



HAL
open science

**Complexes osmium nitrosyle avec des ligands bioactifs :
synthèse, structure, réactivité et activité
antiproliférative in vitro**

Anatolie Gavriluta

► **To cite this version:**

Anatolie Gavriluta. Complexes osmium nitrosyle avec des ligands bioactifs : synthèse, structure, réactivité et activité antiproliférative in vitro. Autre. Université Claude Bernard - Lyon I, 2013. Français. NNT : 2013LYO10147 . tel-00903651

HAL Id: tel-00903651

<https://theses.hal.science/tel-00903651>

Submitted on 12 Nov 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre 147-2013



THESE

Délivrée par

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Spécialité : Chimie bioinorganique

M. GAVRILUȚA Anatolie

Complexes Osmium Nitrosyle avec des Ligands Bioactifs

Synthèse, Structure, Réactivité et Activité Antiproliférative in Vitro

Soutenue le 24 septembre 2013

Jury :

M. Pr. ARION Vladimir B.	Université de Vienne	
M. Pr. LANCELIN Jean-Marc	Université Lyon 1	
M. Pr. LUNEAU Dominique	Université Lyon 1	Directeur de thèse
M. DR. MENAGE Stéphane	CNRS, CEA Grenoble	Rapporteur
M. IR. NOVITCHI Ghenadie	LNCMI, CNRS – Grenoble	
M. Pr. SCHANIEL Dominik	Université de Lorraine	Rapporteur
M. MC. TOMMASINO Jean-Bernard	Université Lyon 1	

Equipe Cristallographie et Ingénierie Moléculaire
Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces – UMR 5615

THESE

Délivrée par

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Spécialité : Chimie bioinorganique

M. GAVRILUȚA Anatolie

Complexes Osmium Nitrosyle avec des Ligands Bioactifs

Synthèse, Structure, Réactivité et Activité Antiproliférative in Vitro

Soutenue le 24 septembre 2013

Jury :

M. Pr. ARION Vladimir B.	Université de Vienne	
M. Pr. LANCELIN Jean-Marc	Université Lyon 1	
M. Pr. LUNEAU Dominique	Université Lyon 1	Directeur de thèse
M. DR. MENAGE Stéphane	CNRS, CEA Grenoble	Rapporteur
M. IR. NOVITCHI Ghenadie	LNCMI, CNRS – Grenoble	
M. Pr. SCHANIEL Dominik	Université de Lorraine	Rapporteur
M. MC. TOMMASINO Jean-Bernard	Université Lyon 1	

Equipe Cristallographie et Ingénierie Moléculaire
Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces – UMR 5615

*A mes filles **Iuliana** (femme) & **Emiliana** (fille),*

A mes parents, mon frère et mes beaux-parents,

A mes proches et mes amis.

Remerciements



Je veux Remercier mon Directeur de thèse Pr. **Dominique Luneau** qui m'a accueilli chaleureusement au sein de son équipe disant simplement : appelez-moi Dominique. A partir de premiers minutes ensemble, j'ai senti sa gentillesse, son enthousiasme, son esprit d'ouverture et sa convivialité qui m'ont permis de m'adapter rapidement à la vie de son équipe. Ses qualités humaines m'ont motivé de développer la chimie sous aspect architecturale en découvrant des nouveaux, plutôt architectures/ motifs, que des complexes. Etant une personne très collaborative, j'ai eu la possibilité de découvrir le monde, nouveaux gens, cultures, endroits et pays, ainsi visitant la France, l'Autriche, le Canada et la Roumanie.

J'ai un très grand Merci pour mon Co-encadreur de thèse Dr. **Jean-Bernard Tommasino** pour l'apprentissage de l'électrochimie, ses conseils utiles lors de la vie universitaire et pour sa patience et son volition de rédiger ma thèse. Sa rapidité, sa volonté et son amabilité de s'impliquer active dans les situations difficiles m'ont aidé énormément.



Un vif Merci je voudrais adresser à Dr. **Ghenadie Novitchi** pour son aide et convaincre de faire une thèse dans l'équipe de Pr. Dominique Luneau. Ses conseils scientifiques m'ont élevé ma culture de chercheur sous aspect expérimentales, en relisant une très belle étude de RMN, sous l'écriture des articles et aussi sur la réflexion d'une expérience. Ses conseils personnels et ses qualités humaines m'ont souvent encouragé en chargeant mes « batteries ».

Un autre très grand Merci j'ai réservé pour Pr. **Vladimir Arion** pour l'accueil dans son équipe pendant mon séjour à Vienne. Les discussions scientifiques lors de mon séjour là-bas et aussi pendant nos réunions de projet soit à Vienne, soit à Lyon, m'ont fait d'exploiter de nouveaux horizons dans le domaine de la chimie de coordination. Nos discussions, sa sûreté pendant l'écriture des articles m'ont augmenté mon niveau professionnelle.



J'envoie ma Gratitude à group des essais antiprolifératives dirigé par Dr. **Michael Jacupsek** pour notre productive collaboration et pour l'acceptation de tester nos composés à l'activité antiproliférative. Je tiens également à apprécier l'effort de doctorante **Maria Novak**, qui nous a fournit tous les résultats expérimentaux de cytotoxicité. Je tiens également à remercier Pr. **Leticia González Herrero** et son doctorant **Leon Freitag** pour les calculs théoriques sur les complexes d'osmium et ruthénium nitrosyle.

Je suis Reconnaisant à Pr. **Christian Reber**, qui m'a bien et chaleureusement accueilli au sein de son équipe à Montréal. La confiance d'utiliser et mesurer mes échantillons au spectromètre Raman, m'a fait d'apprendre la spectroscopie Raman et de la luminescence. Je souhaiterai à saluer la patience, l'enthousiasme et la volonté de son postdoc Dr. **Yan Suffren** de m'initier dans l'enregistrement des spectres Raman et de luminescence.



Je voudrais exprimer ma Gratitude pour Dr. **Nicolas Claiser** pour très chaleureux accueil à Nancy et pour la confiance d'utiliser le diffractomètre en faisant des mesures cristallographiques. Nos discussions très fructueuses ont augmenté mon niveau des connaissances dans ce très important domaine d'aujourd'hui.



Je tiens également à saluer Dr. **Erwann Jeanneau** et Dr. **Guillaume Pilet** pour l'ampleur du travail, la volonté et la patience de m'aider sur la collecte des données cristallographiques sur monocristal, sur la résolution et affinement des structures cristallines.



Le projet France-Autriche m'a fait d'avoir des nouveaux amis. Je voudrais dire Merci à **Gabriel** qui m'a fait découvrir Vienne, en spéciale le « Triangle Bermudes de Vienne ». Je tiens à saluer les autres Viennois : **Paul,**

Alex, Ewelina et Arnold, Anna, Masha, Samuel, Miki, ...

Ma vie Montréalaise m'avait enrichi émotionnellement avec une belle ambiance de l'équipe du Pr. Reber faite par : **Nicolas, Karim, Mourad, Yan et Alex.** Nos discussions de foot du Championnat d'Europe étaient très actuelles et intéressantes.



Un Merci particulier je tiens à exprimer aux mes collègues et amis d'aujourd'hui et de passé : **Ruben, Jade, Olga, Nabila, Emel, Anthonie, Angélique** partageant ensemble : le bureau, le labo, le couloir... Nous avons passé beaucoup du temps ensemble travaillant, mangeant au repas et aussi voyageant un peu, organisant des pique-niques, restos, jeux ... parlant, discutant et critiquant sur différents sujets. Je veux saluer mes stagiaires **Fred et Lény** pour une fructueuse collaboration.

Je veux remercier Pr. **Stéphane Ménage**, Pr. **Dominik Schaniel** et Pr. **Jean-Marc Lancelin** qui ont aimablement accepté d'être membres de ce jury.



Je souhaite remercier tous les membres de Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces avec son Directeur Pr. **Christian Brylinski** pour l'accueil et la possibilité de faire ma thèse au sein de son laboratoire.



pour son soutien financier.

... et bien sûr à ma femme **Iuliana** et ma fille **Emiliana**, ma grande famille et mes amis pour leur soutien affectueux et aide!

Liste des publications relatives à ce travail

- 1. Mechanism Elucidation of the cis–trans Isomerization of an Azole Ruthenium–Nitrosyl Complex and Its Osmium Counterpart**
A. Gavriluta, G. E. Büchel, L. Freitag, G. Novitchi, J. B. Tommasino, E. Jeanneau, P. S. Kuhn, L. González Herrero, V. B. Arion, D. Luneau, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 6260-6272;
- 2. Striking Difference in Antiproliferative Activity of Ruthenium- and Osmium-Nitrosyl Complexes with Azole Heterocycles**
G. E. Büchel, A. Gavriluta, M. Novak, S. M. Meier, M. A. Jakupec, O. Cuzan, C. Turta, J. B. Tommasino, E. Jeanneau, G. Novitchi, D. Luneau, V. B. Arion, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 6273-6285;
- 3. Osmium-Nitrosyl Complexes with Glycine, Picolinic Acid, L-Proline and D-Proline: Synthesis, Structures and Antiproliferative Activity**
A. Gavriluta, M. Novak, J. B. Tommasino, S. M. Meier, M. A. Jakupec, D. Luneau, V. B. Arion, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2013**, 639, 1590-1597.

Résumé

Notre travail de thèse a été dédié à la synthèse et à la caractérisation bio-physico-chimique de complexes osmium nitrosyle, qui pourraient relarguer l'oxyde nitrique (NO) au sein des cellules tumorales pour conjuguer les propriétés anticancéreuses souvent associés aux complexes du groupe du platine avec la toxicité de l'oxyde nitrique.

Le premier chapitre de notre mémoire de thèse présente l'état de l'art dans le domaine des composés anticancéreux et le rôle de l'oxyde nitrique dans l'apoptose cellulaire.

Le deuxième chapitre concerne la synthèse et la caractérisation de complexes d'azole $(C)[Os(NO)Cl_4(A)]$ ($C = Bu_4N^+, Na^+, HA^+$; $A =$ indazole, pyrazole, benzimidazole, imidazole), où le plus cytotoxique est $H_2ind[cis-Os(NO)Cl_4(indazole)]$.

Le troisième chapitre est consacré à l'étude cinétique et thermodynamique par RMN de l'isomérisation *trans* \leftrightarrow *cis* du complexe $(Bu_4N)[Os(NO)Cl_4(indazole)]$ qui met en évidence un processus d'isomérisation de type dissociatif.

Le quatrième chapitre concerne la synthèse et la caractérisation de complexes d'aminoacides $(Bu_4N)[Os(NO)Cl_4(L)]$ ($L =$ gly, picolinate, L-, D-pro) qui ont une très faible activité antiproliférative.

Le dernier chapitre est consacré à la synthèse et à la caractérisation de clusters hétérométalliques $[\{Os(NO)Cl_3(Ox)\}_4Ln]$ ($Ln =$ Gd, Tb, Dy, Y ; $Ox=$ oxalate) dans lesquels la coordinance 8 ou 9 du lanthanide dépend de son rayon ionique. Le précurseur $\{Os(NO)Cl_3(Ox)\}$ a l'activité antiproliférative la plus élevée de tous les complexes osmium nitrosyle connus.

Mots clés: chimie bioinorganique, complexe osmium nitrosyle, ligands bioactifs, activité anticancéreuse, isomérisation, clusters polynucléaires, cristallographie, RMN, électrochimie.

Abstract

Osmium Nitrosyl Complexes with Bioactive Ligands

Synthesis, Structure, Reactivity and Antiproliferative Activity in Vitro

The PhD thesis was dedicated to the synthesis and bio-physic-chemical characterization of osmium nitrosyl complexes which could release nitric oxide (NO) in tumor cells to combine the anticancer properties of the platinum group complexes and the nitric oxide cytotoxicity.

The first chapter presents the state of the art in the field of anticancer compounds and the role of nitric oxide in the apoptosis.

The second chapter concerns the synthesis and characterization of azole complexes with the general formulae (C)[Os(NO)Cl₄(A)] (C = Bu₄N⁺, Na⁺, HA⁺; A = indazole, pyrazole, benzimidazole, imidazole), where the most cytotoxic is H₂ind[cis-Os(NO)Cl₄(indazole)].

The third chapter focuses on the kinetic and thermodynamic study of the *trans* ↔ *cis* isomerisation of (Bu₄N)[Os(NO)Cl₄(indazole)] complex by NMR, which highlights a dissociative isomerisation process.

The fourth chapter concerns the synthesis and the characterization of amino acids complexes with the general formulae (Bu₄N)[Os(NO)Cl₄(L)] (L = gly, picolinate, L-, D-pro) of whose antiproliferative activity is very low.

The last chapter is dedicated to the synthesis and characterization of heterometallic clusters with the general formulae [{Os(NO)Cl₃(Ox)}₄Ln] (Ln = Gd, Tb, Dy, Y; Ox = oxalate), where the coordination number 8 or 9 depends on its ionic radius. The precursor {Os(NO)Cl₃(Ox)} has the highest antiproliferative activity among of all osmium nitrosyl known so far.

Keywords: bioinorganic chemistry, osmium nitrosyl complex, bioactive ligands, anticancer activity, isomerism, polynuclear clusters, crystallography, NMR, electrochemistry.

Abréviations utilisés

A549	Cancer du poumon
azole	Dérivé d'azoles
Bu₄N/ TBA	Tétrabutylammonium
β	Magnéton Bohr ($9,2741 \cdot 10^{-24} \text{ J} \cdot \text{T}^{-1}$ (SI)) SI = Système Internationale
CcO	Cytochrome c Oxydase
CH1	Cancer de l'ovaire
CI₅₀	Concentration Inhibitrice médiane
COSY	COrelation SpectroscopY
Cyt	Cytochrome c
DFT	Discrete Fourier Transform
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMSO-d₆	Diméthylsulfoxyde deutéré
D-Pro	D-proline
E_{1/2}	Potentiel de demi-vague
ECE	Electrochimie-Chimie-Electrochimie
E_{pc}	Potentiel de pic cathodique
ESC	Electrode Saturée de Calomel
ESI	Electrospray ionisation
Fc/Fc⁺	Ferrocene/Ferricinium
5-FdUMP	5 fluorodéoxyuridine 5'-monophosphate
5-FU	5-Fluorouracile ou fluorouracile
ΔG/ ΔG[#]	Energie Gipp/ Energie Gipp d'activation
Gly	Glycine
h	Constante de Planck ($6,626 \cdot 10^{-34} \text{ m}^2 \cdot \text{kg} \cdot \text{s}^{-1}$)
H	Champ magnétique (T) ou T = Tesla
ΔH/ ΔH[#]	Enthalpie/ Enthalpie d'activation
Hbzim	Benzimidazole
Him	Imidazole
Hind	Indazole

Hpz	Pyrazole
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IR	Spectroscopie Infrarouge
<i>k</i>	Constant de vitesse
<i>k₁</i>	Constant de vitesse directe
<i>k₋₁</i>	Constant de vitesse inverse
<i>k_B</i>	Constante Boltzmann ($1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$)
KP1019	(H ₂ ind)[<i>trans</i> -Ru ^{III} Cl ₄ (Him) ₂] (Hind = indazole)
LCAO	Linear Combination Atomic Orbitals
L-Pro	L-proline
M	Aimantation
<i>m/z</i>	Masse molaire sur charge
6-MP	Mercaptopurine
MS	Spectrométrie de masse
MTT	Bromure de 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium
<i>M_r</i>	Mass molaire
MTX	Méthotrexate
NAMI-A	(Him)[<i>trans</i> -Ru ^{III} Cl ₄ (Him)(DMSO)] (Him = imidazole)
OM	Orbitales Moléculaires
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OX	Oxalate (C ₂ O ₄ ²⁻)
Pico	Acide picolinique (acide pyridine-2-carboxylique)
PPh₄	Tétraphénylphosphonium
Q	Nombre de coulombs
R	Constante universelle des gaz parfaits ($8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)
RAPTA-C	[Ru(η^6 - <i>p</i> -cymene)Cl ₂ (pta)] (pta = 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane)
RMN	Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire
RPE	Spectroscopie Résonance Paramagnétique Electronique
RPMI 1640	Roswell Park Memorial Institute medium est un milieu utilisé en culture cellulaire
S	Nombre quantique de spin électronique
$\Delta S / \Delta S^\ddagger$	Entropie/ Entropie d'activation
SK-BR-3	Cancer du sein

SW480	Cancer du colon
T	Température absolue (K)
THF	Tétrahydrofurane
TMS	Tétraméthylsilane
τ	Temps d'un procès (réaction)
χ_M	Susceptibilité magnétique molaire
UV-vis	Spectroscopie Ultraviolet-visible

Table des matières

Introduction	25
1. Chapitre I: Concepts sur les médicaments anticancéreux et les composés antiprolifératifs.....	31
1.1. Introduction: La chimie de coordination – un moyen d’assemblage moléculaire pour l’obtention de complexes avec des propriétés désirés....	33
1.2. Médicaments anticancéreux	34
1.2.1 Concepts généraux sur les composés anticancéreux	34
1.2.2 Composés anticancéreux organiques et naturels.....	36
1.2.3 Composés antitumoraux à base de complexes de Platine	41
1.2.4 Composés anticancéreux à base de complexes sans Platine, état de l’art et perspectives	43
1.3. Oxyde nitrique (NO) : agent ou cofacteur actif dans le traitement de cancer	48
1.3.1 Généralités sur NO	48
1.3.2 NO dans la chimie de coordination.....	50
1.3.3 NO dans la chimiothérapie.....	52
1.4. Complexes anticancéreux d’osmium.....	54
1.4.1 Les composés antiprolifératifs d’osmium – une très récente voie de recherche	54
1.4.2 Objectifs du travail	56
2. Chapitre II: Complexes de coordination d’osmium nitrosyle monosubstitué du .. type $Bu_4N[Os(NO)Cl_4(\text{azole})]$	59
2.1. Introduction	61
2.2. Synthèse et caractérisation.....	62
2.3. Description structurale.....	64
2.4. Spectroscopie Infrarouge et Raman.....	67
2.5. Spectroscopie RMN.....	69
2.6. Spectrométrie de masse	71
2.7. UV-VIS et Electrochimie	72
2.8. Activité antiproliférative.....	75

2.9.	Conclusions	77
3.	Chapitre III: Etude cinétique de l'isomérisation trans/cis des complexes de $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ par spectroscopie RMN	79
3.1.	Introduction	81
3.2.	Etude cinétique par spectroscopie RMN	82
3.3.	Etude électrochimique	94
3.4.	Conclusions	98
4.	Chapitre IV: Complexes de coordination d'osmium nitrosyle avec glycine, acide picolinique, L-proline et D-proline	99
4.1.	Introduction	101
4.2.	Synthèse et caractérisation.....	103
4.3.	Description structurale.....	104
4.4.	Spectroscopie Infrarouge	106
4.5.	Spectroscopie RMN.....	108
4.6.	Spectrométrie de masse	110
4.7.	UV-VIS et Electrochimie	111
4.8.	Resistance à l'hydrolyse	115
4.9.	Activité antiproliférative.....	117
4.10.	Conclusions	119
5.	Chapitre IV: Complexes hétérométalliques d'osmium nitrosyle-lanthanides reliés par des ponts oxalate	121
5.1.	Introduction	123
5.2.	Synthèse et caractérisation.....	124
5.3.	Description structurale.....	127
5.4.	Spectroscopie Infrarouge	132
5.5.	Magnétisme	134
5.6.	UV-VIS et Electrochimie	136
5.7.	Resistance à l'hydrolyse et activité antiproliférative.....	137
5.8.	Conclusions	138
6.	Conclusions générales.....	141
7.	Partie expérimentale.....	147
7.1.	Mesures physico-bio-chimiques	149

7.2.	Synthèses	152
7.2.1	Synthèse de $(\text{PPh}_4)_2[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]$	152
7.2.2	Synthèse de $(\text{cation})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$, cation = Na^+ , Bu_4N^+	153
7.2.3	Synthèse de $(\text{cation})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hpz})]$, cation = H_2pz^+ , Bu_4N^+	156
7.2.4	Synthèse de $(\text{cation})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Him})]$, cation = H_2im^+ , Bu_4N^+	158
7.2.5	Synthèse de $(\text{cation})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hbzim})]$, cation = H_2bzim^+ , Bu_4N^+ ...	159
7.2.6	Synthèse de $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, L = glycinate, picolinate, D-prolinate, L-prolinate.....	160
7.2.7	Synthèse de $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$, OX = oxalate	162
7.2.8	Synthèse de $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{b}}\}$, $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd, Tb, Dy}$, $\text{M}^{\text{b}} = \text{Dy, Y}$	163
8.	CURRICULUM VITAE	165
9.	Annexe	171

Introduction

Le cancer touche l'humanité depuis des siècles. Les premiers états de cette maladie apparaissent dans l'Égypte antique sur un papyrus datant d'environ 1500 av. J. C. Huit tumeurs du sein y sont décrites et les traitements prodigués consistent en une méthode destructive utilisant un instrument chaud.¹ Plus tard, Hippocrate, le père de la médecine nomme cette maladie « *cancer* », qui aujourd'hui est devenu un des problèmes les plus graves de santé publique dans notre société. En effet, chaque année, environ 13 millions de personnes dans le monde entier sont diagnostiqués positifs au cancer et 8 millions meurent de cette maladie selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Les prévisions pour les prochaines décennies sont alarmantes plaçant le cancer comme cause principale de décès dans le monde.^{2,3}

Plusieurs méthodes existent pour lutter contre ce fléau comme par exemple la radiothérapie, efficace pour des tumeurs localisées. En revanche, la chimiothérapie est plus générale mais aussi plus complexe. C'est cette dernière qui intéresse plus particulièrement les chimistes.

