas de purificación habituales y unir a una molécula de interés biológico (p. ej. azúcares, estrógeno, moléculas que contienen sistemas π conjugados, entre otros) por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica.

15 ii) Un polímero preparado previamente o disponible comercialmente se hace reaccionar por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica con un ligando heteroaromático (p. ej., piridinas, bupiridinas e imidazoles, entre otros). El macroligando heteroaromático obtenido se puede purificar, si es necesario, por técnicas de purificación habituales y unir a una molécula de interés biológico (p. ej. azúcares, estrógeno, moléculas que contienen sistemas π conjugados, N-(3-[[5-(4-clorofenil)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-il]carbonil]-2,4-difluorofenil)propano-1-sulfonamida, bromocriptina, 4-metil-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo[4.3.0]nona-2,7,9-trieno-9-carboxamida, entre otras), por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica.

20 iii) Una molécula de interés biológico (p. ej., aminoácidos, bases de ADN, entre otros) que contiene, por ejemplo, una función amina primaria o alcohol, sirve como iniciador y/o catalizador para la polimerización del(los) monómero(s) de interés. La macromolécula obtenida se puede purificar, si es necesario, por las técnicas de purificación habituales y unir a un ligando heteroaromático (p. ej. piridinas, bupiridinas, imidazoles, entre otros) por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica, para proporcionar el macroligando heteroaromático.

25 iv) Un polímero previamente preparado o disponible comercialmente se hace reaccionar por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica con una molécula de interés biológico (p. ej., azúcares, estrógeno, moléculas que contienen sistemas π conjugados, N-(3-[[5-(4-clorofenil)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-il]carbonil]-2,4-difluorofenil)propano-1-sulfonamida, bromocriptina, 4-metil-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo[4.3.0]nona-2,7,9-trieno-9-carboxamida entre otros). Esta macromolécula se puede purificar, si es necesario, por las técnicas de purificación habituales y unir a un ligando heteroaromático (p. ej., piridinas, bupiridinas e imidazoles, entre otros) por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica, para proporcionar el macroligando heteroaromático.

b) Síntesis de fosfanos macromoleculares

La síntesis de fosfanos macromoleculares se puede llevar a cabo como sigue:

30 i) Un fosfano que contiene, por ejemplo, una función amina primaria o alcohol, sirve como iniciador y/o catalizador para la polimerización del(los) monómero(s) de interés, para proporcionar el fosfano macromolecular. El fosfano macromolecular obtenido se puede purificar, si es necesario, por las técnicas habituales de purificación y unir a una molécula de interés biológico (p. ej., azúcares, estrógeno, moléculas que contienen sistemas π conjugados, N-(3-[[5-(4-clorofenil)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-il]carbonil]-2,4-difluorofenil)propano-1-sulfonamida, bromocriptina, 4-metil-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo[4.3.0]nona-2,7,9-trieno-9-carboxamida entre otros) por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica.

35 ii) Se hace reaccionar un fosfano con un polímero previamente preparado o disponible comercialmente, por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica para proporcionar un fosfano macromolecular. Después de purificación, si es necesario, por las técnicas habituales de purificación, el fosfano macromolecular puede unirse a una molécula de interés biológico (p. ej., azúcares, estrógeno, moléculas que

contienen sistemas π conjugados, entre otros) por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica.

5 iii) Una molécula de interés biológico (p. ej., azúcares, estrógeno, moléculas que contienen sistemas π conjugados, entre otros) que contiene, por ejemplo, una función amina primaria o alcohol, sirve como iniciador y/o catalizador para la polimerización del(los) monómero(s) de interés, para proporcionar el macroligando. Esta macromolécula se puede purificar, si es necesario, por las técnicas de purificación habituales y unir a un fosfano por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica, para proporcionar el fosfano macromolecular.

10 iv) Un polímero previamente preparado o disponible comercialmente, se hace reaccionar, por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica, con una molécula de interés biológico (p. ej., azúcares, estrógeno, moléculas que contienen sistemas π conjugados, N-(3-([5-(4-clorofenil)-1H-pirrol-2,3-b]piridin-3-il)carbonil)-2,4-difluorofenil)propano-1-sulfonamida, bromocriptina, 4-metil-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo[4.3.0]nona-2,7,9-trieno-9-carboxamida, entre otros). Esta macromolécula se puede purificar, si es necesario, por las técnicas de purificación habituales y unir a un fosfano por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica, para proporcionar el fosfano macromolecular.

Etapa 2) Síntesis de los complejos organometálicos macromoleculares de metales de transición:

i) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares, y Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

20 X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular; Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

X es un ligando fosfano monodentado macromolecular, e Y y Z juntos representan un ligando heteroaromático bidentado, una biomolécula o una molécula de interés biológico,

25 reacción entre el compuesto de fórmula $[M(CpR)(PP)L]$ en donde PP representa dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares o un ligando fosfano bidentado macromolecular, L es un haluro, tal como por ejemplo cloruro o yoduro, y un ligando mono o bidentado heteroaromático L1, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico.

ii) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

30 X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados, Z es un ligando heteroaromático monodentado macromolecular; o

X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado, Z es un ligando heteroaromático monodentado macromolecular; o

X es un ligando fosfano monodentado; Y y Z juntos representan un ligando heteroaromático bidentado macromolecular que tiene al menos una función metilenoxi o aminooxi en el(los) anillo(s) heteroaromáticos,

35 reacción entre el ligando heteroaromático macromolecular y un complejo $[M(CpR)(PP)L]$ en donde PP representa dos ligandos fosfano monodentados o un ligando fosfano bidentado; L es un haluro, tal como por ejemplo cloruro o yoduro.

iii) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

40 X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

X es un ligando fosfano monodentado macromolecular; Y y Z juntos representan un ligando heteroaromático bidentado, una biomolécula o una molécula de interés biológico,

45 reacción directa entre la sal metálica (MX_3), hidratada o no hidratada, y un derivado de ciclopentadienilo (CpR) y un exceso del fosfano macromolecular. A la purificación del compuesto de fórmula general $[M(CpR)(PP)L]$ obtenido (en donde PP representa dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares o un ligando fosfano bidentado macromolecular; L es un haluro, tal como por ejemplo cloruro o yoduro) le sigue una reacción de sustitución del haluro (y finalmente de un fosfano macromolecular) por un ligando heteroaromático mono o bidentado, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico, para proporcionar un compuesto final de fórmula $[M(CpR)XYZ]$.

50 iv) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

- 5 X es un ligando de fosfano monodentado macromolecular; Y y Z juntos representan un ligando heteroaromático bidentado, una biomolécula o una molécula de interés biológico,

- 10 reacción directa entre la sal metálica (MX_3), hidratada o no hidratada, y un derivado de ciclopentadienilo (CpR) y un exceso de fosfano que contiene un grupo funcional que permite una funcionalización adicional, tal como por ejemplo el grupo carboxilo. A la purificación del compuesto de fórmula general $[M(CpR)(PP)L]$ obtenido (en donde PP representa dos ligandos fosfano monodentados que contienen un grupo funcional o un ligando fosfano bidentado que contiene un grupo funcional; L es un haluro, tal como para ejemplo cloruro o yoduro), le sigue una reacción de sustitución del haluro (y finalmente de un fosfano que contiene un grupo funcional) por un ligando heteroaromático mono o bidentado, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico. Luego, el compuesto obtenido se hace reaccionar con un polímero previamente preparado o disponible comercialmente, por reacciones de condensación, sustitución, adición, eliminación, redox, transposición o reacción pericíclica, para proporcionar un compuesto final de fórmula $[M(CpR)XYZ]$.

v) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

- 20 X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

X es un ligando fosfano monodentado macromolecular; Y y Z juntos representan un ligando heteroaromático bidentado, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

- 25 X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados, Z es un ligando heteroaromático monodentado macromolecular; o

X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado, Z es un ligando heteroaromático monodentado macromolecular; o

X es un ligando fosfano monodentado; Y y Z juntos representan un ligando heteroaromático bidentado macromolecular que tiene al menos una función metilenoxi o aminoxi en el anillo o anillos heteroaromáticos,

- 30 reacción entre el ligando macromolecular y un complejo $[M(CpR)(NCMe)_3]^+[W]^-$ con sustitución de 1 o 2 acetonitrilos según las opciones dadas anteriormente. Luego, sin aislar este compuesto, hacer reaccionar con el(los) otro(s) ligando(s) de interés (ligando heteroaromático mono o bidentado, fosfano mono o bidentado, una biomolécula o una molécula de interés biológico), para proporcionar el compuesto de la fórmula deseada $[M(CpR)XYZ]^+[W]^-$ (en donde W es un anión preferiblemente seleccionado de PF_6 , CF_3SO_3 , Cl, I, BPh_4 , entre otros).

- 35 vi) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico; o

X es un ligando fosfano monodentado macromolecular, Y y Z representan ligandos heteroaromáticos monodentados, CO, dimetilsulfóxido, biomolécula o una molécula de interés biológico

- 40 reacción entre la sal metálica (MX_3), hidratada o no hidratada, X es un haluro tal como, por ejemplo, cloruro o yoduro, y un fosfano macromolecular en exceso, para proporcionar el compuesto $[Ru(\text{fosfano macromolecular})_3L_n]$ (n es 2 o 3). Posteriormente, este compuesto se hace reaccionar con (CpR)Na, o (CpR) en presencia de KOBut, para proporcionar el compuesto $[M(CpR)(PP)L]$ (PP representa dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares). Después del aislamiento, L (y finalmente un fosfano macromolecular) se sustituye(n) por ligando(s) heteroaromáticos mono o bidentados, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico para proporcionar un compuesto final de la fórmula $[M(CpR)XYZ]$.

- 45 vii) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico

- 50 reacción entre $[Ru(PPh_3)_3Cl_n]$ en donde n es 2 o 3 y un fosfano bidentado macromolecular para proporcionar el compuesto $[Ru(\text{fosfano bidentado macromolecular})_2Cl_n]$ (n es 2 o 3). Posteriormente, este compuesto se hace

reaccionar con (CpR)Na, o (CpR) en presencia de KOBu^t, para proporcionar el compuesto [M(CpR)(PP)L] (PP es fosfano bidentado macromolecular; L es un haluro). Después del aislamiento, L se sustituye por un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico para proporcionar un compuesto final de fórmula [M(CpR)XYZ].

5 viii) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y representan dos ligandos fosfano monodentados macromoleculares, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, haluro, dimetilsulfóxido, biomolécula o molécula de interés biológico; o

X es un ligando fosfano monodentado macromolecular, Y y Z representan ligandos heteroaromáticos monodentados, CO, un haluro, dimetilsulfóxido, biomolécula o una molécula de interés biológico

10 reacción entre [M(CpR)(CO)₂L] en donde L es un haluro, tal como por ejemplo cloruro o yoduro, y un fosfano macromolecular para proporcionar un complejo del tipo [M(CpR)X(CO)L] en donde X es un fosfano monodentado macromolecular, L es un haluro. Uno o ambos de CO y L pueden estar sustituidos por un ligando monodentado heteroaromático, CO, un haluro, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico, para proporcionar un compuesto final de fórmula [M(CpR)XYZ].

15 ix) Para la síntesis de complejos de la presente invención de fórmula general (I) en donde

X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular, Z es un ligando monodentado heteroaromático, CO, un haluro, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico,

20 reacción entre [M(CpR)(CO)₂L] en donde L es un haluro, y un fosfano bidentado macromolecular para proporcionar un compuesto de fórmula [M(CpR)XYL] en donde X e Y juntos representan un ligando fosfano bidentado macromolecular y L es un haluro). A continuación, L se sustituye por un ligando monodentado heteroaromático, CO, dimetilsulfóxido, una biomolécula o una molécula de interés biológico.

