



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ ΩΣ ΝΕΩΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ**

**ΡΟΥΠΑ ΙΩΑΝΝΑ**

**MSc ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ**

**2019**



## **ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ ΩΣ ΝΕΩΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Τσοτίνης Ανδρέας (Επιβλέπων Καθηγητής)**

Καθηγητής ΕΚΠΑ

**Παπαδόπουλος Μηνάς**

Ερευνητής Α΄ ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”

**Πιρμεττής Ιωάννης**

Ερευνητής Α΄ ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”

### **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Τσοτίνης Ανδρέας**, Καθηγητής ΕΚΠΑ

**Μαράκος Παναγιώτης**, Καθηγητής ΕΚΠΑ

**Πουλή Νικολαΐς**, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

**Παπαδόπουλος Μηνάς**, Ερευνητής Α΄ ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”

**Πιρμεττής Ιωάννης**, Ερευνητής Α΄ ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”

**Πελεκάνου Μαρία**, Ερευνήτρια Α΄ ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”

**Παραβατού Μαρία**, Ερευνήτρια Β΄ ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ: 18/04/2019



*Αφιερωμένο στην οικογένειά μου  
και ιδιαίτερα στη μαμά μου...*



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε κατά τη διάρκεια των ετών 2016-2019 στο Εργαστήριο Ραδιοφαρμακευτικής Χημείας του Ινστιτούτου Πυρηνικών & Ραδιολογικών Επιστημών & Τεχνολογίας, Ενέργειας & Ασφάλειας (Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α.) του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών (Ε.Κ.Ε.Φ.Ε.) “Δημόκριτος” με τη συνεργασία του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Ε.Κ.Π.Α.) υπό την επίβλεψη του Δρ Μηνά Παπαδόπουλου, Ερευνητή Α΄ στο Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α. του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. “Δημόκριτος”.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή του Τμήματος Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ, Α. Τσοτίνη επιβλέποντα της διατριβής για την ακούραστη βοήθειά του όλα αυτά τα χρόνια. Ευχαριστώ από καρδιάς τον Δρ Μ. Παπαδόπουλο Ερευνητή Α΄ στο Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», για την αμέριστη και συνεχή υποστήριξη του, τις πολύτιμες υποδείξεις του καθώς και για την εμπιστοσύνη του όλα αυτά τα χρόνια. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον Δρ Ι. Πιρμεττή Ερευνητή Α΄ στο Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος» για την όλη βοήθεια, τη συνεχή στήριξή του και τις υποδείξεις του. Επιπλέον, ευχαριστώ θερμά και όλα τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής για τις πολύτιμες διορθώσεις τους.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά την Δρα Μ. Πελεκάνου, Ερευνήτρια Α΄ στο Ινστιτούτο Βιοεπιστημών και Εφαρμογών (Ι.Β.Ε.) στον Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος» για την βοήθεια της στα φάσματα NMR και την γενικότερη βοήθεια της στην πορεία της διατριβής καθώς και την Δρα Μ. Παραβατού, Ερευνήτρια Β΄ στο Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α. στον Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος» για την βοήθειά της και την καθοδήγησή της στα βιολογικά πειράματα. Επίσης, ευχαριστώ την Δρα Κ. Ραπτοπούλου και τον Δρ. Β. Ψυχάρη Ερευνητές Α΄ του Ινστιτούτου Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. “Δημόκριτος”, για την κρυσταλλογραφική ανάλυση των συμπλόκων.

Ακόμα, ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω και σε καθένα μέλος του εργαστηρίου στο Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α ξεχωριστά και συγκεκριμένα στον Καπλάνη Μιχάλη, Σεγκάνη Αντώνη, Κυρίτση Χρήστο, Ισχυροπούλου Μυρτώ, Παπασάββα Αφροδίτη και Μακρυπίδη Κων/να, Χιωτέλλη Αριστείδη, Φλαμπουράρη Χαράλαμπο καθώς και τη Μαυροειδή Βαρβάρα από το Ι.Β.Ε. για τη βοήθεια, τη στήριξη, τη συμπαράσταση και το οικογενειακό κλίμα που δημιουργήθηκε όλα αυτά τα χρόνια.

Η ερευνητική εργασία υποστηρίχτηκε από το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ) και από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ), στο πλαίσιο της Δράσης «Υποτροφίες ΕΛΙΔΕΚ Υποψηφίων Διδακτόρων» (αρ. Σύμβασης 14500) και τους ευχαριστώ πάρα πολύ για την οικονομική υποστήριξη.

Τέλος, το πιο μεγάλο ευχαριστώ ανήκει στην οικογένεια μου και στον άνθρωπό μου που υπάρχουν στη ζωή μου, με στηρίζουν συνεχώς και μου συμπαραστέκονται σε κάθε μου βήμα όλα αυτά τα χρόνια...

*Αθήνα, Απρίλιος 2019*





## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>                                     | <b>1</b>  |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΟ ΡΗΝΙΟ ΚΑΙ ΤΟ ΤΕΧΝΗΤΙΟ.....</b>                    | <b>3</b>  |
| 1.1 Η ΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΡΗΝΙΟΥ .....                                       | 3         |
| 1.1.1 Οξειδωτική βαθμίδα (V).....                                   | 3         |
| 1.1.2 Οξειδωτική βαθμίδα (I) .....                                  | 4         |
| 1.2 ΤΑ ΙΣΟΤΟΠΑ ΤΟΥ ΡΗΝΙΟΥ.....                                      | 4         |
| 1.3 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ $^{186}\text{Re}$ .....                            | 6         |
| 1.4 Το ΤΕΧΝΗΤΙΟ-99 ( $^{99}\text{Tc}$ ) .....                       | 7         |
| 1.5 Το ΜΕΤΑΣΤΑΘΕΡΟ ΤΕΧΝΗΤΙΟ-99M ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) .....  | 7         |
| 1.6 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ – 99M ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ).....  | 9         |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ .....</b>                    | <b>11</b> |
| 2.1 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ .....                        | 11        |
| 2.2 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΜΕΤΑΠΤΩΣΗΣ .....          | 12        |
| 2.3 ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΜΕΤΑΠΤΩΣΗΣ ΩΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ..... | 12        |
| 2.3.1 Αντικαρκινική δράση συμπλόκων ρηνίου .....                    | 14        |
| 2.5 ΤΡΟΠΟΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ DNA .....                      | 17        |
| 2.5.1 Ομοιοπολική αλληλεπίδραση.....                                | 17        |
| 2.5.2 Μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις .....                         | 18        |
| 2.6 ΣΥΜΠΛΟΚΑ Re ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ DNA.....                       | 19        |
| 2.6.1 Σύμπλοκα $\text{Re(I)}$ και DNA.....                          | 19        |
| 2.6.2 Σύμπλοκα $\text{Re(V)}$ και DNA .....                         | 20        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΟ ΒΕΝΖΟΘΕΙΑΖΟΛΙΟ ΚΑΙ ΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΟΥ ΩΣ</b>         |           |
| <b>ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....</b>                               | <b>21</b> |
| 3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟ ΒΕΝΖΟΘΕΙΑΖΟΛΙΟ .....                          | 21        |
| 3.2 ΒΕΝΖΟΘΕΙΑΖΟΛΙΟ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΜΕΤΑΠΤΩΣΗΣ .....           | 23        |
| <b>ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....</b>                                        | <b>25</b> |
| <b>B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>                                   | <b>29</b> |

|                                                                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....</b>                                                                                         | <b>31</b> |
| 4.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ .....                                                                                                 | 31        |
| 4.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ – ΔΙΑΛΥΤΕΣ .....                                                                                                 | 34        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ .....</b>                                                                | <b>36</b> |
| 5.1 ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ.....                                                                                                     | 36        |
| 5.1.1 Δομές μονοδοτικών υποκαταστατών .....                                                                                        | 36        |
| 5.1.2 Σύνθεση διδοτικών (NN) υποκαταστατών.....                                                                                    | 36        |
| 5.1.3 Σύνθεση τριδοτικού υποκαταστάτη .....                                                                                        | 38        |
| 5.2 ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ.....                                                                                        | 39        |
| 5.2.1 Σύνθεση πρόδρομου συμπλόκου ρηνίου (V), $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$ .....                                               | 39        |
| 5.2.2 Σύνθεση πρόδρομου συμπλόκου ρηνίου (I), $\text{ReCO}_5\text{Br}$ .....                                                       | 40        |
| 5.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ .....                                                                                                 | 40        |
| 5.3.1. Σύνθεση συμπλόκων ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (V) .....                                                                  | 40        |
| 5.3.2 Σύνθεση συμπλόκων ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) που φέρουν μόρια παρεμβολείς ως NN διδοτικό υποκαταστάτη .....          | 41        |
| 5.3.3 Σύνθεση συμπλόκων ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) που φέρουν παράγωγο βενζοθειαζολίου ως NN διδοτικό υποκαταστάτη .....   | 44        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: <i>IN VITRO</i> ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ .....</b>                                                                      | <b>46</b> |
| 6.1 ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΟ DNA .....                                                                             | 46        |
| 6.1.1 Κυκλικός Διχρωϊσμός (Circular Dichroism, CD).....                                                                            | 46        |
| 6.1.2 Ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού μέσω του κλασικού παρεμβολέα βρωμιούχου αιθιδίου (Ethidium Bromide, EtBr).....              | 46        |
| 6.1.3 Μελέτες ιξωδομετρίας.....                                                                                                    | 46        |
| 6.2 ΜΕΛΕΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ .....                                                                                             | 47        |
| 6.3 ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΩ ΤΟΥ 3-(4,5-ΔΙΜΕΘΥΛΘΕΙΑΖΟΛ-2-ΥΛ)-2,5-ΔΙΦΑΙΝΥΛΟΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟΥ, ΜΤΤ (ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΤΤ) ..... | 47        |
| 6.4 ΜΕΛΕΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ .....                                                                                                | 49        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΗΤΙΟ-99Μ (<math>^{99\text{M}}\text{Tc}</math>) .....</b>                                          | <b>50</b> |
| 7.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΟΥ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-99Μ.....                                                                                 | 50        |

|                                                                        |                                                                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 7.1.1                                                                  | Σύνθεση συμπλόκων τεχνητίου στην οξειδωτική βαθμίδα (V) .....                                                    | 50        |
| 7.1.2                                                                  | Σύνθεση συμπλόκων τεχνητίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) .....                                                    | 50        |
| 7.2                                                                    | ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΩΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΗΝ ΚΥΣΤΕΪΝΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΣΤΙΔΙΝΗ ...                           | 51        |
| 7.3                                                                    | ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΙΠΟΦΙΛΙΚΟΤΗΤΑΣ.....                                                                                     | 51        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: IN VIVO ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ .....</b>                  |                                                                                                                  | <b>53</b> |
| 8.1                                                                    | ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΙΟΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΣΕ ΥΓΙΗ SWISS ALBINO ΠΟΝΤΙΚΙΑ .....                                                         | 53        |
| 8.2                                                                    | ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΙΟΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΣΕ ΑΝΟΣΟΚΑΤΕΣΤΑΛΜΕΝΑ ΠΟΝΤΙΚΙΑ ΠΟΥ ΦΕΡΟΥΝ ΟΓΚΟ ΕΠΙΔΕΡΜΟΕΙΔΟΥΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ (A431).....       | 54        |
| <b>Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>                                |                                                                                                                  | <b>55</b> |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ .....</b>    |                                                                                                                  | <b>57</b> |
| 9.1                                                                    | ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ.....                                                                     | 57        |
| 9.2                                                                    | ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ (V) .....                                                             | 57        |
| 9.3                                                                    | ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ (I) .....                                                             | 63        |
| 9.3.1                                                                  | Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων ρηνίου με μόρια παρεμβολείς ως NN διδοτικούς υποκαταστάτες.....              | 63        |
| 9.3.2                                                                  | Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων ρηνίου με ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου ως NN διδοτικό υποκαταστάτη ..... | 67        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: IN VITRO ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ .....</b>                |                                                                                                                  | <b>72</b> |
| 10.1                                                                   | ΜΕΛΕΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ .....                                                                               | 72        |
| 10.2                                                                   | ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ (ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΤΤ) .....                                                     | 73        |
| 10.3                                                                   | ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΟ DNA .....                                                             | 79        |
| 10.3.1                                                                 | Κυκλικός Διχρωϊσμός (Circular Dichroism, CD).....                                                                | 79        |
| 10.3.2                                                                 | Ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού μέσω του βρωμιούχο αιθιδίου (EtBr) ως κλασικός παρεμβολέας.....                 | 82        |
| 10.3.3                                                                 | Ιξωδομετρία .....                                                                                                | 85        |
| 10.4                                                                   | ΜΕΛΕΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ .....                                                                                  | 87        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11: ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΗΤΙΟ-99M (<sup>99M</sup>TC).....</b> |                                                                                                                  | <b>91</b> |
| 11.1                                                                   | ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΟΥ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-99M ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΑΘΜΙΔΑ (V) .....                                            | 91        |
| 11.2                                                                   | ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΟΥ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-99M ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΑΘΜΙΔΑ (I) .....                                            | 92        |

|                                                                                           |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 11.3 ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΩΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΗΝ ΚΥΣΤΕΪΝΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΣΤΙΔΙΝΗ . | 92         |
| 11.4 ΜΕΛΕΤΗ ΛΙΠΟΦΙΛΙΚΟΤΗΤΑΣ.....                                                          | 93         |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12: <i>IN VIVO</i> ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ .....</b>                             | <b>94</b>  |
| 12.1 ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΙΟΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΣΕ ΥΓΙΗ SWISS ALBINO ΠΟΝΤΙΚΙΑ.....                              | 94         |
| 12.2 ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΙΟΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΣΕ SCID ΠΟΝΤΙΚΙΑ ΠΟΥ ΦΕΡΟΥΝ ΟΓΚΟ (A431) .....                   | 95         |
| <b>Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>                                                               | <b>97</b>  |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>                                                     | <b>99</b>  |
| <b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....</b>                                                                     | <b>103</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                     | <b>107</b> |
| <b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ .....</b>                                                      | <b>111</b> |
| <b>ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....</b>                                                                | <b>121</b> |
| <b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>                                                                     | <b>123</b> |

## **A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

### ΤΟ ΡΗΝΙΟ ΚΑΙ ΤΟ ΤΕΧΝΗΤΙΟ

---

Το ρήνιο και το τεχνητίο βρίσκονται στην ίδια υποομάδα (VIIB) του Περιοδικού Πίνακα και λόγω της λανθανιδικής συστολής οι φυσικοχημικές ιδιότητές τους είναι παρόμοιες. Συνεπώς, τα σύμπλοκά τους είναι παρόμοιας δομής και έτσι τα σύμπλοκα του τεχνητίου-99m χρησιμοποιούνται ως ένα επιπλέον εργαλείο στην βιολογική αξιολόγηση των αντίστοιχων συμπλόκων του ρηνίου. Τα κύρια ισότοπα του τεχνητίου είναι το τεχνητίο-99 ( $^{99}\text{Tc}$ ) και το μετασταθερό τεχνητίο-99m ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ).

#### 1.1 Η χημεία του ρηνίου

Το ρήνιο ανακαλύφθηκε από τους Noddack, Tacke και Berg το 1925 στον ορυκτό γαδολινίτη.<sup>1</sup> Βρίσκεται σε κεντρική υποομάδα του Περιοδικού Πίνακα και συγκεκριμένα στην ομάδα VIIB. Υπάρχει σε διάφορες οξειδωτικές καταστάσεις από +7 έως -1, με πλήρως χαρακτηρισμένα σύμπλοκα σε όλες αυτές τις διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις του. Η χημεία των συμπλόκων του στις υψηλότερες οξειδωτικές καταστάσεις (+5 έως +7) κυριαρχείται από οξο-, ιμιδο- και νιτριδο (π.χ.  $[\text{Re}^{\text{VII}}\text{O}_4]^-$ ,  $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{NBU}^t)_4]^-$ ,  $[\text{Re}^{\text{VII}}\text{NCl}_4]^-$ ) πυρήνες στους οποίους το οξυγόνο ή το άζωτο αντισταθμίζουν την έλλειψη ηλεκτρονίων του μεταλλικού κέντρου. Οι υποκαταστάτες με «σκληρά» άτομα δότες συναντώνται συχνά στις υψηλότερες οξειδωτικές καταστάσεις του ρηνίου. Όπως αναμένεται, στις χαμηλότερες οξειδωτικές καταστάσεις ισχυροί π-δέκτες κυριαρχούν στα σύμπλοκα όπως για παράδειγμα το CO (π.χ.  $\text{Re}_2(\text{CO})_{10}$ ). Οι ενδιάμεσες οξειδωτικές καταστάσεις Re(IV), Re(III) και Re(II) έχουν συνήθως ως υποκαταστάτες ένα συνδυασμό από π-δέκτες και σ-δότες, (π.χ.  $\text{ReCl}_3(\text{PMe}_2\text{Ph})_3$ ). Οι οξειδωτικές βαθμίδες που μελετώνται στην παρούσα εργασία είναι η οξειδωτική βαθμίδα (I) και (V).

##### 1.1.1 Οξειδωτική βαθμίδα (V)

Στην οξειδωτική βαθμίδα (V) είναι γνωστές ενώσεις του ρηνίου με φθόριο, όπως το  $[\text{ReF}_6]^-$ , καθώς και οι οξο-αλογονούχες ενώσεις  $[\text{ReOCl}_5]^{2-}$  και  $[\text{ReOX}_4]^-$ , όπου X = Cl, Br, I.<sup>2</sup>

Η σταθεροποίηση του οξορηνικού πυρήνα γίνεται μέσω υποκαταστατών με άτομα δότες S, N, O, P με αποτέλεσμα το σχηματισμό διαμαγνητικών συμπλόκων. Τα πολύ σταθερά οξο-σύμπλοκα του Re(V) σχηματίζονται κατά την αναγωγή υπερρηνικών παρουσία υποκαταστάτη σε ισχυρά όξινο διάλυμα ή με ανταλλαγή υποκαταστατών στις πρόδρομες ενώσεις  $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$  ή  $\text{ReO}(\text{OEt})\text{X}_2(\text{PPh}_3)_2$ . Τα σύμπλοκα αυτά δύναται να είναι μονο-οξο ( $\text{Re}=\text{O})^{3+}$ , διοξο ( $\text{O}=\text{Re}=\text{O})^+$  ή να έχουν γέφυρα οξυγόνου ( $\text{O}=\text{Re}-\text{O}-\text{Re}=\text{O})^{4+}$ .<sup>3,4</sup> Η φασματοσκοπική μελέτη των συμπλόκων του μονο-οξο πυρήνα συμπλόκου του ρηνίου στο IR εμφανίζει μια πολύ χαρακτηριστική ισχυρή απορρόφηση στα  $912 - 1010 \text{ cm}^{-1}$  (δόνηση τάσης). Η χαρακτηριστική απορρόφηση στο IR για τα διοξο σύμπλοκα είναι στα  $775 \text{ έως } 835 \text{ cm}^{-1}$  και είναι σημαντικά μετατοπισμένη σε σχέση με την απορρόφηση των μονο-οξο συμπλόκων.<sup>3</sup> Τα σύμπλοκα ρηνίου με γέφυρα οξυγόνου ( $\text{O}=\text{Re}-\text{O}-\text{Re}=\text{O})^{4+}$  εμφανίζουν μια ασθενή κορυφή στα  $923-935 \text{ cm}^{-1}$  (δόνηση τάσης  $\text{Re}=\text{O}$ ) και μια κορυφή στα  $655 - 690 \text{ cm}^{-1}$  (δόνηση τάσης  $\text{Re}-\text{O}-\text{Re}$ ).<sup>5</sup>

### 1.1.2 Οξειδωτική βαθμίδα (I)

Στην οξειδωτική βαθμίδα (I) του ρηνίου έχει μελετηθεί ένας μεγάλος αριθμός οργανομεταλλικών ενώσεων αντίστοιχων εκείνων του μαγγανίου καθώς και καρβονυλικών παραγώγων όπως  $[\text{Re}(\text{CO})_6]^+$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_5\text{L}]^+$ , κ.ά.<sup>3,4</sup> Επίσης, έχουν μελετηθεί τρικαρβονυλο σύμπλοκα του ρηνίου (I) με ποικίλους διδοτικούς υποκαταστάτες όπως NO, SS, PO, SO, OO.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα τρικαρβονυλο σύμπλοκα του Re(I) με διμινικούς (NN) υποκαταστάτες του τύπου  $fac-[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NN})\text{L}]^{0/+}$  (όπου L είναι ένας μονοδοτικός υποκαταστάτης). Ένα από τα πλεονεκτήματα των συμπλόκων αυτού του τύπου που ευνοεί τη διερεύνηση των ιδιοτήτων τους και την ανάπτυξη των εφαρμογών τους σε διάφορους τομείς, είναι οι μεγάλες συνθετικές δυνατότητές τους.<sup>6,7</sup> Τα σύμπλοκα του Re(I) μπορεί να είναι ουδέτερα ή θετικά φορτισμένα, όταν ο αξονικός υποκαταστάτης L είναι ανιόν ή ουδέτερος, αντίστοιχα.<sup>6-8</sup>

## 1.2 Τα ισότοπα του ρηνίου

Το ρήνιο έχει ραδιενεργά και σταθερά ισότοπα. Στη φύση υπάρχει ως μίγμα 2 ισοτόπων:  $^{185}\text{Re}$  (φυσική αφθονία: 37,07%) και  $^{187}\text{Re}$  (φυσική αφθονία: 62,93%). Το  $^{187}\text{Re}$



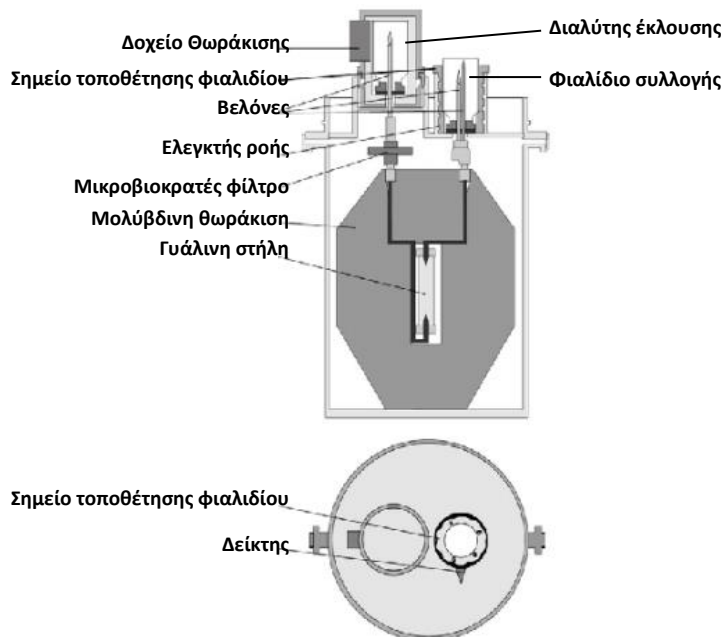
είναι ασθενώς ραδιενεργό με εκπομπή  $\beta^-$  ακτινοβολίας και με χρόνο ημιζωής  $5 \times 10^{10}$  χρόνια. Επίσης, το ρήνιο έχει κι άλλα ραδιενεργά ισότοπα με μαζικούς αριθμούς από 161 – 192 και χρόνους ημιζωής από 10 λεπτά έως 71 μέρες. Τα κύρια ισότοπα του ρηνίου και των γειτονικών του στοιχείων καθώς και κάποιες ιδιότητες τους φαίνονται στην **Εικόνα 1.1**.<sup>9</sup> Τα ισότοπα  $^{186}\text{Re}$  (εκπομπή  $\beta^-$ ,  $t_{1/2} = 90$  ώρες,  $E_{\text{max}} = 1.07$  MeV, εμβέλεια ιστού 5 mm) και  $^{188}\text{Re}$  (εκπομπή  $\beta^-$ ,  $t_{1/2} = 17$  ώρες,  $E_{\text{max}} = 2.1$  MeV, εμβέλεια ιστού 11 mm) έχουν φυσικές ιδιότητες (**Πίνακας 1.1**) που τα κάνουν πολύ ελκυστικά για τη ραδιοθεραπεία του καρκίνου.<sup>10,11</sup> Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στο  $^{188}\text{Re}$  το οποίο μπορεί να παραληφθεί από γεννήτρια βολφραμίου – 188 ( $t_{1/2} = 69$  μέρες) (**Σχήμα 1.1**).

|                                                           |                                                   |                                                             |                                                 |                                                 |                                                      |                                                            |                                                       |                                                  |                                                  |                                                 |                                               |                                                  |                                                           |                                        |
|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| $^{181}\text{Os}$<br>1.8 h<br>$\epsilon, \beta^+, \gamma$ | $^{182}\text{Os}$<br>22.1 h<br>$\epsilon, \gamma$ | $^{183}\text{Os}$<br>13.0 h<br>$\epsilon, \beta^+, \gamma$  | $^{184}\text{Os}$<br>stable                     | $^{185}\text{Os}$<br>94 d<br>$\epsilon, \gamma$ | $^{186}\text{Os}$<br>$2 \cdot 10^{15}$ a<br>$\alpha$ | $^{187}\text{Os}$<br>stable                                | $^{188}\text{Os}$<br>stable                           | $^{189}\text{Os}$<br>stable                      | $^{190}\text{Os}$<br>stable                      | $^{191}\text{Os}$<br>15.4 d<br>$\beta^-$        | $^{192}\text{Os}$<br>stable                   | $^{193}\text{Os}$<br>30.1 h<br>$\beta^-, \gamma$ | $^{194}\text{Os}$<br>6.0 a<br>$\beta^-, \gamma, \epsilon$ | $^{194}\text{Os}$<br>6.5m<br>$\beta^-$ |
| $^{180}\text{Re}$<br>2.4 m<br>$\epsilon, \beta^+, \gamma$ | $^{181}\text{Re}$<br>20 h<br>$\epsilon, \gamma$   | $^{182}\text{Re}$<br>13 h<br>$\epsilon, \beta^+, \gamma$    | $^{183}\text{Re}$<br>71 d<br>$\epsilon, \gamma$ | $^{184}\text{Re}$<br>38 d<br>$\epsilon, \gamma$ | $^{185}\text{Re}$<br>stable                          | $^{186}\text{Re}$<br>89.2 h<br>$\epsilon, \beta^-, \gamma$ | $^{187}\text{Re}$<br>$5 \cdot 10^{10}$ a<br>$\beta^-$ | $^{188}\text{Re}$<br>16.9 h<br>$\beta^-, \gamma$ | $^{189}\text{Re}$<br>24.3 h<br>$\beta^-, \gamma$ | $^{190}\text{Re}$<br>3.1 m<br>$\beta^-, \gamma$ | $^{191}\text{Re}$<br>9.8 m<br>$\beta^-$       | $^{192}\text{Re}$<br>16 s<br>$\beta^-, \gamma$   |                                                           |                                        |
| $^{179}\text{W}$<br>38 m<br>$\epsilon, \gamma$            | $^{180}\text{W}$<br>stable                        | $^{181}\text{W}$<br>121 d<br>$\epsilon, \gamma, \epsilon^-$ | $^{182}\text{W}$<br>stable                      | $^{183}\text{W}$<br>stable                      | $^{184}\text{W}$<br>stable                           | $^{185}\text{W}$<br>75.1 d<br>$\beta^-, \gamma$            | $^{186}\text{W}$<br>stable                            | $^{187}\text{W}$<br>23.7 d<br>$\beta^-, \gamma$  | $^{188}\text{W}$<br>69 d<br>$\beta^-, \gamma$    | $^{189}\text{W}$<br>11 m<br>$\beta^-, \gamma$   | $^{190}\text{W}$<br>30 m<br>$\beta^-, \gamma$ |                                                  |                                                           |                                        |

**Εικόνα 1.1.** Μέρος των νουκλιδίων του ρηνίου και των γειτονικών του στοιχείων.

**Πίνακας 1.1:** Ιδιότητες των κύριων ισotόπων του ρηνίου

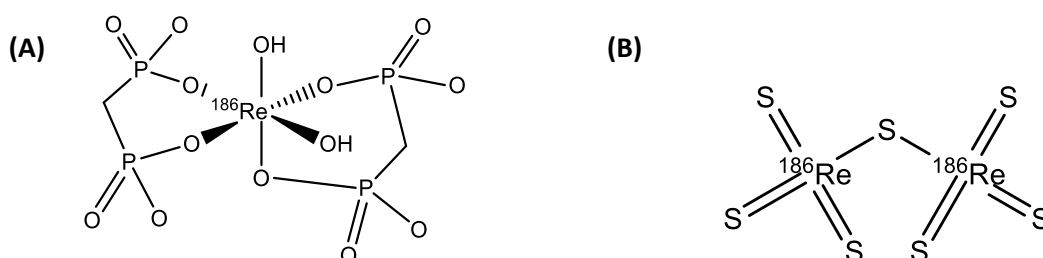
| Ισότοπο           | Χρόνος ημιζωής (ώρες) | Μέγιστη $\beta^-$ ενέργεια (MeV) | Εμβέλεια σε ιστούς (mm) | Ενέργεια $\gamma$ (MeV) | Μέθοδος παραγωγής                        |
|-------------------|-----------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------------------|
| $^{186}\text{Re}$ | 90                    | 1.07 (71%)                       | 5                       | 137 (9%)                | $^{185}\text{Re} + n$<br>(αντιδραστήρας) |
| $^{188}\text{Re}$ | 17                    | 2.1 (100%)                       | 11                      | 155 (15%)               | $^{188}\text{W}$ γεννήτρια               |



Σχήμα 1.1. Γεννήτρια  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$

### 1.3 Ραδιοφάρμακα $^{186}\text{Re}$

Το επισημασμένο 1-υδροξυαιθανο-1,1-διφωσφονικό νάτριο (HEDP) με  $^{186}\text{Re}$  ( $^{186}\text{Re}$ -HEDP, Σχήμα 1.2 (A)) αποτελεί θεραπευτικό ραδιοφάρμακο του ρηνίου για ανακούφιση των πόνων από μεταστάσεις στα οστά.<sup>12</sup> Άλλο ραδιοφάρμακο του  $^{186}\text{Re}$  είναι το κολλοειδές επτασουλφίδιο του ρηνίου ( $^{186}\text{Re}_2\text{S}_7$ ) (Σχήμα 1.2 (B)) το οποίο σχηματίζεται με όξινη αναγωγή των υπερρηνικών παρουσία θειοθειικού νατρίου και προορίζεται για αρθροϋμενόλυση με τοπική ενδοαρθρική χορήγηση.<sup>13</sup>



Σχήμα 1.2. Προτεινόμενες δομές (A)  $^{186}\text{Re}$ -HEDP, (B)  $^{186}\text{Re}_2\text{S}_7$

#### 1.4 Το τεχνητίο-99 ( $^{99}\text{Tc}$ )

Το τεχνητίο-99 ( $^{99}\text{Tc}$ ) αποτελεί ένα από τα πλέον μακρόβια νουκλίδια του τεχνητίου με χρόνο ημιζωής  $2.1 \times 10^5$  χρόνια και χάρη σε αυτό έγινε δυνατή η ανάπτυξη της έρευνας πάνω στη χημεία συναρμογής του. Το τεχνητίο μεταπίπτει στο σταθερό στοιχείο  $^{99}\text{Ru}$  με εκπομπή ασθενούς  $\beta^-$  ακτινοβολίας ( $E_{\max} = 0.29 \text{ MeV}$ ), η οποία δεν συνοδεύεται από εκπομπή  $\gamma$  ακτινοβολίας. Το  $^{99}\text{Tc}$  λόγω της χαμηλής  $\beta^-$  ακτινοβολίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε σχετικά μεγάλες ποσότητες, της τάξης των μερικών mg δεδομένου ότι ένα mg αντιστοιχεί σε 17  $\mu\text{Ci}$ , και επομένως μπορεί να μελετηθεί με τις κλασικές αναλυτικές μεθόδους. Παρόλα αυτά απαιτούνται ειδικές εγκαταστάσεις για το χειρισμό του ραδιονουκλιδίου και ειδική αδειοδότηση αφού εκπέμπει σωματιδιακή ακτινοβολία  $\beta^-$  που είναι επιβλαβής (μολύνσεις). Εκτός αυτού, προβλήματα προκύπτουν κυρίως με τη διαχείριση των μακρόβιων ραδιενεργών καταλοίπων του. Όλα αυτά τα μειονεκτήματα, περιορίζουν σημαντικά τη χρήση του ραδιονουκλιδίου αυτού. Έτσι τα τελευταία χρόνια διεθνώς η χημεία του τεχνητίου-99m μελετάται μέσω σύνθεσης των αντίστοιχων συμπλόκων του ρηνίου, λόγω της παρόμοιας χημείας τους.

Στον Πίνακα 1.2 αναφέρονται οι κυριότερες διαφορές στις φυσικές ιδιότητες του τεχνητίου ιχνηθέτη  $^{99m}\text{Tc}$  και του τεχνητίου φορέα  $^{99}\text{Tc}$ , καθώς και οι συνήθεις συγκεντρώσεις τους στις αντιδράσεις που λαμβάνουν μέρος.

Πίνακας 1.2. Φυσικά χαρακτηριστικά του  $^{99m}\text{Tc}$  και του  $^{99}\text{Tc}$

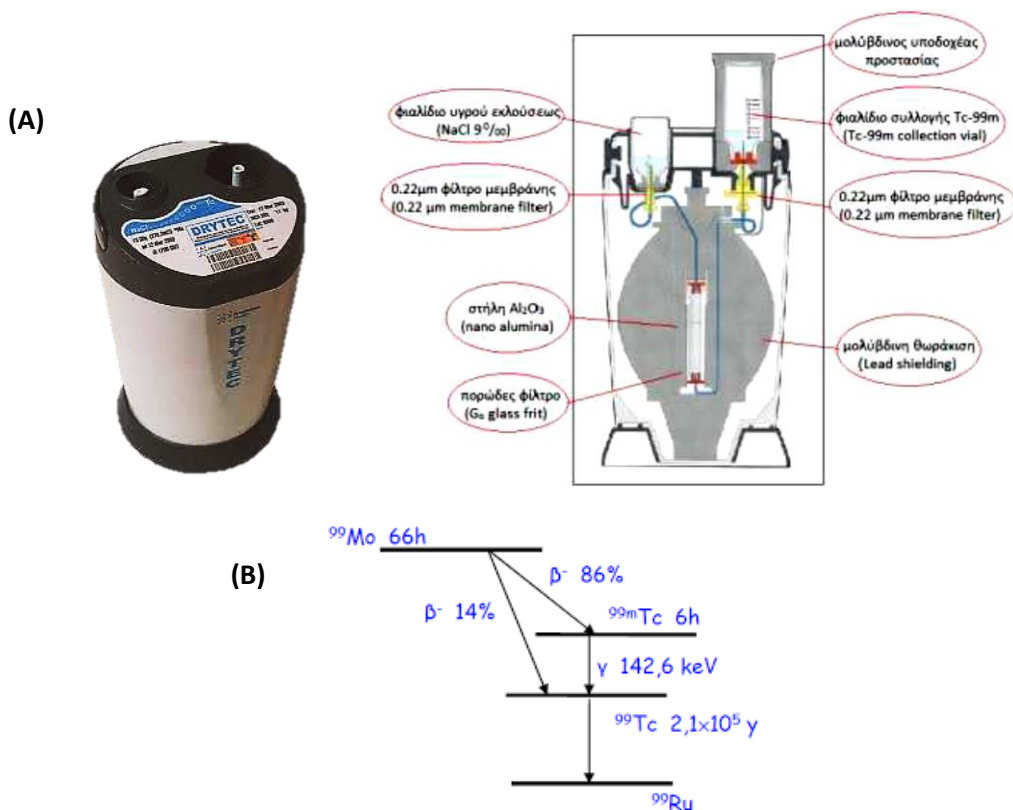
| Ισότοπα           | Χρόνος ημιζωής ( $t_{1/2}$ ) | Ακτινοβολία       | Συγκέντρωση |
|-------------------|------------------------------|-------------------|-------------|
| $^{99m}\text{Tc}$ | 6.02 ώρες                    | $\gamma$ 140 keV  | nM          |
| $^{99}\text{Tc}$  | $2.1 \times 10^5$ έτη        | $\beta^-$ 290 keV | mM          |

#### 1.5 Το μετασταθερό τεχνητίο-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ )

Η εκτεταμένη χρήση του μετασταθερού  $^{99m}\text{Tc}$  στην Πυρηνική Ιατρική ως διαγνωστικού ραδιονουκλιδίου οφείλεται στις πολύ καλές φυσικές του ιδιότητες. Ο χρόνος υποδιπλασιασμού του  $^{99m}\text{Tc}$  ( $t_{1/2} = 6.02$  ώρες) είναι ικανοποιητικός τόσο για τις διάφορες χημικές συνθέσεις των ραδιοφαρμάκων όσο και για την εφαρμογή τους σε πλήθος ιατρικών διαγνωστικών εξετάσεων. Παράλληλα, ο σχετικά βραχύς χρόνος υποδιπλασιασμού του  $^{99m}\text{Tc}$ , σε συνδυασμό με την έλλειψη  $\beta^-$  ακτινοβολίας έχει ως

αποτέλεσμα τη μικρή επιβάρυνση του ασθενούς με ακτινοβολία.<sup>14</sup> Η  $\gamma$  ακτινοβολία, ενέργειας 140 keV που εκπέμπεται από το  $^{99m}\text{Tc}$ , διαπερνά τους ιστούς του σώματος και ανιχνεύεται εύκολα από τις υπάρχουσες ανιχνευτικές διατάξεις. Στα πλεονεκτήματα αυτά του  $^{99m}\text{Tc}$  προστίθεται και το συγκριτικά μικρό κόστος παρασκευής, καθώς και η ικανότητα διάθεσής του σε μεγάλες αποστάσεις από τον τόπο παραγωγής με τις γεννήτριες  $^{99}\text{Mo} - ^{99m}\text{Tc}$  (Σχήμα 1.3 (A)).<sup>15-17</sup> Η ραδιενεργός διάσπαση του  $^{99}\text{Mo}$  αναπαριστάται στο Σχήμα 1.3 (B).

Το  $^{99m}\text{Tc}$  έχει σχεδόν ταυτόσημη χημεία λόγω λανθανιδικής συστολής με το  $^{188}\text{Re}$ , όπου το τελευταίο λόγω των ιδανικών φυσικών του ιδιοτήτων ( $t_{1/2} = 16.98\text{h}$ ,  $\beta^-$  (85%),  $E_{\text{max}} = 2.12\text{ MeV}$ ) χρησιμοποιείται στην ραδιοθεραπεία. Επομένως, το  $^{99m}\text{Tc}$  και το  $^{188}\text{Re}$  μπορούν να θεωρηθούν ως ιδανικό ζευγάρι θεραπευοδιαγνωστικών (theranostics), του συνδυασμού δηλαδή θεραπευτικών και διαγνωστικών μεθόδων με το ίδιο φαρμακομόριο αλλά επισημασμένο με διαφορετικό ραδιονουκλίδιο. Τα τελευταία χρόνια η προσέγγιση της θεραπευοδιαγνωστικής βρίσκει ολοένα και μεγαλύτερη ανάπτυξη και εφαρμογή αφού τέτοια φάρμακα δύνανται να παρέχουν έγκαιρη διάγνωση και εξατομικευμένη θεραπευτική αγωγή.



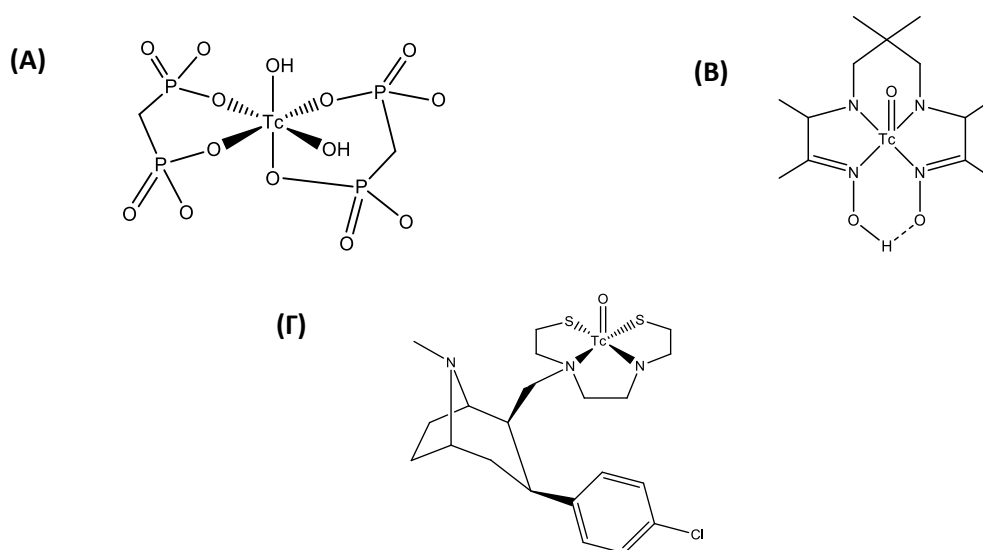
Σχήμα 1.3. (A) Γεννήτρια  $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$  και (B) Σχηματική απεικόνιση ραδιενεργούς διάσπασης του  $^{99}\text{Mo}$

## 1.6 Ραδιοφάρμακα τεχνητίου – $^{99m}\text{Tc}$

Το τεχνητίο- $^{99m}\text{Tc}$  χορηγήθηκε για πρώτη φορά σε άνθρωπο ως ραδιοφάρμακο το 1964, όταν ως ενέσιμο διάλυμα υπερτεχνητικών ανιόντων  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  βρήκε εφαρμογή στην απεικόνιση του θυρεοειδούς.

Στις αρχές της δεκαετίας του 1970 ακολούθησε ταχύτατη ανάπτυξη σειράς ραδιοφαρμάκων του τεχνητίου που αποτελούν τα ραδιοφάρμακα «πρώτης γενιάς» (**Σχήμα 1.4 (Α)**). Είναι συνήθως απλά ανιοντικά σύμπλοκα του  $^{99m}\text{Tc}$  με στόχο τη μελέτη της μορφολογίας οργάνων του σώματος. Σε αυτά τα σύμπλοκα η δομή δεν είναι γνωστή.

Τη δεκαετία 1985-1995 αναπτύχθηκαν τα ραδιοφάρμακα «δεύτερης γενιάς» (**Σχήμα 1.4 (Β)**), τα οποία είναι σύμπλοκα του  $^{99m}\text{Tc}$  γνωστής χημικής δομής. Η γνώση της χημικής δομής των συμπλόκων επέτρεψε την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με μηχανισμούς εντοπισμού σε όργανα στόχους. Τα ραδιοφάρμακα αυτά σχεδιάστηκαν έτσι ώστε να έχουν κατάλληλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (μέγεθος, φορτίο, λιποφιλικότητα) και όπου ήταν δυνατό, τις κατάλληλες χημικές ομάδες ώστε να συμμετέχουν σε σχετικά απλούς βιοχημικούς μηχανισμούς.<sup>18</sup>



**Σχήμα 1.4.** Δομές μερικών ραδιοφαρμάκων του  $^{99m}\text{Tc}$  (Α)  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP (προτεινόμενη δομή), 1<sup>ης</sup> γενιάς για απεικόνιση οστών (Β)  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO, 2<sup>ης</sup> γενιάς για απεικόνιση οστών και (Γ)  $^{99m}\text{Tc}$ -TRODAT, 3<sup>ης</sup> γενιάς για απεικόνιση υποδοχέων του εγκεφάλου (Dopamine transporters)

Οι σύγχρονες απαιτήσεις στην Πυρηνική Ιατρική είχαν ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων του  $^{99m}\text{Tc}$ , των λεγόμενων «τρίτης γενιάς» (**Σχήμα 1.4**

(Γ). Τα ραδιοφάρμακα αυτής της γενιάς είναι βιολογικά εξειδικευμένες ενώσεις που διαθέτουν αφενός κατάλληλες φυσικοχημικές ιδιότητες και αφετέρου φαρμακοφόρες ομάδες έτσι ώστε να προσδέονται σε ειδικούς υποδοχείς.<sup>18</sup>

---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ

---

#### 2.1 Ο ρόλος των συμπλόκων στην Ιατρική

Η βιοανόργανη χημεία ασχολείται με στοιχεία κύριων ομάδων του Περιοδικού Πίνακα όπως Na, K, Mg, Ca αλλά και με μέταλλα μεταπτώσεως όπως V, Mo, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, και Zn. Αυτά τα στοιχεία παίζουν καθοριστικό ρόλο στη ζωή, διότι συνδέονται με οργανικά μόρια και πρωτεΐνες.<sup>19</sup> Τα μέταλλα (π.χ. βαρέα μέταλλα Hg, Cd, As και Pb) μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία διαφόρων ασθενειών. Επιπλέον, σύμπλοκα του Gd και του ραδιενεργού <sup>99m</sup>Tc χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικοί παράγοντες.<sup>20</sup> Η βιοανόργανη χημεία με την εύρεση νέων τρόπων συναρμογής και την μελέτη τους προσφέρει την δυνατότητα σχεδιασμού νέων θεραπευτικών και διαγνωστικών παραγόντων. Βέβαια, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον έχει προσελκύσει η σισπλατίνη.<sup>21</sup>

Ο Erlich εισήγαγε τα μέταλλα στην ιατρική τον 20<sup>ο</sup> αιώνα χρησιμοποιώντας ένωση του αρσενικού, τη Salvarsan, για τη θεραπεία της σύφιλης. Ανόργανα φάρμακα, όπως ενώσεις του λευκοχρύσου, του χρυσού, του λιθίου και του βισμούθιου χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του καρκίνου, της αρθρίτιδας, της κατάθλιψης και του έλκους αντίστοιχα και αποτελούν μέρος της θεραπευτικής «φαρέτρας» εναντίον των ασθενειών αυτών.<sup>22</sup>

Όπως προαναφέρθηκε το πιο γνωστό σύμπλοκο ως αντικαρκινικό φάρμακο που έχει τραβήξει τα βλέμματα όλων είναι η σισπλατίνη. Από την ανακάλυψη της σισπλατίνης και έπειτα έχουν ακολουθήσει πολλές προσπάθειες στο σχεδιασμό νέων αντικαρκινικών συμπλόκων ώστε να βελτιώσουν την κλινική εικόνα και να μειωθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες. Τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες, ένας μεγάλος αριθμός συμπλόκων έχει μελετηθεί τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* και μερικά βρίσκονται ήδη σε κλινικές μελέτες. Τα πιο μελετημένα σύμπλοκα είναι του λευκοχρύσου, του ρουθηνίου, του χρυσού και του τιτανίου. Βέβαια, μελέτες έχουν γίνει και με άλλα μέταλλα όπως το ρόδιο, το ιρίδιο, το γάλλιο και το παλλάδιο.<sup>23</sup>

Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσεται ταχύτατα η μελέτη συμπλόκων μετάλλων μετάπτωσης με τροποποιημένα βιοδραστικά μόρια ως υποκαταστάτες. Τα βιοδραστικά μόρια δρουν στοχευμένα και αλληλεπιδρούν με βιομόρια, αναστέλλοντας τις βιοχημικές

διεργασίες που σχετίζονται με τα αυτά. Ο στόχος της σύμπλεξης των βιοδραστικών μορίων με τα μέταλλα μεταπτώσεως είναι η πιθανή βελτίωση της βιολογικής δράσης αυτών.<sup>24</sup>

## 2.2 Κυτταρικές μελέτες συμπλόκων μετάλλων μετάπτωσης

Αν και υπάρχουν πολλές μελέτες συμπλόκων για πολλά βιολογικά συστήματα δεν είναι ακόμη γνωστές οι ιδιότητες που πρέπει να έχουν για επιτυχή πρόσληψη από τα κύτταρα.<sup>25</sup> Ακόμα δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητός ο τρόπος (ή οι κανόνες) σχεδιασμού συγκεκριμένων ενώσεων οι οποίες θα μπορούν να εισέρχονται στον πυρήνα.<sup>26</sup> Αρκετές ερευνητικές ομάδες προτείνουν ότι η πρόσληψη των συμπλόκων στα κύτταρα σχετίζεται με τη λιποφιλικότητά τους.<sup>26</sup> Μάλιστα, έχει βρεθεί ότι λιπόφιλα σύμπλοκα εμφανίζουν μεγαλύτερη κυτταρική πρόσληψη.<sup>27</sup>

Όσον αφορά τα τρικαρβονυλο σύμπλοκα του Re(I) με πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες, οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη σχέση που συνδέει το φορτίο και τη λιποφιλικότητα των συμπλόκων με την κυτταρική τους πρόσληψη, τον εντοπισμό και την κυτταροτοξική τους δράση.<sup>28</sup> Εικόνες από συνεστιακό μικροσκόπιο έδειξαν ότι τα περισσότερα από τα κατιοντικά σύμπλοκα εισέρχονται σε κύτταρα θηλαστικών με παθητική διάχυση.<sup>28</sup> Σε ορισμένες περιπτώσεις τα σύμπλοκα δεν μπορούν να εισέλθουν στη λιπιδική διπλοστοιβάδα.<sup>28</sup> Ειδικότερα, κατιοντικά σύμπλοκα εντοπίζονται στα μιτοχόνδρια ενώ ανιοντικά σύμπλοκα του Re(I) συσσωρεύονται στην εξωτερική επιφάνεια της πλασματικής μεμβράνης ή δεν παρουσιάζουν καμία πρόσληψη ακόμα και αν έχουν πολύ λιπόφιλες ομάδες.<sup>28</sup>

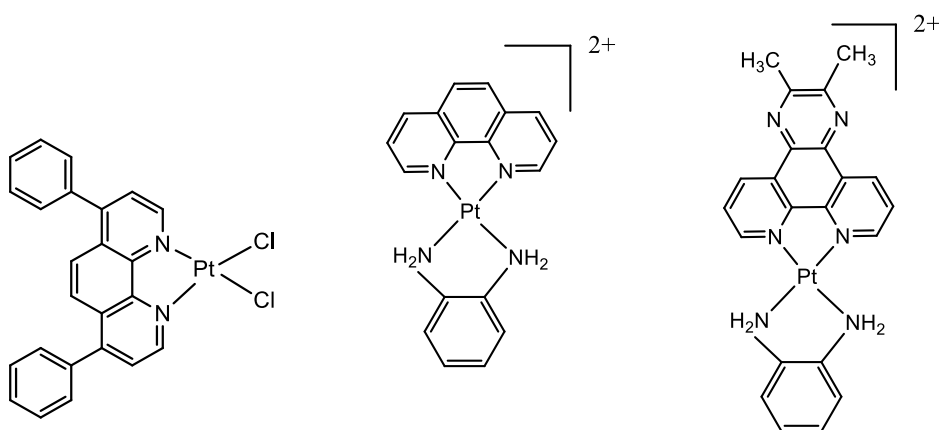
Δεδομένου λοιπόν, ότι η κυτταρική πρόσληψη αυτών των συμπλόκων είναι άμεσα συνδεδεμένη με το φορτίο και τη λιποφιλικότητά τους, οι δομικές και φωτοφυσικές ιδιότητες μπορούν να τροποποιηθούν μέσω της χρήσης διαφόρων διδοτικών και μονοδοτικών υποκαταστατών, κάτι το οποίο θα επηρεάσει την κυτταρική τους πρόσληψη και ενδεχομένως την εξειδίκευσή τους.<sup>29</sup> Μελέτες δομής-δράσης είναι απαραίτητες για την κατανόηση της κυτταρικής πρόσληψης και ενδεχομένως την εξειδίκευσή τους.

## 2.3 Σύμπλοκα στοιχείων μετάπτωσης ως αντικαρκινικοί παράγοντες

Η ανακάλυψη της σισπλατίνης για τη θεραπεία πολλών μορφών καρκίνου έχει προκαλέσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών. Όμως η τοξικότητα της σισπλατίνης και

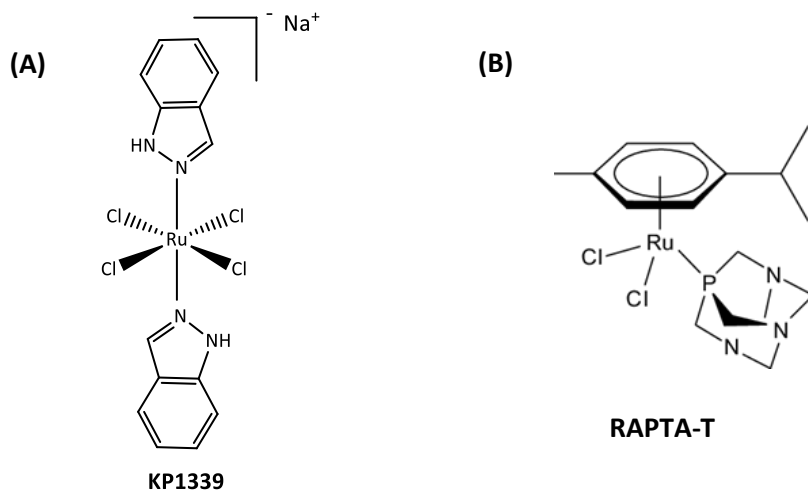


άλλων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων ώθησε τους ερευνητές στη σύνθεση νέων συμπλόκων που θα αλληλεπιδρούν με το DNA και θα έχουν λιγότερες παρενέργειες. Για παράδειγμα, σύμπλοκα του λευκοχρύσου που περιέχουν υποκατεστημένους φαινανθρολινικούς υποκαταστάτες (βλ. **Σχήμα 2.1**) εμφάνισαν μεγάλη κυτταροτοξικότητα έναντι καρκινικών σειρών.<sup>30,31</sup> Σε αντίθεση με τη σισπλατίνη, αυτοί οι υποκαταστάτες και τα αντίστοιχα σύμπλοκα τους, αλληλεπιδρούν με το DNA με διάταξη στοιβάδας μέσω επικάλυψη π-τροχιακών ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων.



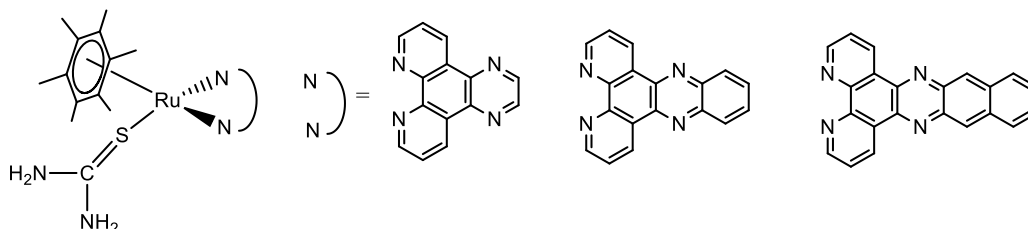
**Σχήμα 2.1.** Παραδείγματα μελετημένων συμπλόκων λευκοχρύσου με αντικαρκινική δράση

Μελετήθηκαν επίσης, σύμπλοκα του ρουθηνίου τα οποία πιστεύεται ότι αλληλεπιδρούν με το DNA. Τα σύμπλοκα του ρουθηνίου είναι ευρύτατα διαδεδομένα στη θεραπεία του καρκίνου. Ήδη το σύμπλοκο του ρουθηνίου KP1339 (**Σχήμα 2.2 (A)**) βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές.<sup>32</sup> Επίσης, οργανομεταλλικές ενώσεις του ρουθηνίου ( $[\text{Ru}(\eta^6\text{-toluene})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$  (PTA = 1,3,5-τριαζα-7-φωσφαδαμαντάντιο), (RAPTA-T, **Σχήμα 2.2 (B)**) εμφανίζουν εκλεκτικότητα σε μεταστατικούς καρκίνους και βρίσκονται ήδη σε κλινικές μελέτες.<sup>33</sup>



**Σχήμα 2.2.** Σύμπλοκα του Ru(III) σε κλινικές μελέτες

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν σύμπλοκα ρουθηνίου (**Σχήμα 2.3**) που φέρουν πολυαρωματικά επίπεδα μόρια ως NN υποκαταστάτες. Μελετήθηκαν οι κυτταροτοξικές τους ιδιότητες ως προς τα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα HT-29 (καρκίνος του παχέος εντέρου) και MCF-7 (καρκίνος του μαστού) και βρέθηκε ότι είναι ισχυρά εξαρτώμενες από την επιφάνεια του αρωματικού συστήματος. Για παράδειγμα, η τιμή IC<sub>50</sub> ελαττώνεται για τα κύτταρα MCF-7 καθώς το μέγεθος του πολυπυριδινικού υποκαταστάτη μεγαλώνει.<sup>34 35</sup>

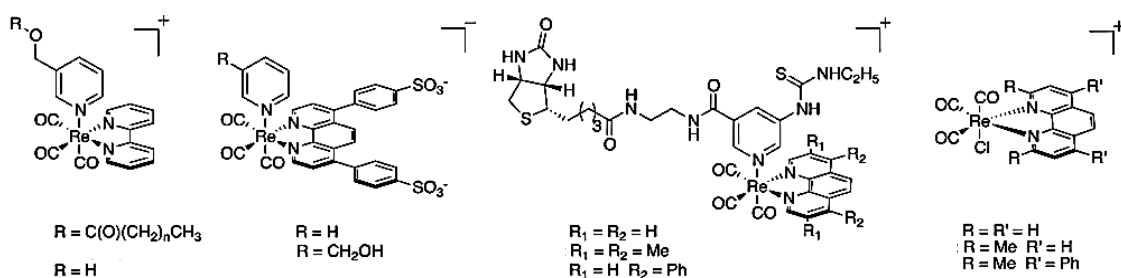


**Σχήμα 2.3.** Σύμπλοκα ρουθηνίου με αντικαρκινική δράση

### 2.3.1 Αντικαρκινική δράση συμπλόκων ρηνίου

Σε σύγκριση με τα οργανομεταλλικά σύμπλοκα του ρουθηνίου, που αναφέρθηκαν παραπάνω, στην βιβλιογραφία υπάρχουν σχετικά λίγα παραδείγματα οργανομεταλλικών συμπλόκων του ρηνίου με αντικαρκινική δράση. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες μελέτες έχουν αναφερθεί περιγράφοντας την δράση τέτοιων συμπλόκων.<sup>36-</sup>  
<sup>50</sup> Πράγματι, οι οργανομεταλλικές ενώσεις του ρηνίου κατέχουν μερικά πολύ σημαντικά χαρακτηριστικά για την ανάπτυξη νέων αντικαρκινικών παραγόντων. Για παράδειγμα,

πολλά οργανομεταλλικά σύμπλοκα εμφανίζουν ισχυρή ένταση φθορισμού και μπορούν να ανιχνευθούν μέσα στο κύτταρο μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Με αυτόν τον τρόπο δύναται να αξιολογηθεί η κυτταρική πρόσληψη των συμπλόκων αλλά και ο μηχανισμός δράσης τους. Επίσης, σχεδόν όλα τα οργανομεταλλικά κυτταροτοξικά σύμπλοκα του ρηνίου περιέχουν τον  $\text{Re}(\text{CO})_3$  πυρήνα, ο οποίος είναι εύκολα προσβάσιμος ξεκινώντας από τα πρόδρομα σύμπλοκα  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+ / [\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]^{2-}$ ,<sup>40,51</sup>  $\text{Re}(\text{CO})_5\text{Cl} / \text{Re}(\text{CO})_5\text{Br}$ ,<sup>39,42,46,47,52-56</sup> ή  $\text{Re}_2(\text{CO})_{10}$  παρέχοντας μεγάλες συνθετικές δυνατότητες. Οι υποκαταστάτες που θα συναρμοστούν με το ρήνιο μπορούν να είναι μόρια που στοχεύουν βιομόρια.<sup>39,40,50,51,57,58</sup> Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα των συμπλόκων του ρηνίου είναι ότι μπορούν να συντεθούν και τα αντίστοιχα ραδιενεργά ανάλογά τους με ρήνιο-186 και ρήνιο-188 ( $\beta^-$  για θεραπεία) καθώς και τα σύμπλοκα του τεχνητίου-99m ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $\gamma$  για διάγνωση). Είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί ότι η ανάπτυξη μη ραδιενεργών συμπλόκων του ρηνίου ως αντικαρκινικών παραγόντων είναι ένα νέο και αναπτυσσόμενο πεδίο έρευνας. Τα ραδιενεργά ανάλογα ( $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) των συμπλόκων του μη ραδιενεργού ρηνίου μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την *in vivo* κατανομή καθώς και μελέτες φαρμακοκινητικής, που είναι σημαντικές και κρίσιμες για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Ενδεικτικά, στο **Σχήμα 2.4** παρουσιάζονται δομές συμπλόκων του ρηνίου που έχουν εμφανίσει κυτταροτοξική δράση σε καρκινικές κυτταρικές σειρές.



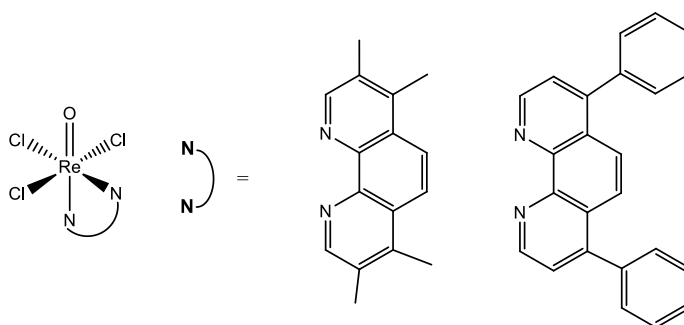
**Σχήμα 2.4.** Ενδεικτικές δομές συμπλόκων ρηνίου με κυτταροτοξική δράση

Τα σύμπλοκα του ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) που περιέχουν μονο-, δι- ή τριδωτικούς υποκαταστάτες έχουν εμφανίσει κυτταροτοξική δράση.<sup>36-38,53,59</sup> Σε αυτήν την κατηγορία συμπλόκων η κυτταροτοξικότητά τους οφείλεται σε ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις με τις βάσεις του DNA και/ή με τις πλευρικές αλυσίδες πρωτεϊνών.