La chimiothérapie a débuté peu après la seconde guerre mondiale avec l'utilisation de dérivées de la vitamine B9 comme l'aminoptérine⁴ puis l'améthoptérine (méthotrexate). Toutefois, il faut attendre les années 60 avant d'obtenir la première guérison d'une tumeur solide chez l'homme par l'intermédiaire de ces dérivés chimiques. L'inconvénient majeur était la méconnaissance des mécanismes biologiques associés à l'action des molécules utilisées. Dans les années 70, de nombreuses voies sont explorées comme par exemple l'utilisation de produits naturels extraits d'organismes marins, et de végétaux (alcaloïdes naturels de Vinca par exemple). Dans cette catégorie, le plus célèbre est le paclitaxel (Taxol®) issu de l'écorce de l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia*), agissant comme antimitotique par inhibition de la dépolymérisation des microtubules.⁵ L'apport de la synthèse chimique a permis l'élaboration de molécules dérivées non naturels plus actives comme la Navelbine® en 1978 (Société Pierre Fabre) et le Taxotère® en 1980 (Rhône Poulenc). Cependant, la chimiothérapie a mauvaise réputation à cause des effets secondaires. C'est dans ce contexte qu'est apparu avec succès, le premier composé issu de la chimie de coordination: le cisplatine (diamminodichloroplatine(II) [PtCl₂(NH₃)₂]). Grâce à cette découverte, un ensemble de dérivés organoplatine fut ensuite synthétisés. Au début des années 1990 de

¹ <http://cancer.about.com/od/historyofcancer/a/cancerhistory.htm>.

² <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/world/>.

³ A. Jemal, F. Bray, M. Center, J. Ferlay, E. Ward, D. Forman, *CA Cancer J. Clin.* **2011**, 61, 69–90.

⁴ B. F. Cole et al, *JAMA*, **2007**, 297 (21), 2351-2359.

⁵ S. B. Horwitz, *Ann. Oncol.* **1994**, 5 (6), 3-6.

nouvelles cibles thérapeutiques deviennent l'objectif de la chimiothérapie comme les facteurs de croissance, les molécules du signal, les modulateurs d'apoptose, les promoteurs de l'angiogénèse. Aujourd'hui, les cliniciens cherchent toujours des agents chimiothérapeutiques spécifiques (monothérapie) ou des mélanges d'agents (polythérapie) pour produire l'effet désiré contre les tumeurs.

Les complexes métalliques offrent une voix riche et intéressante combinant ligands et métaux spécifiques avec l'espoir d'obtenir des effets ciblés efficaces.

Notre travail s'inscrit dans cette discipline récente de développement des agents anticancéreux. Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'utilisation des complexes de coordination dans la chimiothérapie a débuté par le cisplatine – un médicament encore utilisé aujourd'hui pour le traitement d'un grand nombre type de cancers en dépit de sa toxicité élevée.⁶ Ses effets secondaires sévères sont largement contrebalancés par son efficacité dans le traitement de certains cancers. La chimie du cisplatine a donné naissance à une série de composés à base de platine, en fournissant des médicaments anticancéreux de plus en plus spécifiques et efficaces: carboplatine, oxaplatine, nedaplatine, heptaplatine, lobaplatine.⁷

La chimie des complexes anticancéreux s'est étendue à d'autres éléments comme: Ru, Os, Ti, Au, Sn, Ga, As, Cu, Zn, Bi, Mo. Parallèlement, le choix du ligand peut s'avérer intéressant comme par exemple les porphyrines avec leurs possibilités d'activation de l'oxygène singlet.^{8,9} Le défi pour la chimie de coordination est de découvrir de nouveaux agents spécifiques chimio-thérapeutiques à base de métaux de transitions. Dans ce contexte, les complexes d'osmium, moins étudiés, ont suscité récemment un grand intérêt comme médicament anticancéreux potentiel. L'un des intérêts pour ces complexes vient de l'affinité de l'osmium pour les ligands à champ fort entraînant une faible labilité et une moins grande réactivité vis à vis de la réaction de substitution de ligand.¹⁰

Ceci est un énorme avantage pour le développement de nouveaux médicaments anticancéreux, parce que d'une part, les complexes synthétisés sont stables et d'autre part, l'effet du ligand peut être contrôlé. Ainsi, les complexes d'osmium et ruthénium peuvent être utilisés dans la chimiothérapie classique et aussi dans la thérapie photo-dynamique.¹¹ Deux complexes de ruthénium « NAMI-A et KP1019 », récemment découverts, ont passé avec

⁶ M. A. Fuertes, C. Alonso, J. M. Perez, *Chemical Reviews* **2003**, 103 (3), 645-662.

⁷ N. J. Wheate, S. Walker, G. E. Craig, R. Oun, *Dalton Trans.* **2010**, 39, 8113–8127.

⁸ Z. Guo, P. J. Sadler, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 1512–1531.

⁹ E. Alessio, *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2011**.

¹⁰ P. C. A. Bruijninx, P. J. Salder, *Advances in Inorg. Chem.* **2009**, 61, 1-62.

¹¹ M. J. Clarke, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 236, 209–233.

succès la première phase clinique en tant qu'agent anticancéreux contre les tumeurs primaires et les métastases,¹² et leurs dérivés d'osmium ont aussi des activités très prometteuses.¹³ Pour enrichir les propriétés de ces composés du point de vue de la chimie et de la biologie, l'accent a été mis sur le développement de composés à base nitrosyle associés à des complexes d'osmium ou de ruthénium.

L'oxyde nitrique (NO) a longtemps été considéré comme un composé très toxique et dangereux ayant une odeur piquante, désagréable. Il est le produit de l'oxydation de l'ammoniac et de la combustion incomplète de l'essence et soupçonné d'être un agent cancérigène, un polluant capable de détruire la couche d'ozone ou un précurseur des pluies acides.

Dans les années 1980, une découverte surprenante révèle que NO est l'un des régulateur physiologique les plus important,¹⁴ jouant un rôle clé dans la transduction du signal et la cytotoxicité. En effet, on supposait auparavant que la seule activité de NO était analogue à CO et CN⁻, formant une liaison pratiquement irréversible avec les centres métalliques agissant ainsi comme un poison, notamment dans les processus respiratoires.¹⁵

Dans l'organisme, NO est produit à partir de la L-arginine par une famille d'oxyde nitrique synthase (NOS enzymes), qui régule la pression artérielle par les cellules endothéliales. Il participe à la défense contre les agents pathogènes et les microorganismes, contrôle la libération de neurotransmetteurs dans les cellules neuronales, s'implique dans la synaptogenèse, la plasticité synaptique, le fonctionnement de la mémoire et à la sécrétion neuroendocrinien. Le plus curieux est qu'aujourd'hui, NO est reconnu pour ses rôles diamétralement opposés: la croissance cellulaire (comme le néogène vasculaire) d'une part et la mort cellulaire (comme l'apoptose ou la mort cellulaire programmée) d'autre part. Le paradoxe de ces dernières études dévoile que l'activité biologique est très liée à sa concentration dans le milieu cellulaire – la croissance contre l'apoptose cellulaire.¹⁶

L'objectif de mon travail de thèse était de synthétiser des complexes d'osmium comme médicaments anticancéreux potentiel, et d'augmenter leur efficacité grâce à l'effet d'apoptose en y additionnant le nitrosyle NO. L'étude s'est concentrée sur le développement

¹² C. G. Hartinger, S. Zorbas-Seifried, M. A. Jakupec, B. Kynast, H. Zorbas, B. K. Keppler, *J. Inorg. Biochem.* **2006**, 100, 891–904.

¹³ (a) G. E. Buchel, I. N. Stepanenko, M. Hejl, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, V. B. Arion, *Inorg. Chem.*, **2011**, 50, 7690–7697. (b) G. E. Buchel, I. N. Stepanenko, M. Hejl, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, P. Heffeter, W. Berger, V. B. Arion, *J. Inor. Biochem.* **2012**, 113, 47–54.

¹⁴ D. E. Koshland, *Science* **1992**, 258, 1861.

¹⁵ J. A. McCleverty, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 403–418.

¹⁶ M. J. Rose, P. K. Mascharak, *Curr. Opin. in Chem. Bio.*, **2008**, 12, 238–244.

des complexes associant Os et NO, et la recherche des conditions nécessaires pour libérer l'oxyde nitrique d'une manière contrôlée pour tuer les cellules tumorales de façon spécifique, soit par un processus redox dans le milieu biologique, soit par photo-activation (Thérapie Photo-dynamique). Les complexes obtenus ont été étudiés et caractérisés par différentes méthodes: diffraction par les rayons X sur monocristal ; spectroscopie IR, Raman et UV-vis ; spectrométrie de masse, Résonance Magnétique Nucléaire RMN ; électrochimie et mesures magnétiques. Les tests anticancéreux *in vitro* ont été réalisés à l'Institut de Chimie Inorganique, Université de Vienne (dans le cadre du projet ANR VILYGRu France – Autriche).

Ce mémoire de doctorat est organisé en cinq chapitres. Le chapitre I présentera une introduction sur les médicaments anticancéreux et les dernières études dans ce domaine. Nous décrirons également les processus d'apoptose induit par NO et par les complexes métalliques nitrosyles avec dans ce dernier cas, leur activité biologique. Le chapitre II sera dédié à la synthèse et la caractérisation physico-chimiques et biologiques des composés d'osmium nitrosyle monosubstitués avec différents ligands azoles. Le chapitre III présente l'étude cinétique par RMN en solution de l'isomérisation $\text{trans} \leftrightarrow \text{cis}$ pour le complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{indazole})]$. Le chapitre IV sera dédié à la synthèse des composés bis-substitués à base d'aminoacides et leur activité biologique comparative grâce à des tests « *in vitro* ». Le chapitre V, est consacré à la synthèse des composés polynucléaires Os-Ln (Ln = lanthanide) reliés par un pont oxalate, offrant des perspectives intéressantes. Nous concluons ensuite en établissant un bilan de tous les résultats obtenus pendant notre travail de thèse et en présentant des perspectives de recherche.

1. Chapitre I: Concepts sur les médicaments anticancéreux et les composés antiprolifératifs

1.1. Introduction: La chimie de coordination – un moyen d’assemblage moléculaire pour l’obtention de complexes avec des propriétés désirés

Au troisième millénaire avant l'ère chrétienne, les égyptiens utilisaient le cuivre pour stériliser l'eau et les remèdes à base de fer ou de zinc faisaient partie de leur pharmacopée; l'or fut également exploité dans les médicaments chinois et arabes. Pendant la Renaissance, on commença à utiliser des sels de mercure comme diurétique et on découvrit le caractère essentiel du fer dans la nutrition. Depuis une centaine d'années, la chimie inorganique a été introduite d'une manière plus rationnelle en pharmacologie : les composés arsénieux ont, au début du siècle passé, fait leurs preuves dans le traitement de la syphilis,^{17,18} tandis que l'on utilisait des cyanures d'or pour combattre la tuberculose ou des composés à base d'antimoine pour traiter les leishmanioses (maladies parasitaires de la peau). En 1929, les médecins français utilisaient des dérivés d'or pour traiter l'arthrite rhumatoïde, une technique toujours largement utilisée à l'heure actuelle.¹⁹

En chimie inorganique, un complexe est défini comme un édifice polyatomique constitué d'un ou de plusieurs cations (d'habitude métallique) entouré de plusieurs ligands (mot d'origine latine «ligare» qui en français signifie «lier») ce terme de ligand est utilisé pour décrire des molécules ou des ions qui délocalisent une partie de leur densité électronique sur le cation, formant ainsi des liaisons chimiques avec celui-ci. Pour la première fois cette notion a été introduite par le père de la chimie de coordination Alfred Werner au fin du XIX siècle pour lequel il a obtenu le Prix Nobel de chimie en 1913.^{20,21}

La découverte en 1938 du [Co(salen)] (salen = N,N'-bis(salicylaldéminato) ethylene) et ces dérivés pouvant fixer O₂ d'une manière réversible en imitant l'hémoglobine, a donné un nouvel élan dans le développement de la chimie de coordination.²² Ainsi, les complexes ont pris une place importante dans notre quotidien et l'on peut citer parmi eux une évolution intéressante avec un vieux colorant (Na₂[Fe(CN)₅NO]·2H₂O), qu'est utilisé aujourd'hui comme vasodilatateur.²³

Aujourd'hui, les composés de coordination font partie de la pharmacopée des

¹⁷ H. C. French, J. E. Lane, *Lancet* **1911**, 178, 326-327.

¹⁸ H. W. Jones, *Boston Med. Surg. J.* **1911**, 164, 381-383.

¹⁹ P. J. Salder, *Advances in Inorg. Chem.* **1991**, 36, 1-48.

²⁰ A. Wener, *Z. Anorg. Chem.* **1893**, 3 (1), 267-330.

²¹ PAC, **1994**, 66 (5), 1077-1184.

²² A. E. Martell, D. T. Sawyer, *Oxygen complexes and oxygen activation by transition metals*, Plenum Press: New York and London, **1988**.

²³ P. G. Wang, T. B. Cai, N. Taniguchi, *Nitric Oxide Donors: For Pharmaceutical and Biological Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2005**.

médicaments anticancéreux. Parmi les plus célèbres, on peut citer le cisplatine et ses dérivés de seconde génération comme le carboplatine, largement utilisé.^{24,25,26} La découverte de la Résonance Magnétique Nucléaire RMN a induit l'application des agents de contrastes à base de complexes de coordination dans l'imagerie médicale. Ainsi, la plupart des agents de contraste contiennent des ions métalliques tels que le gadolinium (III), le manganèse (II) ou le fer (III) caractérisés par un grand nombre d'électrons non appariés et de longs temps de relaxation. On peut citer à titre d'exemple les composés cliniques Gd(dota) (dota = acide 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic) permettant de détecter les anomalies localisées au niveau de la barrière hémato-encéphalique ou le Mn(dpdp)⁴⁻ (dpdp = diphosphate dipyridoxyl) pouvant mettre en évidence certains types de cancer.^{24,27}

L'assemblage des molécules par la chimie de coordination permet de faire de nouveaux composés avec les propriétés désirées. Dans ce contexte, et d'après notre connaissance de la littérature scientifique, il nous a semblé intéressant de synthétiser et d'assembler de nouvelles molécules anticancéreuses à base de complexes d'osmium nitrosyle.

1.2. Médicaments anticancéreux

1.2.1 Concepts généraux sur les composés anticancéreux

Les médicaments anticancéreux en usage ont des mécanismes d'action distincte, dont les effets varient selon les différents types de cellules normales et cancéreuses. L'existence de plus de 200 types différents de cancer connus de nos jours accroît les difficultés thérapeutiques.²⁸ De plus, la plupart des médicaments anticancéreux sont limités par leur toxicité sur les cellules non-pathogènes. Enfin, les cellules cancéreuses peuvent développer, pendant le traitement, une résistance au médicament. Pour minimiser ce phénomène, on a recours à l'utilisation d'une association de médicaments afin d'augmenter l'efficacité du traitement pendant la cure.²⁹

²⁴ N. Farrell, *Uses of Inorganic Chemistry in Medicine*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, **1999**.

²⁵ (a) W. I. Sundquist and S. J. Lippard, *Coord. Chem. Rev.* **1990**, 100, 293-322. (b) C. X. Zhang and S. J. Lippard, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, 7, 481-489.

²⁶ M. D. Hall and T. W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 232, 49-67.

²⁷ Z. Guo, P. J. Sadler, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 1512-1531.

²⁸ <http://www.cancerresearchuk.org>

²⁹ Martindale: *The Complete Drug Reference*, ed. S. C. Sweetman, Pharmaceutical Press, London, 35th edn., **2007**.

Les médicaments de chimiothérapie sont parfois redoutés par les patients à cause des effets secondaires possibles (toxicité) durant la cure. Cependant, leur rôle principal est de ralentir et d'arrêter la croissance et la propagation du cancer. Aujourd'hui, le développement de nouveaux médicaments anticancéreux, a pour cible l'endommagement de l'ADN, l'inhibition de la synthèse de l'ADN ou l'arrêt de la division cellulaire.^{30,31}

Inhibition de la synthèse de l'ADN

La synthèse de l'ADN et de l'ARN s'effectue en plusieurs étapes, où intervient l'acide folique, les bases hétérocycliques et les nucléotides. Les médicaments de cette catégorie fonctionnent comme un agent bloquant certaines étapes comme par exemple, la synthèse de nucléotides ou d'acides désoxyribonucléiques – nécessaire pour la formation de l'ADN et de l'ARN. Lorsque ces étapes sont bloquées, les nucléotides, qui sont les éléments constitutifs de l'ADN et de l'ARN, ne peuvent pas être synthétisés et par conséquent, les cellules ne peuvent pas se répliquer.³² On trouve dans ce groupe de médicaments le méthotrexate (Abitrexate ®), le fluorouracile (Acrucil ®), l'hydroxyurée (Hydrea ®), et le mercaptopurine (Purinethol ®).

Endommagement de l'ADN dans le noyau de la cellule

Ces composées endommagent chimiquement les molécules de l'ADN et de l'ARN. Elles perturbent la répllication de l'ADN ou provoquent la synthèse d'ADN ou d'ARN non fonctionnelles (absence de code).^{33,34} Dans ce groupe de médicaments on trouve: cisplatine (Platinol ®), daunorubicine (Cerubidine ®), la doxorubicine (Adriamycine ®) et l'étoposide (VePesid ®).

Perturbation de la synthèse ou détérioration du fuseau mitotique

Les phases de la mitose entrent dans les processus de la répllication cellulaire. Ces phases sont très importantes pour la division cellulaire, parce qu'elles permettent de répliquer la molécule d'ADN conduisant à la formation de nouvelles cellules. Les agents anticancéreux appartenant à cette catégorie, perturbent la division cellulaire soit par l'inhibition de polymérisation de la tubuline, soit en stabilisant les microtubules, qui finalement arrêtent la division cellulaire.³⁵ Les médicaments de cette classe sont: la vinblastine (Velban ®), vincristine (Oncovin ®) et paclitaxel (Taxol ®).

³⁰ J. Paxton, *Topics on drug metabolism*, Intech, Rijeka, **2012**.

³¹ P. D. King and M. C. Perry, *The Oncologist* **2001**, 6, 162-176.

³² W. B. Parker, *Chem. Rev.* **2009**, 109 (7), 2880-2893.

³³ L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer* **2007**, 7, 573-584.

³⁴ E. Izbicka, A. W. Tolcher, *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2004**, 5 (6), 587-591.

³⁵ A. L. Risinger, F. J. Giles and S. L. Mooberry, *Cancer Treat. Rev.* **2009**, 35(3), 255-261.

1.2.2 Composés anticancéreux organiques et naturels

Méthotrexate (abréviation: MTX; anciennement: améthoptérine) est un agent de la classe des antimétabolites utilisé dans le traitement de certains cancers et dans les maladies auto-immunes. Il inhibe la dihydrofolate réductase, une enzyme essentielle dans la conversion de l'acide folique à l'acide tétrahydrofolique. Ainsi, la synthèse d'ADN ne peut pas continuer sans ces coenzymes et la division cellulaire est arrêtée.^{36,37,38} L'acide folique et la méthotrexate sont illustrés dans la **Figure 1**.

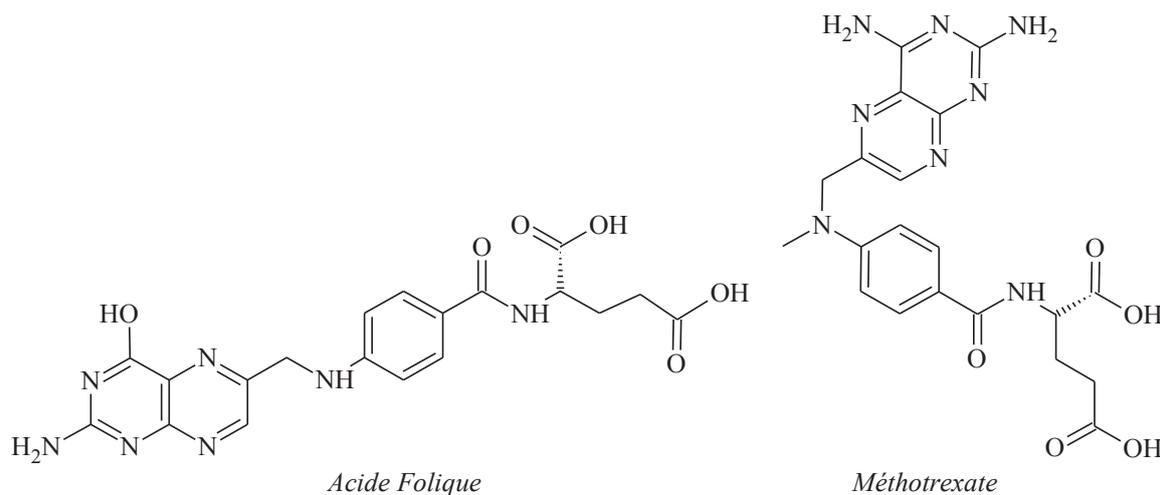


Figure 1. Formules développées de l'acide folique et de la méthotrexate.