25 Estos compuestos, al tener la misma estructura general, y el mismo fragmento "M(CpR)" permiten una síntesis muy crítica de los polímeros y moléculas de interés biológico muy enfocada al propósito pretendido, ya que las síntesis realizadas tienen un alto rendimiento (70-90%) y, en la mayoría de los casos, sin necesidad de purificaciones adicionales. Los productos se obtienen con un grado de pureza entre 80-95%, aptos para su uso como fármacos, como se puede apreciar por el carácter monomodal de los cromatogramas obtenidos por cromatografía de permeación en gel (Figuras 2a a 2f) y por los valores de dispersidad de 1.1 - 1.4 (también calculado a partir de los mismos cromatogramas). La resonancia magnética nuclear permite calcular el porcentaje de funcionalización que se encuentra entre 80-95% como ya se mencionó.

30 El medio de reacción para todas las síntesis inorgánicas/organometálicas descritas anteriormente comprende un disolvente o una mezcla de disolventes seleccionados de agua, etanol, metanol, acetato de etilo, isopropanol, terc-butanol, etilenglicol, dimetilglioxima, éter dietílico, cloroformo, diclorometano, benceno, tolueno, acetona, tetrahidrofurano, dimetilsulfóxido, dioxano, dimetilformamida o acetonitrilo.

35 Los procedimientos descritos anteriormente pueden darse a temperaturas entre -80°C y 300°C, y a una presión de 10⁻³ a 100 atm, con o sin agitación, con irradiación con luz ultravioleta si es necesario, y con la adición de una sal cuando sea necesario.

Los complejos de la presente invención son estables al aire y estables en medios acuosos durante un periodo apropiado para fines medicinales y tienen propiedades antitumorales y antimetastásicas muy relevantes.

40 Por lo tanto, en otro aspecto, es un objeto de la presente invención proporcionar composiciones farmacéuticas y medicamentos que comprenden una cantidad farmacéuticamente eficaz de al menos un complejo macromolecular de un metal de transición de la presente invención o una sal del mismo, opcionalmente en combinación con otros principios activos y/o vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

45 Los complejos organometálicos macromoleculares de metales de transición de fórmula (I), (II), (III) o (IV) como se definen anteriormente y las composiciones y medicamentos de acuerdo con la invención pueden usarse como medicamentos, por ejemplo, en el tratamiento de tumores, tanto del tumor primario como de las metástasis que origina. Ejemplos de tumores son carcinomas de mama, ovario, próstata, páncreas, glioma, leucemia y melanoma, entre otros. También se pueden utilizar en terapia fotodinámica para el tratamiento de cánceres superficiales como el cáncer de piel y faringe, entre otros.

50 En otro aspecto más, es un objeto de la presente invención el uso de los compuestos de fórmula (I) en medicamentos, concretamente en el tratamiento y/o prevención del cáncer, incluyendo el tratamiento de tumores sólidos, tumores líquidos y/o metástasis. Además, los compuestos de la presente invención pueden usarse en composiciones farmacéuticas o medicamentos como agentes antitumorales y/o como agentes radiosensibilizadores para la terapia del cáncer.

Los ejemplos particulares que se presentan a continuación están destinados únicamente a ilustrar la presente

invención y no deben interpretarse como una limitación de la presente invención.

Descripción de realizaciones

Ejemplos

I - Síntesis

5 Ejemplo 1

Síntesis de un macroligando heteroaromático: 2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Una mezcla de 1 g de 3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona, 56.5 mg de dimetilaminopiridina y 37.5 mg de 2,2'-bipiridina-4,4'-dimetanol se calentó a 135°C en un baño de aceite con agitación. Después de fundir la 3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona, se dejó reposar durante 5 minutos y después de este periodo la reacción se inactivó con la adición de un exceso de una mezcla de metanol/agua. Luego, el producto se precipitó en aproximadamente 50 ml de una mezcla de metanol/agua. El disolvente se evaporó al vacío y el producto obtenido se lavó con éter dietílico y se secó a vacío para proporcionar aproximadamente 750 mg del compuesto del título como un producto blanco.

RMN ¹H [CDCl₃, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 8.67 [d, H_{meta} bipiridina], 8.30 [s, H_{orto} bipiridina], 7.27 [H_{para} bipiridina], 5.26 [s, -CH₂O bipiridina], 5.16 [m, -CH-cadena principal de polilactida], 4.36 [q, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.55 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.49 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 2

20 Síntesis de un macroligando heteroaromático funcionalizado con una molécula de interés biológico: diantraceno-9-carboxilato de 1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)}bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 300 mg del 2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}-propanoato) obtenido en el ejemplo 1 en tetrahidrofurano anhidro (THF) y se añadieron 25 µl de trietilamina. La reacción continuó durante 1 h. Después de este periodo, se añadieron a la solución 36.5 mg de ácido antraceno-9-carboxílico y la reacción continuó a la temperatura de reflujo del THF hasta la eliminación completa del agua formada durante la reacción usando un aparato Dean-Stark. Finalmente, el compuesto obtenido se secó a vacío para proporcionar aproximadamente 300 mg del compuesto del título 1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)}bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato como un producto blanco.

35 RMN ¹H [CDCl₃, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 8.67 [d, H_{meta} bipiridina], 8.38 [d, H_{para} antraceno + H_{orto} bipiridina], 8.16 [d, H-aromático antraceno], 7.95 [d, H-aromático antraceno], 7.43 [t, H-aromático antraceno], 7.27 [d, H_{para} bipiridina], 5.26 [s, -CH₂O bipiridina], 5.16 [m, -CH-cadena principal de polilactida], 4.36 [q, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.57 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.50 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 3

Síntesis alternativa de un complejo organometálico de rutenio que contiene un macroligando heteroaromático: hexafluorofosfato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)-k²N,N')(carbonilo)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II) - Compuesto 1

40 La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 15 mg de [Ru(Cp)(NCMe)₃][PF₆] en diclorometano anhidro. La solución obtenida se enfrió a 0°C usando hielo. Una vez que se alcanza la temperatura de 0°C, se añadieron 170 mg del 2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato) obtenido en el ejemplo 1. Después de 5 min, la solución se retiró del hielo y se dejó reaccionar durante aproximadamente 30 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se hizo pasar un flujo de CO durante aproximadamente 15 min. Luego, la solución se filtró con Celite y el filtrado se evaporó hasta el límite de precipitación del compuesto. Se añadieron aproximadamente 15 ml de hexano anhidro para forzar la precipitación. La solución se decantó y el precipitado se secó a vacío. El producto se recrystalizó en diclorometano anhidro/hexano para proporcionar 150 mg del compuesto del título hexafluorofosfato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}-propanoato)-k²N,N')(carbonilo)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II) en forma de sal parduzca.

50 RMN ¹H [acetona-d₆, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 9.28 [d, H_{meta} bipiridina], 8.49 [s, H_{orto} bipiridina], 7.69 [H_{para} bipiridina], 5.51 [s, η⁵-ciclopentadienilo], 5.30 [m, -CH- cadena principal de polilactida + -CH₂O bipiridina], [q, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.55 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.39 [m, -CH₃ grupo terminal de

polilactida].

Ejemplo 4

Síntesis alternativa de un complejo organometálico de rutenio que contiene un macroligando heteroaromático: hexafluorofosfato de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k^2N,N'](carbonilo)(\eta^5-ciclopentadienilo)rutenio(II)$ - Compuesto 2

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 15 mg de $[Ru(Cp)(NCMe)_3][PF_6]$ en diclorometano anhidro. La solución obtenida se enfrió a 0°C usando hielo. Una vez que se alcanza la temperatura de 0°C, se añadieron 170 mg de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato]$ obtenido en el ejemplo 2. Después de 5 min, la solución se retiró del hielo y se dejó reaccionar durante aproximadamente 30 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se hizo pasar un flujo de CO durante aproximadamente 15 min. Luego, la solución se filtró con Celite y el filtrado se evaporó hasta el límite de precipitación del compuesto. Se añadieron aproximadamente 15 ml de hexano anhidro para forzar la precipitación. La solución se decantó y el precipitado se secó a vacío. El producto se recrystalizó en diclorometano anhidro/hexano para proporcionar aproximadamente 150 mg del compuesto hexafluorofosfato de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k^2N,N'](carbonilo)(\eta^5-ciclopentadienilo)rutenio(II)$ en forma de sal parduzca.

RMN 1H [acetona-d₆, Me₄Si, δ /ppm (multiplicidad, asignación)]: 8.71 [d, H_{meta} bipiridina], 8.62 [s, H_{para} antraceno], 8.49 [s, H_{orto} bipiridina], 8.22 [d, H-aromático antraceno], 8.11 [d, H-aromático antraceno], 7.55 [m, H-aromático antraceno], 7.45 [d, H_{para} bipiridina], 5.38 [s, η^5 -ciclopentadienilo], 5.21 [m, -CH- cadena principal de polilactida + -CH₂O bipiridina], 4.31 [q, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.55 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.39 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 5

Síntesis alternativa de un complejo organometálico de rutenio que contiene un macroligando heteroaromático: triflato de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k^2N,N'](trifenilfosfano)(\eta^5-ciclopentadienilo)rutenio(II)$ - Compuesto 3

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 70 mg de $[RuCp(PPh_3)_2Cl]$ en diclorometano anhidro. Luego, se añadieron 450 mg del $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato]$ obtenido en el ejemplo 2 y 24,6 mg de AgCF₃SO₃. La mezcla obtenida se calentó a reflujo durante 3 h con agitación. Se dejó reposar y la solución se filtró para eliminar el AgCl precipitado. Luego, el producto se secó a vacío, se lavó con hexano y se recrystalizó en diclorometano anhidro/hexano para proporcionar aproximadamente 430 mg del compuesto del título triflato de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k^2N,N'](trifenilfosfano)(\eta^5-ciclopentadienilo)rutenio(II)$ como una sal de naranja.

RMN 1H [acetona-d₆, Me₄Si, δ /ppm (multiplicidad, asignación)]: 9.51 [d, H_{meta} bipiridina], 8.49 [m, H-aromático antraceno + H_{orto} bipiridina], 7.70 [m, H-aromático antraceno], 7.57 [m, H-aromático fosfano], 7.57 [d, H_{para} bipiridina], 7.43 [m, H-aromático fosfano], 7.13 [m, H-aromático fosfano], 5.35 [s, -CH₂O- bipiridina], 5.21 [m, -CH- cadena principal de polilactida], 4.94 [s, η^5 -ciclopentadienilo], 4.31 [m, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.55 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.39 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 6

Síntesis alternativa de un complejo organometálico de rutenio que contiene un macroligando heteroaromático: triflato de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)dinaftaleno-2-carboxilato)-k^2N,N'](trifenilfosfano)(\eta^5-ciclopentadienilo)rutenio(II)$ - Compuesto 4

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 70 mg de $[RuCp(PPh_3)_2Cl]$ en diclorometano anhidro. Luego, se añadieron 450 mg de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)dinaftaleno-2-carboxilato]$ y 24,6 mg de AgCF₃SO₃. La mezcla obtenida se calentó a reflujo durante 3 h con agitación. Se dejó reposar y la solución se filtró para eliminar el AgCl precipitado. Luego, el producto se secó a vacío, se lavó con hexano y se recrystalizó en diclorometano anhidro/hexano para proporcionar aproximadamente 420 mg del título triflato de $[(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-$

2,1-diil)dinaftaleno-2-carboxilato)- k^2N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) como una sal de naranja.