Επίσης, υπάρχουν σύμπλοκα του Re(I) που επάγουν κυτταρικό θάνατο μετά από ακτινοβολήση (φωτοδυναμική θεραπεία του καρκίνου).<sup>49,50,60</sup>

Πρόσφατα, οκταεδρικά σύμπλοκα του Re(IV) που φέρουν πολυπυριδινικούς υποκαταστάτες βρέθηκε να έχουν *in vitro* αντιπολλαπλασιαστική δράση έναντι καρκινικών κυττάρων μαστού, ωθηκών και προστάτη.<sup>61</sup> Ένας πιθανός μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει την αλληλεπίδρασή τους με το DNA και επαγωγή του κυτταρικού θανάτου. Η αντικαρκινική δράση των διπυρηνικών συμπλόκων του ρηνίου έχει επίσης μελετηθεί.<sup>62-64</sup> Επιπλέον, πολυπυρηνικά σύμπλοκα του ρηνίου (III) έχουν «ελκυστικά» φαρμακολογικά χαρακτηριστικά με χαμηλή νευρο-, ηπατο- και νεφροτοξικότητα.<sup>64-66</sup>

Πολλοί αντικαρκινικοί παράγοντες δρουν στοχεύοντας το πυρηνικό DNA, προκαλώντας απόπτωση.<sup>67-69</sup> Κυτταροτοξικές ενώσεις μπορούν επίσης να σκοτώσουν κύτταρα μέσω ενός μη αποπτωτικού μηχανισμού (νέκρωση).<sup>70-72</sup> Αν και η νέκρωση πίστευαν αρχικά ότι ήταν τυχαία ακανόνιστη διαδικασία, τώρα είναι κατανοητό ότι η προγραμματισμένη νέκρωση, γνωστή και ως νεκρόπτωση, μπορεί να συμβεί σε μερικούς τύπους κυττάρων.<sup>73</sup> Επίσης, σύμπλοκα του οξορρηνικού πυρήνα (**Σχήμα 2.5**) εμφανίζουν εκλεκτική κυτταροτοξικότητα έναντι καρκινικών κυττάρων και υψηλότερη κυτταροτοξικότητα στα καρκινικά κύτταρα από τη σισπλατίνη.<sup>74</sup>



**Σχήμα 2.5.** Δομές συμπλόκων του οξορρηνικού πυρήνα που προκαλούν νεκρόπτωση

Τα σύμπλοκα αυτά δρουν στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου και προκαλούν προγραμματισμένη νέκρωση (νεκρόπτωση) στα καρκινικά κύτταρα, ενώ παράγουν και ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS).<sup>74</sup>

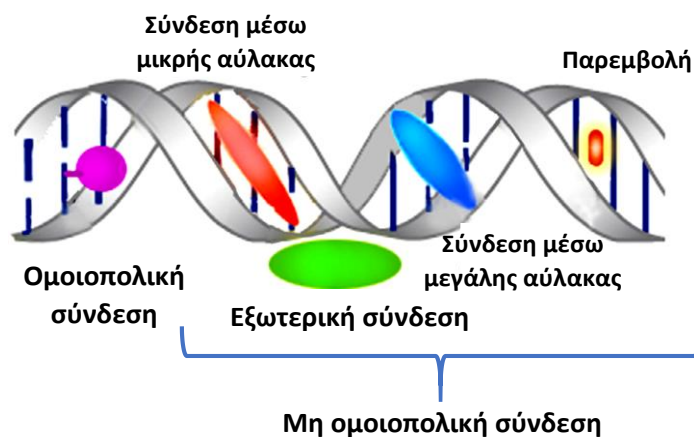
Σύμπλοκα μετάλλων (π.χ. Ru, Re) μελετώνται ως νέοι αντικαρκινικοί παράγοντες. Από τα σύμπλοκα των μετάλλων αυτών, τα σύμπλοκα του ρηνίου μόλις πρόσφατα άρχισαν να αναπτύσσονται ως πιθανοί αντικαρκινικοί παράγοντες σε μη ραδιενεργό επίπεδο.

Σύμπλοκα ρηνίου εμφάνισαν δράση έναντι καρκινικών κυτταρικών σειρών και είναι ένα εξελισσόμενο και αναπτυσσόμενο πεδίο έρευνας. Γενικά για τα σύμπλοκα, η αλληλεπίδρασή τους με το DNA φαίνεται να είναι ένας πιθανός μηχανισμός δράσης.

## 2.5 Τρόποι αλληλεπίδρασης ενώσεων με DNA

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο μηχανισμός δράσης πολλών συμπλόκων είναι πολύ πιθανό να οφείλεται στην αλληλεπίδραση τους με το DNA, με ανάλογο τρόπο με τη σισπλατίνη.<sup>75</sup>

Υπάρχουν δύο βασικές κατηγορίες των τρόπων αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA: ο ομοιοπολικός και ο μη ομοιοπολικός τρόπος αλληλεπίδρασης (**Σχήμα 2.6**).



**Σχήμα 2.6.** Απεικόνιση τρόπων αλληλεπίδρασης με το DNA

### 2.5.1 Ομοιοπολική αλληλεπίδραση

Το μεταλλικό ιόν ως οξύ κατά Lewis αλληλεπιδρά ομοιοπολικά με τις βάσεις του νουκλεϊκού οξέος, μέσω του N7 της πυρηνόφιλης γουανίνης. Αυτό γίνεται σε δυο στάδια: πρώτον, την υδρόλυση του συμπλόκου και δεύτερον στην πυρηνόφιλη προσβολή των πουρινών από τα σύμπλοκα, με συνέπεια τη σύμπλεξη ανάμεσα στο μεταλλικό ιόν και στις βάσεις του DNA. Ανάλογα με τον αριθμό και την διαμόρφωση των ομάδων που απομακρύνονται (π.χ. cis ή trans γεωμετρία) και τις θέσεις σύμπλεξης, μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην δευτερεύουσα δομή (B-δομή) του DNA, που μπορεί να συμπεριλαμβάνει κάμψη ή στρέβλωση του DNA, τοπική χαλάρωση στην έλικα (**Σχήμα**

2.6).<sup>76</sup> Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αντικαρκινικού φαρμάκου το οποίο προσδένεται ομοιοπολικά με το DNA αποτελεί η σισπλατίνη.

## 2.5.2 Μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις

### ➤ Ενδοπαρεμβολή (Intercalation)

Η ενδοπαρεμβολή αποτελεί ένα τρόπο μη ομοιοπολικής αλληλεπίδρασης ενώσεων με το DNA, κατά τον οποίο μια πολυαρωματική επίπεδη ένωση παρεμβάλλεται ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA. Όσον αφορά τα μεταλλικά σύμπλοκα μπορούν να φέρουν επίπεδες αρωματικές ομάδες στους συμπλεγμένους υποκαταστάτες. Αυτοί οι υποκαταστάτες προσανατολίζονται παράλληλα στα ζεύγη βάσεων, προεξέχουν μακριά από το μεταλλικό κέντρο, και μπορούν εύκολα να στοιβαχθούν στο δίκλωνο DNA. Πιο συγκεκριμένα, καθώς η διπλή έλικα ξετυλίγεται, η απόσταση μεταξύ των φωσφορικών ομάδων αυξάνεται με αποτέλεσμα τη μείωση πυκνότητας του εντοπισμένου φορτίου. Το επόμενο βήμα είναι η μετακίνηση του αρωματικού μέρους της ένωσης από το διάλυμα στην περιοχή ενδοπαρεμβολής, μια ευνοϊκή υδρόφοβη αλληλεπίδραση αφού ο μη πολικός αρωματικός δακτύλιος παρεμβάλλεται ανάμεσα στα υδρόφοβα ζεύγη βάσεων. Συχνά, σε τέτοια σύμπλοκα το μεταλλικό ιόν είναι μέρος του επίπεδου τμήματος του υποκαταστάτη. Στην κλασική ενδοπαρεμβολή, οι ενώσεις εισέρχονται ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA και οδηγούν σε αύξηση της απόστασης των ζευγών βάσεων στις θέσεις ενδοπαρεμβολής για να μπορέσουν να εισέλθουν τα μόρια αυτά.<sup>77</sup> Η παρουσία εκτεταμένου αρωματικού υποκαταστάτη ευνοεί συνήθως την ενδοπαρεμβολή, ενώ με λιγότερο εκτεταμένα αρωματικά συστήματα η ενδοπαρεμβολή μπορεί να παρεμποδισθεί λόγω της σύγκρουσης των υπόλοιπων υποκαταστατών με το φωσφορικό σκελετό με αποτέλεσμα να συμβαίνει μόνο μερική ενδοπαρεμβολή.

### ➤ Σύνδεση στις αύλακες (groove binding)

Η σύνδεση στην αύλακα περιλαμβάνει δύο στάδια. Πρώτα γίνεται υδρόφοβη μετακίνηση του υποκαταστάτη από το διάλυμα προς την έλικα και στη συνέχεια αναπτύσσονται μη ομοιοπολικές μοριακές αλληλεπιδράσεις, όπως δεσμοί υδρογόνου με τα ζεύγη αδενίνης-θυμίνης και δεσμοί Van der Waals με τα τοιχώματα της αύλακας. Η

συναρμογή στις αύλακες μέσω δεσμών υδρογόνου έχει ως αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της δομής του DNA.<sup>78</sup>

### ➤ Ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση

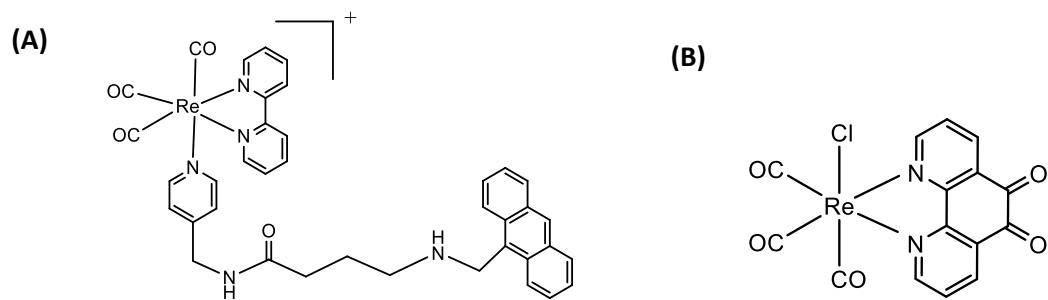
Η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση συμβαίνει ανάμεσα σε ένα κατιόν και στον ανιοντικό φωσφορικό σκελετό του DNA. Η εξουδετέρωση του αρνητικού φορτίου μειώνει τις απωστικές δυνάμεις ανάμεσα στις γειτονικές φωσφορικές ομάδες, σταθεροποιώντας έτσι την διπλή έλικα. Οι δυο προηγούμενες αλληλεπιδράσεις που αναφέρθηκαν είναι συχνά επιλεκτικές, ενώ οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μπορούν να συμβούν σε οποιαδήποτε φωσφορική ομάδα κατά μήκος του φωσφορικού σκελετού.<sup>76</sup>

## 2.6 Σύμπλοκα Re και αλληλεπίδραση με DNA

### 2.6.1 Σύμπλοκα Re(I) και DNA

Οι περισσότερες από τις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των τρικαρβονυλο πολυπυριδινικών συμπλόκων του ρηνίου(I) και της διπλής έλικας του DNA, που έχουν αναφερθεί μέχρι τώρα, είναι παρεμβολικής φύσεως. Τα σύμπλοκα αυτά είτε συνδέονται με ένα επίπεδο αρωματικό μόριο μέσω μιας γέφυρας, ή συμπλέκονται άμεσα με έναν εκτεταμένο επίπεδο αρωματικό διμινικό υποκαταστάτη. Στην πρώτη περίπτωση ένα μόριο ανθρακενίου έχει συμπλεχθεί ομοιοπολικά μέσω γέφυρας στο μεταλλικό κέντρο (**Σχήμα 2.7 (A)**). Το σύμπλοκο δεσμεύεται μέσω ενδοπαρεμβολής του μορίου αυτού στα ζεύγη βάσεων του DNA.<sup>79</sup>

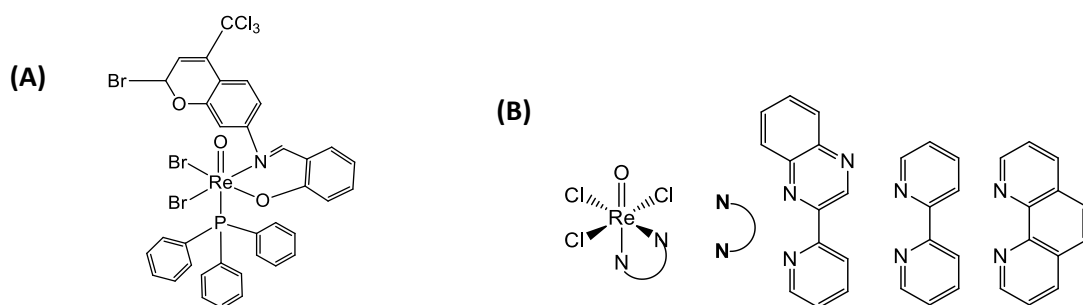
Συμπλέκοντας άμεσα στο Re(I) έναν εκτεταμένο επίπεδο υποκαταστάτη, μπορεί πλέον αυτός να δράσει ως παρεμβολέας στο DNA.<sup>80-82</sup> Ένας άλλος τρόπος αλληλεπίδρασης όπως αναφέρθηκε είναι η αλληλεπίδραση στην αύλακα. Με αυτόν τον τρόπο βρέθηκε να αλληλεπιδρά ένα σύμπλοκο του ρηνίου (I) με διδοτικό υποκαταστάτη την 1,10-φαινανθρολιν-5,6-διόνη και μονοδοτικό υποκαταστάτη το χλώριο (**Σχήμα 2.7 (B)**).<sup>83</sup>



**Σχήμα 2.7.** Δομή συμπλόκων του Re(I) που αλληλεπιδρούν με το DNA **(A)** μέσω ενδοπαρεμβολής και **(B)** μέσω μεγάλης αύλακας

### 2.6.2 Σύμπλοκα Re(V) και DNA

Οι μελέτες αλληλεπίδρασης μεταξύ DNA και συμπλόκων στην οξειδωτική κατάσταση (V) είναι αρκετά περιορισμένες. Ενδεικτικά, στο **Σχήμα 2.8** παρουσιάζονται σύμπλοκα του οξορρηνικού πυρήνα στα οποία έχουν γίνει μελέτες αλληλεπίδρασης με το DNA.



**Σχήμα 2.8.** Δομές συμπλόκων του οξορρηνικού πυρήνα που αλληλεπιδρούν με το DNA **(A)** μέσω αύλακας και **(B)** μέσω ενδοπαρεμβολής

Στο **Σχήμα 2.8 (A)** παρουσιάζεται σύμπλοκο του ρηνίου (V) το οποίο αλληλεπιδρά με το DNA μέσω αύλακας όπως αυτό διαπιστώθηκε με θεωρητικούς υπολογισμούς.<sup>84</sup> Επίσης, οι μελέτες αλληλεπίδρασης μέσω φασματοσκοπίας UV-Vis, μελέτες θερμικής μετουσίωσης και ιξωδομετρίας των συμπλόκων του οξορρηνικού πυρήνα με πολυαρωματικούς υποκαταστάτες (βλ. **Σχήμα 2.8 (B)**) έδειξαν ότι τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν με το DNA μέσω ενδοπαρεμβολής.<sup>85</sup>

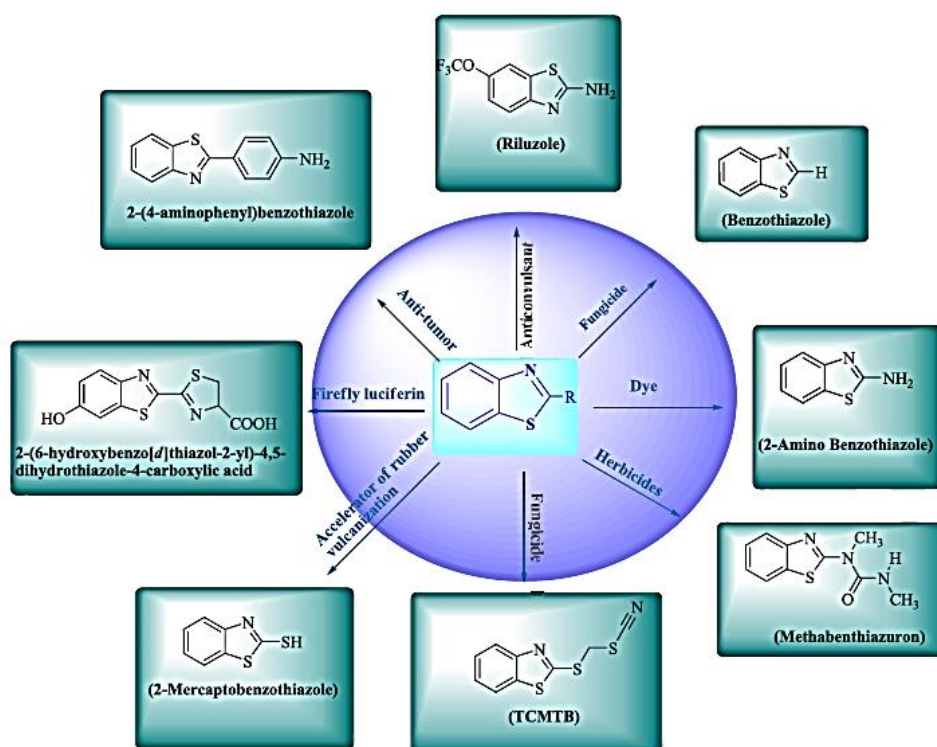


## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### ΤΟ ΒΕΝΖΟΘΕΙΑΖΟΛΙΟ ΚΑΙ ΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΟΥ ΩΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

#### 3.1 Εισαγωγικά για το βενζοθειαζόλιο

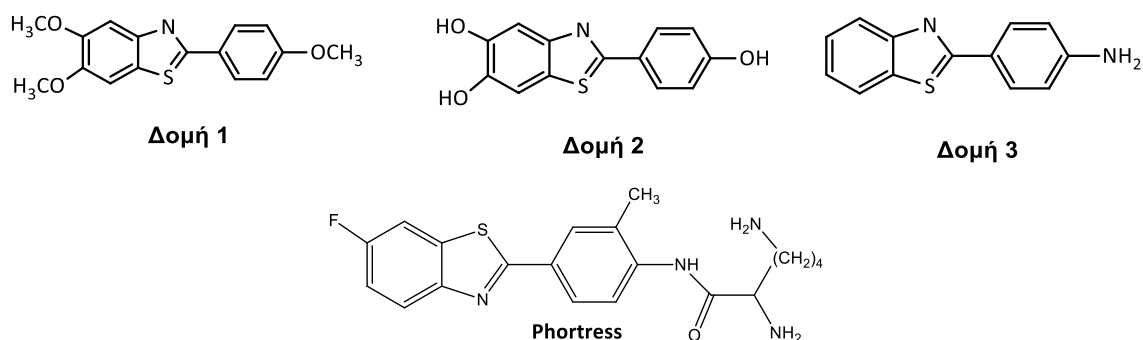
Το μόριο του βενζοθειαζολίου είναι ένα συμπυκνωμένο ετεροαρωματικό σύστημα και είναι γνωστό ότι εμφανίζει βιολογικές ιδιότητες όπως αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές κ.α. Είναι ένα πολυλειτουργικό μόριο του οποίου οι ιδιότητες επηρεάζονται σημαντικά ανάλογα με τις υποκαταστάσεις που φέρει (βλ. **Σχήμα 3.1**).



**Σχήμα 3.1.** Το βενζοθειαζόλιο ως πολυλειτουργικός πυρήνας

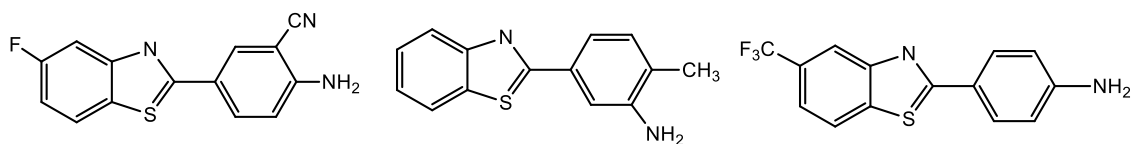
Όσον αφορά την αντικαρκινική δράση τα 2-αρυλοβενζοθειαζόλια έχουν εμφανίσει σημαντική δράση. Το βιολογικό προφίλ και οι συνθετικές δυνατότητές του βενζοθειαζολίου είναι πολύ «ελκυστικά» στο σχεδιασμό και την ανάπτυξη νέων χημειοθεραπευτικών παραγόντων.

Ο Stevens και οι συνεργάτες του<sup>86</sup> εμπνεύστηκαν από μια κρυσταλλογραφική ανάλυση του 5,6-διμεθοξυ-2-(4-μεθοξυφαινυλ)βενζοθειαζολίου (**Δομή 1, Σχήμα 3.2**) και συνέθεσαν πολυϋδροξυλιωμένα 2-φαινυλοβενζοθειαζόλια<sup>87</sup> (**Δομή 2, Σχήμα 3.2**). Μελέτησαν την κυτταροτοξικότητά τους και την απέδωσαν σε αναστολή της κινάσης της τυροσίνης.<sup>88</sup> Επίσης, το 2-(4-αμινοφαινυλο)βενζοθειαζόλιο (**Δομή 3, Σχήμα 3.2**) έχει εμφανίσει *in vitro* αντικαρκινική δράση έναντι ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του μαστού όπως τα MCF-7 και τα MDA 468. Ήδη ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου (Phortress, **Σχήμα 3.2**) έχει εμφανίσει αντικαρκινική δράση και βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές.<sup>89</sup>



**Σχήμα 3.2.** Χημικές δομές βενζοθειαζολίων που εμφανίζουν αντικαρκινική δράση

Η δράση του Phortress έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών MCF-7 και MDA 468 χαρακτηρίστηκε από σχέση διφασικής δόσης-απόκρισης. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει ένα όριο συγκέντρωσης που οι ενώσεις έχουν αντικαρκινική δράση. Ενδεικτικά να αναφερθεί ότι οι μελέτες σχέσεις δομής-δράσης έδειξαν ότι η ένωση που έχει ως υποκατάσταση μεθύλιο ή αλογόνο στην 3-θέση του φαινολικού δακτυλίου είναι πιο αποτελεσματική συγκριτικά με την ένωση που δεν φέρει ως υποκαταστάτη την αμίνη.<sup>90,91</sup> Ωστόσο, η αντικατάσταση του μεθυλίου, ή του αλογόνου με κυανο- ή υδροξυ- ομάδα στη θέση 3 και εισαγωγή του χλωρίου στη θέση 2 της αμινοφαινυλο ομάδας βρέθηκε να μειώνει τη δράση της ένωσης σε σχέση με το αρχικό μόριο (**Δομή 1, Σχήμα 3.2**). Όμως, αυτό επεκτείνει το φάσμα της *in vitro* αντικαρκινικής δράσης τους και σε άλλες καρκινικές σειρές όπως του πνεύμονα. Στο **Σχήμα 3.3** παρουσιάζονται διάφορα παράγωγα του βενζοθειαζολίου με διάφορες υποκαταστάσεις που εμφανίζουν αντικαρκινική δράση.

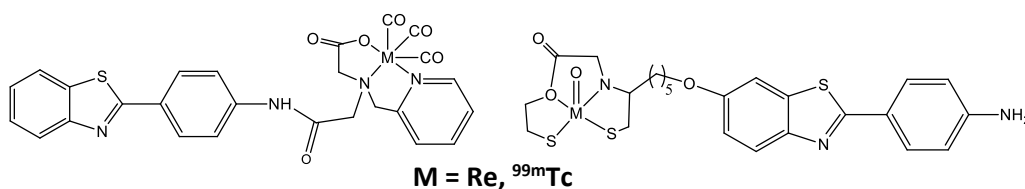


**Σχήμα 3.3.** Δομές παραγώγων βενζοθειαζολίου που έχουν εμφανίσει αντικαρκινική δράση

Επίσης, είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί ότι το βενζοθειαζόλιο έχει βρεθεί να προσδένεται στον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR)<sup>92,93</sup> κάτι το οποίο έχει ληφθεί υπόψη για την επιλογή των καρκινικών κυτταρικών σειρών στην παρούσα εργασία όπως θα συζητηθεί και παρακάτω.

### 3.2 Βενζοθειαζόλιο και σύμπλοκα μετάλλων μετάπτωσης

Το βενζοθειαζόλιο παρέχει μεγάλες συνθετικές δυνατότητες, έτσι τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει προσπάθειες να χρησιμοποιηθεί το μόριο αυτό ως υποκαταστάτης σε μέταλλα μετάπτωσης. Το βενζοθειαζόλιο ως υποκαταστάτης είτε συναρμόζεται άμεσα με το μεταλλικό κέντρο είτε μέσω προέκτασης ενός μονο-, δι- ή πολυδοντικού υποκαταστάτη. Πράγματι, τα τελευταία χρόνια έχουν αρχίσει και γίνονται μελέτες της δράσης συμπλόκων του βενζοθειαζολίου και παραγώγων αυτού με μέταλλα όπως παλλάδιο, λευκόχρυσο, ρουθίνιο, ρήνιο κ.α. Για παράδειγμα, στο **Σχήμα 3.4** παρουσιάζονται ενδεικτικά σύμπλοκα του ρηνίου με παράγωγα του βενζοθειαζολίου ως υποκαταστάτη.<sup>94-97</sup> Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι σύμπλοκα του ρηνίου (I) με το βενζοθειαζόλιο ως υποκαταστάτη χρησιμοποιούνται τόσο στην διάγνωση καρκίνου,<sup>98,99</sup> όσο και στη νόσο Alzheimer λόγω της πρόσδεσής τους στις αμυλοειδείς πλάκες.<sup>100</sup>



**Σχήμα 3.4.** Δομές συμπλόκων ρηνίου με το βενζοθειαζόλιο ως υποκαταστάτη

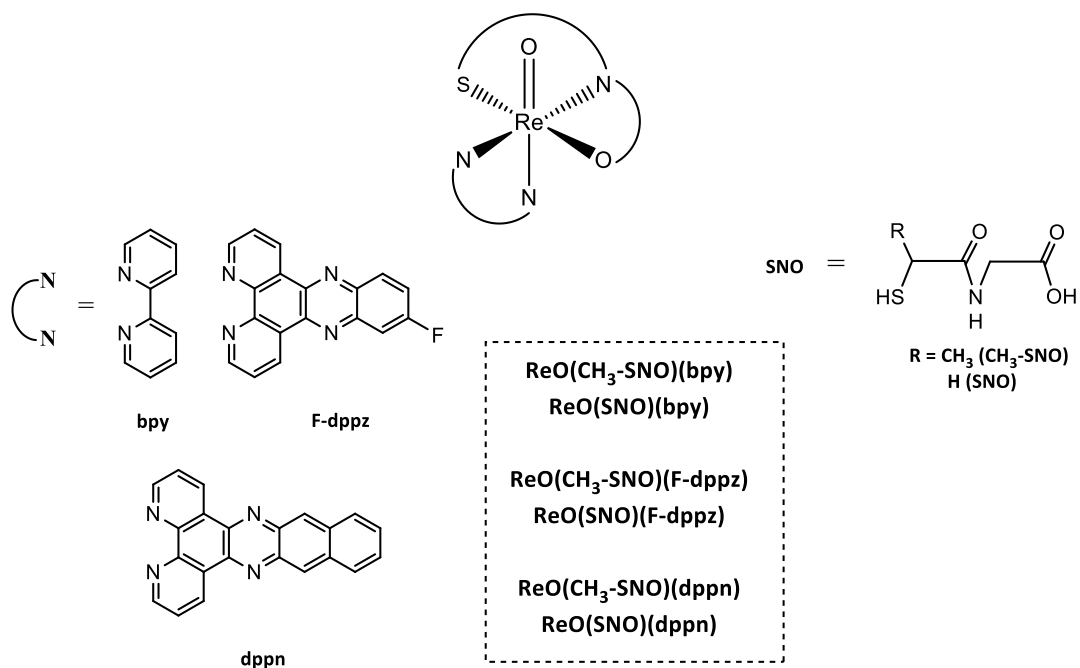


## ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην παρούσα εργασία σχεδιάστηκαν σύμπλοκα του ρηνίου σε δυο οξειδωτικές βαθμίδες, την (V) και την (I) που φέρουν τον οξο ή τον τρικαρβονυλο πυρήνα τα οποία θα μελετηθούν ως πιθανοί αντικαρκινικοί παράγοντες. Ο σχεδιασμός βασίστηκε στη λογική να συνδυαστεί η συμπλοκοποίηση του ρηνίου ως μετάλλου με την δράση του διδοτικού υποκαταστάτη ο οποίος θα είναι είτε ένα μόριο παρεμβολέας είτε ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου που όπως έχει ήδη αναφερθεί έχει αντικαρκινική δράση.

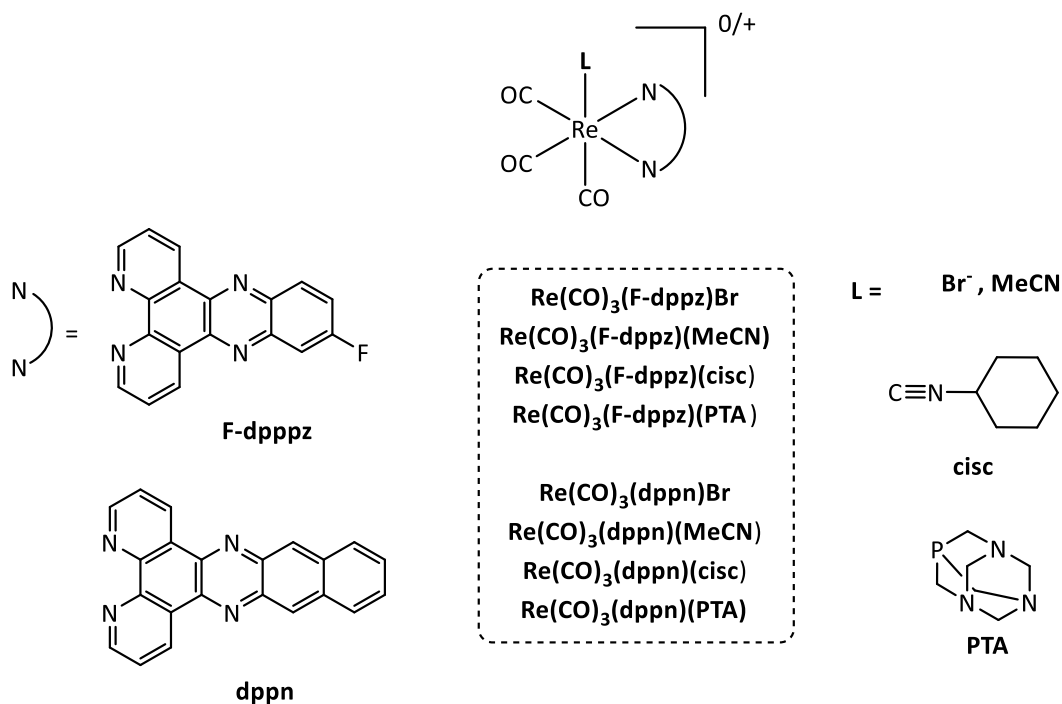
### Κατηγορία 1. Σύμπλοκα οξορρηνικού πυρήνα με μόρια παρεμβολείς ως NN

υποκαταστάτες



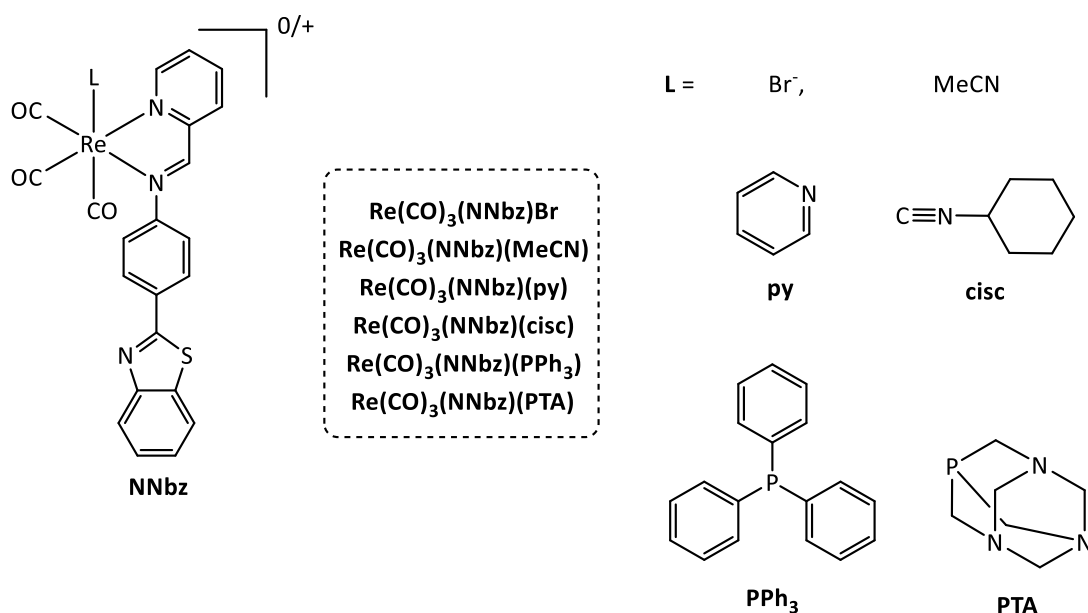
Ο γενικός τύπος των συμπλόκων στην οξειδωτική βαθμίδα (V) είναι **ReO(SNO)(NN)** όπου NN είναι ένας διδοτικός υποκαταστάτης ο οποίος δρα ως μόριο παρεμβολέας και SNO ένας τριδοτικός υποκαταστάτης. Αρχικά, θα μελετηθεί αν η συμπλοκοποίηση του NN υποκαταστάτη και του SNO υποκαταστάτη θα πραγματοποιηθεί με επιτυχία. Για το λόγο αυτό, ως πρώτος διδοτικός υποκαταστάτης θα χρησιμοποιηθεί η bpy για τη σύνθεση του πρώτου συμπλόκου «μοντέλου».

**Κατηγορία 2.** Σύμπλοκα  $Re(I)$  με μόρια παρεμβολείς ως NN υποκαταστάτες



Ο γενικός τύπος των συμπλόκων του ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) στην κατηγορία 2 είναι  $fac-[Re(CO)_3(NN)L]^{0/+}$ , όπου NN είναι διδοτικοί υποκαταστάτες (πολυαρωματικά μόρια – παρεμβολείς, όπως και στην κατηγορία 1 και L διάφοροι μονοδοτικοί υποκαταστάτες όπως βρώμιο, ακετονιτρίλιο, κυκλοεξυλισοκυανίδιο (**cisc**) και 1,3,5-τριαζα-7-φωσφαδαμαντάνιο (**PTA**).

**Κατηγορία 3.** Σύμπλοκα  $Re(I)$  με παράγωγο του βενζοθειαζολίου ως NN υποκαταστάτη



Στην κατηγορία αυτή ο γενικός τύπος των συμπλόκων είναι  $fac-[Re(CO)_3(NNbz)L]^{0/+}$ , όπου NNbz είναι ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου (φαρμακοφόρο) και L διάφοροι μονοδοτικοί υποκαταστάτες.

Όλα τα σύμπλοκα θα χαρακτηρισθούν με τις κλασικές φασματοσκοπικές μεθόδους (NMR, IR), στοιχειακή ανάλυση και όπου είναι εφικτό και με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Στη συνέχεια θα ακολουθήσει η *in vitro* βιολογική αξιολόγηση των συμπλόκων μέσω της μεθόδου MTT σε καρκινικές κυτταρικές σειρές, μελετών κυτταρικής πρόσληψης, μελέτες αλληλεπίδρασης με DNA (κυκλικός διχρωϊσμός, ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού και ιξωδομετρίας) και μελέτες κυτταρικού κύκλου. Τέλος, θα πραγματοποιηθεί επισήμανση με τεχνήτιο-99m συμπλόκων με τα καλύτερα χαρακτηριστικά και θα μελετηθεί η βιοκατανομή τους σε υγιή ποντίκια και σε ποντίκια που φέρουν όγκο.





## **Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

---

#### 4.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός

Η στοιχειακή ανάλυση για C, H and N έγινε σε αυτόματο στοιχειακό αναλυτή Perkin–Elmer 2400 (Perkin–Elmer, USA).

Τα φάσματα IR λαμβάνονται σε φασματογράφο τύπου Nicolet 6700 FT-IR της εταιρείας Thermo Scientific. Τα φάσματα  $^1\text{H}$  και  $^{31}\text{P}$ -NMR λαμβάνονται σε φασματόμετρο 500 MHz της εταιρείας Bruker Avance DRX 500 MHz ( $^1\text{H}$  στα 500.13 MHz και  $^{13}\text{C}$  στα 125.77 MHz. Τα φάσματα των συμπλόκων και των υποκαταστατών λαμβάνονται σε διάλυμα δευτεριωμένου DMSO- $d_6$  ή  $\text{CDCl}_3$  σε θερμοκρασία 25°C. Για τα φάσματα  $^1\text{H}$ , οι χημικές μετατοπίσεις σε ppm, υπολογίζονται με τη χρήση τετραμεθυλοσιλανίου ( $\text{Me}_4\text{Si}$ ) ως εσωτερικού προτύπου.

Το  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  προέρχεται από τις γεννήτριες  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$  της εταιρείας General Electric Healthcare Drytec και από το Εργαστήριο Παραγωγής Ραδιονουκλιδίων του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος».

**Προσοχή!!** Όλοι οι χειρισμοί με τα ραδιενεργά διαλύματα του  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (γ-ακτινοβολία) πραγματοποιήθηκαν από εξουσιοδοτημένο προσωπικό πίσω από επαρκή θωράκιση μολύβδου σε εγκεκριμένα εργαστήρια με άδεια λειτουργίας.

Η ραδιενέργεια των δειγμάτων μετράται σε μετρητή ραδιονουκλιδίων (Isotope Calibrator) CRC-12 της εταιρείας Capintec και σε μετρητή Packard A550 Minaxi Auto Gamma 5000 Series.

Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) αποτελείται από:

- Αντλία τύπου 600 Waters.
- Σύστημα εισαγωγής δείγματος στη χρωματογραφική στήλη (injector UK6). Όλα τα διαλύματα διέρχονται αρχικά από στείρα φίλτρα διαμέτρου 0.22  $\mu\text{M}$  της εταιρείας Milipore.
- Αναλυτική στήλη αντίστροφης φάσης EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-10 C18 της εταιρείας MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG.

- Ανιχνευτή UV, Dual Absorbance Detector τύπος 2487 της εταιρείας Waters με καταγραφή φασμάτων σε μήκος κύματος 254 nm.
- Ανιχνευτή ακτινοβολίας γ GABI-Raytest για την ανίχνευση των ραδιενεργών. Μετά τη δίοδο από τη χρωματογραφική στήλη, οι ενώσεις που διαχωρίζονται διέρχονται από τις δύο ανιχνευτικές διατάξεις. Αρχικά από τον ανιχνευτή UV και ακολούθως εν σειρά από τον ανιχνευτή γ. Οι διατάξεις αυτές είναι συνδεδεμένες με υπολογιστή, με σκοπό τη συλλογή και την επεξεργασία των λαμβανόμενων πληροφοριών. Καταγράφονται έτσι ταυτόχρονα η μεταβολή της απορρόφησης στα 254 nm και ο ρυθμός μεταβολής των λαμβανόμενων κρούσεων του  $^{99m}\text{Tc}$ .
- Η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιείται με κινητή φάση σύστημα διαλυτών, κλιμακωτά μεταβαλλόμενης σύστασης (gradient) (**Πίνακας 4.1, 4.2**), όπου A: μεθανόλη (Sigma-Aldrich)/0.01% τριφθοροξικό οξύ (TFA) (Sigma) και B:  $\text{H}_2\text{O}/0.01\%$  TFA. Στους διαλύτες πραγματοποιείται απαέρωση, με διαβίβαση ηλίου υψηλής καθαρότητας (Air Liquid Hellas).

**Πίνακας 4.1.** Gradient χρωματογραφικής ανάλυσης HPLC για τα σύμπλοκα  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  και  $^{99m}\text{TcO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$

| Χρόνος (min) | Ροή (mL) | %A ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) | %B ( $\text{H}_2\text{O}$ ) |
|--------------|----------|-------------------------------|-----------------------------|
| 0.00         | 1.00     | 5                             | 95                          |
| 1.00         | 1.00     | 5                             | 95                          |
| 5.00         | 1.00     | 70                            | 30                          |
| 8.00         | 1.00     | 95                            | 5                           |
| 25.00        | 1.00     | 95                            | 5                           |

Η ανάμιξη των διαλυμάτων πραγματοποιείται με συσκευή έντονης ανάδευσης (Vortex).

Η φυγοκέντρωση των διαλυμάτων πραγματοποιείται σε φυγόκεντρο Beckman Coulter J2-MC High Speed Centrifuge για 10 λεπτά στις 5000 στροφές.

Η εξάτμιση των διαλυτών μέχρι ξηρού πραγματοποιείται υπό κενό με χρήση Rotary Evaporator System της εταιρείας BUCHI.

**Πίνακας 4.2.** Gradient χρωματογραφικής ανάλυσης HPLC για τα σύμπλοκα  $Re(CO)_3(NNbz)(cisc)$  και  $^{99m}Tc(CO)_3(NNbz)(cisc)$

| Χρόνος (min) | Ροή (mL) | %A (CH <sub>3</sub> OH) | %B (H <sub>2</sub> O) |
|--------------|----------|-------------------------|-----------------------|
| 0.00         | 1.00     | 5                       | 95                    |
| 1.00         | 1.00     | 5                       | 95                    |
| 10.00        | 1.00     | 80                      | 20                    |
| 20.00        | 1.00     | 80                      | 20                    |
| 30.00        | 1.00     | 90                      | 10                    |
| 35.00        | 1.00     | 95                      | 5                     |
| 40.00        | 1.00     | 95                      | 5                     |

Τα φάσματα του κυκλικού διχρωϊσμού λήφθηκαν από spectropolarimeter, Jasco Corp. Τα φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού του DNA ελήφθησαν σε εύρος 200 – 400 nm στους 25°C σε φασματοπολωσίμετρο Jasco J-715 εξοπλισμένο με σύστημα θέρμανσης Peltier. Τα φάσματα CD παρουσιάζονται μετά από την εκτέλεση τριών πειραμάτων χρησιμοποιώντας κυψελίδα με οπτική διαδρομή 1.0 cm, η ταχύτητα λήψεως των φασμάτων είναι 100 nm/min και χρόνο απόκρισης 1 s. Τα δεδομένα αναλύονται μέσω του λογισμικού Jasco.

Τα φάσματα φθορισμού λήφθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Φθορισμού (HITACHI F-2500). Οι μετρήσεις των ανταγωνιστικών μελετών πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του κλασικού παρεμβολέα, βρωμιούχου αιθιδίου.

Τα πειράματα ιξωδομετρίας πραγματοποιήθηκαν σε ιξωδόμετρο SI Analytics CK 300. Οι μετρήσεις ιξωδομετρίας έγιναν με τη χρήση ιξωδομέτρου SI Analytics CK 300. Η θερμοκρασία στο ιξωδόμετρο ήταν συνεχώς στους  $25.0 \pm 0.1$  °C. Η ροή των διαλυμάτων μετρήθηκε μέσω ενός ψηφιακού χρονομέτρου. Κάθε δείγμα μετρήθηκε τρεις φορές και υπολογίστηκε ο μέσος όρος αυτών. Οι μετρήσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους πάνω από 0.2 s. Όλα τα διαλύματα πέρασαν από φίλτρο 1 μm (Millipore Acrodisc) πριν την μέτρηση.

Ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα HeLa (τραχήλου της μήτρας), MCF-7 (μαστού) και A431 (επιδερμοειδές) αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό υλικό ανάπτυξης (D-MEM) με pH 7.4 συμπληρωμένο με 10% FBS, 100 U / mL πενικιλίνη, 2 mM γλουταμίνη και 100 mg / mL στρεπτομυκίνη. Η καλλιέργεια κυττάρων διατηρήθηκε σε τρυβλία και αναπτύχθηκε στους 37°C σε ατμόσφαιρα με 5% CO<sub>2</sub>. Τα κύτταρα απομονώθηκαν με χρήση διαλύματος 0.25% (w/v) τρυψίνης – 0.03% (w/v) EDTA.

Οι μετρήσεις της απορρόφησης της φορμαζάνης πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο Sirio S Seac RADIM-Group Diachel ELISA plate.

Οι μελέτες κυτταρικής πρόσληψης μέσω φθορισμού πραγματοποιήθηκαν σε συνεστιακό μικροσκόπιο Leica TCS SP8 MP (Wetzlar, Germany) εξοπλισμένο με IR MaiTai DeepSee Ti:Sapphire laser (Spectra-Physics, Santa Clara, CA, USA). Οι εικόνες αποκτήθηκαν μέσω του λογισμικού LAS X (Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar, Germany) και παρουσιάζονται χωρίς περαιτέρω επεξεργασία.

Οι μελέτες κυτταρικού κύκλου πραγματοποιήθηκαν μέσω FACS Calibur flow cytometer (Becton Dickinson, Heidelberg, Germany).

Τα πειραματόζωα προστατεύονται από το Προεδρικό Διάταγμα 56/2013 που εναρμονίζει την εθνική μας νομοθεσία με την κοινοτική οδηγία 2010/63 και τον νόμο 2015/2001, ο οποίος ενσωματώνει στο εθνικό δίκαιο την Σύμβαση του Συμβουλίου της Ευρώπης για τα σπονδυλωτά ζώα που χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς. Τα πειραματόζωα, που χρησιμοποιούνται τόσο για τις μελέτες βιοκατανομής, όσο και για τις απεικονίσεις με σύμπλοκα  $^{99m}\text{Tc}$ , είναι λευκοί θηλυκοί Swiss Albino μύες, ηλικίας τριών περίπου μηνών και μέσου βάρους 18-30 g. Η προμήθεια τους και ο εσταβλισμός τους γίνεται στο εκτροφείο πειραματόζωων του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «Δημόκριτος» σύμφωνα με τις προδιαγραφές της ορθής εργαστηριακής πρακτικής για χρήση πειραματόζωων.

#### 4.2 Αντιδραστήρια – Διαλύτες

Όλα τα χημικά αντιδραστήρια και οι διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Αγοράστηκαν από τις Aldrich, Acros, Alfa Aesar, Merck ή Fluka. Ο τριδοτικός SNO υποκαταστάτης N-(2-μερκαπτοπροπιονυλ)γλυκίνη (**CH<sub>3</sub>-SNO**), η 2,2'-διπυριδίνη (**bpy**), και οι μονοδοτικοί υποκαταστάτες πυριδίνη (**py**), τριφαινυλοφωσφίνη (**PPh<sub>3</sub>**), κυκλοεξυλισοκυανίδιο (**cisc**) και 1,3,5-τριαζα-7-φωσφαδαμαντάνιο (**PTA**) αγοράστηκαν από τη Sigma Aldrich. Ο τριδοτικός υποκαταστάτης 2-(μερκαπτοακετυλ)γλυκίνη (**SNO**) και οι άλλοι δυο διδοτικοί υποκαταστάτες 7-φθοροδιπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (**F-dppz**), η βενζο[i]διπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (**dppn**), η 4-(βενζο[d]θειαζολ-2-yl)-N-(πυριδιν-2-yl-μεθυλ)ανιλίνη (**NNbz**) και τα πρόδρομα σύμπλοκα  $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$  και  $\text{Re}(\text{CO})_5\text{Br}$  παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο και περιγράφονται σε επόμενο κεφάλαιο. Το πρόδρομο σύμπλοκο  $^{99m}\text{TcO}$ -γλυκοεπτονικού χρησιμοποιήθηκε από το kit

GlucoDemoscan που περιέχει λυοφιλοποιημένο μίγμα 200 mg γλυκοεπτονικού ασβεστίου και 0.2 mg SnCl<sub>2</sub>.

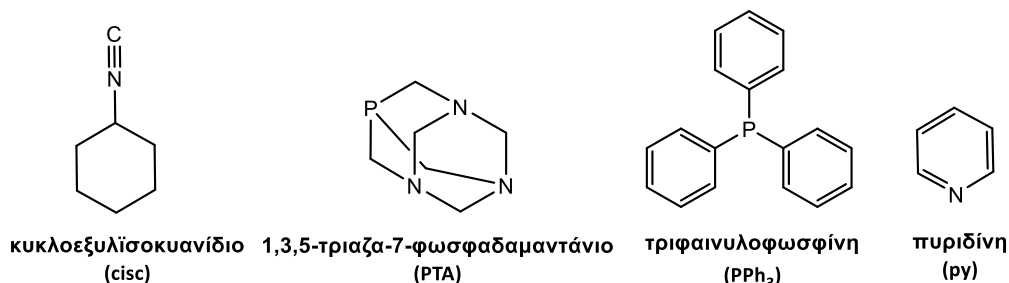
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ

#### 5.1 Σύνθεση υποκαταστατών

##### 5.1.1 Δομές μονοδοτικών υποκαταστατών

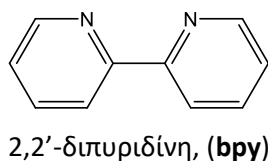
Στο **Σχήμα 5.1** παρουσιάζονται οι δομές των εμπορικά διαθέσιμων μονοδοτικών υποκαταστατών.



**Σχήμα 5.1.** Δομές εμπορικά διαθέσιμων μονοδοτικών υποκαταστατών

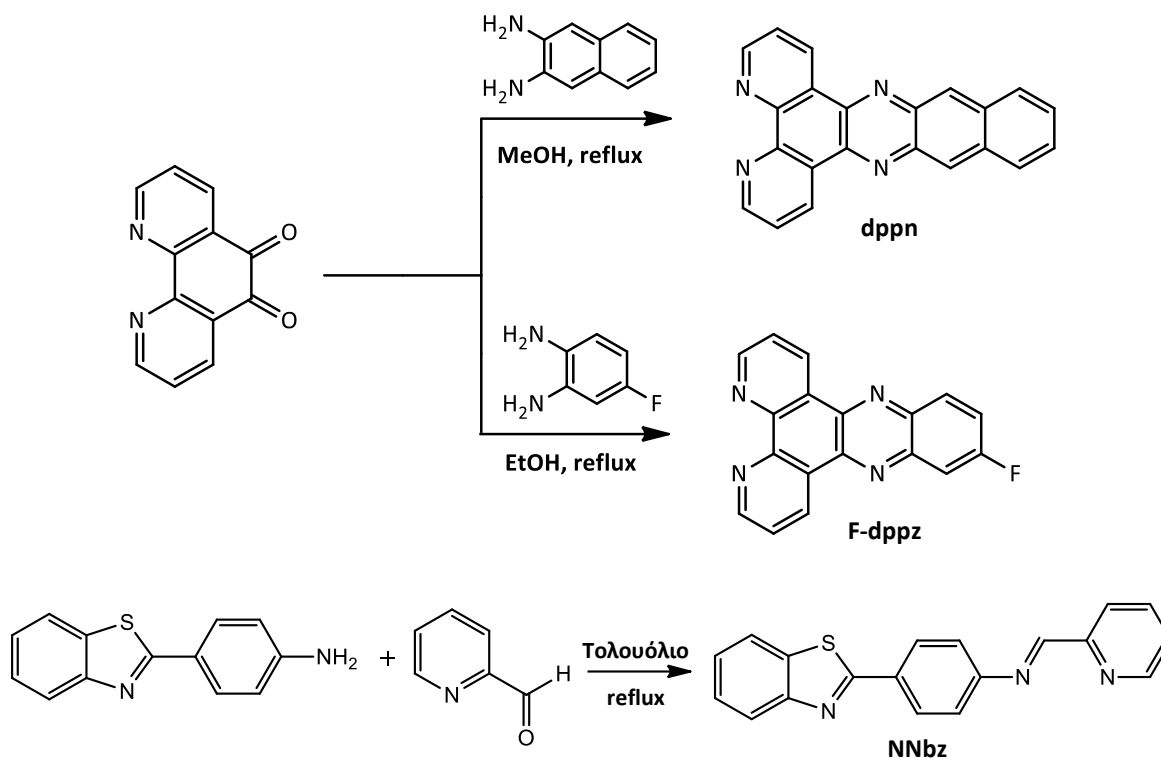
##### 5.1.2 Σύνθεση διδοτικών (NN) υποκαταστατών

Στην παρούσα εργασία ως διδοτικοί υποκαταστάτες χρησιμοποιήθηκαν η 2,2'-διπυριδίνη (**bpy**), η 7-φθοροδιπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (**F-dppz**), η βενζο[ι]διπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (**dppn**), και η 4-(βενζο[d]θειαζολ-2-yl)-N-(πυριδιν-2-yl-μεθυλ)ανιλίνη (**NNbz**). Από αυτούς τους υποκαταστάτες εμπορικά διαθέσιμη ήταν μόνο η **bpy** (**Σχήμα 5.2**) ενώ η συνθετική πορεία των υπολοίπων παρουσιάζεται στο **Σχήμα 5.3** και περιγράφεται πιο κάτω.



**Σχήμα 5.2.** Δομή εμπορικά διαθέσιμου διδοτικού υποκαταστάτη 2,2'-διπυριδίνη (bpy)





**Σχήμα 5.3.** Συνθετικό σχήμα για την παρασκευή των NN διδοτικών υποκαταστατών

Σύνθεση 7-φθόροδιπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (F-dppz): Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 500 mg 1,10-φαινανθροληνη-5,6-διόνης (2 mmol), 260 mg 4-φθορο-1,2-φαιθυλενοδιαμίνης (2 mmol) και 80 mL αιθανόλης. Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 4 h. Παρατηρείται καταβύθιση γκρι στερεού. Το στερεό διηθείται, εκπλένεται με κρύα αιθανόλη (25 mL) και διαιθυλαιθέρα (5x5 mL).<sup>101</sup> Απόδοση: 510 mg, 85%. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.60, 9.28, 8.36, 7.95, 7.80, 7.72.

Σύνθεση βενζο[ι]διπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (dppn): Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 500 mg 1,10-φαινανθροληνη-5,6-διόνης (2 mmol), 420 mg 2,3-διαμινοναφθαλενίου (2 mmol) και 80 mL μεθανόλης. Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 1 h. Παρατηρείται καταβύθιση πορτοκαλί στερεού. Το στερεό διηθείται, εκπλένεται με H<sub>2</sub>O (25 mL), μεθανόλη (25 mL) και διαιθυλαιθέρα (5x5 mL).<sup>102</sup> Απόδοση: 598 mg, 90%. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 9.55, 9.23, 8.56, 8.15, 7.75, 7.60.

Σύνθεση (4-(βενζο[d]θειαζολ-2-yl)-N-(πυριδιν-2-yl-μεθυλ)ανιλίνη) (NNbz): Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 453 mg 2-(4-αμινοφαιθυλ)βενζοθειαζολίου (2 mmol), 191 μL πυριδινοκαρβοξαλδεΐδης (2 mmol) και 10 mL τολουολίου. Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 8 h. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό, και το υπόλειμμα ανακρυσταλλώνεται από χλωροφόρμιο. Απόδοση: 592 mg, 94%. IR (cm<sup>-1</sup>): 1589 (-C=N-) και



Σύνθεση N-(2-μερκαπτοακετυλ)γλυκίνης (SNO): Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 10 g θειογλυκολικό οξύ (0.1 mol), 81 mL βενζολίου, 81 mL H<sub>2</sub>O και 8.0 g NaOH (0.2 mol). Ακολουθεί ανάδευση μέχρις ότου πλήρους διαλυτοποίησης των αντιδρώντων. Στη συνέχεια, η σφαιρική βυθίζεται σε παγόλουτρο στους 5 – 15°C και προστίθεται στάγδην 12,5 mL βενζοϋλοχλωριδίου. Η ανάδευση συνεχίζεται για ακόμη μισή ώρα σε αυτή την θερμοκρασία και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Η υδατική στιβάδα εκπλένεται 2 φορές με 100 mL βενζολίου. Το pH της υδατικής στιβάδας οξινίζεται με HCl 37%, και σχηματίζεται ένα άσπρο στερεό. Το προϊόν αυτό διηθείται, εκπλένεται με κρύο νερό και ξηραίνεται. Το προϊόν (**Π1**) ανακρυσταλλώνεται με οξικό αιθυλεστέρα.

Εν συνεχεία, σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 16 g (**Π1**), 5 mL THF και 8.9 g N-υδροξυσουκινιμίδιο. Το μίγμα της αντίδρασης ψύχεται στους -5 – 0°C και προστίθεται στάγδην διάλυμα 19.0 g δικυκλοεξυλκαρβοδιϊμίδιο (DCC) σε 10 mL THF. Η θερμοκρασία του μίγματος παραμένει στους -5 – 0°C για 2 h και έπειτα σε θερμοκρασία δωματίου για 18 h. Παρατηρείται καταβύθιση λευκού στερεού. Προστίθεται 450 mL οξικού οξέος και η ανάδευση συνεχίζεται για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης διηθείται και το στερεό εκπλένεται 2 φορές (x15 mL) με ζεστό THF. Τα διηθήματα συμπυκνώνονται μέχρι ξηρού και ακολουθεί ανακρυστάλλωση με οξικό αιθυλεστέρα όπου προκύπτει το προϊόν (**Π2**).

Εν συνεχεία, σε μια σφαιρική φιάλη προστίθενται 16.4 g του (**Π2**) διαλυμένα σε 80 mL αιθανόλης. Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται στους 50-55°C. Προστίθενται υδατικό διάλυμα γλυκίνης (3.5 g σε 10 mL H<sub>2</sub>O). Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 2.5 h και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 16 h. Ο διαλύτης απομακρύνεται και το υπόλειμμα ανακρυσταλλώνεται με ακετονιτρίλιο (**Π3**). <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm): 3.78-3.87 (4H), 7.56-8.52 (6H) και 12.85(1H). Ο τελικός υποκαταστάτης (SNO) παρασκευάζεται *in situ* όπως θα περιγραφεί κατωτέρω (βλ.5.3.1).<sup>103</sup>

## 5.2 Σύνθεση πρόδρομων συμπλόκων ρηνίου

### 5.2.1 Σύνθεση πρόδρομου συμπλόκου ρηνίου (V), ReOCl<sub>3</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 5.15 g τριφαινυλοφωσφίνης (PPh<sub>3</sub>, 19.60 mmol) διαλυμένα σε 29 mL μεθανόλης, 1 g υπερρηνικό κάλιο (KReO<sub>4</sub>, 3.46 mmol), 5.70 mL πυκνό υδροχλωρικό οξύ (HCl 37%) και 5.70 mL αιθανόλη (EtOH). Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για μισή ώρα. Καταβυθίζεται κίτρινο στερεό το οποίο διηθείται, εκπλένεται με

EtOH και ανακρυσταλλώνεται από βενζόλιο/πετρελαϊκό αιθέρα. Απόδοση: 2.31 g, 80%. IR( $\text{cm}^{-1}$ ): 965  $\text{cm}^{-1}$ , 690  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>104</sup>

### 5.2.2 Σύνθεση πρόδρομου συμπλόκου ρηνίου (I), $\text{ReCO}_5\text{Br}$

Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL φέρονται 60 mL εξανίου σε ατμόσφαιρα αζώτου, 1.78 g  $\text{Re}_2(\text{CO})_{10}$  και 0.48 g  $\text{Br}_2$ . Το διάλυμα αναδεύεται για 30 λεπτά μέχρι αποχρωματισμού. Το σχηματιζόμενο λευκό ίζημα διηθείται. Απόδοση: 2.08 g, 94%. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1960, 2026  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>105</sup>

### 5.3 Σύνθεση συμπλόκων ρηνίου

#### 5.3.1. Σύνθεση συμπλόκων ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (V)

Σύνθεση συμπλόκου  $\text{ReO}[\text{SCH}_2(\text{CH}_3)\text{CONCH}_2\text{COO}][\text{bpy}]$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$ . Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 166.6 mg  $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$  (0.2 mmol), 49.1 mg N-(2-μερκαπτοπροπιονουyl) γλυκίνη ( $\text{CH}_3\text{-SNO}$ ) (0.2 mmol), 2,2'-διπυριδίνη (bpy) (47 mg, 0.2 mmol) και  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (164 mg, 2 mmol) διαλυμένα σε 15 mL μεθανόλη. Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή μέχρι σχηματισμού καφέ διαλύματος. Μετά την προσθήκη 15 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  η οργανική φάση εκπλένεται με νερό (3 x 20mL), ξηραίνεται με  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  και συμπυκνώνεται. Απόδοση: 83 mg, 80%. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 954.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$  ppm), δύο διαστερεομερή παρόντα στο διάλυμα: 9.25, 8.95, 8.72, 8.42, 8.23, 8.20, 8.02, 7.92, 7.90, 7.83, 7.75, 7.52, 4.59, 4.57, 4.53, 4.43, 4.37, 1.49, 1.62. Στοιχειακή Ανάλυση (%) για το  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4\text{ReS}$ : C: 34.47; H: 3.47; N: 8.04; Βρέθηκε: C: 34.35, H: 3.55, N: 8.20. Κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ απομονώθηκαν με αργή εξάτμιση σε  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ .

$\text{ReO}[\text{SCH}_2(\text{CH}_3)\text{CONCH}_2\text{COO}][\text{F-dppz}]$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$ . Η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε είναι όμοια με αυτή που αναφέρθηκε παραπάνω για το  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$ . Απόδοση: 99 mg, 75%. RP-HPLC:  $t_R = 15.1$  min, FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 956.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$  ppm), 9.72, 9.64, 8.50, 8.46, 8.18, 8.16, 8.10, 8.08, 8.05, 7.88, 7.80, 4.86, 4.82, 4.75, 4.74, 4.69, 3.87, 1.85, 1.74. Στοιχειακή ανάλυση (%) για  $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{FN}_5\text{O}_4\text{ReS}$ : C: 41.69; H: 2.28; N: 10.57; Βρέθηκε: C: 41.57, H: 2.13, N: 10.69.

$\text{ReO}[\text{SCH}_2(\text{CH}_3)\text{CONCH}_2\text{COO}][\text{dppn}]$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppn})$ . Η σύνθεση που ακολουθήθηκε είναι όμοια με αυτήν που αναφέρθηκε στο  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$ . Απόδοση: 100 mg, 72%. FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 954 ( $\text{Re}=\text{O}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , ppm) δύο διαστερεομερή παρόντα

στο διάλυμα : 9.67, 9.66, 9.10, 9.05, 8.28, 8.15, 7.78, 7.73, 4.87, 4.83, 4.76, 4.75, 4.70, 3.88, 1.86, 1.75. Στοιχειακή ανάλυση (%) για το  $C_{27}H_{18}N_5O_4ReS$ : C: 46.68; H: 2.61; N: 10.08; Βρέθηκε: C: 46.80, H: 2.45, N: 10.17.