Fluorouracile (5-FU) ou 5-fluorouracile est un médicament utilisé dans le traitement de certains cancers. Il appartient à la classe des médicaments antimétabolites, sous-classe des analogues de la pyrimidine. Le métabolisme du 5-FU implique une réduction en 5-FdUMP (5 fluorodéoxyuridine 5'-monophosphate) qui se lie à la thymidylate synthase et bloque la méthylation de l'uracile en thymine (**voir Figure 2**). Finalement, la transcription se fera d'une manière erronée et la réplication d'ADN sera stoppée.³⁹ Deux autres médicaments représentés dans la **Figure 2** sont connus pour avoir un mécanisme semblable: gemcitabine (Gemzar ®)⁴⁰ et arabinosylcytosine (ARAC).⁴¹

³⁶ I. D. Goldman, S. Chattopadhyay, R. Zhao and R. Moran, *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2010**, 11 (12), 1409-1423.

³⁷ E. F. Gale, *Molecular Basis of Antibiotic Action*, John Wiley & Sons Ltd, New York, **1972**.

³⁸ H. Tian, and B. N. Cronstein, *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, **2007**, 65 (3), 168-173.

³⁹ D. B. Longley, D. P. Harkin and P. G. Johnston, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, 3 (5), 330-338.

⁴⁰ N. M. F. S. A. Cerqueira, P. A. Fernandes and M. J. Ramos, *Chem. A. Eur. J.* **2007**, 13, 8507-8515.

⁴¹ A. M. Bergman, C. M. Kuiper, F. Myhren, M. L. Sandvold, H. R. Henriks and G. J. Peters, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2004**, 23 (8-9), 1523-1526.

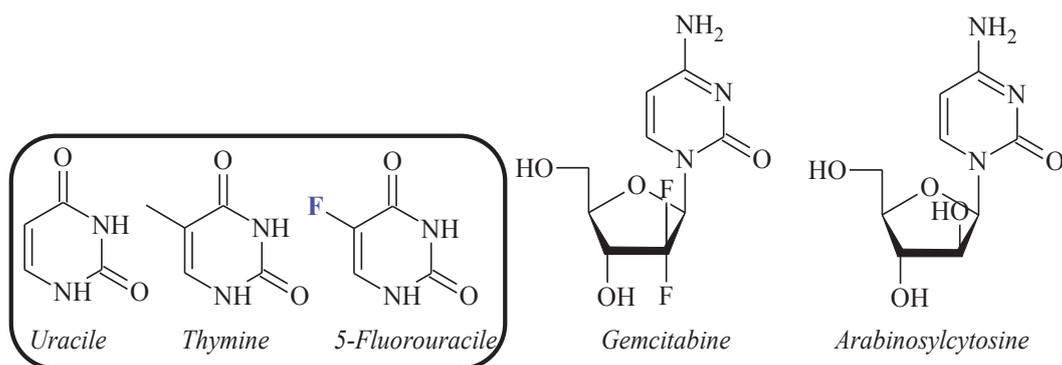


Figure 2. Formules développées d'uracile, thymine, 5-fluoruracile, gemcitabine et arabinosylcytosine.

Hydroxyurée (Figure 3) est un agent basé sur la réduction de la production de déoxyribonucléotides par l'inhibition de la ribonucléotide réductase. Il s'agit de l'enzyme clé de la transformation des ribonucléotides en déoxyribonucléotides essentiels à la synthèse de l'ADN. Enfin, la synthèse de l'ADN est inhibée et/ ou arrêtée.^{42,43}

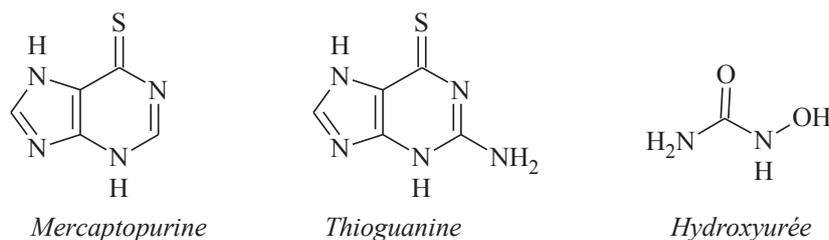


Figure 3. Formules développées de la mercaptopurine, la thioguanine et de l'hydroxyurée.

Mercaptopurine (6-MP) est un anti-métabolite du groupe « purine ». C'est un médicament qui possède des propriétés immunosuppressives et cytostatiques utilisées dans le traitement des leucémies. Il est un analogue chimique de l'adénine, qui inhibe la biosynthèse de leurs nucléotides. Dans le corps, 6-MP est converti dans les ribonucléotides correspondant. 6-MP ribonucléotide est un puissant inhibiteur de conversion de l'acide inosinique en adénine. Sans adénine, l'ADN ne peut pas être synthétisé et la division cellulaire s'arrête.^{44,45} Dans ce groupe purine existe également la thioguanine, qui est un anti-métabolite dans la

⁴² J. W. Yarbro, *Semin. Oncol.* **1992**, 19 (3), 1-10.

⁴³ B. G. Katzung, *Basic and Clinical Pharmacology*, Appleton-Lange, **1998**.

⁴⁴ C. C. Shullenberger, *Cancer Chemother. Rep.* **1962**, 16, 251-252.

⁴⁵ J. S. Salser and M. E. Balis, *Cancer Res.* **1965**, 25, 539-543.

synthèse de guanine nucléotides.⁴⁶ Les formules développées sont décrites dans la **Figure 3**.

Les **agents alkylants** sont une classe de médicaments qui s'impliquent dans des réactions avec la guanine de l'ADN. Ces médicaments participent à la réaction d'alkylation de la position N7 de la guanine de la chaîne de l'ADN. Ainsi le principe de la complémentarité des bases azotées échoue et provoque une erreur de codage de l'ADN. Ces groupes ont aussi la possibilité de former des ponts entre les brins de l'ADN liant des bases azotées de différents brins entre eux. En conséquence, la réticulation de double brin de l'ADN empêche leur séparation pour la transcription et la synthèse d'une nouvelle molécule. Il y a six groupes d'agents alkylants: moutardes azotées; ethylenimes; alkylsulfonates; triazènes; pipérazines et nitrosurées. Dans cette famille de médicament,^{30,43,47} la cyclosporamide représente un exemple classique avec le rôle d'un agent alkylant. Les formules des principaux agents alkylants sont représentées dans la **Figure 4**.

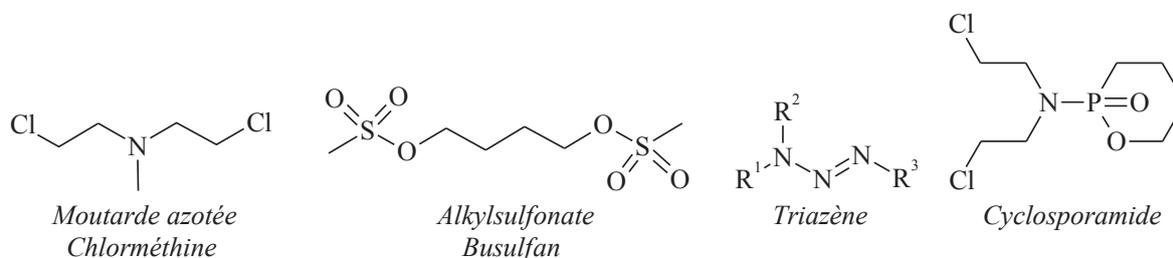


Figure 4. Formules développées de quelques agents alkylants.

Un certain nombre d'**antibiotiques** tels que les anthracyclines, la dactinomycine, la bléomycine, l'adriamycine, mithramycine se lient à l'ADN provoquant son inactivité. Les propriétés principales de ces médicaments sont dans l'interaction avec l'ADN (intercalation et rupture de la chaîne d'ADN, inhibition de l'enzyme topoisomérase II). La plupart de ces composés sont d'origine naturelle. Leur défaut est leur manque de sélectivité conduisant à une toxicité significative.

Les **anthracyclines** sont des médicaments anti-tumoraux très utilisés. La doxorubicine est largement employée pour le traitement de certaines tumeurs solides tandis que la daunorubicine et l'idarubicine traite exclusivement la leucémie.⁴⁸ Les formules développées des anthracyclines les plus connues sont illustrées dans la **Figure 5**.

⁴⁶ J. A. Nelson, J. W. Carpenter, L. M. Rose et al., *Cancer Res.* **1975**, 35, 2872-2878.

⁴⁷ E. F. Gale, *Molecular Basis of Antibiotic Action*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, London/NewYork, **1981**.

⁴⁸ H. Cortes-Funes and C. Coronado, *Cardiovasc Toxicol*, **2007**, 7 (2), 56-60.

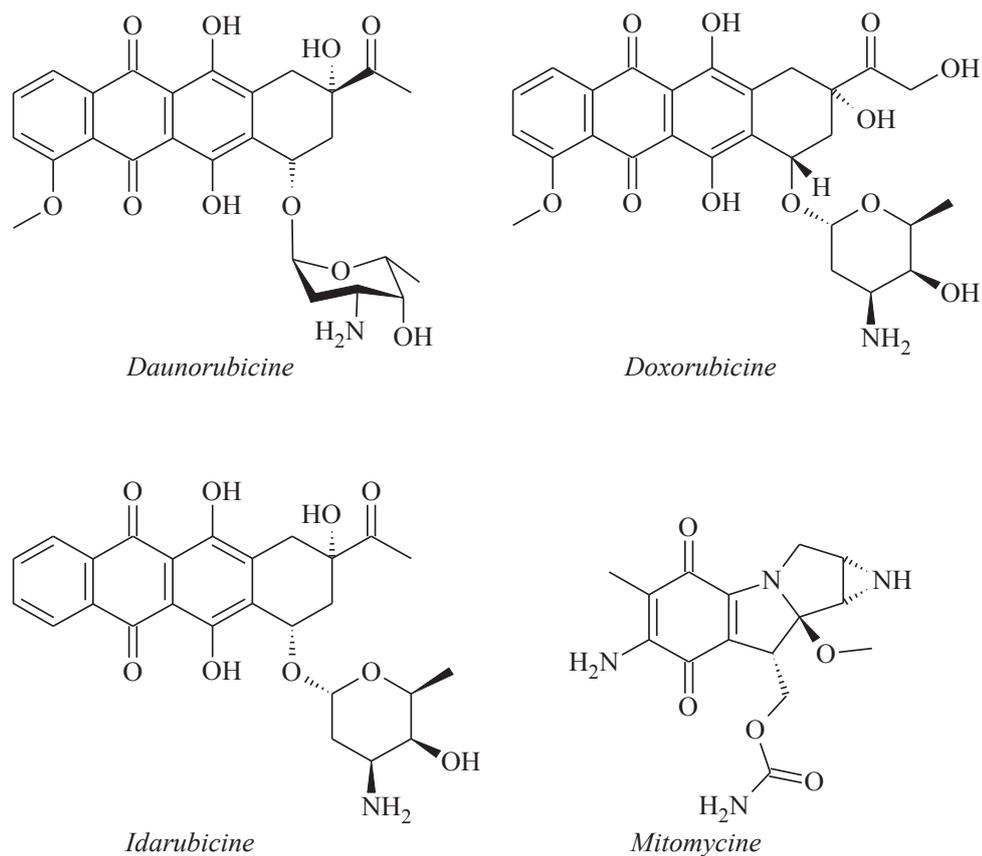


Figure 5. Exemple de formules développées des anthracyclines

Un autre groupe de médicaments naturels connus depuis longtemps comme agents empêchant la division cellulaire ou la mitose en perturbant la phase mitotique, sont les **vinca-alcaloïdes** (alcaloïdes végétaux), où le plus connu est la vincristine (**Figure 6**). Les chercheurs ont appelé ces composés « **perturbateur mitotiques** » à cause de leur mode d'action. Au cours de la métaphase (une phase de la mitose), les chromosomes multipliés sont tirés sur les deux pôles mitotiques par les broches de microtubules. Les microtubules sont des fibres constitutives d'une protéine qui s'appelle «tubuline». La vincristine réagit avec la tubuline et provoque l'inhibition de l'assemblage structurelle des broches de microtubule. La perturbation des microtubules arrête la mitose et aussi la division cellulaire. La vincristine affecte tous les types de cellules qui se divisent rapidement : cellules cancéreuses, de l'épithélium intestinal et de la moelle osseuse.^{49,50}

Le paclitaxel ou Taxol (**Figure 6**) et son analogue semi-synthétique plus puissant, le docétaxel, sont des médicaments anticancéreux qui perturbent l'équilibre de la tubuline libre

⁴⁹ M. A. Jordan and L. Wilson, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, 4 (4), 253-265.

⁵⁰ D. A. Kamofsky, *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **1968**, 18 (4), 232-234.

et des microtubules lors de l'assemblage. En conséquence, le médicament provoque la formation de microtubules anormaux. L'effet final est toujours l'interruption de la mitose.⁵¹

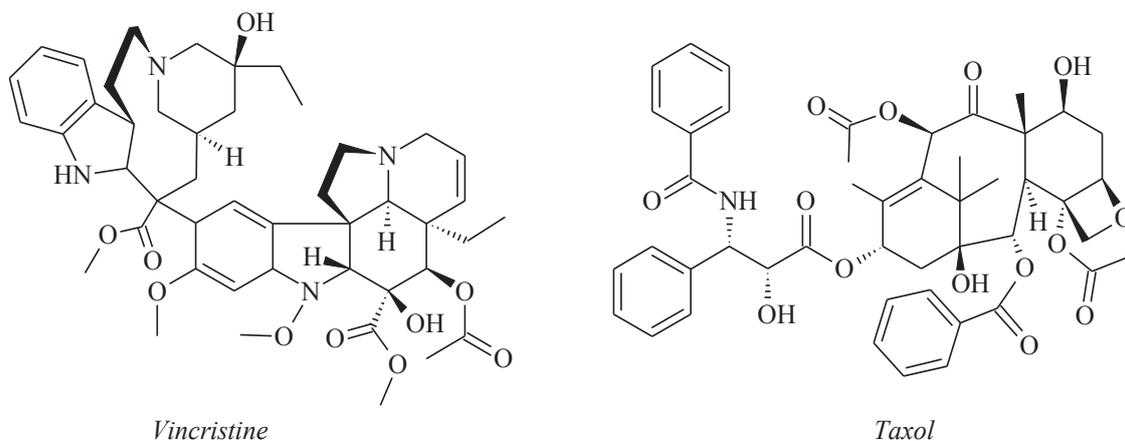


Figure 6. Formules développées de la vincristine et du taxol.

Dans cette précédente description, on constate que chaque composé a sa contribution propre, avec différents modes d'action. Pour chaque médicament, ces mécanismes d'action intervenant dans le cycle de la division cellulaire, sont fournis dans la **Figure 7**.⁵²

⁵¹ K. E. Gascoigne and S. S. Taylor, *J. Cell Sci.* **2009**, 122 (15), 2579-2585.

⁵² C. E. Ophardt, Virtual Chembook, Elmhurst College, **2003**: <http://www.elmhurst.edu>.

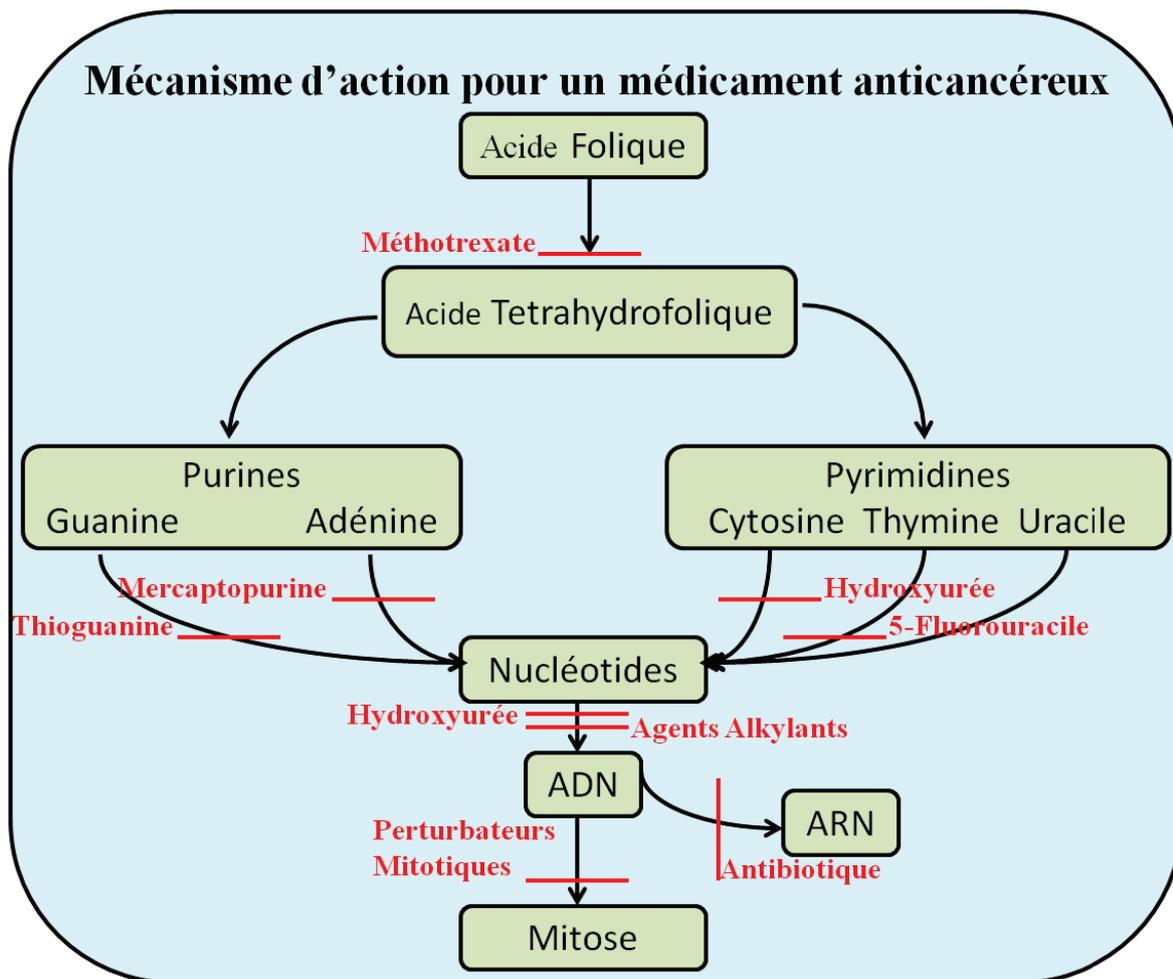


Figure 7. Mécanismes d'action des agents anticancéreux.

1.2.3 Composés antitumoraux à base de complexes de Platine

C'est le chimiste Italien Michele Peyrone, qui a le premier synthétisé le cisplatine en 1845, qui est aujourd'hui à la base de plus grande famille de médicaments anticancéreux.⁵³ Depuis ce temps, le cisplatine ($[\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$) était connu sous le nom de « sel de Peyrone », dont la première structure a été proposée par Alfred Werner en 1893.⁵⁴ C'est uniquement en 1965, que Barnett Rosenberg et ses collaborateurs de l'Université d'Etat du Michigan, ont découvert que l'électrolyse d'une solution de chlorure d'ammonium avec une électrode de platine, génère le complexe soluble cisplatine qui inhibe la bactérie *Escherichia coli*. Il a aussi été montré que son activité cytostatique est nettement supérieure à son isomère transplatine.⁵⁵ Son action sur des tumeurs se sont avérées également positive. Le 19 décembre

⁵³ G. B. Kauffman, *Platinum Metals Rev.* **2010**, 54(4), 250-256.

⁵⁴ M. Peyrone, *Ann. Chem. Pharm.* **1844**, 51 (1), 1-29.

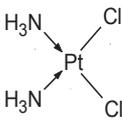
⁵⁵ B. Rosenberg, L. VanCamp and T. Krigas, *Nature* **1965**, 205, 698-699.

1978, le cisplatine est approuvé par l’U.S. Food and Drug Administration, comme médicament contre le cancer du testicule et de l’ovaire.⁵⁶

Parmi les 78 traitements contre le cancer, 38 utilisent le cisplatine, en combinaison ou non, avec d’autres médicaments.²⁹ Le complexe se lie sélectivement sur l’azote N7 de la guanine et rarement sur l’adénine, qui induit une variation de la conformation locale du double brin d’ADN. Cette déformation de l’ADN inhibe la réplication et la transcription, qui finalement conduit à l’apoptose cellulaire.^{57,58} L’utilisation excessive du cisplatine est limitée par les effets secondaires. Ainsi, la toxicité et la résistance cellulaire au cisplatine ont conduit à l’élaboration de nouveaux dérivés anticancéreux à base de platine décrits dans le **Tableau 1**.

Depuis les premiers traitements à base de cisplatine, 23 dérivés du platine ont atteints les essais cliniques et seulement deux ont obtenu une approbation mondiale, les autres étant approuvés seulement dans certains pays (**voir Tableau 1**). Néanmoins, la recherche de nouveaux composés anticancéreux à base de platine se n’arrêtent pas ici, mais continue avec différentes stratégies en modifiant le ligand, la charge du métal, en utilisant les mélanges des médicaments, en appliquant des ligands photo-inductifs et également les études se propagent sur les autres métaux. Les métaux plus prometteurs semblent être les complexes à base de ruthénium et d’osmium.