RMN 1H [acetona- d_6 , Me_4Si , δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 9.51 [d, H_{meta} bipiridina], 8.66 [m, H-aromático naftaleno + H_{orto} bipiridina], 8.09 [m, H_{para} bipiridina], 7.97 [d, H-aromático naftaleno], 7.77 [d, H-aromático naftaleno], 7.57 [m, H-aromático naftaleno], 7.45 [t, H-aromático fosfano], 7.34, [t, H-aromático fosfano], 7.16 [m, H-aromático naftaleno], 5.22 [m, $-CH_2O-$ bipiridina + $-CH-$ cadena principal de polilactida], 4.95 [s, η^5 -ciclopentadienilo], 4.30 [m, $-CH-$ grupo terminal de polilactida], 1.55 [m, $-CH_3$ cadena principal de polilactida + $-CH_3$ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 7

Síntesis alternativa de un complejo organometálico de rutenio que contiene un macroligando heteroaromático: triflato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metiten})bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)- k^2N,N')-(trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) - Compuesto 5

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 70 mg de $[RuCp(PPh_3)_2Cl]$ en diclorometano anhidro. Luego, se añadieron 450 mg del 2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato) obtenido en el ejemplo 1 y 24.6 mg de $AgCF_3SO_3$. La mezcla obtenida se calentó a reflujo durante 3 h con agitación. Se dejó reposar y la solución se filtró para eliminar el $AgCl$ precipitado. Luego, el producto se secó a vacío, se lavó con hexano y se recrystalizó en diclorometano anhidro/hexano para proporcionar aproximadamente 430 mg de triflato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)- k^2N,N')-(trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) como una sal naranja.

RMN 1H [acetona- d_6 , Me_4Si , δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 9.53 [d, H_{meta} bipiridina], 8.11 [s, H_{orto} bipiridina], 7.69 [d, H_{para} bipiridina], 7.60-7.10 [m, H-aromático fosfano], 5.48 [s, $-CH_2O-$ bipiridina], 5.20 [m, $-CH-$ cadena principal de polilactida], 4.97 [s, η^5 -ciclopentadienilo], 4.32 [m, $-CH-$ grupo terminal de polilactida], 1.57 [m, $-CH_3$ cadena principal de polilactida], 1.40 [m, $-CH_3$ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 8

Síntesis alternativa de un complejo organometálico de rutenio que contiene un macroligando heteroaromático: triflato de [(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahidroxioxano-2-carboxilato)- k^2N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) - Compuesto 6

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 70 mg de $[RuCp(PPh_3)_2Cl]$ en diclorometano anhidro. Luego, se añadieron 450 mg de 1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahidroxioxano-2-carboxilato) y 24.6 mg de $AgCF_3SO_3$. La mezcla obtenida se calentó a reflujo durante 3 h con agitación. Se dejó reposar y la solución se filtró para eliminar el $AgCl$ precipitado. Luego, el producto se secó a vacío, se lavó con hexano y se recrystalizó en diclorometano anhidro/hexano para proporcionar 400 mg del título triflato de [(1,1'-(1,1'-(1,1'-(2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen}))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahidroxioxano-2-carboxilato)- k^2N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II) como una sal naranja.

RMN 1H [acetona- d_6 , Me_4Si , δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 9.53 [d, H_{meta} bipiridina], 8.10 [s, H_{orto} bipiridina], 7.67-7.11 [m, H-aromático fosfano + H_{para} bipiridina], 5.49-5.31 [m, H éster glucurónico], 5.20 [m, $-CH_2O-$ bipiridina + $-CH-$ cadena principal de polilactida], 4.96 [s, η^5 -ciclopentadienilo], 4.30 [m, $-CH-$ grupo terminal de polilactida + H éster glucurónico], 3.47-3.29 [m, H éster glucurónico], 1.55 [m, $-CH_3$ cadena principal de polilactida], 1.39 [m, $-CH_3$ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 9

Síntesis de un compuesto macromolecular 4-(difenilfosfino)benzoato de 1-((1-((1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il)oxi)-1-(poli(ácido láctico)))1-oxopropano-2-ilo

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se calentó una mezcla de 1 g de 3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona, 28.25 mg de dimetilaminopiridina y 11.98 μl de fenilmetanol a 135°C en un baño de aceite y con agitación. Una vez que se fundió la 3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona, se dejó reposar durante 5 minutos. Después de este periodo, la reacción se inactivó con la adición de un exceso de una mezcla de metanol/agua. Luego, el producto se precipitó en aproximadamente 50 ml de una mezcla de metanol/agua. El disolvente se evaporó a vacío y el producto se lavó con éter dietílico y se secó a vacío. Luego, se disolvieron 270 mg de este polímero en THF anhidro y se añadieron 10 μl de trietilamina. La reacción continuó durante 1 h. Después de este período, se añadieron 23 mg de ácido 4-(difenilfosfano)benzoico y la reacción continuó a la temperatura de reflujo del THF hasta la completa eliminación del agua formada en la reacción usando un aparato Dean-Stark. Finalmente, el producto se secó a vacío

para proporcionar 700 mg del compuesto del título como un producto blanco.

RMN ¹H [CDCl₃, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 7.41-7.20 [m, H-aromático bencilo y fosfano], 5.19 [m, -CH- cadena principal de polilactida], 4.39 [q, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.52 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.41 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

5 Ejemplo 10

Síntesis de un complejo organometálico de hierro que contiene un fosfano macromolecular: [1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico)))-1-oxopropano-2-il-4-(difenilfosfino)benzoato-k¹P}(carbonilo)(yodo)(η⁵-ciclopentadienilo)hierro(II) - Compuesto 7

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 810 mg de [FeCp(CO)₂] en acetona anhidra. Luego, se añadieron 900 mg de ácido 4-(difenilfosfano)benzoico (BZA). La mezcla se irradió con UV (230 V, lámpara de 300 W) durante 3 h con agitación. Se dejó reposar y se filtró la solución; luego se evaporó el disolvente del filtrado. El compuesto obtenido se lavó con hexano y se recrystalizó en diclorometano anhidro/hexano para proporcionar el compuesto deseado [FeCp(P(Ph₂)(BZA))(CO)]I. Se disolvieron 95 mg de este compuesto en aproximadamente 50 ml de THF anhidro y se añadieron 50 µl de trimetilamina. La reacción continuó durante 1 h. Después de este período, se añadieron 420 mg del polímero deseado y la reacción continuó a la temperatura de reflujo de THF hasta la eliminación completa del agua formada en la reacción usando un aparato Dean-Stark. Finalmente, el producto se secó a vacío para proporcionar 390 mg del compuesto del título [1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico)))-1-oxopropano-2-il-4-(difenilfosfino)benzoato-k¹P}(carbonilo)(yodo)(η⁵-ciclopentadienilo)-hierro(II) como un compuesto sólido neutro verde parduzco.

RMN ¹H [dmsó-d₆, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 7.90-7.30 [m, H aromáticos fosfano + H aromáticos bencilo], 5.1 [m, η⁵-ciclopentadienilo + -CH- cadena principal de polilactida + -CH₂O bencilo], 4.63 [q, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.24 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.24 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 11

25 Síntesis de un fosfano macromolecular: tris(1-{1-(1-hidroxipropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)fosfano

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Una mezcla de 1 g de (3S)-cis-3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona, 56,5 mg de dimetilaminopiridina y 30 mg de tris(hidroximetil)fosfina se calentó a 120°C en un baño de aceite con agitación. Después de fundir la (3S)-cis-3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona, se dejó reposar durante 5 minutos, y después de este período la reacción se inactivó con la adición de un exceso de una mezcla de metanol/agua. Luego, el producto se precipitó en aproximadamente 50 ml de una mezcla de metanol/agua. El disolvente se evaporó a vacío y el producto obtenido se lavó con éter dietílico y se secó a vacío, para proporcionar aproximadamente 900 mg del compuesto del título como un producto blanco.

35 RMN ¹H [CDCl₃, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 5.16 [m, -CH- cadena principal de polilactida], 4.58 [s, -CH₂O fosfina], 4.36 [q, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.58 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.50 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

Ejemplo 12

40 Síntesis de un complejo organometálico de hierro que contiene un fosfano macromolecular: [tris(1-{1-(1-hidroxipropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)fosfano-k¹P}(carbonilo)(yodo)(η⁵-ciclopentadienilo)hierro(II) - Compuesto 8

La síntesis se llevó a cabo utilizando técnicas de *Schlenk* en atmósfera inerte de nitrógeno y los disolventes previamente se secaron y destilaron en atmósfera de nitrógeno. Se disolvieron 40 mg de [FeCp(CO)₂] en acetona anhidra. A continuación, se añadieron 445 mg de tris(1-{1-(1-hidroxipropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)fosfano preparado en el ejemplo anterior. La mezcla obtenida se irradió con UV (lámpara de 230 V, 300 W) durante 8 horas con agitación y en atmósfera de nitrógeno. La solución se dejó reposar y se filtró; luego, se evaporó el disolvente filtrado. El compuesto obtenido se lavó con hexano y se recrystalizó con acetona anhidra/n-hexano, proporcionando así aproximadamente 450 mg del compuesto del título como un compuesto sólido neutro verde parduzco.

50 RMN ¹H [CDCl₃, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 5.16 [m, -CH₂O- fosfina, -CH- cadena principal de polilactida], 4.63 [s, η⁵-ciclopentadienilo], 4.31 [m, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.57 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.50 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida]

Ejemplo 13

Síntesis alternativa de un complejo organometálico de rutenio que contiene un fosfano macromolecular: triflato de [(1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico)-1-oxopropano-2-il)-4-(difenilfosfino)benzoato-k¹P}(2-benzoilpiridina)-k²N,O)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II) - Compuesto 9

Se disolvieron 137 mg de ({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico))}-1-oxopropano-2-ilo) en aproximadamente 50 ml de THF anhidro y se añadieron 50 µl de trietilamina. La reacción continuó durante 1 hora. Después de este período, se añadieron 68 mg de triflato de [(2-benzoilpiridina)-k²N,O][[(4-(difenilfosfinobenzoato))-k¹P](η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II) y la reacción continuó a la temperatura de reflujo de THF hasta la eliminación completa del agua formada a lo largo de la reacción utilizando un aparato Dean-Stark. El producto se secó a vacío para proporcionar 93 mg del compuesto del título como un producto sólido violeta.

RMN ¹H [acetona-d₆, Me₄Si, δ/ppm (multiplicidad, asignación)]: 9.89 [d, H_{orto} piridina], 8.30 [d, H_{meta} piridina], 8.05 [t, H_{para} piridina], 7.95 [d, H-aromático fosfano], 7.68 [m, H_{meta} piridina +], 7.60-7.20 [m, H-aromático fosfano + H-aromático bencilo], 5.20 [m, -CH₂-bencilo grupo terminal de polilactida, -CH- cadena principal de polilactida], 4.88 [s, η⁵-ciclopentadienilo], 4.32 [m, -CH- grupo terminal de polilactida], 1.55 [m, -CH₃ cadena principal de polilactida], 1.47 [m, -CH₃ grupo terminal de polilactida].

El carácter monomodal de la distribución de macromoléculas, representado en las Figuras 2a a 2f, muestra una dispersidad de 1.1 para el compuesto 6, de 1.2 para los compuestos 2, 3 y 5, de 1.3 para el compuesto 4 y de 1.4 para el compuesto 1, destacando la presencia de una única población/especie de compuesto (carácter monomodal) con valores de masa molecular muy similares (dispersidad de aproximadamente 1).