Σύνθεση του  $ReO[SCH_2CONCH_2COO][bipy]$ ,  $ReO(SNO)(bpy)$ . Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 51 mg **P3** (0.2 mmol) διαλυμένα σε 15 mL μεθανόλης και προστίθενται 1 mL διαλύματος NaOH (1 M). Το μίγμα αναδεύεται για 30 λεπτά υπό άζωτο. Το pH ρυθμίζεται στο 7 με προσθήκη HCl (0.5 M) και προστίθενται 164 mg  $CH_3COONa$  (2 mmol), 34 mg **bpy** (0.2 mmol) και 166.6 mg  $ReOCl_3(PPh_3)_2$  (0.2 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναροή μέχρι σχηματισμού καφέ διαλύματος. Προστίθενται 15 mL  $CH_2Cl_2$  και η οργανική φάση εκπλένεται με νερό (3 x 20mL), ξηραίνεται με  $Na_2SO_4$  και συμπυκνώνεται. Απόδοση: 78, 77%. FT-IR ( $cm^{-1}$ ): 955.  $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ , ppm): 9.24, 8.95, 8.73, 8.23, 8.21, 7.91, 7.84, 7.53, 4.60, 4.56, 4.41, 3.63. Στοιχειακή ανάλυση (%) για το  $C_{14}H_{16}N_3O_4ReS$ : C: 33.06; H: 3.17; N: 8.26; Βρέθηκε: C: 33.19, H: 3.25, N: 8.14. Με αργή εξάτμιση των διαλυτών ( $CH_2Cl_2/CH_3OH$ ) προέκυψαν κατάλληλοι κρύσταλλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.

$ReO[SCH_2CONCH_2COO][F-dppz]$ ,  $ReO(SNO)(F-dppz)$ . Η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε είναι ίδια με το  $ReO(SNO)(bpy)$ . Απόδοση: 92 mg, 72%. FT-IR ( $cm^{-1}$ ): 958.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm): 9.70, 9.65, 8.50, 8.46, 8.19, 8.17, 8.08, 8.04, 7.88, 7.82, 4.85, 4.79, 4.74, 3.84. Στοιχειακή ανάλυση (%) για το  $C_{22}H_{13}FN_5O_4ReS$ : C: 40.74; H: 2.02; N: 10.80; Βρέθηκε: C: 40.53, H: 1.94, N: 10.96. Κατάλληλος κρύσταλλος για X-Ray προέκυψε μέσω αέριας διάχυσης σε σύστημα διαλυτών διχλωρομεθανίου – αιθέρα.

$ReO[SCH_2CONCH_2COO][dppn]$ ,  $ReO(SNO)(dppn)$ . Η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε είναι όμοια με αυτή για το  $ReO(SNO)(bpy)$ . FT-IR ( $cm^{-1}$ ): 956. Στοιχειακή ανάλυση (%) για το  $C_{26}H_{16}N_5O_4ReS$ : C, 45.88; H, 2.37; N, 10.29; Βρέθηκε: C: 45.63, H: 2.25, N: 10.46.

### 5.3.2 Σύνθεση συμπλόκων ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) που φέρουν μόρια παρεμβολείς ως NN διδοτικό υποκαταστάτη

$fac-[Re(CO)_3(F-dppz)Br]$ ,  $Re(CO)_3(F-dppz)Br$ . Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 122 mg  $Re(CO)_5Br$  (0.3 mmol), 99.1 mg F-dppz (0.33 mmol) και 7 mL τολουολίου. Ακολουθεί βρασμός με επαναροή υπό ατμόσφαιρα αζώτου για 3 h. Το κίτρινο στερεό διηθείται και εκπλένεται με κρύο τολουόλιο (3x5mL) και με διαιθυλαιθέρα (3x5mL). Απόδοση: 156 mg 79%. IR ( $cm^{-1}$ ): 2026, 1931 και 1887  $cm^{-1}$ .  $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ , ppm): 9.80, 9.79, 9.56, 8.59,

8.29, 8.27, 8.26, 8.14. Στοιχειακή ανάλυση (%) για  $C_{21}H_{12}BrFN_4O_3Re$ : C, 38.60; H, 1.85; N, 8.57; Βρέθηκε: C: 38.49, H: 1.73, N: 8.83.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(MeCN)]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(MeCN)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 25 mL απαερωμένου ακετονιτριλίου (MeCN) και προστίθενται 55 mg AgPF<sub>6</sub> (0.22 mmol) και 117 mg Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)Br (0.18 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 15 h υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Η σφαιρική έχει καλυφθεί με αλουμινόχαρτο ώστε να αποφευχθεί οποιαδήποτε έκθεση στο φως. Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται για 1 h στους 0°C και το σχηματιζόμενο γκρι στερεό, AgBr, διηθείται με σελίτη. Το πορτοκαλί διήθημα εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό κενό και το υπόλειμμα ανακρυσταλλώνεται με CHCl<sub>3</sub>/εξάνιο. Απόδοση: 116 mg, 85%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2180, 2026, 1931, 1887. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 9.90, 9.88, 9.64, 8.63, 8.18, 2.07. Στοιχειακή ανάλυση (%)  $C_{23}H_{15}F_7N_5O_3PRe$ : C, 36.37; H, 1.99; N, 9.22. Βρέθηκε: C: 36.52, H: 2.03, N: 9.01. Πορτοκαλί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ προέκυψαν από υγρή διάχυση CH<sub>3</sub>CN/διαιθυλαιθέρα.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(cisc)]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(cisc)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρεται διάλυμα 121 mg Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)MeCN (0.16 mmol) σε 15 mL CHCl<sub>3</sub>, προστίθενται 175 mg του **cisc** (200 μL, 1.60 mmol) και ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 4 h. Ο διαλύτης απομακρύνεται μέχρι όγκου 3 mL και προστίθενται 30 mL διαιθυλαιθέρα προς καταβύθιση στερεού. Το στερεό διηθείται και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 101 mg, 83%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2199, 2034, 1922, 1917 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 9.89, 9.88, 9.62, 8.64, 8.35, 8.34, 8.33, 8.19, 3.95, 1.45, 1.36, 1.11, 0.92. Στοιχειακή ανάλυση (%) για  $C_{28}H_{23}F_7N_5O_3PRe$ : C, 40.63; H, 2.80; N, 8.46. Βρέθηκε: C: 40.33, H: 2.92, N: 8.06.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)PTA]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(PTA)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρεται διάλυμα 98 mg Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(MeCN) (0.13 mmol) σε 15 mL μεθανόλης, προστίθενται 102 mg του PTA (0.65 mmol) και ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 8 h. Το σχηματιζόμενο πορτοκαλί στερεό διηθείται και το στερεό εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 97 mg, 85%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2032, 1913, 832 και 556. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub> ppm): 9.89, 9.87, 9.54, 8.65, 8.35, 8.33, 8.31, 8.19, 4.21, 3.68. Στοιχειακή ανάλυση (%) για  $C_{27}H_{24}F_7N_7O_3P_2Re$ : C, 37.45; H, 2.76; N, 11.15. Βρέθηκε: C: 37.63, H: 2.58, N: 10.88. Κόκκινοι-πορτοκαλί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ προέκυψαν από υγρή διάχυση εξανίου σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)Br], **Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)Br**. Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 122 mg Re(CO)<sub>5</sub>Br (0.3 mmol), 109.7 mg του dppn (0.33 mmol) και 7 mL τολουολίου. Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή υπό ατμόσφαιρα αζώτου για 3 h. Το πορτοκαλί στερεό διηθείται και εκπλένεται με κρύο τολουόλιο (3x10 mL) και διαιθυλαιθέρα (3x10 mL). Απόδοση: 158 mg 77%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2023, 1918, 1890. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 9.81, 9.52, 9.23, 8.44, 8.26, 7.78. Στοιχειακή ανάλυση (%) για C<sub>25</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>Re: C, 43.80; H, 2.21; N, 8.17. Βρέθηκε: C: 44.15, H: 2.11, N: 8.11.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(MeCN)]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(MeCN)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 25 mL απαερωμένου ακετονιτριλίου (MeCN), 123 mg Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)Br (0.18 mmol) και προστίθενται 55 mg AgPF<sub>6</sub> (0.22 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 15 h υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Η σφαιρική έχει καλυφθεί με αλουμινόχαρτο ώστε να αποφευχθεί οποιαδήποτε έκθεση στο φως. Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται για 1 h στους 0°C και το σχηματιζόμενο γκρι στερεό, AgBr, διηθείται με σελίτη. Το πορτοκαλί διήθημα εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό κενό και το υπόλειμμα ανακρυσταλλώνεται με CHCl<sub>3</sub>/εξάνιο. Απόδοση: 128 mg, 90%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2199, 2034, 1903, 832 και 557 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub> ppm): 9.90, 9.58, 9.18, 8.40, 8.33, 7.75, 2.13. Στοιχειακή ανάλυση (%) για C<sub>27</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>Pre:C, 40.96; H, 2.29; N, 8.85. Βρέθηκε: C: 40.79, H: 2.41, N: 8.99.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(cisc)]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(cisc)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρεται διάλυμα 126 mg Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(MeCN) (0.16 mmol) σε 25 mL CHCl<sub>3</sub> και προστίθενται 175 mg cisc (200 μL, 1.60 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 4 h. Ο όγκος του διαλύματος συμπυκνώνεται υπό κενό στα ~3 mL, προστίθεται 30 mL διαιθυλαιθέρα και καταβυθίζεται πορτοκαλί στερεό το οποίο διηθείται και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 111 mg, 81%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2202, 2035, 1920, 833 και 555 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub> ppm): 9.88, 9.57, 9.28, 8.47, 8.33, 7.81, 3.96, 1.48, 1.40, 1.14, 0.99. Στοιχειακή ανάλυση (%) για C<sub>32</sub>H<sub>26</sub>F<sub>6</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>PRe: C, 44.70; H, 3.05; N, 8.15. Βρέθηκε: C: 44.85, H: 2.95, N: 8.23.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)PTA]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(PTA)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρεται διάλυμα 102 mg Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(MeCN) (0.13 mmol) σε 15 mL MeOH και προστίθενται 102 mg του PTA (0.65 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 6 h. Το σχηματιζόμενο πορτοκαλί στερεό διηθείται και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 99 mg, 84%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2032, 1913, 832 και 556. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub> ppm): 9.89, 9.50, 9.28, 8.48, 8.31, 7.81, 4.29, 3.76. Στοιχειακή ανάλυση (%) για C<sub>31</sub>H<sub>27</sub>F<sub>6</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>P<sub>2</sub>Re: C, 41.02; H, 3.00; N, 10.80. Βρέθηκε: C: 41.18, H: 2.82, N: 10.77.

### 5.3.3 Σύνθεση συμπλόκων ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) που φέρουν παράγωγο βενζοθειαζολίου ως NN διδοτικό υποκαταστάτη

Σύνθεση του  $fac-[Re(CO)_3(NNbz)Br]$ ,  $Re(CO)_3(NNbz)Br$ . Σε σφαιρική φιάλη προστίθενται 122 mg  $Re(CO)_5Br$  (0.3 mmol), 102 mg **NNbz** (0.33 mmol) και 7 mL τολουολίου. Ακολουθεί βρασμός με επαναροή υπό ατμόσφαιρα αζώτου για 4 h. Το κόκκινο στερεό διηθείται και εκπλένεται με κρύο τολουόλιο (3x10mL) και με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 152 mg, 76%. IR ( $cm^{-1}$ ): 2018, 1912, 1875.  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$  ppm): 9.43, 9.13, 8.42, 8.39, 8.34, 8.21, 8.17, 7.87, 7.78, 7.59, 7.51. Στοιχειακή ανάλυση (%) για  $C_{22}H_{13}N_3O_3BrSRe$ : C: 39.70; H: 1.97; N: 6.31; Βρέθηκε: C: 39.49, H: 2.11, N: 6.20. Κόκκινοι κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ προέκυψαν από υγρή διάχυση εξανίου σε  $CH_2Cl_2$ .

$fac-[Re(CO)_3(NNbz)(MeCN)]PF_6$ ,  $Re(CO)_3(NNbz)(MeCN)$ . Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 25 mL απαερωμένου ακετονιτριλίου (MeCN), 55 mg  $AgPF_6$  (0.22 mmol) και 120 mg  $Re(CO)_3(NNbz)Br$  (0.18 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναροή για 18 ώρες. Η σφαιρική έχει καλυφθεί με αλουμινόχαρτο ώστε να αποφευχθεί οποιαδήποτε έκθεση στο φως. Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται για 1 h στους  $0^\circ C$  και ο σχηματιζόμενος  $AgBr$  διηθείται με σελίτη. Το κίτρινο-πορτοκαλί διήθημα εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό κενό και το υπόλειμμα ανακρυσταλλώνεται με  $CHCl_3$ /εξάνιο. Απόδοση: 121 mg, 87%. IR ( $cm^{-1}$ ): 2205, 2034, 1941, 1914, 832 και  $556\text{ cm}^{-1}$ .  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$  ppm): 9.44, 9.13, 8.42, 8.38, 8.34, 8.21, 8.12, 7.88, 7.78, 7.59, 7.51, 2.07. Στοιχειακή ανάλυση (%) για  $C_{24}H_{16}N_4O_3SPF_6Re$ : C: 37.36; H: 2.09; N: 7.26; Βρέθηκε: C: 37.49, H: 2.01, N: 7.12. Κίτρινοι-πορτοκαλί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ προέκυψαν από αργή εξάτμιση σε  $CHCl_3/CH_3OH$ /εξάνιο.

$fac-[Re(CO)_3(NNbz)(cisc)]PF_6$ ,  $Re(CO)_3(NNbz)(cisc)$ . Σε σφαιρική φιάλη φέρεται διάλυμα 120 mg  $Re(CO)_3(NNbz)(MeCN)$  (0.16 mmol) σε 40 mL  $CHCl_3$  και προστίθενται 175 mg του *cisc* (200  $\mu L$ , 1.60 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναροή για 6 h. Ο όγκος του διαλύματος συμπυκνώνεται στα ~5 mL και προστίθεται 30 mL διαιθυλαιθέρα. Σχηματίζεται σκούρο πορτοκαλί στερεό το οποίο διηθείται και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 109 mg, 81%. RP-HPLC:  $t_R = 14.5$  min, IR ( $cm^{-1}$ ): 2211, 2035, 1961, 1925, 831 και  $555\text{ cm}^{-1}$ .  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$  ppm): 9.50, 9.20, 8.49, 8.38, 8.22, 8.12, 7.97, 7.79, 7.60, 7.53, 3.96, 1.85, 1.61, 1.36. Στοιχειακή ανάλυση (%) για  $C_{29}H_{24}N_4O_3SPF_6Re$ : C: 41.48; H: 2.88; N: 6.67; Βρέθηκε: C: 41.30, H: 2.62, N: 6.76.



*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(PPh<sub>3</sub>)]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(PPh<sub>3</sub>)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρεται διάλυμα 100 mg του Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(MeCN) (0.13 mmol) σε 12 mL MeOH προστίθενται 170 mg της τριφαινυλοφωσφίνης (PPh<sub>3</sub>) (0.65 mmol) και ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 8 h. Το σχηματιζόμενο πορτοκαλί στερεό διηθείται και το εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα. Απόδοση: 117 mg, 91%. Στοιχειακή ανάλυση (%) για C<sub>40</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>SP<sub>2</sub>F<sub>6</sub>Re: C: 48.39; H: 2.84; N: 4.23; Βρέθηκε: C: 48.18, H: 2.97, N: 4.02. IR (cm<sup>-1</sup>): 2035, 1920 cm<sup>-1</sup> (δονήσεις τάσεις του τριπλού δεσμού C≡O), 832 και 556 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub> ppm): 9.24, 8.73, 8.27, 8.23, 8.15, 8.04, 7.62, 7.56, 7.53, 7.44, 7.29, 7.14. Πορτοκαλί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων X προέκυψαν με αργή εξάτμιση του διαιθυλαιθέρα σε διάλυμα CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(PTA)]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(PTA)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρεται διάλυμα 100 mg του Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(MeCN) (0.13 mmol) σε 15 mL MeOH και προστίθενται 102 mg του PTA (0.65 mmol). Ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 8 h. Το σχηματιζόμενο πορτοκαλί στερεό διηθείται και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 97 mg, 84%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2031, 1934, 832 και 555 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub> ppm): 9.44, 9.16, 8.50, 8.47, 8.40, 8.23, 8.13, 7.94, 7.90, 7.61, 7.53, 4.40, 4.33, 3.90, 3.84. Στοιχειακή ανάλυση (%) για C<sub>28</sub>H<sub>25</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>SP<sub>2</sub>F<sub>6</sub>Re: C: 37.88; H: 2.84; N: 9.47; Βρέθηκε: C: 37.60, H: 2.71, N: 9.28. Κόκκινοι-πορτοκαλί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-X προέκυψαν από υγρή διάχυση εξανίου σε CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(py)]PF<sub>6</sub>, **Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(py)**. Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 120 mg Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(MeCN) (0.16 mmol) σε 25 mL MeOH, προστίθενται 123 mg άνυδρης py (125 μL, 1,60 mmol) και ακολουθεί βρασμός με επαναρροή για 4 h. Ο όγκος του διαλύματος συμπυκνώνεται στα ~5 mL και προστίθενται 30 mL διαιθυλαιθέρα. Σχηματίζεται πορτοκαλί στερεό το οποίο διηθείται και εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα (3x10mL). Απόδοση: 84 mg, 65%. IR (cm<sup>-1</sup>): 2036, 1965, 1901, 826 και 556 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub> ppm): 9.49, 9.37, 8.48, 8.41, 8.29, 8.22, 8.13, 8.07, 8.03, 7.80, 7.61, 7.54. Στοιχειακή ανάλυση (%) για C<sub>27</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>SPF<sub>6</sub>Re: C: 40.05; H: 2.24; N: 6.92; Βρέθηκε: C: 39.87, H: 2.16, N: 6.72.

---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### IN VITRO ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

---

#### 6.1 Μελέτες αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA

##### 6.1.1 Κυκλικός Διχρωϊσμός (Circular Dichroism, CD)

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών διατηρώντας σταθερή τη συγκέντρωση του DNA 50  $\mu\text{M}$ , ενώ μεταβάλλονται οι συγκεντρώσεις των ενώσεων (0 – 50  $\mu\text{M}$ ) έτσι ώστε οι λόγοι  $R = [\text{ένωσης}]/[\text{DNA}]$  να είναι 0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30, 0.50, 0.75, 1.00. Όλες οι ενώσεις διαλύονται αρχικά σε DMSO και ακολούθως παρασκευάζονται διαδοχικές αραιώσεις σε DMSO και PBS (DMSO < 2%) για να ληφθούν οι επιθυμητοί κάθε φορά λόγοι.

##### 6.1.2 Ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού μέσω του κλασικού παρεμβολέα βρωμιούχου αιθιδίου (Ethidium Bromide, EtBr)

Τα πειράματα έγιναν σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. (pH = 7.4). Όλες οι ενώσεις διαλύονται αρχικά σε DMSO και ακολούθως παρασκευάζονται διαδοχικές αραιώσεις σε DMSO και PBS (DMSO < 2%) για να ληφθούν οι λόγοι  $R = [\text{ένωσης}]/[\text{DNA}] = 0.0, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 3.5$ . Η αναλογία  $[\text{DNA}]/[\text{EtBr}]$  παρέμεινε σταθερή και ίση με 1.3/1. Το μήκος κύματος διέγερσης ήταν 526 nm, και το μήκος κύματος εκπομπής 601 nm. Σημειώνεται ότι το βρωμιούχο αιθίδιο δεν φθορίζει σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH = 7.4) λόγω της απόσβεσης του φθορισμού του ελεύθερου EtBr από τα μόρια του διαλύτη.

##### 6.1.3 Μελέτες ιξωδομετρίας

Τα πειράματα έγιναν σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. (pH = 7.4). Όλες οι ενώσεις διαλύονται αρχικά σε DMSO και ακολούθως παρασκευάζονται διαδοχικές αραιώσεις σε DMSO και PBS (DMSO < 2%) για να ληφθούν οι λόγοι  $R = [\text{ένωσης}]/[\text{DNA}] = 0.00, 0.02, 0.03, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50$ . Η συγκέντρωση του DNA παραμένει σταθερή (50  $\mu\text{M}$ ). Το ιξώδες  $[\eta]$

υπολογίστηκε σύμφωνα με τη σχέση  $[\eta] = (t - t_0)/t_0$ , όπου  $t_0$  είναι ο χρόνος ροής για το ρυθμιστικό διάλυμα και  $t$  είναι ο χρόνος ροής που μετρήθηκε απουσία και παρουσία των ενώσεων. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  σε συνάρτηση του λόγου  $R$ , όπου  $\eta$  και  $\eta_0$  είναι τα ιξώδη παρουσία και απουσία των ενώσεων αντίστοιχα. Για τη χαμηλή συγκέντρωση του DNA που χρησιμοποιείται σε αυτά τα πειράματα, το ιξώδες  $[\eta]$  είναι ανάλογο του χρόνου ροής του ρυθμιστικού διαλύματος με και χωρίς το DNA, όπως γίνεται φανερό με την ακόλουθη εξίσωση:<sup>106</sup>

$$\left(\frac{L}{L_0}\right) = \left(\frac{\eta}{\eta_0}\right)^{1/3} = \frac{(t - t_0)^{1/3}}{(t_{DNA} - t_0)^{1/3}}$$

Όπου  $L$  και  $L_0$  είναι τα μήκη του DNA και  $[\eta]$  και  $[\eta_0]$  είναι τα ιξώδη με ή χωρίς την ένωση αντίστοιχα. Το  $t_0$  είναι ο χρόνος ροής του ρυθμιστικού,  $t_{DNA}$  ο χρόνος ροής του DNA και  $t$  ο χρόνος ροής των διαλυμάτων DNA/ένωσης.

## 6.2 Μελέτες κυτταρικής πρόσληψης

Πληθυσμός κυττάρων MCF-7 ( $10^6$ ) τοποθετούνται σε πλακίδια βάσης Nunc™ (ThermoFisher Scientific, Rochester, NY, USA) και αφήνονται να αναπτυχθούν για μια νύχτα σε 2 mL πλήρους θρεπτικού υλικού D-MEM. Τα κύτταρα στη συνέχεια επωάζονται με τα σύμπλοκα (10  $\mu$ M) για 24 ώρες σε D-MEM στους 37°C σε επωαστικό κλίβανο (5% CO<sub>2</sub>). Ακολουθεί έκπλυση δύο φορές με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS).<sup>98</sup> Τα δείγματα εξετάζονται σε μικροσκόπιο Leica. Οι εικόνες αποκτήθηκαν με το λογισμικό LASX (Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar, Γερμανία) και παρουσιάζονται χωρίς μεταγενέστερη επεξεργασία.

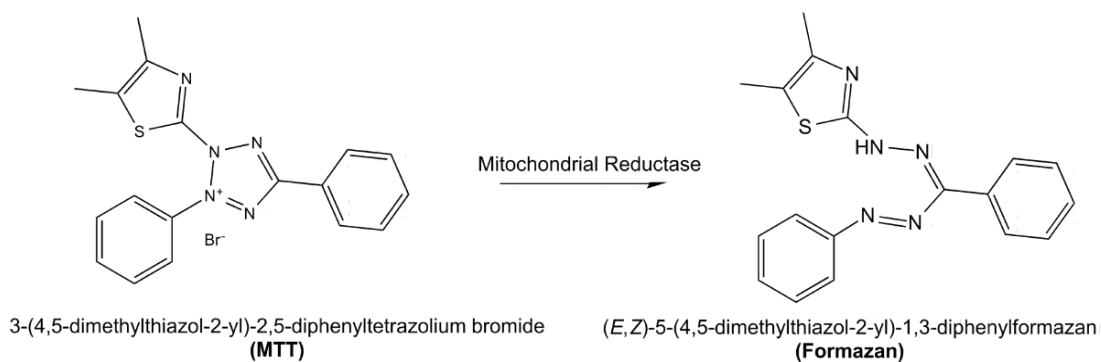
## 6.3 Μελέτη προσδιορισμού κυτταροτοξικότητας μέσω του 3-(4,5-διμεθυλθειαζολ-2-yl)-2,5-διφαινυλοτετραζολίου, MTT (μέθοδος MTT)

Για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικότητας των οξορρηνικών συμπλόκων χρησιμοποιήθηκε η καρκινική κυτταρική σειρά τραχήλου της μήτρας (HeLa). Η επιλογή αυτής της κυτταρικής σειράς έγινε για να είναι δυνατή η σύγκριση των αποτελεσμάτων με την βιβλιογραφία. Για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικότητας των συμπλόκων στην οξειδωτική βαθμίδα (I) χρησιμοποιήθηκαν οι καρκινικές κυτταρικές σειρές τραχήλου της μήτρας (HeLa), μαστού (MCF-7) και επιδερμοειδούς (A431). Στην κατηγορία των ενώσεων

αυτών χρησιμοποιήθηκαν εκτός από τη σειρά HeLa, η MCF-7 και η A431 γιατί περιλαμβάνει και σύμπλοκα με υποκαταστάτη παράγωγο του βενζοθειαζολίου το οποίο, σύμφωνα με την βιβλιογραφία, προσδένεται στον υποδοχέα EGFR.<sup>92,93</sup> Η *in vitro* κυτταροτοξικότητα των ενώσεων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο MTT ακολουθώντας δημοσιευμένο πρωτόκολλο.<sup>107</sup>

Το MTT είναι ένα κίτρινο υδατοδιαλυτό άλας του τετραζολίου (βλ. Σχήμα 6.1). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο ότι τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας των ζωντανών κυττάρων (NADH, FADH<sub>2</sub>) ανάγουν τον δακτύλιο του τετραζολίου, μετατρέποντας το MTT σε μωβ αδιάλυτους κρυστάλλους φορμαζάνης. Επομένως, η ποσότητα της φορμαζάνης σχετίζεται με τον αριθμό των ζωντανών κυττάρων.

Τα κύτταρα διασπείρονται σε πλάκες 96 φρεατίων (4000 κύτταρα/φρεάτιο σε 100 μL θρεπτικό υλικό ανάπτυξης) και επωάζονται σε επωαστικό κλίβανο για 24 h στους 37 °C με παροχή 5% CO<sub>2</sub>. Μετά τις 24 h προστίθενται σε τουλάχιστον έξι συγκεντρώσεις οι υπό μελέτη ενώσεις. Η επώαση των κυττάρων παρουσία των ενώσεων διαρκεί 72 h. Οι ενώσεις αρχικά διαλύονται στο DMSO και η τελική συγκέντρωση του DMSO στο τελικό διάλυμα στο θρεπτικό υλικό δεν υπερβαίνει το 0.2%. Κάθε αραιώση των συμπλόκων τίθεται στο πείραμα εις τετραπλούν. Μετά τις 72 h το θρεπτικό υλικό αφαιρείται και προστίθενται 100 μL διαλύματος MTT/φρεάτιο (1 mg MTT/mL θρεπτικού υλικού). Μετά από 4 ώρες επώαση, το διάλυμα αναρροφάται και οι σχηματιζόμενοι κρύσταλλοι φορμαζάνης διαλυτοποιούνται σε 100 μL 2-προπανόλης. Σε κάθε φρεάτιο μετράται η απορρόφηση στα 540 nm στον ELISA reader. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως %κυτταρική βιωσιμότητα = (μέση τιμή οπτικής πυκνότητας (optical density, OD) των κυττάρων που έχουν επωαστεί με την ένωση/μέση τιμή OD του μάρτυρα (των κυττάρων χωρίς την προσθήκη ένωσης))x100.<sup>108</sup> Τα δεδομένα απεικονίζονται σε γραφική παράσταση έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της ένωσης μέσω μιας ημι-λογαριθμικής καμπύλης. Υπολογίστηκαν οι τιμές IC<sub>50</sub> (η συγκέντρωση της υπό μελέτη ένωσης που απαιτείται για τη μείωση κατά 50% της OD) από τις καμπύλες δόσης-απόκρισης χρησιμοποιώντας Λογισμικό GraphPad Prism 5.0. Το πείραμα κυτταροτοξικότητας γίνεται εις τριπλούν.



**Σχήμα 6.1.** Μετατροπή του MTT σε φορμαζάνη μέσω των ενζύμων αναπνοής των κυττάρων

#### 6.4 Μελέτες κυτταρικού κύκλου

Κύτταρα αναπτύσσονται σε πυκνότητα  $10^4$  κύτταρα ανά φρεάτιο σε πλακίδια 6 φρεατίων. Ακολουθως, επάζονται με τις υπό μελέτη ενώσεις για 72 h σε συγκεντρώσεις  $IC_{50}$  ίσες με την τιμή  $IC_{50}$  που προσδιορίζονται με την τη μέθοδο MTT). Μετά τη μονιμοποίηση της δομής των κυττάρων με παγωμένη αιθανόλη, τα κύτταρα εκπλένονται δυο φορές με ρυθμιστικό διάλυμα PBS. Ακολουθεί η αποκόλληση του κυτταρικού ταπητίου με την βοήθεια διαλύματος τρυψίνης. Τα προκύπτοντα κυτταρικά εναιωρήματα φυγοκεντρώνται για 5 λεπτά στις 1000 στροφές/λεπτό και απομακρύνεται το καλλιεργητικό υλικό. Τα κύτταρα επαναιωρούνται σε PBS, χρωματίζονται με ιωδιούχο προπίδιο (propidium iodide, PI) (50  $\mu$ l, 10 mg/ml) για 1 h στους 37 °C και ακολουθεί κατεργασία με RNase A (10 mg/ml). Η RNase A χρησιμοποιείται για να περιορίσει την ικανότητα του PI να συνδεθεί με τα μόρια του RNA. Οι πυρήνες των κυττάρων προσλαμβάνουν το PI και φθορίζουν. Η ανάλυση ως προς την περιεκτικότητά τους σε DNA (n ή 2n) προσδιορίζεται μέσω κυτταρομέτρου ροής.<sup>109</sup>

---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΗΤΙΟ-99m (<sup>99m</sup>Tc)

---

#### 7.1 Παρασκευή του συμπλόκου του τεχνητίου-99m

##### 7.1.1 Σύνθεση συμπλόκων τεχνητίου στην οξειδωτική βαθμίδα (V)

Σύνθεση προδρόμου συμπλόκου τεχνητίου-99m, <sup>99m</sup>TcO-γλυκοεπτονικό. Η σύνθεση του <sup>99m</sup>TcO-γλυκοεπτονικό αναφέρεται στη βιβλιογραφία.<sup>99,110-114</sup> Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκε το kit GlucoDemoscan (200mg γλυκοεπτονικό, 0.2 mg SnCl<sub>2</sub>) και προστέθηκαν 4 mL <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (100 mCi).

Σύνθεση συμπλόκου τεχνητίου-99m, <sup>99m</sup>TcO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz). Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται διάλυμα του διδοτικού υποκαταστάτη F-dppz σε DMSO (10<sup>-2</sup> M, 500 μL), προστίθεται το πρόδρομο σύμπλοκο <sup>99m</sup>TcO-γλυκοεπτονικό (≈5 mCi, 200 μL) και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά. Προστίθεται διάλυμα του τριδοτικού υποκαταστάτη (CH<sub>3</sub>-SNO) (3·10<sup>-2</sup> M, 100 μL) και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h. Η ανάλυση της RP-HPLC στο μίγμα της αντίδρασης έδειξε το σχηματισμό του συμπλόκου <sup>99m</sup>TcO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz), με χρόνο έκλουσης t<sub>R</sub> = 15.6 min (Απόδοση: 25 %). (Υπενθύμιση: ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz): t<sub>R</sub> = 15.1 min). Η απόδοση της αντίδρασης είναι πολύ χαμηλή και δεν θα χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω μελέτες.

##### 7.1.2 Σύνθεση συμπλόκων τεχνητίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I)

Σύνθεση προδρόμου συμπλόκου τεχνητίου-99m, fac-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>. Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρονται 4 mg ανθρακικού νατρίου, 20 mg τρυγικό κάλιο-νάτριο και 5.5 mg NaBH<sub>4</sub>. Το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται με κυάθιο αλουμινίου και στη συνέχεια διαβιβάζεται ρεύμα μονοξειδίου του άνθρακα για 20 λεπτά. Ακολουθεί η προσθήκη 1 mL διαλύματος Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub> (30-40 mCi). Το φιαλίδιο θερμαίνεται στη συνέχεια για 30 λεπτά στους 85°C. Επαναφορά του φιαλιδίου σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ρύθμιση του pH στο 7 με την προσθήκη διαλύματος 1M HCl. Η ανάλυση με RP-HPLC του μίγματος της επισήμανσης δείχνει μια κορυφή στα 8 min με απόδοση >95%. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της RP-HPLC είναι 95%.<sup>115</sup>

Σύνθεση συμπλόκου τεχνητίου-99m,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ . Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται διάλυμα του NNbz σε MeOH (6 mM, 500  $\mu\text{L}$ ) και προστίθεται το πρόδρομο σύμπλοκο *fac*- $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$  (~10 mCi, 300  $\mu\text{L}$ ). Το φιαλίδιο σφραγίζεται με κυάθιο και θερμαίνεται στους 70°C για 30 min. Προστίθεται περίσσεια του cisc (5  $\mu\text{L}$ ) και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Η ανάλυση της RP-HPLC στο μίγμα της αντίδρασης έδειξε το σχηματισμό του συμπλόκου  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ , με χρόνο έκλουσης  $t_R = 14.9$  min (Απόδοση: 95%). (Υπενθύμιση:  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ :  $t_R = 14.5$  min). Για τις περαιτέρω μελέτες το μίγμα της αντίδρασης ενίεται στην HPLC και απομονώνεται από την περίσσεια οργανικών υποκαταστατών και μικρές ραδιοχημικές προσμίξεις.

## 7.2 Μελέτες σταθερότητας χρησιμοποιώντας ως ανταγωνιστές την κυστεΐνη και την ιστιδίνη

Παρασκευάζονται διαλύματα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS: Phosphate Buffer Solution), pH = 7.4) ιστιδίνης  $10^{-3}$  M και κυστεΐνης  $10^{-3}$  M. Σε 900  $\mu\text{L}$ , από το διάλυμα των ανταγωνιστών γίνεται προσθήκη του απομονωμένου συμπλόκου (100  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{Ci}$ ) και τα διαλύματα επάζονται στους 37°C έως 6 ώρες. Η τελική συγκέντρωση του ανταγωνιστή (ιστιδίνης ή κυστεΐνης) παραμένει  $10^{-3}$  M. Σε χρονικά διαστήματα 1, 3 και 6 ώρες λαμβάνονται δείγματα, τα οποία αναλύονται με RP-HPLC.<sup>116</sup>

## 7.3 Μελέτες λιποφιλικότητας

Σε σωλήνα φυγοκέντρου φέρονται 1.5 mL κανονικής οκτανόλης και 1.5 mL διαλύματος φωσφορικών αλάτων (PBS: Phosphate Buffer Solution, pH = 7.4). Σε αυτά προστίθενται 40  $\mu\text{L}$  του απομονωμένου με HPLC συμπλόκου  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ . Ο σωλήνας της φυγοκέντρου τοποθετείται στο vortex και ακολουθεί φυγοκέντρωση. Μετά τη φυγοκέντρωση, από το σχηματισθέν διφασικό σύστημα n-οκτανόλης/PBS, λαμβάνονται από 100  $\mu\text{L}$  n-οκτανόλης σε 3 δοκιμαστικούς σωλήνες και 100  $\mu\text{L}$  PBS σε 3 διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες, οι οποίοι μετρούνται στο μετρητή γ-ακτινοβολίας. Το πείραμα επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Η λιποφιλικότητα παρουσιάζεται εκφρασμένη ως logP, όπου το P υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$P = \frac{\text{Κρούσεις ανά mL n - οκτανόλης}}{\text{Κρούσεις ανά mL υδατικού διαλύματος PBS}}$$



---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

### IN VIVO ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

---

#### 8.1 Μελέτες βιοκατανομής σε υγιή Swiss Albino ποντίκια

Οι μελέτες βιοκατανομής πραγματοποιήθηκαν σε χρόνους σε 5, 60 και 240 λεπτά μετά από ενέσιμη χορήγηση (p.i.) του  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ . Για κάθε χρόνο χρησιμοποιούνται 3 πειραματόζωα. Η χορήγηση του διαλύματος του συμπλόκου  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  γίνεται με ένεση στη φλέβα της ουράς κάθε πειραματόζωου (100  $\mu\text{L}$ , 2  $\mu\text{Ci}$ ). Ταυτόχρονα, σημειώνεται ο χρόνος της ένεσης. Κατόπιν, το πειραματόζωο τοποθετείται σε ειδικό θάλαμο συλλογής των απεκκρινόμενων ούρων. Πριν την πάροδο του καθορισμένου χρονικού διαστήματος για κάθε ζώο, το πειραματόζωο αναισθητοποιείται σε θάλαμο κορεσμένο με ατμούς αιθέρα και με τη συμπλήρωση του καθορισμένου χρόνου, θυσιάζεται με καρδιεκτομή.

Λαμβάνονται δείγματα αίματος, τα οποία τοποθετούνται σε προζυγισμένους σωλήνες, ζυγίζεται και καταγράφεται το βάρος του ζώου. Στη συνέχεια, συγκεντρώνονται τα προς μελέτη όργανα και δείγματα ιστών, τα οποία είναι: ο εγκέφαλος, το ήπαρ, η καρδιά, το στομάχι, οι νεφροί, ο σπλήνας, οι πνεύμονες, τα έντερα καθώς και δείγματα από μυς. Τα δείγματα τοποθετούνται σε προζυγισμένα χαρτιά ζυγίσεως, ζυγίζονται και καταγράφονται. Τέλος, τοποθετούνται σε αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες. Τα μεγαλύτερα όργανα (ήπαρ, έντερα) μοιράζονται σε περισσότερους σωλήνες, ώστε να αποφευχθούν σφάλματα μετρήσεων οφειλόμενα στη γεωμετρία των δειγμάτων. Τα απεκκρινόμενα ούρα του ζώου, που έχουν συλλεχθεί, καθώς και η ουρά του τοποθετούνται σε αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες χωρίς ζύγιση. Στη συνέχεια, τα δείγματα ανά ζώο μαζί με δοκιμαστικούς σωλήνες από το διάλυμα αναφοράς (10% της ενιόμενης δόσης) τοποθετούνται σε μετρητή ακτινοβολίας  $\gamma$  πολλαπλών δειγμάτων, όπου μετράται και καταγράφεται ο αριθμός των κρούσεων του κάθε δείγματος.<sup>117</sup> Ο υπολογισμός για το αίμα και το μυ βασίστηκε στη μετρούμενη ραδιενέργεια, το βάρος του δείγματος λαμβάνοντας υπόψη ότι το αίμα περιλαμβάνει 7% και μυς 43% του σωματικού βάρους. Όλα τα πειράματα στα πειραματόζωα πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τους σχετικούς εθνικούς νόμους σχετικά με τη διεξαγωγή πειραμάτων σε ζώα.

### Υπολογισμοί

Από τις κρούσεις του διαλύματος αναφοράς ανά πειραματόζωο (10% της χορηγούμενης δόσης ακτινοβολίας) αφαιρούνται οι κρούσεις της ουράς και υπολογίζεται η συγκέντρωση της ραδιενέργειας ανά όργανο και ανά γραμμάριο βάρους για κάθε πειραματόζωο.<sup>118</sup>

$$\% \frac{\text{ID}}{\text{όργανο}} = \frac{\text{cpm δείγματος οργάνου}}{\text{cpm διαλύματος αναφοράς} \times 10 - \text{cpm ουράς}} \times 100$$

$$\% \frac{\text{ID}}{\text{g}} = \frac{\text{cpm δείγματος οργάνου}}{(\text{cpm διαλύματος αναφοράς} \times 10 - \text{cpm ουράς}) \times \text{βάρος δείγματος (g)}} \times 100$$

cpm: κρούσεις ανά λεπτό

### **8.2 Μελέτες βιοκατανομής σε ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια που φέρουν όγκο επιδερμοειδούς καρκινώματος (A431)**

Σε ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια χορηγήθηκε ενδομυϊκά ποσότητα καρκινικών κυττάρων A431 (~10<sup>6</sup>/100 μL) για την ανάπτυξη του καρκινικού όγκου (περίπου δυο εβδομάδες). Για κάθε χρόνο (5, 60 και 240 λεπτά) χρησιμοποιούνται 3 πειραματόζωα. Η χορήγηση του διαλύματος του <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(cisc) γίνεται με ένεση στη φλέβα της ουράς κάθε πειραματόζωου (100 μL, 2 μCi). Στη συνέχεια, συλλέγονται όργανα ενδιαφέροντος και ο όγκος και τα δείγματα μετρούνται και στατιστικά επεξεργάζονται όπως παραπάνω (βλ. §8.1)

## **Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ**



---

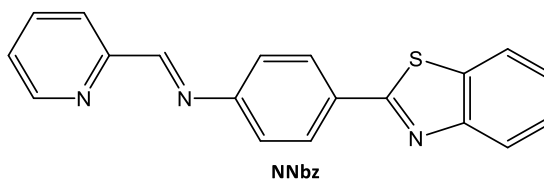
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

### ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ

---

#### 9.1 Σύνθεση και χαρακτηρισμός υποκαταστατών

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιήθηκαν οι εμπορικά διαθέσιμοι υποκαταστάτες *bpy*, *SNO*, *cis*, *PTA*,  $PPh_3$  και *py*. Συντέθηκαν και χαρακτηρίστηκαν οι διδοτικοί υποκαταστάτες *F-dppz* και *dpph* με βάση προηγούμενες αναφορές.<sup>101,102</sup> Επίσης, για πρώτη φορά συντέθηκε στην παρούσα εργασία ένα νέο παράγωγο του βενζοθειαζολίου (*NNbz*, **Σχήμα 9.1**) το οποίο φέρει ως φαρμακοφόρο το 2-(4-αμινοφαινυλ)βενζοθειαζόλιο.



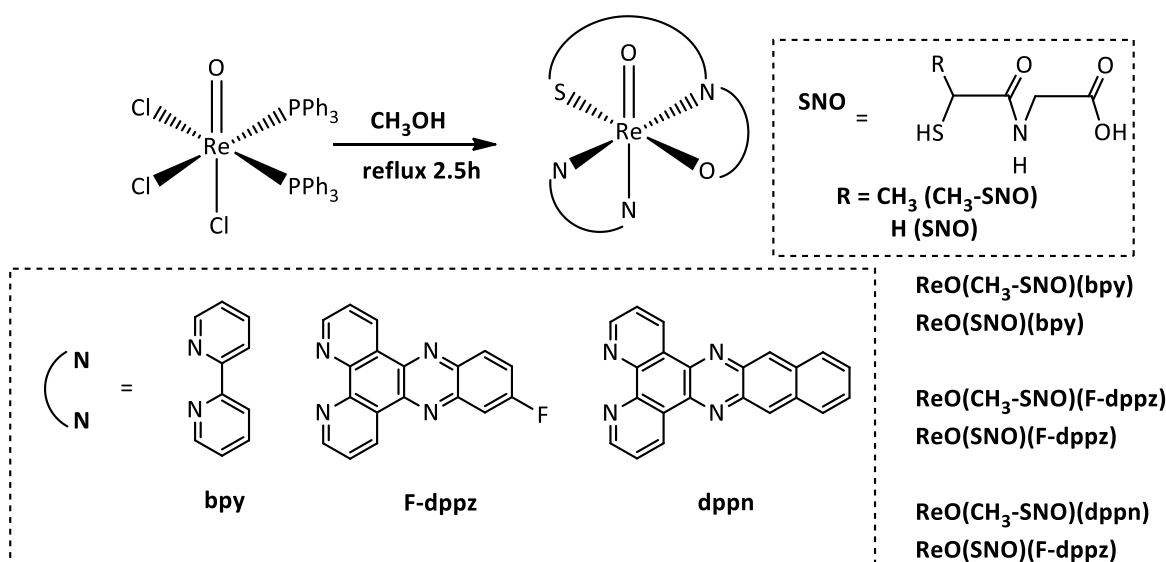
**Σχήμα 9.1.** Δομή διδοτικού υποκαταστάτη *NNbz*

Ο υποκαταστάτης *NNbz* συντέθηκε με συμπύκνωση της αμίνης του φαρμακοφόρου 2-(4-αμινοφαινυλ)βενζοθειαζολίου με την 2-πυριдиноκαρβοξαλδεΐδη σε υψηλή απόδοση (94%). Ο υποκαταστάτης χαρακτηρίστηκε με NMR, IR και στοιχειακή ανάλυση όπου τα αποτελέσματα ήταν τα αναμενόμενα.

#### 9.2 Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων ρηνίου (V)

Αρχικά, για να μελετηθεί αν το σύστημα «3+2» μπορεί να σταθεροποιήσει τον οξορρηνικό πυρήνα συντέθηκαν τα σύμπλοκα με την 2,2'-διπυριδίνη ως *NN* υποκαταστάτη, σύμπλοκα  $ReO(CH_3-SNO)(bpy)$  και  $ReO(SNO)(bpy)$ . Τα σύμπλοκα συντέθηκαν σε καλές αποδόσεις (70-80%) με αντίδραση ισομοριακού μίγματος του τριδοτικού υποκαταστάτη  $CH_3-SNO$  ή *SNO* και της *bpy* με το πρόδρομο σύμπλοκο  $ReOCl_3(PPh_3)_2$  σε μεθανόλη (**Σχήμα 9.2**).

Τα φάσματα IR φανέρωσαν την ύπαρξη του οξορρηνικού πυρήνα ( $952 - 956 \text{ cm}^{-1}$ ). Μελέτες NMR επιβεβαίωσαν την ύπαρξη τόσο του διδοτικού υποκαταστάτη (bpy) όσο και του τριδοτικού υποκαταστάτη ( $\text{CH}_3\text{-SNO}$  ή SNO) σε αναλογία 1:1. Η στοιχειακή ανάλυση επιβεβαίωσε τα παραπάνω. Συνεπώς, επιτεύχθηκε επιτυχώς η συμπλοκοποίηση της bpy και του  $\text{CH}_3\text{-SNO}$  ή SNO με τον οξορρηνικό πυρήνα σχηματίζοντας σύστημα «3 + 2». Άξιο λόγου είναι ότι στην περίπτωση του συμπλόκου  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$  οι μελέτες NMR φανέρωσαν την ύπαρξη δυο διαστερομερών *syn* και *anti*, ανάλογα με τη θέση του μεθυλίου σε σχέση με το οξυγόνο του οξορρηνικού πυρήνα. Επίσης, να σημειωθεί ότι η αναλογία των διαστερομερών δεν είναι καθορισμένη και με διαδοχικές ανακρυσταλλώσεις αλλάζει πολύ αυτή η αναλογία. Τα δυο διαστερομερή επιβεβαιώθηκαν και με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.

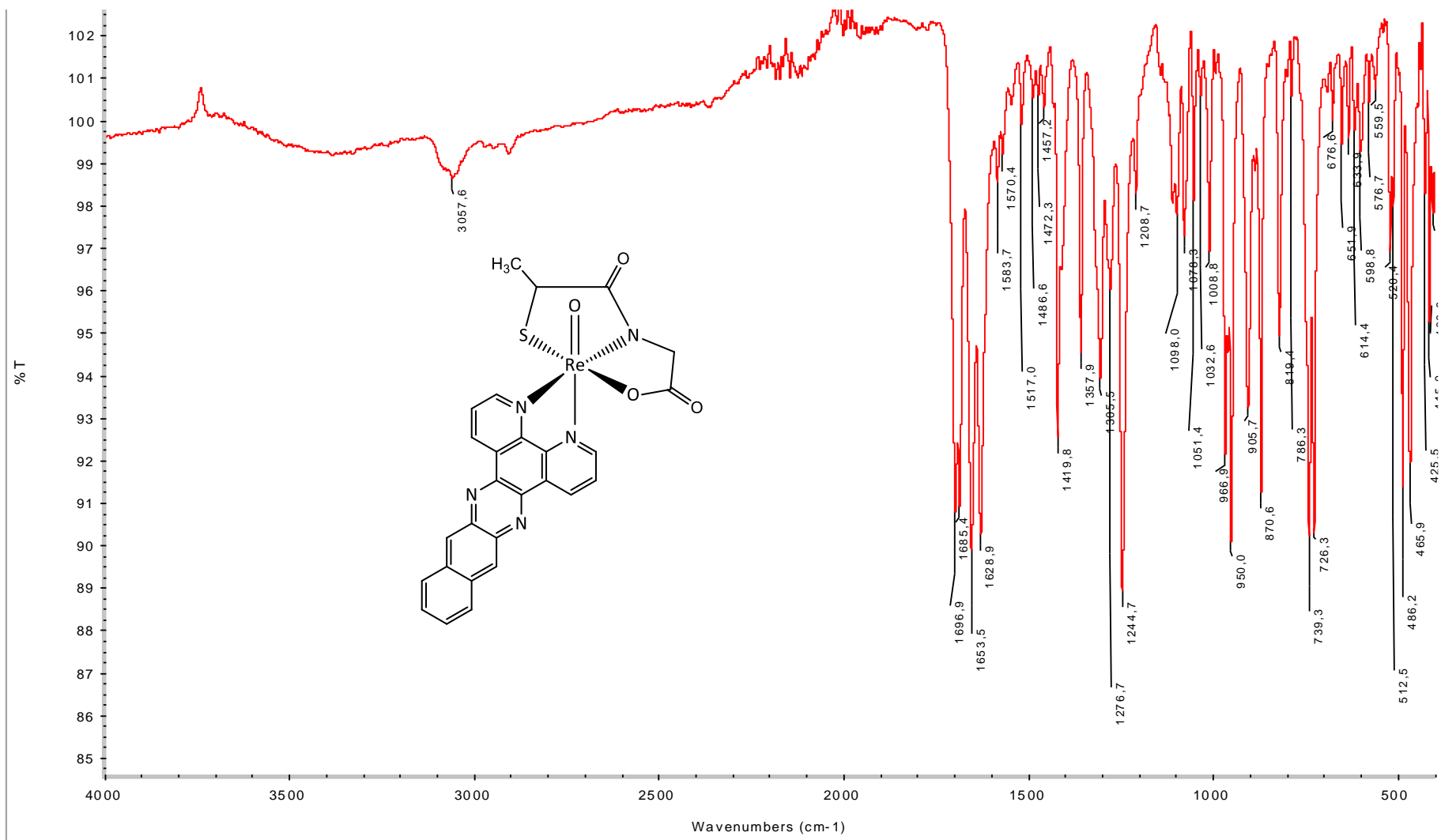


**Σχήμα 9.2:** Συνθετική πορεία για την παρασκευή των συμπλόκων του οξορρηνικού πυρήνα

Όλα τα υπόλοιπα σύμπλοκα συντέθηκαν με τον ίδιο τρόπο με τις ενώσεις αναφοράς και χαρακτηρίστηκαν με στοιχειακή ανάλυση, IR, NMR φασματοσκοπία και η δομή του συμπλόκου  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-dppz})$  λύθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Ο τριδοτικός υποκαταστάτης συναρμόζεται στο μεταλλικό κέντρο του ρηνίου μέσω των ατόμων S, N, O τα οποία αποπρωτονιώνονται κατά τη σύμπλεξη με το ρήνιο έτσι ώστε τα σύμπλοκα να είναι ουδέτερα. Στην περίπτωση που ο τριδοτικός υποκαταστάτης είναι η N-(2-μερκαπτοπροπιονυλ)γλυκίνη ( $\text{CH}_3\text{-SNO}$ ), τα σύμπλοκα του ρηνίου ( $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  και  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppn})$ ) σχηματίζουν *syn* και *anti* διαστερομερή

όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Όλα τα σύμπλοκα του ρηνίου είναι σταθερά για μήνες όπως διαπιστώθηκε με HPLC και NMR.

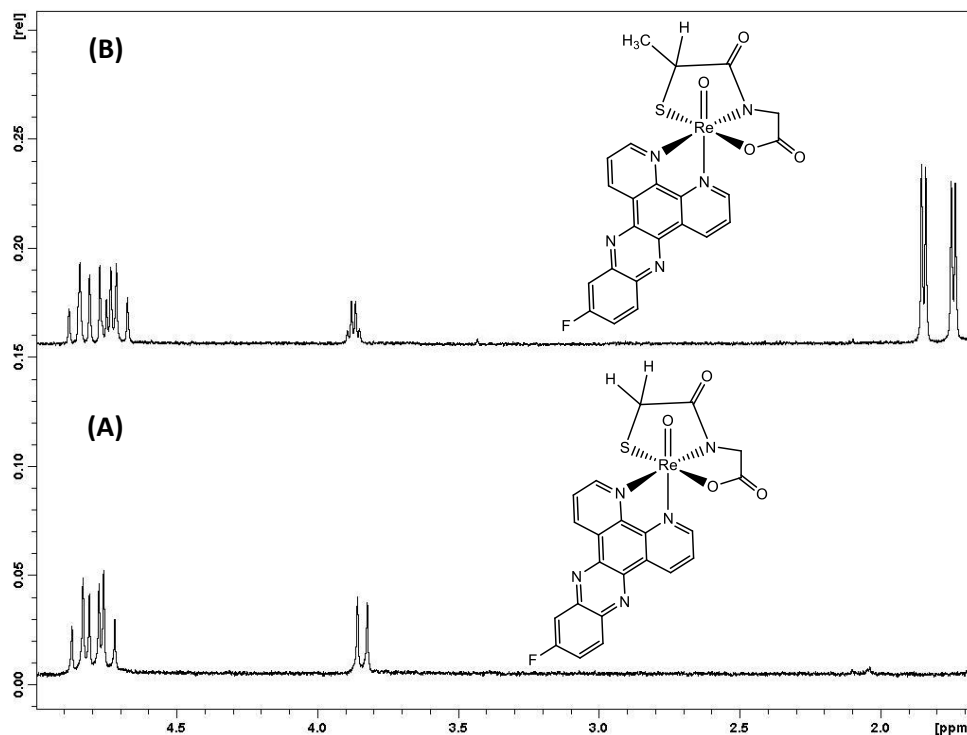
Φασματοσκοπία IR. Τα IR φάσματα όλων των συμπλόκων εμφανίζουν χαρακτηριστικές κορυφές στα  $950\text{-}959\text{ cm}^{-1}$  οι οποίες είναι ενδεικτικές της δόνησης του δεσμού  $\text{Re}=\text{O}$ .<sup>119</sup> Ενδεικτικά παρουσιάζεται το φάσμα IR του  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppr})$  στο **Σχήμα 9.3**. Η ύπαρξη των διαστερομερών *syn* και *anti* είναι φανερή και στο φάσμα IR του  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppr})$  (**Σχήμα 9.3**). Στην περίπτωση του *syn*- $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppr})$  η δόνηση τάσης του δεσμού  $\text{Re}=\text{O}$  εμφανίζεται στα  $950\text{ cm}^{-1}$  ενώ στην περίπτωση του *anti*- $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppr})$  η δόνηση τάσης του δεσμού  $\text{Re}=\text{O}$  εμφανίζεται με  $17\text{ cm}^{-1}$  διαφορά και συγκεκριμένα στα  $966.9\text{ cm}^{-1}$ . Η διαφορά των κυματαριθμών μεταξύ των *syn* και *anti* διαστερομερών που παρατηρήθηκε ( $17\text{ cm}^{-1}$ ) είναι σε συμφωνία με τη διαφορά που παρατηρείται στη βιβλιογραφία.<sup>120</sup>



Σχήμα 9.3. Φάσμα IR του συμπλόκου  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppr})$



Φασματοσκοπία NMR. Τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  για τα σύμπλοκα του ρηνίου ήταν σύμφωνα με τα αναμενόμενα και επιβεβαίωσαν την προτεινόμενη δομή των συμπλόκων. Ως αναμένεται λόγω αποθωράκισης, οι χημικές μετατοπίσεις, των  $^1\text{H}$  κοντά στα άζωτα που συμπλέκονται με το  $\text{Re(V)}$  μετατοπίζονται μετατοπίζονται σε υψηλότερες συχνότητες, τιμές. Ενδεικτικά φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  παρουσιάζονται στο **Σχήμα 9.4**.



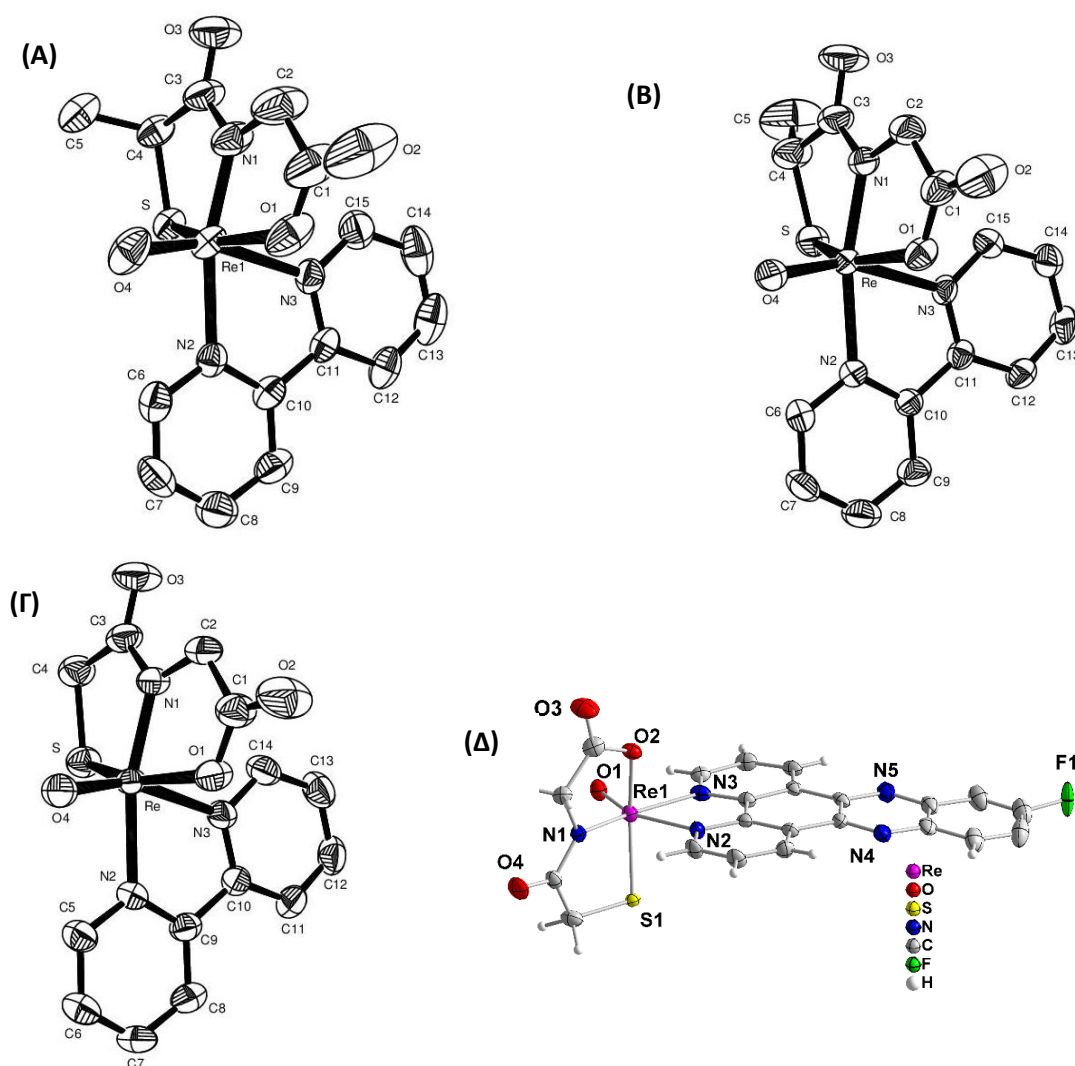
**Σχήμα 9.4.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (αλειφατική περιοχή 5.00 - 1.67 ppm) **(A)**  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-dppz})$  και **(B)**.  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$

Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 9.4 (A)** στο σύμπλοκο  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-dppz})$  τα δίδυμα μεθυλενικά πρωτόνια των χηλικών δακτυλίων του SNO τριδοτικού υποκαταστάτη ( $\delta = 1.72 - 1.91$  ppm) διαφοροποιούνται χημικά λόγω της ασυμμετρίας του μορίου και εμφανίζονται σε ξεχωριστές θέσεις στο φάσμα NMR  $^1\text{H}$  ως διπλές κορυφές.

Όταν ο SNO τριδοτικός υποκαταστάτης φέρει ένα μεθύλιο στον άνθρακα δίπλα στο θείο, όπως στην περίπτωση της N-(2-μερκαπτοπροπιονυλ)γλυκίνης ( $\text{CH}_3\text{-SNO}$ ), τότε μετά την συμπλοκοποίηση με τον οξορρηνικό πυρήνα αναμένονται δύο διαστερεομερή, ανάλογα με την θέση του μεθυλίου είτε προς το οξυγόνο του οξορρηνικού κέντρου είτε μακριά από αυτό. Στο **Σχήμα 9.4 (B)** φαίνεται καθαρά η ύπαρξη δύο μεθυλίων στο φάσμα NMR  $^1\text{H}$  του συμπλόκου  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  που υποδηλώνουν την ύπαρξη

διαστερομερών σε αναλογία 45:55. Το κάθε μεθύλιο εμφανίζεται ως διπλή κορυφή λόγω της σχάσης με το γειτονικό μεθυlenικό πρωτόνιο το οποίο εμφανίζεται ως τετραπλή κορυφή. Τα πρωτόνια στον χηλικό δακτύλιο που δεν φέρει μεθύλιο εμφανίζονται ως διπλές κορυφές, ως αναμένεται.

Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Οι κρυσταλλικές δομές των *syn*-ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy), *anti*-ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy), ReO(SNO)(bpy) και ReO(SNO)(F-dppz) φαίνονται στο **Σχήμα 9.5 (Α), (Β), (Γ) και (Δ)** αντίστοιχα.