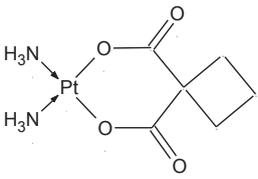
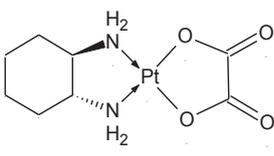
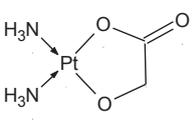
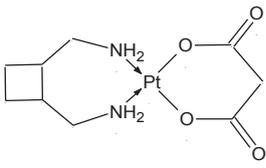
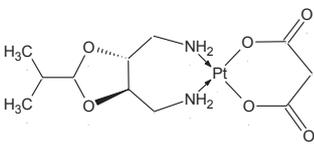
Tableau 1. Médicaments anticancéreux à base de platine qui se trouve sur le marché.⁷

Composé, structure	Le nom du médicament	Toxicité	Pays
<p><i>Cisplatine</i></p> 	Platinol®, Platidiam, Platinex®, Platistin, Platosin, Cisplatyl, Platiblastin®, Briplatin, Abiplatin®, Lederplatin, Neoplatin, Platibastin, Peyrone’s chloride	Néphrotoxicité	Global

⁵⁶ FDA Oncology Tools, U.S. Food and Drug Administration, *Center for Drug Evaluation and Research*, **1978**, 12-19.

⁵⁷ L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer* **2007**, 7, 573-584.

⁵⁸ E. G. Chapman and V. J. DeRose, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 1946–1952.

<p><i>Carboplatine</i></p> 	<p>Paraplatin®, Paraplatine, JM 8, Cycloplatin, Carbosin, CBDCA, Carbomedac®, Ribocarbo</p>	<p>Myélo-suppression</p>	<p>Global</p>
<p><i>Oxaliplatine</i></p> 	<p>Eloxatin®, Dacplat®, Dacotin®, Elplat®</p>	<p>Neurotoxicité</p>	<p>Global</p>
<p><i>Nedplatine</i></p> 	<p>Aquapla®, 254-S, NSC375101D</p>	<p>Myélo-suppression</p>	<p>Japon</p>
<p><i>Lobaplatine</i></p> 		<p>Thrombo-cytopénie</p>	<p>Chine</p>
<p><i>Heptaplatine</i></p> 	<p>Sunpla, SKI 2053R, Eptaplatin, NCS-644591, NCS-D-644591</p>	<p>Néphrotoxicité/ Saignement intra-abdominal</p>	<p>Corée</p>

1.2.4 Composés anticancéreux à base de complexes sans Platine, état de l'art et perspectives

On a décrit les avantages et les inconvénients des dérivés du platine. Les principales limites de ces médicaments sont: la gamme étroite de l'activité, la toxicité, la résistance intrinsèque. Parmi les complexes métalliques étudiés pour leur activité antiproliférative, les résultats les plus prometteurs ont été observés pour les composés du titane, gallium, fer, osmium, germanium, arsénique, lanthanides et tout particulièrement le ruthénium.

Parmi les premiers agents anticancéreux à base de métal non platiné, le complexe de titane nommé « budotitane » ou cis-diethoxybis(1-phenylbutane-1,3-dionato-

k^2O^1,O^2)titane(IV) a été étudié cliniquement dès 1986.⁵⁹ « Budotitane » était obtenu sous forme d'un mélange d'isomères. Malheureusement, devant les difficultés à caractériser avec précision ce composé, les essais cliniques ont été arrêtés. Un autre composé de titane, le titanocène, a été le premier composé organométallique étudié cliniquement comme agent anticancéreux.⁶⁰ Pendant la phase II des essais cliniques, il n'a présenté aucun avantage par rapport aux autres traitements existants : finalement il a été abandonné.⁶¹ Sur des métallocènes et en particulier, sur la famille des ferrocènes, les meilleurs résultats ont été observés sur les ferrocifens⁶². Malheureusement, ils présentent une très forte toxicité induite par l'activité redox du ferrocène sur les récepteurs de l'œstrogène. Pour les composés similaires de ruthénium, on a observé un phénomène opposé – activité antiœstrogène.^{62,63} Les formules des complexes du titane et du fer sont illustrés dans la **Figure 8**.

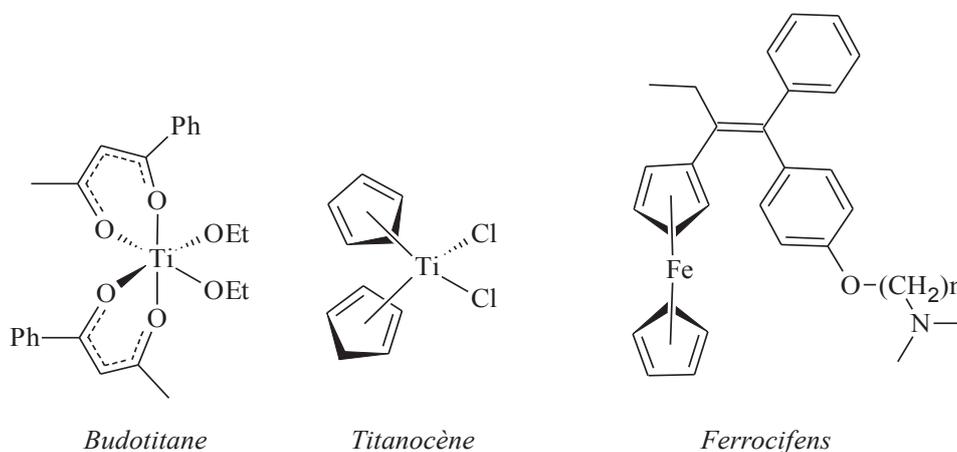


Figure 8. Formules développées du budotinane, titanocène et ferrocifens.

Le gallium est aussi étudié comme un agent antiprolifératif. En effet, ce métal est doté de propriétés biologiques potentiellement utiles pour des applications thérapeutiques, comme par exemple, l'inhibition de la résorption osseuse et principalement l'anti-prolifération cellulaire.^{64,65,66} L'activité anticancéreuse des composés du gallium semble être liée à la similitude avec le fer due : à la charge, à la taille de l'ion (Fe^{3+} 0,65Å; Ga^{3+} 0,62Å) et à

⁵⁹ M. E. Heim, H. Flechtner and B. K. Keppler, *Prog. Clin. Biochem. Med.*, **1989**, 10, 217-223.

⁶⁰ P. Kopf-Maier, *Anticancer Res.*, **1999**, 19, 493-504.

⁶¹ P. M. Abeysinghe and M. M. Harding, *Dalton Trans.*, **2007**, 3474-3482.

⁶² A. Nguyen, A. Vessieres, E. A. Hillard, S. Top, P. Pigeon and G. Jaouen, *Chimia*, **2007**, 61, 716-724.

⁶³ E. A. Hillard, P. Pigeon, A. Vessieres, C. Amatore and G. Jaouen, *Dalton Trans.*, **2007**, 5073-5081.

⁶⁴ L. R. Bernstein, *Pharmacol. Rev.*, **1998**, 50, 665-682.

⁶⁵ P. Collery, B. Keppler, C. Madoulet and B. Desoize, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2002**, 42, 283-296.

⁶⁶ C. R. Chitambar, *Curr. Opin. Oncol.*, **2004**, 16, 547-552.

l'acidité de Lewis.^{67,68} En outre, Ga^{3+} entre en concurrence avec Fe^{3+} pour les mêmes sites actifs avec les enzymes telle que ribonucléotide réductase. En conséquence, l'inhibition de ribonucléotide réductase affecte la synthèse de l'ADN, qui ensuite provoque l'apoptose cellulaire. L'application de Ga(III) dépend fortement de son environnement (ligands), dont le principal rôle est de contrôler et/ou de stabiliser l'hydrolyse du complexe dans lequel il est impliqué. Les premiers essais cliniques ont été réalisés sur le tris(maltolato)gallium(III) avec trois ligands bidentés [O,O] (**Figure 9**),⁶⁹ Ainsi, le dérivé tris(8-quinolinolato)gallium(III) (**Figure 9**), montre des résultats prometteurs sur le cancer du rein, mais également *in vitro* sur le mélanome.^{70,71}

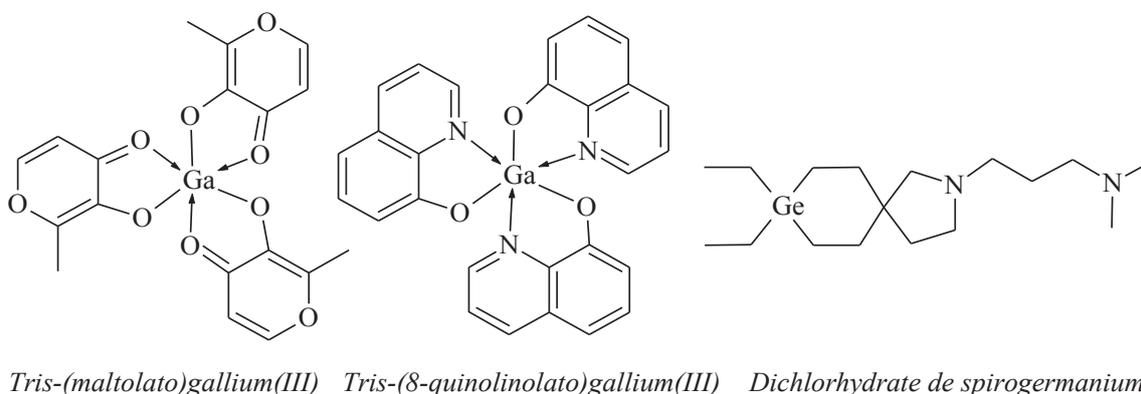


Figure 9. Formules développées des complexes anticancéreux du Ga et du Ge.

Pour les dérivés du Germanium, le N-(3-diméthylaminopropyl)-2-aza-8,8-diéthyl-8-germaspiro-4,5-décane ou le dichlorhydrate de spirogermanium a démontré sa bonne activité sur l'inhibition de l'ADN, l'ARN, la synthèse des protéines et également sur la cytotoxicité dans les différentes cultures cellulaires.⁷² En seconde phase clinique, ce composé donne des réponses positives sur le lymphome et le cancer ovarien, du sein et aussi de la prostate.⁷³ Une autre molécule issue de la médecine traditionnelle chinoise est le trioxyde d'arsenic (As_2O_3).

⁶⁷ K. D. Weaver, J. J. Heymann, A. Mehta, P. L. Roulhac, D. S. Anderson, A. J. Nowalk, P. Adhikari, T. A. Mietzner, M. C. Fitzgerald and A. L. Crumbliss, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2008**, 13,887–898.

⁶⁸ D. J. Gray, R. Burns, P. Brunswick, J. Le Huray, W. Chan, M. Mast, K. Allamneni and S. Sreedharan, *Spec. Publ. R. Soc. Chem.*, **2005**, 301, 43–58.

⁶⁹ C. R. Chitambar, D. P. Purpi, J. Woodliff, M. Yang and J. P. Wereley, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2007**, 322, 1228-1236.

⁷⁰ S. M. Valiahdi, P. Heffeter, M. A. Jakupec, R. Marculescu, W. Berger, K. Rappersberger and B. K. Keppler, *Melanoma Res.*, **2009**, 19 (5), 283–293.

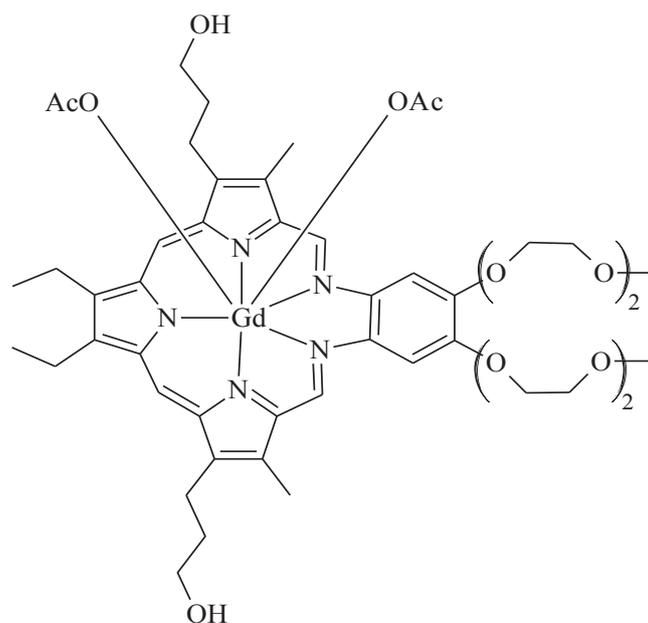
⁷¹ R. D. Hofheinz, C. Dittrich, M. A. Jakupec, A. Drescher, U. Jaehde, M. Gneist, N. Graf von Keyserlingk, B. K. Keppler and A. Hochhaus, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **2005**, 43, 590–591.

⁷² (a) M. Slavik, O. Blanc and J. Davis, *Invest. New Drugs*, **1983**, 1, 225–234. (b) M. Slavik, L. Elias, J. Mrema and J. H. Saiers, *Drugs Exp. Clin. Res.*, **1982**, 8, 379–385.

⁷³ B. K. Keppler, *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*, **1993**, VCH, Weinheim and New York, 429.

Un mélange d'As₂O₃ et de bicarbonate de potassium forme l'arsénite de potassium nommé «solution Fowler», médicament utilisé pour le traitement de la maladie Hodgkin et la leucémie. Il a été abandonné au début du XX^{ème} siècle du fait de sa grande toxicité.⁷⁴

Au fil du temps, plusieurs composés de lanthanides (Ln) ont été testés pour le traitement du cancer et d'antiémétique grâce à de bonnes propriétés pharmacologiques.⁷⁵ En particulier, le complexe de Gd-texaphyrine (**Figure 10**) est aujourd'hui dans une étape avancée du développement clinique pour le traitement du cancer du poumon.⁷⁶



Gd - texaphyrine

Figure 10. Schéma du Gd-texaphyrine.

Le mode d'action des lanthanides est lié à leur similitude avec les ions calcium. Les ions Ln³⁺ présentent une réactivité plus élevée que Ca²⁺ pour les sites actifs dans les biomolécules grâce à leur taille similaire ionique et une charge plus élevée. Les composés de Ln sont capable d'inhiber le flux de Ca²⁺ nécessaire pour la régulation de cycle cellulaire et aussi de substituer les ions Ca²⁺, Mg²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺ dans des protéines, inhibant leur fonctions.^{77,78,79} Le complexe de La³⁺ (tris (1,10-phénanthroline) tri (thiocyanato-kN) de

⁷⁴ Z. Y. Wang, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2001**, 48, S72–S76.

⁷⁵ M. A. Jakupec, P. Unfried and B. K. Keppler, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **2005**, 153, 101–111.

⁷⁶ S. P. Fricker, *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, 35, 524–533.

⁷⁷ E. Frieden, *Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements*, **1984**, Plenum Press, New York and London, 426.

⁷⁸ L. J. Anghileri, *Eur. J. Cancer*, **1979**, 15, 1459-1462.

⁷⁹ T. Sato, M. Hashizume, Y. Hotta and Y. Okahata, *BioMetals*, **1998**, 11, 107–112.

lanthane (III)) possède « *in vitro* » une activité significative pour une large gamme de cellules tumorales et « *in vivo* » pour le cancer du côlon, dont l'activité antiproliférative est comparable au cisplatine et au methotrexate.⁸⁰ De plus, des études ont montré que les cellules cancéreuses ne développent pas de résistance à cet agent. Cette molécule pourrait être intéressante dans le traitement de tumeurs multi-résistantes.⁸¹

Dans l'élaboration de nouveaux complexes antiprolifératifs, la chimie du cisplatine a des similitudes à celle du complexe du ruthénium. Parmi les complexes métalliques anticancéreux étudiés, ceux de ruthénium occupent une position prédominante.^{82,83,84}

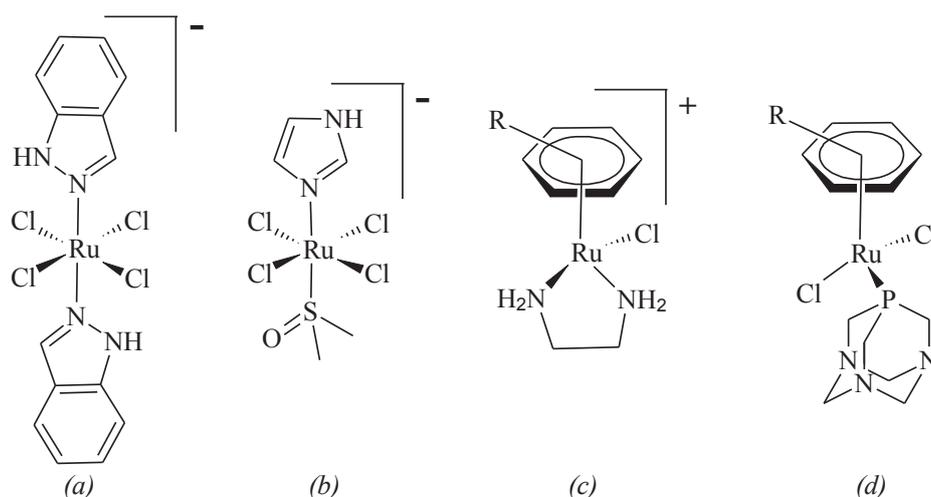


Figure 11. Structures schématiques pour : (a) KP 1019 – Keppler, (b) NAMI-A – « Mestroni – Alessio », (c) $[\text{Ru}(\eta^6\text{-biphenyl})(\text{en})\text{Cl}]^+$ – Sadler, (d) RAPTA-C – Dyson.

Presque tous les composés antiprolifératifs du ruthénium peuvent être classés dans trois grands groupes: complexes Ru-DMSO, complexes Ru(III) de type «Keppler» et les composés organométalliques de type Ru(II)-arène.⁹ Quelques exemples de complexes connus

⁸⁰ P. Heffeter, M. A. Jakupec, W. Koerner, S. Wild, N. G. Von Keyserlingk, L. Elbling, H. Zorbas, A. Korynevska, S. Knasmueller, H. Sutterluety, M. Micksche, B. K. Keppler and W. Berger, *Biochem. Pharmacol.*, **2006**, 71, 426-440.

⁸¹ P. Heffeter, M. A. Jakupec, W. Koerner, P. Chiba, C. Pirker, R. Dornetshuber, L. Elbling, H. Sutterluety, M. Micksche, B. K. Keppler and W. Berger, *Biochem. Pharmacol.*, **2007**, 73, 1873-1886.

⁸² (a) M. J. Clarke, F. Zhu and D. R. Frasca, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2511-2533. (b) M. J. Clarke, *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, 236, 209-233.

⁸² W. H. Ang and P. J. Dyson, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2006**, 4003-4018.

⁸² A. Levina, A. Mitra and P. A. Lay, *Metallomics*, **2009**, 1 (6), 458-470.

⁸² T. Gianferrara, I. Bratsos and E. Alessio, *Dalton Trans.*, **2009**, 7588-7598.

⁸³ W. H. Ang and P. J. Dyson, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2006**, 4003-4018.

⁸⁴ A. Levina, A. Mitra and P. A. Lay, *Metallomics*, **2009**, 1 (6), 458-470.

pour leur activité sont illustrés dans la **Figure 11**.

Les complexes de Ru montrent certaines similitudes avec les médicaments du Pt et ils sont considérés comme agents d'hydrolyse (substitution des ligands par l'eau), qui éventuellement participent aux réactions redox et aussi à la coordination directe sur la molécule d'ADN.⁸⁵ Leur mécanisme d'action est inconnu, mais nous pouvons suggérer la même cinétique d'échange de ligand qui se produit avec le Pt.⁸⁶ La chimie du ruthénium comme agent anticancéreux semble prometteuse.

1.3. Oxyde nitrique (NO) : agent ou cofacteur actif dans le traitement de cancer

1.3.1 Généralités sur NO

Historiquement l'oxyde nitrique (II) (NO) était considéré comme un gaz très toxique qui détruit la couche d'ozone et provoque les pluies acides. En revanche, la chimie du monoxyde d'azote (NO) a toujours suscité un grand intérêt chez les chimistes inorganiciens.^{87,88,89} La découverte en 1980 de son importance dans la régulation physiologique du fait de son rôle clé dans la transduction du signal et dans la cytotoxicité¹⁴ leur a ouvert de nouvelles perspectives. Après cette découverte fascinante, les travaux sur NO ont pris une importance supplémentaire dans les sciences médicales et biologiques,^{90,91,92} mais aussi dans la chimie de coordination de nitrosyle.^{93,94,95} La libération contrôlée et l'absorption du radical NO· libre dans de nombreux processus physiologiques impliquent l'interaction de NO avec des complexes métalliques comme par exemple les cofacteurs de type *hème*.^{96,97} En plus, de leurs propriétés biologiques et de leur potentiel pharmaceutique,

⁸⁵ T. Gianferrara, I. Bratsos, E. Alessio, *Dalton Trans.*, **2009**, 7588–7598.

⁸⁶ J. Reedijk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2003**, 100, 3611–3616.

⁸⁷ F. Murad, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 1856-1868.

⁸⁸ R. F. Furchgott, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 1871-1880.

⁸⁹ I. J. Ignarro, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 1882-1892.