II - Actividad biológica

Ejemplo 14

Ensayos de inhibición de la viabilidad celular *in vitro*

A modo de ejemplo se estudió la actividad citotóxica de los compuestos 1, 2, 3, 4, 5 y 6, determinando la concentración requerida para la inhibición de 50% de la viabilidad celular (IC₅₀), parámetro utilizado para evaluar la inhibición de la actividad *in vitro*, en líneas tumorales humanas para algunos compuestos de la presente invención.

a) Se evaluó la actividad citotóxica de los compuestos 5 y 6 en células tumorales humanas de adenocarcinoma de mama MCF-7 procediendo de la siguiente manera para cada compuesto de ensayo:

El cultivo de la línea celular de carcinoma de mama humano (MCF-7; ATCC) se realizó en medio DMEM (Gibco) que contenía GlutaMax I y se complementó con FBS al 10% y penicilina-estreptomicina al 1% y se mantuvo a 37°C en atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂.

El cultivo celular se hizo en matraces que contenían el medio apropiado para la proliferación celular y que permitía la adhesión celular.

Al alcanzar la confluencia requerida, las células se recogieron mediante la adición de una solución de tripsina-EDTA al 0.05% (Gibco®). La viabilidad celular se evaluó por el ensayo de MTT que mide la reducción de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) a formazán azul por las células viables. Para ello, las células se sembraron en 200 µl de medio celular completo en placas de 96 pocillos. La densidad celular era de 2 × 10⁴ células viables (MCF-7) por pocillo.

Las células se dejaron adherir durante 24 h, seguido de la adición de diversas diluciones en medio (200 µl) del compuesto de ensayo. El compuesto de ensayo se solubilizó primero en DMSO y luego en el medio celular y se añadió a las células en concentraciones de 1-100 µM. Las concentraciones finales de DMSO en el medio eran inferiores a 0.5%. Después de 24 h y 72 h de incubación, 37°C/5% CO₂, el medio se sustituyó por 200 µl de la solución de MTT (0.5 mg/ml en tampón de fosfato - PBS). Después de 3-4 h de incubación, se separó la solución de MTT y los cristales de formazán formados por las células viables se disolvieron en DMSO (200 µl). La viabilidad celular se evaluó midiendo la absorbancia a 570 nm, utilizando el espectrofotómetro de placas. La citotoxicidad del compuesto de ensayo se cuantificó calculando la concentración de fármaco que inhibe el crecimiento de 50% de las células (IC₅₀) (Software GraphPad Prism). La evaluación se llevó a cabo con al menos dos experimentos independientes, comprendiendo cada uno seis repeticiones por concentración. Las curvas de dosis-respuesta de la viabilidad celular después de 24 h y 72 h de incubación, respectivamente, se representan en los gráficos de las Figuras 3a y 3b. Los resultados obtenidos muestran claramente que tanto los compuestos 5 como 6 son citotóxicos para la línea celular MCF-7 en el intervalo micromolar. Además, existe una clara relación dosis-respuesta.

b) Se evaluó la actividad citotóxica de los compuestos 5 y 6 en células de carcinoma de ovario A2780 humano y en células de carcinoma de mama humano MDA-MB-231 procediendo de la siguiente manera para cada uno de los compuestos de ensayo:

Los cultivos de líneas celulares de carcinoma humano de mama (MDA-MB-231; ATCC) y de ovario (A2780, ATCC), se llevaron a cabo en medio DMEM (Gibco) que contenía GlutaMax I (MDA-MB-231) o RPMI (A2780) y se completaron con FBS al 10% y penicilina-estreptomicina al 1% y se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂.

El cultivo celular se hizo en matraces que contenían el medio apropiado para la proliferación celular y que permitía la

adhesión celular.

Al alcanzar la confluencia requerida, las células se recogieron mediante la adición de una solución de tripsina-EDTA al 0.05% (Gibco®). La viabilidad celular se evaluó por el ensayo de MTT que mide la reducción del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) a formazán azul por las células viables. Para ello, las células se sembraron en 200 µl de medio celular completo en placas de 96 pocillos. La densidad celular era de 2×10^4 células viables (MDA-MB-231 y A2780) por pocillo.

Las células se dejaron adherir durante 24 h, seguido de la adición de diversas diluciones en medio (200 µl) del compuesto de ensayo. El compuesto de ensayo se solubilizó primero en DMSO y luego en el medio celular y se añadió a las células en concentraciones de 1 a 100 µM. Las concentraciones finales de DMSO en el medio eran inferiores a 0.5%. Después de 24 h y 72 h de incubación, 37°C/5% CO₂, el medio se sustituyó por 200 µl de la solución de MTT (0.5 mg/ml en tampón fosfato -PBS). Después de 3-4 h de incubación, se separó la solución de MTT y los cristales de formazán formados por las células viables se disolvieron en DMSO (200 µl). La viabilidad celular se evaluó midiendo la absorbancia a 570 nm, usando un espectrofotómetro de placa.

La citotoxicidad del compuesto de ensayo se cuantificó calculando la concentración de fármaco que inhibe el crecimiento de 50% de las células (IC₅₀) (Software GraphPad Prism). La evaluación se llevó a cabo con al menos dos experimentos independientes, comprendiendo cada uno seis repeticiones por concentración. Las curvas de dosis-respuesta de la viabilidad celular, después de una incubación de 72 h, se representan en los gráficos de las Figuras 4a y 4b. Los resultados obtenidos muestran claramente que tanto los compuestos 5 como 6 son citotóxicos para las líneas celulares MDA-MB-231 y A2780 en el intervalo micromolar. Además, existe una clara relación dosis-respuesta.

c) La actividad citotóxica de los compuestos 1, 2, 3 y 4 se evaluó en células tumorales de líneas tumorales humanas de ovario A2780, mama MCF-7, glioma U87 y melanoma A345 procediendo de la siguiente manera para cada uno de los compuestos de ensayo:

Los cultivos de líneas celulares humanas de mama (MCF-7; ATCC), glioma (U87, ATCC) y melanoma (A345; ATCC) se llevaron a cabo en medio DMEM (Gibco®) que contenía GlutaMax I (MCF-7; U87; A345) o RPMI (A2780) y se completaron con FBS al 10% y penicilina-estreptomina al 1% y se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂. El cultivo celular se hizo en matraces que contenían el medio apropiado para la proliferación celular y que permitía la adhesión celular. Al alcanzar la confluencia requerida, las células se recogieron mediante la adición de una solución de tripsina-EDTA al 0.05% (Gibco®). La viabilidad celular se evaluó por el ensayo de MTT que mide la reducción del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) a formazán azul por las células viables. Para ello, las células se sembraron en 200 µl de medio celular completo en placas de 96 pocillos. La densidad celular era de 2×10^4 células viables (MCF-7) por pocillo. Las células se dejaron adherir durante 24 h, seguido de la adición de diversas diluciones en medio (200 µl) del compuesto de ensayo. El compuesto de ensayo se solubilizó primero en DMSO y luego en el medio celular y se añadió a las células en concentraciones de 1-100 µM. Las concentraciones finales de DMSO en el medio eran inferiores al 0,5%. Después de 24 h y 72 h de incubación, 37°C/5% CO₂, el medio se sustituyó por 200 µl de la solución de MTT (0.5 mg/ml en tampón de fosfatos-PBS). Después de una incubación de 3-4 h, se separó la solución de MTT y los cristales de formazán formados por las células viables se disolvieron en DMSO (200 µl). La viabilidad celular se evaluó midiendo la absorbancia a 570 nm, utilizando el espectrofotómetro de placas. La citotoxicidad del compuesto de ensayo se cuantificó calculando la concentración de fármaco que inhibe el crecimiento de 50% de las células (IC₅₀) (Software GraphPad Prism). La evaluación se llevó a cabo con al menos dos experimentos independientes, comprendiendo cada uno seis repeticiones por concentración. Los resultados obtenidos después de 48 h de incubación se muestran en los gráficos de las Figuras 5a a 5d, respectivamente, demostrando que todos los compuestos son citotóxicos para las cuatro líneas celulares. Los compuestos 3 y 4 (que contienen el ligando trifenilfosfano), son los más activos (en relación con los compuestos 1 y 2, que contienen el ligando CO). Cabe señalar que los valores obtenidos para la línea altamente mortal de glioma son notables (el valor encontrado en la bibliografía para cisplatino es 130 ± 53 µM (O. Patapova, A. Haghighi, F. Bost, C. Liu, M.J. Birrer, R. Gjerset, D. Mercota, *J. Biol. Chem.* 1997, 272: 14041-14044).

Como se representa en las Figuras 1a a 1f, la variación relativa (%) de la absorbancia a una longitud de onda fija en el tiempo (> 24 h) para los compuestos 1, 2, 3, 4, 5 y 6, respectivamente, en la mezcla de 5% de DMSO:95% de medio celular muestra estabilidad química apropiada en un medio acuoso de los compuestos.

Los resultados se encuentran entre los valores más bajos de citotoxicidad para compuestos del tipo "taburete de piano" (p. ej. P. C. A. Bruijninx, P. J. Sadler, En: en R. Van Eldik, C. D. Hubbard (Eds), *Advances in Inorganic Chemistry*, 61, Academic Press, Londres, 2009, págs. 1-61) y los compuestos muestran actividad en un intervalo de concentraciones micromolares, y en la mayoría de los casos son mejores que el compuesto de referencia, cisplatino, como se muestra en la Tabla 1 a continuación. La tabla 1 muestra valores de IC₅₀, la concentración requerida para la inhibición de 50% de la viabilidad celular en células MCF-7, A2780 y MDA-MB-231, correspondiente a dos nuevos compuestos, los compuestos 5 y 6, cuyas curvas dosis-respuesta de viabilidad celular se representan en las Figuras 3b), 4a) y 4b).

Tabla 1

	IC ₅₀ después de 72 h de incubación		
	MCF-7 (μM)	A2780 (μM)	MDA-MB-231 (μM)
Compuesto 5	4.09 1.97	3.4 1.3	2.7 0.55
Compuesto 6	4.62 1.15	2.20 0.85	5.96 3.25
Cisplatino	28 6.0	2.0 0.10	39 5.0

La Tabla 2 a continuación muestra los valores de IC₅₀, en células MCF-7, correspondientes a los compuestos 5 y 6, cuyas curvas dosis-respuesta de viabilidad celular están representadas en la Figura 3a).

5 Tabla 2

	IC ₅₀ después de una incubación de 24 horas	
	MCF-7 (μM)	
Compuesto 5	4.25 ± 1.15	
Compuesto 6	5.00 ± 1.65	

Una vez alcanzado el tejido tumoral y debido al efecto de permeabilidad y retención mejorado (EPR), los compuestos pueden acumularse allí, aumentando la eficacia del fármaco y permitiendo así reducir el número de dosis de tratamiento y el espaciamiento de tiempo lo que representa una ventaja de gran importancia en la quimioterapia.

- 10 Los estudios de distribución celular de estos compuestos en células tumorales muestran que están ubicados predominantemente en el citoesqueleto, núcleo y/o citoplasma de estas células, lo que indica que se acumulan dentro de la célula, lo que genera grandes expectativas para su uso en terapia dirigida, en concreto a objetivos intracelulares. El gráfico de la Figura 6 muestra la distribución celular de los compuestos 5 y 6 en células de tumor de mama humano MCF-7 después de una incubación de 24 h, estando relacionadas las diferencias observadas con la molécula de interés biológico (-OH en el compuesto 5 frente a azúcar en el compuesto 6) utilizado en cada uno de los diferentes compuestos.

15 A partir de la evidencia, se puede concluir que los fármacos de acuerdo con la presente invención que incluyen moléculas reconocidas por el tumor diana son capaces de alcanzar las células tumorales con alta precisión. La eficacia de estos fármacos también aumenta debido a que el producto que queda de la biodegradación del polímero, que contiene la unidad organometálica, también muestra citotoxicidad contra las células tumorales. Esta característica de los compuestos de la presente invención también puede ser la clave para superar los terribles efectos secundarios de la quimioterapia producidos por los fármacos actualmente en uso.