**Σχήμα 9.5.** Διάγραμμα ORTEP για τις ενώσεις **(Α)** ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy) (*syn*) **(Β)** ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy) (*anti*), **(Γ)** ReO(SNO)(bpy) και **(Δ)** ReO(SNO)(F-dppz)

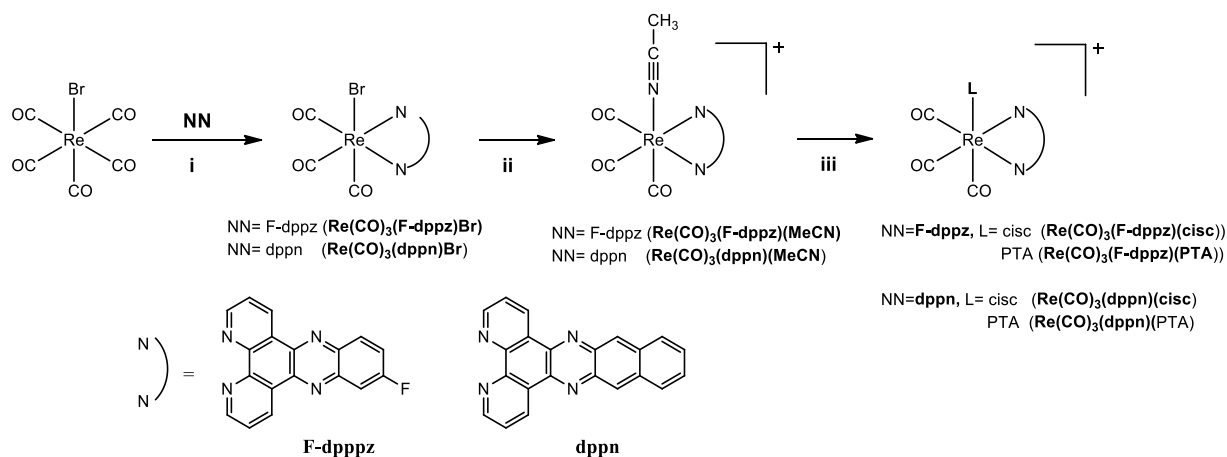
Από την κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ είναι φανερό ότι τα σύμπλοκα υιοθετούν οκταεδρική γεωμετρία. Στη σφαίρα συναρμογής του συμπλόκου συμμετέχουν τα δυο άζωτα του διδοτικού υποκαταστάτη και τα άτομα του θείου, του αζώτου και του οξυγόνου του τριδοτικού υποκαταστάτη τα οποία αποπρωτονιούνται κατά την διάρκεια της σύμπλεξης σχηματίζοντας ουδέτερα σύμπλοκα. Το οξυγόνο του οξορρηνικού πυρήνα και το άζωτο του διδοτικού υποκαταστάτη βρίσκονται σε *trans* θέσεις. Ανάλογα με τη θέση του μεθυλίου σε σχέση με το οξυγόνο σχηματίζονται δυο διαστερομερή *syn* και *anti*. Επίσης, είναι φανερή η επιπεδότητα του F-dppz όπως αναμένεται λόγω των πολυαρωματικών δακτυλίων που φέρει.

Συμπερασματικά, η αντίδραση μεταξύ του προδρόμου συμπλόκου  $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$  με τον τριδοτικό υποκαταστάτη  $\text{CH}_3\text{-SNO}$  και τους διδοτικούς υποκαταστάτες απέφερε τα επιθυμητά σύμπλοκα ως μίγμα διαστερομερών, όπως κατεδείχθη από τα φάσματα IR και  $^1\text{H-NMR}$ . Η αναλογία τους, όπως προκύπτει από τα  $^1\text{H-NMR}$  φασματοσκοπικά δεδομένα, είναι 45:55. Τα διαστερομερή δεν διαχωρίστηκαν σε επαρκείς ποσότητες ώστε να αξιολογηθούν χωριστά στα βιολογικά πειράματα όμως λόγω διαφορετικής μορφολογίας των κρυστάλλων προσδιορίστηκαν οι κρυσταλλογραφικές τους δομές. Από την ανάλυση των κρυσταλλογραφικών δεδομένων προέκυψε ότι το ένα διαστερομερές εμφανίζει *anti*-διάταξη, ενώ το άλλο *syn*. Να σημειωθεί ότι τα ζεύγη των εναντιομερών ανά διαστερομερές δεν διαχωρίστηκαν στα πλαίσια της παρούσης εργασίας, αλλά μελλοντικά θα επιχειρηθεί ο διαχωρισμός τους με HPLC χρησιμοποιώντας χειρόμορφη στήλη, διότι, ως γνωστόν, η φαρμακολογική δράση των εναντιομερών είναι διαφορετική.

### 9.3 Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων ρηνίου (I)

#### 9.3.1 Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων ρηνίου με μόρια παρεμβολείς ως NN διδοτικούς υποκαταστάτες

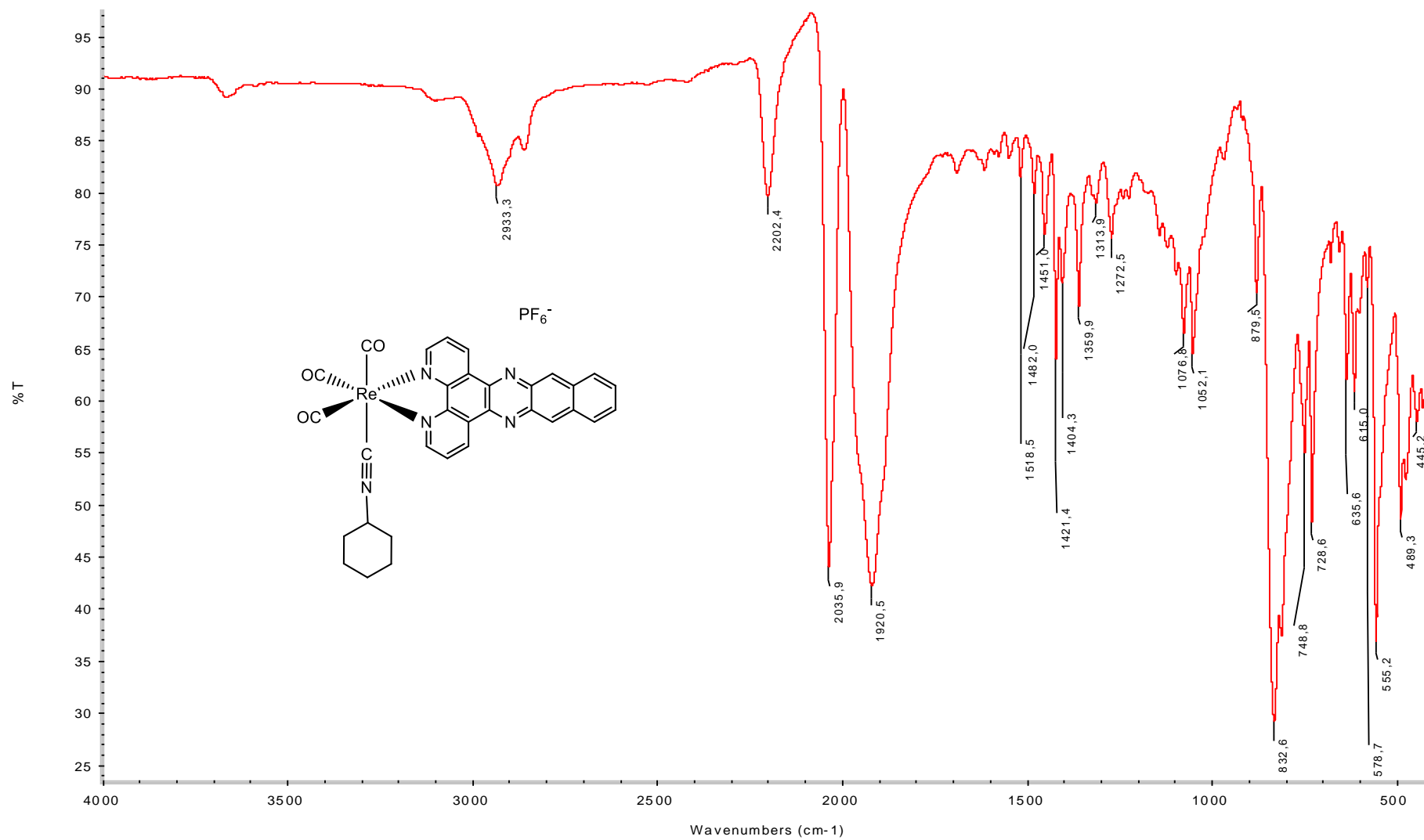
Σε αυτή τη συνθετική προσέγγιση, μελετήθηκε η συναρμογή διαφόρων μονοδοτικών L υποκαταστατών και μορίων παρεμβολέων ως διδοτικών NN υποκαταστατών ίδιων με την κατηγορία 1 (F-dppz, dppn) με τον τρικαρβονυλο πυρήνα του ρηνίου. Η συνθετική πορεία παρουσιάζεται στο **Σχήμα 9.6**.



**Σχήμα 9.6.** Συνθετική πορεία για την παρασκευή των συμπλόκων του ρηνίου (I) με παρεμβολικούς υποκαταστάτες, αντιδρώντα και συνθήκες: (i) τολουόλιο, reflux 3 h, (ii) ακετονιτρίλιο reflux 15 h (iii) μεθανόλη ή χλωροφόρμιο, reflux 4-8 h

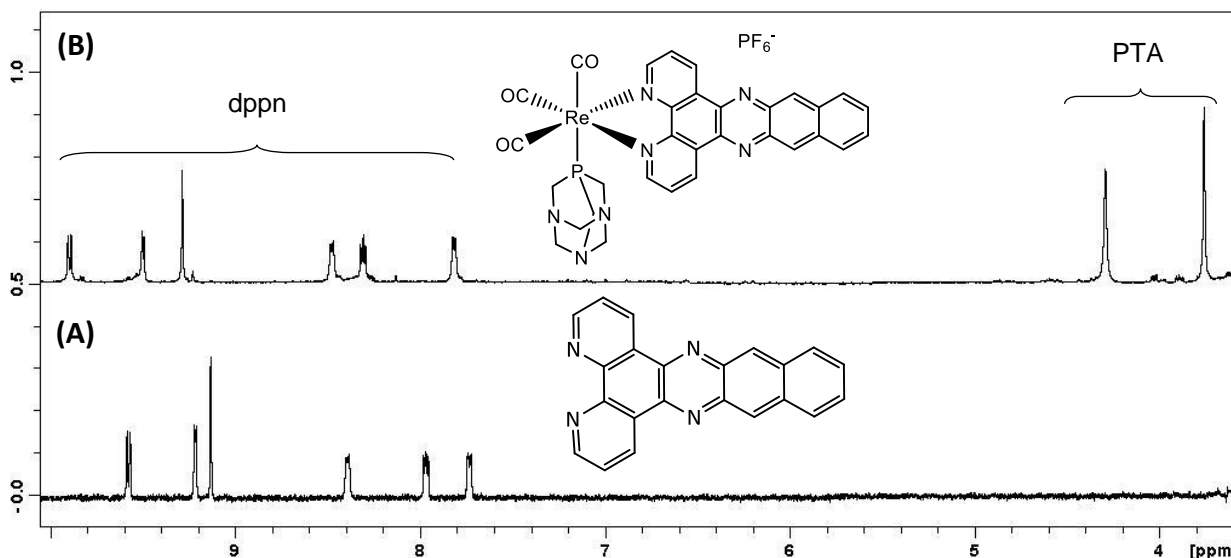
Το πρόδρομο σύμπλοκο του ρηνίου που χρησιμοποιήθηκε ήταν το  $\text{Re}(\text{CO})_5\text{Br}$ . Αρχικά, πραγματοποιήθηκε επιτυχώς η συμπλοκοποίηση του μορίου-παρεμβολέα ως NN υποκαταστάτη, με το βρώμιο να συμπληρώνει την έκτη θέση συναρμογής δίνοντας τα ουδέτερα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})\text{Br}$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})\text{Br}$ . Για να γίνει εφικτή η συναρμογή των μονοδοτικών υποκαταστατών cisc και PTA, τα ουδέτερα σύμπλοκα μετατράπηκαν στα ενδιάμεσα κατιοντικά σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{MeCN})$  με αντικατάσταση του βρωμίου με ακετονιτρίλιο. Το MeCN είναι ένας ευκίνητος υποκαταστάτης και μπορεί εύκολα να αντικατασταθεί από τους μονοδοτικούς υποκαταστάτες cisc και PTA. Έτσι, σχηματίστηκαν τα κατιοντικά σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{PTA})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{PTA})$ . Οι αποδόσεις των αντιδράσεων κυμαίνονταν μεταξύ 77–90%. Τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν μέσω φασματοσκοπιών NMR και IR και στοιχειακή ανάλυση. Η δομή του  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})$  επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X.

**Φασματοσκοπία IR.** Το φάσμα IR για όλα τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) εμφάνισε τις χαρακτηριστικές κορυφές του συναρμοσμένου *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3]^+$  πυρήνα, από 1900-2036  $\text{cm}^{-1}$ , λόγω των δονήσεων τάσης του τριπλού δεσμού  $\text{C}\equiv\text{O}$ . Στο **Σχήμα 9.7** παρουσιάζεται το φάσμα IR του  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})$  όπου είναι χαρακτηριστική η δόνηση τάσης του δεσμού  $\text{-C}\equiv\text{N}$  ( $\nu = 2202 \text{ cm}^{-1}$ ) του συμπλεγμένου μονοδοτικού υποκαταστάτη cisc.



Σχήμα 9.7. Φάσμα IR του συμπλόκου  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})$

Φασματοσκοπία  $^1\text{H-NMR}$ . Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν και με φασματοσκοπία NMR. Τα φάσματα λήφθηκαν σε δευτεριωμένο διαλύτη  $\text{DMSO-d}_6$ . Το φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  για το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{drrh})(\text{PTA})$  παρουσιάζεται στο **Σχήμα 9.8**.

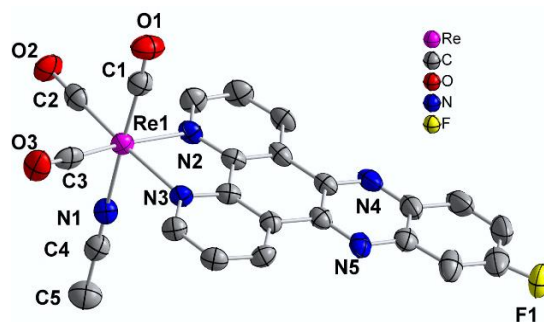


**Σχήμα 9.8.** Φάσματα NMR  $^1\text{H}$  (10.07 - 3.58 ppm) **(A)**, του υποκαταστάτη *drrh* και **(B)**, του συμπλόκου  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{drrh})(\text{PTA})$

Οι χημικές μετατοπίσεις του φάσματος  $^1\text{H-NMR}$  (**Σχήμα 9.8**) υποδηλώνουν ότι τόσο ο διδοτικός (*drrh*) όσο και ο μονοδοτικός υποκαταστάτης (*PTA*) έχουν συναρμοστεί επιτυχώς στο μεταλλικό κέντρο και η αναλογία αυτών στο σύμπλοκο είναι 1:1.

Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Κατάλληλοι κρύσταλλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ προέκυψαν για το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-drrz})(\text{MeCN})$  με υγρή διάχυση  $\text{CH}_3\text{CN}$ /διαιθυλαιθέρα. Το διάγραμμα ORTEP παρουσιάζεται στο **Σχήμα 9.9**.

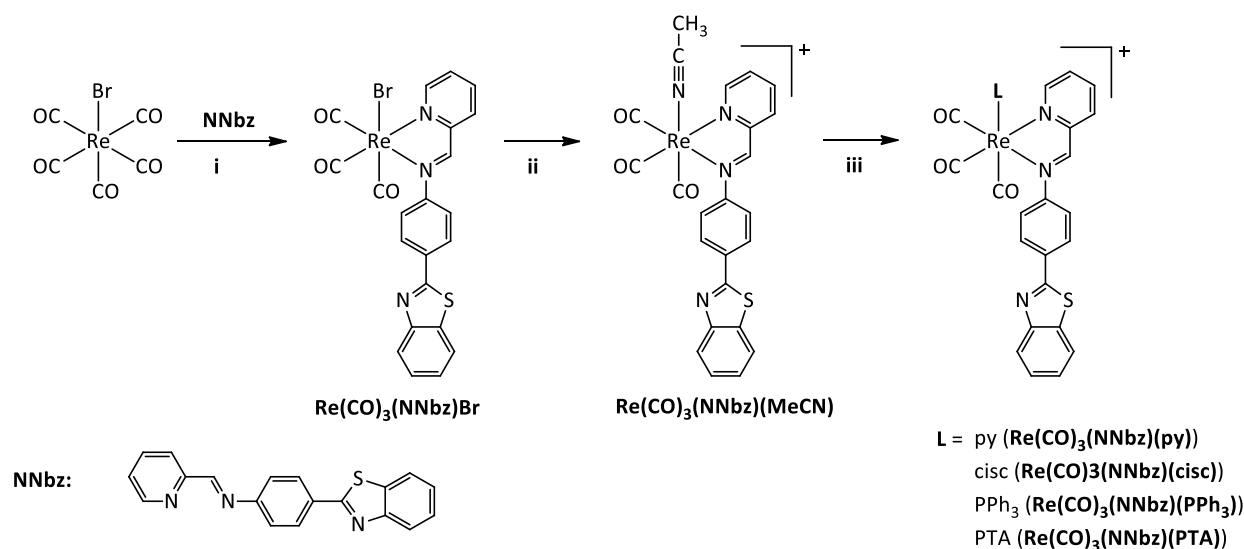
Το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-drrz})(\text{MeCN})$  υιοθετεί παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Τη σφαίρα συναρμογής του τρικαρβονυλο *fac*- $\text{Re}(\text{CO})_3$  πυρήνα συμπληρώνουν τα δυο άζωτα του διδοτικού υποκαταστάτη και το άζωτο του ακετονιτριλίου. Τα καρβονύλια είναι σε μετωπική (*fac*) διαμόρφωση. Το ακετονιτρίλιο βρίσκεται σε *trans* θέση σε σχέση με το καρβονύλιο. Επίσης, είναι φανερό η επιπεδότητα του πολυαρωματικού συστήματος του υποκαταστάτη *F-drrz*.



**Σχήμα 9.9.** Διάγραμμα ORTEP για το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})$

### 9.3.2 Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων ρηνίου με ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου ως NN διδοτικό υποκαταστάτη

Εν συνεχεία, συντέθηκε μια νέα κατηγορία συμπλόκων του τρικαρβonyλο ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) όπου ως NN διδοτικός υποκαταστάτης ήταν η 4-(βενζο[d]θειαζολ-2-yl)-N-(πυριδιν-2-yl-μεθυλ)ανιλίνη (**NNbz**). Η συνθετική πορεία παρουσιάζεται στο **Σχήμα 9.10**.



**Σχήμα 9.10.** Συνθετική πορεία για την παρασκευή των συμπλόκων του ρηνίου (I) με παράγωγο του βενζοθειαζολίου, αντιδρώντα και συνθήκες: (i) τολουόλιο, reflux 4h, (ii) ακετονιτρίλιο reflux 18 h (iii) μεθανόλη ή χλωροφόρμιο, reflux 4-8 h

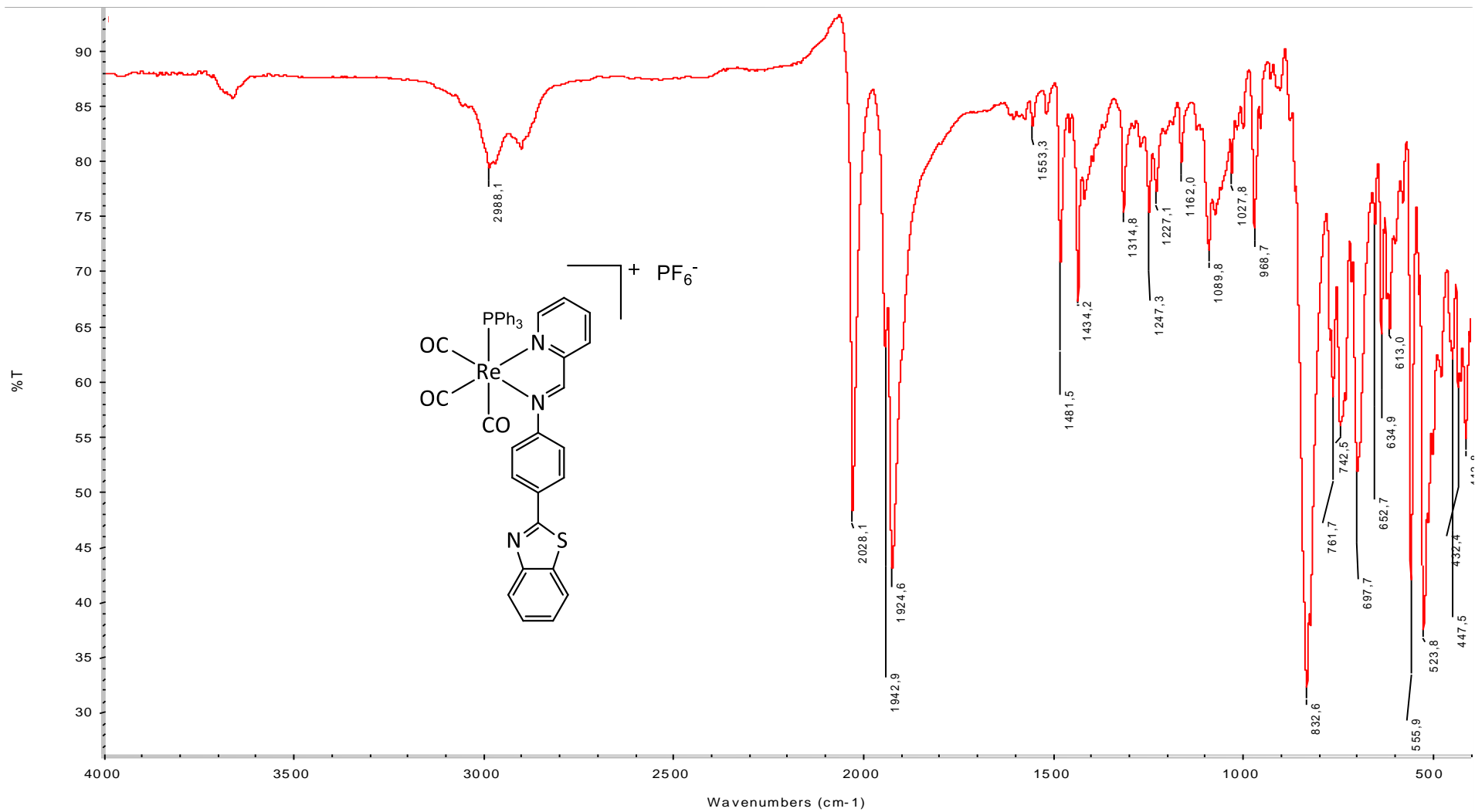
Ο υποκαταστάτης NNbz συναρμόστηκε επιτυχώς με το μεταλλικό κέντρο με αντίδραση του  $\text{Re}(\text{CO})_5\text{Br}$  και του NNbz σε τολουόλιο. Το αναμενόμενο ουδέτερο σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  παρασκευάστηκε σε υψηλή απόδοση (76%). Ακολούθησε [67]

αντικατάσταση του αξονικού υποκαταστάτη βρωμίου, με το ακετονιτρίλιο (MeCN) σε μια αντίδραση του  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  με τον  $\text{AgPF}_6$ , σχηματίζοντας το αντίστοιχο ενδιάμεσο κατιοντικό σύμπλοκο  $\text{ReCO}_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})$ . Εν συνεχεία, το  $\text{ReCO}_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})$  αντιδρά με περίσσεια του επιθυμητού μονοδοτικού υποκαταστάτη (py, cisc,  $\text{PPh}_3$  ή PTA) σε χλωροφόρμιο ή μεθανόλη οδηγώντας στο σχηματισμό των αντίστοιχων μικτών «2 + 1» κατιοντικών συμπλόκων  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$  σε υψηλές αποδόσεις (65 – 91%).

Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν με IR, NMR φασματοσκοπία και στοιχειακή ανάλυση. Η δομή των συμπλόκων  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{OH}_2)$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$  επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Όλα τα σύμπλοκα είναι σταθερά για μήνες όπως έδειξαν αναλύσεις HPLC και NMR.

Φασματοσκοπία IR. Το φάσμα IR για όλα τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) εμφάνισε τις χαρακτηριστικές κορυφές του συναρμοσμένου *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3]^+$  πυρήνα, από 1890 – 2037  $\text{cm}^{-1}$ , λόγω της δονήσεως τάσεις του τριπλού δεσμού  $\text{C}\equiv\text{O}$ . Στο **Σχήμα 9.11** παρουσιάζεται το φάσμα NMR για το  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$ .

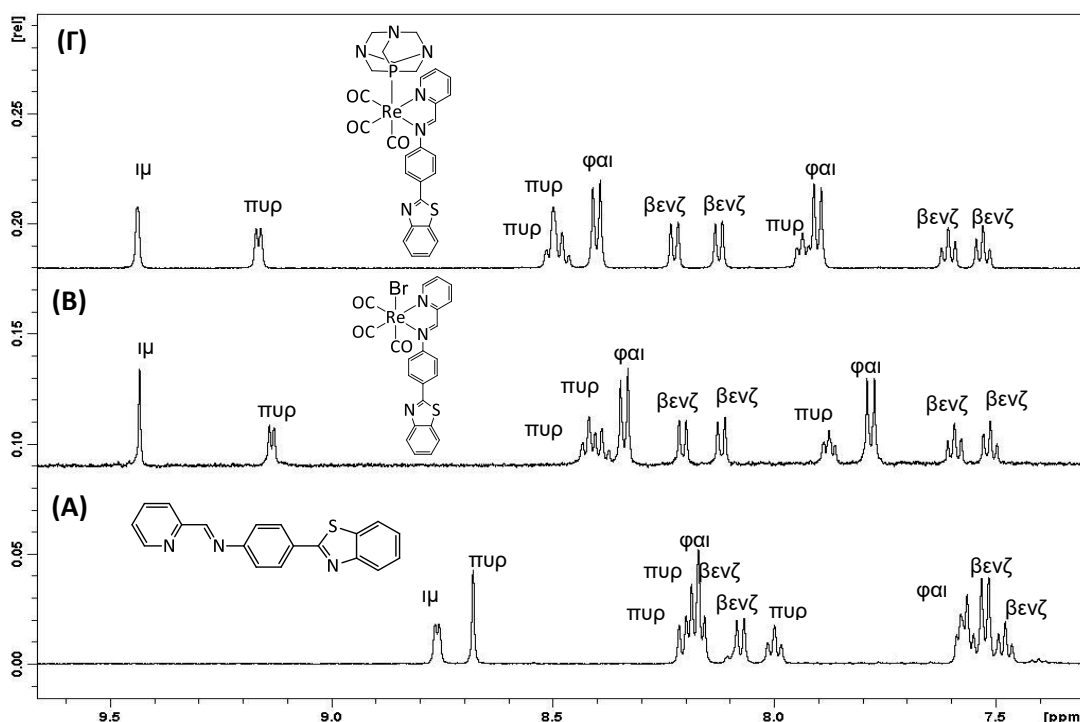




Σχήμα 9.11. Φάσμα IR του συμπλόκου  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$

Για το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ , οι τάσεις του CO εμφανίζονται στα  $1875\text{-}2018\text{ cm}^{-1}$ . Η φύση του αζονικού μονοδοτικού υποκαταστάτη επηρεάζει σημαντικά αυτή τη δόνηση.<sup>121,122</sup> Για παράδειγμα, η παρουσία των αζονικών φωσφινών (σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ ) μετατοπίζει τις συχνότητες τάσης του CO σε υψηλότερες ενέργειες ( $2028$  και  $2031\text{ cm}^{-1}$  για τα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ , αντίστοιχα) σε σχέση με το ουδέτερο σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ . Αυτό είναι αποτέλεσμα της μείωσης της π-οπισθοσύνδεσης μεταξύ των CO υποκαταστατών και του  $\text{Re}(\text{I})$ .<sup>121,123,124</sup> Όλα τα κατιοντικά σύμπλοκα εμφανίζουν μια ισχυρή κορυφή στα  $\sim 832$  και  $554\text{ cm}^{-1}$  τα οποία αντιστοιχούν στο αντισταθμιστικό ανιόν  $\text{PF}_6^-$ .

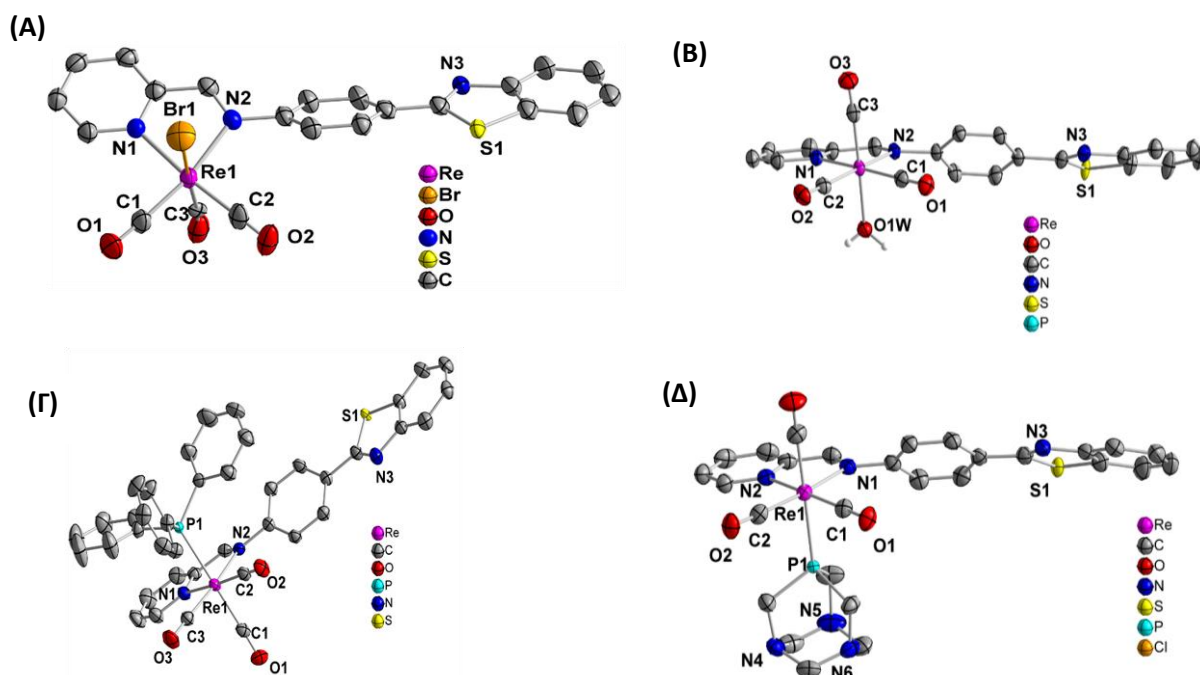
Φασματοσκοπία  $^1\text{H-NMR}$ . Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν επίσης και με φασματοσκοπία NMR. Τα φάσματα NMR λήφθηκαν σε διαλύτη  $\text{DMSO-d}_6$ . Στο **Σχήμα 9.12** παρουσιάζεται το φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  για το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ .



**Σχήμα 9.12.** Φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  (αρωματική περιοχή  $9.66 - 7.29\text{ ppm}$ ). **(A)** του υποκαταστάτη  $\text{NNbz}$  και των συμπλόκων **(B)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  και **(Γ)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ . Στα φάσματα των συμπλόκων σημειώνεται το τμήμα του μορίου στο οποίο ανήκει η κάθε κορυφή (ιμ = ιμιδικό, πυρ = πυριδινικό, φαι = φαινυλικό, βενζ = βενζοθειαζολικό)

Το φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  επιβεβαιώνει τη συναρμογή του διδοτικού NNbz υποκαταστάτη και του μονοδοτικού υποκαταστάτη PTA στο μεταλλικό κέντρο του ρηνίου.

Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Κατάλληλοι κρύσταλλοι για την κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ προέκυψαν για τα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{OH}_2)$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ . Τα διαγράμματα ORTEP παρουσιάζονται στο **Σχήμα 9.13 (A), (B), (Γ) και (Δ)**.



**Σχήμα 9.13.** Διάγραμμα ORTEP για τις ενώσεις **(A)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ , **(B)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{OH}_2)$ , **(Γ)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και **(Δ)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$

Όλα τα σύμπλοκα υιοθετούν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Η σφαίρα συναρμογής του ρηνίου αποτελείται από τα τρία καρβονύλια τα οποία είναι σε *fac*-διαμόρφωση, τον μονοδοτικό υποκαταστάτη και τον διδοτικό υποκαταστάτη ο οποίος συναρμόζεται μέσω των δυο αζώτων.

Σε αυτό το σημείο άξιο λόγου είναι να αναφερθεί ότι το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})$  κρυστάλλωσε με νερό στην έκτη θέση συναρμογής και όχι με ακετονιτρίλιο. Πιθανώς, το νερό αυτό προέκυψε από ανταλλαγή του ευκίνητου μορίου του ακετονιτρίλιου με νερό από την υγρασία της ατμόσφαιρας.

---

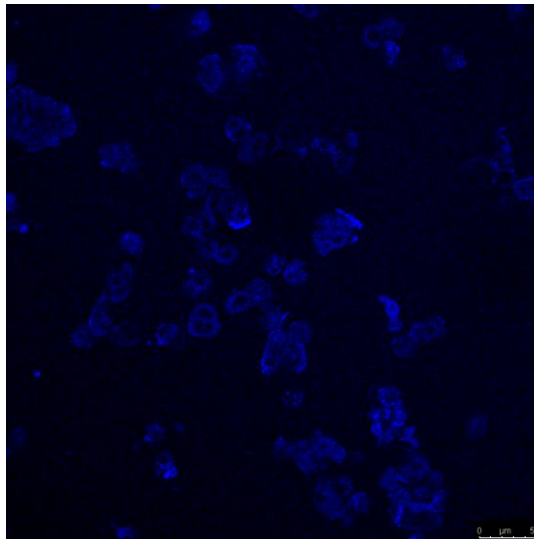
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

### IN VITRO ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

---

#### 10.1 Μελέτες κυτταρικής πρόσληψης

Στην **Εικόνα 10.1** φαίνεται ενδεικτικά φωτογραφία της κυτταρικής πρόσληψης για ένα από τα σύμπλοκα και συγκεκριμένα για το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  στην καρκινική σειρά του μαστού MCF-7 μετά από 24 ώρες επώαση.



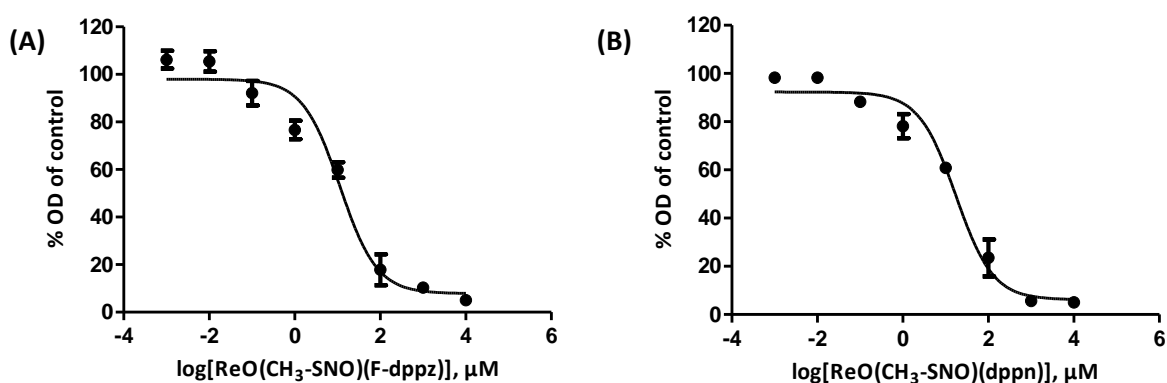
**Εικόνα 10.1.** Διαδοχικές (κατά μήκος του άξονα z) φωτογραφίες συνεστιακού μικροσκοπίου σε κύτταρα MCF-7 μετά από επώαση 24 ωρών με την ένωση  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  (10  $\mu\text{M}$ ) χρησιμοποιώντας φίλτρο DAPI. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 50  $\mu\text{m}$

Τα σύμπλοκα εισέρχονται στα κύτταρα και διαχέονται ομοιογενώς στο κυτταρόπλασμα. Συγκεκριμένα, ο φθορισμός υπήρχε στο κυτταρόπλασμα χωρίς να αποκλείεται ο ελάχιστος και κατά συνέπεια μη ορατός με τη μέθοδο αυτή εντοπισμός τους στον πυρήνα. Επίσης, η βιβλιογραφία φανερώνει ότι η συσσώρευση της σισπλατίνης και άλλων μεταλλοφαρμάκων στα κύτταρα οφείλεται στην ενεργητική μεταφορά μέσω μεταφορέων μεμβράνης.<sup>130</sup> Βέβαια, στην περίπτωση των υπό μελέτη συμπλόκων δεν είναι γνωστός ο τρόπος με τον οποίο εισέρχονται μέσα στο κύτταρο.

## 10.2 Μελέτες προσδιορισμού κυτταροτοξικότητας (μέθοδος MTT)

Για να εξεταστεί η κυτταροτοξικότητα των προαναφερθέντων συμπλόκων του ρηνίου έναντι επιλεγμένων καρκινικών κυτταρικών σειρών, πραγματοποιήθηκαν μελέτες κυτταρικής βιωσιμότητας μέσω της μεθόδου MTT. Η κυτταροτοξικότητα αυτών των ενώσεων του οξορρηνικού πυρήνα μέσω της μεθόδου MTT εξετάστηκε στην ανθρώπινη καρκινική κυτταρική σειρά του τραχήλου της μήτρας (HeLa).

Στο **Σχήμα 10.1** παρουσιάζονται οι σιγμοειδείς καμπύλες που προέκυψαν από τα αποτελέσματα της μεθόδου MTT για τα σύμπλοκα  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  και  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppn})$ . Η συγκέντρωση κάθε ένωσης με την οποία αναστέλλεται το 50% της κυτταρικής βιωσιμότητας ( $\text{IC}_{50}$ ) για την κατηγορία των οξορρηνικών συμπλόκων παρουσιάζεται στον **Πίνακα 10.1**.



**Σχήμα 10.1.** Καμπύλες MTT από τρία ανεξάρτητα πειράματα, για τα σύμπλοκα **(A)**  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  και **(B)**  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppn})$  (Εύρος συγκεντρώσεων: 10 mM – 0.001 μM, άξονας x: λογαριθμική κλίμακα συγκεντρώσεων)

**Πίνακας 10.1.** Τιμές  $IC_{50}$  ( $\mu M$ )  $\pm$  τυπική απόκλιση από τρία ανεξάρτητα πειράματα για τα σύμπλοκα του οξορρηνικού πυρήνα στην καρκινική κυτταρική σειρά HeLa

| Ενώσεις                                | Τιμές $IC_{50}$ ( $\mu M$ )        |
|----------------------------------------|------------------------------------|
| <b>bpy</b>                             | <b>60.74 <math>\pm</math> 7.89</b> |
| <b>ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy)</b>    | <b>41.98 <math>\pm</math> 4.87</b> |
| <b>ReO(SNO)(bpy)</b>                   | <b>49.21 <math>\pm</math> 9.22</b> |
| <b>F-dppz</b>                          | <b>6.74 <math>\pm</math> 4.48</b>  |
| <b>ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz)</b> | <b>11.39 <math>\pm</math> 4.89</b> |
| <b>ReO(SNO)(F-dppz)</b>                | <b>10.71 <math>\pm</math> 2.31</b> |
| <b>*dppn</b>                           | -                                  |
| <b>ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(dppn)</b>   | <b>16.77 <math>\pm</math> 2.73</b> |
| <b>*ReO(SNO)(dppn)</b>                 | -                                  |
| <b>Δοξορουβικίνη</b>                   | <b>0.32 <math>\pm</math> 0.51</b>  |
| <b>**Σισπλατίνη</b>                    | <b>6.85 <math>\pm</math> 0.84</b>  |

\*Δεν ήταν εφικτή η μελέτη της τοξικότητας των dppn και ReO(SNO)(dppn) λόγω κακής διαλυτότητάς τους σε υδατικά διαλύματα

\*\* Η τιμή  $IC_{50}$  προκύπτει από βιβλιογραφική αναφορά<sup>125</sup>

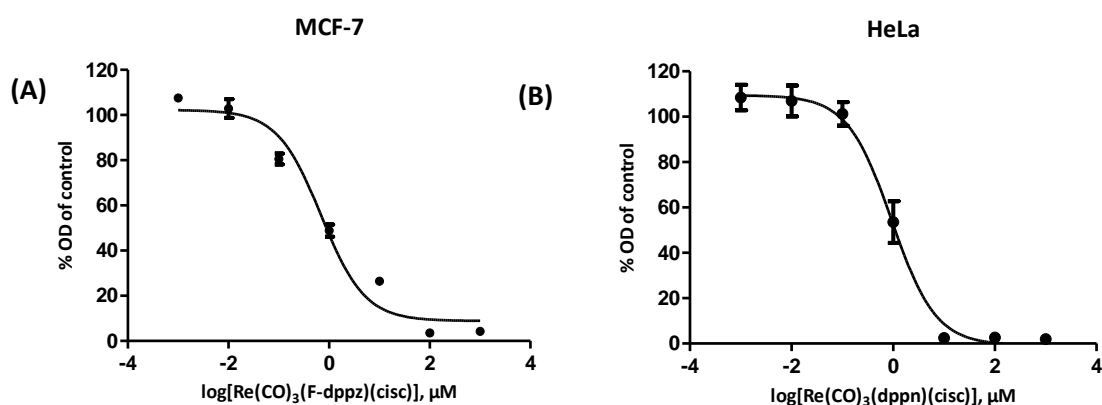
Από τις τιμές  $IC_{50}$  που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 10.1** προκύπτει ότι:

- Ο υποκαταστάτης F-dppz και τα σύμπλοκα ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz) και ReO(SNO)(F-dppz) παρουσιάζουν την μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα με τιμές  $IC_{50}$  = 6.74  $\pm$  4.48  $\mu M$ , 11.39  $\pm$  4.89  $\mu M$  και 10.71  $\pm$  2.31  $\mu M$  αντίστοιχα. Η συμπλοκοποίηση στην περίπτωση αυτή, φαίνεται ότι δεν μειώνει στατιστικά σημαντικά την κυτταροτοξικότητα.
- Το σύμπλοκο ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(dppn) παρουσιάζει και αυτό της ίδιας τάξης μεγέθους κυτταροτοξικότητα ( $IC_{50}$  = 16.77  $\pm$  2.73  $\mu M$ ).
- Για τον υποκαταστάτη dppn και το σύμπλοκο ReO(SNO)(dppn) η μελέτη δεν ήταν εφικτή λόγω κακής διαλυτότητας σε υδατικά διαλύματα.
- Την μικρότερη κυτταροτοξικότητα παρουσίασαν ο υποκαταστάτης bpy και τα σύμπλοκα ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy) και ReO(SNO)(bpy). Στην ομάδα αυτή, φαίνεται από τις τιμές του **Πίνακα 10.1** ότι η συμπλοκοποίηση αυξάνει σημαντικά την κυτταροτοξικότητα.

- Σε όλες τις περιπτώσεις φαίνεται ότι η δοξορουβικίνη παρουσιάζει μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα. Οι τιμές  $IC_{50}$  των ενώσεων προσεγγίζουν τις τιμές  $IC_{50}$  της σισπλατίνης ( $IC_{50} = 6.85 \pm 0.84 \mu M$ ) αλλά διαφέρουν από τις τιμές  $IC_{50}$  της δοξορουβικίνης ( $IC_{50} = 0.32 \pm 0.51 \mu M$ ).<sup>125</sup>

Στην δεύτερη κατηγορία συμπλόκων που συντέθηκαν ως NN διδοτικός υποκαταστάτης χρησιμοποιήθηκε και πάλι είτε το F-dppz είτε το dppn, που δρουν ως μόρια παρεμβολείς (όπως και στην περίπτωση των οξορρηνικών συμπλόκων). Σε αυτήν την περίπτωση το ρήνιο βρίσκεται στην οξειδωτική βαθμίδα (I) και η σφαίρα συναρμογής του μετάλλου καλύπτεται από διάφορους μονοδοτικούς υποκαταστάτες. Τα σύμπλοκα μελετήθηκαν ως προς την κυτταροτοξικότητά τους στις καρκινικές κυτταρικές σειρές HeLa (τραχήλου της μήτρας) και MCF-7 (μαστού) για να συγκριθούν τα αποτελέσματα με τη βιβλιογραφία.

Στο **Σχήμα 10.2** παρουσιάζονται οι σιγμοειδείς καμπύλες που προέκυψαν από τα αποτελέσματα της μεθόδου MTT για τα σύμπλοκα  $Re(CO)_3(F-dppz)(cisc)$  και  $Re(CO)_3(dppn)(cisc)$  στις καρκινικές κυτταρικές σειρές MCF-7 και HeLa αντίστοιχα. Οι τιμές  $IC_{50}$  για τα σύμπλοκα του ρηνίου(I) με τα μόρια-παρεμβολείς ως NN υποκαταστάτες παρουσιάζονται στον **Πίνακα 10.2**.



**Σχήμα 10.2.** Καμπύλες MTT από τρία ανεξάρτητα πειράματα για τα σύμπλοκα **(A)**  $Re(CO)_3(F-dppz)(cisc)$  σε κύτταρα MCF-7 και **(B)**  $Re(CO)_3(dppn)(cisc)$  σε κύτταρα HeLa (Εύρος συγκεντρώσεων: 1 mM – 0.001 μM, άξονας x: λογαριθμική κλίμακα συγκεντρώσεων)

**Πίνακας 10.2.** Τιμές  $IC_{50}$  ( $\mu M$ )  $\pm$  τυπική απόκλιση από τρία ανεξάρτητα πειράματα για τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) με τα παρεμβολικά μόρια ως NN διδοτικό υποκαταστάτη

| Ενώσεις                                 | Τιμές $IC_{50}$ ( $\mu M$ )       |                                   |
|-----------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                                         | HeLa                              | MCF-7                             |
| <b>F-dppz</b>                           | 6.74 $\pm$ 4.48                   | 25.73 $\pm$ 4.65                  |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)Br</b>     | 109.80 $\pm$ 33.95                | 50.20 $\pm$ 9.31                  |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(cisc)</b> | <b>6.14 <math>\pm</math> 1.04</b> | <b>0.70 <math>\pm</math> 0.23</b> |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(F-dppz)(PTA)</b>  | <b>9.29 <math>\pm</math> 0.59</b> | <b>8.52 <math>\pm</math> 1.96</b> |
| <b>*dppn</b>                            | –                                 | –                                 |
| <b>*Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)Br</b>      | –                                 | –                                 |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(cisc)</b>   | <b>0.93 <math>\pm</math> 0.21</b> | <b>0.13 <math>\pm</math> 0.55</b> |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(dppn)(PTA)</b>    | 146.90 $\pm$ 47.07                | 36.93 $\pm$ 9.89                  |
| <b>Δοξορουβικίνη</b>                    | 0.32 $\pm$ 0.51                   | **0.009 $\pm$ 0.62                |
| <b>**Σισπλατίνη</b>                     | 6.85 $\pm$ 0.84                   | 22.9 $\pm$ 0.92                   |

\*Δεν ήταν εφικτή η μελέτη της τοξικότητας των dppn και  $Re(CO)_3(dppn)Br$  λόγω κακής διαλυτότητάς τους σε υδατικά διαλύματα

\*\* Οι τιμές  $IC_{50}$  προκύπτουν από βιβλιογραφικές αναφορές<sup>125,126</sup>

Από τον **Πίνακα 10.2** γενικά συμπεραίνουμε τα ακόλουθα:

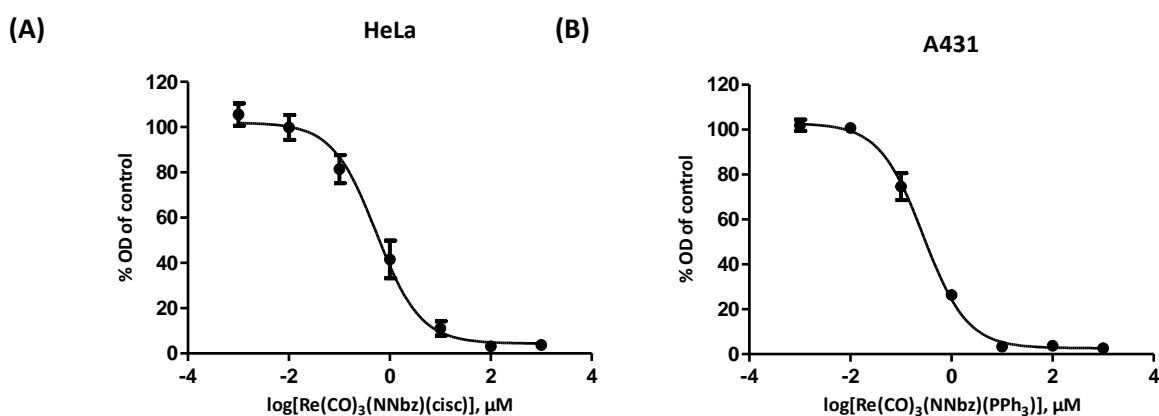
- Σε όλες τις περιπτώσεις και στις δυο κυτταρικές σειρές, τα σύμπλοκα έχουν μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα ( $IC_{50} = 0.13 - 9.29 \mu M$ ) από την προηγούμενη κατηγορία εκτός από τα σύμπλοκα  $Re(CO)_3(F-dppz)Br$  ( $IC_{50} = 50.20 - 109.80 \mu M$ ) και  $Re(CO)_3(dppn)(PTA)$  ( $IC_{50} = 36.93 - 146.90 \mu M$ ) των οποίων η κυτταροτοξικότητα είναι μεγαλύτερη στα HeLa.
- Όταν χρησιμοποιείται για τη συμπλοκοποίηση ο μονοδοτικός υποκαταστάτης cisc, η κυτταροτοξικότητα των συμπλόκων είναι μεγαλύτερη ( $IC_{50} = 0.13 - 6.14 \mu M$ ) σε σχέση με τα υπόλοιπα σύμπλοκα της ίδιας κατηγορίας.



- Είναι άξιο λόγου ότι τα αποτελέσματα προσεγγίζουν σημαντικά αυτά της δοξορουβικίνης ( $IC_{50} = 0.009 - 0.32 \mu M$ )<sup>126</sup> ενώ είναι μικρότερες οι τιμές  $IC_{50}$  από του αντικαρκινικού φαρμάκου της σισπλατίνης ( $IC_{50} = 6.85 - 33.1 \mu M$ ).<sup>125</sup>

Στην τρίτη και τελευταία κατηγορία συμπλόκων του ρηνίου (I) χρησιμοποιήθηκε ως διδοτικός υποκαταστάτης ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου (φαρμακοφόρο). Το βενζοθειαζόλιο, όπως αναφέρεται στην βιβλιογραφία προσδένεται στον EGFR.<sup>92,93</sup> Τα σύμπλοκα αυτής της κατηγορίας μελετήθηκαν σε τρεις καρκινικές κυτταρικές σειρές HeLa (τραχήλου της μήτρας), MCF-7 (μαστού) και στην καρκινική κυτταρική σειρά A431 (επιδερμοειδές καρκίνωμα). Η MCF-7 και η A431 υπερεκφράζουν τον υποδοχέα και για αυτό χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη της κυτταροτοξικής δράσης των συμπλόκων του ρηνίου αυτής της κατηγορίας.

Στο **Σχήμα 10.3** παρουσιάζονται οι σιγμοειδείς καμπύλες που προέκυψαν από τα αποτελέσματα της μεθόδου MTT για τα σύμπλοκα  $Re(CO)_3(NNbz)(cisc)$  και  $Re(CO)_3(NNbz)(PPh_3)$  στις καρκινικές κυτταρικές σειρές HeLa και A431 αντίστοιχα. Οι τιμές  $IC_{50}$  για τα σύμπλοκα του ρηνίου(I) με το παράγωγο του βενζοθειαζολίου ως διδοτικό υποκαταστάτη παρουσιάζονται στον **Πίνακα 10.3**.



**Σχήμα 10.3.** Καμπύλες MTT για τα σύμπλοκα από τρία ανεξάρτητα πειράματα **(A)**  $Re(CO)_3(NNbz)(cisc)$  σε κύτταρα HeLa και **(B)**  $Re(CO)_3(NNbz)(PPh_3)$  σε κύτταρα A431 (Εύρος συγκεντρώσεων:  $1mM - 0.001 \mu M$ , άξονας x: λογαριθμική κλίμακα συγκεντρώσεων)

**Πίνακας 10.3.** Τιμές  $IC_{50}$  ( $\mu M$ )  $\pm$  τυπική απόκλιση από τρία ανεξάρτητα πειράματα για τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) με το παράγωγο του βενζοθειαζολίου ως NN διδοτικό υποκαταστάτη

| Ενώσεις                                          | Τιμές $IC_{50}$ ( $\mu M$ )       |                                   |                                   |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                                                  | HeLa                              | MCF-7                             | A431                              |
| <b>2-(4-αμινοφαινυλ)βενζοθειαζόλιο</b>           | 15.74 $\pm$ 0.94                  | 28.62 $\pm$ 1.37                  | 78.18 $\pm$ 19.52                 |
| <b>NNbz</b>                                      | 69.89 $\pm$ 9.46                  | 65.72 $\pm$ 7.67                  | 45.77 $\pm$ 11.32                 |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)Br</b>                | <b>1.04 <math>\pm</math> 0.43</b> | <b>1.16 <math>\pm</math> 0.33</b> | <b>2.02 <math>\pm</math> 0.57</b> |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(cisc)</b>            | <b>0.54 <math>\pm</math> 0.15</b> | <b>0.50 <math>\pm</math> 0.18</b> | <b>0.56 <math>\pm</math> 0.16</b> |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(PPh<sub>3</sub>)</b> | <b>0.61 <math>\pm</math> 0.13</b> | <b>0.19 <math>\pm</math> 0.09</b> | <b>0.28 <math>\pm</math> 0.09</b> |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(PTA)</b>             | 89.22 $\pm$ 7.59                  | 90.55 $\pm$ 6.25                  | 91.67 $\pm$ 5.13                  |
| <b>Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(py)</b>              | <b>6.28 <math>\pm</math> 1.22</b> | <b>2.21 <math>\pm</math> 0.41</b> | <b>3.00 <math>\pm</math> 0.38</b> |
| <b>Δοξορουβικίνη</b>                             | 0.32 $\pm$ 0.51                   | *0.009 $\pm$ 0.62                 | *0.023 $\pm$ 0.33                 |
| <b>*Σισπλατίνη</b>                               | 6.85 $\pm$ 0.84                   | 22.9 $\pm$ 0.92                   | 33.1 $\pm$ 0.96                   |

\* Οι τιμές  $IC_{50}$  προκύπτουν από βιβλιογραφικές αναφορές<sup>125,126</sup>

Από τις τιμές  $IC_{50}$  που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 10.3** φαίνεται ότι:

- Η συνθετική τροποποίηση του φαρμακοφόρου (2-(4-αμινοφαινυλ)βενζοθειαζόλιο) ( $IC_{50}$  = 15.74 – 69.89  $\mu M$ ) για τη μετατροπή του στον διδοτικό υποκαταστάτη NNbz ( $IC_{50}$  = 45.77 – 78.18  $\mu M$ ), έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της κυτταροτοξικής δράσης του στα HeLa και MCF-7 αλλά την αύξηση της στα A431.
- Η συμπλοκοποίηση με το ρήνιο στην οξειδωτική βαθμίδα (I) και τους διάφορους μονοδοτικούς υποκαταστάτες να συμπληρώνουν τη σφαίρα συναρμογής αυξάνει κατά πολύ την κυτταροτοξική δράση και στις τρεις καρκινικές κυτταρικές σειρές ( $IC_{50}$  = 0.19 – 6.28  $\mu M$ ).
- Σημαντικός φαίνεται να είναι και ο ρόλος του μονοδοτικού υποκαταστάτη. Το σύμπλοκο με το cisc και την PPh<sub>3</sub> ως μονοδοτικούς υποκαταστάτες εμφάνισαν τη μεγαλύτερη κυτταροτοξική δράση σε σχέση με τα υπόλοιπα  $IC_{50}$  = 0.50 – 0.56  $\mu M$ , 0.19 – 0.61  $\mu M$  αντίστοιχα. Ακολουθούν στη σειρά της κυτταροτοξικότητας τα

σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  ( $\text{IC}_{50} = 1.04 - 2.02 \mu\text{M}$ ) και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$  ( $\text{IC}_{50} = 2.21 - 6.28 \mu\text{M}$ ). Το σύμπλοκο με μονοδοτικό υποκαταστάτη το (PTA) εμφανίζει την μικρότερη κυτταροτοξική δράση ( $\text{IC}_{50} = 89.22 - 91.67 \mu\text{M}$ ) που πιθανώς οφείλεται στο γεγονός ότι είναι περισσότερο υδρόφιλος από τους άλλους μονοδοτικούς υποκαταστάτες.

- Τα αποτελέσματα είναι πολύ ενθαρρυντικά γιατί η κυτταροτοξικότητα είναι μεγαλύτερη από τα υπάρχοντα φάρμακα της σισπλατίνης ( $\text{IC}_{50} = 6.85 - 33.1 \mu\text{M}$ )<sup>125</sup> και δοξορουβικίνης ( $\text{IC}_{50} = 0.009 - 0.32 \mu\text{M}$ )<sup>126</sup> καθώς και άλλα μελετημένα σύμπλοκα του ρηνίου.<sup>124,127-129</sup>

### 10.3 Μελέτες αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA

Όλα τα σύμπλοκα φέρουν ως NN υποκαταστάτες πολυαρωματικά επίπεδα μόρια τα οποία δυνητικά μπορούν να παρεμβάλλονται ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA. Για τον έλεγχο της υπόθεσης αυτής, πραγματοποιήθηκαν μελέτες αλληλεπίδρασης όλων των ενώσεων με το DNA. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω κυκλικού διχρωϊσμού, μελετών φθορισμού με βρωμιούχο αιθίδιο και ιξωδομετρία. Λόγω κακής διαλυτότητας του υποκαταστάτη  $\text{drrh}$  και των συμπλόκων  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{drrh})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{drrh})\text{Br}$  σε υδατικά διαλύματα δεν πραγματοποιήθηκαν μελέτες αλληλεπίδρασης τους με το DNA.

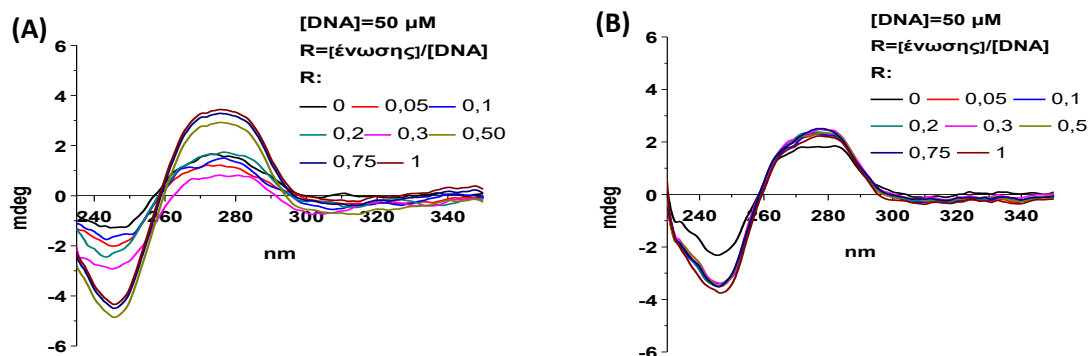
#### 10.3.1 Κυκλικός Διχρωϊσμός (Circular Dichroism, CD)

Οι δομικές αλλαγές του DNA εξετάστηκαν μέσω του κυκλικού διχρωϊσμού για να ερευνηθεί αν οι ενώσεις προκαλούν δομικές αλλαγές στη διπλή έλικα του DNA. Τα φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού ελήφθησαν σε αυξανόμενους λόγους [ένωσης]/[DNA]. Το φάσμα CD της B-δομής του DNA (CT-DNA) αποτελείται από μια αρνητική κορυφή στα 245 nm, που σχετίζεται με την ελικότητα του πολυνουκλεοτιδίου και μια θετική στα 275 nm, που σχετίζεται με τη διεύθυνση των βάσεων του DNA.<sup>131</sup> Με την μελέτη CD διαπιστώνεται το εάν η παρουσία της ένωσης στο διάλυμα προκαλεί αλλαγές στις δυο κορυφές (θετική και αρνητική) του DNA.

Όλα τα σύμπλοκα του ρηνίου είναι μη χειρόμορφα και επομένως δεν παρουσιάζουν φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού ή παρουσιάζουν πολύ ασθενές φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού

στην περίπτωση των οξορρηνικών συμπλόκων  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bry})$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-drrpz})$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{drrpn})$  που φέρουν χειρόμορφο άτομα άνθρακα.

Στο **Σχήμα 10.4** παρουσιάζονται τα φάσματα CD της αλληλεπίδρασης των οξορρηνικών συμπλόκων  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-drrpz})$  και  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{drrpn})$  για αυξανόμενο λόγο  $[\text{ένωσης}]/[\text{DNA}]$ .