⁹⁰ L. J. Ignarro, R. E. Byrns, K. S. Wood, *Circulation*, **1986**, 74, 287-287.

⁹¹ M. J. Rose, P. K. Mascharak, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, 12, 238-244.

⁹² E. Tfouni, D. R. Truzzi, A. Tavares, A. J. Gomes, L. E. Figueiredo, D. W. Franco, *Nitric Oxide-Biology and Chemistry*, **2012**, 26, 38-53.

⁹³ G. B. Richter-Addo, *Metal Nitrosyls*, , Oxford University Press, Oxford, **1992**.

⁹⁴ T. W. Hayton, P. Legzdins, W. B. Sharp, *Chemical Reviews* **2002**, 102, 935-991.

⁹⁵ L. M. Baraldo, P. Forlano, A. R. Parise, L. D. Slep, J. A. Olabe, *Coordination Chemistry Reviews*, **2001**, 219, 881-921.

⁹⁶ B. A. Averill, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 2951-2964.

⁹⁷ S. Pfeiffer, B. Mayer, B. Hemmens, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 1714-1731.

les propriétés catalytiques et photochimique⁹⁸ des complexes de nitrosyle^{99,100} restent toujours d'actualité. Avant de comprendre le rôle essentiel de la molécule de NO dans des processus physiologiques, il faut qu'on s'intéresse à sa configuration électronique. La **Figure 12** montre le diagramme des Orbitales Moléculaires OM selon le modèle LCAO (Linear Combination Atomic Orbitals).

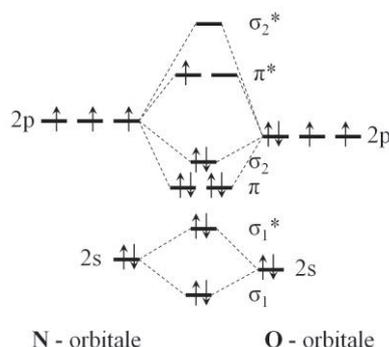


Figure 12. Diagramme LCAO des orbitales moléculaires (OM) du NO.

Dans ce diagramme, on observe que l'oxyde nitrique est un radical libre stable, dont l'électron célibataire est situé sur le niveau π^* (**Figure 12**). Cette configuration électronique explique la grande réactivité de l'entité NO, sa facilité à être oxydé en ion nitrosonium (NO^+), la possibilité moindre de sa réduction à ion nitroxyde (NO^-), sa réactivité avec le dioxygène et les dihalogénures (X_2) pour former respectivement NO_2 et XNO . Un résumé de ces propriétés est représenté dans la **Figure 13**.^{101,102}

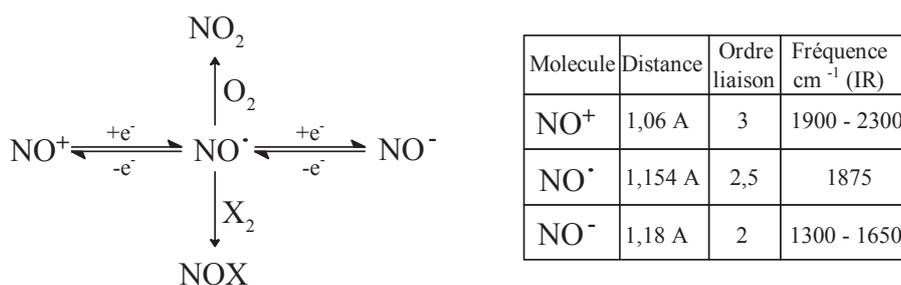


Figure 13. Résumé des propriétés chimiques et spectrales du NO.

Le radical NO^\bullet est isoélectronique avec la molécule mono-cationique de dioxygène

⁹⁸ P. Coppens, I. Novozhilova, A. Kovalevsky, *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 861-883.

⁹⁹ E. A. Zuech, W. B. Hughes, D. H. Kubicek, E. Kittlema, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 528-531.

¹⁰⁰ S. T. Wilson, J. A. Osborn, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 3068-3070.

¹⁰¹ C. K. Jorgensen, *Oxidation Numbers and Oxidation States*, Springer Publishing, Berlin, **1969**.

¹⁰² M. D. Ward, J. A. McCleverty, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **2002**, 275.

(O₂⁺), tandis que NO⁺ l'est avec CO et CN⁻. En revanche, l'anion NO⁻ et O₂ sont isoélectroniques avec un triplet à état fondamental. Cette dernière relation entre les molécules donne un intérêt spécial dans l'étude de certains types de complexes de nitrosyle, qui possède une structure électronique analogue à l'activateur biologique dioxygène.¹⁵ Selon le diagramme des OM, l'indice de liaison de NO[•] est de l'ordre de 2,5 et sa longueur est de 1.154 Å – située entre la liaison double pour NO⁻ (1,18 Å) et la liaison triple NO⁺ (1,06 Å). Ces changements des longueurs de liaison, se reflètent dans la spectroscopie Infrarouge IR. Pour ces espèces diatomiques, les fréquences de vibration «NO» diminue avec l'augmentation de la charge: de 2377 cm⁻¹ pour NO⁺, 1875 cm⁻¹ pour NO[•] et 1470 cm⁻¹ pour NO⁻.¹⁰³ Des études par Résonance Paramagnétique Electronique RPE indiquent que près de 60 % de la densité de spin du radical NO[•] est concentrée sur l'atome d'azote.¹⁰⁴

1.3.2 NO dans la chimie de coordination

Il est admis que NO est un analogue du carbonyle CO se liant au centre métallique. Généralement, la coordination de NO avec des métaux de transitions se fait par l'atome d'azote: M–N–O. Les angles de liaison M–N–O sont essentiellement linéaires ou coudés jusqu'à 120°. Il est aussi possible que deux groupes de NO se coordinent sur l'ion métallique. En revanche, peu d'exemples de NO impliqués dans des doubles ou des triples pontages sont rencontrés dans la chimie organométallique.¹⁵

Selon la théorie des OM, la liaison Métal-NO comprend deux éléments: la donation de la densité électronique du NO au métal en impliquant l'orbitale σ de l'atome d'azote (σ_2 dans la **Figure 12**) et la retro-donation, «*back-donation*», du métal par l'orbitale d_π à l'orbitale π^* du NO.¹⁰⁵ L'interaction $d_\pi - \pi^*$ est montré dans la **Figure 14**.

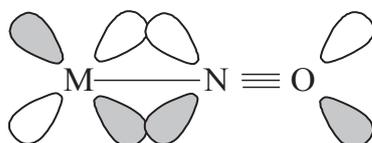


Figure 14. OM impliquant l'interaction $d_\pi - \pi^*$.

La description de cette liaison ressemble beaucoup à celle de CO avec les métaux, mais NO est plus électro-négatif que CO : l'effet attracteur d'électrons est plus important pour

¹⁰³ D. Teillet-Billy, F. Fiquet-Fayard, *J. Phys.* **1977**, 10B, L111.

¹⁰⁴ M. W. Wong, R. H. Nobes, W. J. Bouma, L. Radom, *Chem. Phys.*, **1989**, 91, 2971-2979.

¹⁰⁵ D. M. P. Mingos, *Inorg. Chem.*, **1973**, 12, 1209-1211.

NO que pour CO. Par ailleurs, au sein du groupe M–N–O, la liaison métal – azote est généralement forte, tandis que la liaison N–O est relative faible par rapport à CO où le phénomène est inversé. Devant la difficulté à attribuer un état d'oxydation au métal et à NO dans les complexes de nitrosyle, Enemark et Feltham ont proposé un formalisme afin de décrire les composés de nitrosyle en considérant le couple métal-nitrosyle comme une seule entité.¹⁰⁶ Cela a été représenté comme $\{M(NO)_x\}^n$, où n est le nombre total d'électrons des orbitales atomiques d du métal et les électrons π^* du NO. Malgré cette interprétation, il reste toujours essentiel de tenir compte de la distribution des charges entre le centre métallique et NO. En réalité, le système « $\{MNO\}^n$ moiety» est plutôt délocalisé et les structures limites ($\{M^{z-1} - (NO^+)\}$, $\{M^z - (NO\cdot)\}$, $\{M^{z+1} - (NO^-)\}$) sont fréquemment utilisés pour décrire la structure électronique et également pour l'interprétation des propriétés électroniques et magnétiques, en fonction de différents états d'oxydation du NO.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'entité de M–N–O peut adopter une géométrie linéaire ou coudé. Les calculs théoriques montrent que l'écart à la linéarité est lié à la forme particulière de la structure et aux niveaux d'énergie des orbitales (**Figure 15**).¹⁰⁷

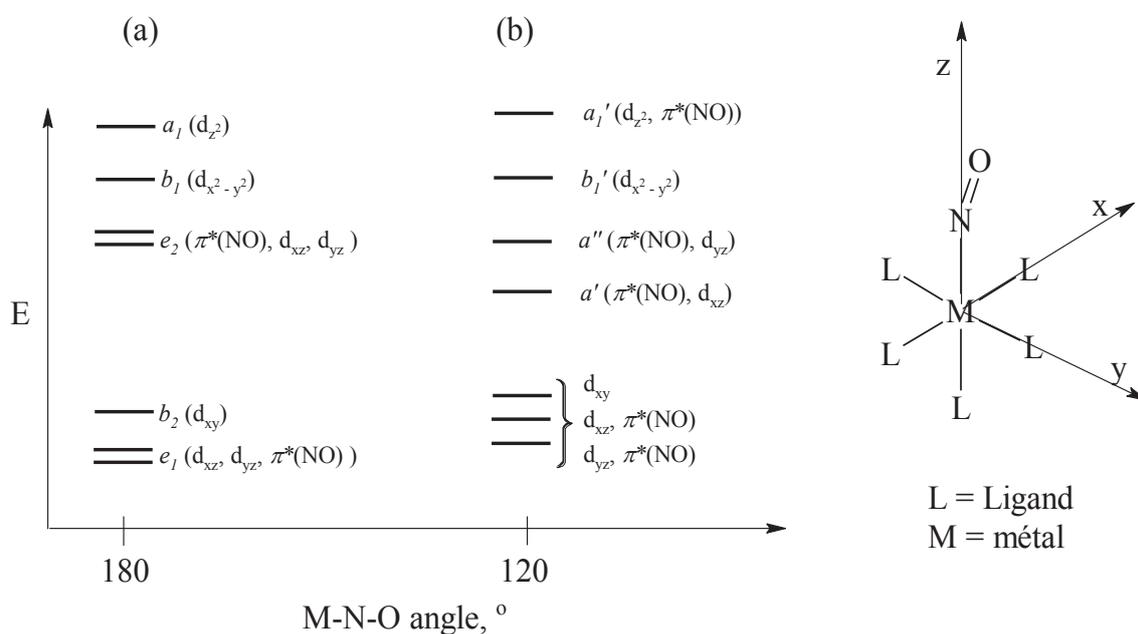


Figure 15. Arrangement des OM du système hexa-coordinné $\{MNO\}^6$, où M–N–O: (a) 180° et (b) 120° .

Selon la **Figure 15**, les orbitales $d_x^2-y^2$ et d_z^2 du métal réagissent avec l'orbitale σ du

¹⁰⁶ J. H. Enemark, R. D. Feltham, *Coord. Chem. Rev.*, **1974**, *13*, 339-406.

ligand (y compris le NO) et les orbitales d_{xz} et d_{yz} réagissent avec les orbitales $\pi^*(NO)$, mais l'orbitale d_{xy} est relativement perturbée dans cet arrangement. Pour les composés $\{MNO\}^6$, la configuration électronique sera $(e_1)^4(b_2)^2(e_2)^0$ ou $(a')^0(a'')^0$ et dans ce cas la déviation de l'angle M–N–O est moindre, parce que les électrons occupent les orbitales de liaison. Par contre pour les composés $\{MNO\}^7$, ayant la configuration $(a')^1(a'')^0$, la grande distorsion de l'angle M–N–O est provoqué par le changement de symétrie de molécule à cause de l'occupation sur l'orbitale anti-liante π^* , semblable à $NO\cdot$. Pour les composés $\{MNO\}^8$ la configuration est $(a')^2(a'')^0$, qui correspond au singulet du NO^- . La dégénérescence des orbitales moléculaires (t_{2g} et e_g) dépend beaucoup du champ du ligand (la **Figure 15** présente un ligand de champ fort) et également de la symétrie (octaédrique, tétraédrique).

Du point de vue biologique, les composés intéressants seraient $\{MNO\}^7$ – analogue de l'hème, grâce à la distorsion de l'angle M–N–O : l'électron célibataire est très réactif permettant d'envisager le libération de NO .^{15,96}

1.3.3 NO dans la chimiothérapie

Les recherches sur NO ont largement avancées et aujourd'hui, NO est reconnu dans de nombreux processus biologiques: la régulation de la pression artérielle, la réponse immunitaire, la neurotransmission et l'inflammation cellulaire. Le plus surprenant est que la molécule diatomique NO possède un rôle spécial et opposé dans la croissance et la mort cellulaire. Ce paradoxe a été démystifié quelques années plus tard : Il est maintenant reconnu que l'activité biologique du NO est déterminée par ses concentrations.¹⁰⁷

La faible concentration du NO produit par l'eNOS (enzyme NO synthase) favorise la croissance cellulaire. Dans ce cas, le NO passe par une série des transformations en cascade, qui favorise l'angiogenèse, préserve le tonus vasculaire, inhibe l'agrégation plaquettaire et maintient l'équilibre d'oxydoréduction dans les cellules.¹⁰⁸ Comme la plupart des processus biologiques, les interactions NO-protéines sont réversibles et également sont viables pendant une longue durée (heures, jours). Les réactions en cascade sont semblables avec une «voie à double sens», les cellules peuvent répondre à ses signaux induits par un équilibre.¹⁰⁹

Aux doses plus élevés, NO peut induire l'apoptose cellulaire d'une manière irréversible avec plusieurs cibles, surtout sur les enzymes mitochondriales à base de fer

¹⁰⁷ S. Mocellin, V. Bronte, D. Nitti, *Med. Res. Rev.* **2007**, 27, 317-352.

¹⁰⁸ L. J. Ignarro, *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology*, San Diego: Academic Press, **2000**.

¹⁰⁹ S. Legewie, N. Bluthgen, H. Herzel, *PLoS. Comp. Biol.* **2006**, 2, 1061-1073.

(cytochrome *c* oxydase CcO) et les clusters redox de Fe₄S₄.^{110,111} NO favorise aussi la destruction du cytochrome *c* par la membrane mitochondriale en déclenchant une réaction en cascade qui entraîne une modification et une fragmentation de l'ADN. En conséquence, l'homéostasie cellulaire est rompue : la synthèse des protéines, la régulation et la dégradation deviennent incontrôlables et finalement la cellule meurt.^{109,111} La suppression de l'activité cellulaire est considérée comme une apoptose induite par NO – un procédé dans lequel les fonctions cellulaires, les protéines et les polynucléotides sont détruites, phagocytées et affectées à des cellules voisines d'une façon contrôlée.^{112,113} La représentation schématique du mécanisme d'action est montrée dans la **Figure 16**.

Cette propriété du NO à induire l'apoptose contrôlée à des concentrations millimolaires, a suscité l'intérêt des chimistes bio-inorganicien dans la prospection de nouvelles molécules, qui pourraient libérer NO sur des cibles sélectionnées.

Jusqu'à présent, une grande variété de composés organiques à base de NO-donneur a été synthétisée : nitrites, diazeniumdiolates, nitrosothioles, acide phenylnitroso-salicylique. Tous ces composés sont activés par des enzymes et/ou des stimuli physiologiques tels que le changement de pH. Malheureusement, ces entités libèrent de très faibles quantités de NO d'une manière non sélective et non spécifique.¹¹⁴

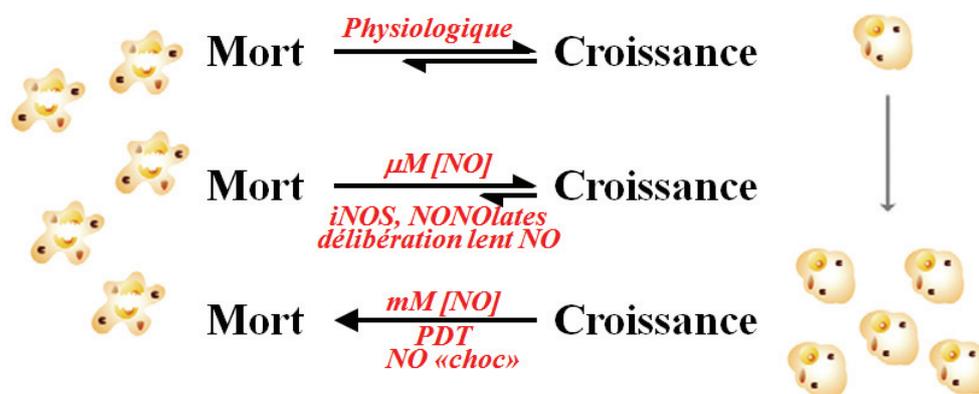


Figure 16. Mécanisme d'apoptose induite par NO.

Une nouvelle perspective dans cette thérapie s'ouvre grâce aux composés de coordination à base de complexes nitrosyles, dont le premier représentant en usage médical

¹¹⁰ J. Lincoln, G. Burnstock, *Nitric Oxide in Health and Disease*, New York: Cambridge University Press, **1997**.

¹¹¹ G. C. Brown, *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, 1504, 46-57.

¹¹² B. Brune, *Cell Death Diff.* **2003**, 10, 864-869.

¹¹³ D. Hirst, T. Robson, *J. Pharm. Pharmacol.* **2007**, 59, 3-13.

¹¹⁴ P. G. Wang, T. B. Cai, N. Taniguchi, *Nitric Oxide Donors for Pharmaceutical and Biological Applications*. Weinheim: Wiley-VCH, **2005**.

est le nitroprussiate de sodium ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{NO})\text{CN}_5]$). Par ailleurs, il a été découvert que les complexes associant métal et nitrosyle sont photosensibles et capables de libérer NO sous éclairage.¹¹⁵ Il devient envisageable de libérer NO à des concentrations millimolaires (**Figure 16**) pouvant induire l'apoptose cellulaire.¹¹⁶ La thérapie photodynamique (PDT) avec des complexes nitrosyles est une voie prometteuse dans le traitement du cancer.

1.4. Complexes anticancéreux d'osmium

1.4.1 Les composés antiprolifératifs d'osmium – une très récente voie de recherche

Les premières applications biologiques de complexes d'osmium ont été signalées dans les années 1950 par l'étude de la toxicité de tris-2,2'-bypyridine osmium (II) sur les souris.¹¹⁷ Tétra oxyde d'osmium (OsO_4) ayant la réputation d'un composé très toxique, est utilisé en clinique pour la synovectomie (maladie des articulations), tandis que les dérivés de carbohydrate d'osmium sont des agents antiarthritiques potentiel.^{118,119} Les premiers essais des complexes d'osmium comme agent antiprolifératif, ont été réalisés par Pr. Craciunescu dans les années 1970.¹²⁰ Il s'agissait des complexes $[\text{Os}^{\text{IV}}\text{X}_6]^{2-}$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$) avec pipérazine, antipyrine, thiazole, sulfamides; $\text{Os}^{\text{III}}\text{L}_3$ et $\text{Os}^{\text{IV}}\text{L}_2\text{Cl}_2$ avec dithiocarbamate or xanthates. Aujourd'hui, les recherches sur les complexes d'osmium viennent compléter celle sur les agents anticancéreux au coté des composés récents du ruthénium. L'intérêt pour ces composés d'osmium n'est pas seulement d'augmenter la famille antiproliférative analogues du ruthénium, mais de mettre en évidence les différences d'activité entre les métaux de même famille. Les approches dans la préparation des composés de coordination et organométallique, l'affinité pour les hauts degrés d'oxydation, le fort « π back-donation » pour les bas états d'oxydation, un très fort couplage spin-orbite et les différences de cinétique

¹¹⁵ P. C. Ford, J. Bourassa, K. Miranda, B. Lee, I. Lorkovic, S. Boggs, S. Kudo, L. Laverman, *Cord. Chem. Rev.* **1998**, 171, 185-202.

¹¹⁶ M. J. Rose and P. K. Mascharak, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, 12, 238–244.

¹¹⁷ F. P. Dwyer, E. C. Gyrfas, W. P. Rogers et al, *Nature* **1952**, 170, 190–191.

¹¹⁸ R. Bessant, A. Steuer, S. Rigby and M. Gumpel, *Rheumatology* **2003**, 42, 1036–1043.

¹¹⁹ S. Goldstein, G. Czapski, A. Heller, *Free Radical Bio. Med.* **2005**, 38, 839–845.

¹²⁰ (a) D. G. Craciunescu, *An. R. Acad. Farm.* **1977**, 43, 265–292. (b) A. Doadrio, D. Craciunescu, G. Ghirvu, *An. Quim.*, **1977**, 73, 1042–1046. (c) A. Doadrio, D. Craciunescu, C. Ghirvu, *An. R. Acad. Farm.*, **1980**, 46, 153–166. (d) D. G. Craciunescu, C. Molina, E. Parrondo-Iglesias, M. P. Alonso, L. Lorenzo Molina, J. C. Doadrio-Villarejo, M. T. Gutierrez-Rios, M. I. De Frutos, G. de Iriarte, G. Certad Boambona, N. Ercoli, *An. R. Acad. Farm.*, **1991**, 57, 221–240.

d'échange métal-ligand, sont essentiels pour l'application en médecine.^{121,122,123} L'avantage de l'utilisation d'osmium, qui a une cytotoxicité similaire (dans la plupart des cas) à celle du ruthénium, est dans un meilleur contrôle de la réaction due à une faible réactivité.