20 La capacidad de actuar a nivel de metástasis es fundamental, ya que la gran mayoría de las muertes por cáncer se deben a las metástasis y no al tumor primario. Se espera que los compuestos según la presente invención muestren también propiedades favorables para la lucha contra las metástasis, además de la función a nivel del tumor primario, teniendo en cuenta, en primer lugar, los excelentes resultados obtenidos *in vitro* en líneas celulares altamente metastásicas, tales como MDA-MB-231, y en segundo lugar, los resultados de los estudios *in vivo* en ratones atímicos utilizando compuestos de bajo peso molecular (es decir, que no incluyen polímeros en su estructura) ya sintetizados por los autores de la invención. Los resultados obtenidos en ratones atímicos N:NIH(S)II-nu/nu, a los que se les indujo un tumor (MDA-MB-231) en la glándula mamaria, mostraron que una inyección de 2.5 mg/kg por día del fármaco de ensayo, durante 10 días, induce la supresión tumoral en aproximadamente 50% con respecto a los ratones de control. El resultado más importante es la ausencia de metástasis en los órganos principales (pulmones, riñones, hígado y corazón) después del tratamiento, mientras que todos los ratones de control mostraron metástasis. Estos resultados sugieren que este fármaco puede actuar no solo sobre el tumor primario, sino también mediante la inhibición del comportamiento metastásico, probablemente interfiriendo con la angiogénesis tumoral.

35 Además, los compuestos de la presente invención causan muerte celular por apoptosis, que es un mecanismo de muerte celular controlada que evita la lisis de la célula afectada hacia el entorno, aparentemente por una vía mitocondrial, como se demuestra mediante ensayos de apoptosis como se describe a continuación.

Ejemplo 15

40 Ensayo de apoptosis

Para ensayar la apoptosis inducida por los compuestos 5 y 6 en células humanas de cáncer de mama MCF-7, en comparación con células no tratadas, se utilizó un kit para la detección del proceso apoptótico, el *Matriz de apoptosis humana* que proporciona un método rápido y sensible para detectar simultáneamente los niveles relativos de expresión

de 35 proteínas relacionadas con el proceso de apoptosis (las células de control indican un nivel de expresión de 100%), procediendo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Después de 24 h de incubación con los compuestos 5 y 6, se observó una disminución en la expresión de las proteínas de ensayo catalasa y SMAC diablo, lo que sugiere que el proceso de apoptosis se induce a través de la vía intrínseco-mitochondrial. La vía intrínseca se desencadena por estrés intracelular o extracelular. Las señales que se transducen en respuesta a estos estímulos convergen principalmente en las mitocondrias. Este orgánulo integra los estímulos de muerte celular, induciendo la permeabilización mitocondrial y la consiguiente liberación de moléculas proapoptóticas presentes en el mismo. Estos resultados también sugieren que los complejos inducen niveles altos de estrés oxidativo en las células tumorales. Los resultados obtenidos se representan en el gráfico de la Figura 7.

10 Ejemplo 16

Determinación del mecanismo de muerte celular inducida por los compuestos 5 y 6

El tipo de muerte celular inducida por los compuestos 5 y 6 en la línea celular de cáncer MCF-7 después de 48 h de incubación en una concentración de 10 μ M se determinó mediante el ensayo basado en citometría con anexina V/yoduro de propidio (PI). Este ensayo se usa ampliamente para determinar si las células son viables, apoptóticas o necróticas a través de diferencias en la integridad y permeabilidad de la membrana plasmática. Con todo, la anexina V/PI es un enfoque comúnmente utilizado para estudiar la muerte celular (Rieger et al. 2011).

Los resultados han demostrado que la incubación de los compuestos 5 y 6 conducía a un aumento en el porcentaje de células teñidas con Anexina V (Figura 8) en comparación con el control. Anexina V, un marcador de apoptosis temprana. Indicando que, en este caso, el tipo de muerte celular inducida por estos compuestos es la apoptosis. En cuanto a la doble tinción con ambos marcadores, sugiere apoptosis tardía. El cisplatino se utilizó como control positivo ya que se sabe que induce la apoptosis.

Ejemplo 17

Efecto de los compuestos 5 y 6 sobre el citoesqueleto

Teniendo en cuenta los resultados previos que sugerían que los compuestos tanto 5 como 6 interaccionaban con el citoesqueleto (Figura 9), se realizó una técnica de inmunofluorescencia en la línea celular de cáncer MCF-7.

En este ensayo de inmunofluorescencia, se utilizó la faloidina Alexa Fluor 488®, que es una sonda de actina filamentosa (F-actina) de alta afinidad conjugada con el colorante verde fluorescente Alexa Fluor® 488. Con el fin de obtener la tinción nuclear se utilizó DAPI (azul) (Figura 9). En las células de control se pudo observar la integridad de los filamentos de actina F, donde se aprecia una clara delimitación de las células. Por el contrario, en las células incubadas con los compuestos 5 y 6, el citoesqueleto pierde su organización. Además, también se puede detectar la aparición de algunas estructuras en forma de puntos dentro de los núcleos de las células tratadas con ambos compuestos.

REIVINDICACIONES

1. Complejos macromoleculares de metales de transición caracterizado por ser:

hexafluorofosfato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)-k²N,N'(carbonilo)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II);

- 5 hexafluorofosfato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k²N,N'](carbonilo)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II);

triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k²N,N'](trifenilfosfano)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II);

- 10 triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)dinaftaleno-2-carboxilato)-k²N,N'](trifenilfosfano)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II);

triflato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)-k²N,N'(trifenilfosfano)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II);

- 15 triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahidroxioxano-2-carboxilato)-k²N,N'](trifenilfosfano)(η⁵-ciclopentadienilo)-rutenio(II);

[1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico))}-1-oxopropano-2-il-4-(difenilfosfino)benzoato-k¹P](carbonilo)(yodo)(η⁵-ciclopentadienilo)hierro(II);

- 20 [tris(1-{1-(1-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)fosfano-k¹P](carbonilo)(yodo)(η⁵-ciclopentadienilo)-hierro(II); o

triflato de [(1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico)-1-oxopropano-2-il)-4-(difenilfosfino)benzoato-k¹P}((2-benzoilpiridina)-k²N,O)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II).

y sales farmacológicamente aceptables de los mismos.

2. Macroligandos bidentados caracterizados por ser:

- 25 diantraceno-9-carboxilato de 1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-il);

dinaftaleno-2-carboxilato de 1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-il))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-il);

- 30 di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetra-hidroxioxano-2-carboxilato de 1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-il))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-di-il).

3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de al menos un complejo organometálico macromolecular de metal de transición o una sal del mismo, según la reivindicación 1.

- 35 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de al menos un complejo organometálico macromolecular de metal de transición o una sal del mismo, según la reivindicación 1 en combinación con otros principios activos y/o vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

5. La composición farmacéutica según la reivindicación 4, para su uso en terapia del cáncer y/o prevención del cáncer, como agente antitumoral en el tratamiento de tumores sólidos, tumores líquidos y/o metástasis y/o como agente radiosensibilizador.

- 40 6. El complejo de metal de transición macromolecular según la reivindicación 1, para uso en terapia del cáncer y/o prevención del cáncer, como agente antitumoral en el tratamiento de tumores sólidos, tumores líquidos y/o metástasis y/o como agente radiosensibilizador, caracterizado por que dicho compuesto es:

hexafluorofosfato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)-k²N,N'(carbonilo)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II);

- 45 hexafluorofosfato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)-k²N,N'](carbonilo)(η⁵-ciclopentadienilo)rutenio(II);

triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-

il)))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)diantraceno-9-carboxilato)- k^2N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II));

triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)})bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)dinaftaleno-2-carboxilato)- k^2N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II);

5 triflato de (2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis{metilen})bis(2-{2-(2-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)- k^2N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II);

triflato de [(1,1'-{1,1'-(1,1'-{2,2'-bipiridina-4,4'-diilbis(metilen)})bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil))bis(poli(ácido láctico)-il))bis(oxi)bis(1-oxopropano-2,1-diil)di(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5,6-tetrahidroxioxano-2-carboxilato)- k^2N,N'](trifenilfosfano)(η^5 -ciclopentadienilo)-rutenio(II);

10 [1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico))}-1-oxopropano-2-il-4-(difenilfosfino)benzoato- k^1P)(carbonilo)(yodo)(η^5 -ciclopentadienilo)hierro(II);

[tris(1-{1-(1-hidroxiopropanoiloxi)poli(ácido láctico)-il}propanoato)fosfano- k^1P](carbonilo)(yodo)(η^5 -ciclopentadienilo)-hierro(II); o

triflato de [(1-({1-({1-(benciloxi)-1-oxopropano-2-il}oxi)-1-(poli(ácido láctico))}-1-oxopropano-2-il)-4-(difenilfosfino)benzoato- k^1P)((2-benzoilpiridina)- k^2N,O)(η^5 -ciclopentadienilo)rutenio(II).

15 7. La composición farmacéutica según las reivindicaciones 3, 4 o la composición para su uso según la reivindicación 5, o el complejo de metal de transición macromolecular para su uso en terapia del cáncer y/o prevención del cáncer, como agente antitumoral en el tratamiento de tumores sólidos, tumores líquidos y/o metástasis y/o como agente radiosensibilizador según la reivindicación 6 caracterizado por que dicha composición o complejo de metal de transición macromolecular es para usar por administración tópica, intravenosa, subcutánea o intraperitoneal.

20

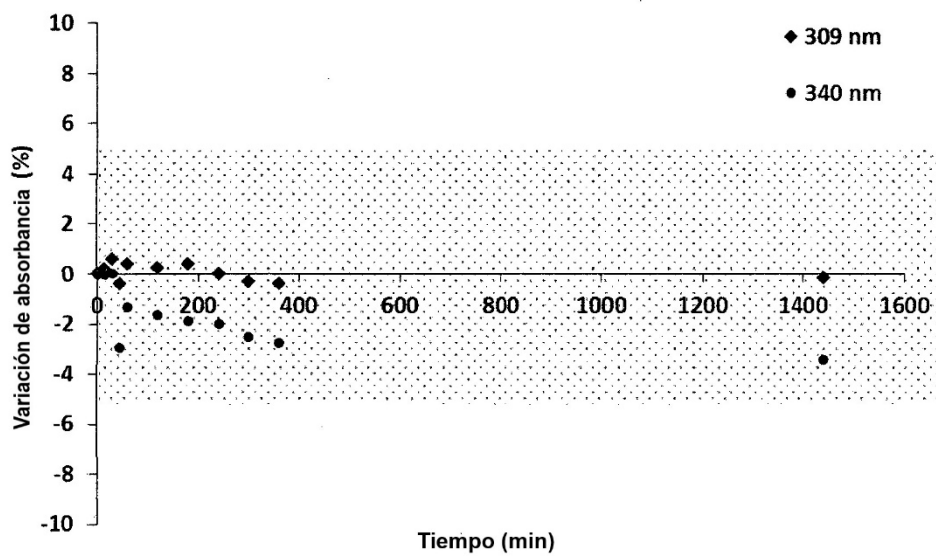


Figura 1 a)