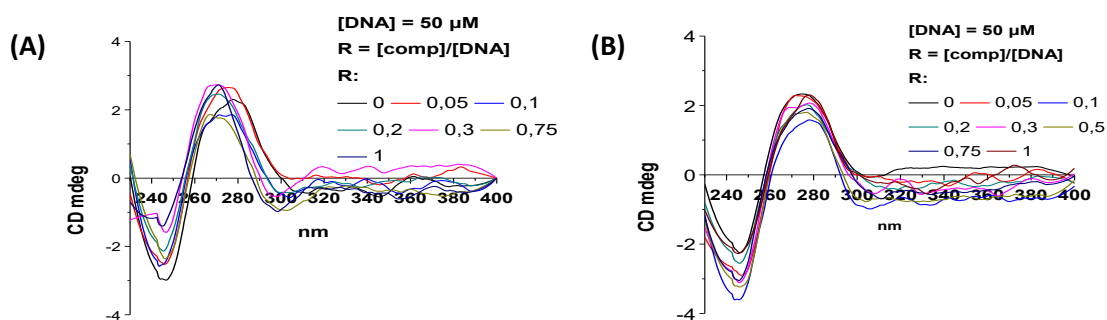


**Σχήμα 10.4.** Φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού του DNA ( $50 \mu\text{M}$ ) με αυξανόμενες ποσότητες των **(A)**  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-drrpz})$ , **(B)**  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{drrpn})$ . Ενδεικτικοί λόγοι  $R = [\text{ένωσης}]/[\text{DNA}]$  παρουσιάζονται στο Σχήμα

Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων του ρηνίου με το CT-DNA είναι αισθητή και για κάποιες από τις ενώσεις αρκετά ισχυρή. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση των  $\text{bry}$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bry})$ ,  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{bry})$  οι αλλαγές στις δυο κορυφές (θετική και αρνητική) του DNA δεν είναι σημαντικές σε σχέση με τις αλλαγές που παρατηρούνται στα σύμπλοκα  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-drrpz})$ ,  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-drrpz})$  και  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{drrpn})$  (**Σχήμα 10.4 (A) και (B)**) όπου φέρουν ως υποκαταστάτες κλασικά μόρια-παρεμβολείς. Είναι εμφανές ότι παρουσία των  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-drrpz})$  και  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-drrpz})$  (**Σχήμα 10.4 (A)**) η θετική και η αρνητική κορυφή του CT-DNA εμφανίζουν σημαντικές αλλαγές. Παρόμοιες αλλαγές στο φάσμα CD της κλασικής B-δομής του DNA παρατηρούνται και στην περίπτωση του  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{drrpn})$  (**Σχήμα 10.4 (B)**). Βέβαια, σε όλα τα σύμπλοκα παραμένει η B-δομή του DNA. Η αύξηση των δυο κορυφών στο φάσμα CD είναι ενδεικτικό ότι μετά την αλληλεπίδραση της ένωσης με το DNA ισχυροποιούνται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βάσεων του DNA (αύξηση θετικής κορυφής) και μειώνεται η ελικότητα του DNA (αύξηση αρνητικής κορυφής). Τα φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού σίγουρα φανερώνουν αλληλεπίδραση των ενώσεων με το DNA.<sup>132,133</sup>

Αυτές οι συμπεριφορές δεν είναι ενδεικτικές για την ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση ή την αλληλεπίδραση στην αύλακα, αλλά είναι ενδεικτικές της κλασικής ενδοπαρεμβολής του μορίου στις βάσεις του DNA.<sup>132,133</sup> Παρόμοιες αλλαγές στο φάσμα CD του DNA παρατηρούνται και στην περίπτωση του αντικαρκινικού φαρμάκου της δοξορουβικίνης που δρα ως μόριο παρεμβολέας.<sup>134,135</sup>

Εν συνεχεία ακολούθησαν μελέτες κυκλικού διχρωϊσμού για τα σύμπλοκα της κατηγορίας 2. Όλα τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) είναι μη χειρόμορφα και δεν εμφανίζουν φάσμα κυκλικού διχρωϊσμού. Τα φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού για τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) με τα μόρια-παρεμβολείς ως NN διδοτικούς υποκαταστάτες παρουσιάζονται στο **Σχήμα 10.5**.

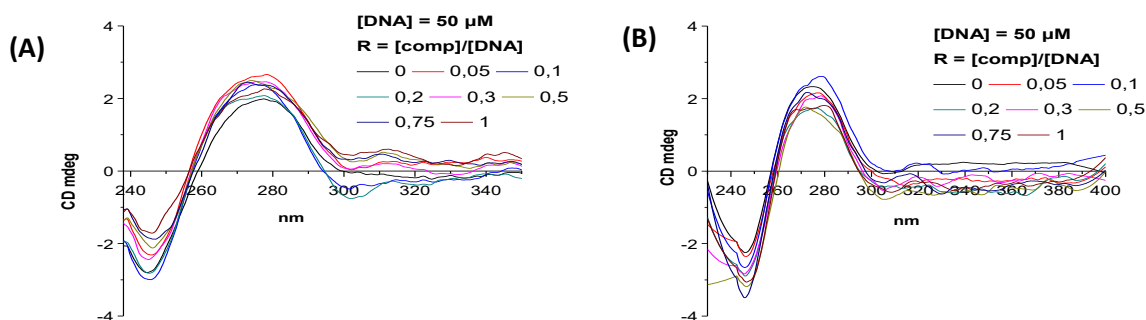


**Σχήμα 10.5.** Φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού του DNA (50 μM) με αυξανόμενες ποσότητες των **(A)**  $Re(CO)_3(F-dppz)(cisc)$ , **(B)**  $Re(CO)_3(dppn)(PTA)$ . Ενδεικτικοί λόγοι  $R = [ένωσης]/[DNA]$  παρουσιάζονται στο Σχήμα

Παρουσία των συμπλόκων  $Re(CO)_3(F-dppz)(cisc)$  και  $Re(CO)_3(dppn)(PTA)$  (**Σχήμα 10.5 (A)** και **(B)** αντίστοιχα) παρατηρείται αύξηση της έντασης τόσο της θετικής όσο και της αρνητικής κορυφής του DNA ένδειξη ότι σταθεροποιείται η B-δομή του DNA. Παρουσία των συμπλόκων  $Re(CO)_3(F-dppz)Br$ ,  $Re(CO)_3(F-dppz)(PTA)$ ,  $Re(CO)_3(dppn)(cisc)$  παρατηρούνται μικρότερες αλλαγές στα φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού χωρίς όμως να θεωρούνται αμελητέες αλλά ενδεικτικές της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA.

Και σε αυτήν την περίπτωση οι αλλαγές είναι ενδεικτικές της κλασικής ενδοπαρεμβολής του μορίου στις βάσεις του με το DNA.<sup>132,133</sup>

Αντίστοιχα, τα φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού για τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) με το παράγωγο του βενζοθειαζολίου ως NN υποκαταστάτη και την  $PPh_3$  ή το PTA ως μονοδοτικό υποκαταστάτη (κατηγορία 3) παρουσιάζονται στο **Σχήμα 10.6**.



**Σχήμα 10.6.** Φάσματα κυκλικού διχρωϊσμού του DNA (50  $\mu\text{M}$ ) με αυξανόμενες ποσότητες των **(A)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και **(B)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ . Ενδεικτικοί λόγοι  $R = [\text{ένωσης}]/[\text{DNA}]$  παρουσιάζονται στο Σχήμα

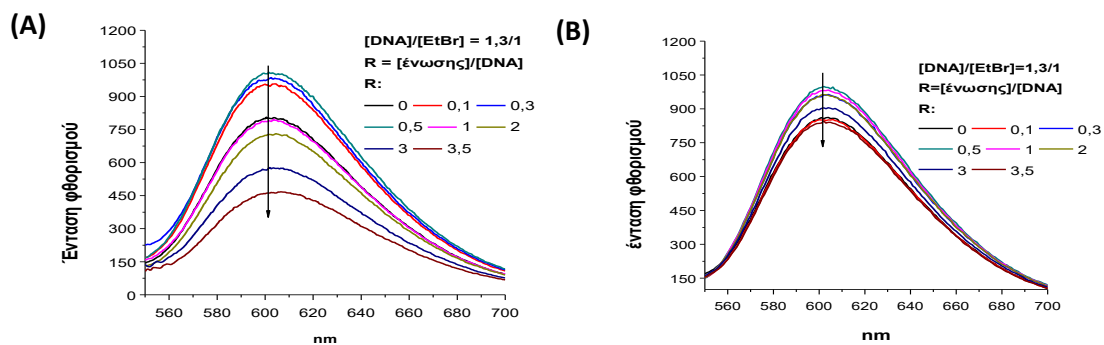
Και σε αυτήν την περίπτωση στην πλειονότητα των συμπλόκων του ρηνίου παρατηρήθηκε αύξηση (από μικρή έως μεγαλύτερη) τόσο της θετικής όσο και της αρνητικής κορυφής του DNA, ενδεικτική της ενδοπαρεμβολής του μορίου στα ζεύγη βάσεων του DNA.<sup>132,133</sup>

Σε όλες τις περιπτώσεις για να κατανοηθεί καλύτερα ο τρόπος δράσης των συμπλόκων αυτών με το CT-DNA, ακολούθησαν ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού με το βρωμιούχο αιθίδιο και μελέτες ιζωδομετρίας.

### 10.3.2 Ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού μέσω του βρωμιούχο αιθιδίου (EtBr) ως κλασικός παρεμβολέας

Με σκοπό να διερευνηθεί περαιτέρω ο τρόπος αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το DNA πραγματοποιήθηκε πείραμα ανταγωνιστικών μελετών φθορισμού με τη χρήση του βρωμιούχο αιθιδίου. Το EtBr είναι ένας από τους πιο ευαίσθητους και κοινούς «ανιχνευτές» του DNA μέσω φθορισμού. Το EtBr μπορεί να συνδεθεί με το DNA μέσω ενδοπαρεμβολής λόγω του επίπεδου φαινανθριδινικού δακτυλίου ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων της διπλής έλικας του DNA. Με την ενδοπαρεμβολή του μορίου αυτού στο DNA ενισχύεται ο φθορισμός του.

Στο **Σχήμα 10.7** παρουσιάζονται οι ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού των συμπλόκων  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{bpy})$  και  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppn})$  σε λόγο  $[\text{DNA}]/[\text{EtBr}]=1.3/1$ .

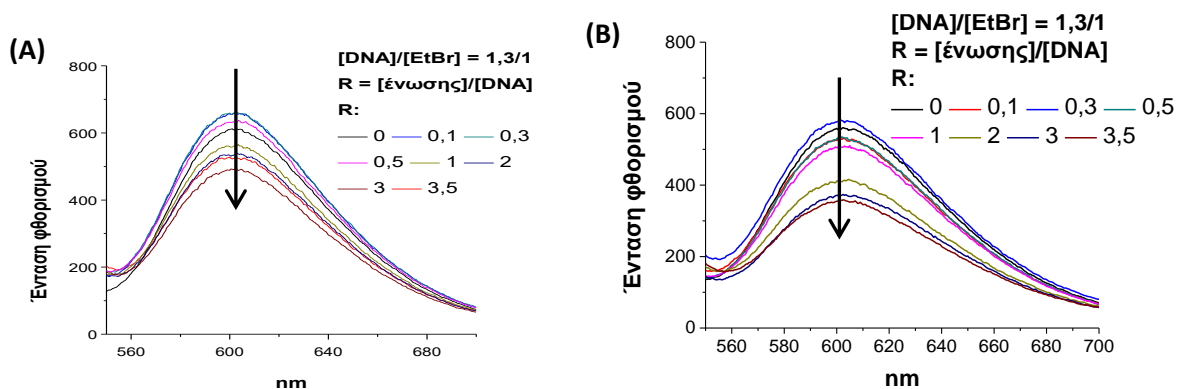


**Σχήμα 10.7.** Ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού του DNA-EtBr με αυξανόμενες ποσότητες **(A)**  $ReO(SNO)(bpy)$  και **(B)**  $ReO(CH_3-SNO)(dppn)$  σε λόγο  $[DNA]/[EtBr]=1.3/1$  (μήκος κύματος διέγερσης=526 nm, μήκος κύματος εκπομπής =601 nm. Ενδεικτικοί λόγοι  $R = [συμπλόκου]/[DNA]$  παρουσιάζονται στο Σχήμα

Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 10.7**, υπάρχει μια σημαντική διαφοροποίηση στην αλληλεπίδραση των ενώσεων με το σύμπλεγμα «DNA-EtBr». Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία<sup>136</sup> οι ενώσεις που παρεμβάλλονται στα ζεύγη βάσεων του DNA εκτοπίζουν το βρωμιούχο αιθίδιο από την θέση του και μειώνουν την ένταση του φθορισμού του. Είναι εμφανές στο **Σχήμα 10.7** ότι η παρουσία αυξανόμενων λόγων  $[ένωσης]/[DNA]$  προκαλεί έντονη μείωση στον φθορισμό του DNA ήδη από μικρούς λόγους R. Στην περίπτωση των συμπλόκων του ρηγίου  $ReO(CH_3-SNO)(bpy)$ ,  $ReO(SNO)(bpy)$ ,  $ReO(CH_3-SNO)(F-dppz)$ ,  $ReO(CH_3-SNO)(dppn)$  η ένταση φθορισμού του βρωμιούχου αιθιδίου μειώνεται σε υψηλούς λόγους, R (βλ. **Σχήμα 10.7 (A)**). Οι ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού με το EtBr επιβεβαιώνουν την αλληλεπίδραση όλων των ενώσεων με το DNA μέσω ενδοπαρεμβολής στις βάσεις του DNA.

Όμοια διαδικασία ακολουθήθηκε και στα σύμπλοκα  $Re(CO)_3(F-dppz)Br$ ,  $Re(CO)_3(F-dppz)(cisc)$ ,  $Re(CO)_3(F-dppz)(PTA)$ ,  $Re(CO)_3(dppn)(cisc)$  και  $Re(CO)_3(dppn)(PTA)$  (κατηγορία 2) που φέρουν ως μόρια-παρεμβολείς το F-dppz ή dppn ως διδοτικούς υποκαταστάτες. Τα φάσματα φθορισμού για τα σύμπλοκα  $Re(CO)_3(F-dppz)(cisc)$  και  $Re(CO)_3(dppn)(cisc)$  παρουσιάζονται στο **Σχήμα 10.8 (A), (B)** αντίστοιχα. Είναι εμφανής η μείωση της έντασης φθορισμού του EtBr με την προσθήκη των συμπλόκων  $Re(CO)_3(F-dppz)(cisc)$  και  $Re(CO)_3(dppn)(cisc)$ . Για τα υπόλοιπα σύμπλοκα της ίδιας κατηγορίας ομοίως παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της έντασης φθορισμού του EtBr στο σύστημα DNA-EtBr ήδη από χαμηλές συγκεντρώσεις. Συνεπώς, και σε αυτήν την περίπτωση είναι φανερός ο απεντοπισμός του βρωμιούχου αιθιδίου από τις υπό μελέτη ενώσεις και

παρέχεται ισχυρή ένδειξη για την ενδοπαρεμβολή των συμπλόκων της κατηγορίας αυτής ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA.

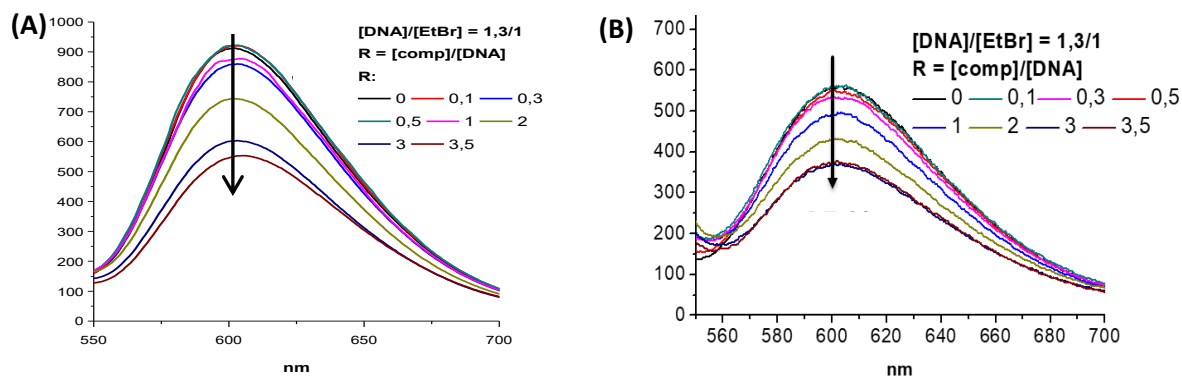


**Σχήμα 10.8.** Ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού του DNA-EtBr με αυξανόμενες ποσότητες **(A)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})$  και **(B)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})$  σε λόγο  $[\text{DNA}]/[\text{EtBr}] = 1,3/1$  (μήκος κύματος διέγερσης = 526 nm, μήκος κύματος εκπομπής = 601 nm. Ενδεικτικοί λόγοι  $R = [\text{συμπλόκου}]/[\text{DNA}]$  παρουσιάζονται στο Σχήμα

Αντίστοιχα, οι ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού για τα σύμπλοκα της κατηγορίας 3 παρουσιάζονται στο **Σχήμα 10.9**.

Κατά την προσθήκη των συμπλόκων  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  στο σύστημα «DNA-EtBr» (**Σχήμα 10.9 (A), (B)**) παρατηρείται μείωση του φθορισμού του βρωμιούχου αιθιδίου. Όπως και στις προαναφερθείσες κατηγορίες συμπλόκων, τα αποτελέσματα φανερώνουν ισχυρή πρόσδεση των συμπλόκων με το DNA μέσω ενδοπαρεμβολής. Αντίστοιχα, παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για τα υπόλοιπα σύμπλοκα. Συνεπώς, και στην κατηγορία 3 παρατηρήθηκε αντικατάσταση του βρωμιούχου αιθιδίου με τα υπό μελέτη σύμπλοκα ενδεικτικό της ενδοπαρεμβολής αυτών στα ζεύγη βάσεων του DNA.





**Σχήμα 10.9.** Ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού του DNA-EtBr με αυξανόμενες ποσότητες **(A)**  $Re(CO)_3(NNbz)(py)$  και **(B)**  $Re(CO)_3(NNbz)(PPh_3)$ , σε λόγο  $[DNA]/[EtBr]=1.3/1$  (μήκος κύματος διέγερσης=526 nm, μήκος κύματος εκπομπής =601 nm. Ενδεικτικοί λόγοι  $R = [συμπλόκου]/[DNA]$  παρουσιάζονται στο Σχήμα (άξονας x: ένταση φθορισμού)

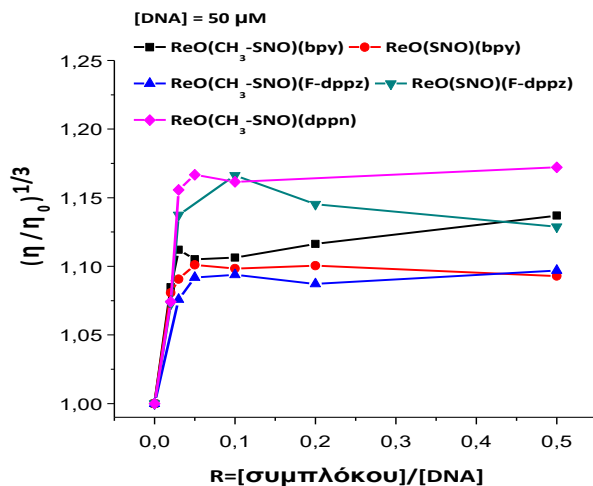
Και οι τρεις κατηγορίες συμπλόκων εξετάστηκαν με την μέθοδο της ιζωδομετρίας για περαιτέρω επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων CD και φθορισμού με EtBr.

### 10.3.3 Ιζωδομετρία

Οι μετρήσεις ιζώδους θεωρούνται μία από τις πιο αξιόπιστες μεθόδους για την εκτίμηση του τρόπου δέσμευσης του DNA ελλείψει δομικών δεδομένων υψηλής ανάλυσης. Οι παρεμβολείς αυξάνουν το μήκος του DNA οδηγώντας σε αυξημένο ιζώδες του διαλύματος DNA, ενώ οι ενώσεις που αλληλεπιδρούν μέσω αύλακας με το DNA τυπικά προκαλούν λιγότερο έντονη ή καθόλου μεταβολή στο ιζώδες του διαλύματος DNA.<sup>137</sup> Κατά την ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση του μορίου στην έλικα του DNA προκαλείται κάμψη ή στρέβλωση της έλικας του DNA, και το μήκος του και κατ' επέκταση το ιζώδες του θα μειωθεί.<sup>138</sup> Οι μετρήσεις του ιζώδους πραγματοποιήθηκαν σε DNA θύμου αδένου βοοειδούς με αυξανόμενους λόγους  $R = [ένωσης]/[DNA]$ , συγκεκριμένα τους 0.0, 0.02, 0.03, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5. Οι τιμές του σχετικού ειδικού ιζώδους  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  (όπου  $\eta$  είναι το ιζώδες του DNA παρουσία των υπό μελέτη ενώσεων και  $\eta_0$  είναι το ιζώδες του DNA) συναρτήσεως του R σύμφωνα με τη θεωρία του Cohen και Eisenberg<sup>106</sup> παρουσιάζονται στα παρακάτω Σχήματα.

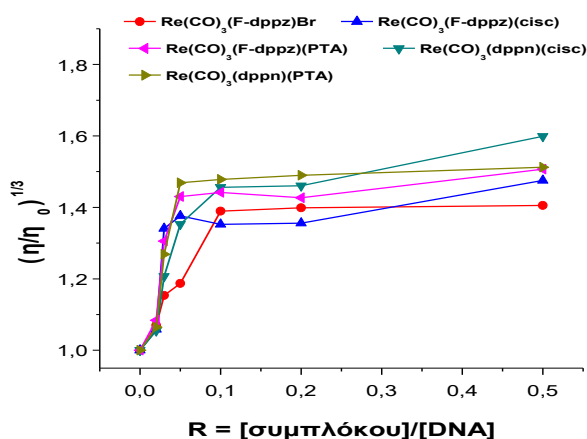
Στο **Σχήμα 10.10** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ιζωδομετρίας για τα σύμπλοκα του οξορρηνικού πυρήνα. Όπως γίνεται φανερό τα σύμπλοκα με οξορρηνικό πυρήνα κατά την αλληλεπίδρασή τους με το DNA προκαλούν αύξηση του ιζώδους του DNA σε συμφωνία

με τον μηχανισμό ενδοπαρεμβολής ανάμεσα στις βάσεις του. Οι τιμές του ιξώδους είναι συγκρίσιμες με τις τιμές ιξώδους που έχουν βρεθεί στην δοξορουβικίνη ( $(\eta/\eta_0)^{1/3} = 1.28$ ).<sup>134</sup>

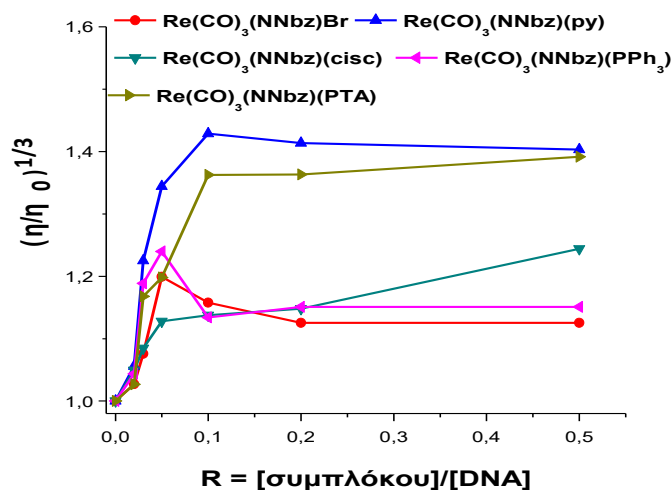


**Σχήμα 10.10.** Μετρήσεις ιξωδομετρίας για τα σύμπλοκα του οξορρηνικού πυρήνα ([DNA] = 50 μM)

Αντίστοιχα οι μελέτες ιξωδομετρίας για τα σύμπλοκα του ρηνίου (I) της κατηγορίας 2 και 3 παρουσιάζονται στα **Σχήματα 10.11** και **10.12** αντίστοιχα. Όπως γίνεται φανερό από τα **Σχήματα 10.11** και **10.12** τα σχετικά ιξώδη του DNA αυξάνονται σε όλα τα σύμπλοκα και των δυο κατηγοριών (κατηγορίες 2 και 3).



**Σχήμα 10.11.** Μετρήσεις ιξωδομετρίας για τα σύμπλοκα του Re(I) που φέρουν μόρια - παρεμβολείς ως NN υποκαταστάτες ([DNA] = 50 μM)



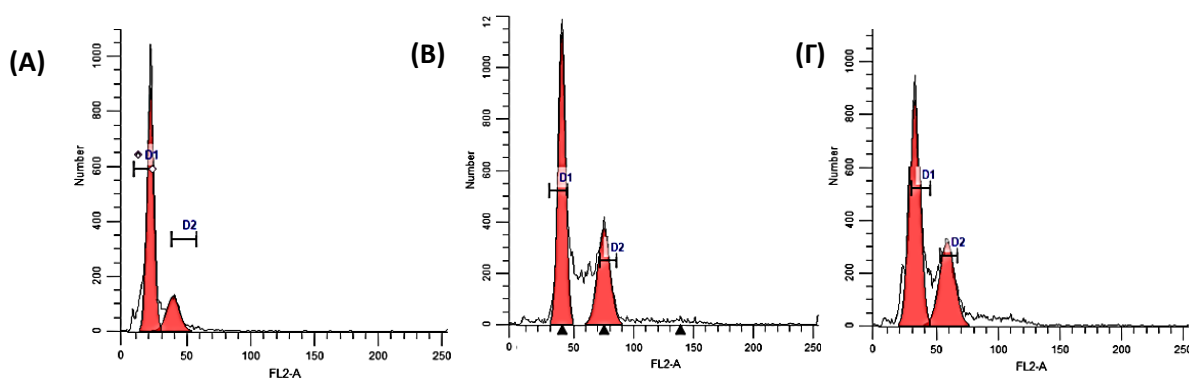
**Σχήμα 10.12.** Μετρήσεις ιξωδομετρίας για τα σύμπλοκα του  $Re(I)$  που φέρουν παράγωγο του βενζοθειαζολίου ως NN υποκαταστάτη ( $[DNA] = 50 \mu M$ )

Συμπερασματικά, λαμβάνοντας υπόψη και τις άλλες τεχνικές (κυκλικό διχρωϊσμό και ανταγωνιστικές μελέτες φθορισμού) τα αποτελέσματα συνηγορούν στο ότι τα σύμπλοκα και των τριών κατηγοριών αλληλεπιδρούν ισχυρά με το DNA χωρίς σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ τους. Οι ενδείξεις δείχνουν μηχανισμό ενδοπαρεμβολής των συμπλόκων ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA.

Αφού ολοκληρώθηκαν τα πειράματα προσδιορισμού κυτταροτοξικότητας και μελετών αλληλεπίδρασης των ενώσεων του DNA ξεκίνησαν βιολογικά πειράματα για να προσδιορισθεί όσο αυτό είναι εφικτό ο τρόπος δράσης τους. Στη βιβλιογραφία η μελέτη αυτή ξεκινάει από έναν από τους πολλούς βασικούς μηχανισμούς, τις μελέτες κυτταρικού κύκλου.

#### 10.4 Μελέτες κυτταρικού κύκλου

Οι μελέτες κυτταρικού κύκλου πραγματοποιήθηκαν αρχικά για τα σύμπλοκα  $Re(CO)_3(NNbz)Br$ ,  $Re(CO)_3(NNbz)(cisc)$ ,  $Re(CO)_3(NNbz)(PPh_3)$ ,  $Re(CO)_3(NNbz)(PTA)$  και  $Re(CO)_3(NNbz)(py)$  σε δυο καρκινικές κυτταρικές σειρές και συγκεκριμένα σε HeLa (τραχήλου της μήτρας) και MCF-7 (μαστού). Τα διαγράμματα κυτταρικού κύκλου για την καρκινική κυτταρική σειρά HeLa φαίνονται στο **Σχήμα 10.13** καθώς και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται συνοπτικά στον **Πίνακα 10.4**.

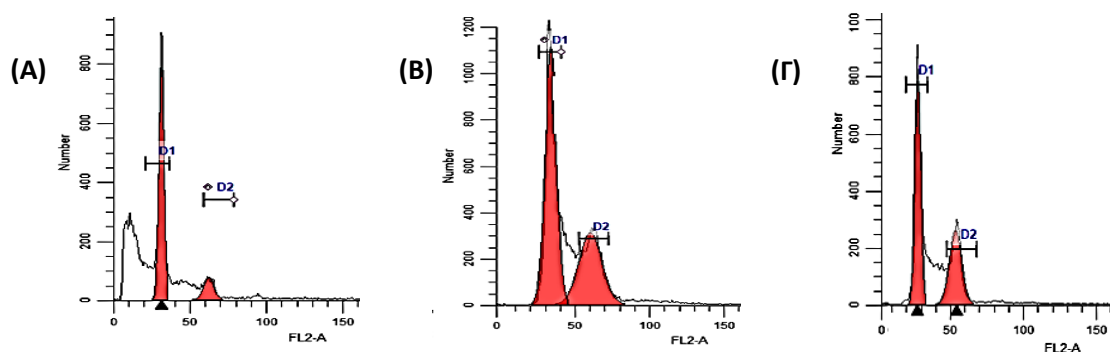


**Σχήμα 10.13.** Ανάλυση Κυτταρικού Κύκλου κυττάρων HeLa **(Α)** απουσία (μάρτυρας) και παρουσία των ενώσεων **(Β)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{cisc}$ , **(Γ)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{PPh}_3$ , ύστερα από επώαση 72 h σε συγκέντρωση ίση ως προς το  $\text{IC}_{50}$  της αντίστοιχης ένωσης. Τα διαγράμματα είναι αντιπροσωπευτικά των 3 ανεξάρτητων πειραμάτων που έλαβαν χώρα

**Πίνακας 10.4.** Προσδιορισμός του % ποσοστού κατανομής των κυττάρων HeLa στις φάσεις του κυτταρικού κύκλου με κυτταρομετρία ροής (FACS) ύστερα από επώαση 72 h με τις υπό μελέτη ενώσεις. Κάθε τιμή αποτελεί το μέσο όρο 3 πειραμάτων  $\pm$  τυπική απόκλιση (~10.000 γεγονότα ανά κύκλο)

| Ένωση                                               | Φάσεις κυτταρικού κύκλου           |                                    |                                    |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
|                                                     | G1 (%)                             | S (%)                              | G2/M (%)                           |
| control                                             | 76.94 $\pm$ 0.65                   | 14.42 $\pm$ 4.33                   | 10.56 $\pm$ 5.05                   |
| NNbz                                                | 70.72 $\pm$ 2.88                   | <b>20.54 <math>\pm</math> 0.60</b> | 9.71 $\pm$ 0.72                    |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$      | 73.73 $\pm$ 3.52                   | 15.82 $\pm$ 2.87                   | 10.24 $\pm$ 0.12                   |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  | <b>80.19 <math>\pm</math> 0.85</b> | 3.02 $\pm$ 1.40                    | 17.76 $\pm$ 2.24                   |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$ | 69.54 $\pm$ 3.61                   | 9.41 $\pm$ 1.58                    | <b>21.70 <math>\pm</math> 1.90</b> |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$   | 69.57 $\pm$ 3.38                   | 9.29 $\pm$ 1.62                    | <b>21.19 <math>\pm</math> 1.74</b> |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$    | 69.37 $\pm$ 1.53                   | 17.83 $\pm$ 0.42                   | 13.15 $\pm$ 0.42                   |

Αντίστοιχα, τα διαγράμματα κυτταρικού κύκλου για την καρκινική κυτταρική σειρά MCF-7 φαίνονται στο **Σχήμα 10.14** καθώς και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται συνοπτικά στον **Πίνακα 10.5**.



**Σχήμα 10.14.** Ανάλυση Κυτταρικού Κύκλου κυττάρων MCF-7 **(Α)** απουσία (μάρτυρας) και παρουσία των ενώσεων **(Β)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{cis}$ , **(Γ)**  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{PPh}_3$ , ύστερα από επώαση 72 h σε συγκέντρωση ίση ως προς το  $\text{IC}_{50}$  της αντίστοιχης ένωσης. Τα διαγράμματα είναι αντιπροσωπευτικά των 3 ανεξάρτητων πειραμάτων που έλαβαν χώρα

**Πίνακας 10.5.** Προσδιορισμός του % ποσοστού κατανομής των κυττάρων MCF-7 στις φάσεις του κυτταρικού κύκλου με κυτταρομετρία ροής (FACS) ύστερα από επώαση 72 h με τις υπό μελέτη ενώσεις. Κάθε τιμή αποτελεί το μέσο όρο 3 πειραμάτων  $\pm$  τυπική απόκλιση (~10.000 γεγονότα ανά κύκλο)

| Ένωση                                               | Φάσεις κυτταρικού κύκλου           |                  |                                   |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------------------------------|
|                                                     | G1 (%)                             | S (%)            | G2/M (%)                          |
| control                                             | 76.02 $\pm$ 2.14                   | 17.42 $\pm$ 1.23 | 7.36 $\pm$ 0.79                   |
| NNbz                                                | 74.16 $\pm$ 4.03                   | 19.11 $\pm$ 2.70 | 6.77 $\pm$ 1.25                   |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$      | 76.82 $\pm$ 3.37                   | 16.02 $\pm$ 3.30 | 8.06 $\pm$ 1.01                   |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cis})$   | <b>83.36 <math>\pm</math> 0.73</b> | 4.18 $\pm$ 1.86  | <b>13.7 <math>\pm</math> 1.30</b> |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$ | 71.06 $\pm$ 2.99                   | 13.96 $\pm$ 5.24 | <b>15.7 <math>\pm</math> 2.30</b> |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$   | 71.84 $\pm$ 3.60                   | 18.82 $\pm$ 2.84 | 9.67 $\pm$ 1.58                   |
| $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$    | 74.30 $\pm$ 1.63                   | 17.22 $\pm$ 0.85 | <b>9.53 <math>\pm</math> 0.88</b> |

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στους Πίνακες 10.4 και 10.5 είναι φανερό ότι:

- Στην κυτταρική σειρά HeLa ο υποκαταστάτης NNbz προκαλεί την αύξηση του κυτταρικού πληθυσμού στην S φάση, αποτέλεσμα που δεν παρατηρείται στην MCF-7.

- Η παρουσία του μονοδοτικού υποκαταστάτη *cisc* προκαλεί διατάραξη του κυτταρικού κύκλου και στις δύο κυτταρικές σειρές. Συγκεκριμένα, αυξάνεται στατιστικά σημαντικά ο κυτταρικός πληθυσμός στην G1 και η τάση αύξησης του κυτταρικού πληθυσμού παραμένει και στη φάση G2/M του κυτταρικού κύκλου.
- Για το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  υπάρχει η τάση αύξησης του κυτταρικού πληθυσμού στη φάση G2/M στην κυτταρική σειρά MCF-7.
- Στη σειρά HeLa ο κυτταρικός πληθυσμός στην G2/M φάση αυξάνεται στατιστικά σημαντικά στα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ . Στη σειρά MCF-7 η αύξηση αυτή είναι στατιστικά σημαντική στα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$ .
- Στην κυτταρική σειρά HeLa φαίνεται ότι όπου εμφανίζονται οι μονοδοτικοί υποκαταστάτες  $\text{PPh}_3$ , PTA και *py* μειώνεται στατιστικά σημαντικά ο κυτταρικός πληθυσμός στην G1 φάση. Τάση για μείωση εμφανίζεται και στην MCF-7 για τα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ .
- Τέλος, η τάση αύξησης του κυτταρικού πληθυσμού στην S φάση που παρουσιάζει ο υποκαταστάτης NNbz στην κυτταρική σειρά HeLa εμφανίζεται όταν έχουμε ως μονοδοτικό υποκαταστάτη την *py*.

---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11

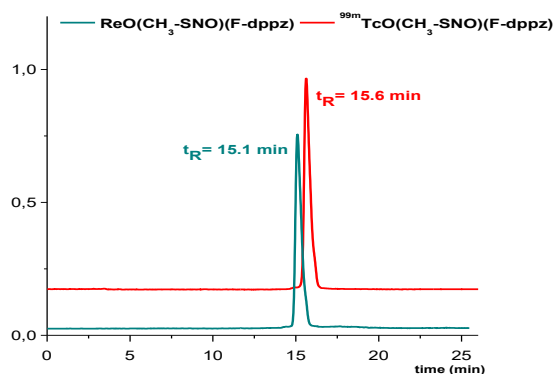
### ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΗΤΙΟ-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ )

---

Ο στόχος της μεταφοράς των αποτελεσμάτων από το επίπεδο του ρηνίου σε ραδιενεργό επίπεδο τεχνητίου-99m είναι για να μελετηθεί και να κατανοηθεί η *in vivo* βιοκατανομή των συμπλόκων του ρηνίου εκμεταλλευόμενοι τη «συγγένεια» τους με το τεχνητίο-99m.<sup>139-144</sup>

#### 11.1 Σύνθεση συμπλόκου του τεχνητίου-99m στην οξειδωτική βαθμίδα (V)

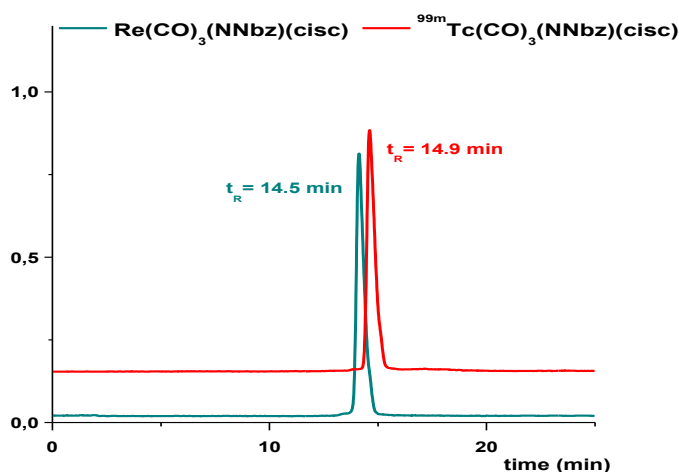
Τα αποτελέσματα από το μακροσκοπικό επίπεδο του συμπλόκου  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  μεταφέρθηκαν επιτυχώς σε επίπεδο ραδιενεργού τεχνητίου-99m παρασκευάζοντας το σύμπλοκο  $^{99m}\text{TcO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$ . Για τη σύνθεση του συμπλόκου χρησιμοποιήθηκε ως πρόδρομο σύμπλοκο το  $^{99m}\text{TcO}$ -γλυκοεπτονικό. Η αντίδραση του διδοτικού υποκαταστάτη F-dppz και του τριδοτικού υποκαταστάτη ( $\text{CH}_3\text{-SNO}$ ) με τον οξο-πυρήνα του τεχνητίου οδήγησε στο σχηματισμό του  $^{99m}\text{TcO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$ . Η επισήμανση για το μικτό σύμπλοκο «3 + 2» είχε χαμηλή απόδοση (25%). Η σύγκριση του χρόνου έκλουσης ( $t_R$ ) του  $^{99m}\text{TcO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  με το αντίστοιχο σύμπλοκο του ρηνίου  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$ , χρησιμοποιώντας διπλή ραδιομετρική ( $^{99m}\text{Tc}$ - $\gamma$  ακτινοβολία) και φωτομετρική (Re-UV) ανίχνευση επιβεβαίωσε το σχηματισμό συμπλόκων ίδιας δομής (Σχήμα 11.1).



**Σχήμα 11.1.** Συγκριτική χρωματογραφία  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  (UV) και  $^{99m}\text{TcO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  ( $\gamma$ -ακτινοβολία)

## 11.2 Σύνθεση συμπλόκου του τεχνητίου-99m στην οξειδωτική βαθμίδα (I)

Τα αποτελέσματα από το μακροσκοπικό επίπεδο του συμπλόκου  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  μεταφέρθηκαν επιτυχώς σε επίπεδο ραδιενεργού τεχνητίου-99m παρασκευάζοντας το σύμπλοκο  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ . Για την σύνθεση του συμπλόκου χρησιμοποιήθηκε ως πρόδρομο σύμπλοκο το  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{OH}_2)_3]^+$ . Η αντίδραση του διδοτικού υποκαταστάτη NNbz και του μονοδοτικού υποκαταστάτη (cisc) με το πρόδρομο σύμπλοκο του τεχνητίου-99m οδήγησε στο σχηματισμό του  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ . Το σύμπλοκο συντέθηκε σε υψηλή απόδοση (> 95%) και χαρακτηρίστηκε με συγκριτική χρωματογραφία HPLC μέσω του αντίστοιχου συμπλόκου του ρηνίου,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ , ως ένωση αναφοράς. Η διπλή ραδιομετρική ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - $\gamma$  ακτινοβολία) και φωτομετρική (Re-UV) ανίχνευση επιβεβαίωσε το σχηματισμό συμπλόκων ίδιας δομής (Σχήμα 11.2).

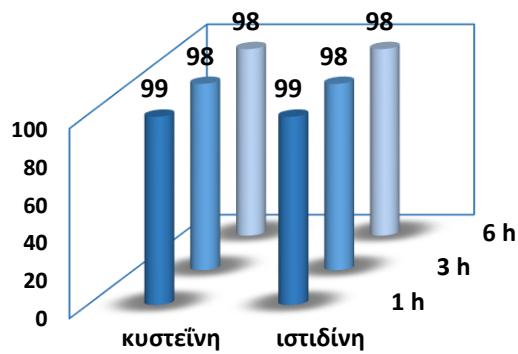


**Σχήμα 11.2.** Συγκριτική χρωματογραφία  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  (UV) και  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  ( $\gamma$ -ακτινοβολία)

## 11.3 Μελέτες σταθερότητας χρησιμοποιώντας ως ανταγωνιστές την κυστεΐνη και την ιστιδίνη

Ακολούθησαν μελέτες σταθερότητας με ανταγωνιστές την κυστεΐνη και την ιστιδίνη σε χρονικά διαστήματα 1, 3 και 6 h στους 37 °C. Το σύμπλοκο  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  ήταν εξαιρετικά σταθερό (>98%) στην πάροδο του χρόνου (Σχήμα 11.3).





**Σχήμα 11.3.** Διάγραμμα μελετών σταθερότητας για το σύμπλοκο  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$

#### 11.4 Μελέτη λιποφιλικότητας

Η λιποφιλικότητα του συμπλόκου  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  αξιολογήθηκε με προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής (P), η-οκτανόλη / 0,1 M φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα pH = 7.4. Οι μετρήσεις έδειξαν ότι το σύμπλοκο είναι λιπόφιλο με συντελεστή κατανομής  $\log P_{o/PBS} = 2.70$ .

---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12

### IN VIVO ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

---

#### 12.1 Μελέτες βιοκατανομής σε υγιή Swiss Albino ποντίκια

Αντίστοιχα, εξετάστηκε η *in vivo* συμπεριφορά του  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  μέσω του αντίστοιχου συμπλόκου του τεχνητίου-99m,  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  σε χρονικά διαστήματα 5, 60 και 240 λεπτά όπως αυτά παρουσιάζονται από τον **Πίνακα 12.1** και **Σχήμα 12.1**.

**Πίνακας 12.1.** . Αποτελέσματα μελετών βιοκατανομής για το  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  εκφρασμένα ως %ID/g  $\pm$  (SD) σε υγιή ποντίκια

| Όργανα    | Μέση τιμή % ενέσιμης δόσης ανά g (%ID/g) |                  |                  |
|-----------|------------------------------------------|------------------|------------------|
|           | 5 min                                    | 60 min           | 240 min          |
| ΑΙΜΑ      | 3.31 $\pm$ 1.09                          | 0.90 $\pm$ 0.44  | 0.25 $\pm$ 0.01  |
| ΗΠΑΡ      | 34.23 $\pm$ 7.07                         | 22.26 $\pm$ 3.60 | 14.04 $\pm$ 3.47 |
| ΚΑΡΔΙΑ    | 1.59 $\pm$ 0.14                          | 1.06 $\pm$ 0.05  | 0.84 $\pm$ 0.12  |
| ΝΕΦΡΟΙ    | 12.74 $\pm$ 1.90                         | 10.25 $\pm$ 0.90 | 6.86 $\pm$ 1.80  |
| ΣΤΟΜΑΧΙ   | 0.96 $\pm$ 0.60                          | 0.80 $\pm$ 0.20  | 0.77 $\pm$ 0.28  |
| ΕΝΤΕΡΑ    | 1.51 $\pm$ 0.17                          | 10.73 $\pm$ 1.01 | 18.89 $\pm$ 3.33 |
| ΣΠΛΗΝΑ    | 2.81 $\pm$ 0.69                          | 1.53 $\pm$ 0.21  | 1.46 $\pm$ 0.32  |
| ΜΥΣ       | 0.43 $\pm$ 0.08                          | 0.43 $\pm$ 0.04  | 0.40 $\pm$ 0.16  |
| ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ | 5.32 $\pm$ 1.12                          | 1.58 $\pm$ 0.26  | 1.01 $\pm$ 0.09  |
| ΠΑΓΚΡΕΑΣ  | 1.50 $\pm$ 0.30                          | 1.10 $\pm$ 0.07  | 0.91 $\pm$ 0.14  |
| ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ | 0.10 $\pm$ 0.01                          | 0.04 $\pm$ 0.01  | 0.03 $\pm$ 0.00  |

Οι *in vivo* μελέτες δείχνουν ότι υπάρχει γρήγορη αιματική κάθαρση και απέκκριση από το ηπατοχολικό σύστημα. Επίσης, δεν παρατηρείται αυξημένη ποσότητα ραδιενέργειας στο στομάχι και στη σπλήνα, γεγονός που είναι ενδεικτικό ότι το σύμπλοκο δεν οξειδώνεται σε υπερτεχνητικό ή κolloειδές τεχνητίο.

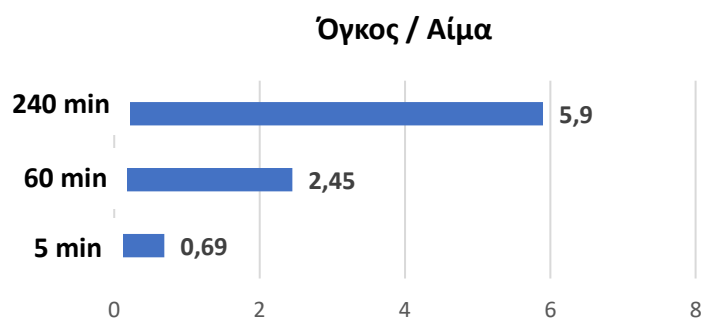
## 12.2 Μελέτες βιοκατανομής σε SCID ποντίκια που φέρουν όγκο (A431)

Εν συνεχεία, διερευνήθηκε η βιοκατανομή του συμπλόκου  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  σε ποντίκια που φέρουν επιδερμοειδές καρκίνωμα (A431). Τα αποτελέσματα βιοκατανομής παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.2 και Σχήμα 12.1.

**Πίνακας 12.2.** Αποτελέσματα μελετών βιοκατανομής για το  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  εκφρασμένα ως %ID/g  $\pm$  (SD) σε ανοσοκατεσταλμένα SCID ποντίκια που φέρουν επιδερμοειδές καρκίνωμα

| Όργανα       | Μέση τιμή % ενέσιμης δόσης ανά g (%ID/g) |                  |                  |
|--------------|------------------------------------------|------------------|------------------|
|              | 5 min                                    | 60 min           | 240 min          |
| ΑΙΜΑ         | 4.13 $\pm$ 0.42                          | 0.64 $\pm$ 0.12  | 0.20 $\pm$ 0.04  |
| ΗΠΑΡ         | 45.23 $\pm$ 0.94                         | 23.93 $\pm$ 2.74 | 9.63 $\pm$ 2.77  |
| ΚΑΡΔΙΑ       | 3.84 $\pm$ 0.43                          | 2.17 $\pm$ 0.21  | 1.69 $\pm$ 0.33  |
| ΝΕΦΡΟΙ       | 28.08 $\pm$ 3.97                         | 25.26 $\pm$ 1.66 | 17.04 $\pm$ 6.12 |
| ΣΤΟΜΑΧΙ      | 2.58 $\pm$ 0.80                          | 1.82 $\pm$ 0.30  | 1.36 $\pm$ 0.44  |
| ΕΝΤΕΡΑ       | 4.30 $\pm$ 0.63                          | 25.23 $\pm$ 0.78 | 37.13 $\pm$ 9.15 |
| ΣΠΛΗΝΑ       | 3.12 $\pm$ 0.45                          | 2.59 $\pm$ 0.36  | 1.34 $\pm$ 0.45  |
| ΜΥΣ          | 0.89 $\pm$ 0.15                          | 0.56 $\pm$ 0.12  | 0.48 $\pm$ 0.09  |
| ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ    | 5.01 $\pm$ 1.19                          | 2.73 $\pm$ 0.33  | 2.08 $\pm$ 1.14  |
| ΠΑΓΚΡΕΑΣ     | 3.20 $\pm$ 0.46                          | 2.68 $\pm$ 0.44  | 1.98 $\pm$ 0.78  |
| ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ    | 0.20 $\pm$ 0.01                          | 0.11 $\pm$ 0.00  | 0.04 $\pm$ 0.01  |
| ΟΓΚΟΣ        | 2.87 $\pm$ 0.70                          | 1.57 $\pm$ 0.17  | 1.18 $\pm$ 0.22  |
| ΟΓΚΟΣ / ΑΙΜΑ | 0.69 $\pm$ 0.02                          | 2.45 $\pm$ 0.08  | 5.90 $\pm$ 0.26  |
| ΟΓΚΟΣ / ΜΥ   | 3.22 $\pm$ 0.05                          | 2.80 $\pm$ 0.02  | 2.45 $\pm$ 0.03  |

Το προφίλ της βιοκατανομής σε αυτήν την περίπτωση είναι ίδιο με των υγιών ποντικών. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχει ικανοποιητική πρόσληψη στον όγκο στα 5 min μετά την χορήγηση. Ο λόγος όγκο/μυ έχει τάση μείωσης ενώ ο λόγος όγκος/αίμα αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου και φτάνει μέχρι και λόγο 5.9. Συνεπώς, η πρόσληψη στον καρκινικό όγκο δεν οφείλεται στην αιμάτωσή του αλλά στην πρόσληψη του συμπλόκου σε αυτόν.



**Σχήμα 12.1.** Λόγος πρόσληψης ραδιενέργειας στον καρκινικό όγκο / αίμα της ένωσης  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$

## **Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**



---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

---

Στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν να συνδυαστεί η δράση του ρηνίου ως μετάλλου με την δράση του διδοτικού υποκαταστάτη ο οποίος θα είναι είτε ένα μόριο παρεμβολέας είτε ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου που όπως έχει ήδη αναφερθεί έχει αντικαρκινική δράση. Για αυτό το λόγο, σχεδιάστηκαν σύμπλοκα του ρηνίου σε δυο οξειδωτικές βαθμίδες, την (V) και την (I) που φέρουν τον οξο (**κατηγορία 1**) ή τον τρικαρβονυλο πυρήνα (**κατηγορίες 2 και 3**). Τα σύμπλοκα μελετήθηκαν ως προς την αντικαρκινική τους δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών.

Αρχικά συντέθηκαν σύμπλοκα του ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (V) που φέρουν ως NN υποκαταστάτες μόρια-παρεμβολείς (**κατηγορία 1**) και η σφαίρα συναρμογής συμπληρώνεται από τους τριδοτικούς υποκαταστάτες CH<sub>3</sub>-SNO ή SNO δίνοντας τα σύμπλοκα ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy), ReO(SNO)(bpy), ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz), ReO(SNO)(F-dppz), ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(dppn) και ReO(SNO)(dppn). Τα σύμπλοκα της κατηγορίας αυτής:

- ✓ Συντέθηκαν επιτυχώς με καλές αποδόσεις (70 – 80%).
- ✓ Χαρακτηρίστηκαν με IR, NMR, στοιχειακή ανάλυση και στην περίπτωση των ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy), ReO(SNO)(bpy) και ReO(SNO)(F-dppz) η δομή τους επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.
- ✓ Η φασματοσκοπία NMR φανέρωσε την ύπαρξη δυο διαστερομερών *syn* και *anti* στην περίπτωση που ως τριδοτικός υποκαταστάτης είναι ο CH<sub>3</sub>-SNO. Αυτό επιβεβαιώθηκε και με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.
- ✓ Τα σύμπλοκα υιοθετούν οκταεδρική γεωμετρία. Η σφαίρα συναρμογής του ρηνίου καλύπτεται από το θείο, το άζωτο και το οξυγόνο του τριδοτικού υποκαταστάτη και τα δυο άζωτα του διδοτικού υποκαταστάτη σχηματίζοντας ουδέτερα σύμπλοκα. Το οξυγόνο του οξορρηνικού πυρήνα και το άζωτο του διδοτικού υποκαταστάτη βρίσκονται σε *trans* θέσεις. Επίσης, είναι φανερή η επιπεδότητα του πολυαρωματικού συστήματος του υποκαταστάτη F-dppz.
- ✓ Ο υποκαταστάτης F-dppz και τα σύμπλοκα ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz) και ReO(SNO)(F-dppz) παρουσιάζουν την μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα (IC<sub>50</sub> = 6.74 – 11.39 μM)

έναντι της καρκινικής κυτταρικής σειράς HeLa. Το σύμπλοκο  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppr})$  παρουσιάζει και αυτό της ίδιας τάξης μεγέθους κυτταροτοξικότητα ( $\text{IC}_{50} = 16.77 \mu\text{M}$ ).

- ✓ Οι τιμές  $\text{IC}_{50}$  των ενώσεων προσεγγίζουν τις τιμές  $\text{IC}_{50}$  της δοξορουβικίνης ( $\text{IC}_{50} = 0.32 \mu\text{M}$ ) και των τιμών  $\text{IC}_{50}$  της σισπλατίνης ( $\text{IC}_{50} = 6.85 \mu\text{M}$ ).
- ✓ Τα σύμπλοκα πιθανώς να παρεμβάλλονται ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA.
- ✓ Το σύμπλοκο  $^{99\text{m}}\text{TcO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  που παρασκευάστηκε επιτυχώς είχε χαμηλή απόδοση (~25%).

Εν συνεχεία, συντέθηκαν σύμπλοκα του τρικαρβονυλο πυρήνα  $\text{Re}(\text{CO})_3$  στην οξειδωτική βαθμίδα (I) (**κατηγορία 2**) που φέρουν ως NN υποκαταστάτη μόρια παρεμβολείς ίδια με την κατηγορία 1 και η σφαίρα συναρμογής συμπληρώνεται με μονοδοτικούς υποκαταστάτες. Έτσι, παρασκευάστηκαν τα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})\text{Br}$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{PTA})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppr})\text{Br}$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppr})(\text{MeCN})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppr})(\text{cisc})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppr})(\text{PTA})$ . Στην κατηγορία αυτή:

- ✓ Τα σύμπλοκα συντέθηκαν επιτυχώς σε υψηλές αποδόσεις (77-91%)
- ✓ Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν με φασματοσκοπία NMR, IR, στοιχειακή ανάλυση. Η δομή του συμπλόκου  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})$  λύθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.
- ✓ Το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})$  υιοθετεί παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Τη σφαίρα συναρμογής του τρικαρβονυλο πυρήνα *fac*- $\text{Re}(\text{CO})_3$  συμπληρώνει το F-dppz, το οποίο συμπλέκεται μέσω των δυο αζώτων με το ρήνιο, καθώς και το ακετονιτρίλιο. Τα καρβονύλια είναι σε μετωπική (*fac*) διαμόρφωση. Επίσης, είναι φανερό η επιπεδότητα του πολυαρωματικού συστήματος του υποκαταστάτη F-dppz.
- ✓ Τα σύμπλοκα με την μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών HeLa και MCF-7 είναι  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{PTA})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppr})(\text{cisc})$  ( $\text{IC}_{50} = 0.70 - 9.29 \mu\text{M}$ ).
- ✓ Τα αποτελέσματα προσεγγίζουν σημαντικά αυτά της δοξορουβικίνης ( $\text{IC}_{50} = 0.009 - 0.32 \mu\text{M}$ ) ενώ είναι μικρότερες οι τιμές  $\text{IC}_{50}$  από του αντικαρκινικού φαρμάκου της σισπλατίνης ( $\text{IC}_{50} = 6.85 - 33.1 \mu\text{M}$ ).
- ✓ Τα σύμπλοκα φαίνεται να αλληλεπιδρούν με το DNA μέσω ενδοπαρεμβολής τους ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων του DNA.



Η επόμενη κατηγορία (**κατηγορία 3**) ήταν σύμπλοκα του τρικαρβονυλο πυρήνα  $\text{Re}(\text{CO})_3$  στην οξειδωτική βαθμίδα (I) με ένα παράγωγο του βενζοθειαζολίου (NNbz) ως διδοτικό υποκαταστάτη και μονοδοτικούς υποκαταστάτες να συμπληρώνουν τη σφαίρα συναρμογής του μετάλλου δίνοντας τα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$ . Τα σύμπλοκα της κατηγορίας 3:

- ✓ Συντέθηκαν επιτυχώς σε υψηλές αποδόσεις (81 – 94%).
- ✓ Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν με φασματοσκοπία NMR, IR και στοιχειακή ανάλυση. Η δομή των συμπλόκων  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{OH}_2)$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$  επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.
- ✓ Όλα τα σύμπλοκα υιοθετούν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Τη σφαίρα σύνταξης του τρικαρβονυλο πυρήνα *fac*- $\text{ReCO}_3$  συμπληρώνει ο μονοδοτικός και ο διδοτικός υποκαταστάτης ο οποίος συναρμόζεται μέσω των δυο αζώτων.
- ✓ Το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})$  κρυστάλλωσε με νερό στην έκτη θέση συναρμογής. Το νερό προέκυψε από ανταλλαγή του ευκίνητου μορίου του ακετονιτριλίου με νερό της ατμόσφαιρας.
- ✓ Τα σύμπλοκα βρέθηκε να εισέρχονται στο κύτταρο.
- ✓ Σημαντικός φαίνεται να είναι και ο ρόλος του μονοδοτικού υποκαταστάτη στην κυτταροτοξικότητα του συμπλόκου. Το σύμπλοκο με το *cisc* και την  $\text{PPh}_3$  εμφάνισαν τη μεγαλύτερη κυτταροτοξική δράση ( $\text{IC}_{50} = 0.19 - 0.61 \mu\text{M}$ ) σε σχέση με τα υπόλοιπα. Ακολουθούν στη σειρά της κυτταροτοξικότητας τα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  ( $\text{IC}_{50} = 1.04 - 2.02 \mu\text{M}$ ) και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$  ( $\text{IC}_{50} = 2.21 - 6.28 \mu\text{M}$ ). Το σύμπλοκο με μονοδοτικό υποκαταστάτη το (PTA) εμφανίζει την μικρότερη κυτταροτοξική δράση ( $\text{IC}_{50} = 89.22 - 91.67 \mu\text{M}$ ) που πιθανώς οφείλεται στο γεγονός ότι είναι περισσότερο υδρόφιλος από τους άλλους μονοδοτικούς υποκαταστάτες.
- ✓ Τα αποτελέσματα είναι πολύ ενθαρρυντικά γιατί η κυτταροτοξικότητα είναι μεγαλύτερη από τα υπάρχοντα φάρμακα της σισπλατίνης ( $\text{IC}_{50} = 6.85 - 33.1 \mu\text{M}$ )<sup>125</sup> και δοξουβικίνης ( $\text{IC}_{50} = 0.009 - 0.32 \mu\text{M}$ )<sup>126</sup> καθώς και άλλα μελετημένα σύμπλοκα του ρηνίου.
- ✓ Αλληλεπιδρούν ισχυρά με το DNA δείχνοντας μία τάση για ενδοπαρεμβολή ανάμεσα στα ζεύγη βάσεων.

- ✓ Και στις δύο κυτταρικές σειρές (HeLa και MCF-7) η παρουσία του μονοδοτικού υποκαταστάτη *cis* προκαλεί διατάραξη του κυτταρικού κύκλου. Συγκεκριμένα, αυξάνεται στατιστικά σημαντικά ο κυτταρικός πληθυσμός στην G1 και η τάση αύξησης του κυτταρικού πληθυσμού παραμένει και στη φάση G2/M του κυτταρικού κύκλου.
- ✓ Στη σειρά HeLa ο κυτταρικός πληθυσμός στην G2/M φάση αυξάνεται στατιστικά σημαντικά στα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})$ . Στη σειρά MCF-7 η αύξηση αυτή είναι σημαντική στα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cis})$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})$ .
- ✓ Συμπερασματικά, το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cis})$  επιδρά τόσο στη φάση G1 όσο και στη φάση G2/M του κυτταρικού κύκλου. Τα υπόλοιπα σύμπλοκα «φρενάρουν» τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στην G2/M φάση όπως έχει παρατηρηθεί τόσο για άλλα σύμπλοκα του ρηνίου στη βιβλιογραφία<sup>74,124,145</sup> όσο και στην δοξορουβικίνη.
- ✓ Το σύμπλοκο  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cis})$  παρασκευάστηκε σε υψηλή απόδοση (> 95%), είναι λιπόφιλο ( $\log P = 2.70$ ) και παραμένει σταθερό (> 98%) έως και 6 ώρες παρουσία ανταγωνιστών κυστεΐνης και ιστιδίνης.
- ✓ Πειράματα βιοκατανομής έδειξαν ότι το σύμπλοκο  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cis})$  δεν συσσωρεύεται σε μαλακούς ιστούς. Δεν βρέθηκε σημαντική ποσότητα ραδιενέργειας στο στομάχι, γεγονός που σημαίνει ότι το σύμπλοκο παραμένει σταθερό *in vivo* και δεν επανοξειδώνεται σε  $\text{TcO}_4^-$ .
- ✓ Υπάρχει ικανοποιητική πρόσληψη του  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cis})$  στον καρκινικό όγκο η οποία παρέμενε σταθερή στην πάροδο του χρόνου.
- ✓ Ο λόγος ραδιενέργειας του  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cis})$  όγκος / αίμα αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου και φθάνει στο 5.9. Συνεπώς, η πρόσληψη στον καρκινικό όγκο δεν οφείλεται στην αιμάτωσή του αλλά στην πρόσληψη του συμπλόκου σε αυτόν.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά και τα σύμπλοκα είναι πολλά υποσχόμενα ως νέοι αντικαρκινικοί παράγοντες. Μελλοντικά σχέδια περιλαμβάνουν τη μελέτη του μηχανισμού δράσης των συμπλόκων αυτών η οποία ξεκίνησε με τον κυτταρικό κύκλο και θα συνεχιστεί με πειράματα που αφορούν απόπτωση και την παραγωγή ελευθέρων ριζών μηχανισμοί που φαίνονται στην βιβλιογραφία να εμπλέκονται με τη δράση αυτών των συμπλόκων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή σχεδιάστηκαν, συντέθηκαν και χαρακτηρίστηκαν πλήρως νέα σύμπλοκα του ρηνίου τόσο στην οξειδωτική βαθμίδα (V) όσο και στην οξειδωτική βαθμίδα (I) και μελετήθηκαν ως προς την αντικαρκινική τους δράση.

Στην πρώτη κατηγορία συμπλόκων του ρηνίου που μελετήθηκε, ανήκουν σύμπλοκα στην οξειδωτική βαθμίδα (V) του γενικού τύπου **ReO(SNO)(NN)** (**κατηγορία 1**), όπου SNO είναι ο τριδοτικός υποκαταστάτης N-(2-μερκαπτοπροπιονυλ)γλυκίνη (**CH<sub>3</sub>-SNO**) ή N-(2-μερκοπτοακετυλ)γλυκίνη (**SNO**) και NN ο διδοτικός υποκαταστάτης 2,2'-διπυριδίνη (bpy), ή 7-φθοροδιπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (**F-dppz**), ή βενζο[i]διπυριδο[3,2-a:2',3'-c]φαιναζίνη (**dppn**), όπου το F-dppz και dppn είναι μόρια – παρεμβολείς. Τα οξορρηνικά σύμπλοκα με τη bpy, (ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy) και ReO(SNO)(bpy)) χρησιμοποιήθηκαν ως ενώσεις αναφοράς.