Pendant la dernière décennie, un grand effort a été réalisé pour la synthèse et la recherche des nouveaux composés de coordination et organométalliques d'osmium antiprolifératif. Leurs réactivités avec les molécules modèles d'ADN ont également été étudiées. Le spectre de composés varie largement, depuis des complexes non cytotoxiques ($CI_{50} \geq 1000 \mu M$) pour $[Os(\eta^6\text{-p-cymene})(pta)Cl_2]$, où pta = 1,3,5-triaza-7-phosphatricyclo[3.3.1.1]decane, sur le T47D (le cancer du sein);¹²⁴ $[Os(\eta^6\text{-p-cymene})(acac)Cl]$ et $[Os(\eta^6\text{-p-biphényle})(acac)Cl]$ sur le A2780 (le cancer ovarien) et le A549 (le cancer du poumon);¹²⁵ jusqu'à ceux qui ont une cytotoxicité comparable avec le carboplatine et le cisplatine ($CI_{50} \sim 1 - 10 \mu M$ pour $[Os(\eta^6\text{-biphényle})(dppz)Cl]PF_6$, où dppz = [3,2-a: 2',3'-c]phénazine sur le A2780 (le cancer ovarien);¹²⁶ $[Os(\eta^6\text{-biphényle})(pico)Cl]$, où pico = picolinate sur le A549 (le cancer du poumon) et A2780;¹²⁶ $[Os(\eta^6\text{-p-cymene})(oxine)(azole)Cl]$, où oxine = 8-hydroxyquinolate, azole = imidazole, pyrazole, indazole, benzimidazole sur le CH1 (le cancer ovarien) et SW480 (cancer du colon);¹²⁷ $[Os(\eta^6\text{-p-cymene})(paullone)Cl]Cl$ sur le CH1, SW480 et A549;¹²⁸ $[trans\text{-}Os^{III}Cl_2(azole)_4]Cl$, où azole = pyrazole, benzimidazole sur le A549, CH1 et SW480¹²⁹).

Deux complexes, $(H_2im)[trans\text{-}Ru^{III}Cl_4(Him)(DMSO)]$ (NAMI-A, Him = imidazole) et $(H_2ind)[trans\text{-}Ru^{III}Cl_4(Him)_2]$ (KP1019, Hind = indazole), bientôt en deuxième étape clinique, ont incité les chimistes à synthétiser des analogues d'osmium. Une grande famille de complexes avec différents états d'oxydation de l'osmium (II, III, IV, VI), coordonnés à différents types d'azole ont été synthétisés ($trans, cis, cis\text{-}[Os^{II}Cl_2(DMSO)_2(azole)_2]$ (A),

¹²¹ P. Singh, B. Sarkar, M. Sieger, M. Niemeyer, J. Fiedler, S. Zalis, W. Kaim, *Inorg. Chem.*, **2006**, 45, 4602–4609.

¹²² I. N. Stepanenko, B. Cebrian-Losantos, V. B. Arion, A. A. Krokhin, A. A. Nazarov, B. K. Keppler, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2007**, 400–411.

¹²³ A. F. A. Peacock, P. J. Sadler, *Chem. Asian. J.*, **2008**, 3, 1890–1899.

¹²⁴ A. Dorcier, W. H. Ang, S. Bolano, L. Gonsalvi, L. Juillerat-Jeanerats, G. Laurency, M. Peruzzini, A. D. Phillips, F. Zanobini, P. J. Dyson, *Organometallics*, **2006**, 25, 4090–4096.

¹²⁵ A. F. A. Peacock, M. Melchart, R. J. Deeth, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13, 2601–2613.

¹²⁶ A. F. A. Peacock, S. Parsons, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 3348–3357.

¹²⁷ R. Schuecker, R. O. John, M. A. Jakupec, V. B. Arion, B. K. Keppler, *Organometallics* **2008**, 27, 6587–6595.

¹²⁸ (a) W. F. Schmid, R. O. John, V. B. Arion, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Organometallics* **2007**, 26, 6643–6652. (b) W. F. Schmid, R. O. John, G. Muhlgassner, P. Heffeter, M. A. Jakupec, M. Galanski, W. Berger, B. V. Arion, B. K. Keppler, *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 6343–6355.

¹²⁹ I. N. Stepanenko, A. A. Krokhin, R. O. John, A. Roller, B. V. Arion, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Inorg. Chem.* **2008**, 47, 7338–7347.

cis, fac-[Os^{III}Cl₂(DMSO)₃(azole)] (**B**), (Hazole)[Os^{III}Cl₄(DMSO)(azole)] (**C**), *mer*-[Os^{III}Cl₃(azole)₃] (**D**), *trans*-[Os^{III}Cl₂(azole)₄]Cl (**E**), *cis*-[Os^{III}Cl₂(azole)₄]Cl (**F**), *trans*-[Os^{IV}Cl₄(azole)₂] (**G**), (Cation)[Os^{IV}Cl₅(azole)] (**H**). Ces composés ont été testés *in vitro* et pour certains – *in vivo*. Parmi ces espèces, l’analogue **NAMI** (**C**) et les complexes d’osmium *tétra*-substitué (**E**) peuvent être sélectionnés comme de futurs agents anticancéreux. La stabilité à l’hydrolyse de ces complexes d’osmium et leurs bonnes activités antiprolifératives « *in vitro* », indiquent que l’hydrolyse ne joue pas un rôle clé dans l’activité anticancéreuse. Les propriétés redox ne sont pas non plus un élément dominant dans l’activité antiproliférative. Tout ceci suggère un mécanisme d’action différent et intéressant à étudier du point de vue biologique.¹³⁰

1.4.2 Objectifs du travail

En principe, les complexes de métaux de transition fournissent une énorme et polyvalente plateforme pour des applications en médecine avec les synthèses de nouveaux médicaments. Les modifications apportées sur le métal : le type de ligand, le nombre de ligand, la charge du complexe et du métal, les propriétés redox, la cinétique d’échange du ligand et la géométrie de coordination, donnent une grande flexibilité pour l’application dans les différents domaines de la vie quotidienne et du vivant.

Dans notre étude bibliographique, nous avons montré différentes niches de recherche (allant des composés organiques et naturels jusqu’aux composés organométalliques et de coordinations) à partir desquels on peut développer de nouvelles conceptions pour des agents ou médicaments anticancéreux. Notre équipe de recherche a une grande expérience en chimie de coordination recouvrant différents domaines : le magnétisme, les MOF et les biomédicaments. Ce savoir-faire est ici mis au service du développement de nouveaux agents antitumoraux. De tous les métaux de transition potentiellement actif contre le cancer, nous avons choisi l’OSMIUM, avec comme arguments qu’il est : moins connu et étudié dans la chimie et biochimie, et qu’il est proche du ruthénium bien connu comme agent anticancéreux potentiel et au fer (la base d’hème). Enfin, il présente une vaste gamme d’états d’oxydation, et de stabilité en milieu aqueux. Les résultats prometteurs avec les composés antitumoraux à base de Pt et Ru avec des ligands de type azole, aminoacide, oxalate et autres ligands polydentés à base d’azote et oxygène, nous offrent une base pour l’élaboration de nouveaux complexes de coordination d’osmium potentiellement anticancéreux. Le concept à la base de

¹³⁰ V. N. Uversky R. H. Kretsinger, E. A. Permyakov, *Encyclopedia of Metalloproteins*, ©Springer 2013.

ce travail de thèse, était de développer des composés de nitrosyle capables de libérer NO dans les cellules cancéreuses par différents moyens : irradiation, processus biochimiques, température. Nous décrivons dans ce travail la synthèse et la caractérisation (cristallographie, magnétisme, électrochimie, RMN, spectroscopie de masse, UV-Vis, Raman et IR, cytotoxicité) de complexes d'osmium nitrosyle avec différents ligands mono et polydentés à base d'azote, d'oxygène et mixte, capable de libérer NO de manière contrôlée.

**2. Chapitre II: Complexes de coordination d'osmium
nitrosyle monosubstitué du type
 $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]$**

2.1. Introduction

La fin des années 60 est marquée par le début de la chimie des complexes de nitrosyle NO avec les métaux lourds tel que le ruthénium et l'osmium.^{131,132} A cette époque, l'intérêt primordial était d'étudier la structure cristallographique de ces complexes et surtout, la liaison métal-nitrosyle.¹³³ En effet, sa réactivité permettait d'envisager ces molécules comme précurseurs potentiels dans la synthèse des complexes de type $M-N\equiv N$ ¹⁵ et également comme modèle pour l'investigation des étapes clés dans le cycle bio-geo-chimique globale de l'azote.¹³⁴ Les autres aspects comme la biologie, la médecine, l'environnement et la catalyse ont augmenté l'intérêt pour ces complexes au fil du temps.^{135,136}

La chimie du NO pour ses usages biomédicaux et la chimie de coordination des complexes d'osmium et ruthénium comme agents anticancéreux s'est considérablement développée les dernières années. De ces recherches, un nouveau concept s'est dégagé consistant à coordiner le nitrosyle sur une molécule antiproliférative afin d'avoir une double thérapie permettant de combiner l'activité anticancéreuse des complexes d'osmium ou ruthénium avec l'apoptose induite par NO.

Dans ce chapitre de thèse, nous présenterons 12 nouveaux complexes *cis* et *trans* d'osmium nitrosyle avec la formule générale (cation)[Os(NO)Cl₄(azole)] (**Figure 17**). Les complexes ont été étudiés et caractérisés par diffraction des rayons X sur monocristaux, spectroscopie RMN, IR, Raman, UV-vis, et spectrométrie de masse. Une étude complète d'électrochimie sera également réalisée et finalement les composés seront testés « in vitro » sur trois lignes de cellules humaines cancéreuses. Nous montrerons une analyse approfondie des propriétés physico-chimiques de tous les composés ; la comparaison des isomères *cis* et *trans*, la comparaison entre les complexes, dont l'entité Os(NO) est coordonné au ligand de type « azole ». On présentera également une étude comparative de leur activité antiproliférative.

¹³¹ B. F. G. Johnson, J. A. McCleverty, *Progr. Inorg. Chem.* **1966**, *7*, 277–359.

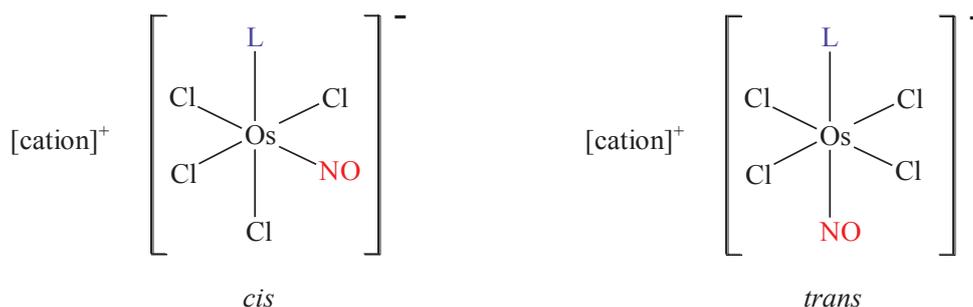
¹³² N. G. Connelly, *Inorg. Chim. Acta Rev.* **1972**, *6*, 47–89.

¹³³ J. H. Enemark, R. D. Feltham, *Coord. Chem. Rev.* **1974**, *13*, 339–406.

¹³⁴ M. N. Hughes, *The Inorganic Chemistry of Biological Processes*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: New York, **1981**.

¹³⁵ J. A. McCleverty, *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 403–418.

¹³⁶ K. K. Pandey, *Coord. Chem. Rev.* **1983**, *51*, 69–98.



		L	configuration	[cation] ⁺	
1 <i>H</i> -indazole (Hind)		Hind	<i>cis</i>	Bu ₄ N ⁺	1
		Hind	<i>trans</i>	Bu ₄ N ⁺	2
		Hind	<i>cis</i>	Na ⁺	3
1 <i>H</i> -pyrazole (Hpz)		Hind	<i>trans</i>	Na ⁺	4
		Hpz	<i>trans</i>	Bu ₄ N ⁺	5
		Hpz	<i>cis</i>	Bu ₄ N ⁺	6
1 <i>H</i> -imidazole (Him)		Hpz	<i>trans</i>	H ₂ pz ⁺	7
		Him	<i>cis</i>	Bu ₄ N ⁺	9
		Him	<i>cis</i>	H ₂ im ⁺	10
1 <i>H</i> -benzimidazole (Hbzim)		Hbzim	<i>cis</i>	Bu ₄ N ⁺	11
		Hbzim	<i>cis</i>	Na ⁺	12

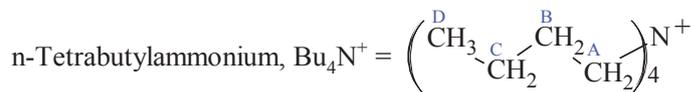


Figure 17. Composés présentés dans ce chapitre avec numérotation atomique pour l'attribution des signaux dans les spectres de RMN.

2.2. Synthèse et caractérisation

Dans notre travail, les synthèses partent toujours du tétraoxyde d'osmium (OsO₄), composé très dangereux (**selon la fiche de données de sécurité – annexe 1**) nécessitant de grandes précautions lors de son utilisation. La toxicité est surtout liée à sa volatilité à température ambiante, pouvant induire des effets néfastes par inhalation. Une fois le composé réduit aux bas degrés d'oxydation, il devient moins volatile, donc moins toxique.

La synthèse des composés d'osmium nitrosyle peut être réalisée par différentes méthodes schématisées ci-dessous sur la **Figure 18**.

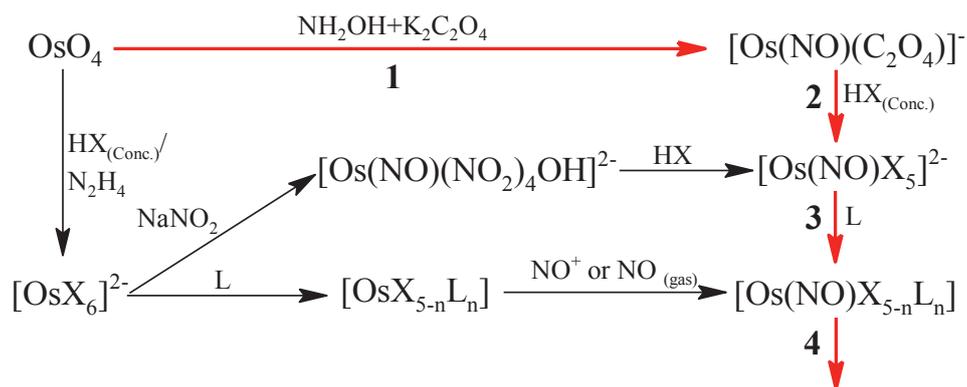


Figure 18. Schéma réactionnel d'OsO₄ à [Os(NO)X_{5-n}L_n], X = halogène, L = ligand.

Selon le schéma, on peut distinguer deux voies principales: 1) coordination de NO après la complexation avec le ligand, 2) coordination du ligand sur le complexe pentahalogeno-nitrosylo-osmate. Nous avons utilisé la voie de synthèse symbolisées en rouge :

- Réduction de l'OsO₄ à [Os(NO)(oxalate)₂]²⁻ (1) ;
- La synthèse de [Os(NO)Cl₅]²⁻ à partir de [Os(NO)(oxalate)₂]²⁻ (2) ;
- Substitution du chlorure par un ligand (soit monodenté, soit bidenté) (3) ;
- Changement de cation pour des raisons de cristallisation, de solubilité, de toxicité,...(4).

Les synthèses des composés Bu₄N[Os(NO)Cl₄(azole)] ont été réalisées de manière similaire aux synthèses des complexes [OsCl₅(azole)]¹³⁷.

Les composés ont été obtenus par la réaction de 1 équiv. de (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅], synthétisé selon la littérature,^{138,139} avec 1,5 équivalents du ligand azole dans le n-butanol à 105°C pendant 24h. Le rendement de cette réaction de substitution de l'ion chlorure dans [Os(NO)Cl₅]²⁻ par le ligand azole fut d'environ 70 – 75 %. Deux isomères ont été obtenus (cis et trans par rapport à la position du substituant NO), séparés grâce à leur solubilité différente. Dans tous les cas, l'isomère cis fut majoritaire. Pour les dérivés de l'indazole et du pyrazole, il constituait 2/3 du produit final et les isomères ont pu être séparés. Les dérivés de l'imidazole et du benzimidazole ont été obtenus uniquement avec la forme cis.

¹³⁷ G. E. Buchel, I. Stepanenko, M. Hejl, M. A. Jakupec, V. B. Arion, B. K. Keppler, *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 10737-10747.

¹³⁸ R. Bhattacharya, A. M. Saha, P. N. Ghosh, M. Mukherjee, A. K. Mukherjee, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1991**, 3, 501-510.

¹³⁹ P. Singh, B. Sarkar, M. Sieger, M. Niemeyer, J. Fiedler, S. Zalis, W. Kaim, *Inorg. Chem.*, **2006**, 45, 4602–4609.

Il est connu que les composés d'osmium possèdent un effet « trans » important.¹⁴⁰ Dans notre cas, deux types de réactions sont concurrentes. La formation du complexe « trans » est cinétiquement favorisée. Cependant, l'aspect thermodynamique favorise la formation de l'isomère cis. Une étude approfondie de ce phénomène sera présentée dans le chapitre III.

Afin d'améliorer la solubilité des composés dans la solution aqueuse pour les tests « *in vitro* », et ainsi éviter également la toxicité induite par le cation tetrabutylammonium, les complexes d'osmium nitrosyle ont été converti en sel de sodium ou d'azolium. Cette transformation a été réalisée avec la résine cationique DOWEX Marathon C pendant 12h avec un rendement d'environ 90 %. Tous les composés obtenus ont été caractérisés et ont subi les tests biologiques sur certaines cellules cancéreuses.

2.3. Description structurale

Des monocristaux ont été obtenus pour les composés **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11** permettant l'analyse structurale par diffraction des rayons X. Ce sont essentiellement des complexes octaédriques de formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]^-$ (**Figure 19**).

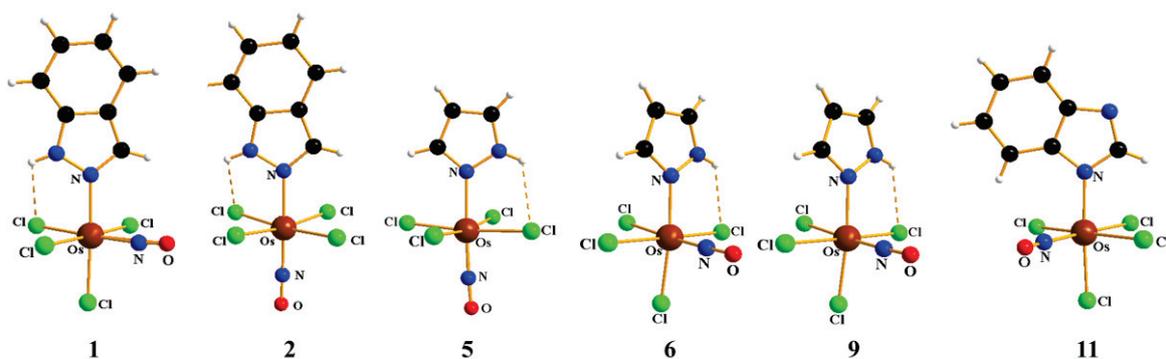


Figure 19. Structure des anions: $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ cis (**1**), trans (**2**), $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hpz})]^-$ trans (**5**), cis (**6**), $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Him})]^-$ cis (**9**), $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hbzim})]^-$ cis (**11**).

Tous les composés cristallisent dans le système monoclinique. Les complexes **2**, **6**, **9**, **11** prennent le groupe d'espace $P 2_1/c$, tandis que **1** forme des cristaux dans le groupe d'espace $P 2_1/n$ et **5** prend le groupe d'espace $C 2/c$. Toutes les informations concernant les paramètres structuraux et d'affinement sont résumées dans le **Tableau 2**.

¹⁴⁰ N. M. Sinitsyn, A. A. Svetlov, L. V. Bobrova, *Zh. Neorg. Khim.* **1980**, *25*, 780-783.