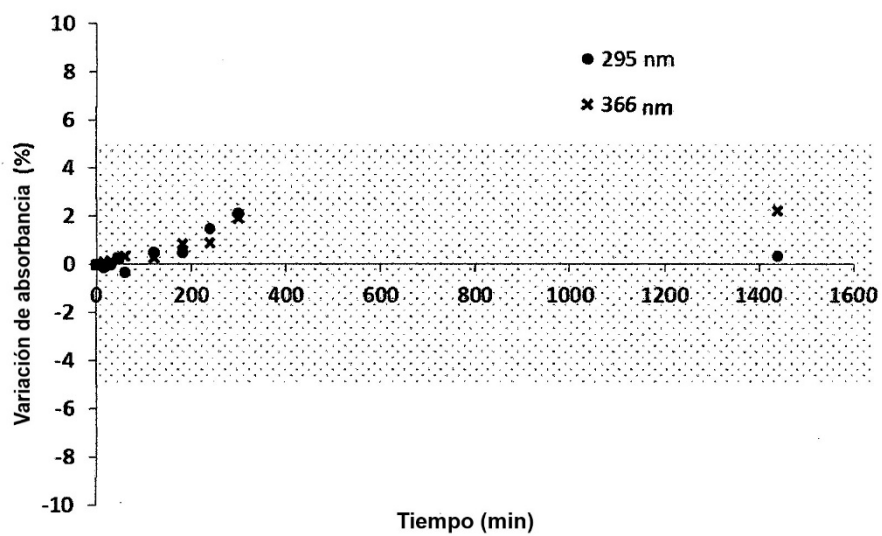


Figura 1 b)

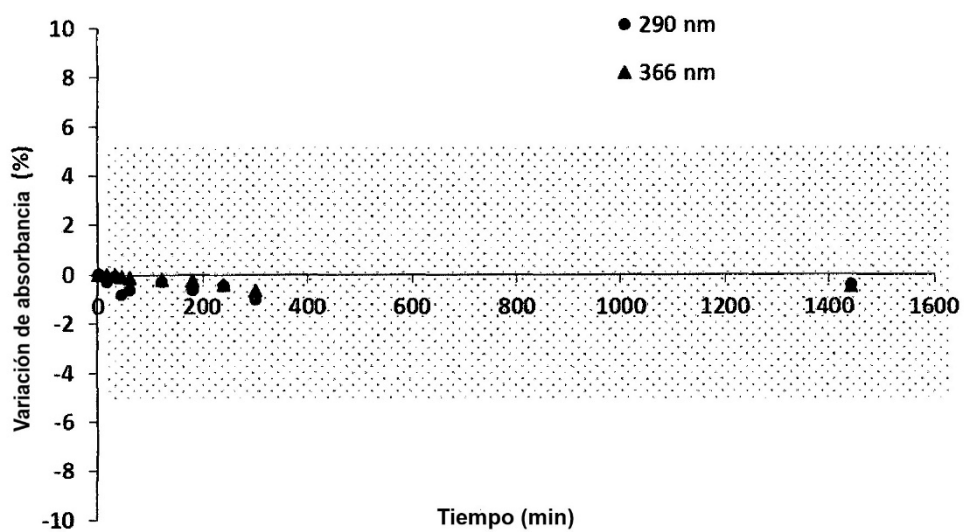


Figura 1 c)

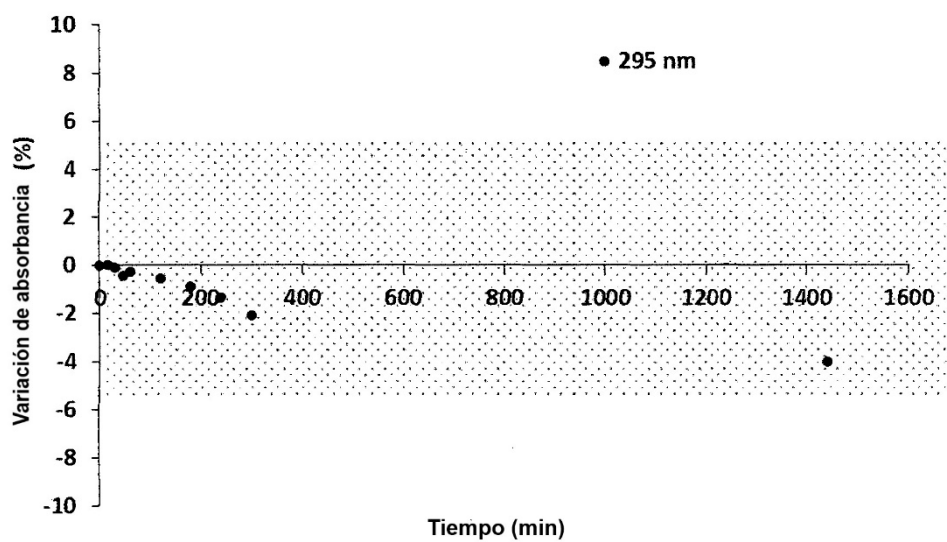


Figura 1 d)

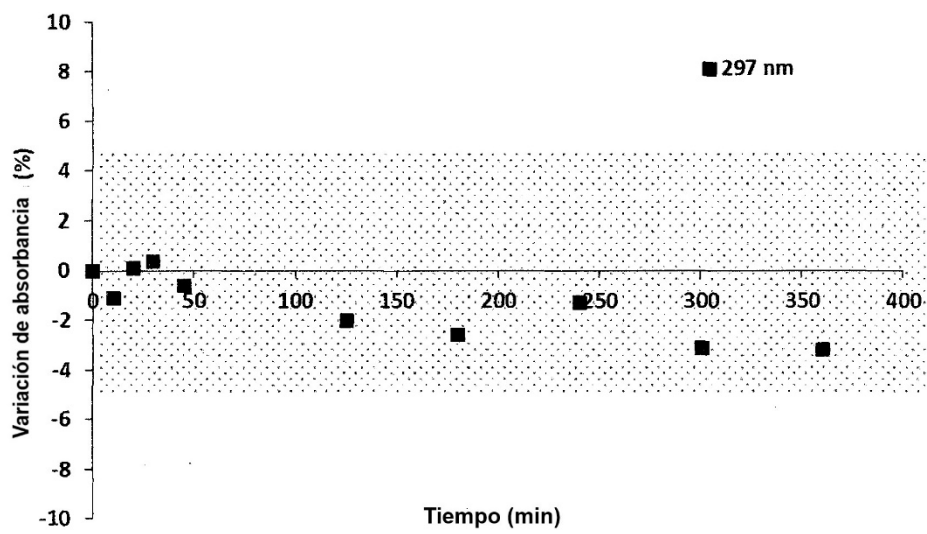


Figura 1 e)

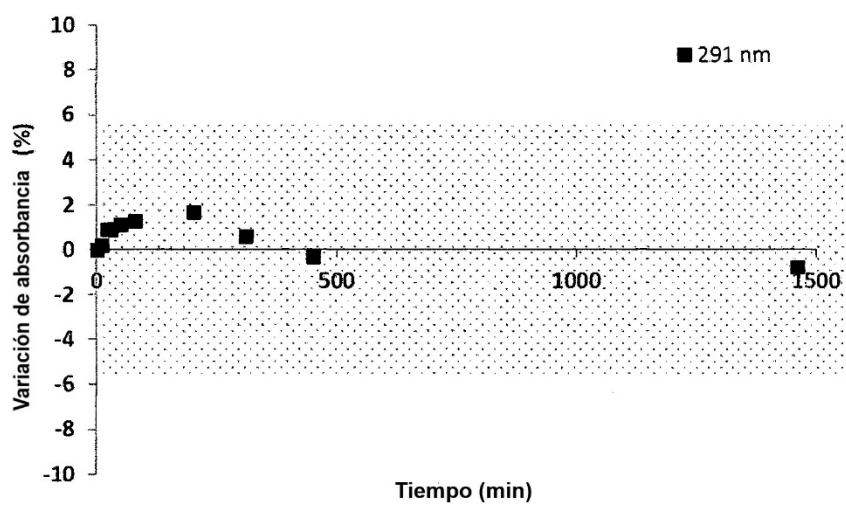


Figura 1 f)

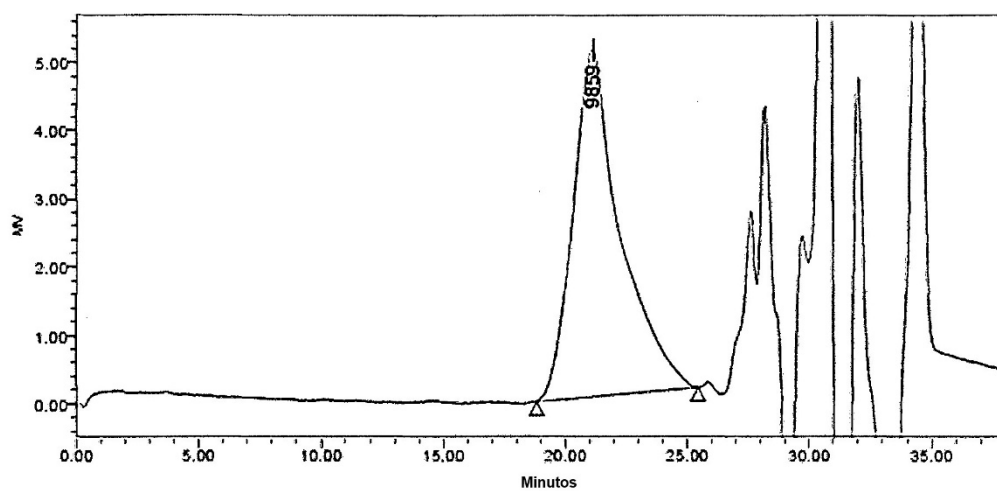


Figura 2 a)

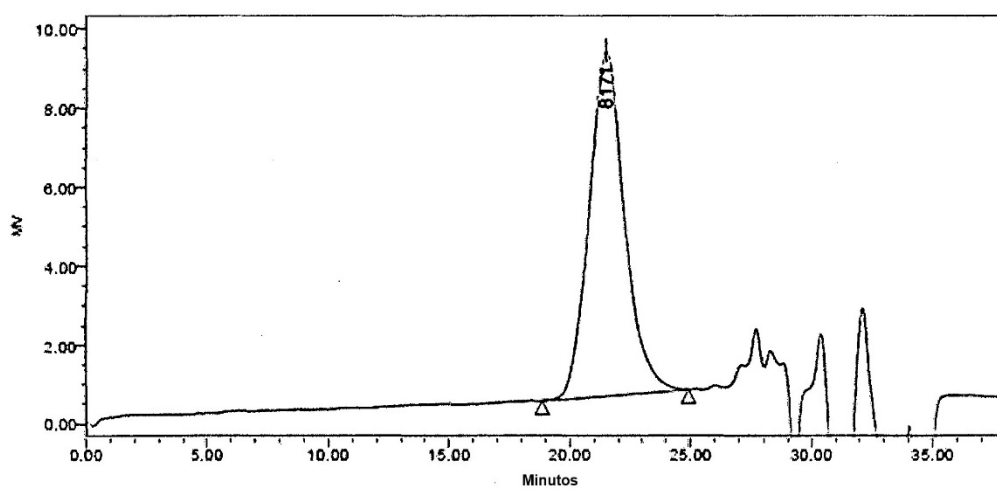


Figura 2 b)