Όλα τα οξορρηνικά σύμπλοκα (ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy), ReO(SNO)(bpy), ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz) ReO(SNO)(F-dppz), ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(dppn)) συντέθηκαν με αντίδραση του πρόδρομου συμπλόκου ReOCl<sub>3</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> με τον τριδοτικό και τον διδοτικό υποκαταστάτη σε μεθανόλη με καλές αποδόσεις (70 – 80 %). Τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν με στοιχειακή ανάλυση, IR και NMR φασματοσκοπία. Από τις φασματοσκοπίες IR και NMR καθώς και από την κρυσταλλογραφία ακτίνων-X έγινε φανερό η ύπαρξη δύο διαστερεομερών *syn* και *anti* για τα σύμπλοκα που έχουν τον CH<sub>3</sub>-SNO ως τριδοτικό υποκαταστάτη. Η δομή των συμπλόκων *syn*-ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy), *anti*-ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(bpy), ReO(SNO)(bpy) και ReO(SNO)(F-dppz) επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X.

Τα οξορρηνικά σύμπλοκα μελετήθηκαν ως προς την δράση τους έναντι της ανθρώπινης καρκινικής κυτταρικής σειράς HeLa (τραχήλου της μήτρας) μέσω της μεθόδου MTT. Το σύμπλοκο ReO(CH<sub>3</sub>-SNO)(F-dppz) εμφάνισε τη μεγαλύτερη δραστηριότητα με IC<sub>50</sub> ~ 10 μM. Τα υπόλοιπα σύμπλοκα της σειράς εμφάνισαν τιμές IC<sub>50</sub> στην ίδια τάξη μεγέθους (IC<sub>50</sub> = 10.71 – 16.77 μM).

Εν συνεχεία συντέθηκαν σύμπλοκα του ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) με γενικό τύπο **fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(NN)L]<sup>0/+</sup>** (**κατηγορία 2**) όπου οι διδοτικοί υποκαταστάτες είναι τα μόρια – παρεμβολείς της κατηγορίας 1 (**F-dppz**, **dppn**) και ως μονοδοτικοί υποκαταστάτες χρησιμοποιήθηκαν το βρώμιο (Br), το ακετονιτρίλιο (MeCN), το κυκλοεξυλισοκυανίδιο (*cisc*) και το 1,3,5-τριαζα-7-φωσφαδαμαντάνιο (PTA) έτσι ώστε να συμπληρωθεί η σφαίρα

συναρμογής του μετάλλου. Τα σύμπλοκα που προέκυψαν ήταν τα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})]\text{PF}_6$  και  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{PTA})]\text{PF}_6$ .

Τα κατιοντικά σύμπλοκα  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  και  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  προέκυψαν από αντίδραση των αντίστοιχων ουδέτερων συμπλόκων  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})\text{Br}$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})\text{Br}$  με τον  $\text{AgPF}_6$  σε διαλύτη ακετονιτρίλιο. Τα σύμπλοκα  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  και  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  χρησιμοποιήθηκαν ως ενδιάμεσα σύμπλοκα και με αντίδρασή τους με τον μονοδοτικό υποκαταστάτη *cisc* ή *PTA* σε χλωροφόρμιο ή μεθανόλη προκύπτουν τα κατιοντικά σύμπλοκα  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})]\text{PF}_6$  και  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{PTA})]\text{PF}_6$ . Οι αποδόσεις των συμπλόκων ήταν υψηλές (77 – 91%). Ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων έγινε με στοιχειακή ανάλυση, IR και NMR φασματοσκοπία. Η δομή του  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.

Τα σύμπλοκα της κατηγορίας 2 μελετήθηκαν ως προς την δράση τους έναντι των ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών HeLa (τραχήλου της μήτρας) και MCF-7 (μαστού). Τα σύμπλοκα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})$  είχαν τη μεγαλύτερη δραστικότητα ( $\text{IC}_{50} = 0.13 - 6.14 \mu\text{M}$ ) έναντι και των δυο καρκινικών κυτταρικών σειρών.

Στην τρίτη και τελευταία κατηγορία, ο γενικός των τύπος των συμπλόκων είναι ***fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{L}]^{0/+}$  (κατηγορία 3)** όπου ως NN διδοτικός υποκαταστάτης χρησιμοποιείται το παράγωγο του βενζοθειαζολίου 4-(βενζο[d]θειαζολ-2-yl)-N-(πυριδιν-2-yl-μεθυλ)ανιλίνη) (**NNbz**) και ως μονοδοτικοί υποκαταστάτες το βρώμιο (Br), το ακετονιτρίλιο (MeCN), το κυκλοεξυλισσοκυανίδιο (*cisc*), η τριφαινυλοφωσφίνη ( $\text{PPh}_3$ ), το 1,3,5-τριαζα-7-φωσφαδαμαντάνιο (PTA) και η πυριδίνη (*py*). Τα σύμπλοκα που προέκυψαν ήταν τα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$  και  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})]\text{PF}_6$ .

Το κατιοντικό σύμπλοκο  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  χρησιμοποιήθηκε ως ενδιάμεσο σύμπλοκο και προέκυψε από αντίδραση του ουδέτερου συμπλόκου  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  με τον  $\text{AgPF}_6$  σε διαλύτη ακετονιτρίλιο. Το ενδιάμεσο σύμπλοκο  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  αντιδρά με τους μονοδοτικούς υποκαταστάτες *cisc* ή  $\text{PPh}_3$  ή *PTA* ή *py* σε διαλύτη χλωροφόρμιο ή μεθανόλη και προκύπτουν τα κατιοντικά σύμπλοκα

$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$  και  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})]\text{PF}_6$ . Οι αποδόσεις των συμπλόκων ήταν υψηλές 81 – 94%. Ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων έγινε με φασματοσκοπία IR, NMR, και στοιχειακή ανάλυση. Η δομή των συμπλόκων  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{OH}_2)]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$  και  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$  επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.

Οι μελέτες κυτταρικής πρόσληψης που ακολούθησαν αποκάλυψαν ότι τα σύμπλοκα περνούν την κυτταρική μεμβράνη και υπάρχουν διάχυτα στο κυτταρόπλασμα.

Επίσης, τα σύμπλοκα της κατηγορίας 3 μελετήθηκαν ως προς την δράση τους έναντι των ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών, HeLa (τραχήλου της μήτρας), MCF-7 (μαστού) και A431 (επιδερμοειδής), μέσω της μεθόδου MTT. Τα αποτελέσματα ήταν ιδιαιτέρως ενθαρρυντικά. Συγκεκριμένα, τα σύμπλοκα που εμφάνισαν τη μεγαλύτερη δραστικότητα είναι τα  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  και  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  ( $\text{IC}_{50} = 0.19 - 0.61 \mu\text{M}$ ).

Επίσης, μελετήθηκε η αλληλεπίδραση των συμπλόκων και των τριών κατηγοριών με DNA θύμου αδένος βοοειδούς μέσω κυκλικού διχρωϊσμού, ανταγωνιστικών μελετών φθορισμού και ιξωδομετρίας όπου φαίνεται ότι όλα τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν ισχυρά με το DNA μέσω ενδοπαρεμβολής.

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκαν μελέτες κυτταρικού κύκλου για τα σύμπλοκα της κατηγορίας 3. Πολύ ενδιαφέροντα αποτελέσματα είχε το σύμπλοκο  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  το οποίο βρέθηκε ότι προκαλεί αύξηση της κατανομής του κυτταρικού πληθυσμού τόσο στη G1 όσο και στη G2 φάση διαταράσσοντας πλήρως τον κυτταρικό κύκλο στις καρκινικές κυτταρικές σειρές HeLa και MCF-7. Τα υπόλοιπα σύμπλοκα προκαλούν αύξηση της κατανομής του κυτταρικού πληθυσμού στη φάση G2/M.

Τέλος, παρασκευάστηκε επιτυχώς το  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  σε υψηλή απόδοση (>95%) χρησιμοποιώντας ως πρόδρομο σύμπλοκο το  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{OH}_2)]^+$ . Ακολούθησαν *in vivo* μελέτες βιοκατανομής του  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  σε υγιή ποντίκια και σε ποντίκια που φέρουν όγκο με τα αποτελέσματα να δείχνουν ικανοποιητική πρόσληψη ραδιενέργειας του συμπλόκου στον όγκο.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Φαρμακευτική Χημεία

**ΛΕΞΕΙΣ – ΚΛΕΙΔΙΑ:** Σύμπλοκα, Ρήνιο, Δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ, Ενδοπαρεμβολή, Καρκίνος



## ABSTRACT

In this PhD thesis, novel rhenium complexes were designed, synthesized and characterized in oxidation states (V) and (I) and were studied for their antitumor activity.

In the first category, the rhenium complexes belong to the oxidation state (V) and their general formula is  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{NN})$  (**category 1**), where SNO is the tridentate ligand N-(2-mercaptopropionyl)glycine (**CH<sub>3</sub>-SNO**) or N-(2-mercaptoacetyl)glycine (**SNO**) and the NN bidentate ligand is the 2,2'-bipyridine (**bpy**) or 7-fluorodipyrido[3,2-a:2',3'-c]-phenazine (**F-dppz**), or benzo[*i*]bipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazine (**dppn**), where F-dppz and dppn are intercalators. The complexes with bpy,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$  and  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{bpy})$  were used as reference compounds.

All of the oxorhenium complexes ( $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$ ,  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{bpy})$ ,  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$ ,  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-dppz})$  and  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{dppn})$ ) were synthesized by reacting the  $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$  precursor with the tridentate and the bidentate ligand in methanol in good yields (70 – 80%). The complexes were characterized by elemental analysis, IR and NMR spectroscopy. The IR and NMR spectroscopies and X-Ray crystallography revealed the existence of two diastereomers *syn* and *anti* for the complex with the  $\text{CH}_3\text{-SNO}$  tridentate ligand. The structure of the complexes *syn*- $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$ , *anti*- $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{bpy})$ ,  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{bpy})$  and  $\text{ReO}(\text{SNO})(\text{F-dppz})$  was confirmed by X-Ray crystallography.

The oxorhenium complexes were studied for their cytotoxicity against the human cancer cell line, HeLa (cervical) by the MTT method. The  $\text{ReO}(\text{CH}_3\text{-SNO})(\text{F-dppz})$  complex exhibited the greatest cytotoxic activity with  $\text{IC}_{50} \sim 10 \mu\text{M}$ . The rest of the complexes in this series displayed  $\text{IC}_{50}$  values in the same order of magnitude ( $\text{IC}_{50} = 10.71 - 16.77 \mu\text{M}$ ).

Thereafter, rhenium complexes were synthesized in the oxidation state (I) with the general formula  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NN})\text{L}]^{0/+}$  (**category 2**) where the bidentate ligands are the same with the category 1 (F-dppz, dppn) and bromine (Br), acetonitrile (MeCN), cyclohexylisocyanide (cisc) and 1,3,5-triaza-7-phosphadamantane (PTA) were used as monodentate ligands completing the coordination sphere of the metal. The resulting complexes were  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$ ,  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})]\text{PF}_6$  and  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{PTA})]\text{PF}_6$ .

The cationic complexes  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  and  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  were obtained by reacting the corresponding neutral complexes  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})\text{Br}$  and  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})\text{Br}$  with  $\text{AgPF}_6$  in acetonitrile. The  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  and  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  were used as intermediate complexes by reacting them with the monodentate ligands *cisc* or PTA in chloroform or methanol. The cationic complexes  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})]\text{PF}_6$  and  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{PTA})]\text{PF}_6$  were synthesized in high yields (77 – 91%). The complexes were characterized by elemental analysis, IR and NMR spectroscopy. The structure of  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  was confirmed by X-ray crystallography.

The cytotoxicity of the complexes of category 2 was studied against human cancer cell lines HeLa (cervical) and MCF-7 (breast). The complexes  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{F-dppz})(\text{cisc})$  and  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppn})(\text{cisc})$  showed the highest toxicity ( $\text{IC}_{50} = 0.13 - 6.14 \mu\text{M}$ ) against both cancer cell lines.

In the third and last category, the general formula of the complexes is *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{L}]^{0/+}$  (**category 3**) where the bidentate ligand is the 4-(benzo[d]thiazol-2-yl)-N-(pyridin-2-ylmethyl)aniline (**NNbz**) and as monodentate ligands were used bromine (Br), acetonitrile (MeCN), cyclohexylisocyanide (*cisc*), triphenylphosphine ( $\text{PPh}_3$ ), 1,3,5-triaza-7-phosphadamantane (PTA) and pyridine (py). The resulting complexes were  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$  and  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})]\text{PF}_6$ .

The cationic complex  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  was used as the intermediate complex and resulted from the reaction of the neutral complex  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$  with  $\text{AgPF}_6$  in acetonitrile. The intermediate complex  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{MeCN})]\text{PF}_6$  reacts with the monodentate ligands *cisc* or  $\text{PPh}_3$  or PTA or py in chloroform or methanol to give the cationic complexes  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$  and  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{py})]\text{PF}_6$ . The complexes were synthesized in high yields (81–94%) and characterized by IR, NMR and elemental analysis. The structure of the  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})\text{Br}$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{OH}_2)]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$  and  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PTA})]\text{PF}_6$  was confirmed by X-ray crystallography.

The cellular uptake studies using fluorescence microscopy revealed that the complexes penetrate the cell membrane and diffuse into the cytoplasm.



Moreover, the cytotoxicity of the complexes of the category 3 were tested in human cancer cell lines, HeLa (cervical), MCF-7 (breast) and A431 (epidermoid) by the MTT method. The results were very encouraging. The complexes with the highest cytotoxicity against the cancer cell lines were  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  and  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{PPh}_3)$  ( $\text{IC}_{50} = 0.19 - 0.61 \mu\text{M}$ ).

In addition, the interaction of all the complexes with CT-DNA was achieved by circular dichroism, competitive fluorescence studies and viscometry. The results suggest the strong interaction between the complexes and DNA via intercalation.

Moreover, cell cycle studies were performed for the complexes of category 3. The complex  $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  was found to increase the cell population in both the G1 and G2 phase by completely disruption of the cell cycle in the HeLa and MCF-7 cancer cell lines. The rest of the complexes increase the cell population in the G2/M phase.

Furthermore,  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  was successfully synthesized in high yield (> 95%) using the precursor  $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{OH}_2)]^+$ . The *in vivo* biodistribution studies of  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{NNbz})(\text{cisc})$  in healthy and SCID mice bearing tumor showed satisfactory uptake of the complex in tumor.

**SUBJECT AREA:** Pharmaceutical Chemistry

**KEYWORDS:** Complexes, Rhenium, DNA, Intercalation, Cancer



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- (1) W. Noddack, I. T., and O. Berg, Sitzber. *Preuss. Akad. Wiss. Physikmath. Klasse.* **1925**, *19*, 400.
- (2) Γ., Π. *Μαθήματα χημείας στοιχείων μεταπτώσεως*, , 1987; Vol. 17.
- (3) Χιωτέλλης, Ε. *Ραδιοφαρμακευική Χημεία* Θεσσαλονίκη, 2004.
- (4) Cotton, F. A. W., G. *Advanced inorganic chemistry*; John Wiley & Sons, Wiley Interscience, 5th ed. ed., 1988; Vol. 19D.
- (5) Kurti, L.; Papagiannopoulou, D.; Papadopoulos, M.; Pirmettis, L.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Chlotellis, E.; Harmata, M.; Kuntz, R. R.; Pandurangi, R. S. *Inorganic Chemistry* **2003**, *42*, 2960.
- (6) Stufkens, D. J.; Vlcek, A. *Coordin Chem Rev* **1998**, *177*, 127.
- (7) Schanze, K. S.; Macqueen, D. B.; Perkins, T. A.; Cabana, L. A. *Coordin Chem Rev* **1993**, *122*, 63.
- (8) Vlcek, A.; Busby, M. *Coordin Chem Rev* **2006**, *250*, 1755.
- (9) Pfennig, G. K.-N., H.; Seelmann-Eggebert, W. *Chart of the Nuclides*; 6th ed. ed. Germany.
- (10) Fritzberg, A. R. *In Rhenium, Rhenium Alloys* Warrendale, U.S.A., 1998.
- (11) Deutsch, E.; Libson, K.; Vanderheyden, J. L.; Ketring, A. R.; Maxon, H. R. *Nucl Med Biol* **1986**, *13*, 465.
- (12) Liepe K., H. R., Kropp J, Grüning T., Runge R., Koch R., Knapp Jr. F.F., Franke, W.-G. *Cancer Bioth. Radioph.* **2000**, *15*, 261.
- (13) Larson S.M., N. W. B. *J. Nucl. Med.* **1966**, *7*, 817.
- (14) Smith, E. M. *J Nucl Med* **1965**, *6*, 231.
- (15) S., K. *Phys. Rev. Ser. II* **1958**, *111*, 575.
- (16) Τσουκαλάς Χ., Π. Μ., Μάινα Θ., Χιωτέλλης Ε. *Νεότερες προσεγγίσεις στο σχεδιασμό ραδιοφαρμάκων του <sup>99m</sup>Tc*; Ελληνική Πυρηνική Ιατρική ed., 1999; Vol. 2.
- (17) F., G. *Am. J. Hosp. Pharm.* **1975**, *32*, 480.
- (18) Verbruggen, A. M. *Eur J Nucl Med* **1990**, *17*, 346.
- (19) Lippard S. J., B. J. M. *Principles of Bioinorganic Chemistry*, 1994.
- (20) Reedijk, J. *Molec. Sciences and Chem. Engineering* **2013**, *1*.
- (21) Zhang, C. X.; Lippard, S. J. *Curr Opin Chem Biol* **2003**, *7*, 481.

- (22) P., F. S. *Metal Compounds in Cancer Therapy*, 1994.
- (23) Lippert, B. *Molec. Sciences and Chem. Engineering* **2013**, 1.
- (24) Li-June, M. *Medic. Research Reviews* **2003**, 23, 697.
- (25) Zigler D. F., B. K. J. *Toward Photodynamic Therapy of Cancer with Platinum Group Metal Polyazine Complexes, In Metal-Complexes-DNA Interactions* Oxford, UK, 2009.
- (26) Puckett, C. A.; Barton, J. K. *J Am Chem Soc* **2007**, 129, 46.
- (27) Kalayda, G. V.; Fakih, S.; Bertram, H.; Ludwig, T.; Oberleithner, H.; Krebs, B.; Reedijk, J. *J Inorg Biochem* **2006**, 100, 1332.
- (28) Lo, K. K. W.; Zhang, K. Y.; Li, S. P. Y. *Eur J Inorg Chem* **2011**, 3551.
- (29) Elias, B.; Kirsch-De Mesmaeker, A. *Coordin Chem Rev* **2006**, 250, 1627.
- (30) Kemp, S.; Wheate, N. J.; Buck, D. P.; Nikac, M.; Collins, J. G.; Aldrich-Wright, J. R. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2007**, 101, 1049.
- (31) Roy, S.; Hagen, K. D.; Maheswari, P. U.; Lutz, M.; Spek, A. L.; Reedijk, J.; van Wezel, G. P. *ChemMedChem* **2008**, 3, 1427.
- (32) Bytzek, A. K.; Koellensperger, G.; Keppler, B. K.; Hartinger, C. G. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2016**, 160, 250.
- (33) Murray, B. S.; Babak, M. V.; Hartinger, C. G.; Dyson, P. J. *Coordin Chem Rev* **2016**, 306, 86.
- (34) Schafer, S.; Ott, I.; Gust, R.; Sheldrick, W. S. *Eur J Inorg Chem* **2007**, 3034.
- (35) Schatzschneider, U.; Niesel, J.; Ott, I.; Gust, R.; Alborzinia, H.; Wolf, S. *Chemmedchem* **2008**, 3, 1104.
- (36) Yan, Y. K.; Cho, S. E.; Shaffer, K. A.; Rowell, J. E.; Barnes, B. J.; Hall, I. H. *Pharmazie* **2000**, 55, 307.
- (37) Zhang, J. Y.; Vittal, J. J.; Henderson, W.; Wheaton, J. R.; Hall, I. H.; Hor, T. S. A.; Yan, Y. K. *J Organomet Chem* **2002**, 650, 123.
- (38) Wang, W. W.; Yan, Y. K.; Hor, T. S. A.; Vittal, J. J.; Wheaton, J. R.; Hall, I. H. *Polyhedron* **2002**, 21, 1991.
- (39) Lo, K. K.-W., Louie, M.-W., Sze, K.-S., and Lau, J. S.-Y. *Inorg. Chem.* **2007**, 47, 602.
- (40) Viola-Villegas, N.; Rabideau, A. E.; Cesnavicious, J.; Zubieta, J.; Doyle, R. P. *ChemMedChem* **2008**, 3, 1387.
- (41) Orsa, D. K.; Haynes, G. K.; Pramanik, S. K.; Iwunze, M. O.; Greco, G. E.; Ho, D. M.; Krause, J. A.; Hill, D. A.; Williams, R. J.; Mandal, S. K. *Inorg Chem Commun* **2008**, 11, 1054.

- (42) Picon-Ferrer, I.; Hueso-Urena, F.; Illan-Cabeza, N. A.; Jimenez-Pulido, S. B.; Martinez-Martos, J. M.; Ramirez-Exposito, M. J.; Moreno-Carretero, M. N. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2009**, *103*, 94.
- (43) Bartholoma, M. D.; Vortherms, A. R.; Hillier, S.; Ploier, B.; Joyal, J.; Babich, J.; Doyle, R. P.; Zubieta, J. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 1513.
- (44) Fernandez-Moreira, V.; Thorp-Greenwood, F. L.; Amoroso, A. J.; Cable, J.; Court, J. B.; Gray, V.; Hayes, A. J.; Jenkins, R. L.; Kariuki, B. M.; Lloyd, D.; Millet, C. O.; Williams, C. F.; Coogan, M. P. *Org Biomol Chem* **2010**, *8*, 3888.
- (45) Kermagoret, A.; Morgant, G.; d'Angelo, J.; Tomas, A.; Roussel, P.; Bastian, G.; Collery, P.; Desmaele, D. *Polyhedron* **2011**, *30*, 347.
- (46) Collery, P.; Mohsen, A.; Kermagoret, A.; D'Angelo, J.; Morgant, G.; Desmaele, D.; Tomas, A.; Collery, T.; Wei, M.; Badawi, A. *Anticancer Res* **2012**, *32*, 2769.
- (47) Ho, J.; Lee, W. Y.; Koh, K. J.; Lee, P. P.; Yan, Y. K. *J Inorg Biochem* **2013**, *119*, 10.
- (48) Kastl, A.; Dieckmann, S.; Wahler, K.; Volker, T.; Kastl, L.; Merkel, A. L.; Vultur, A.; Shannan, B.; Harms, K.; Ocker, M.; Parak, W. J.; Herlyn, M.; Meggers, E. *ChemMedChem* **2013**, *8*, 924.
- (49) Kitanovic, I.; Can, S. Z.; Alborzinia, H.; Kitanovic, A.; Pierroz, V.; Leonidova, A.; Pinto, A.; Spingler, B.; Ferrari, S.; Molteni, R.; Steffen, A.; Metzler-Nolte, N.; Wolfl, S.; Gasser, G. *Chem-Eur J* **2014**, *20*, 2496.
- (50) Leonidova, A.; Pierroz, V.; Rubbiani, R.; Lan, Y. J.; Schmitz, A. G.; Kaech, A.; Sigel, R. K. O.; Ferrari, S.; Gasser, G. *Chemical Science* **2014**, *5*, 4044.
- (51) Viola-Villegas, N., Rabideau, A. E., Bartholoma, M., Zubieta, J., and Doyle, R. P. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5253.
- (52) Illán-Cabeza, N. A., García-García, A. R., Moreno-Carretero, M. N., Martínez-Martos, J. M., and Ramírez-Expósito, M. J. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 1637.
- (53) Ma, D.-L., Che, C.-M., Siu, F.-M., Yang, M., and Wong, K.-Y. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 740.
- (54) Louie, M.-W., Liu, H.-W., Lam, M. H.-C., Lau, T.-C., and Lo, K. K.-W. *Organometallics* **2009**, *28*, 4297.
- (55) Louie, M.-W., Ho-Chuen Lam, K., and Kam-Wing, L. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 4265.
- (56) Amoroso, A. J.; Coogan, M. P.; Dunne, J. E.; Fernandez-Moreira, V.; Hess, J. B.; Hayes, A. J.; Lloyd, D.; Millet, C.; Pope, S. J.; Williams, C. *Chem Commun (Camb)* **2007**, 3066.

- (57) Collery, P., Mohsen, A., Kermagoret, A., D'Angelo, J., Morgant, G., Desmaële, D., Tomas, A., Collery, T., Wei, M., and Badawi, A. *Anticancer Res* **2012**, *32*, 2769.
- (58) Leonidova, A., Pierroz, V., Adams, L. A., Barlow, N., Ferrari, S., Graham, B., and Gasser, G. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 809.
- (59) Leonidova, A.; Gasser, G. *ACS Chem Biol* **2014**, *9*, 2180.
- (60) Leonidova, A.; Pierroz, V.; Rubbiani, R.; Heier, J.; Ferrari, S.; Gasser, G. *Dalton T* **2014**, *43*, 4287.
- (61) Martinez-Lillo, J.; Mastropietro, T. F.; Lappano, R.; Madeo, A.; Alberto, M. E.; Russo, N.; Maggiolini, M.; De Munno, G. *Chem Commun* **2011**, *47*, 5283.
- (62) Clarke, M. J.; Zhu, F.; Frasca, D. R. *Chem Rev* **1999**, *99*, 2511.
- (63) Jakupec, M. A.; Galanski, M.; Arion, V. B.; Hartinger, C. G.; Keppler, B. K. *Dalton Trans* **2008**, 183.
- (64) Dimitrov, N. V. E., G. W. *In Current Chemotherapy*; Washington, DC, 1978; Vol. 2.
- (65) Shtemenko, N. C., P.; Shtemenko, A. ; Alpoim, M. C., Morais, P. V., Santos, M. A., Cristovao, A. J., Centeno, J. A. *In Metal Ions in Biology and Medicine* Paris, France, 2006; Vol. 9.
- (66) Shtemenko, N. C., P.; Shtemenko, A. Collery, P., Maymard, I., Thephanides, T., Khassanova, L., Collery, T. *In Metal Ions in Biology and Medicine* Paris, France, 2008; Vol. 10.
- (67) Hickman, J. A. *Cancer Metast Rev* **1992**, *11*, 121.
- (68) Jamieson, E. R.; Lippard, S. J. *Chemical Reviews* **1999**, *99*, 2467.
- (69) Wang, D.; Lippard, S. J. *Nat Rev Drug Discov* **2005**, *4*, 307.
- (70) Cepero, V.; Garcia-Serrelede, B.; Moneo, V.; Blanco, F.; Gonzalez-Vadillo, A. M.; Alvarez-Valdes, A.; Navarro-Ranninger, C.; Carnero, A. *Clin Transl Oncol* **2007**, *9*, 521.
- (71) Ernst, R. J.; Komor, A. C.; Barton, J. K. *Biochemistry* **2011**, *50*, 10919.
- (72) Han, W.; Li, L.; Qiu, S.; Lu, Q.; Pan, Q.; Gu, Y.; Luo, J.; Hu, X. *Mol Cancer Ther* **2007**, *6*, 1641.
- (73) Vandenabeele, P.; Galluzzi, L.; Vanden Berghe, T.; Kroemer, G. *Nat Rev Mol Cell Bio* **2010**, *11*, 700.
- (74) Suntharalingam, K.; Awuah, S. G.; Bruno, P. M.; Johnstone, T. C.; Wang, F.; Lin, W.; Zheng, Y. R.; Page, J. E.; Hemann, M. T.; Lippard, S. J. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137*, 2967.
- (75) Kumar, P.; Dasari, S.; Patra, A. K. *Eur J Med Chem* **2017**, *136*, 52.

- (76) Barone, G.; Terenzi, A.; Lauria, A.; Almerico, A. M.; Leal, J. M.; Busto, N.; Garcia, B. *Coordin Chem Rev* **2013**, *257*, 2848.
- (77) Zampakou, M.; Akrivou, M.; Andreadou, E. G.; Raptopoulou, C. P.; Psycharis, V.; Pantazaki, A. A.; Psomas, G. *J Inorg Biochem* **2013**, *121*, 88.
- (78) Κεσίσογλου Δ., Ψ. Γ. *Βιοανόργανη Χημεία*, Δεκέμβριος 2010.
- (79) Thornton, N. B.; Schanze, K. S. *Inorganic Chemistry* **1993**, *32*, 4994.
- (80) Stoeffler, H. D.; Thornton, N. B.; Temkin, S. L.; Schanze, K. S. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 7119.
- (81) Yam, V. W. W.; Lo, K. K. W.; Cheung, K. K.; Kong, R. Y. C. *J Chem Soc Chem Comm* **1995**, 1191.
- (82) Yam, V. W. W.; Lo, K. K. W.; Cheung, K. K.; Kong, R. Y. C. *J Chem Soc Dalton* **1997**, 2067.
- (83) Kaplanis, M.; Stamatakis, G.; Papakonstantinou, V. D.; Paravatou-Petsotas, M.; Demopoulos, C. A.; Mitsopoulou, C. A. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2014**, *135*, 1-9.
- (84) Jadoo, B.; Booyesen, I. N.; Akerman, M. P.; Rhyman, L.; Ramasami, P. *Polyhedron* **2018**, *144*, 107.
- (85) Mitsopoulou, C. A.; Dagas, C. *Bioinorg Chem Appl* **2010**.
- (86) Ahmed, K.; Yellamelli Valli Venkata, S.; Mohammed, N. A.; Sultana, F.; Methuku, K. *R. Expert Opin Investig Drugs* **2012**, *21*, 619.
- (87) Yates, P. C.; McCall, C. J.; Stevens, M. F. G. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 6493.
- (88) Stevens, M. F.; McCall, C. J.; Lelieveld, P.; Alexander, P.; Richter, A.; Davies, D. E. *J Med Chem* **1994**, *37*, 1689.
- (89) Bradshaw, T. D.; Westwell, A. D. *Current Medicinal Chemistry* **2004**, *11*, 1009.
- (90) Shi DF, B. T., Wrigley S, et al. *J Med Chem* **1996**, *39*, 3375.
- (91) Bradshaw, T. D.; Shi, D. F.; Schultz, R. J.; Paull, K. D.; Kelland, L.; Wilson, A.; Garner, C.; Fiebig, H. H.; Wrigley, S.; Stevens, M. F. *Br J Cancer* **1998**, *78*, 421.
- (92) Singh, M.; Singh, S. K.; Thakur, B.; Ray, P.; Singh, S. K. *Anti-Cancer Agent Me* **2016**, *16*, 722.
- (93) Gabr, M. T.; El-Gohary, N. S.; El-Bendary, E. R.; El-Kerdawy, M. M. *Med Chem Res* **2015**, *24*, 860.
- (94) Schoultz, X.; Gerber, T. I. A.; Hosten, E. C. *Polyhedron* **2016**, *113*, 55.
- (95) Sathdeo, S.; Schoultz, X.; Gerber, T. I. A.; Betz, R.; Hosten, E. C. *Polyhedron* **2016**, *112*, 1.

- (96) Schoultz, X.; Gerber, T. I. A.; Hosten, E. C. *Inorg Chem Commun* **2016**, *68*, 13.
- (97) Chakraborty, S.; Agrawalla, B. K.; Stumper, A.; Vegi, N. M.; Fischer, S.; Reichardt, C.; Kogler, M.; Dietzek, B.; Feuring-Buske, M.; Buske, C.; Rau, S.; Weil, T. *J Am Chem Soc* **2017**, *139*, 2512.
- (98) Tzanopoulou, S.; Pirmettis, I. C.; Patsis, G.; Paravatou-Petsotas, M.; Livaniou, E.; Papadopoulos, M.; Pelecanou, M. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 5408.
- (99) Tzanopoulou, S.; Pirmettis, I. C.; Patsis, G.; Raptopoulou, C.; Terzis, A.; Papadopoulos, M.; Pelecanou, M. *Inorganic Chemistry* **2006**, *45*, 902.
- (100) Chen, X. J.; Yu, P. R.; Zhang, L. F.; Liu, B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 1442.
- (101) Deepika, N.; Kumar, Y. P.; Devi, C. S.; Reddy, P. V.; Srishailam, A.; Satyanarayana, S. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2013**, *18*, 751.
- (102) Foxon, S. P.; Green, C.; Walker, M. G.; Wragg, A.; Adams, H.; Weinstein, J. A.; Parker, S. C.; Meijer, A. J.; Thomas, J. A. *Inorg Chem* **2012**, *51*, 463.
- (103) Schneider, R. F.; Subramanian, G.; Feld, T. A.; McAfee, J. G.; Zapf-Longo, C.; Palladino, E.; Thomas, F. D. *J Nucl Med* **1984**, *25*, 223.
- (104) Johnson, N. P.; Lock, C. J. L.; Wilkinson, G. *J Chem Soc* **1964**, 1054.
- (105) Schmidt, S. P., Trogler, W. C., Basolo, F., Urbancic, M. A. and Shapley, J. R. *Pentacarbonylrhenium Halides, in Inorganic Syntheses: Reagents for Transition Metal Complex and Organometallic Syntheses*, 1990; Vol. 28.
- (106) Cohen, G.; Eisenberg, H. *Biopolymers* **1969**, *8*, 45.
- (107) Bourkoula, A.; Paravatou-Petsotas, M.; Papadopoulos, A.; Santos, I.; Pietzsch, H. J.; Livaniou, E.; Pelecanou, M.; Papadopoulos, M.; Pirmettis, I. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *44*, 4021.
- (108) Sheila o' Hare, C. K. A. **1995**, *43*.
- (109) Darzynkiewicz, Z. *New York : J Wiley & Sons, Inc* **1997**, Chapter 7.
- (110) Giannopoulou, D. P.; Pirmettis, I.; Pelecanou, M.; Komiotis, D.; Sagnou, M.; Benaki, D.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Papadopoulos, M. S. *Inorg Chim Acta* **2007**, *360*, 3597.
- (111) Tsoukalas, C.; Pirmettis, I.; Patsis, G.; Pelecanou, M.; Bodo, K.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Papadopoulos, M.; Chiotellis, E. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2003**, *93*, 213.
- (112) Bouziotis, P.; Pirmettis, I.; Pelecanou, M.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Papadopoulos, M.; Chiotellis, E. *Chem-Eur J* **2001**, *7*, 3671.



- (113) Papadopoulos, M.; Nock, B.; Maina, T.; Pirmettis, I.; Raptopoulou, C.; Tasiopoulos, A.; Troganis, A.; Kabanos, T.; Terzis, A.; Chiotellis, E. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2001**, *6*, 159.
- (114) Pirmettis, I.; Patsis, G.; Pelecanou, M.; Tsoukalas, C.; Papadopoulos, A.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Papadopoulos, M.; Chiotellis, E. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, *11*, 1859.
- (115) Alberto, R.; Schibli, R.; Egli, A.; Schubiger, A. P.; Abram, U.; Kaden, T. A. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 7987.
- (116) Radford, L.; Gallazzi, F.; Jurisson, S.; Papagiannopoulou, D.; Hennkens, H. *J Nucl Med* **2016**, *57*.
- (117) Tsiapa, I.; Efthimiadou, E. K.; Fragogeorgi, E.; Loudos, G.; Varvarigou, A. D.; Bouziotis, P.; Kordas, G. C.; Mihailidis, D.; Nikiforidis, G. C.; Xanthopoulos, S.; Psimadas, D.; Paravatou-Petsotas, M.; Palamaris, L.; Hazle, J. D.; Kagadis, G. C. *J Colloid Interface Sci* **2014**, *433*, 163.
- (118) Leonard, J. P.; Nowotnik, D. P.; Neirinckx, R. D. *J Nucl Med* **1986**, *27*, 1819.
- (119) Chiotellis, A.; Tsoukalas, C.; Pelecanou, M.; Papadopoulos, A.; Raptopoulou, C.; Terzis, A.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M.; Chiotellis, E. *Inorganic Chemistry* **2006**, *45*, 5635.
- (120) Papadopoulos, M. S.; Pirmettis, I. C.; Pelecanou, M.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Stassinopoulou, C. I.; Chiotellis, E. *Inorg Chem* **1996**, *35*, 7377.
- (121) Ramos, L. D.; Sampaio, R. N.; de Assis, F. F.; de Oliveira, K. T.; Homem-de-Mello, P.; Patrocínio, A. O.; Frin, K. P. *Dalton Trans* **2016**, *45*, 11688.
- (122) Wong, E.; Giandomenico, C. M. *Chem Rev* **1999**, *99*, 2451.
- (123) Marker, S. C.; MacMillan, S. N.; Zipfel, W. R.; Li, Z.; Ford, P. C.; Wilson, J. J. *Inorg Chem* **2018**, *57*, 1311.
- (124) Knopf, K. M.; Murphy, B. L.; MacMillan, S. N.; Baskin, J. M.; Barr, M. P.; Boros, E.; Wilson, J. J. *J Am Chem Soc* **2017**, *139*, 14302.
- (125) <https://www.cancerrxgene.org/translation/Drug/1005>.
- (126) <https://www.cancerrxgene.org/translation/Drug/133>.
- (127) Wilder, P. T.; Weber, D. J.; Winstead, A.; Parnell, S.; Hinton, T. V.; Stevenson, M.; Giri, D.; Azemati, S.; Olczak, P.; Powell, B. V.; Odebode, T.; Tadesse, S.; Zhang, Y.; Pramanik, S. K.; Wachira, J. M.; Ghimire, S.; McCarthy, P.; Barfield, A.; Banerjee, H. N.; Chen, C.; Golen, J. A.; Rheingold, A. L.; Krause, J. A.; Ho, D. M.; Zavalij, P. Y.; Shaw, R.; Mandal, S. K. *Mol Cell Biochem* **2018**, *441*, 151.

- (128) Yang, J.; Zhao, J. X.; Cao, Q.; Hao, L.; Zhou, D.; Gan, Z.; Ji, L. N.; Mao, Z. W. *ACS Appl Mater Interfaces* **2017**, *9*, 13900.
- (129) Ye, R. R.; Tan, C. P.; Chen, M. H.; Hao, L.; Ji, L. N.; Mao, Z. W. *Chemistry* **2016**, *22*, 7800.
- (130) Konkankit, C. C.; Marker, S. C.; Knopf, K. M.; Wilson, J. J. *Dalton Trans* **2018**, *47*, 9934.
- (131) Ivanov, V. I.; Minchenkova, L. E.; Schyolkina, A. K.; Poletayev, A. I. *Biopolymers* **1973**, *12*, 89.
- (132) Baase, W. A.; Johnson, W. C. *Nucleic Acids Research* **1979**, *6*, 797.
- (133) Marvin, D. A.; Hamilton, L. D.; Spencer, M.; Wilkins, M. H. F. *Journal of Molecular Biology* **1961**, *3*, 547.
- (134) Perez-Arnaiz, C.; Busto, N.; Leal, J. M.; Garcia, B. *J Phys Chem B* **2014**, *118*, 1288.
- (135) Agudelo, D.; Bourassa, P.; Berube, G.; Tajmir-Riahi, H. A. *J Photochem Photobiol B* **2016**, *158*, 274.
- (136) Li, Y.; Yang, Z. Y.; Wang, M. F. *J Fluoresc* **2010**, *20*, 891.
- (137) Suh, D.; Chaires, J. B. *Bioorgan Med Chem* **1995**, *3*, 723.
- (138) Khorasani-Motlagh, M.; Noroozifar, M.; Moodi, A.; Niroomand, S. *J Photochem Photobiol B* **2013**, *127*, 192.
- (139) Pirmettis, I. C.; Papadopoulos, M. S.; Chiotellis, E. *Journal of Medicinal Chemistry* **1997**, *40*, 2539.
- (140) Karachaliou, C. E.; Triantis, C.; Liolios, C.; Palamaris, L.; Zikos, C.; Tsitsilonis, O. E.; Kalbacher, H.; Voelter, W.; Loudos, G.; Papadopoulos, M.; Pirmettis, L.; Livaniou, E. *Eur J Pharm Biopharm* **2017**, *113*, 188.
- (141) Giglio, J.; Patsis, G.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M.; Raptopoulou, C.; Pelecanou, M.; Leon, E.; Gonzalez, M.; Cerecetto, H.; Rey, A. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *43*, 741.
- (142) Karachaliou, C. E.; Triantis, C.; Liolios, C.; Palamaris, L.; Zikos, C.; Tsitsilonis, O.; Loudos, G.; Papadopoulos, M.; Pirmettis, I.; Livaniou, E. *Eur J Pharm Sci* **2013**, *50*, E71.
- (143) Makris, G.; Pelecanou, M.; Iakovou, I.; Christoforidis, T.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M. S.; Papagiannopoulou, D. *Eur J Nucl Med Mol I* **2011**, *38*, S244.
- (144) Papagiannopoulou, D.; Mallo, L.; Papadopoulos, M.; Pirmettis, I.; Maina, T.; Nock, B.; Leon, A.; Chiotellis, E. *European Journal of Nuclear Medicine* **1999**, *26*, 989.

**(145)** Simpson, P. V.; Casari, I.; Paternoster, S.; Skelton, B. W.; Falasca, M.; Massi, M.  
*Chemistry* **2017**, *23*, 6518.



## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

**fac:** Facial, μετωπικό

**HEDP:** 1-Υδροξυαιθανο-1,1-διφωσφονικό οξύ

**HMDP:** Υδροξυμεθανοδιφωσφονικό οξύ

**TMS:** Τετραμεθυλοσιλάνιο

**p.i.:** Μετά την ενέσιμη χορήγηση

**STD:** Τυπική Απόκλιση

**ID:** Χορηγούμενη Δόση

**TFA:** Τριφθοροοξικό οξύ

**EtBr:** βρωμιούχο αιθίδιο

**CT-DNA:** DNA θύμου αδένος βοοειδούς

**MTT:** 3-(4,5-διμεθυλ-2-θειαζολυλ)-2,5-διφαινυλ-2Η-τετραζόλιο βρωμίδιο

**t<sub>R</sub>:** Χρόνος Έκλυσης

**cpm:** Κρούσεις ανά λεπτό

**CT:** Αξονική Τομογραφία

**IR:** Φασματοσκοπία υπέρυθρου

**NMR:** Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

**SPECT:** Υπολογιστική Τομογραφία Μονοφωτονιακής Εκπομπής

**HPLC:** Υγρή χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης

**UV-Vis:** Υπεριώδες – ορατό

**PTA:** 1,3,5-τριαζα-7-φωσφαδαμαντάνιο

**py:** πυριδίνη

**cisc:** Κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο

**PPh<sub>3</sub>:** τριφαινυλοφωσφίνη



## Παράρτημα

## ARTICLE IN PRESS – Acta Cryst. E

CRYSTALLOGRAPHIC  
COMMUNICATIONS

**Crystal structure of *fac*-aquatricarbonyl-(*E*)-4-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline- $\kappa$ *N,N'*-rhenium(I) hexafluoridophosphate methanol monosolvate**

ISSN 2056-9890

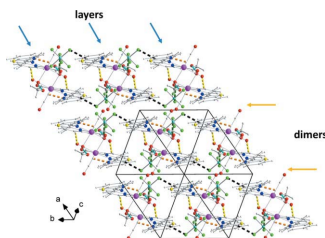
**Proof instructions**

Proof corrections should be returned by **4 April 2019**. After this period, the Editors reserve the right to publish your article with only the Managing Editor's corrections.

Please

- (1) Read these proofs and assess whether any corrections are necessary.
- (2) Check that any technical editing queries highlighted in **bold underlined** text have been answered.
- (3) Send corrections by e-mail to **checkin@iucr.org**. Please describe corrections using plain text, where possible, giving the line numbers indicated in the proof. Please do not make corrections to the pdf file electronically and please do not return the pdf file. If no corrections are required please let us know.

If you wish to purchase printed offprints, please complete the attached order form and return it by e-mail as soon as possible.

**Please check the following details for your article**

**Abbreviated author list:** Roupa, I.; Kaplanis, M.; Raptopoulou, C.; Pelecanou, M.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M.; Psycharis, V.

**Thumbnail image for contents page**

**How to cite your article in press**

Your article has not yet been assigned page numbers, but may be cited using the doi:

Roupa, I., Kaplanis, M., Raptopoulou, C., Pelecanou, M., Pirmettis, I., Papadopoulos, M. & Psycharis, V. (2019). *Acta Cryst. E* 75, <https://doi.org/10.1107/S2056989019004298>.

You will be sent the full citation when your article is published and also given instructions on how to download an electronic reprint of your article.





Received 13 March 2019

Accepted 29 March 2019

Edited by M. Weil, Vienna University of  
Technology, Austria

**Keywords:** crystal structure; tricarbonyl rhenium (I); mixed ligand complex; 2-(4'-aminophenyl)benzothiazole; *trans* effect; Hirshfeld surface analysis.

**CCDC reference:** 1906503

**Supporting information:** this article has supporting information at journals.iucr.org/e

# Crystal structure of *fac*-aquatricarbonyl-(*E*)-4-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline- $\kappa N, N'$ -rhenium(I) hexafluoridophosphate methanol monosolvate

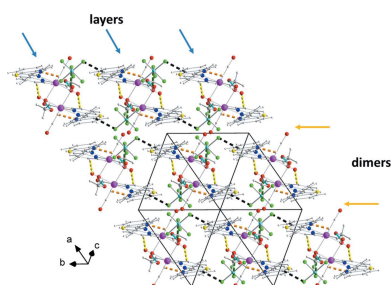
Ioanna Roupa,<sup>a</sup> Michael Kaplanis,<sup>a</sup> Catherine Raptopoulou,<sup>b</sup> Maria Pelecanou,<sup>c</sup> Ioannis Pirmettis,<sup>a</sup> Minas Papadopoulos<sup>a</sup> and Vassilis Psycharis<sup>b\*</sup>

<sup>a</sup>Institute of Nuclear and Radiological Sciences and Technology, Energy and Safety, National Centre for Scientific Research "Demokritos", 15310 Athens, Greece, <sup>b</sup>Institute of Nanoscience and Nanotechnology, Department of Materials Science, National Centre for Scientific Research "Demokritos", 15310 Athens, Greece, and <sup>c</sup>Institute of Biosciences & Applications, National Centre for Scientific Research "Demokritos", 15310 Athens, Greece. \*Correspondence e-mail: v.psycharis@inn.demokritos.gr

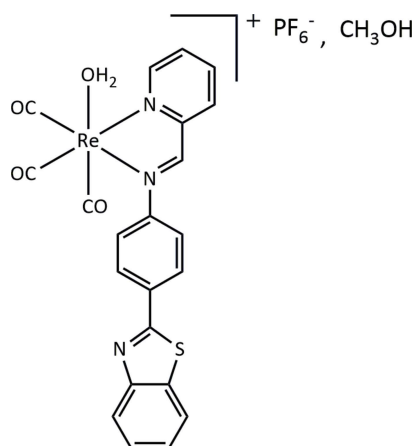
In the title compound, *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>S)(H<sub>2</sub>O)]PF<sub>6</sub>·CH<sub>3</sub>OH, the coordination environment of the Re<sup>I</sup> atom is octahedral with a C<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O coordination set. In this molecule, the *N, N'* bidentate ligand, (*E*)-4-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline, and the monodentate aqua ligand occupy the three available coordination sites of the [Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> core, generating a '2 + 1' mixed-ligand complex. In this complex, the Re—C bonds of the carbonyl ligands *trans* to the coordinating *N, N'* atoms of the bidentate ligand are longer than the Re—C bond of the carbonyl group *trans* to the aqua ligand, in accordance with the intensity of their *trans* effects. The complex is positively charged with PF<sub>6</sub><sup>−</sup> as the counter-ion. In the structure, the complexes form dimers through  $\pi$ – $\pi$  intermolecular interactions. O—H···O and O—H···N hydrogen bonds lead to the formation of stacks parallel to the *a* axis, which further extend into layers parallel to (0 $\bar{1}$ 1). Through O—H···F hydrogen bonds between the complexes and the PF<sub>6</sub><sup>−</sup> counter-anions, a three-dimensional network is established.

## 1. Chemical context

'2 + 1' mixed-ligand complexes of general formula *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>L<sub>1</sub>L<sub>2</sub>], where *M* is Re or <sup>99m</sup>Tc, L<sub>1</sub> is a bidentate ligand (bipyridine, 2-picolinic acid, acetylacetonone, etc) and L<sub>2</sub> is a monodentate ligand (aqua, imidazole, phosphine or isocyanide), have been studied extensively for the development of novel radiopharmaceuticals for diagnosis (*M* = <sup>99m</sup>Tc) or radiotherapy (*M* = <sup>186/188</sup>Re) (Knopf *et al.*, 2017; Mundwiler *et al.*, 2004; Papagiannopoulou *et al.*, 2014; Triantis *et al.*, 2013; Shegani *et al.*, 2017). Furthermore, recent studies have revealed the potential of such *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>L<sub>1</sub>L<sub>2</sub>] complexes as anticancer agents (Leonidova & Gasser, 2014). According to the '2 + 1' strategy, the intermediate aqua complex *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(L<sub>2</sub>)(H<sub>2</sub>O)] plays a crucial role. The labile water ligand can readily be substituted by a monodentate ligand L<sub>2</sub> (typically heterocyclic aromatic amines, isocyanides, phosphines), generating the final *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>L<sub>2</sub>L<sub>1</sub>] product in high yield. The '2 + 1' complexes are characterized by kinetic stability and structural variability that facilitates the tuning of physicochemical properties and tethering of pharmacophores of interest towards the generation of targeted multifunctional compounds.



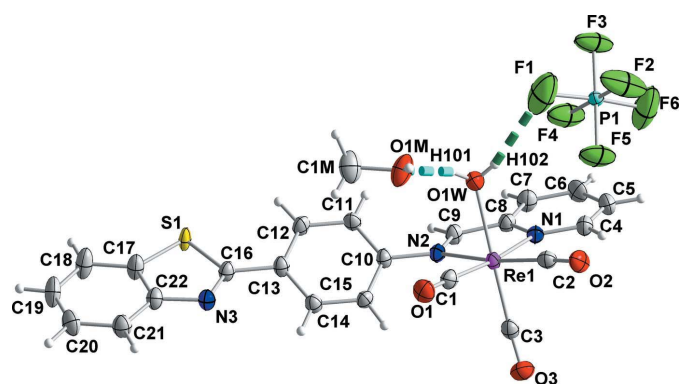
OPEN ACCESS



As part of our ongoing research in the field of Re/Tc coordination chemistry, we report herein the structure of the '2 + 1' tricarbonyl rhenium(I) complex *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(NNbz)(H<sub>2</sub>O)]PF<sub>6</sub>·CH<sub>3</sub>OH where the bidentate NNbz ligand is (*E*)-4-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline. The NNbz ligand carries the 2-(4'-aminophenyl)-benzothiazole scaffold, which also exhibits interesting biological properties against a variety of targets and presents great potential for diagnostic/therapeutic applications (Keri *et al.*, 2015; Kiritsis *et al.*, 2017; Bradshaw & Westwell, 2004).

## 2. Structural commentary

The asymmetric unit of the title compound comprises one *fac*-aquatricarbonyl-(*E*)-4-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline-rhenium(I) complex molecule, one PF<sub>6</sub><sup>−</sup> counter-anion and one methanol solvent molecule (Fig. 1). Within the complex, the Re<sup>I</sup> atom presents a distorted octahedral C<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O coordination set with the three tricarbonyl ligands in facial and the bidentate diimine (NNbz) and the monodentate water ligands in a *cis* arrangement (Fig. 1). The two coordinating nitrogen atoms N1 and N2 of the bidentate NNbz ligand together with two carbonyl carbon atoms define



**Figure 1**  
Molecular structure and labeling scheme for the title Re<sup>I</sup> complex, the methanol solvent molecule and the PF<sub>6</sub><sup>−</sup> counter-anion. Displacement ellipsoids are drawn at the 50% probability level. Cyan and dark-green dashed lines indicate the O1W–H101···O1M and O1W–H102···F1 hydrogen bonds, respectively.

**Table 1**  
Hydrogen-bond geometry (Å, °).

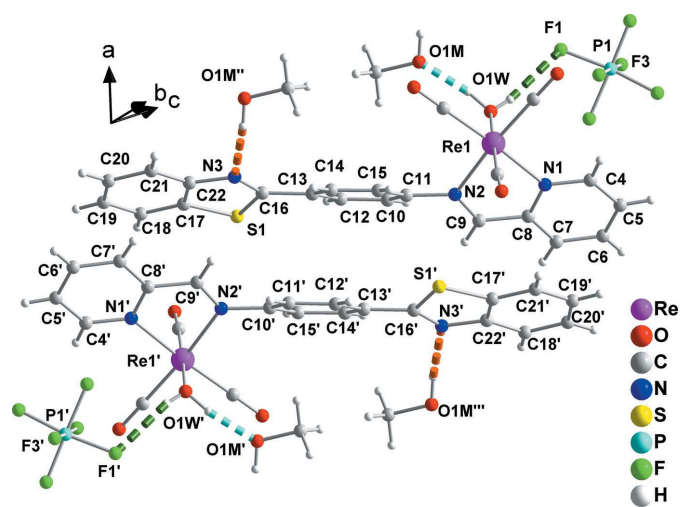
| <i>D</i> –H··· <i>A</i>      | <i>D</i> –H | H··· <i>A</i> | <i>D</i> ··· <i>A</i> | <i>D</i> –H··· <i>A</i> |
|------------------------------|-------------|---------------|-----------------------|-------------------------|
| C5–H5···O2 <sup>i</sup>      | 0.91 (4)    | 2.59 (4)      | 3.439 (4)             | 156 (3)                 |
| C9–H9···F3 <sup>ii</sup>     | 0.94 (3)    | 2.47 (3)      | 3.390 (3)             | 166 (2)                 |
| O1W–H101···O1M               | 0.91 (4)    | 1.67 (4)      | 2.558 (3)             | 165 (4)                 |
| O1W–H102···F1                | 0.72 (4)    | 2.36 (4)      | 3.059 (5)             | 164 (4)                 |
| O1M–H201···N3 <sup>iii</sup> | 0.88 (5)    | 2.01 (5)      | 2.842 (3)             | 158 (4)                 |

Symmetry codes: (i)  $-x + 1, -y + 2, -z + 2$ ; (ii)  $-x + 1, -y + 1, -z + 2$ ; (iii)  $-x + 2, -y + 1, -z + 1$ .

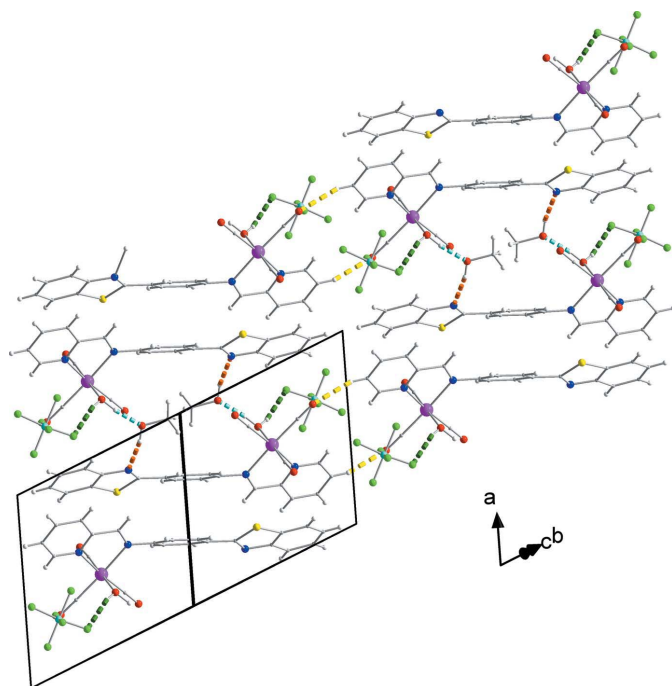
the equatorial plane with almost perfect planarity (deviation from the least-squares plane = 0.006 Å). The Re–N1 and Re–N2 distances are 2.177 (2) and 2.194 (2) Å, respectively. The oxygen atom of the water molecule [Re–O1W = 2.189 (2) Å] and the carbon atom from the third carbonyl ligand define the axial direction of the octahedron. Both the Re–N and the Re–O distances fall in the range of observed values in complexes with a diimine, aqua or tricarbonyl core (Mella *et al.*, 2016; Connick *et al.*, 1999; Schutte *et al.* 2011; Salignac *et al.*, 2003; Knopf *et al.*, 2017; Rillema *et al.*, 2007; Barbazán *et al.*, 2009; Carrington *et al.*, 2016; Tzeng *et al.*, 2011; Grewe *et al.*, 2003). The NNbz ligand deviates from planarity as the dihedral angle between the central phenyl ring and the benzothiazole group is 20.48 (8)°, while the dihedral angle between the phenyl ring and the pyridine ring is 39.13 (8)°.

## 3. Supramolecular features

The counter-anion and the methanol solvent molecules form O1W–H102···F1 and O1W–H101···O1M hydrogen bonds with the aqua ligand (Fig. 1, Table 1). Neighbouring complexes present a  $\pi$ – $\pi$  overlap between their coordinating NNbz ligands, forming dimers (Fig. 2). More specifically, the mol-

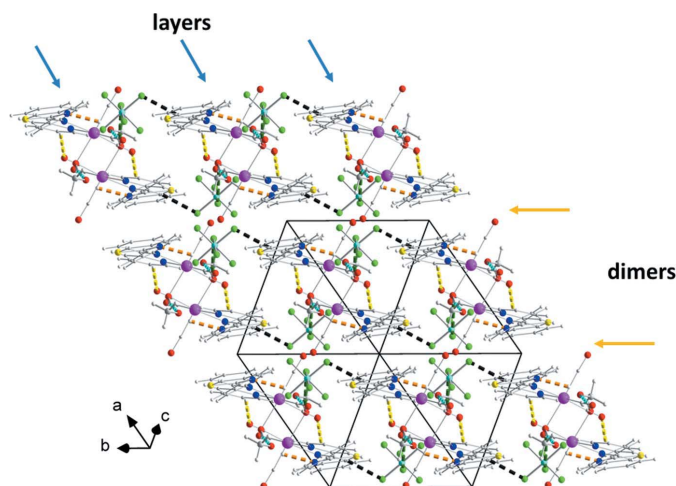


**Figure 2**  
Dimers of complexes formed through  $\pi$ – $\pi$  overlap between their coordinating NNbz ligands and intermolecular interactions between dimers with methanol solvent molecules and PF<sub>6</sub><sup>−</sup> counter-anions. Colour code as in Fig. 1 with the additional O1M–H201···N3 interactions indicated by orange dashed lines. [Symmetry codes: (')  $1 - x, 1 - y, 1 - z$ ; (")  $2 - x, 1 - y, 1 - z$ ; (""')  $-1 + x, y, z$ .]



**Figure 3**  
Layers of complexes parallel to  $(0\bar{1}1)$ .  $C5-H5 \cdots O2$  hydrogen bonds are indicated by yellow dashed lines. For the atoms and the rest of the bonds, the colour code is as in Fig. 2.

molecules are centrosymmetrically related and thus exhibit parallel phenyl rings of the NNbz ligand at a distance of 3.50 (1) Å. In addition, both the pyridine rings and the phenyl rings of the benzothiazole parts of neighbouring centrosymmetrically related NNbz ligands overlap with each other, with their respective centroids  $Cg1$  and  $Cg2$  lying at a distance of 3.8525 (1) Å and forming an angle of 18.67 (6)° [ $Cg1$  and  $Cg2'$

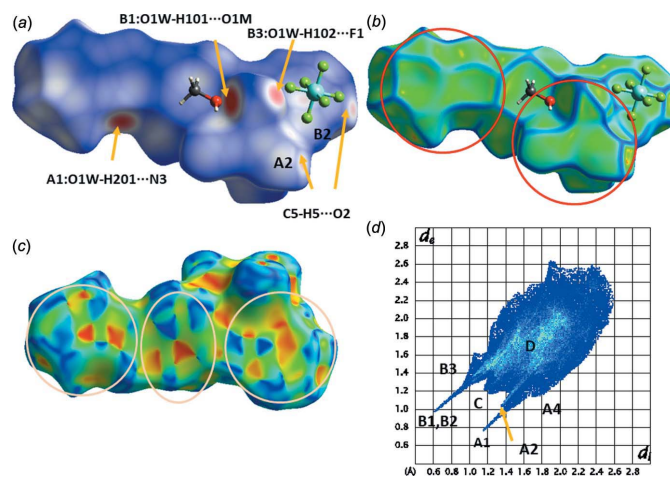


**Figure 4**  
Three-dimensional arrangement of layers.  $C9-H9 \cdots F3^{II}$  hydrogen bonds are indicated by black dashed lines. For the atoms and the rest of the bonds, the colour code is as in previous figures. The cyan arrows indicate the position of the layers within the structure and the orange ones the areas where the complexes interact through  $\pi-\pi$  interactions.

are the centroids of the N1, C4–C8 and C17'–C22' rings; symmetry code: (')  $1-x, 1-y, 1-z$ ; Fig. 2]. The dimers are stacked along the  $a$ -axis direction. Methanol solvent molecules are interleaved between adjacent dimers within the stacked molecules and are linked through intermolecular  $O1W-H101 \cdots O1M$  and  $O1M-H201 \cdots N3$  interactions (Fig. 3). These stacks are extended into layers parallel to  $(0\bar{1}1)$  through  $C5-H5 \cdots O2$  hydrogen bonds and further  $O1W-H102 \cdots F1$ ,  $C9-H9 \cdots F3^{II}$  (Table 1) hydrogen bonds between the counter-anions and the coordinating ligands result in the formation of a three-dimensional network structure (Fig. 4).

#### 4. Hirshfeld surface study

The view of the Hirshfeld surface mapped with  $d_{\text{norm}}$  (Fig. 5a) reveals almost all of the hydrogen-bonding interactions discussed above as intense red areas. The same view of the surface mapped with the curvedness property reveals the contact areas of the tricarbonyl part of the complex with the benzothiazole end of the coordinating ligand, as indicated by patches of the same shape (circled areas in Fig. 5b). Finally, the plot of the surface mapped with the shape-index property (Fig. 5c) gives clear evidence that this part of the molecule interacts with a centrosymmetrically related neighbour, as the shape of the patterns on the surface are related centrosymmetrically. The rhombic and triangular shapes with the complementary red(hollows)/blue(bumps) colours are characteristic of  $\pi-\pi$  interactions. The asymmetric distribution of



**Figure 5**  
Views of the Hirshfeld surfaces mapped over (a)  $d_{\text{norm}}$ , (b) curvedness and (c) shape-index, and (d) the fingerprint plot for the title complex. The red circles in (b) indicate patches of the same shape corresponding to contact areas of neighbouring complexes. The central ellipse in (c) indicates the  $\pi-\pi$  overlap of the central phenyl rings, and the two circles at both ends of the surface the overlap of the pyridine ring and the phenyl ring of the benzothiazole part of neighbouring centrosymmetrically related NNbz ligands. In (d),  $d_e$  and  $d_i$  are the distances to the nearest atom centre exterior and interior to the surface. A1 and A4 stand for the acceptor atoms in  $O1W-H201 \cdots N3$  and  $C \cdots H$  interactions. A2, B2 indicate the acceptor atom and the H-donated atom in the  $C5-H5 \cdots O2$  interaction, B1 the H101 atom in the  $O1W-H101 \cdots O1M$  interaction, and B3, C and D the  $H \cdots F$ ,  $H \cdots H$  and  $C \cdots C$  interactions, respectively.