Tableau 2. Données cristallographiques et paramètres de raffinements pour
Bu₄N[Os(NO)Cl₄(azole)]

Composé	1	2	5
Formule	C ₂₃ H ₄₂ Cl ₄ N ₄ OOS	C ₂₃ H ₄₂ Cl ₄ N ₄ OOS	C ₁₉ H ₄₀ Cl ₄ N ₄ OOS
λ (Å)	0.71073	0.71073	0.71073
Masse molaire (g/ mol)	722.61	722.61	672.55
Couleur	rouge	bleu	bleu
Taille crist. (mm)	0.20×0.20×0.20	0.57×0.29×0.15	0.31×0.18×0.11
Température (K)	150(2)	100(2)	293(2)
Groupe d'espace	<i>P2₁/n</i>	<i>P2₁/c</i>	<i>C2/c</i>
a (Å)	12.4264(3)	10.0836(7)	16.9831(5)
b (Å)	52.4727(13)	15.8530(10)	17.8121(4)
c (Å)	13.8616(3)	18.9740(10)	19.7349(6)
α (°)	90	90	90
β (°)	100.718(1)	101.298(7)	111.041(3)
γ (°)	90	90	90
V (Å ³)	8880.7(4)	2974.3(3)	5571.8(3)
Z	12	4	8
$\rho_{\text{calc.}}$ (g cm ⁻³)	1.621	1.614	1.603
μ (mm ⁻¹)	4.691	4.668	4.977
R ₁ ^(a)	0.0578	0.0304	0.0242
wR ₂ ^(b)	0.1338	0.0697	0.0614
GOF ^(c)	1.134	1.033	1.004

Composé	6	9	11
Formule	C ₁₉ H ₄₀ Cl ₄ N ₄ OOS	C ₁₉ H ₄₀ Cl ₄ N ₄ OOS	C ₂₃ H ₄₂ Cl ₄ N ₄ OOS
λ (Å)	0.71073	0.71073	0.71073
Masse molaire (g/ mol)	672.55	672.55	722.61
Couleur	rouge	rouge	rouge
Taille crist. (mm)	0.42×0.24×0.16	0.22×0.20×0.11	0.23×0.18×0.05
Température (K)	110(2)	110(2)	110(2)
Groupe d'espace	<i>P2₁/c</i>	<i>P2₁/c</i>	<i>P2₁/c</i>
a (Å)	11.4520(10)	10.370(1)	10.6560(10)
b (Å)	13.4450(10)	19.654(2)	20.218(2)
c (Å)	17.167(2)	14.216(1)	14.418(2)
α (°)	90	90	90
β (°)	92.778(9)	108.02(1)	108.250(10)
γ (°)	90	90	90

V (Å ³)	2640.1(4)	2755.3(4)	2950.0(6)
Z	4	4	4
ρ _{calc.} (g cm ⁻³)	1.692	1.621	1.627
μ (mm ⁻¹)	5.252	5.033	4.707
R ₁ ^(a)	0.0306	0.0533	0.0714
wR ₂ ^(b)	0.0736	0.1482	0.1360
GOF ^(c)	1.087	1.031	0.9431

^a $R_1 = \Sigma||F_o| - |F_c||/\Sigma|F_o|$; ^b $wR_2 = \{\Sigma[w(F_o^2 - F_c^2)^2]/\Sigma[w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$; ^c $GOF = \{\Sigma[w(F_o^2 - F_c^2)^2]/(n - p)\}^{1/2}$, où n est le nr. total de réflexions et p nr. total de paramètres raffinés.

Les complexes **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11** ont cristallisé grâce à la présence du cation tétrabutylammonium. La synthèse des complexes d'osmium nitrosyle avec des azoles, conduit pour certains composés (**1**, **2**, **5**, **6**) à deux isomères – cis et trans. Les composés **1**, **6**, **9**, **11** ont une configuration cis dans laquelle trois ligands chlorure et une molécule NO sont liés dans le plan équatoriale. Les sites axiaux sont occupés par un hétérocycle de type azole et un quatrième ligand chlorure. Dans le **Tableau 3** sont présentés quelques paramètres géométriques de la sphère de coordination pour ces composés.

Tableau 3. Récapitulatif des longueurs de liaisons et les angles (deg.) pour
Bu₄N[Os(NO)Cl₄(azole)]

Composé/ Liaison (Å/ °)	[Os(NO)Cl ₄ (Hind)] ⁻		[Os(NO)Cl ₄ (Hpz)] ⁻		[Os(NO)Cl ₄ (Him)/(Hbzim)] ⁻	
	1	2	5	6	9	11
Os–N _(azole)	2.091(5)	2.114(3)	2.116(3)	2.082(3)	2.082(6)	2.094(6)
Os–Cl _{eq} (appr.)	2.3790(17)	2.368(3)	2.368(4)	2.374(13)	2.377(12)	2.372(2)
Os–Cl _{ax}	2.3466(17)	-	-	2.3477(9)	2.388(2)	2.377(2)
Os–N _(NO)	1.8(1)	1.763(3)	1.736(4)	1.733(4)	1.745(7)	1.8(1)
N–O	1.1346(12)	1.133(4)	1.136(4)	1.153(4)	1.155(9)	1.05(10)
Os–N–O	177.4(8)	178.0(4)	176.6(4)	178.1(3)	173.7(6)	177.4(8)

Dans le **Tableau 3**, nous avons observé que les longueurs de liaisons Os–N_(azole) et Os–N_(NO) varient entre 2,082 – 2,116 Å et 1,733 – 1,763 Å, la longueur de liaison N–O pour ces complexes prend des valeurs situées entre 1,133 Å et 1,155 Å et l'angle Os–N–O est presque linéaire. Aucune différence significative n'est pas observée entre les isomères cis et trans.

2.4. Spectroscopie Infrarouge et Raman

Il est connu que les composés de type $\{M(NO)\}$ peuvent avoir différentes conformations autour de NO: linéaire, coudée jusqu'à une géométrie triangulaire. De plus, on peut avoir différentes charges sur l'entité NO tel que NO^+ , NO^- ou NO-radical. Les domaines de fréquences infrarouge et Raman de NO pour les complexes de ce type donnent une rapide information sur la position et la charge de NO conditionnant par conséquent les propriétés physico-chimiques de la molécule. Partant de cette idée, les composés **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11** ont été analysés par spectroscopie Infrarouge et Raman. Pour les analogues avec l'ion sodium comme cation, seule la spectroscopie IR a été utilisée. Les spectres infrarouges (température ambiante) et Raman (83 K) sont présentés dans la **Figure 20**.

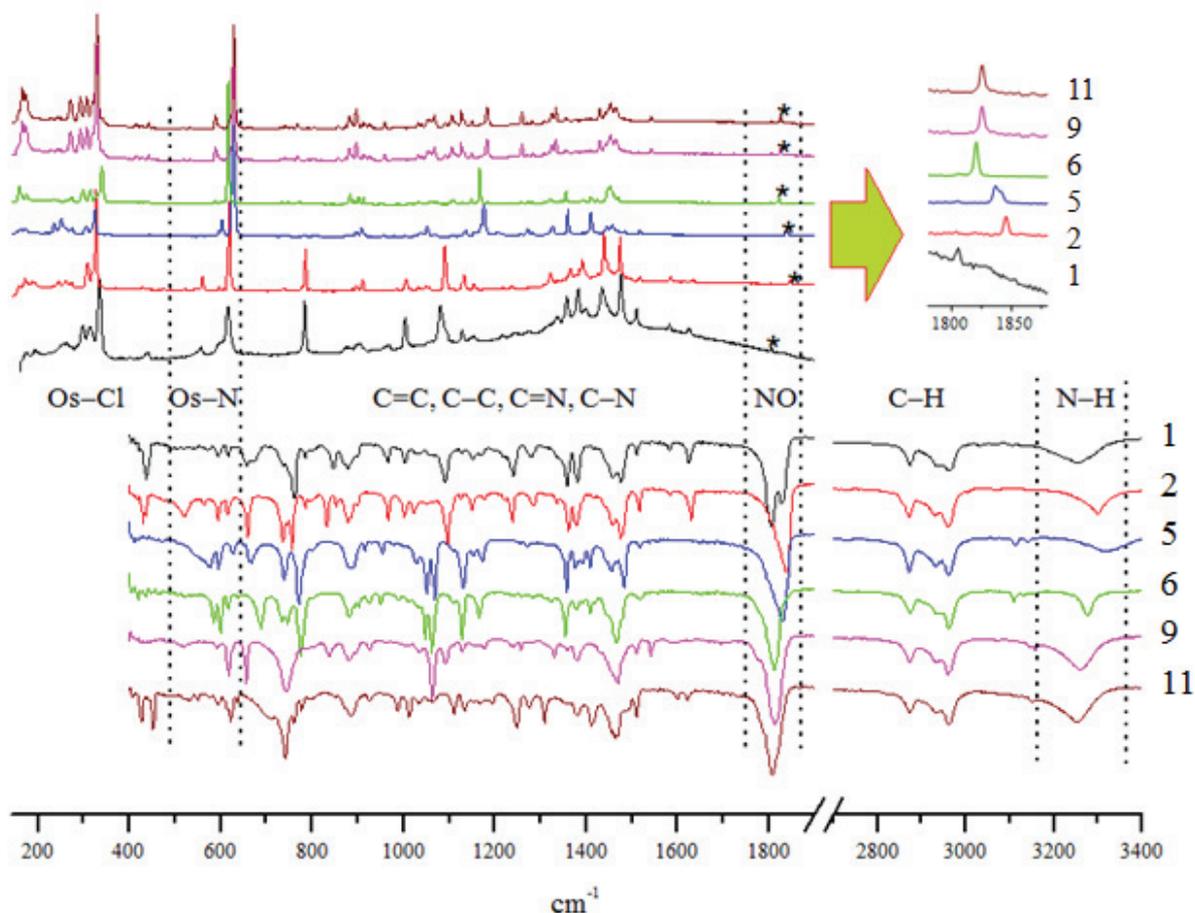


Figure 20. Spectres IR (en bas) et Raman (en haut) pour les composés avec la formule générale $Bu_4N[Os(NO)Cl_4(\text{azole})]$, en cm^{-1} .

Les signaux infrarouges sont accumulés dans une fenêtre spectrale de $400 - 4000\text{ cm}^{-1}$ et entre $150 - 4000\text{ cm}^{-1}$ le Raman. Les spectres peuvent être découpés selon les régions en corrélant la fréquence et les atomes impliqués dans la liaison. On a distingué 6 régions

importantes:

1. 150 – 350 cm^{-1} : fréquences pour la liaison Os–Cl.
2. 550 – 640 cm^{-1} : domaine de fréquences pour la liaison Os–N.
3. 650 – 1650 cm^{-1} : fréquences pour les liaisons C–C, C=C, C–N, C=N.
4. 1800 – 1850 cm^{-1} : fréquence de vibration de NO.
5. 2850 – 3000 cm^{-1} : fréquences pour les liaisons C–H de Bu_4N^+ .
6. 3200 et 3350 cm^{-1} : fréquence de la liaison N–H d’azole.

Dans le **Tableau 4**, on résume les plus importantes fréquences vibrationnelles et leurs valeurs comparatives entre IR et Raman.

Tableau 4. Fréquences justificatives sur les spectres IR et Raman pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]$, en cm^{-1} .

Nr.	Composé	NO		Os–N		Os–Cl
		IR	Raman	IR	Raman	Raman
1	$\text{Bu}_4\text{N}[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$	1805	1806	571, 594, 617	557, 598, 616	176, 192, 298, 313, 335
2	$\text{Bu}_4\text{N}[\text{trans-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$	1838	1845	565, 594, 616	597, 607, 617	173, 188, 245, 263, 308, 319, 327
5	$\text{Bu}_4\text{N}[\text{trans-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hpz})]$	1830	1836	576, 596, 627	597, 603, 628	177, 236, 252, 275, 306, 325
6	$\text{Bu}_4\text{N}[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hpz})]$	1813	1821	586, 600, 627	588, 606, 617	161, 175, 272, 300, 315, 340
9	$\text{Bu}_4\text{N}[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Him})]$	1813	1825	592, 618	589, 594, 629	166, 174, 272, 293, 307, 319, 330
11	$\text{Bu}_4\text{N}[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hbzim})]$	1807	1822	551, 576, 594, 623, 638	588, 593, 628	166, 174, 272, 293, 307, 319, 330

A partir de ces résultats, les deux méthodes montrent des spectres similaires. Les seules variations enregistrées entre la spectroscopie IR et Raman sont liées uniquement au déplacement de Stokes¹⁴¹ déjà décrits dans la littérature. On note cependant des valeurs d’intensité différentes.

Les isomères *cis* sont caractérisés par une fréquence $\nu(\text{NO})$ inférieure à celle de

¹⁴¹ J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, New York. 1983.

l'isomère *trans*. Par exemple, le composé **1** possède un $\nu(\text{NO})$ à 1805 cm^{-1} (Raman 1806), alors que pour **2**, elle se trouve à 1838 cm^{-1} (Raman 1845 cm^{-1}). Le même phénomène est observé pour les complexes d'Os(NO) avec pyrazole. Si on substitue le cation Bu_4N^+ par Na^+ , on obtient des valeurs de fréquence qui permettent de différencier, d'une part, les deux formes substitués Na^+ ou Bu_4N^+ et d'autres part, les isomères *cis* et *trans*. Par exemple, les fréquences $\nu(\text{NO})$ pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]/ \text{Na}[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ sont $1805/1825 \text{ cm}^{-1}$ et $1838/1830 \text{ cm}^{-1}$ pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{trans-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]/ \text{Na}[\text{trans-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$. Pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hbzim})(\text{NO})]/ \text{Na}[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hbzim})(\text{NO})]$ nous avons $1807/1827 \text{ cm}^{-1}$ respectivement. Tous les composés de cette série suivent les mêmes tendances. Les différences petites concernant la valeur des fréquences vibrationnelles $\nu(\text{NO})$ entre ces complexes, donnent une information sur l'isomérisation *cis* ou *trans*, le type d'azole coordonné et moins sur le type de cation.

2.5. Spectroscopie RMN

Tous les composés **1-12** ont été analysés par spectroscopie RMN. Les spectres ^1H RMN montrent des signaux identiques pour les azoles coordonnés et libre, suggérant que le cœur $\{\text{M}(\text{NO})\}^6$ est diamagnétique. Les spectres ^1H et ^{13}C RMN pour les composés **1-12** dans DMSO-d_6 indiquent que les complexes sont stables en solution. Sur les **Figures 21 et 22** sont représentées les spectres de ^1H RMN et ^{13}C RMN pour les composés: **1, 2, 5, 6, 9, 11**. Les spectres des autres composés ont la même allure. Les signaux RMN sont caractéristiques du cation (soit Bu_4N^+ , soit azolium) et des azoles coordonnés à l'atome central. Les signaux correspondant au cation $(\text{Bu}_4\text{N})^+$ se situent entre $0,95 \text{ ppm}$ et $3,17 \text{ ppm}$ en RMN ^1H et entre $13,5 \text{ ppm}$ et $57,5 \text{ ppm}$ en RMN ^{13}C (voir la partie expérimentale). Les signaux RMN ^1H correspondant au cation d'azolium $6 - 14 \text{ ppm}$ sont caractéristiques d'un azole protoné.

Les configurations des isomères *cis* et *trans* peuvent être facilement distinguées par le déplacement chimique du singlet correspondant au proton NH^1 (voir **Figure 21 et 17**). Pour les isomères *cis*, le déplacement chimique du proton H_1 se situe vers 14 ppm alors qu'ils sont généralement vers 13 ppm aux complexes *trans*. Cet écart des déplacements chimiques *cis/trans* pour le signal du proton H_1 peut atteindre jusqu'à $1,3 \text{ ppm}$.

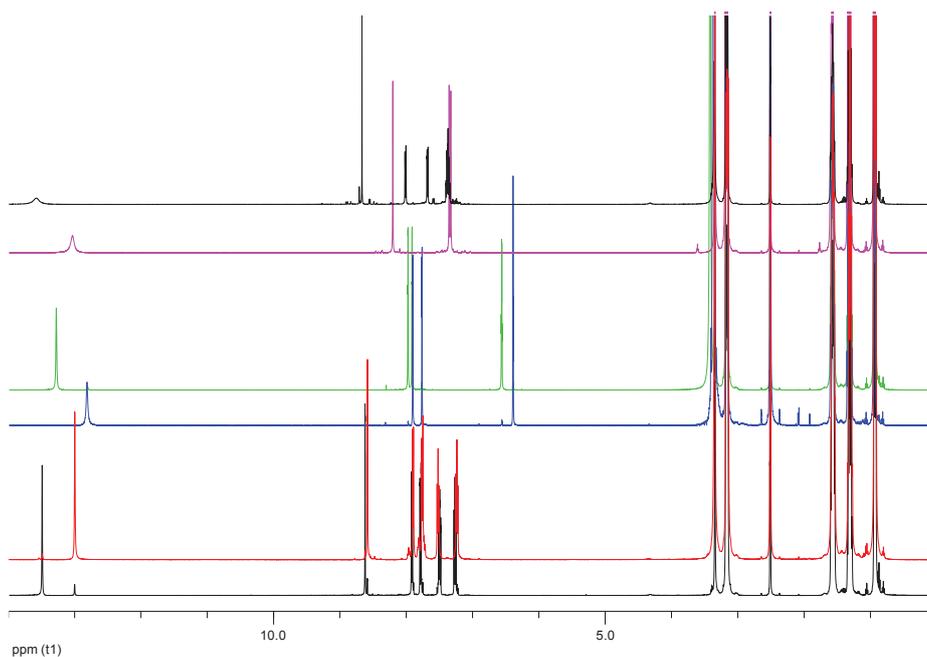


Figure 21. ¹H RMN pour les composés avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]$, où **1** (noir), **2** (rouge), **5** (bleu), **6** (vert), **9** (rose), **11** (brun).

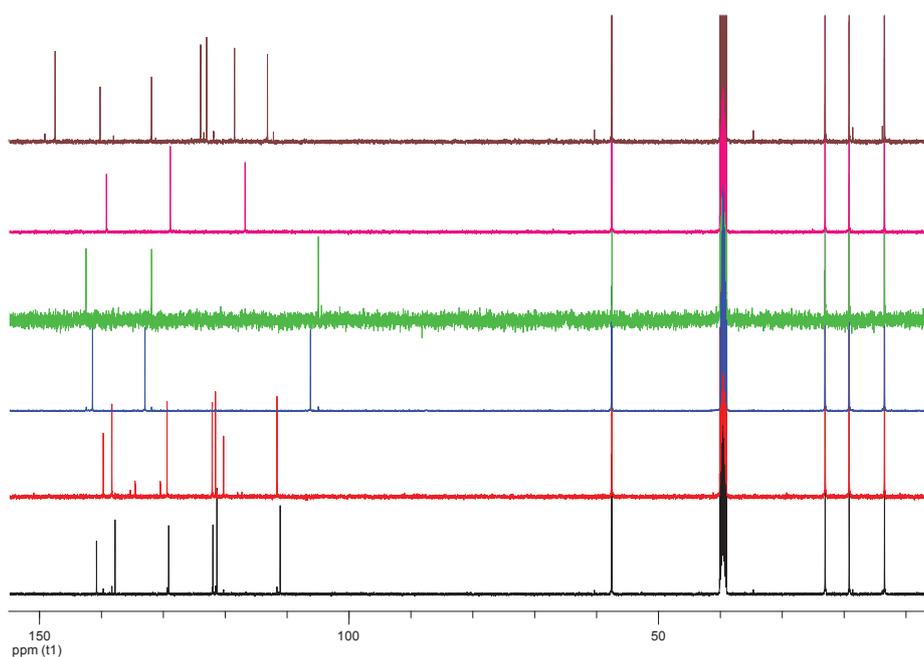


Figure 22. ¹³C RMN pour les composés avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]$, où **1** (noir), **2** (rouge), **5** (bleu), **6** (vert), **9** (rose), **11** (brun).

Les valeurs des signaux ¹H et ¹³C RMN pour tous les composés sont détaillées dans la

partie expérimentale. Ainsi, la spectroscopie RMN donne de précieuses informations sur les composés synthétisés: noyau diamagnétique (Os(NO)), caractérisation de chaque entité, l'isomérisie *cis/trans* et finalement la pureté des composés, critère important pour permettre les essais biologiques.

2.6. Spectrométrie de masse

Pour tous les composés **1 – 12**, la spectrométrie de masse a été réalisée dans l'acétonitrile par la méthode d'électrospray et ionisation à basse résolution positive et négative dans une fenêtre de 80 – 2000 m/z, ou m = masse molaire d'ion et z = 1. Dans le domaine positif, seule la molécule Bu₄N⁺ à 242 m/z a été enregistrée pour les composés **1, 2, 5, 6, 9, 11**. Les données obtenues à basse résolution négative sont présentés dans le **Tableau 5**.

Tableau 5. Récapitulatif des pics de spectrométrie de masse pour Bu₄N[Os(NO)Cl₄(A)] en m/z, ou A = azole correspondant.

Nr.	Composé	[Os(NO)Cl ₄ (A)] ⁻	[Os(NO)Cl ₄] ⁻	[Os(NO)Cl ₄] ⁻
1	Bu ₄ N[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	480	362	332
2	Bu ₄ N[<i>trans</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	480	362	332
3	Na[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	480	362	332
4	Na[<i>trans</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	480	362	332
5	Bu ₄ N[<i>trans</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hpz)]	430	362	332
6	Bu ₄ N[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hpz)]	430	362	332
7	H ₂ pz[<i>trans</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hpz)]	430	362	332
8	H ₂ pz[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hpz)]	430	362	332
9	Bu ₄ N[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Him)]	430	362	332
10	H ₂ im[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Him)]	430	362	332
11	Bu ₄ N[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hbzim)]	480	362	332
12	Na[<i>cis</i> -Os(NO)Cl ₄ (Hbzim)]	480	362	332

Pour tous les composés, les pics correspondants aux anions [Os(NO)Cl₄(A)]⁻, [Os(NO)Cl₄]⁻, [OsCl₄]⁻ ont été enregistrés. Pour Bu₄N[*cis*-Os(NO)Cl₄(Hbzim)], on a noté un pic à 410 m/z, correspondant à [Os(NO)Cl₂(Hbzim)]⁻. Pendant l'ionisation à une température

de l'ordre de 200°C, l'anion de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{A})]^-$ subit des transformations redox. Pour les anions $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{A})]^-$ et $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4]^-$ le noyau $\{\text{Os}(\text{NO})\}^{3+}$ reste toujours stable. En revanche, dans le cas de $[\text{OsCl}_4]^-$ et $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_2(\text{A})]^-$ des processus redox ont eu lieu.