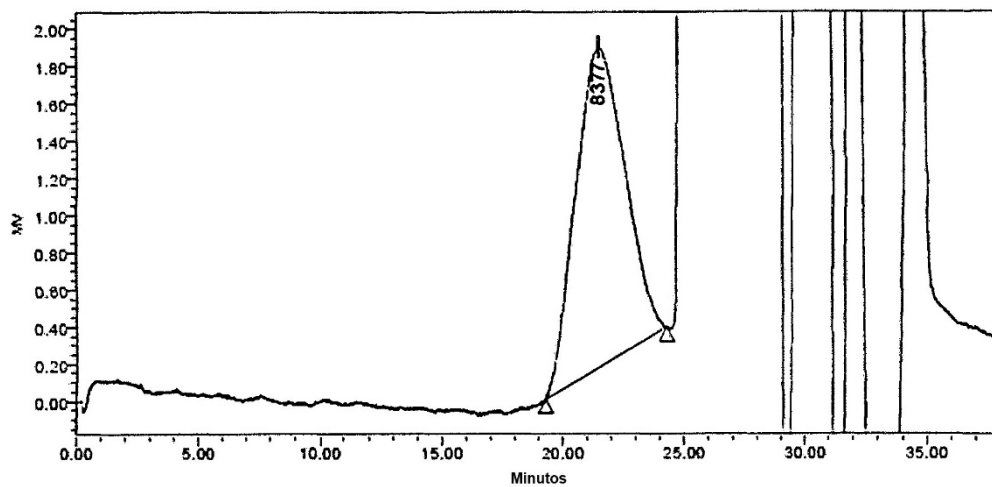


Figura 2 c)

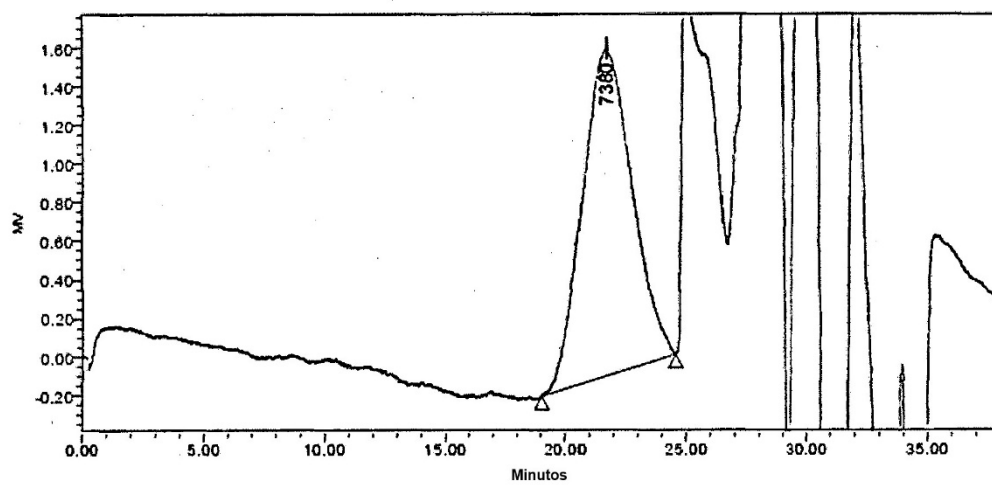


Figura 2 d)

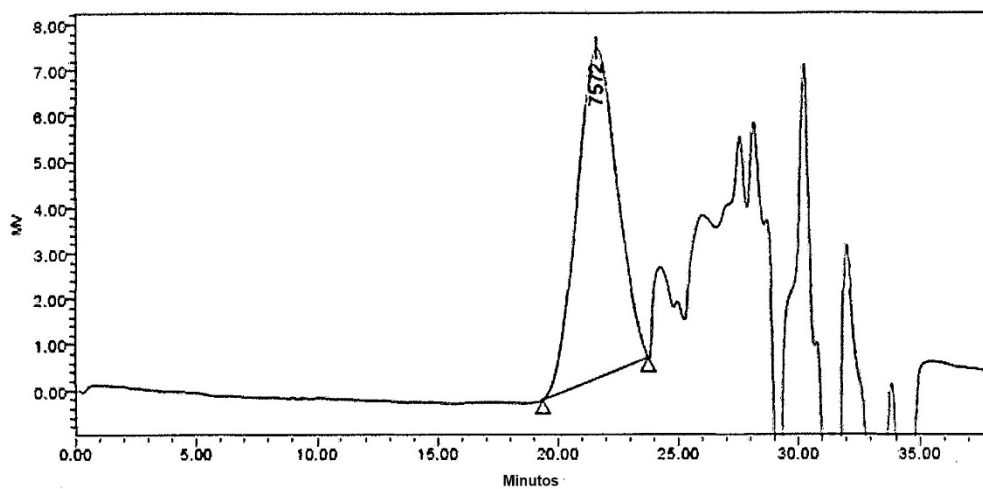


Figura 2 e)

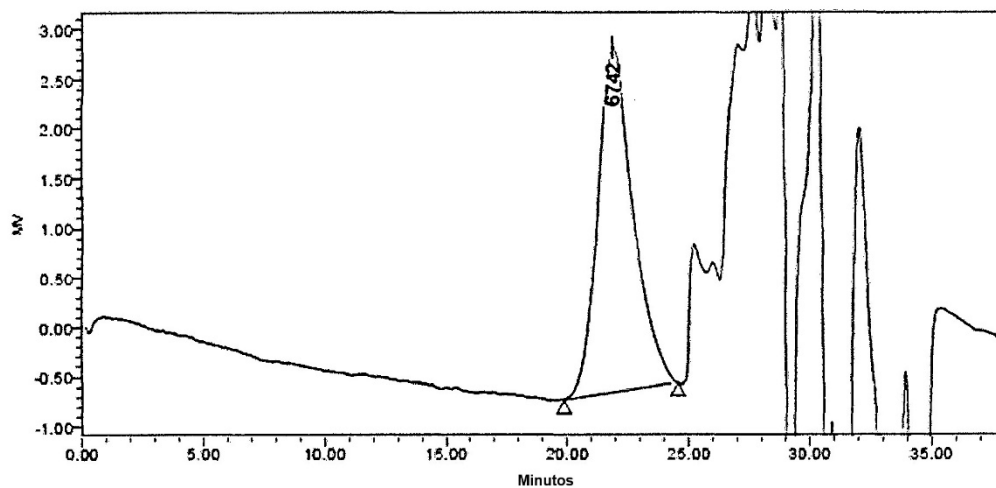


Figura 2 f)

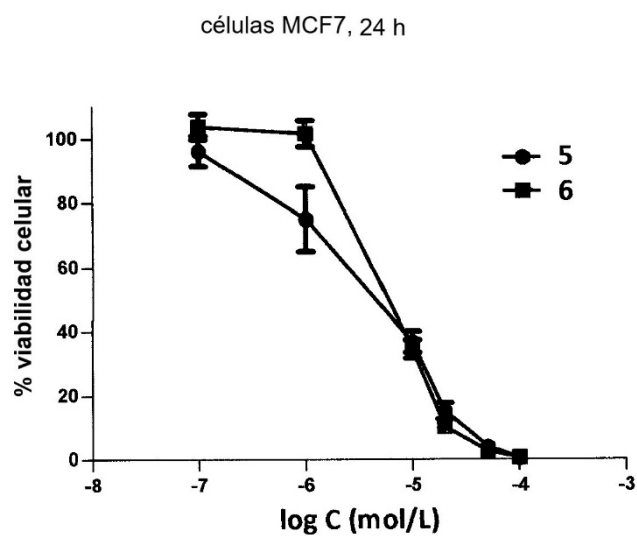


Figura 3 a)

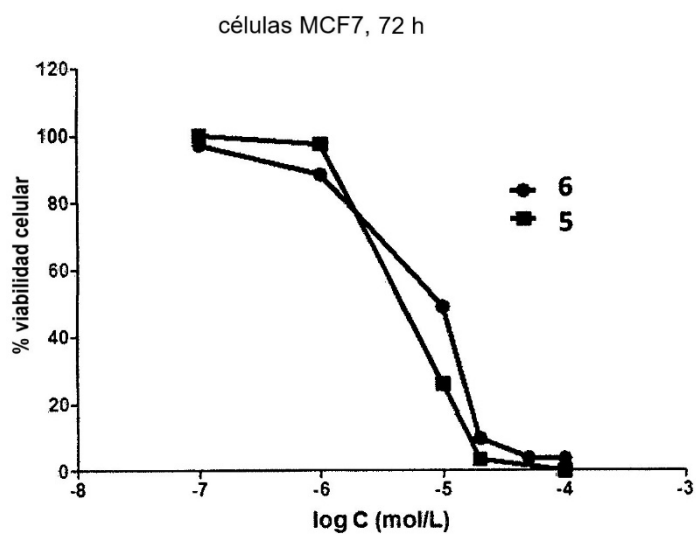


Figura 3 b)

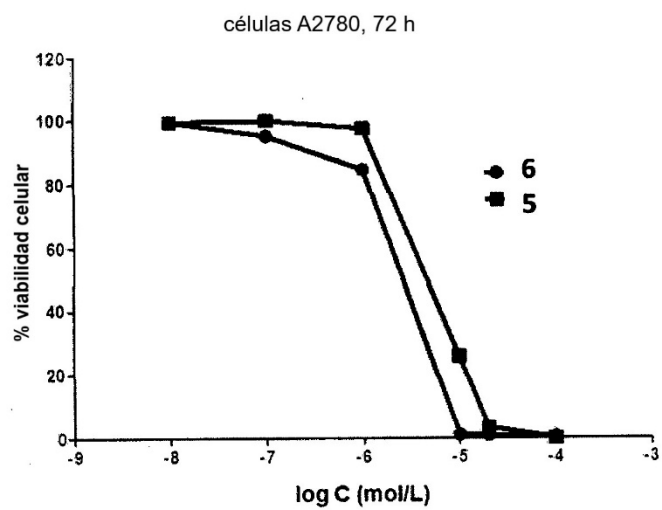


Figura 4 a)

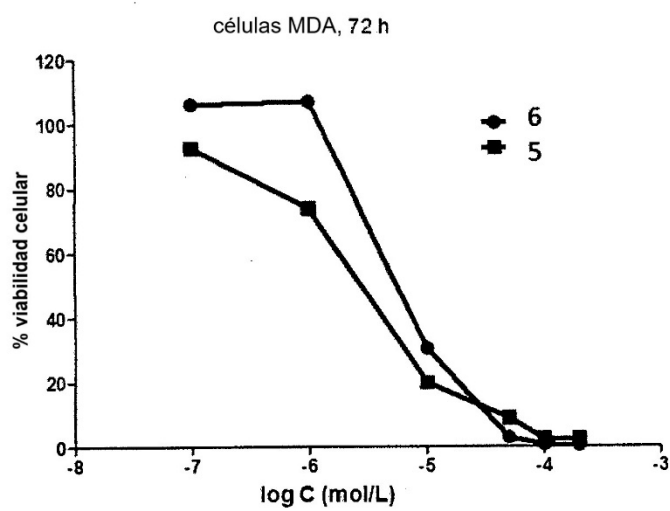


Figura 4 b)

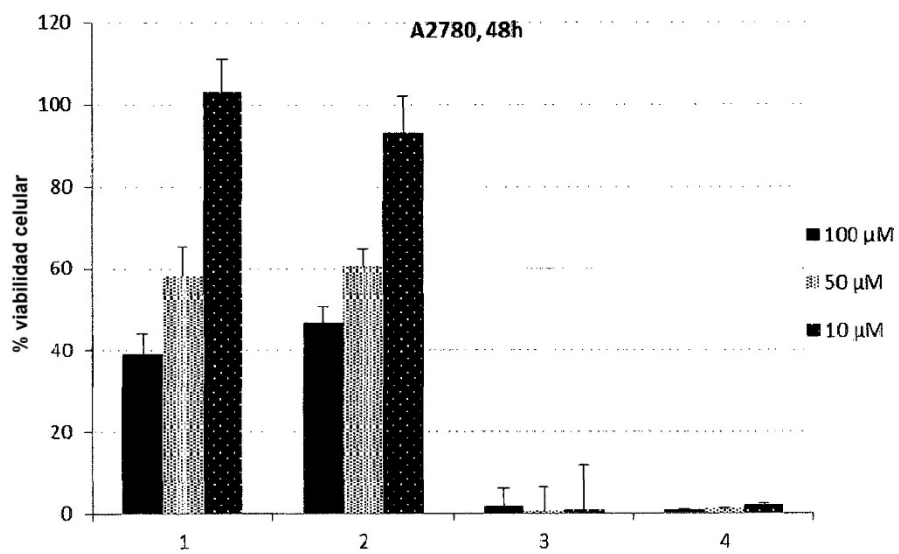


Figura 5 a)