Table 2

Characteristic bond lengths (Å) for a series of Re<sup>I</sup> complexes with a *fac*-aqua tricarbonyl diimine octahedral core.

|                       | Re–N1     | Re–C1      | Re–N2      | Re–C2      | Re–O1W    | Re–C3      |
|-----------------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|------------|
| Present work          | 2.177 (2) | 1.925 (3)  | 2.194 (2)  | 1.920 (3)  | 2.189 (2) | 1.899 (3)  |
| ENAJAG <sup>a</sup>   | 2.156 (7) | 1.935 (11) | 2.165 (7)  | 1.884 (10) | 2.176 (7) | 1.886 (11) |
| ENAJEK <sup>a</sup>   | 2.173 (5) | 1.911 (7)  | 1.911 (10) | 1.902 (10) | 1.914(6)  | 1.938 (7)  |
| FIWQUX-1 <sup>b</sup> | 2.171 (7) | 1.911 (10) | 2.183 (7)  | 1.910 (11) | 2.214 (6) | 1.887 (10) |
| FIWQUX-2 <sup>b</sup> | 2.164 (7) | 1.902 (10) | 2.178 (7)  | 1.909 (10) | 2.210 (6) | 1.868 (10) |
| KAWLOL <sup>c</sup>   | 2.168 (4) | 1.914 (6)  | 2.175 (4)  | 1.929 (7)  | 2.162 (3) | 1.893(5)   |
| UHUNOA <sup>d</sup>   | 2.161 (5) | 1.938 (7)  | 2.183 (5)  | 1.931 (7)  | 2.181 (5) | 1.898 (7)  |
| SEHGUK <sup>e</sup>   | 2.210 (3) | 1.928 (4)  | 2.200 (3)  | 1.929 (4)  | 2.196 (2) | 1.896 (4)  |
| PIDYIL <sup>f</sup>   | 2.167 (2) | 1.918 (3)  | 2.167 (2)  | 1.918 (3)  | 2.143 (3) | 1.912 (4)  |
| UHUNUG <sup>d</sup>   | 2.161 (6) | 1.901 (9)  | 2.165 (6)  | 1.914 (10) | 2.190 (5) | 1.882 (10) |
| VUDWAT <sup>g</sup>   | 2.185 (4) | 1.888 (7)  | 2.175 (6)  | 1.925 (8)  | 2.165 (5) | 1.853 (9)  |
| ETEDEO <sup>h</sup>   | 2.186 (5) | 1.933 (6)  | 2.178 (5)  | 1.902 (7)  | 2.155 (5) | 1.896 (7)  |
| ISORIZ <sup>i</sup>   | 2.203 (3) | 1.912 (4)  | 2.142 (3)  | 1.922 (4)  | 2.173 (3) | 1.904 (4)  |
| TUTDAN <sup>j</sup>   | 2.168 (6) | 1.925 (8)  | 2.175 (6)  | 1.913 (9)  | 2.175 (6) | 1.89 (1)   |

Notes: (a) 1,10-Phenanthroline (Connick *et al.*, 1999); (b) 1,10-phenanthroline (Schutte *et al.*, 2011); (c) 1,10-phenanthroline (Schutte *et al.*, 2011); (d) 1,10-phenanthroline (Salignac *et al.*, 2003); (e) 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline (Knopf *et al.*, 2017); (f) 2,2'-bipyrazine (Rillema *et al.*, 2007); (g) 2-hydroxybenzoic acid hydrazide, (Barbazán *et al.*, 2009); (h) 2-(2'-pyridyl)benzothiazole (Carrington *et al.*, 2016); (i) 2-(2'-pyridyl)benzimidazole (Tzeng *et al.*, 2011); (j) acetylpyridine benzoylhydrazone (Grewe *et al.*, 2003).

points in the fingerprint plot for the complex shown in Fig. 5d is indicative that there are contributions from different molecules. The relative contributions for the H···H, O···H, H···F, C···H and C···C interactions are 23.2, 20.2, 16.2, 9.7 and 8.2%, respectively, which, in total, amount to 96.4%. The rest of the intermolecular interactions include O···S (3.1%), H···N (2.3%), C···S (2.4%) and C···N (1.5%), as well as other interactions with <1% contribution.

## 5. Database survey

A search of the Cambridge Structural Database (**Version?**; Groom *et al.*, 2016) revealed twelve *fac*-aquatricarbonyl Re<sup>I</sup> complexes with different *N,N'*-bidentate ligands. A thirteenth structure, FIWQUX-2 (Schutte *et al.*, 2011), consists of two symmetry-independent complexes. The Re–N bond lengths observed in the present study (Table 2) are longer than those in most of the previously studied complexes, and close to the longer ones observed in the SEHGUK structure (Knopf *et al.*, 2017) with the 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline bidentate ligand. As can be seen in Table 2, the Re–N bond lengths fall in the range 2.142–2.210 Å. The corresponding range for the Re–O1W bond is 2.143–2.214 Å, with the value observed in the present study falling in the middle of this range. The values of the Re–C bond lengths are also given. In all cases, the Re–C bonds *trans* to water molecule are shorter than the Re–C bonds *trans* to N atoms, in accordance with the intensity of the *trans* effect of the coordinating ligands. **Section Editor's comment: In Table 2, the distances for ENAJEK are wrong (Re-N2, Re-O1W, the metal-C distances, etc.); compound UHUNOA contains two independent molecules in the asymmetric unit, so two sets of distances should be given**

## 6. Synthesis and crystallization

A mixture of Re(CO)<sub>5</sub>Br (81 mg, 0.2 mmol) and the NNbz ligand (69 mg, 0.22 mmol) was suspended in 7 ml toluene and refluxed under an N<sub>2</sub> atmosphere for 4 h. The red suspension

was then allowed to cool to room temperature. The red solid that formed was dissolved in acetonitrile (25 ml) and a batch of AgPF<sub>6</sub> (55 mg, 0.22 mmol) was added. The reaction mixture was refluxed for 18 h under an N<sub>2</sub> atmosphere. The round flask was covered with aluminium foil to avoid exposure to any ambient light. The reaction mixture was allowed to cool for 1 h to 273 K, and then the precipitate (AgBr) was filtered off through celite. The yellow–orange filtrate was evaporated to

Table 3  
Experimental details.

|                                                                                                                         |                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Crystal data                                                                                                            |                                                                                                                              |
| Chemical formula                                                                                                        | [Re(CO) <sub>3</sub> (C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> S)(H <sub>2</sub> O)]PF <sub>6</sub> ·CH <sub>3</sub> O |
| <i>M</i> <sub>r</sub>                                                                                                   | 780.64                                                                                                                       |
| Crystal system, space group                                                                                             | Triclinic, <i>P</i> $\bar{1}$                                                                                                |
| Temperature (K)                                                                                                         | 160                                                                                                                          |
| <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)                                                                                      | 10.0447 (3), 10.7580 (3),<br>13.6263 (4)                                                                                     |
| $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ (°)                                                                                       | 74.335 (1), 76.285 (1), 68.874 (1)                                                                                           |
| <i>V</i> (Å <sup>3</sup> )                                                                                              | 1306.38 (7)                                                                                                                  |
| <i>Z</i>                                                                                                                | 2                                                                                                                            |
| Radiation type                                                                                                          | Mo <i>K</i> $\alpha$                                                                                                         |
| $\mu$ (mm <sup>-1</sup> )                                                                                               | 4.88                                                                                                                         |
| Crystal size (mm)                                                                                                       | 0.48 × 0.26 × 0.04                                                                                                           |
| Data collection                                                                                                         |                                                                                                                              |
| Diffractometer                                                                                                          | Rigaku R-AXIS SPIDER IPDS                                                                                                    |
| Absorption correction                                                                                                   | Numerical ( <i>CrystalClear</i> ; Rigaku, 2005)                                                                              |
| <i>T</i> <sub>min</sub> , <i>T</i> <sub>max</sub>                                                                       | 0.496, 1.000                                                                                                                 |
| No. of measured, independent and observed [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )] reflections                             | 25647, 5694, 5416                                                                                                            |
| <i>R</i> <sub>int</sub>                                                                                                 | 0.027                                                                                                                        |
| ( <i>sin</i> $\theta$ / $\lambda$ ) <sub>max</sub> (Å <sup>-1</sup> )                                                   | 0.639                                                                                                                        |
| Refinement                                                                                                              |                                                                                                                              |
| <i>R</i> [ <i>F</i> <sup>2</sup> > 2 $\sigma$ ( <i>F</i> <sup>2</sup> )], <i>wR</i> ( <i>F</i> <sup>2</sup> ), <i>S</i> | 0.020, 0.045, 1.06                                                                                                           |
| No. of reflections                                                                                                      | 5694                                                                                                                         |
| No. of parameters                                                                                                       | 437                                                                                                                          |
| H-atom treatment                                                                                                        | All H-atom parameters refined                                                                                                |
| $\Delta\rho_{max}$ , $\Delta\rho_{min}$ (e Å <sup>-3</sup> )                                                            | 0.97, -0.53                                                                                                                  |

Computer programs: *CrystalClear* (Rigaku, 2005), *SHELXS* (Sheldrick, 2015a), *SHELXL2014/6* (Sheldrick, 2015b), *DIAMOND* (Crystal Impact, 2012) and *publCIF* (Westrip, 2010).

dryness under reduced pressure, and the residue was recrystallized from acetonitrile/water to obtain 67 mg (45% yield) of the aqua complex. Analysis calculated (%) for  $C_{22}H_{15}F_6N_3O_4PReS$ : C, 35.30; H, 2.02; N, 5.61; found: C: 35.43, H: 2.05, N: 5.52. IR ( $cm^{-1}$ ): 2034, 1941, 1914  $cm^{-1}$  (vibration tension of the  $C\equiv O$  bond), 832, 556  $cm^{-1}$  (due to the counterion  $PF_6^-$ ).  $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.58, 9.15, 8.49, 8.45, 8.37, 8.21, 8.12, 7.98, 7.83, 7.78, 7.60, 7.52. Yellow–orange **[red-brown in CIF?]** crystals suitable for X-ray analysis were obtained by slow evaporation from a methanol/water solution.

## 7. Refinement

Crystal data, data collection and structure refinement details are summarized in Table 3. All H atoms were freely refined.

## Funding information

The research work was supported by the Hellenic Foundation for Research and Innovation (HFRI) and the General Secretariat for Research and Technology (GSRT) under the HFRI PhD Fellowship grant (IR, GA. No. 14500). VP would like to thank the Special Account of NCSR "Demokritos" for financial support regarding the operation of the X-ray facilities at INN through the internal program entitled 'Structural study and characterization of crystalline materials' (NCSR Demokritos, ELKE #10 813).

## References

- Barbazán, P., Carballo, R., Prieto, I., Turnes, M. & Vázquez-López, E. M. (2009). *J. Organomet. Chem.* **694**, 3102–3111.
- Bradshaw, T. D. & Westwell, A. D. (2004). *Curr. Med. Chem.* **11**, 1241–1253.
- Carrington, S. J., Chakraborty, I., Bernard, J. M. L. & Mascharak, P. K. (2016). *Inorg. Chem.* **55**, 7852–7858.
- Connick, W. B., Di Bilio, A. J., Schaeffer, W. P. & Gray, H. B. (1999). *Acta Cryst.* **C55**, 913–916.

- Crystal Impact (2012). *DIAMOND*. Crystal Impact GbR, Bonn, Germany.
- Grewe, J., Hagenbach, A., Stromburg, B., Alberto, R., Vazquez-Lopez, E. & Abram, U. (2003). *Z. Anorg. Allg. Chem.* **629**, 303–311.
- Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P. & Ward, S. C. (2016). *Acta Cryst.* **B72**, 171–179.
- Keri, R. S., Patil, M. R., Patil, S. A. & Budagumpi, S. (2015). *Eur. J. Med. Chem.* **89**, 207–251.
- Kiritzis, C., Mavroidi, B., Shegani, A., Palamaris, E., Loudos, G., Sagnou, M., Pirmettis, I., Papadopoulos, M. & Pelecanou, M. (2017). *ACS Med. Chem. Lett.* **8**, 1089–1092.
- Knopf, K., Murphy, B., MacMillan, S., Baskin, J., Barr, M., Boros, E. & Wilson, J. J. (2017). *J. Am. Chem. Soc.* **139**, 14302–14314.
- Leonidova, A. & Gasser, G. (2014). *Chem. Biol.* **9**, 2180–2193.
- Mella, P., Cabezas, K., Cerda, C., Cepeda-Plaza, M., Günther, G., Pizarro, N. & Vega, A. (2016). *New J. Chem.* **40**, 6451–6459.
- Mundwiler, S., Kündig, M., Ortner, K. & Alberto, R. A. (2004). *Dalton Trans.* pp. 1320–1328.
- Papagiannopoulou, D., Triantis, C., Vassileiadis, V., Raptopoulou, C. P., Psycharis, V., Terzis, A., Pirmettis, I. & Papadopoulos, M. S. (2014). *Polyhedron*, **68**, 46–52.
- Rigaku (2005). *CrystalClear*. Rigaku/MSO, The Woodlands, Texas, USA.
- Rillema, D. P., Kirgan, R. A., Smucker, B. & Moore, C. (2007). *Acta Cryst.* **E63**, m1404–m1405.
- Salignac, B., Grundler, P. V., Cayemittes, S., Frey, U., Scopelliti, R., Merbach, A. E., Hedinger, R., Hegetschweiler, K., Alberto, R., Prinz, U., Raabe, G., Kölle, U. & Hall, S. (2003). *Inorg. Chem.* **42**, 3516–3526.
- Schutte, M., Kemp, G., Visser, H. G. & Roodt, A. (2011). *Inorg. Chem.* **50**, 12486–12498.
- Shegani, A., Triantis, C., Nock, B. A., Maina, T., Kiritzis, C., Psycharis, V., Raptopoulou, C., Pirmettis, I., Tisato, F. & Papadopoulos, M. S. (2017). *Inorg. Chem.* **56**, 8175–8186.
- Sheldrick, G. M. (2015a). *Acta Cryst.* **A71**, 3–8.
- Sheldrick, G. M. (2015b). *Acta Cryst.* **C71**, 3–8.
- Triantis, C., Tsoதாகos, T., Tsoukalas, C., Sagnou, M., Raptopoulou, C., Terzis, A., Psycharis, V., Pelecanou, M., Pirmettis, I. & Papadopoulos, M. (2013). *Inorg. Chem.* **52**, 12995–13003.
- Tzeng, B.-C., Chen, B.-S., Chen, C.-K., Chang, Y.-P., Tzeng, W.-C., Lin, T.-Y., Lee, G.-H., Chou, P.-T., Fu, Y. J. & Chang, A. H.-H. (2011). *Inorg. Chem.* **50**, 5379–5388.
- Westrip, S. P. (2010). *J. Appl. Cryst.* **43**, 920–925.

## 1 supporting information

2 **Crystal structure of *fac*-aquatricarbonyl-(*E*)-4-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-**  
3 ***N*-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline- $\kappa$ *N,N'*-rhenium(I) hexafluoridophosphate**  
4 **methanol monosolvate**5 **Ioanna Roupa, Michael Kaplanis, Catherine Raptopoulou, Maria Pelecanou, Ioannis**  
6 **Pirmettis, Minas Papadopoulos and Vassilis Psycharis\***7 **Computing details**8 Data collection: *CrystalClear* (Rigaku, 2005); cell refinement: *CrystalClear* (Rigaku, 2005); data reduction: *CrystalClear*  
9 (Rigaku, 2005); program(s) used to solve structure: *SHELXS* (Sheldrick, 2015a); program(s) used to refine structure:  
10 *SHELXL2014/6* (Sheldrick, 2015b); molecular graphics: *DIAMOND* (Crystal Impact, 2012); software used to prepare  
11 material for publication: *publCIF* (Westrip, 2010).12 ***fac*-Aquatricarbonyl-(*E*)-4-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-*N*-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline- $\kappa$ *N,N'*-rhenium(I)**  
13 **hexafluoridophosphate methanol monosolvate**14 *Crystal data*

|                                                                                               |                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 15 [Re(CO) <sub>3</sub> (C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> S)(H <sub>2</sub> O)] | <i>Z</i> = 2                                    |
| 16 <i>M<sub>r</sub></i> = 780.64                                                              | <i>F</i> (000) = 756                            |
| 17 Triclinic, <i>P</i> $\bar{1}$                                                              | <i>D<sub>x</sub></i> = 1.985 Mg m <sup>-3</sup> |
| 18 <i>a</i> = 10.0447 (3) Å                                                                   | Mo <i>K</i> α radiation, λ = 0.71073 Å          |
| 19 <i>b</i> = 10.7580 (3) Å                                                                   | Cell parameters from 23889 reflections          |
| 20 <i>c</i> = 13.6263 (4) Å                                                                   | θ = 3.2–27.5°                                   |
| 21 α = 74.335 (1)°                                                                            | μ = 4.88 mm <sup>-1</sup>                       |
| 22 β = 76.285 (1)°                                                                            | <i>T</i> = 160 K                                |
| 23 γ = 68.874 (1)°                                                                            | Parallelepiped, red brown                       |
| 24 <i>V</i> = 1306.38 (7) Å <sup>3</sup>                                                      | 0.48 × 0.26 × 0.04 mm                           |

25 *Data collection*

|                                                                     |                                                   |
|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 26 Rigaku R-AXIS SPIDER IPDS                                        | 5694 independent reflections                      |
| diffractionmeter                                                    | 5416 reflections with <i>I</i> > 2σ( <i>I</i> )   |
| 27 Radiation source: fine-focus sealed tube                         | <i>R</i> <sub>int</sub> = 0.027                   |
| 28 θ scans                                                          | θ <sub>max</sub> = 27.0°, θ <sub>min</sub> = 3.1° |
| 29 Absorption correction: numerical                                 | <i>h</i> = -12→12                                 |
| ( <i>CrystalClear</i> ; Rigaku, 2005)                               | <i>k</i> = -13→13                                 |
| 30 <i>T</i> <sub>min</sub> = 0.496, <i>T</i> <sub>max</sub> = 1.000 | <i>l</i> = -17→16                                 |
| 31 25647 measured reflections                                       |                                                   |

32 *Refinement*

|                                                                            |                                                |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 33 Refinement on <i>F</i> <sup>2</sup>                                     | 5694 reflections                               |
| 34 Least-squares matrix: full                                              | 437 parameters                                 |
| 35 <i>R</i> [ <i>F</i> <sup>2</sup> > 2σ( <i>F</i> <sup>2</sup> )] = 0.020 | 0 restraints                                   |
| 36 <i>wR</i> ( <i>F</i> <sup>2</sup> ) = 0.045                             | Hydrogen site location: difference Fourier map |
| 37 <i>S</i> = 1.06                                                         | All H-atom parameters refined                  |

38  $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0212P)^2 + 1.3806P]$   
 where  $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$   
 39  $(\Delta/\sigma)_{\max} = 0.002$

$\Delta\rho_{\max} = 0.97 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$   
 $\Delta\rho_{\min} = -0.53 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$

40 *Special details*

41 **Geometry.** All e.s.d.'s (except the e.s.d. in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell e.s.d.'s are taken into account individually in the estimation of e.s.d.'s in distances, angles and torsion angles; correlations between e.s.d.'s in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell e.s.d.'s is used for estimating e.s.d.'s involving l.s. planes.

42 *Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )*

| 43 |     | <i>x</i>     | <i>y</i>    | <i>z</i>     | $U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$ |
|----|-----|--------------|-------------|--------------|----------------------------------|
| 44 | Re1 | 0.60782 (2)  | 0.80579 (2) | 0.72803 (2)  | 0.02076 (4)                      |
| 45 | O1W | 0.7342 (2)   | 0.6297 (2)  | 0.82936 (19) | 0.0305 (4)                       |
| 46 | C1  | 0.7598 (3)   | 0.7903 (3)  | 0.6110 (2)   | 0.0278 (6)                       |
| 47 | O1  | 0.8494 (2)   | 0.7844 (2)  | 0.54080 (17) | 0.0378 (5)                       |
| 48 | C2  | 0.6724 (3)   | 0.9386 (3)  | 0.7560 (2)   | 0.0274 (6)                       |
| 49 | O2  | 0.7081 (2)   | 1.0222 (2)  | 0.76923 (17) | 0.0368 (5)                       |
| 50 | C3  | 0.4873 (3)   | 0.9562 (3)  | 0.6452 (2)   | 0.0270 (6)                       |
| 51 | O3  | 0.4169 (2)   | 1.0526 (2)  | 0.59636 (17) | 0.0384 (5)                       |
| 52 | N1  | 0.4410 (2)   | 0.7968 (2)  | 0.86255 (17) | 0.0235 (5)                       |
| 53 | N2  | 0.5265 (2)   | 0.6456 (2)  | 0.71983 (17) | 0.0225 (4)                       |
| 54 | N3  | 0.8451 (2)   | 0.3276 (2)  | 0.34299 (18) | 0.0255 (5)                       |
| 55 | S1  | 0.76531 (10) | 0.12865 (8) | 0.46521 (7)  | 0.0419 (2)                       |
| 56 | C4  | 0.3971 (3)   | 0.8740 (3)  | 0.9337 (2)   | 0.0286 (6)                       |
| 57 | C5  | 0.3005 (3)   | 0.8508 (3)  | 1.0224 (2)   | 0.0327 (6)                       |
| 58 | C6  | 0.2477 (4)   | 0.7445 (3)  | 1.0389 (2)   | 0.0362 (7)                       |
| 59 | C7  | 0.2894 (3)   | 0.6653 (3)  | 0.9652 (2)   | 0.0323 (6)                       |
| 60 | C8  | 0.3849 (3)   | 0.6940 (3)  | 0.8781 (2)   | 0.0256 (5)                       |
| 61 | C9  | 0.4331 (3)   | 0.6167 (3)  | 0.7970 (2)   | 0.0258 (6)                       |
| 62 | C10 | 0.5866 (3)   | 0.5565 (3)  | 0.6476 (2)   | 0.0230 (5)                       |
| 63 | C11 | 0.6169 (3)   | 0.4165 (3)  | 0.6826 (2)   | 0.0265 (6)                       |
| 64 | C12 | 0.6798 (3)   | 0.3310 (3)  | 0.6132 (2)   | 0.0286 (6)                       |
| 65 | C13 | 0.7123 (3)   | 0.3835 (3)  | 0.5087 (2)   | 0.0244 (5)                       |
| 66 | C14 | 0.6791 (3)   | 0.5242 (3)  | 0.4738 (2)   | 0.0249 (5)                       |
| 67 | C15 | 0.6175 (3)   | 0.6105 (3)  | 0.5431 (2)   | 0.0233 (5)                       |
| 68 | C16 | 0.7791 (3)   | 0.2926 (3)  | 0.4342 (2)   | 0.0257 (6)                       |
| 69 | C17 | 0.8562 (3)   | 0.1046 (3)  | 0.3433 (2)   | 0.0330 (7)                       |
| 70 | C18 | 0.8893 (4)   | -0.0061 (3) | 0.2976 (3)   | 0.0441 (8)                       |
| 71 | C19 | 0.9563 (4)   | 0.0040 (3)  | 0.1968 (3)   | 0.0415 (8)                       |
| 72 | C20 | 0.9923 (3)   | 0.1196 (3)  | 0.1420 (3)   | 0.0368 (7)                       |
| 73 | C21 | 0.9609 (3)   | 0.2297 (3)  | 0.1873 (2)   | 0.0328 (6)                       |
| 74 | C22 | 0.8905 (3)   | 0.2234 (3)  | 0.2887 (2)   | 0.0272 (6)                       |
| 75 | C1M | 0.9995 (5)   | 0.3997 (5)  | 0.6743 (4)   | 0.0528 (10)                      |
| 76 | O1M | 0.9675 (3)   | 0.5110 (2)  | 0.7203 (2)   | 0.0505 (7)                       |
| 77 | P1  | 0.72699 (9)  | 0.71646 (8) | 1.09118 (6)  | 0.03265 (17)                     |
| 78 | F1  | 0.8471 (3)   | 0.6216 (3)  | 1.0214 (3)   | 0.0957 (10)                      |
| 79 | F2  | 0.8364 (4)   | 0.7745 (3)  | 1.1108 (2)   | 0.0963 (11)                      |

|     |      |            |            |              |             |
|-----|------|------------|------------|--------------|-------------|
| 80  | F3   | 0.7504 (3) | 0.5986 (2) | 1.19014 (18) | 0.0677 (7)  |
| 81  | F4   | 0.6144 (3) | 0.6560 (2) | 1.0673 (2)   | 0.0683 (7)  |
| 82  | F5   | 0.6990 (3) | 0.8341 (2) | 0.99029 (18) | 0.0631 (6)  |
| 83  | F6   | 0.5955 (4) | 0.8096 (3) | 1.1538 (3)   | 0.1039 (12) |
| 84  | H4   | 0.432 (3)  | 0.942 (3)  | 0.920 (3)    | 0.033 (9)*  |
| 85  | H5   | 0.276 (4)  | 0.906 (4)  | 1.069 (3)    | 0.042 (10)* |
| 86  | H6   | 0.186 (4)  | 0.731 (3)  | 1.094 (3)    | 0.031 (8)*  |
| 87  | H7   | 0.257 (4)  | 0.596 (4)  | 0.970 (3)    | 0.044 (10)* |
| 88  | H9   | 0.398 (3)  | 0.546 (3)  | 0.801 (2)    | 0.028 (8)*  |
| 89  | H11  | 0.598 (3)  | 0.384 (3)  | 0.750 (2)    | 0.023 (7)*  |
| 90  | H12  | 0.704 (3)  | 0.237 (3)  | 0.634 (3)    | 0.034 (8)*  |
| 91  | H14  | 0.696 (3)  | 0.560 (3)  | 0.406 (3)    | 0.026 (8)*  |
| 92  | H15  | 0.592 (3)  | 0.702 (3)  | 0.517 (2)    | 0.016 (7)*  |
| 93  | H18  | 0.868 (4)  | -0.083 (4) | 0.334 (3)    | 0.043 (10)* |
| 94  | H19  | 0.976 (4)  | -0.070 (4) | 0.170 (3)    | 0.045 (10)* |
| 95  | H20  | 1.038 (4)  | 0.127 (3)  | 0.071 (3)    | 0.036 (9)*  |
| 96  | H21  | 0.984 (3)  | 0.311 (3)  | 0.149 (3)    | 0.031 (8)*  |
| 97  | H101 | 0.823 (5)  | 0.581 (4)  | 0.801 (3)    | 0.051 (11)* |
| 98  | H102 | 0.749 (4)  | 0.641 (4)  | 0.874 (3)    | 0.044 (12)* |
| 99  | H201 | 1.041 (5)  | 0.541 (5)  | 0.709 (4)    | 0.073 (14)* |
| 100 | H202 | 1.091 (6)  | 0.323 (5)  | 0.698 (4)    | 0.099 (18)* |
| 101 | H203 | 0.915 (6)  | 0.364 (5)  | 0.702 (4)    | 0.095 (17)* |
| 102 | H204 | 1.008 (6)  | 0.427 (6)  | 0.607 (5)    | 0.10 (2)*   |

103 *Atomic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )*

|     | $U^{11}$ | $U^{22}$    | $U^{33}$    | $U^{12}$    | $U^{13}$     | $U^{23}$     |              |
|-----|----------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| 105 | Re1      | 0.02758 (6) | 0.01809 (5) | 0.01851 (6) | -0.01022 (4) | -0.00178 (4) | -0.00422 (4) |
| 106 | O1W      | 0.0366 (12) | 0.0287 (10) | 0.0275 (12) | -0.0099 (9)  | -0.0071 (10) | -0.0065 (9)  |
| 107 | C1       | 0.0326 (14) | 0.0231 (13) | 0.0306 (15) | -0.0109 (11) | -0.0065 (13) | -0.0058 (11) |
| 108 | O1       | 0.0379 (12) | 0.0408 (12) | 0.0309 (12) | -0.0142 (10) | 0.0052 (10)  | -0.0079 (10) |
| 109 | C2       | 0.0333 (14) | 0.0257 (13) | 0.0225 (14) | -0.0106 (11) | -0.0041 (11) | -0.0020 (11) |
| 110 | O2       | 0.0531 (13) | 0.0295 (10) | 0.0382 (12) | -0.0228 (10) | -0.0122 (10) | -0.0056 (9)  |
| 111 | C3       | 0.0338 (14) | 0.0258 (13) | 0.0227 (14) | -0.0134 (12) | 0.0003 (11)  | -0.0057 (11) |
| 112 | O3       | 0.0427 (12) | 0.0308 (11) | 0.0359 (12) | -0.0098 (10) | -0.0094 (10) | 0.0028 (10)  |
| 113 | N1       | 0.0271 (11) | 0.0211 (10) | 0.0220 (11) | -0.0069 (9)  | -0.0025 (9)  | -0.0059 (9)  |
| 114 | N2       | 0.0285 (11) | 0.0186 (10) | 0.0227 (11) | -0.0089 (9)  | -0.0038 (9)  | -0.0062 (9)  |
| 115 | N3       | 0.0274 (11) | 0.0236 (11) | 0.0270 (12) | -0.0093 (9)  | -0.0015 (9)  | -0.0084 (9)  |
| 116 | S1       | 0.0606 (5)  | 0.0262 (3)  | 0.0392 (4)  | -0.0243 (4)  | 0.0199 (4)   | -0.0164 (3)  |
| 117 | C4       | 0.0339 (15) | 0.0248 (13) | 0.0285 (15) | -0.0084 (12) | -0.0040 (12) | -0.0101 (11) |
| 118 | C5       | 0.0376 (16) | 0.0338 (15) | 0.0259 (15) | -0.0066 (13) | -0.0031 (12) | -0.0130 (13) |
| 119 | C6       | 0.0394 (17) | 0.0394 (16) | 0.0242 (15) | -0.0125 (14) | 0.0069 (13)  | -0.0080 (13) |
| 120 | C7       | 0.0364 (16) | 0.0297 (14) | 0.0309 (16) | -0.0155 (13) | 0.0034 (13)  | -0.0069 (12) |
| 121 | C8       | 0.0309 (14) | 0.0218 (12) | 0.0245 (14) | -0.0101 (11) | -0.0021 (11) | -0.0049 (11) |
| 122 | C9       | 0.0326 (14) | 0.0231 (13) | 0.0251 (14) | -0.0148 (11) | 0.0003 (11)  | -0.0061 (11) |
| 123 | C10      | 0.0261 (13) | 0.0222 (12) | 0.0238 (13) | -0.0106 (10) | -0.0014 (10) | -0.0078 (10) |
| 124 | C11      | 0.0385 (15) | 0.0224 (13) | 0.0186 (13) | -0.0126 (11) | -0.0013 (11) | -0.0026 (11) |
| 125 | C12      | 0.0397 (15) | 0.0183 (12) | 0.0286 (15) | -0.0118 (11) | -0.0028 (12) | -0.0045 (11) |



|     |     |             |             |             |              |              |              |
|-----|-----|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| 126 | C13 | 0.0269 (13) | 0.0241 (12) | 0.0251 (14) | -0.0120 (10) | 0.0008 (11)  | -0.0084 (11) |
| 127 | C14 | 0.0308 (14) | 0.0239 (13) | 0.0217 (14) | -0.0118 (11) | -0.0019 (11) | -0.0053 (11) |
| 128 | C15 | 0.0293 (13) | 0.0186 (12) | 0.0233 (13) | -0.0099 (10) | -0.0037 (11) | -0.0035 (10) |
| 129 | C16 | 0.0294 (13) | 0.0202 (12) | 0.0290 (14) | -0.0099 (10) | -0.0018 (11) | -0.0072 (11) |
| 130 | C17 | 0.0374 (15) | 0.0282 (14) | 0.0351 (16) | -0.0153 (12) | 0.0090 (13)  | -0.0152 (12) |
| 131 | C18 | 0.0501 (19) | 0.0326 (16) | 0.052 (2)   | -0.0214 (15) | 0.0175 (16)  | -0.0228 (15) |
| 132 | C19 | 0.0375 (17) | 0.0401 (17) | 0.052 (2)   | -0.0133 (14) | 0.0089 (15)  | -0.0310 (16) |
| 133 | C20 | 0.0329 (15) | 0.0462 (18) | 0.0336 (17) | -0.0127 (14) | 0.0054 (13)  | -0.0205 (14) |
| 134 | C21 | 0.0349 (15) | 0.0338 (15) | 0.0311 (16) | -0.0139 (13) | 0.0009 (13)  | -0.0098 (13) |
| 135 | C22 | 0.0255 (13) | 0.0274 (13) | 0.0316 (15) | -0.0104 (11) | -0.0004 (11) | -0.0112 (12) |
| 136 | C1M | 0.049 (2)   | 0.058 (2)   | 0.066 (3)   | -0.0270 (19) | -0.001 (2)   | -0.029 (2)   |
| 137 | O1M | 0.0334 (12) | 0.0402 (13) | 0.081 (2)   | -0.0137 (10) | 0.0051 (12)  | -0.0265 (13) |
| 138 | P1  | 0.0454 (4)  | 0.0270 (4)  | 0.0253 (4)  | -0.0160 (3)  | -0.0040 (3)  | -0.0003 (3)  |
| 139 | F1  | 0.088 (2)   | 0.0651 (16) | 0.104 (2)   | -0.0127 (15) | 0.0385 (17)  | -0.0299 (16) |
| 140 | F2  | 0.147 (3)   | 0.108 (2)   | 0.0777 (19) | -0.102 (2)   | -0.0657 (19) | 0.0366 (17)  |
| 141 | F3  | 0.0950 (18) | 0.0641 (14) | 0.0560 (14) | -0.0505 (14) | -0.0404 (13) | 0.0284 (12)  |
| 142 | F4  | 0.0874 (17) | 0.0592 (14) | 0.0723 (16) | -0.0459 (13) | -0.0405 (14) | 0.0199 (12)  |
| 143 | F5  | 0.0817 (16) | 0.0568 (13) | 0.0504 (13) | -0.0385 (12) | -0.0226 (12) | 0.0233 (11)  |
| 144 | F6  | 0.130 (3)   | 0.0520 (15) | 0.096 (2)   | -0.0228 (16) | 0.052 (2)    | -0.0301 (15) |

145 *Geometric parameters (Å, °)*

|     |          |           |          |           |
|-----|----------|-----------|----------|-----------|
| 146 | Re1—C3   | 1.899 (3) | C11—C12  | 1.380 (4) |
| 147 | Re1—C2   | 1.920 (3) | C11—H11  | 0.89 (3)  |
| 148 | Re1—C1   | 1.925 (3) | C12—C13  | 1.389 (4) |
| 149 | Re1—N1   | 2.177 (2) | C12—H12  | 0.93 (3)  |
| 150 | Re1—O1W  | 2.189 (2) | C13—C14  | 1.397 (4) |
| 151 | Re1—N2   | 2.194 (2) | C13—C16  | 1.475 (4) |
| 152 | O1W—H101 | 0.91 (4)  | C14—C15  | 1.386 (4) |
| 153 | O1W—H102 | 0.72 (4)  | C14—H14  | 0.90 (3)  |
| 154 | C1—O1    | 1.146 (4) | C15—H15  | 0.92 (3)  |
| 155 | C2—O2    | 1.150 (3) | C17—C18  | 1.390 (4) |
| 156 | C3—O3    | 1.158 (3) | C17—C22  | 1.410 (4) |
| 157 | N1—C4    | 1.339 (3) | C18—C19  | 1.373 (5) |
| 158 | N1—C8    | 1.361 (3) | C18—H18  | 0.92 (4)  |
| 159 | N2—C9    | 1.284 (3) | C19—C20  | 1.389 (5) |
| 160 | N2—C10   | 1.436 (3) | C19—H19  | 0.90 (4)  |
| 161 | N3—C16   | 1.289 (4) | C20—C21  | 1.384 (4) |
| 162 | N3—C22   | 1.390 (3) | C20—H20  | 0.96 (3)  |
| 163 | S1—C17   | 1.733 (3) | C21—C22  | 1.390 (4) |
| 164 | S1—C16   | 1.748 (3) | C21—H21  | 0.96 (3)  |
| 165 | C4—C5    | 1.385 (4) | C1M—O1M  | 1.401 (4) |
| 166 | C4—H4    | 0.89 (3)  | C1M—H202 | 1.04 (6)  |
| 167 | C5—C6    | 1.372 (4) | C1M—H203 | 1.01 (6)  |
| 168 | C5—H5    | 0.91 (4)  | C1M—H204 | 0.87 (6)  |
| 169 | C6—C7    | 1.385 (4) | O1M—H201 | 0.88 (5)  |
| 170 | C6—H6    | 0.87 (3)  | P1—F2    | 1.547 (2) |
| 171 | C7—C8    | 1.378 (4) | P1—F6    | 1.565 (3) |

|     |               |             |               |            |
|-----|---------------|-------------|---------------|------------|
| 172 | C7—H7         | 0.89 (4)    | P1—F1         | 1.579 (3)  |
| 173 | C8—C9         | 1.450 (4)   | P1—F3         | 1.579 (2)  |
| 174 | C9—H9         | 0.94 (3)    | P1—F5         | 1.600 (2)  |
| 175 | C10—C15       | 1.392 (4)   | P1—F4         | 1.621 (2)  |
| 176 | C10—C11       | 1.393 (4)   |               |            |
| 177 |               |             |               |            |
| 178 | C3—Re1—C2     | 85.26 (12)  | C11—C12—H12   | 122 (2)    |
| 179 | C3—Re1—C1     | 89.26 (12)  | C13—C12—H12   | 118 (2)    |
| 180 | C2—Re1—C1     | 87.63 (12)  | C12—C13—C14   | 119.5 (2)  |
| 181 | C3—Re1—N1     | 95.27 (10)  | C12—C13—C16   | 120.8 (2)  |
| 182 | C2—Re1—N1     | 98.04 (10)  | C14—C13—C16   | 119.7 (2)  |
| 183 | C1—Re1—N1     | 173.00 (9)  | C15—C14—C13   | 120.2 (3)  |
| 184 | C3—Re1—O1W    | 176.33 (10) | C15—C14—H14   | 119.4 (19) |
| 185 | C2—Re1—O1W    | 96.59 (10)  | C13—C14—H14   | 120.3 (19) |
| 186 | C1—Re1—O1W    | 93.97 (10)  | C14—C15—C10   | 119.7 (2)  |
| 187 | N1—Re1—O1W    | 81.35 (8)   | C14—C15—H15   | 118.1 (18) |
| 188 | C3—Re1—N2     | 99.29 (10)  | C10—C15—H15   | 122.0 (18) |
| 189 | C2—Re1—N2     | 171.90 (10) | N3—C16—C13    | 124.0 (2)  |
| 190 | C1—Re1—N2     | 99.07 (10)  | N3—C16—S1     | 115.7 (2)  |
| 191 | N1—Re1—N2     | 74.96 (8)   | C13—C16—S1    | 120.2 (2)  |
| 192 | O1W—Re1—N2    | 78.50 (8)   | C18—C17—C22   | 121.5 (3)  |
| 193 | Re1—O1W—H101  | 118 (2)     | C18—C17—S1    | 129.6 (2)  |
| 194 | Re1—O1W—H102  | 117 (3)     | C22—C17—S1    | 108.8 (2)  |
| 195 | H101—O1W—H102 | 102 (4)     | C19—C18—C17   | 117.7 (3)  |
| 196 | O1—C1—Re1     | 178.4 (2)   | C19—C18—H18   | 122 (2)    |
| 197 | O2—C2—Re1     | 177.0 (2)   | C17—C18—H18   | 121 (2)    |
| 198 | O3—C3—Re1     | 176.2 (2)   | C18—C19—C20   | 121.6 (3)  |
| 199 | C4—N1—C8      | 117.9 (2)   | C18—C19—H19   | 115 (2)    |
| 200 | C4—N1—Re1     | 127.09 (19) | C20—C19—H19   | 123 (2)    |
| 201 | C8—N1—Re1     | 114.86 (17) | C21—C20—C19   | 120.9 (3)  |
| 202 | C9—N2—C10     | 118.0 (2)   | C21—C20—H20   | 117 (2)    |
| 203 | C9—N2—Re1     | 115.25 (18) | C19—C20—H20   | 122 (2)    |
| 204 | C10—N2—Re1    | 125.69 (16) | C20—C21—C22   | 118.7 (3)  |
| 205 | C16—N3—C22    | 111.1 (2)   | C20—C21—H21   | 121.0 (19) |
| 206 | C17—S1—C16    | 89.41 (13)  | C22—C21—H21   | 120.2 (19) |
| 207 | N1—C4—C5      | 122.5 (3)   | N3—C22—C21    | 125.6 (3)  |
| 208 | N1—C4—H4      | 116 (2)     | N3—C22—C17    | 114.9 (2)  |
| 209 | C5—C4—H4      | 122 (2)     | C21—C22—C17   | 119.4 (3)  |
| 210 | C6—C5—C4      | 119.2 (3)   | O1M—C1M—H202  | 111 (3)    |
| 211 | C6—C5—H5      | 122 (2)     | O1M—C1M—H203  | 105 (3)    |
| 212 | C4—C5—H5      | 119 (2)     | H202—C1M—H203 | 108 (4)    |
| 213 | C5—C6—C7      | 119.1 (3)   | O1M—C1M—H204  | 109 (4)    |
| 214 | C5—C6—H6      | 119 (2)     | H202—C1M—H204 | 113 (5)    |
| 215 | C7—C6—H6      | 122 (2)     | H203—C1M—H204 | 111 (5)    |
| 216 | C8—C7—C6      | 119.0 (3)   | C1M—O1M—H201  | 112 (3)    |
| 217 | C8—C7—H7      | 117 (2)     | F2—P1—F6      | 93.4 (2)   |
| 218 | C6—C7—H7      | 124 (2)     | F2—P1—F1      | 92.4 (2)   |
| 219 | N1—C8—C7      | 122.2 (3)   | F6—P1—F1      | 173.6 (2)  |

|     |             |            |          |             |
|-----|-------------|------------|----------|-------------|
| 220 | N1—C8—C9    | 115.3 (2)  | F2—P1—F3 | 92.81 (13)  |
| 221 | C7—C8—C9    | 122.4 (2)  | F6—P1—F3 | 91.03 (17)  |
| 222 | N2—C9—C8    | 119.2 (2)  | F1—P1—F3 | 91.27 (16)  |
| 223 | N2—C9—H9    | 120.4 (19) | F2—P1—F5 | 89.19 (13)  |
| 224 | C8—C9—H9    | 120.4 (19) | F6—P1—F5 | 88.71 (16)  |
| 225 | C15—C10—C11 | 120.3 (2)  | F1—P1—F5 | 88.78 (16)  |
| 226 | C15—C10—N2  | 119.7 (2)  | F3—P1—F5 | 177.99 (13) |
| 227 | C11—C10—N2  | 120.0 (2)  | F2—P1—F4 | 178.45 (17) |
| 228 | C12—C11—C10 | 119.7 (3)  | F6—P1—F4 | 87.72 (18)  |
| 229 | C12—C11—H11 | 121.4 (19) | F1—P1—F4 | 86.42 (17)  |
| 230 | C10—C11—H11 | 118.8 (19) | F3—P1—F4 | 88.27 (12)  |
| 231 | C11—C12—C13 | 120.6 (2)  | F5—P1—F4 | 89.73 (12)  |

232 *Hydrogen-bond geometry* ( $\text{\AA}$ ,  $^\circ$ )

| 233 | $D-H\cdots A$                           | $D-H$    | $H\cdots A$ | $D\cdots A$ | $D-H\cdots A$ |
|-----|-----------------------------------------|----------|-------------|-------------|---------------|
| 234 | C5—H5 $\cdots$ O2 <sup>i</sup>          | 0.91 (4) | 2.59 (4)    | 3.439 (4)   | 156 (3)       |
| 235 | C9—H9 $\cdots$ F3 <sup>ii</sup>         | 0.94 (3) | 2.47 (3)    | 3.390 (3)   | 166 (2)       |
| 236 | O1 $W$ —H101 $\cdots$ O1 $M$            | 0.91 (4) | 1.67 (4)    | 2.558 (3)   | 165 (4)       |
| 237 | O1 $W$ —H102 $\cdots$ F1                | 0.72 (4) | 2.36 (4)    | 3.059 (5)   | 164 (4)       |
| 238 | O1 $M$ —H201 $\cdots$ N3 <sup>iii</sup> | 0.88 (5) | 2.01 (5)    | 2.842 (3)   | 158 (4)       |

239 Symmetry codes: (i)  $-x+1, -y+2, -z+2$ ; (ii)  $-x+1, -y+1, -z+2$ ; (iii)  $-x+2, -y+1, -z+1$ .

240 **other supporting information**

241 The following files will be made available to readers when your article is published. Unless otherwise stated, these files  
242 will be the same as those submitted during the review process.

243 Crystal structure: contains datablock I. wm5494sup1.cif

244 Structure factors: contains datablock I. wm5494Isup2.hkl



ISSN: 2056-9890

YOU WILL AUTOMATICALLY BE SENT DETAILS OF HOW TO DOWNLOAD AN ELECTRONIC REPRINT OF YOUR PAPER, FREE OF CHARGE. PRINTED REPRINTS MAY BE PURCHASED USING THIS FORM.

Please scan your order and send to checkin@iucr.org

INTERNATIONAL UNION OF CRYSTALLOGRAPHY

5 Abbey Square  
Chester CH1 2HU, England.

VAT No. GB 161 9034 76

Article No.: E190429-WM5494

Title of article Crystal structure of fac-aquatricarbonyl-(E)-4-(benzo[d]thiazol-2-yl)-N-(pyridin-2-ylmethylidene)aniline-K,N,N'-rhenium(I) hexafluoridophosphate methanol monosolvate

Name Vassilis Psycharis

Address Institute of Nanoscience and Nanotechnology, Department of Materials Science, National Centre for Scientific Research "Demokritos", 15310 Athens, Greece

E-mail address (for electronic reprints) v.psycharis@inn.demokritos.gr

DIGITAL PRINTED REPRINTS

I wish to order . . . . . paid reprints

These reprints will be sent to the address given above. If the above address or e-mail address is not correct, please indicate an alternative:

[Empty box for alternative address]

PAYMENT (REPRINTS ONLY)

Charge for reprints . . . . . USD

An official purchase order made out to INTERNATIONAL UNION OF CRYSTALLOGRAPHY  is enclosed  will follow

Purchase order No. [ ]

Please invoice me

I wish to pay by credit card

EU authors only: VAT No: [ ]

Date | Signature

## DIGITAL PRINTED REPRINTS

An electronic reprint is supplied free of charge.

Printed reprints without limit of number may be purchased at the prices given in the table below. The requirements of all joint authors, if any, and of their laboratories should be included in a single order, specifically ordered on the form overleaf. All orders for reprints must be submitted promptly.

Prices for reprints are given below in **United States dollars** and include postage.

| Number of reprints required | Size of paper (in printed pages) |     |     |      |                |
|-----------------------------|----------------------------------|-----|-----|------|----------------|
|                             | 1–2                              | 3–4 | 5–8 | 9–16 | Additional 8's |
| 50                          | 184                              | 268 | 372 | 560  | 246            |
| 100                         | 278                              | 402 | 556 | 842  | 370            |
| 150                         | 368                              | 534 | 740 | 1122 | 490            |
| 200                         | 456                              | 664 | 920 | 1400 | 610            |
| Additional 50's             | 86                               | 128 | 178 | 276  | 116            |

## PAYMENT AND ORDERING

Open-access fees should be paid at <http://shop.iucr.org/iucrshop/viewitem/openaccess/?code=WM5494>

Official purchase orders should be made out to **INTERNATIONAL UNION OF CRYSTALLOGRAPHY**.

Orders should be returned by email to [checkin@iucr.org](mailto:checkin@iucr.org)

## ENQUIRIES

Enquiries concerning reprints should be sent to [support@iucr.org](mailto:support@iucr.org).

## Dicarbonyl *cis*-[M(CO)<sub>2</sub>(N,O)(C)(P)] (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) Complexes with a New [2 + 1 + 1] Donor Atom Combination

Charalampos Triantis,<sup>†,||</sup> Antonio Shegani,<sup>†</sup> Christos Kiritsis,<sup>†</sup> Myrto Ischyropoulou,<sup>†</sup> Ioanna Roupa,<sup>†</sup> Vassilis Psycharis,<sup>‡</sup> Catherine Raptopoulou,<sup>‡</sup> Patricia Kyprianidou,<sup>†</sup> Maria Pelecanou,<sup>§,ID</sup> Ioannis Pirmettis,<sup>†</sup> and Minas S. Papadopoulos<sup>\*,†,ID</sup>

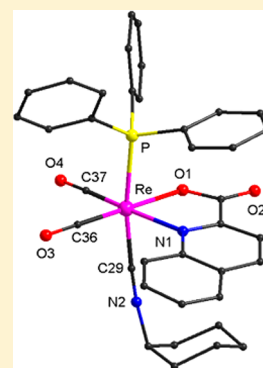
<sup>†</sup>Institute of Nuclear & Radiological Sciences & Technology, Energy & Safety, <sup>‡</sup>Institute of Nanoscience and Nanotechnology, and

<sup>§</sup>Institute of Biosciences & Applications, National Center for Scientific Research “Demokritos”, 15310 Athens, Greece

<sup>||</sup>Department of Pharmacy, Frederick University, 1036 Nicosia, Cyprus

### Supporting Information

**ABSTRACT:** The synthesis and characterization of the dicarbonyl mixed ligand *cis*-[Re(CO)<sub>2</sub>(quin)(cisc)(PPh<sub>3</sub>)] complex, **4**, where quin is the deprotonated quinaldic acid, cisc is cyclohexyl isocyanide, and PPh<sub>3</sub> is triphenylphosphine, is presented. The synthesis of **4** proceeds in three steps. In the first, the intermediate *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(H<sub>2</sub>O)] aqua complex **2** is generated from the *fac*-[NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>] precursor, together with the brominated products *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(quinH)(Br)] **1a** and *fac*-[NEt<sub>4</sub>][Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(Br)] **1b**, in low yield. In the following step, replacement of the aqua ligand of complex **2** by the monodentate isocyanide ligand leads to the formation of *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(cisc)], **3**. In the third step replacement of the species *trans* to the isocyanide carbonyl group of **3** by a phosphine generates complex **4**. The Re complexes **2**–**4** were prepared in high yield and fully characterized by elemental analysis, spectroscopic methods, and X-ray crystallography. At the technetium-99m (<sup>99m</sup>Tc) tracer level, the analogous complexes **3'** and **4'** were produced in high radiochemical purity, characterized by comparative reverse phase high-performance liquid chromatography and showed high resistance to transchelation by histidine or cysteine. This new [N,O][C][P] donor atom combination with the *cis*-[M(CO)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> core (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) is a promising scaffold for the development of novel diagnostic and therapeutic targeted radiopharmaceuticals.



## INTRODUCTION

The coordination chemistry of technetium-99m (<sup>99m</sup>Tc) and its surrogate rhenium (Re) is constantly being developed in the last decades because of the importance of the two metals in nuclear medicine. <sup>99m</sup>Tc is the most widely used radionuclide for imaging with single photon emission computed tomography (SPECT), due to its ideal nuclear properties (*t*<sub>1/2</sub> = 6.02 h; *E*<sub>c</sub> = 140 keV), its low cost, and widespread availability, while <sup>186</sup>Re (*t*<sub>1/2</sub> = 90 h; *E*<sub>max</sub> = 1.07 MeV) and <sup>188</sup>Re (*t*<sub>1/2</sub> = 17 h; *E*<sub>max</sub> = 2.12 MeV) are high-energy beta emitters that find growing application in radiotherapy. Overall, <sup>99m</sup>Tc and <sup>186/188</sup>Re are considered a matched pair for imaging and therapy.<sup>1–3</sup>

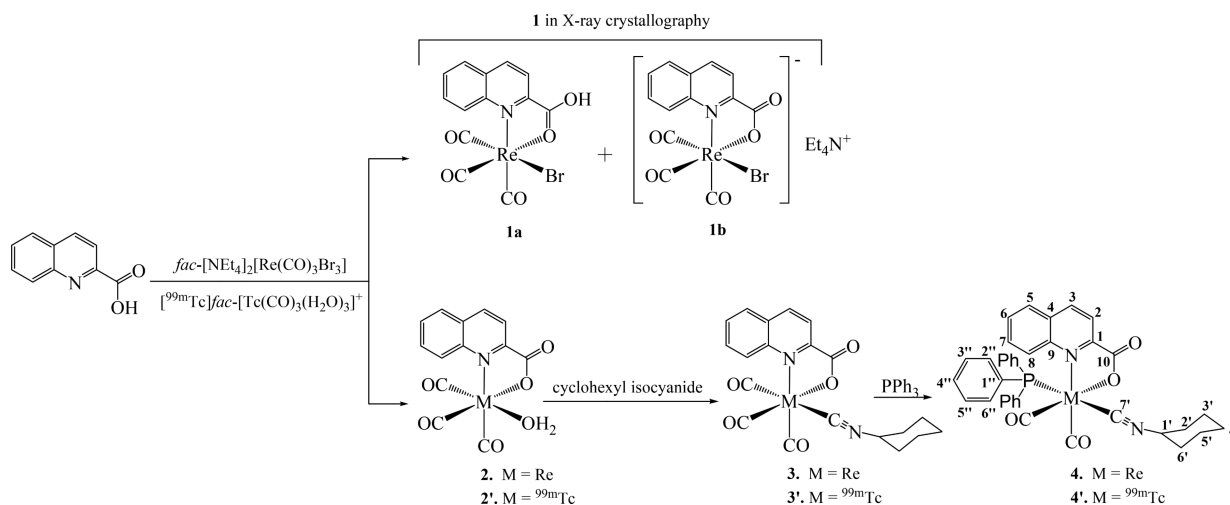
The development of the stable *fac*-[NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>] and [<sup>99m</sup>Tc] *fac*-[Tc(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> precursors, suitable for use in aqueous environment to generate complexes of the *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) core, greatly expanded the spectrum of biological applications of Re/<sup>99m</sup>Tc in oxidation state (I).<sup>4,5</sup> The ability of the *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> core to accommodate a wide range of ligand types and denticity has led to the investigation of many chelate strategies to displace the labile substituents of the precursor molecules and saturate the metal coordination sphere.<sup>4</sup> Among these, the [2 + 1] strategy introduced in 2004 is versatile and combines a bidentate and a monodentate ligand for the production of new

tricarbonyl Re<sup>I</sup>/Tc<sup>I</sup> radioagents.<sup>5</sup> According to this approach, in the aqueous environment the bromines of the *fac*-[NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>] precursor are replaced by a bidentate ligand L<sup>2</sup> and a molecule of water generating the intermediate aqua complex *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(L<sup>2</sup>)(H<sub>2</sub>O)]. When L<sup>2</sup> possesses a labile proton that is lost during coordination (e.g., acetylacetonate O,O, dithiocarbamate S,S, 2-picolinic acid N,O, and (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine P,O) the generated aqua complex is neutral.<sup>6–10</sup> In the subsequent step, substitution of the labile water ligand by a monodentate nonionizable ligand L<sup>1</sup> (typically heterocyclic aromatic amines, isocyanides, phosphines) gives the final *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>L<sup>2</sup>L<sup>1</sup>] product. At <sup>99m</sup>Tc tracer level (concentration from 1 × 10<sup>−6</sup> to 1 × 10<sup>−7</sup> M) essentially the same steps are followed, starting from the [<sup>99m</sup>Tc] *fac*-[Tc(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> precursor.<sup>4,9,11</sup> The use of a bidentate ligand that can act as a monoanion leading to neutral [<sup>99m</sup>Tc] *fac*-[Tc(CO)<sub>3</sub>L<sup>2</sup>L<sup>1</sup>] complexes greatly facilitates the transfer of chemistry at the <sup>99m</sup>Tc tracer level, both in terms of reaction rate and labeling yield, a fact of great importance to radiopharmaceutical development.

The [2 + 1] complexes are characterized by kinetic stability and structural variability that facilitates tuning of physicochem-

Received: April 13, 2018

Published: June 27, 2018

Scheme 1. Synthetic Scheme Leading to the Re Complexes 1a, 1b, 2–4, and the  $^{99m}\text{Tc}$  analogues 2'–4'

ical properties and tethering of pharmacophores toward the production of targeted multifunctional complexes.<sup>12</sup> To further expand the advantages of the [2 + 1] approach, the new [2 + 1 + 1] ligand combination for the *cis*-[M(CO)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> core (M = Re,  $^{99m}\text{Tc}$ ) was reported by our group and others.<sup>13–15</sup>

Acetylacetonate, curcumin, 8-hydroxyquinoline, 8-mercaptoquinoline (N,S), and picolinic acid were used as the monoanionic bidentate ligands, while triphenylphosphine was used as the monodentate ligand. In these complexes, the strong trans effect of the first phosphine coordinated to the *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> core (M = Re,  $^{99m}\text{Tc}$ ) labilizes the *trans* CO, which is substituted by a second phosphine at high temperature to produce neutral [O,O][P][P], [N,O][P][P], and [N,S][P][P] complexes.<sup>13–15</sup>

Herein, the synthesis and characterization of new mixed-ligand complexes of the general formula *cis*-[M(CO)<sub>2</sub>(quin)-(cisc)(PPh<sub>3</sub>)], where M is Re or  $^{99m}\text{Tc}$ , quin is the deprotonated quinaldic acid, cisc is cyclohexyl isocyanide, and PPh<sub>3</sub> is triphenylphosphine, is presented (Scheme 1). To the best of our knowledge, this is the first time a dicarbonyl Re/ $^{99m}\text{Tc}$  pair of complexes bearing two different types of monodentate ligands is reported in the literature. Both monodentate ligands used have strong-coordinating groups, are amenable to derivatization, and are often used in rhenium and technetium chemistry as well as in the development of novel radiotracers.<sup>5–7,16,17</sup>

## EXPERIMENTAL SECTION

**Caution!**  $^{99m}\text{Tc}$  is a  $\gamma$  emitter ( $t_{1/2} = 6.02$  h;  $E_\gamma = 140$  keV) and requires special radioprotective measures during handling.

**Materials and Methods.** All reagents and organic solvents used in this study were purchased from Sigma-Aldrich and used without further purification. Solvents for HPLC were HPLC grade. They were filtered through a membrane filter (0.22  $\mu\text{m}$ , Millipore) and degassed by a helium flux (Air Liquide) before and during use.

IR spectra were recorded on a Nicolet 6700 FT-IR (Thermo Scientific) in the region of 4000–500  $\text{cm}^{-1}$ . NMR spectra were obtained in deuterated dimethyl sulfoxide (DMSO-*d*<sub>6</sub>) at 25 °C on a Bruker Avance DRX 500 MHz spectrometer. Tetramethylsilane (TMS) was used as an internal reference for the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> was used as an internal reference for the <sup>31</sup>P spectra. Elemental analysis for C, H, and N was conducted on a Perkin-Elmer 2400 automatic elemental analyzer (Perkin-Elmer). The electrospray mass (ESI-MS) spectra were recorded in the range of  $m/z$  250–1400 on a Finnigan MAT TSQ 7000. For the mass spectrometric studies, samples were initially dissolved in DMSO and further diluted with

CH<sub>3</sub>CN. The resulting solution was brought to the electrospray capillary through a syringe pump. The activity was measured using a dose calibrator (Capintec CRC-12). HPLC analysis was performed on a Waters 600 chromatography system (Waters) coupled to both a Waters 2487 Dual  $\lambda$  absorbance detector (Waters) and a Gabi  $\gamma$  detector (Raytest). Separations were achieved on a Macherey-Nagel Nucleosil C-18 RP column, 250  $\times$  4 mm, 10  $\mu\text{m}$ , eluted with a binary gradient system at 1 mL/min flow rate: mobile phase A was methanol containing 0.1% trifluoroacetic acid (TFA), while mobile phase B was water containing 0.1% TFA. The elution gradient was 0–1 min 100% B (0% A), followed by a linear gradient to 70% A (30% B) in 9 min; this composition was held for 10 min followed by a linear gradient to 95% A (5% B) in 1 min. The gradient was kept steady for 15 min, and the column was re-equilibrated by applying the initial conditions (100% B) for another 15 min prior to the next injection. The isolation of  $^{99m}\text{Tc}$  complexes 3' and 4' by RP-HPLC for the stability studies was effected with the gradient system used in the absence of TFA.

[ $^{99m}\text{Tc}$ ]NaTcO<sub>4</sub> was eluted from a  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$  generator (Mallinckrodt) using 0.9% saline (3.7–7.4 GBq/10 mL). The CO gas was purchased from Air Liquide in a cylinder. The [ $^{99m}\text{Tc}$ ]fac-[Tc(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> precursor was prepared as previously described.<sup>18</sup> Briefly, a sealed glass vial containing 5.5 mg of NaBH<sub>4</sub>, 4 mg of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, and 10 mg of Na–K tartrate was purged with CO gas, and then a solution of [ $^{99m}\text{Tc}$ ]NaTcO<sub>4</sub> (1 mL, ~740 MBq) was added. The vial was heated at 85 °C for 30 min. After it cooled, the pH was adjusted to 7.0 with 1 N HCl, and a sample was analyzed by HPLC ( $t_R = 4.4$  min, radiochemical yield > 95%). The fac-[NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>] precursor was prepared according to a published procedure.<sup>19</sup>

**Synthesis of Rhenium Complexes.** Complexes fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(quinH)(Br)] 1a, fac-[NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(Br)] 1b, and fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(H<sub>2</sub>O)]·H<sub>2</sub>O, 2. To a stirred solution of quinaldic acid (34 mg, 0.2 mmol) in 5 mL of water, a solution of fac-[NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>] (154 mg, 0.2 mmol) in 10 mL of water was added. The mixture was heated at 60 °C for 1 h, and a yellowish solid was formed. The solid was filtered, washed with water, dried under vacuum, and triturated with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> solution was evaporated to dryness, and the residue was recrystallized from dichloromethane/hexane to give 6 mg of the brominated complexes 1a and 1b as a mixture, in ~4% yield. In all preparations, product 1a was the major product, with 1b ranging between 10% and 20% of 1a as shown by NMR. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2012, 1868, 1592. MS (ESI negative ionization):  $m/z$  (M)<sup>−</sup> 521.8975 (calculated for C<sub>13</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>3</sub>Br<sup>187</sup>Re, 521.8986). NMR data for 1a and 1b are given in Table 1. Crystals suitable for X-ray crystallography (cocrystallization of 1a and 1b, presented in X-ray analysis as product 1), were obtained by successive crystallizations from dichloromethane/hexane 3:1.



Table 1.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{31}\text{P}$  Chemical Shifts for Complexes 1a, 1b, 2, 3, and 4 in  $\text{DMSO}-d_6$  at  $25\text{ }^\circ\text{C}^a$ 

|                                        | 1a   | 1b         | 2          | 3          | 4          | quinaldic acid | 1a         | 1b     | 2      | 3      | 4                                  | quinaldic acid |
|----------------------------------------|------|------------|------------|------------|------------|----------------|------------|--------|--------|--------|------------------------------------|----------------|
| H-2                                    | 8.27 | 8.15       | 8.19       | 8.28       | 7.74       | 8.07           | C-1        | 152.65 | 153.57 | 152.95 | 152.63                             | 149.10         |
| H-3                                    | 8.91 | 8.72       | 8.80       | 8.93       | 8.49       | 8.49           | C-2        | 122.57 | 122.87 | 123.42 | 122.78                             | 121.53         |
| H-5                                    | 8.29 | 8.17       | 8.21       | 8.58       | 8.07       | 8.00           | C-3        | 142.14 | 141.63 | 143.08 | 142.09                             | 139.38         |
| H-6                                    | 7.91 | 7.84       | 7.86       | 7.94       | 7.81       | 7.69           | C-4        | 129.97 | 130.94 | 131.07 | 130.47                             | 129.90         |
| H-7                                    | 8.17 | 8.04       | 8.09       | 8.18       | 7.92       | 7.83           | C-5        | 129.56 | 129.98 | 130.53 | 129.67                             | 128.87         |
| H-8                                    | 8.67 | 8.61       | 8.65       | 8.32       | 8.52       | 8.14           | C-6        | 129.37 | 130.04 | 130.34 | 129.61                             | 129.79         |
| H-1'                                   |      |            |            | 4.08       | 4.05       |                | C-7        | 133.05 | 132.97 | 133.86 | 133.04                             | 131.44         |
| H-2'/H-6'                              |      |            |            | 1.49, 1.40 | 1.46, 1.36 |                | C-8        | 127.52 | 128.97 | 128.71 | 127.78                             | 128.26         |
| H-3'/H-5''                             |      |            |            | 1.15, 0.89 | 1.10/0.90  |                | C-9        | 145.29 | 146.27 | 146.52 | 146.23                             | 145.98         |
| H-4'                                   |      |            |            | 1.08       | 1.07, 1.02 |                | C-10       | 172.47 | 174.28 | 174.37 | 172.06                             | 171.41         |
| H-2''/H-6''                            |      |            |            |            | 7.16       |                | C-1'       |        |        |        | 53.72                              | 53.22          |
| H-3''/H-5''                            |      |            |            |            | 7.17       |                | C-2''/C-6' |        |        |        | 30.48                              | 31.23          |
| H-4''                                  |      |            |            |            | 7.27       |                | C-3''/C-5' |        |        |        | 20.70                              | 20.52          |
| H <sub>2</sub> O                       |      |            | 7.63 broad |            |            |                | C-4'       |        |        |        | 23.91                              | 24.14          |
| $[\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4]^+$ |      | 3.11, 1.11 |            |            |            |                | C-7'       |        |        |        | 144.30                             | 144.30         |
|                                        |      |            |            |            |            |                | C-1''      |        |        |        | 131.69                             | 131.69         |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | $^1J_{\text{CP}} = 23.7\text{ Hz}$ |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | 132.84                             |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | $^2J_{\text{CP}} = 10.7\text{ Hz}$ |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | 128.15                             |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | $^3J_{\text{CP}} = 9.3\text{ Hz}$  |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | 129.94                             |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | 200.35                             |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | $J_{\text{CP}} = 7.6\text{ Hz}$    |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | 199.55                             |                |
|                                        |      |            |            |            |            |                |            |        |        |        | $J_{\text{CP}} = 6.9\text{ Hz}$    |                |

 $^{31}\text{P}$ 

25.8

<sup>a</sup>Chemical shifts of all complexes and quinaldic acid show concentration dependency. The shifts reported are from NMR samples run with  $\sim 1\text{ mg/mL}$  of compound. The chemical shifts of quinaldic acid under the same conditions are also provided for comparison purposes. The numbering of the atoms is shown in Scheme 1.

Table 2. Crystallographic Data for Complexes 1, 2, 3,<sup>a</sup> and 4

|                                                     | 1                                                                                                              | 2                                                  | 3                                                                | 4                                                                 |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| formula                                             | C <sub>35</sub> H <sub>35</sub> Br <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>10</sub> Re <sub>2</sub> | C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>7</sub> Re | C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Re | C <sub>37</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PRe |
| <i>F</i> <sub>w</sub>                               | 1260.78                                                                                                        | 478.42                                             | 551.55                                                           | 785.81                                                            |
| space group                                         | <i>P</i> $\bar{1}$                                                                                             | <i>C</i> 2/ <i>c</i>                               | <i>P</i> 2 <sub>1</sub> / <i>c</i>                               | <i>P</i> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>                            |
| <i>a</i> (Å)                                        | 9.5461(1)                                                                                                      | 28.6429(5)                                         | 7.1529(1)                                                        | 10.2563(2)                                                        |
| <i>b</i> (Å)                                        | 11.5542(2)                                                                                                     | 11.8495(2)                                         | 29.5703(5)                                                       | 16.4551(3)                                                        |
| <i>c</i> (Å)                                        | 19.1304(3)                                                                                                     | 8.4061(1)                                          | 9.6309(2)                                                        | 19.4713(4)                                                        |
| $\alpha$ (deg)                                      | 89.508(1)                                                                                                      | 90.0                                               | 90.0                                                             | 90.0                                                              |
| $\beta$ (deg)                                       | 78.942(1)                                                                                                      | 102.837(1)                                         | 105.572(1)                                                       | 90.0                                                              |
| $\gamma$ (deg)                                      | 80.703(1)                                                                                                      | 90.0                                               | 90.0                                                             | 90.0                                                              |
| <i>V</i> (Å <sup>3</sup> )                          | 2043.11(5)                                                                                                     | 2781.75(8)                                         | 1962.29(6)                                                       | 3286.14(11)                                                       |
| <i>Z</i>                                            | 2                                                                                                              | 8                                                  | 4                                                                | 4                                                                 |
| <i>T</i> (°C)                                       | −113                                                                                                           | −113                                               | −103                                                             | 20                                                                |
| radiation                                           | Cu <i>K</i> $\alpha$                                                                                           | Cu <i>K</i> $\alpha$                               | Cu <i>K</i> $\alpha$                                             | Cu <i>K</i> $\alpha$                                              |
| $\rho_{\text{calcd}}$ (g cm <sup>−3</sup> )         | 2.049                                                                                                          | 2.285                                              | 1.867                                                            | 1.588                                                             |
| $\mu$ (mm <sup>−1</sup> )                           | 15.389                                                                                                         | 17.450                                             | 12.41                                                            | 8.032                                                             |
| reflections with <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> ) | 5871                                                                                                           | 1877                                               | 2723                                                             | 5274                                                              |
| <i>R</i> <sub>1</sub> <sup>b</sup>                  | 0.0485                                                                                                         | 0.0481                                             | 0.0384                                                           | 0.0282                                                            |
| <i>wR</i> <sub>2</sub> <sup>b</sup>                 | 0.1150                                                                                                         | 0.1019                                             | 0.0894                                                           | 0.0614                                                            |

<sup>a</sup>Data from ref 27. <sup>b</sup> $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (\alpha P)^2 + bP]$  and  $P = [\max(F_o^2, 0) + 2F_c^2]/3$ ,  $\alpha = 0.0506$ ,  $b = 6.1559$  for 1;  $\alpha = 0.0503$ ,  $b = 0$  for 2;  $\alpha = 0.0314$ ,  $b = 5.6979$  for 3;  $\alpha = 0.0167$ ,  $b = 4.6065$  for 4.  $R_1 = \sum(|F_o| - |F_c|)/\sum(|F_o|)$  and  $wR_2 = \{\sum[w(F_o^2 - F_c^2)^2]/\sum[w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$ .

The insoluble solid in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was recrystallized from methanol/water to give complex 2. Yield: 78% (72 mg). RP-HPLC: *t*<sub>R</sub> = 16.6 min; IR (cm<sup>−1</sup>): 2026, 1876, 1636. Anal. Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>6</sub>Re: C: 33.91, H: 1.75, N: 3.04. Found: C: 33.73, H: 1.64, N: 2.99%. MS (ESI): *m/z* (M-H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup> 465.9694 (calculated for C<sub>13</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>5</sub><sup>187</sup>ReNa, 465.9701). NMR data for 2 are given in Table 1. Crystals suitable for X-ray crystallography were obtained by slow evaporation from methanol/water 2:1.

*fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(cisc)], 3. To a stirred solution of 2 (46 mg, 0.1 mmol) in 10 mL of methanol, a solution of cyclohexyl isocyanide (cisc; 10.9 mg, 0.1 mmol) in 3 mL of methanol was added. The mixture was stirred at room temperature for 2 h. The solvent was removed under reduced pressure, and the solid residue was recrystallized from dichloromethane/hexane 3:1 to give complex 3. Yield: 92% (51 mg). RP-HPLC: *t*<sub>R</sub> = 21.1 min. IR (cm<sup>−1</sup>): 2208, 2022, 1929, 1889, 1664. Anal. Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Re: C: 43.55, H: 3.11, N: 5.08. Found: C: 43.21, H: 2.98, N: 4.92%. MS (ESI): *m/z* (M+H)<sup>+</sup> 553.0765 (calculated for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>187</sup>Re, 553.0774). NMR data given in Table 1.

*cis*-[Re(CO)<sub>2</sub>(quin)(cisc)(PPh<sub>3</sub>)], 4. To a stirred solution of 3 (55 mg, 0.1 mmol) in 5 mL of toluene, a solution of triphenylphosphine (PPh<sub>3</sub>; 39.3 mg, 0.15 mmol) in 5 mL of toluene was added. The mixture was refluxed for 4 h, and the reaction progress was monitored by RP-HPLC. The solvent was removed under reduced pressure, and the remaining solid was diluted in a small amount of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The solution was applied to a glass chromatographic column (1 × 50 cm) filled with a slurry of silica gel 60 (6 g, 0.063–0.200 mm) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The column was eluted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (95:5), and complex 4 was collected. Yield: 86% (67.6 mg). RP-HPLC: *t*<sub>R</sub> = 27.2 min. IR (cm<sup>−1</sup>): 2158, 1920, 1841, 1656, 742, 693. Anal. Calcd for C<sub>37</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>PRe: C: 56.55, H: 4.10, N: 3.56. Found: C: 56.67, H: 4.29, N: 3.36%. MS (ESI): *m/z* (M+H)<sup>+</sup> 787.1709 (calculated for C<sub>37</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P<sup>187</sup>Re, 787.1737). NMR data given in Table 1. Crystals suitable for X-ray crystallography were obtained by slow evaporation from dichloromethane/hexane 3:1.

**X-ray Crystallography.** Crystals of 1 (0.14 × 0.18 × 0.37 mm) and 2 (0.02 × 0.06 × 0.34 mm) were taken from their mother liquor and immediately cooled to −113 °C. A crystal of 4 (0.12 × 0.31 × 0.44 mm) was mounted in a capillary with drops of mother liquor. Diffraction measurements were made on a Rigaku R-Axis SPIDER Image Plate diffractometer using graphite monochromated Cu *K* $\alpha$  radiation. Data collection ( $\omega$ -scans) and processing (cell refinement, data reduction, and empirical absorption correction) were performed

using the CrystalClear program package.<sup>20</sup> Important crystallographic data are listed in Table 2. The structures were solved by direct methods using SHELXS-97 and refined by full-matrix least-squares techniques on *F*<sup>2</sup> with SHELXL ver.2014/6.<sup>21,22</sup> Further experimental crystallographic details for 1: 2 $\theta_{\text{max}}$  = 130°; reflections collected/unique/used, 22 200/6575 [*R*<sub>int</sub> = 0.0729]/6575; 537 parameters refined; ( $\Delta/\sigma$ )<sub>max</sub> = 0.001; ( $\Delta\rho$ )<sub>max</sub>/ $(\Delta\rho)$ <sub>min</sub> = 2.223/−3.040 e/Å<sup>3</sup>; *R*<sub>1</sub>/*wR*<sub>2</sub> (for all data), 0.0546/0.1187. The appearance of residual peaks around the Re atoms is probably due to the small size of the crystal. Further experimental crystallographic details for 2: 2 $\theta_{\text{max}}$  = 130°; reflections collected/unique/used, 18 398/2287 [*R*<sub>int</sub> = 0.1179]/2287; 213 parameters refined; ( $\Delta/\sigma$ )<sub>max</sub> = 0.028; ( $\Delta\rho$ )<sub>max</sub>/ $(\Delta\rho)$ <sub>min</sub> = 2.093/−2.317 e/Å<sup>3</sup>; *R*<sub>1</sub>/*wR*<sub>2</sub> (for all data), 0.0581/0.1104. The hydrogen atoms of the water solvate molecules were not located, and they were not included in the structure model for refinement. Further experimental crystallographic details for 4: 2 $\theta_{\text{max}}$  = 130°; reflections collected/unique/used, 26 577/5365 [*R*<sub>int</sub> = 0.0422]/5365; 485 parameters refined; ( $\Delta/\sigma$ )<sub>max</sub> = 0.000; ( $\Delta\rho$ )<sub>max</sub>/ $(\Delta\rho)$ <sub>min</sub> = 1.189/−1.025 e/Å<sup>3</sup>; *R*<sub>1</sub>/*wR*<sub>2</sub> (for all data), 0.0289/0.0618. All hydrogen atoms were located by difference maps and were refined isotropically or were introduced at calculated positions as riding on bonded atoms. All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Plots of the structure were drawn using the Diamond 3 program package.<sup>23</sup>

**Synthesis of Technetium-99m Complexes.** [<sup>99m</sup>Tc]fac-[Tc(CO)<sub>3</sub>(quin)(H<sub>2</sub>O)], 2'. To a sealed glass vial (type I, 8 mL) containing an aqueous solution of quinaldic acid (500  $\mu$ L, 2 × 10<sup>−3</sup> M), a freshly prepared solution of the [<sup>99m</sup>Tc]fac-[Tc(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> precursor (500  $\mu$ L, 37–370 MBq, pH 7) was added. The vial was flushed with N<sub>2</sub> and heated for 30 min at 70 °C. RP-HPLC analysis demonstrated the formation of a single complex (*t*<sub>R</sub> = 16.9 min, radiochemical yield > 97%). Its characterization was based on comparative RP-HPLC analysis using a sample of the fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(H<sub>2</sub>O)] complex 2 as reference.

[<sup>99m</sup>Tc]fac-[Tc(CO)<sub>3</sub>(quin)(cisc)], 3'. To 500  $\mu$ L of the preparation solution of 2' (37–185 MBq), a methanolic solution of cyclohexyl isocyanide (500  $\mu$ L, 2 × 10<sup>−3</sup> M) was added (pH 7). The glass vial was sealed, flushed with N<sub>2</sub>, and the mixture was left at room temperature for 30 min. RP-HPLC analysis of the reaction mixture showed the presence of a new radioactive peak (*t*<sub>R</sub> = 21.4 min, radiochemical yield > 97%). Its characterization was based on comparative RP-HPLC analysis using a sample of the well-characterized fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(cisc)] complex 3 as reference.

[<sup>99m</sup>Tc]cis-[Tc(CO)<sub>2</sub>(quin)(cisc)(PPh<sub>3</sub>)]<sub>2</sub>, **4'**. To 900 μL solution of **3'** (37–72 MBq, pH 2) isolated by a RP-HPLC in a glass vial, a methanolic solution of triphenylphosphine (100 μL, 10<sup>-3</sup> M) was added. The glass vial was sealed, flushed with N<sub>2</sub>, and heated for 60 min at 95 °C. RP-HPLC analysis of the reaction mixture showed the presence of a radioactive peak (t<sub>R</sub> = 27.6 min, radiochemical yield 93%). Its characterization was based on comparative RP-HPLC analysis using a sample of the cis-[Re(CO)<sub>2</sub>(quin)(cisc)(PPh<sub>3</sub>)] complex **4** as reference. Likewise, complex **4'** was prepared in the same yield by reaction of a methanolic solution of triphenylphosphine (100 μL, 1 × 10<sup>-3</sup> M) with a solution of **3'** (900 μL); this time **3'** was isolated by RP-HPLC applying the same gradient system but in the absence of TFA (pH ≈ 5).

**Stability Studies of the <sup>99m</sup>Tc Complexes **3'** and **4'**.** Cysteine and histidine challenge experiments were performed by addition of 0.25 mL of solution of <sup>99m</sup>Tc complexes **3'** and **4'** collected by RP-HPLC (gradient without TFA) to 0.75 mL of a 1.4 × 10<sup>-3</sup> M solution of cysteine or histidine in 0.01 M phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4.<sup>24</sup> The samples were incubated at 37 °C, and HPLC analysis was performed after 1, 3, and 6 h.

The activity recovery from the RP-HPLC column was determined by comparing the amount of activity collected in the eluate after each run to the amount of activity injected; in all cases the recovery was found to be quantitative.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Synthesis.** Reaction of quinaldic acid with the fac-[NET<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>] precursor in water at 60 °C led to the precipitation of the product mixture, out of which a minor portion (~4%) was soluble in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, while the major portion (78%) was left insoluble. The NMR spectrum of the minor portion showed the presence of one major product with peaks in the aromatic region corresponding to quinaldic acid protons. Mass spectral and IR analysis was in accordance with the structure of a fac-[Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> complex with coordinated quinaldic acid and a bromine atom at the sixth position. Furthermore, the presence of a strong band at 1592 cm<sup>-1</sup> provided evidence for metal coordination through the carbonyl function of the carboxylate group and generation of the neutral fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(quinH)(Br)] complex **1a** (Scheme 1) as the major product.<sup>25,26</sup> Complex **1a** was present in the crystal structure obtained after repetitive crystallizations together with the anionic fac-[NET<sub>4</sub>][Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(Br)] complex **1b** (1:1 ratio), generated through the coordination of the oxygen of the carboxylate moiety and bearing NET<sub>4</sub><sup>+</sup> as a counterion (Scheme 1). The presence of characteristic NET<sub>4</sub><sup>+</sup> peaks in the NMR spectrum denoted the existence of complex **1b** together with **1a**, albeit at a much smaller percentage (10%–20%) compared to the crystal. It can be deduced that, during the crystallization procedure, the crystallizable fraction was enriched in complex **1b** and that formation of the suitable crystal for X-ray analysis was promoted through the intermolecular hydrogen bonding interaction of **1a** and **1b** (see X-ray Crystallography). As the generation of the aqua complex from the fac-[NET<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>] precursor with a bidentate ligand proceeded quantitatively in the aqueous environment, this is the first time that brominated products were also isolated from the reaction medium and characterized. Coordination of the doubly bonded oxygen of the carboxylate group, although common in transition-metal chemistry, has rarely been reported for Re(I).

The major portion of the reaction product, which was not soluble in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, was shown to be the aqua fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(H<sub>2</sub>O)] complex **2** (Scheme 1) in which quinaldic acid is coordinated through the nitrogen and the

deprotonated carboxylate oxygen, while the sixth position is occupied by a water molecule resulting in a neutral complex. Reaction of complex **2** with the monodentate cyclohexyl isocyanide ligand at room temperature led to the replacement of the labile aqua ligand by cyclohexyl isocyanide and quantitative generation of the corresponding tricarbonyl [2 + 1] mixed-ligand complex fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(cisc)], **3**. Its analytical data are in full agreement with our previously reported results for complex **3** prepared by using a one-pot synthetic procedure.<sup>27</sup> Addition of triphenylphosphine to complex **3** led under reflux in toluene to the formation of the neutral dicarbonyl complex cis-[Re(CO)<sub>2</sub>(quin)(cisc)(PPh<sub>3</sub>)]<sub>2</sub>, **4** (Scheme 1), with replacement of the CO group *trans* to the isocyano ligand. Evidently, the large *trans* effect of the isocyano ligand labilizes the *trans* carbonyl group and results in its quantitative substitution. Similar labilization of a CO group has been observed in the case of the fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(N,O)(PPh<sub>3</sub>)] and fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(O,O)(PPh<sub>3</sub>)] neutral complexes, where the *trans* effect of phosphine results in the substitution of the CO group by a second PPh<sub>3</sub> ligand.<sup>13,14,28–30</sup> The novelty in complex **4** is that a new [2 + 1 + 1] donor atom set is presented for the cis-[Re(CO)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> core that leads to a neutral complex in aerobic environment.

Characterization of complexes **2**–**4** was performed by elemental analysis, IR, NMR, ESI-MS, and X-ray crystallography. The X-ray structure of complex **3** was previously published by our group.<sup>27</sup> Complex **2** is soluble in methanol and ethanol and insoluble in dichloromethane, chloroform, and water. Complexes **3** and **4** are soluble in dichloromethane, chloroform, benzene, and toluene, slightly soluble in methanol and ethanol, and insoluble in water. Complexes **3** and **4** are stable in solution for months as shown by RP-HPLC and NMR.

**IR Characterization.** The IR spectra of **2** and **3** show the typical pattern for the tricarbonyl fac-[Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> moiety with bands in the range of 2026–1876 cm<sup>-1</sup>.<sup>15,31</sup> The IR spectrum of the dicarbonyl complex **4** demonstrates two strong bands at 1920 and 1841 cm<sup>-1</sup>, which are typical for a dicarbonyl species with *cis* geometry.<sup>32</sup> As expected, the carbonyl stretching frequencies are significantly lower in the dicarbonyl complex **4** relative to the tricarbonyl ones.<sup>13,15</sup> The presence of the strong band at ~1664–1636 cm<sup>-1</sup> is attributed to the stretching of the carboxylate carbonyl shifted to lower frequency compared to that of free quinaldic acid at 1695 cm<sup>-1</sup>.<sup>33</sup>

The peaks at 2208 and 2158 cm<sup>-1</sup> in complexes **3** and **4**, respectively, attributed to the C≡N– stretch, provide evidence for the presence of cyclohexyl isocyanide, while the peaks at 740 and 690 cm<sup>-1</sup> in complex **4**, attributed to out-of-plane bending vibrations of the monosubstituted phenyl ring, provide evidence for the presence of the triphenylphosphine ligand.<sup>34</sup>

**NMR Characterization.** <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, and <sup>31</sup>P chemical shifts for complexes **1a**, **1b**, **2**, **3**, and **4** in DMSO-*d*<sub>6</sub> at 25 °C are provided in Table 1, while the <sup>1</sup>H–<sup>13</sup>C HSQC spectrum of complex **4** is given in Supporting Information (Figure S1). All NMR data are consistent with the proposed structures. In complexes **1a**, **1b**, **2**, and **3** downfield shifts of all protons of the quinaldic acid moiety are noted upon coordination ranging from 0.2 to 0.5 ppm compared to free quinaldic acid (Table 1) under the same conditions. In complex **4** the corresponding downfield shifts of all protons are noticeably smaller, while H-2 is shifted upfield by 0.3 ppm compared to free quinaldic acid. It appears that, in complex **4**, replacement of a C≡O by the

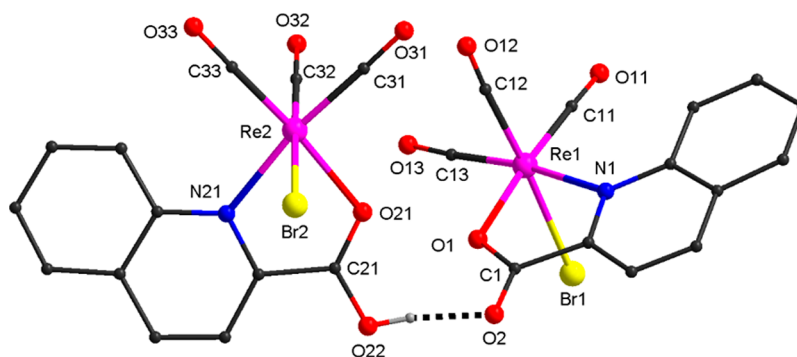


Figure 1. Partially labeled plot of  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{quin})(\text{Br})][\text{Re}(\text{CO})_3(\text{quinH})(\text{Br})]$  in **1**.

$\text{PPh}_3$ , which is a better  $\sigma$ -donor and a weaker  $\pi$ -acceptor than  $\text{C}\equiv\text{O}$ , increases the electron density at the metal compared to the rest of the complexes.<sup>35</sup> This is also clearly reflected in the upfield shift of almost all  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals of the quinaldic acid moiety of complex **4** compared to complex **3**, as the only difference between the two complexes is the presence of a  $\text{PPh}_3$  group in place of a  $\text{C}\equiv\text{O}$ .

In the  $^{13}\text{C}$  spectra of all complexes, coordination of the carboxylate moiety of quinaldic acid is noted by the downfield shift of its carbonyl peak ranging from 7.0 ppm (complex **1b**) to 4.2 ppm (complex **4**). In complexes **3** and **4** coordination of the cyclohexyl isocyanide moiety is noted by the upfield shift of the isocyano carbon (C-7') by 15.5 and 10.0 ppm, respectively, a shift observed in the literature for other  $\text{Re}^I(\text{CO})_3$  complexes with cyclohexyl isocyanide substituents and ascribed to an increase of the contribution of the  $:\text{C}\equiv\text{N}-$  resonance hybrid of the isocyanide group upon metal binding.<sup>6,36–38</sup> In complex **4**, coordination of triphenylphosphine is noted by the downfield shift of its  $^{31}\text{P}$  atom by 31.7 ppm compared to the free ligand (−6.0 ppm, unpublished data). The increase in the  $^1J_{\text{CipsoP}}$  coupling constant from 10.7 Hz in the free ligand (unpublished data) to 23.4 Hz provides further evidence for coordination. In addition, through-metal couplings of the triphenylphosphine phosphorus to the *trans* isocyano carbon (79.9 Hz) as well as to the *cis* carbonyl groups (7.6 and 6.9 Hz) are recorded in the spectra.<sup>39</sup>

In the NMR spectra of complex **2**, the intensity of the coordinated  $\text{H}_2\text{O}$  peak at 7.63 ppm gradually decreases to a degree that depends on the relative concentration of water present in the solvent. ESI-MS analysis of aged NMR samples of complex **2** confirmed that the coordinated water is partially replaced by  $\text{DMSO}-d_6$ . The fact that, despite the large excess of  $\text{DMSO}-d_6$ , replacement of coordinated water is partial indicates that the affinity of water for the  $\text{Re}(\text{CO})_3^+$  core is far greater than that of  $\text{DMSO}-d_6$ . Changes over time are also recorded in the NMR spectra of complex **1b**, where replacement of the bromine by water present in  $\text{DMSO}-d_6$  manifests itself through the chemical shift change of the aromatic peaks of **1b** to those of **2** and the appearance of the broad peak of coordinated  $\text{H}_2\text{O}$  (Figure S2, Supporting Information). The presence of the complex with coordinated  $\text{DMSO}-d_6$  is also evident, as in the samples of complex **2** (Figure S2, C), and was confirmed with ESI-MS analysis as well.

**Description of the Crystal Structure.** The molecular structure of **1** consists of two  $\text{Re}^I$  complexes, the neutral *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{quinH})(\text{Br})]$ , **1a**, the anionic *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{quin})(\text{Br})]^-$  **1b**, one  $\text{NEt}_4^+$  cation, and one  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  solvate

molecule. The structures of both  $\text{Re}^I$  complexes in **1** are shown in Figure 1, and selected bond distances and angles are listed in Table 3. The coordination geometry around  $\text{Re}(1)$  is

Table 3. Selected Bond Distances (Å) and Angles (deg) in **1**

| distances         |           |                   |           |
|-------------------|-----------|-------------------|-----------|
| Re(1)–C(11)       | 1.896(10) | Re(2)–C(33)       | 1.877(8)  |
| Re(1)–C(12)       | 1.989(7)  | Re(2)–C(32)       | 1.894(11) |
| Re(1)–C(13)       | 1.902(8)  | Re(2)–C(31)       | 1.920(8)  |
| Re(1)–O(1)        | 2.140(5)  | Re(2)–O(21)       | 2.171(4)  |
| Re(1)–N(1)        | 2.234(5)  | Re(2)–N(21)       | 2.224(5)  |
| Re(1)–Br(1)       | 2.591(1)  | Re(2)–Br(2)       | 2.622(1)  |
| angles            |           |                   |           |
| C(11)–Re(1)–C(12) | 94.9(3)   | C(33)–Re(2)–C(32) | 89.9(3)   |
| C(11)–Re(1)–C(13) | 83.1(3)   | C(33)–Re(2)–C(31) | 85.0(3)   |
| C(13)–Re(1)–C(12) | 88.9(3)   | C(32)–Re(2)–C(31) | 88.2(3)   |
| C(11)–Re(1)–O(1)  | 175.2(3)  | C(33)–Re(2)–O(21) | 173.3(3)  |
| C(12)–Re(1)–O(1)  | 89.7(3)   | C(32)–Re(2)–O(21) | 96.1(3)   |
| C(13)–Re(1)–O(1)  | 98.3(3)   | C(31)–Re(2)–O(21) | 98.2(2)   |
| C(11)–Re(1)–Br(1) | 93.0(2)   | C(33)–Re(2)–Br(2) | 92.2(3)   |
| C(12)–Re(1)–Br(1) | 173.7(2)  | C(32)–Re(2)–Br(2) | 177.8(2)  |
| C(13)–Re(1)–Br(1) | 93.0(2)   | C(31)–Re(2)–Br(2) | 92.6(3)   |
| O(1)–Re(1)–Br(1)  | 84.1(1)   | O(21)–Re(2)–Br(2) | 81.8(1)   |
| C(11)–Re(1)–N(1)  | 103.4(3)  | C(33)–Re(2)–N(21) | 102.4(3)  |
| C(12)–Re(1)–N(1)  | 93.9(2)   | C(32)–Re(2)–N(21) | 95.7(3)   |
| C(13)–Re(1)–N(1)  | 172.7(3)  | C(31)–Re(2)–N(21) | 171.6(2)  |
| O(1)–Re(1)–N(1)   | 75.0(2)   | O(21)–Re(2)–N(21) | 74.0(2)   |
| N(1)–Re(1)–Br(1)  | 83.5(1)   | N(21)–Re(2)–Br(2) | 83.2(2)   |

distorted octahedral and consists of the *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3]^+$  moiety, one bidentate  $\text{quin}^-$  ligand, and one terminal bromide. The equatorial plane of the distorted octahedron is defined by the carbonyl atoms C(11) and C(13) with  $\text{Re}-\text{CO} \cong 1.90$  Å, the pyridine nitrogen N(1) and the carboxylate oxygen O(1) of the deprotonated  $\text{quin}^-$  ligand with  $\text{Re}-\text{N}(1) = 2.234(5)$  and  $\text{Re}-\text{O}(1) = 2.140(5)$  Å.  $\text{Re}(1)$  almost lies on the equatorial plane (deviation 0.07 Å toward Br(1)). The  $\text{Re}-\text{CO}$  bond length in the apical position is substantially longer,  $\text{Re}(1)-\text{C}(12) = 1.989(7)$  Å, in agreement with the *trans* effect exerted by the bromide ion with  $\text{Re}(1)-\text{Br}(1) = 2.591(1)$  Å. Similar bond distances have been found in analogous complexes containing the *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3]^+$  moiety, one bidentate N,O ligand, and one terminal bromide.<sup>25,40</sup> The carboxylate bond lengths  $\text{C}(1)-\text{O}(1) = 1.268(8)$  and  $\text{C}(1)-\text{O}(2) = 1.244(8)$  Å agree with the delocalized double-bond character and deprotonated  $\text{quin}^-$  ligand. The  $\text{Re}-\text{N}-\text{C}-\text{O}$  five-membered ring in the coordination sphere is almost planar. The coordination geometry around  $\text{Re}(2)$  is also



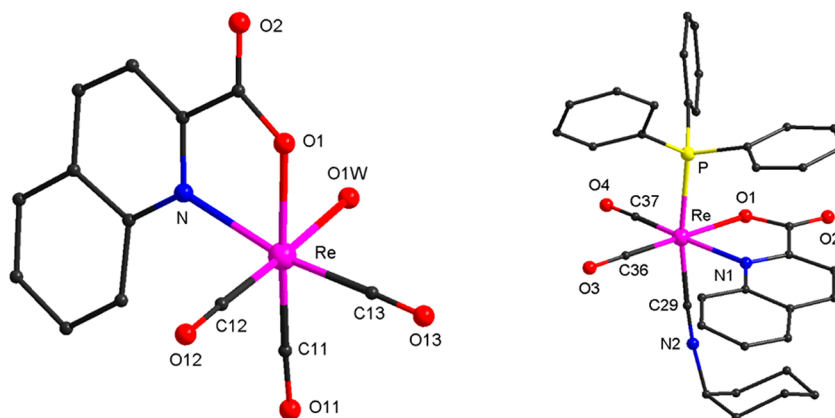


Figure 2. Partially labeled plots of 2 (left) and 4 (right).

Table 4. Selected Bond Distances (Å) and Angles (deg) in 2, 3,<sup>a</sup> and 4

| 2              |           | 3              |           | 4              |          |
|----------------|-----------|----------------|-----------|----------------|----------|
| distances      |           |                |           |                |          |
| Re–C(11)       | 1.890(9)  | Re–C(13)       | 1.903 (8) | Re–C(36)       | 1.861(8) |
| Re–C(12)       | 1.892(9)  | Re–C(11)       | 1.960 (8) | Re–P           | 2.451(2) |
| Re–C(13)       | 1.912(10) | Re–C(12)       | 1.912 (8) | Re–C(37)       | 1.888(8) |
| Re–O(1)        | 2.132(5)  | Re–O(1)        | 2.149 (5) | Re–O(1)        | 2.135(5) |
| Re–N           | 2.234(7)  | Re–N           | 2.237 (5) | Re–N(1)        | 2.265(6) |
| Re–O(1w)       | 2.182(5)  | Re–C(14)       | 2.107 (8) | Re–C(29)       | 2.027(2) |
| angles         |           |                |           |                |          |
| C(11)–Re–C(12) | 89.1(3)   | C(13)–Re–C(11) | 88.4 (3)  | C(36)–Re–C(29) | 91.73(3) |
| C(11)–Re–C(13) | 86.0(3)   | C(13)–Re–C(12) | 87.2 (3)  | C36–Re–C(37)   | 84.8(30) |
| C(12)–Re–C(13) | 88.2(3)   | C(12)–Re–C(11) | 90.1 (3)  | C(37)–Re–C(29) | 92.7(3)  |
| C(11)–Re–O(1)  | 173.1(3)  | C(13)–Re–O(1)  | 179.2 (2) | C(36)–Re–O(1)  | 179.0(3) |
| C(12)–Re–O(1)  | 97.6(3)   | C(11)–Re–O(1)  | 91.8 (2)  | C(29)–Re–O(1)  | 88.6(2)  |
| C(13)–Re–O(1)  | 95.8(3)   | C(12)–Re–O(1)  | 93.5 (2)  | C(37)–Re–O(1)  | 96.2(3)  |
| C(11)–Re–O(1w) | 91.8(3)   | C(13)–Re–C(14) | 91.6 (3)  | C(36)–Re–P     | 96.1(2)  |
| C(12)–Re–O(1w) | 177.8(3)  | C(11)–Re–C(14) | 179.1 (3) | C(29)–Re–P     | 171.1(2) |
| C(13)–Re–O(1w) | 93.9(3)   | C(12)–Re–C(14) | 90.9 (3)  | C(37)–Re–P     | 92.5(5)  |
| O(1)–Re–O(1w)  | 81.4(2)   | C(14)–Re–O(1)  | 88.1 (2)  | O(1)–Re–P      | 83.6(1)  |
| C(11)–Re–N     | 103.9(3)  | C(13)–Re–N(1)  | 104.1 (2) | C(36)–Re–N(1)  | 104.7(3) |
| C(12)–Re–N     | 94.7(3)   | C(11)–Re–N(1)  | 89.4 (2)  | C(29)–Re–N1    | 82.7(2)  |
| C(13)–Re–N     | 169.8(3)  | C(12)–Re–N(1)  | 168.7 (2) | C(37)–Re–N(1)  | 169.4(3) |
| O(1)–Re–N      | 74.2(2)   | O(1)–Re–N(1)   | 75.2 (2)  | O(1)–Re–N(1)   | 74.3(2)  |
| O(1w)–Re–N     | 83.1(2)   | C(14)–Re–N(1)  | 89.7 (2)  | N(1)–Re–P      | 91.0(1)  |

<sup>a</sup>Data from ref 27.

distorted octahedral and consists of the *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> moiety, the N,O donor set of quinaldic acid ligand, and one terminal bromide. The equatorial plane of the distorted octahedron is formed by the carbonyl atoms C(31) and C(33), the pyridine nitrogen N(21), and the carboxylato oxygen O(21) of the neutral quinH ligand with Re(2)–N(21) = 2.224(5) and Re(2)–O(21) = 2.171(4) Å. The apical positions are occupied by the third CO group and Br(2) with Re(2)–Br(2) = 2.622(1) Å. The Re–CO bond distances lie in the short range of 1.877(8)–1.920(8) Å. Similar bond distances have been found in analogous *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(N,O)-Br] complexes.<sup>41–43</sup>

Re(2) almost lies on the equatorial plane (deviation 0.08 Å toward Br(2)). The Re–N–C–C–O five-membered ring in the coordination sphere adopts the envelope conformation with N(21) being the flap atom at 0.33 Å out of the best mean plane of the remaining four atoms. The carboxylato bond lengths C(21)–O(21) = 1.224(8) and C(21)–O(22) =

1.305(8) Å are characteristic of double- and single-bond character, respectively. It is noteworthy that the protonated carboxylato group is coordinated to Re(2) via the doubly bonded oxygen O(21). As far as we know, this has been scarcely observed in Re(I) chemistry.<sup>44–46</sup> The anionic *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(Br)]<sup>–</sup> and the neutral *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(quinH)(Br)] complexes are linked through a strong hydrogen bond developed between the coordinated quin<sup>–</sup> and quinH ligands and form dimers in the crystal lattice [O(22)–H(22)⋯O(2): O(22)⋯O(2) = 2.472 Å, H(22)⋯O(2) = 1.639 Å, O(22)–H(22)⋯O(2) = 171.5°].

The molecular structures of 2 and 4 are shown in Figure 2; selected bond distances and angles are listed in Table 4. The coordination geometry around the Re atom in 2 is distorted octahedral and consists of the *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> moiety, the pyridine nitrogen, one of the carboxylato oxygen atoms of the quin<sup>–</sup> ligand, and a terminal aqua ligand. The Re–CO bond distances are in the short range of 1.890(9)–1.912(10) Å. The

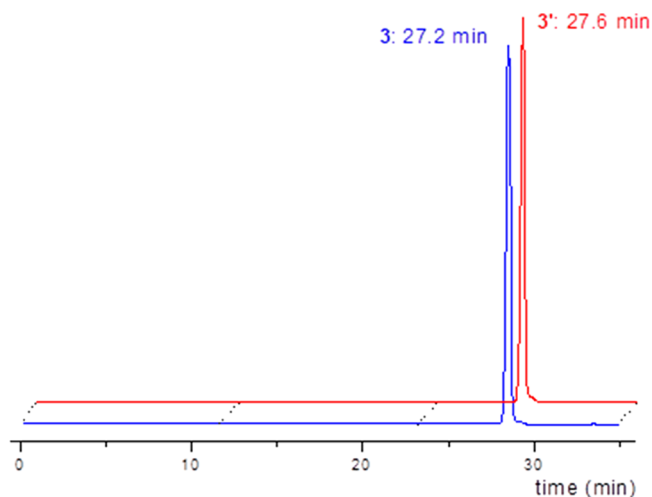
Re–O bond distances are 2.132(5) and 2.182(5) Å for the carboxylato and aqua oxygen atoms, respectively. The Re–N = 2.234(7) Å is the largest in the coordination sphere. The Re–N–C–C–O five-membered ring in the coordination sphere is almost planar. The *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(quin)(H<sub>2</sub>O)] molecules in **2** are linked through hydrogen bonds that involve the aqua ligand and the uncoordinated carboxylato oxygen atom and form dimers [O(1w)–H(1wA)⋯O(2) (–*x*, *y*, 0.5 – *z*): O(1w)⋯O(2) = 2.656 Å, H(1wA)⋯O(2) = 1.822 Å, O(1w)–H(1wA)⋯O(2) = 171.4°]. The dimers are further linked through hydrogen bonds involving the solvate water molecule and form zigzag chains that extend parallel to the crystallographic *c*-axis [O(1w)⋯O(2w) = 2.689 Å, O(2w)⋯O(2w) (–*x*, 1 – *y*, 1 – *z*) = 2.597 Å, O(2w)⋯O(2w) (–*x*, *y*, 1.5 – *z*) = 2.607 Å, O(2w)⋯O(1) (*x*, 1 – *y*, 0.5 + *z*) = 2.695 Å].

The coordination geometry around the Re atom in **4** is distorted octahedral and consists of two *cis* carbonyl groups, the pyridine nitrogen and the carboxylato oxygen atoms of quin<sup>–</sup> ligand, one PPh<sub>3</sub>, and one *cis*c ligand in *trans* positions. The Re–C bond distances are 1.861(8)/1.888(8) and 2.027(8) Å for the carbonyl and *cis*c ligands, respectively. The Re–O(1) and Re–N(1) bond lengths to the quin<sup>–</sup> ligand are 2.135(5) and 2.265(6) Å. The Re–P = 2.451(2) Å is the largest in the coordination sphere. The Re–N–C–C–O five-membered ring in the coordination sphere is planar.

In Tables 3 and 4 the distances and angles of the core part for complexes **1**, **2**, **3**, and **4** are listed. In all complexes studied the Re–O and Re–N distances are in the very narrow range (2.131–2.171 Å and 2.224–2.265 Å, respectively), and the bite angle remains almost constant with values in the range of 74.0–75.2°. The Re–C distances *trans* to the O atoms are in the lower range (1.861–1.903 Å), and those *trans* to the N atoms are in the intermediate range (1.888–1.920 Å) of the bond distances observed in the complexes studied. The bond lengths Re(1)–C(12) (1.987(7) Å) in **1a**, Re(2)–C(32) (1.894(11) Å) in **1b**, and Re–C(12) (1.892 Å) of **2** fall in the ranges observed for bonds *trans* to Br in the case in **1a**, **1b**, and *trans* to water oxygen in the case of **2**.<sup>10,40</sup>

**Technetium-99m Chemistry.** At the <sup>99m</sup>Tc tracer level, the formation of the intermediate aqua complex [<sup>99m</sup>Tc]fac-[Tc(CO)<sub>3</sub>(quin)(H<sub>2</sub>O)], complex **2'**, proceeded in high radiochemical yield (>97%) by addition of the quinaldic acid (final concentration: 1 × 10<sup>–3</sup> M) to the precursor [<sup>99m</sup>Tc]fac-[Tc(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>. The structure of complex **2'** (*t*<sub>R</sub> = 16.9 min) was established by RP-HPLC comparative studies by applying parallel radiometric and photometric detection using the authentic well-characterized rhenium complex **2** (*t*<sub>R</sub> = 16.6 min) as reference. The quantitative replacement of the aqua ligand of **2'** by cyclohexyl isocyanide at room temperature (RT) resulted in the formation of [<sup>99m</sup>Tc]fac-[Tc(CO)<sub>3</sub>(quin)(*cis*c)], **3'**, as shown by comparative RP-HPLC analysis (*t*<sub>R</sub> = 21.1 and 21.4 min for Re and <sup>99m</sup>Tc, respectively). Subsequent addition of triphenylphosphine (final concentration: 1 × 10<sup>–4</sup> M) to the isolated by RP-HPLC [2 + 1] mixed ligand complex **3'** and heating at 95 °C for 60 min gave a new compound in high yield (93%, Scheme 1). The similarity of its retention time (27.6 min) to that of the analogous Re complex **4** (27.2 min) indicated the generation of the dicarbonyl [<sup>99m</sup>Tc]cis-[Tc(CO)<sub>2</sub>(quin)(*cis*c)(PPh<sub>3</sub>)], **4'**, (Figure 3).

Stability studies showed that complexes **3'** and **4'** are stable in their preparation reaction mixture for 6 h. In addition, histidine and cysteine challenge experiments for **3'** and **4'**



**Figure 3.** Comparative RP-HPLC chromatograms. UV detection at 254 nm (blue): *cis*-[Re(CO)<sub>2</sub>(quin)(*cis*c)(PPh<sub>3</sub>)], **4**. Radiometric detection (red): [<sup>99m</sup>Tc]cis-[Tc(CO)<sub>2</sub>(quin)(*cis*c)(PPh<sub>3</sub>)], **4'**.

showed by RP-HPLC analysis that they exhibit high stability (>93% in 6 h; Table S3).

With the synthesis of complex **4'** a unique new donor system for <sup>99m</sup>Tc dicarbonyl complexes is introduced that generates stable and potentially multifunctional complexes. As the properties of all ligands can be fine-tuned through structural modifications and/or derivatizations with target specific pharmacophores or pharmacological modifiers, this new platform can in principle be applied for the design of <sup>99m</sup>Tc-agents with desired *in vivo* properties.

## CONCLUSIONS

In this work, the dicarbonyl *cis*-[M(CO)<sub>2</sub>(quin)(*cis*c)(PPh<sub>3</sub>)] complexes **4/4'** (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) of quinaldic acid are presented. The complexes are generated from the tricarbonyl *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>(quin)(*cis*c)] complex **3/3'** by replacement of the *trans* to the isocyanide carbonyl ligand by a phosphine taking advantage of the *trans* labilizing effect of isocyanide. This is the first time that the [N,O][C][P] donor atom system is introduced for the Re<sup>I</sup> or <sup>99m</sup>Tc<sup>I</sup> metal core generating neutral and stable complexes bearing three types of chemically diverse ligands capable of further functionalization. As at the <sup>99m</sup>Tc tracer level all synthetic steps proceed quantitatively, leading to an overall yield of ~88%, this system can in principle be applied for the design of novel complexes with suitable properties for radiodiagnosis (<sup>99m</sup>Tc) and radiotherapy (<sup>186/188</sup>Re).

## ASSOCIATED CONTENT

### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.inorgchem.8b01014.

NMR spectra of complexes **2** and **4**; stability of **3'** and **4'** complexes (PDF)

### Accession Codes

CCDC 1833853–1833855 contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge via [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif), or by emailing [data\\_request@ccdc.cam.ac.uk](mailto:data_request@ccdc.cam.ac.uk), or by contacting The

Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033.

## AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*Phone: +30 210 650 3909. E-mail: [msoap@rrp.demokritos.gr](mailto:msoap@rrp.demokritos.gr).

### ORCID

Maria Pelecanou: 0000-0002-7669-2424

Minas S. Papadopoulos: 0000-0002-1107-027X

### Author Contributions

The manuscript was written through contributions by all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ACKNOWLEDGMENTS

We acknowledge support of this work by the project “NCSR-D-INRASTES” research activities in the framework of the national RIS3 (MIS 5002559), which is implemented under the “Action for the Strategic Development on the Research and Technological Sector”, funded by the Operational Programme “Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation” (NSRF 2014-2020) and cofinanced by Greece and the European Union (European Regional Development Fund).

## REFERENCES

- Jurisson, S. S.; Lydon, J. D. Potential Technetium Small Molecule Radiopharmaceuticals. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2205–2218.
- Dilworth, J. R.; Pascu, S. I. *The Radiopharmaceutical Chemistry of Technetium and Rhenium*, 1st ed.; Long, N., Wong, W.-T., Eds.; John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- Dilworth, J.; Parrott, S. The Biomedical Chemistry of Technetium and Rhenium. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 43–55.
- Hayes, T. R.; Bottorff, S. C.; Slocumb, W. S.; Barnes, C. L.; Clark, A. C.; Benny, P. D. Influence of Bidentate Ligand Donor Types on the Formation and Stability in 2 + 1 *fac*-[M<sup>I</sup>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) Complexes. *Dalt. Trans.* **2017**, *46* (4), 1134–1144.
- Mundwiler, S.; Kundig, M.; Ortner, K.; Alberto, R. A New 2 + 1 Mixed Ligand Concept Based on [<sup>99(m)</sup>Tc(OH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>: A Basic Study. *Dalt. Trans.* **2004**, *99*, 1320–1328.
- Sagnou, M.; Tsoukalas, C.; Triantis, C.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Pirmettis, I.; Pelecanou, M.; Papadopoulos, M. A New Tricarbonyl *fac*-[M(acac)(isc)(CO)<sub>3</sub>] Complex (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) with Acetylacetonate (acac) and Isocyanide (isc) in a 2 + 1 Combination. *Inorg. Chim. Acta* **2010**, *363* (8), 1649–1653.
- Riondato, M.; Camporese, D.; Martin, D.; Suades, J.; Alvarez-Larena, A.; Mazzi, U. Synthesis and Characterisation of [Re(CO)<sub>3</sub>(SS)(P)] Complexes: A [2 + 1] Concept for <sup>99m</sup>Tc- and <sup>188</sup>Re-Radiopharmaceutical Applications. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, *2005* (20), 4048–4055.
- Hayes, T. R.; Lyon, P. A.; Barnes, C. L.; Trabue, S.; Benny, P. D. Influence of Functionalized Pyridine Ligands on the Radio/Chemical Behavior of [M<sup>I</sup>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (M = Re and <sup>99m</sup>Tc) 2 + 1 Complexes. *Inorg. Chem.* **2015**, *54* (4), 1528–1534.
- Shegani, A.; Triantis, C.; Nock, B. A.; Maina, T.; Kiritsis, C.; Psycharis, V.; Raptopoulou, C.; Pirmettis, I.; Tisato, F.; Papadopoulos, M. S. Rhenium(I) Tricarbonyl Complexes with (2-Hydroxyphenyl)Diphenylphosphine as PO Bidentate Ligand. *Inorg. Chem.* **2017**, *56* (14), 8175–8186.
- Schutte, M.; Kemp, G.; Visser, H. G.; Roodt, A. Tuning the Reactivity in Classic Low-Spin D<sup>6</sup> Rhenium(I) Tricarbonyl Radiopharmaceutical Synthon by Selective Bidentate Ligand Variation (L,L'-Bid; L,L' = N,N', N,O, and O,O' Donor Atom Sets) in *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(L,L'-Bid)(MeOH)]<sup>n</sup> Complexes. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (24), 12486–12498.
- Holland, M. E.; Deutsch, E.; Heineman, W. R.; et al. Studies on Commercially Available <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc Radionuclide Generators-II. Operating Characteristics and Behavior of <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc Generators. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1986**, *37* (2), 165–171.
- Alberto, R. *New Organometallic Technetium Complexes for Radiopharmaceutical Imaging BT-Contrast Agents III: Radiopharmaceuticals—From Diagnostics to Therapeutics*; Krause, W., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Germany, 2005; pp 1–44.
- Triantis, C.; Tsotakos, T.; Tsoukalas, C.; Sagnou, M.; Raptopoulou, C.; Terzis, A.; Psycharis, V.; Pelecanou, M.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M. Synthesis and Characterization of *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>(P)(OO)] and *cis-trans*-[M(CO)<sub>2</sub>(P)<sub>2</sub>(OO)] Complexes (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) with Acetylacetonate and Curcumin as OO Donor Bidentate Ligands. *Inorg. Chem.* **2013**, *52* (22), 12995–13003.
- Hayes, T. R.; Kasten, B. B.; Barnes, C. L.; Benny, P. D. Rhenium and Technetium Bi- and Tricarbonyl Complexes in a New Strategy for Biomolecule Incorporation Using Click Chemistry. *Dalt. Trans.* **2014**, *43* (19), 6998–7001.
- Papagiannopoulou, D.; Triantis, C.; Vassileiadis, V.; Raptopoulou, C. P.; Psycharis, V.; Terzis, A.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M. S. Synthesis, Structural Characterization and Radiochemistry of Di- and Tricarbonyl Re(I) and <sup>99m</sup>Tc(I) Complexes with 8-Hydroxyquinoline or 8-Mercaptoquinoline and Triphenylphosphine. *Polyhedron* **2014**, *68*, 46–52.
- Marmion, M. E.; Woulfe, S. R.; Neumann, W. L.; Nosco, D. L.; Deutsch, E. Preparation and Characterization of Technetium Complexes with Schiff Base and Phosphine Coordination. I. Complexes of Technetium-99g and -99m with Substituted Acac<sub>2</sub>en and Trialkyl Phosphines (Where Acac<sub>2</sub>en = N,N'-Ethylenebis[acetylacetonate iminato]). *Nucl. Med. Biol.* **1999**, *26* (7), 755–770.
- Schaefer, W. M.; Moka, D.; Brockmann, H. A.; Schomaecker, K.; Schicha, H. <sup>201</sup>Tl, <sup>99m</sup>Tc-MIBI, <sup>99m</sup>Tc-Tetrofosmin and <sup>99m</sup>Tc-Furifosmin: Relative Retention and Clearance Kinetics in Retrogradely Perfused Guinea Pig Hearts. *Nucl. Med. Biol.* **2002**, *29* (2), 243–254.
- Papadimitriou, G.; Akrivou, M.; Tsachouridou, V.; Shegani, A.; Vizirianakis, I. S.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M. S.; Papagiannopoulou, D. Synthesis and Evaluation Of <sup>99m</sup>Tc/Re-Tricarbonyl Complexes of the Triphenylphosphonium Cation for Mitochondrial Targeting. *Nucl. Med. Biol.* **2018**, *57*, 34–41.
- Alberto, R.; Egli, A.; Abram, U.; Hegetschweiler, K.; Gramlich, V.; Schubiger, P. A. Synthesis and Reactivity of [NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]. Formation and Structural Characterization of the Clusters [NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re<sub>3</sub>(μ<sub>3</sub>-OH)(μ-OH)<sub>3</sub>(CO)<sub>9</sub>] and [NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re<sub>2</sub>(μ-OH)<sub>3</sub>(CO)<sub>6</sub>] by Alkaline Titration. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1994**, *0* (19), 2815–2820.
- Rigaku/MS. *CrystalClear*; Rigaku/MS Inc.: The Woodlands, TX, 2005.
- Sheldrick, G. M. A Short History of SHELX. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **2008**, *A64*, 112–122.
- Sheldrick, G. M. Crystal Structure Refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.* **2015**, *C71*, 3–8.
- DIAMOND—Crystal and Molecular Structure Visualization, Version 3.1; Crystal Impact: Bonn, Germany, 2015.
- Kiritsis, C.; Mavroidi, B.; Shegani, A.; Palamaris, L.; Loudos, G.; Sagnou, M.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M.; Pelecanou, M. 2-(4'-Aminophenyl)Benzothiazole Labeled with <sup>99m</sup>Tc-Cyclopentadienyl for Imaging β-Amyloid Plaques. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8* (10), 1089–1092.
- Wang, W.; Spingler, B.; Alberto, R. Reactivity of 2-Pyridine-Aldehyde and 2-Acetyl-Pyridine Coordinated to [Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> with Alcohols and Amines: Metal Mediated Schiff Base Formation and Dimerization. *Inorg. Chim. Acta* **2003**, *355*, 386–393.
- Palma, E.; Correia, J. D. G.; Domingos, A.; Santos, I.; Alberto, R.; Spies, H. Rhenium and Technetium Tricarbonyl Complexes Anchored by 5-HT<sub>1A</sub> receptor-Binding Ligands Containing P,O/N Donor Atom Sets. *J. Organomet. Chem.* **2004**, *689* (25), 4811–4819.



- (27) Triantis, C.; Shegani, A.; Kiritsis, C.; Raptopoulou, C.; Psycharis, V.; Pelecanou, M.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M. Crystal Structure of *fac*-Tricarbonyl(cyclohexyl isocyanide-κC)(Quinoline-2-Carboxylato-κ<sup>2</sup>N,O)Rhenium(I). *Acta Crystallogr. Sect. E Crystallogr. Commun.* **2016**, *72*, 358–362.
- (28) Smithback, J. L.; Helms, J. B.; Schutte, E.; Woessner, S. M.; Sullivan, B. P. Preparative Routes to Luminescent Mixed-Ligand Rhenium(I) Dicarbonyl Complexes. *Inorg. Chem.* **2006**, *45* (5), 2163–2174.
- (29) Sato, S.; Morimoto, T.; Ishitani, O. Photochemical Synthesis of *mer*-[Re(Bpy)(CO)<sub>3</sub>Cl]. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (22), 9051–9053.
- (30) Marker, S. C.; MacMillan, S. N.; Zipfel, W. R.; Li, Z.; Ford, P. C.; Wilson, J. J. Photoactivated in Vitro Anticancer Activity of Rhenium(I) Tricarbonyl Complexes Bearing Water-Soluble Phosphines. *Inorg. Chem.* **2018**, *57* (3), 1311–1331.
- (31) Kyprianidou, P.; Tsoukalas, C.; Chiotellis, A.; Papagiannopoulou, D.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Pelecanou, M.; Papadopoulos, M.; Pirmettis, I. First example of well-characterized Re and <sup>99m</sup>Tc tricarbonyl complexes of ciprofloxacin and norfloxacin in the development of infection-specific imaging agents. *Inorg. Chim. Acta* **2011**, *370*, 236–242.
- (32) Koike, K.; Tanabe, J.; Toyama, S.; Tsubaki, H.; Sakamoto, K.; Westwell, J. R.; Johnson, F. P. A.; Hori, H.; Saitoh, H.; Ishitani, O. New Synthetic Routes to Biscarbonylbipyridinerhenium(I) Complexes *cis,trans*-[Re(X<sub>2</sub>bpy)(CO)<sub>2</sub>(PR<sub>3</sub>)(Y)]<sup>n+</sup> (X<sub>2</sub>bpy = 4,4'-X<sub>2</sub>-2,2'-Bipyridine) via Photochemical Ligand Substitution Reactions, and Their Photophysical and Electrochemical Properties. *Inorg. Chem.* **2000**, *39* (13), 2777–2783.
- (33) Karagiorgou, O.; Patsis, G.; Pelecanou, M.; Raptopoulou, C. P.; Terzis, A.; Siatra-Papastaikoudi, T.; Alberto, R.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M. S)-(2-(2'-Pyridyl)Ethyl)Cysteamine and (S)-(2-(2'-Pyridyl)Ethyl)-D,L-Homocysteine as Ligands for the “*fac*-[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>” (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) Core. *Inorg. Chem.* **2005**, *44* (12), 4118–4120.
- (34) Vassiliadis, V.; Triantis, C.; Raptopoulou, C. P.; Psycharis, V.; Terzis, A.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M. S.; Papagiannopoulou, D. Synthesis, Structural Characterization and Radiochemistry of “2 + 1” *fac*-[<sup>99m</sup>Tc/Re(CO)<sub>3</sub>(L)(2-Mercaptopyridine)] Complexes, where L is Phosphine or Isocyanide. *Polyhedron* **2014**, *81*, 511–516.
- (35) Crabtree, R. H. *The Organometallic Chemistry of the Transition Metals*; Wiley, 2005; Vol. 18.
- (36) Sagnou, M.; Benaki, D.; Triantis, C.; Tsotakos, T.; Psycharis, V.; Raptopoulou, C. P.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M.; Pelecanou, M. Curcumin as the OO Bidentate Ligand in “2 + 1” Complexes with the [M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (M = Re, <sup>99m</sup>Tc) Tricarbonyl Core for Radiodiagnostic Applications. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (4), 1295–1303.
- (37) Vogler, A. Coordinated Isonitriles. In *Isonitrile Chemistry*; Ugi, I., Ed.; Academic Press, Inc.: New York, 1971; pp 217–234.
- (38) Stephany, R. W.; de Bie, M. J. A.; Drenth, W. A <sup>13</sup>C-NMR and IR Study of Isocyanides and Some of Their Complexes. *Org. Magn. Reson.* **1974**, *6*, 45–47.
- (39) Ozer, Z.; Ozkar, S. <sup>13</sup>C and <sup>31</sup>P NMR Study of Tetracarbonylbis(Diphenylphosphino) Alkanemetal(0) Complexes of The Group 6 Elements. *Turk. J. Chem.* **1999**, *23*, 9–14.
- (40) Schutte-Smith, M.; Visser, H. G. The Versatility of Pyridine-2,5-Dicarboxylic Acid in the Synthesis of *fac*-M(CO)<sub>3</sub> Complexes (M = Re, <sup>99m</sup>Tc): Reactivity towards Substitution Reactions and Derivatization after Coordination to a Metal. *Polyhedron* **2015**, *89*, 122–128.
- (41) Álvarez, C. M.; Carrillo, R.; García-Rodríguez, R.; Miguel, D. Intramolecular Carboboration of Carbonyl Ligands to Form Boroxycarbenes. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (62), 7705–7707.
- (42) Lyczko, K.; Lyczko, M.; Mieczkowski, J. A Series of Tricarbonylrhenium(I) Complexes with the N-Methyl-2-Pyridinecarboxamide Ligand: Synthesis, Structure, Spectroscopic Characterization and Computational Studies. *Polyhedron* **2015**, *87*, 122–134.
- (43) Booyen, I. N.; Ebonumoliseh, I.; Akerman, M. P.; Xulu, B. A Rhenium(I) Compound Bearing a Dimerized Chromone NO Bidentate Chelator. *Inorg. Chem. Commun.* **2015**, *62*, 8–10.
- (44) Fuks, L.; Gniazdowska, E.; Koźmiński, P. Tricarbonylrhenium(I) Complexes with Anionic Ligands Containing S and O Donor Atoms - Potential Radiopharmaceutical Precursors. *Polyhedron* **2010**, *29*, 634–638.
- (45) Balbach, B. B. K.; Helus, F.; Oberdorfer, F.; Ziegler, M. L. Nitrogen Dioxide and the Isoelectronic COOH Group as 5-Electron Donors in Carbonylmetal Complexes; Preparation and Characterization of the First “Metallacarboxylic Acid. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1981**, *20* (5), 470–471.
- (46) Oberdorfer, F.; Balbach, B.; Ziegler, M. L. Photonitrosylierung von Re<sub>2</sub>(CO)<sub>10</sub> in Gegenwart von Olefinen; Röntgenstrukturanalysen von Re<sub>3</sub>(CO)<sub>14</sub>NO<sub>2</sub> Und Re<sub>3</sub>(CO)<sub>14</sub>COOH. *Z. Naturforsch. B* **1982**, *37*, 157–167.