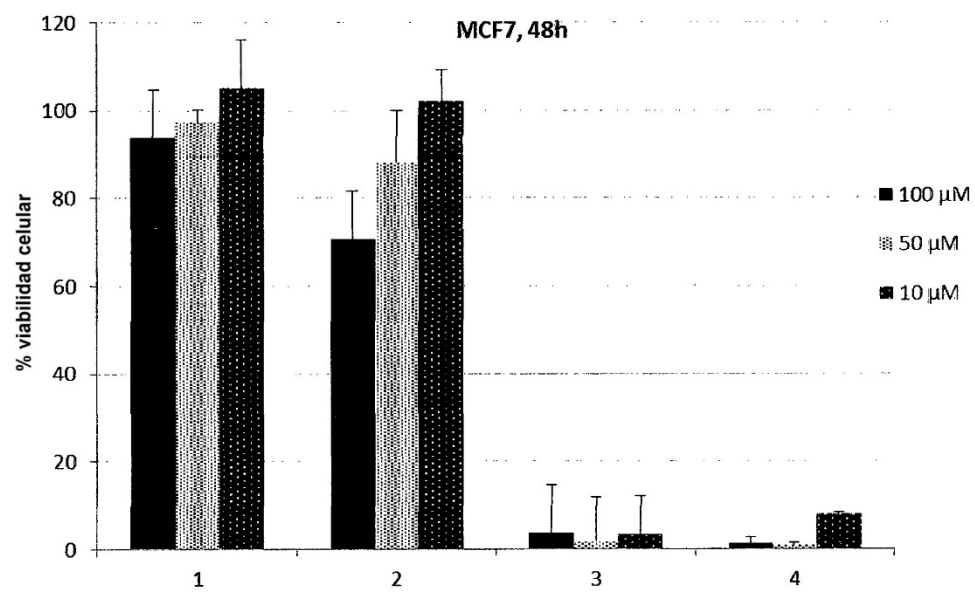


Figura 5 b)

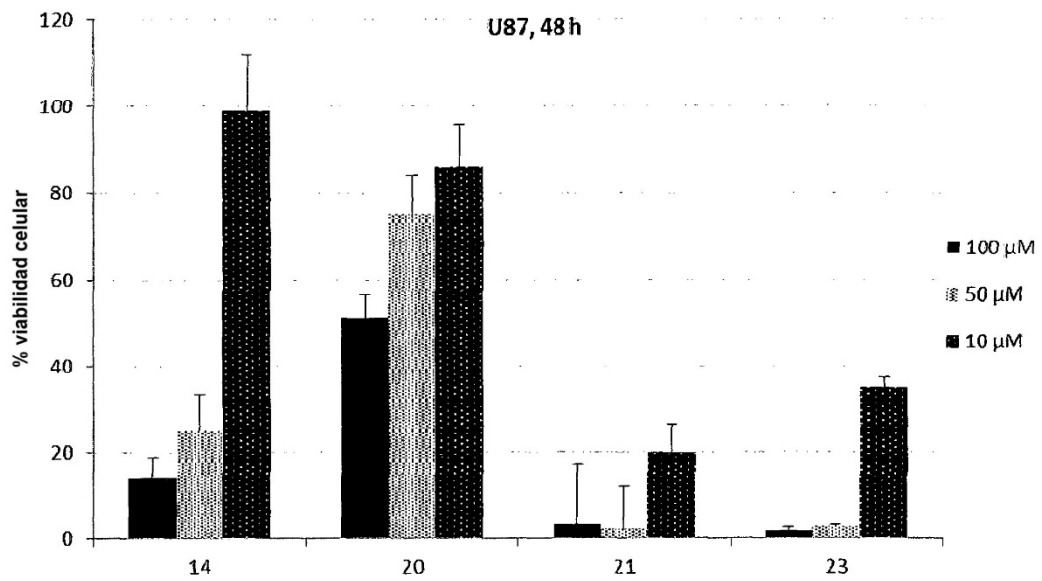


Figura 5 c)

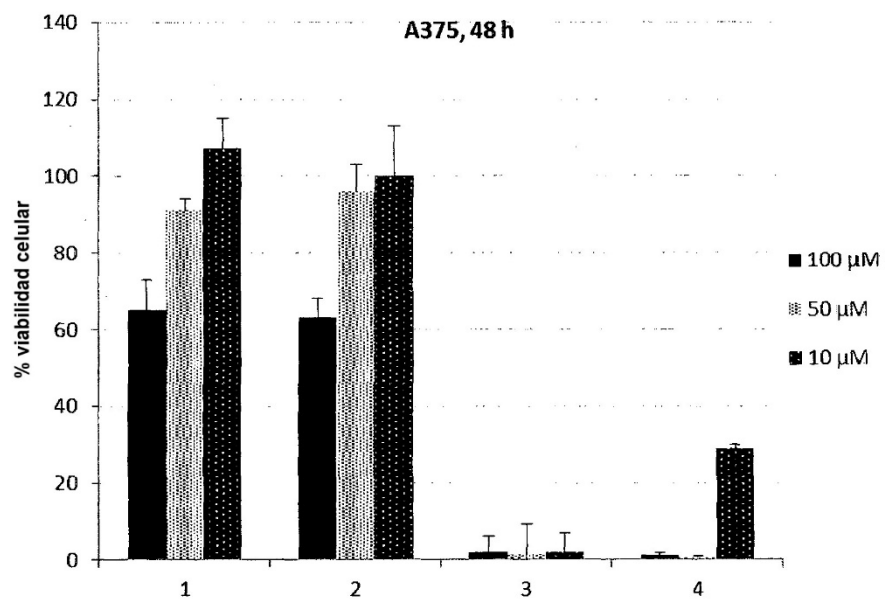


Figura 5 d)

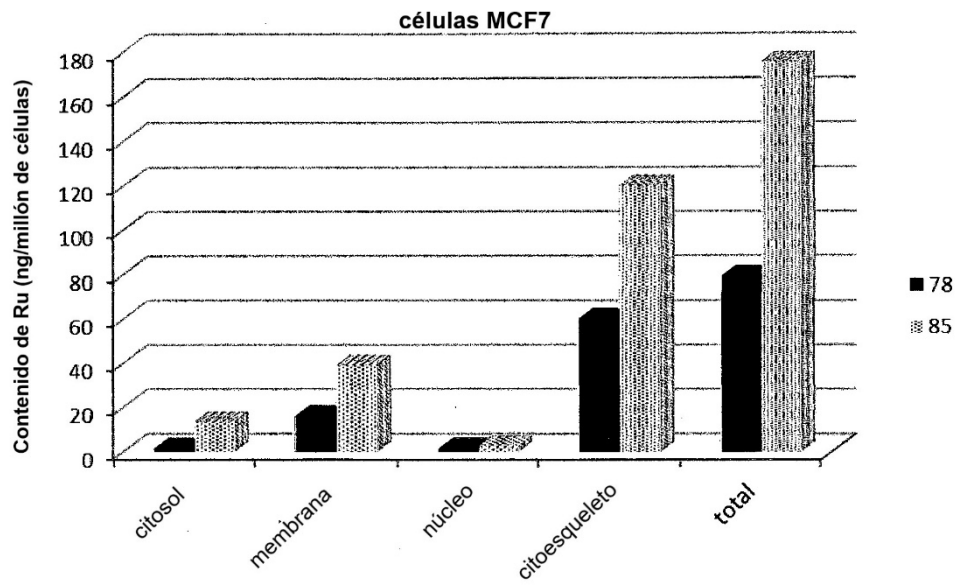


Figura 6

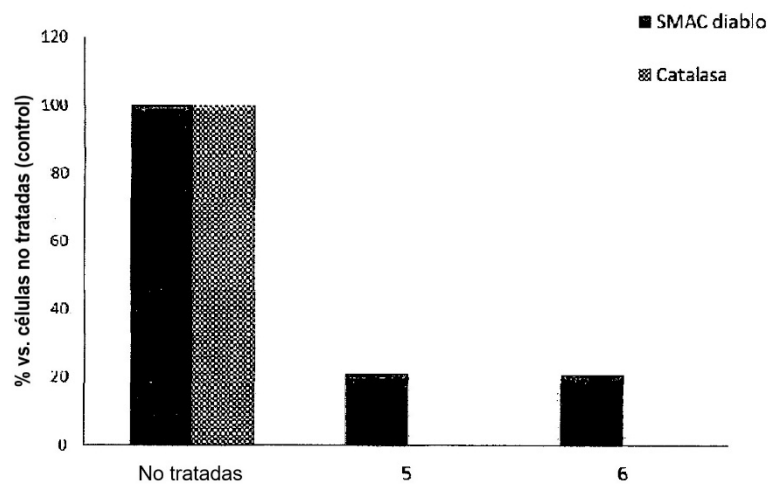


Figura 7

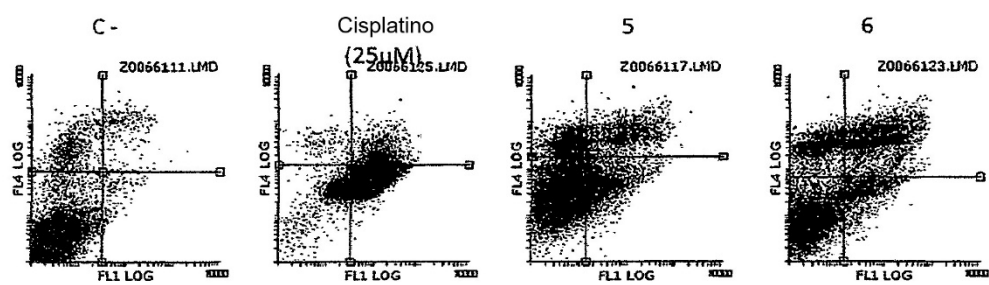


Figura 8

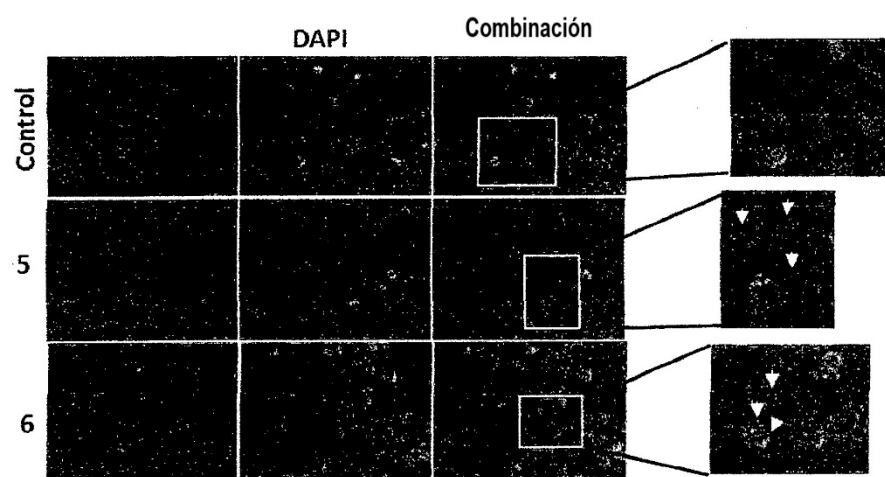


Figura 9