2.7. UV-VIS et Electrochimie

Des études en électrochimie (voltampérométrie cyclique et électrolyse) et en spectroscopie UV-vis ont été menées dans CH_3CN sur les composés **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11**. Une étude de stabilité contrôlée par spectroscopie UV-vis a été réalisée sur les complexes dérivés **3**, **4**, **7**, **8**, **10**, **12** en milieu aqueux. Les voltammogrammes obtenus à 100 mV/s dans $\text{CH}_3\text{CN}/0,1 \text{ M TBAPF}_6$ pour les complexes **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11** en utilisant une électrode de travail de carbone vitreux et une électrode de calomel saturée (ECS) comme référence, sont montrés dans la **Figure 23**.

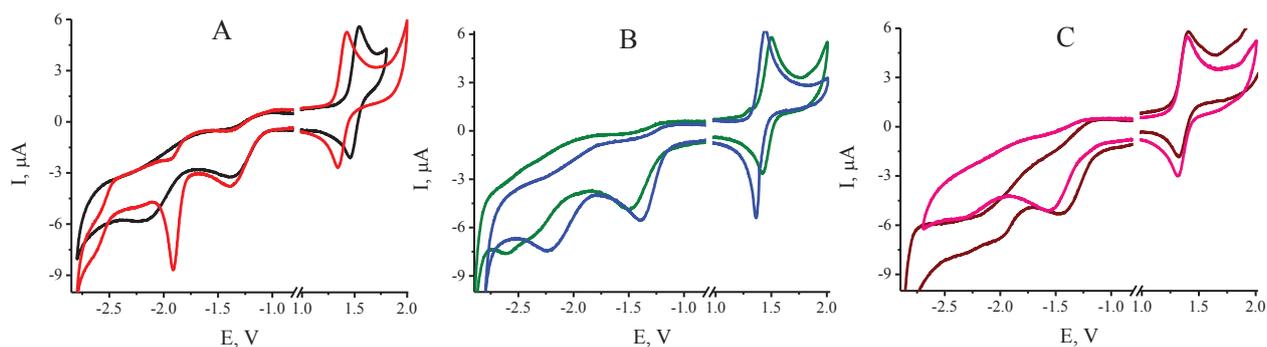


Figure 23. Voltampérométrie cyclique pour les composés avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]^-$: A = **1** (noir), **2** (rouge); B = **5** (bleu), **6** (vert); C = **9** (rose), **11** (brun).

Les voltammogrammes (**Figure 23**) de tous les composés montrent deux processus électrochimiques irréversibles de réduction. En oxydation, on distingue un processus réversible. Pour ce dernier, les isomères *cis* et *trans*, de même formule brute, peuvent facilement être différenciés par leurs valeurs de potentiel redox. Les valeurs des potentiels sont données dans le **Tableau 6**. Les voltammogrammes de la **Figure 23** montrent en réduction, deux processus monoélectroniques irréversibles dont les valeurs des potentiels de pic sont mentionnées dans le **Tableau 6**. Le premier pic de réduction est attribué à la réaction $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6 \rightarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^7$ ($\{\text{Os}(\text{NO})\}^7$ étant instable dans nos conditions expérimentales) qui se situe dans un domaine de potentiel entre -1,57 et -1,38 V/ ESC.

Tableau 6. Les données électrochimiques pour les composés **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11** enregistrées dans CH₃CN à 293 K avec une électrode de carbone vitreux, 0,1 M (*n*-Bu₄N)PF₆ comme électrolyte support; tous les potentiels sont reportés par rapport à ECS, vitesse 0,1V/s. E_{pc} : potentiel de pic cathodique (V) ; E_{1/2} : potentiel de demi vague potentiel (V). ^aPic réversible. ^bPic irréversible. Ferrocene/ferricinium (E_{1/2}^{ox} = + 0,425 V).

complexe	Potentiel de pic cathodique (E _{pc})	Potentiel de pic anodique (E _{1/2})
1	-2,21 ^b	-1,38 ^b / 1,50 ^a
2	-1,91 ^b	-1,39 ^b / 1,38 ^a
5	-2,24 ^b	-1,39 ^b / 1,41 ^a
6	-2,61 ^b	-1,49 ^b / 1,46 ^a
9	-2,33 ^b	-1,57 ^b / 1,36 ^a
11	Non identifi.	-1,45 ^b / 1,36 ^a

Toute chose égale par ailleurs, ces valeurs des potentiels de pic montrent que la réduction des isomères *cis* (composés **6**, **9**, **11**) semble plus difficile que les isomères *trans*. Dans le cas de **1** et **2**, les valeurs des potentiels de pics sont à peu près identiques. Le deuxième pic de réduction se situe dans un intervalle entre -2,61 et -1,91 V/ ESC, qui peut être attribué à la réaction {Os(NO)}⁷ → {Os(NO)}⁸. Comme précédemment, si on compare les valeurs de potentiel de pic de cette réaction, on constate que la réduction électrochimique des isomères *cis* (composés **1**, **6**, **9**) semble encore plus difficile pour les isomères *trans* (**2**, **5**). Cependant, dans le cas de **6**, le pic très large informe d'un processus compliqué ou, la cinétique de transfert d'électron doit probablement être prise en compte. En conclusion, pour les dérivés Bu₄N[Os(NO)Cl₄(azole)], il semblerait que les isomères *cis* sont thermodynamiquement moins réductibles que les isomères *trans*. En oxydation, la voltampérométrie cyclique montre toujours un processus monoélectronique réversible avec un potentiel de demi vague (E_{1/2}) compris entre 1,36 à 1,50 V/ECS. Ce processus d'électro-oxydation peut être attribué à la réaction {Os(NO)}⁶ ↔ {Os(NO)}⁵. Si on compare les valeurs de potentiel de demi-vague, on constate que le processus redox de l'isomère *trans* (composés **2**, **5**) a lieu à un potentiel inférieur à celui de son analogues *cis*. Cela signifierait que la différence d'énergie entre la HOMO et la LUMO serait moins importante pour l'isomère *trans* que pour l'isomère *cis*, d'où une plus grande stabilité thermodynamique de ce dernier. Cette hypothèse semble conforme avec la synthèse des complexes **9**, **11** où l'on obtient uniquement l'isomères *cis*. Un comportement similaire a été rapporté dans la

littérature pour $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]^{2-}$.^{142,143}

Du fait de la réversibilité du processus d'oxydation, nous avons décidé d'approfondir l'étude électrochimique. Ainsi, la coulométrie exhaustive des complexes **2**, **5**, **6**, **9**, **11** menée à 1,8 V a confirmé le processus monoélectronique. La voltampérométrie cyclique réalisée après électrolyse a montré la même allure que pour l'entité initiale. Cela prouve la stabilité des espèces Ox/red sous atmosphère inerte. En revanche, la coulométrie du composé **1** a mis en évidence un processus biélectronique, opposé aux résultats obtenus en voltampérométrie cyclique. Contrairement au cas précédent, l'espèce oxydée n'était pas stable à l'échelle du temps de l'électrolyse. Dans nos conditions expérimentales, l'espèce oxydée a probablement été transformée dans un processus réactionnel complexe de type ECE (Electrochimie/Chimie/Electrochimie) conduisant à un nouveau transfert monoélectronique. Dans ce cas, la réaction chimique est lente à l'échelle de temps de la voltampérométrie cyclique mais non négligeable en coulométrie exhaustive.

Pendant l'électrolyse, la solution a changé de couleur: du rouge au violet en passant par le bleu. Les spectres électroniques de tous les complexes (**1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11**) représentés sur la **Figure 24** ont été enregistrés avant et après l'électrolyse.

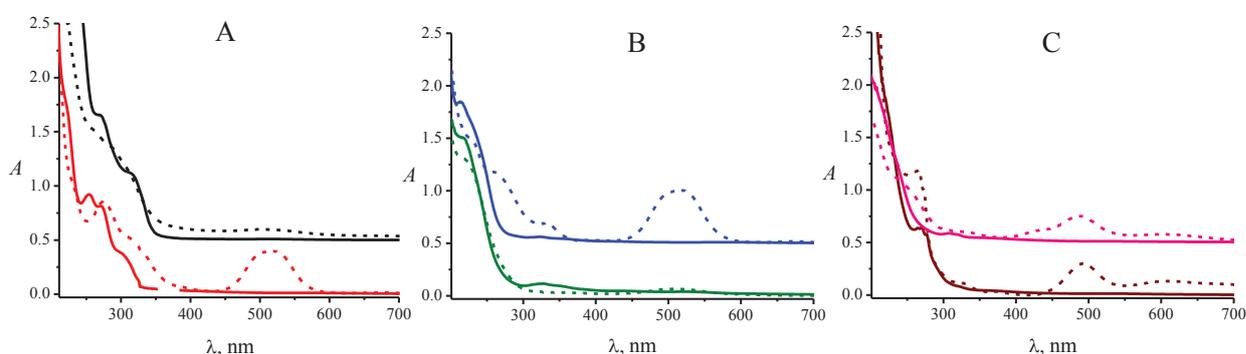


Figure 24. Spectres UV-vis avant (trait plein) et après (tiret) électrolyse pour les composés avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]$: A = **1** (noir), **2** (rouge); B = **5** (bleu), **6** (vert); C = **9** (rose), **11** (brun).

Pour les complexes **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11**, il apparaît après électrolyse une nouvelle bande vers 500 nm (caractéristique de l'espèce $\{\text{Os}(\text{NO})\}^{4+}$), qui est plus intense pour **2**, **5**, **9**, **11** que pour **1**, **6**.

¹⁴² D. Ooyama, N. Nagao, H. Nagao, Y. Sugimoto, F. S. Howell, M. Mukaida, *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *261*, 45-52.

¹⁴³ (a) A. A. Svetlov, N. M. Sinitsyn, *Zhurnal Neorganicheskoi Khimii* **1986**, *31*, 2902-2914. (b) A. A. Svetlov, N. M. Sinitsyn, V. V. Kravchenko, *Zhurnal Neorganicheskoi Khimii* **1990**, *35*, 336-343.

2.8. Activité antiproliférative

Le but de notre travail est de tester les composés obtenus sur des cellules cancéreuses. Pour permettre ces tests, il faut respecter 3 conditions indispensables:

- Les synthèses doivent être reproductibles et les composés doivent être stables dans la solution aqueuse (les tests sont faits en solution aqueuse et parfois, pour favoriser la solubilité, on ajoute jusqu'à 1 % de DMSO).
- La pureté du composé déterminée par l'analyse élémentaire doit être maximale, (C, H, N avec une déviation de 0,5 % pour chaque élément).
- La solubilisation du composé dans la solution aqueuse (ou 1 % de DMSO) doit être au minimum de 0,5 M.

Beaucoup de composés sont déboutés du fait que ces conditions ne sont pas respectées. Dans notre cas, pour les composés **1**, **2**, **5**, **6**, **9**, **11**, nous avons été obligés de procéder à des réactions d'échange de cation pour remplir le critère de solubilité. Les tests *in vitro* pour les composés **3**, **4**, **7**, **8**, **10**, **12** ont été menés à l'Institut de Chimie Inorganique, de l'Université de Vienne dans le groupe de Dr. Michael Jakupec dans le cadre du projet France-Autriche (VILYGRu).

L'activité antiproliférative des isomères *cis* et *trans* d'osmium nitrosyle avec des azoles ont été étudiés sur les lignes de cellules A549 (cancer du poumon), CH1 (cancer de l'ovaire) et SW480 (cancer du colon). Les valeurs de la **concentration inhibitrice médiane (CI₅₀)** sont présentées dans le **Tableau 6**.

De tous les composés d'osmium nitrosyle, que nous avons synthétisé dans ce chapitre, le plus actif est le H₂ind[cis-Os(NO)Cl₄(Hind)], avec une concentration active < 100 µM. Les composés **3**, **4**, **4'** ont une activité sur les souches de cellule CH1 à des concentrations relativement élevés de l'ordre de 100 µM. Pour les autres complexes nous avons obtenus des résultats antiprolifératifs peu intéressants. La comparaison entre les activités de l'isomères *cis* et de l'isomère *trans* ne peut pas être généralisée. Ainsi, dans le cas de **3** et **4**, leur cytotoxicité est similaire. En revanche, entre **3'** et **4'** ou entre **3** et **3'**, la différence est notable. Ceci expliquerait des mécanismes d'activité antiprolifératifs différents.

De façon générale, la comparaison entre les composés du ruthénium et ses analogues d'osmium, a montré une activité antiproliférative relative similaire.^{144,145,146,147,148,149,150}

¹⁴⁴ W. F. Schmid, R. O. John, G. Mühlgassner, P. Heffeter, M. A. Jakupec, M. Galanski, W. Berger, V. B. Arion, B. K. Keppler, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6343–6355.

Tableau 7. Les valeurs de CI_{50} obtenues par le test MMT (le temps d'exposition 96h) pour les composés **3**, **3'**, **4**, **4'**, **7**, **8**, **10**, **12** sur trois lignes des cellules cancéreuses humaines A549, CH1 et SW480.

Nr.	Composé	CI_{50} , μM		
		A549	CH1	SW480
3	Na[cis-Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	>640	111 ± 45	630 ± 71
3'	H ₂ ind[cis-Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	128 ± 18	48 ± 14	43 ± 6
4	Na[trans-Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	>640	122 ± 14	362 ± 2
4'	H ₂ ind[trans-Os(NO)Cl ₄ (Hind)]	>640	145 ± 12	450 ± 35
7	H ₂ pz[trans-Os(NO)Cl ₄ (Hpz)]	>640	>640	>640
8	H ₂ pz[cis-Os(NO)Cl ₄ (Hpz)]	>640	>640	>640
10	H ₂ im[cis-Os(NO)Cl ₄ (Him)]	>640	348 ± 112	>640
12	Na[cis-Os(NO)Cl ₄ (Hbzim)]	>640	316 ± 57	>640

Une exception doit être mentionnée pour le composé $[MCl_2(Him)_4]Cl$ ($M = Ru(III)$ et $Os(III)$, et $Him = imidazole$) où le complexe du ruthénium est 30 fois plus cytotoxique que l'osmium.¹⁵¹ Cette différence importante observée dans ce travail a été expliquée par les valeurs distinctes des constantes de dissociation et d'hydrolyse dans le milieu biologique.¹⁵²

L'oxyde nitrique est une molécule polyfonctionnelle impliqué dans certains processus physiologiques et pathologiques jouant aussi un rôle clé dans le métabolisme cellulaire. Il semblerait que NO peut réagir avec le système de la respiration mitochondriale et induire un

¹⁴⁵ R. Schuecker, R. O. John, M. A. Jakupec, V. B. Arion, B. K. Keppler, *Organometallics* **2008**, 27, 6587–6595.

¹⁴⁶ L. K. Filak, G. Mühlgassner, M. A. Jakupec, P. Heffeter, W. Berger, V. B. Arion, B. K. Keppler, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2010**, 15, 903–918.

¹⁴⁷ L. K. Filak, G. Mühlgassner, F. Bacher, A. Roller, M. Galanski, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, V. B. Arion, *Organometallics* **2011**, 30, 273–283.

¹⁴⁸ M. Hanif, A. A. Nazarov, C. G. Hartinger, W. Kandioller, M. A. Jakupec, V. B. Arion, P. J. Dyson, B. K. Keppler, *Dalton Trans.* **2010**, 39, 7345–7352.

¹⁴⁹ G. Mühlgassner, C. Bartel, W. F. Schmid, M. A. Jakupec, V. B. Arion, B. K. Keppler, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, 116, 180–187.

¹⁵⁰ I. N. Stepanenko, M. S. Novak, G. Mühlgassner, A. Roller, M. Hejl, V. B. Arion, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Inorg. Chem.* **2011**, 50, 11715–11728.

¹⁵¹ Stepanenko, I. N.; Krokhin, A. A.; John, R. O.; Roller, A.; Arion, V. B.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2008**, 47, 7338–7347.

¹⁵² G. E. Büchel, A. Gavrilita, M. Novak, S. M. Meier, M. A. Jakupec, O. Cuzan, C. Turta, J. B. Tommasino, E. Jeanneau, G. Novitchi, D. Luneau, V. B. Arion, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 6273–6285.

stress oxydatif.^{153,154,155,156} Notre résultats ainsi que ceux rapportés,¹⁵⁷ indiquent que la liaison Ru–NO est plus labile que Os–NO.

2.9. Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons présenté la synthèse et une étude approfondie pour les complexes avec la formule générale (cation)[Os(NO)Cl₄(azole)], ou azole = indazole, pyrazole, imidazole ou benzimidazole et le cation associé peut être Bu₄N⁺, Na⁺ ou azolium. Nous avons établi également une comparaison entre les isomères *cis* et *trans*.

Le composé de départ (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅] a été obtenu à partir d'OsO₄ lequel a été utilisé pour la synthèse des isomères *cis* et *trans* de Bu₄N[Os(NO)Cl₄(azole)]. Pour la solubilisation de ces produits en milieu aqueux (condition nécessaire pour les tests anticancéreux), on a procédé à un échange de cation soit par Na⁺, soit par l'ion azolium. Le plus difficile dans cette partie de synthèse a été la séparation (parfois mécanique) des isomères *cis* et *trans*, afin d'obtenir des composés purs pour les analyses permettant la caractérisation.

Les complexes avec Bu₄N⁺ ont été obtenus sous forme de monocristaux, permettant la détermination de la structure cristalline par diffraction des rayons X. Tous les composés présentés dans ce chapitre ont également été caractérisés par différentes méthodes :

- La spectroscopie IR et Raman (ceux avec Bu₄N⁺), permettant de caractériser la présence du NO;
- la spectroscopie RMN de ¹H, ¹³C, ¹⁵N en 1D et 2D afin d'établir la structure du composé en solution ainsi que sa pureté;
- la spectroscopie de masse donnant une information sur la masse exacte mais également sur la stabilité des molécules en solution;
- l'électrochimie pour la connaissance des processus redox en solution, paramètre important pour la détermination des mécanismes lors des réactions biochimiques *in vitro*;
- la spectroscopie UV-vis pour établir la stabilité (résistance à la solvolysé) et la

¹⁵³ B. Bonavida, S. Khineche, S. Huerta-Yepez, H. Garbán, *Drug Resistance Updates* **2006**, *9*, 157–173.

¹⁵⁴ B. Brune, A. Knethen, K. B. Sandau, *Eur. J. Pharmacol.* **1998**, *351*, 261–272.

¹⁵⁵ T. A. Heinrich, G. Poelhsitz, R. I. Reis, E. E. Castellano, A. Neves, M. Lanznaster, S. P. Machadof, A. A. Batista, C. M. A. Costa-Neto, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3616–3622.

¹⁵⁶ S. Mocellin, V. Bronte, D. Nitti, *Med. Res. Rev.* **2007**, *27*, 317–352.

¹⁵⁷ M. J. Cleare, *Platinum Metals Rev.* **1968**, *12*, 131–133.

solubilité des composés dans différent solvants (aqueux et non aqueux).

- Tests anticancéreux, pour les composés aqua-solubles/ stables sur trois souches de cellules humains (A549 – cancer du poumon, CH1 – cancer de l’ovaire, SW480 – cancer du colon), où le plus actif enregistré à ce jour est le **H₂ind[cis-Os(NO)Cl₄(Hind)]** contre CH1 et SW480 avec un CI₅₀ de l’ordre de 40 μM.

**3. Chapitre III: Etude cinétique de l'isomérisation
trans/cis des complexes de $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ par
spectroscopie RMN**

3.1. Introduction

La réactivité et les propriétés biologiques peuvent varier considérablement selon l'isomère considéré. L'exemple classique est l'isomère cisplatine, qui est le premier complexe anticancéreux, tandis que l'isomère trans ne présente aucune propriété biologique.^{158,159} Les composés à base de platine utilisés à ce jour en clinique sont également les isomères *cis* : *cis*-diamine(cyclobutane-1,1-dicarboxylato-*O,O'*)platinum(II) (carboplatin) et (1*R*,2*R*)-diaminocyclohexane-oxalatoplatinum(II) (oxaliplatin). L'isomérisie *cis* a été longtemps considérée comme une condition indispensable à l'activité anticancéreuse,¹⁶⁰ et par conséquent, les complexes de configuration *trans* attiraient moins d'attention. Toutefois, la situation a changé récemment, dès lors que plusieurs classes de composés à configuration *trans* ont été rapportées dans la littérature comme ayant une activité biologique plus élevée que leur analogue *cis*.¹⁶¹ De plus, certains d'entre eux présentent une activité antitumorale « *in vivo* ». ¹⁶² Les essais antiprolifératifs sur le cancer du colon (SW 480) ont montré que l'isomère *trans* du complexe Pt(II)-oxime-acétone et Pt(II)-oxime-3-pentanone est de 50 fois plus élevé que l'isomère *cis*. Ces isomères *trans* agissent par un clivage de l'ADN, non observé pour les isomères *cis*.¹⁶³

A ce stade, de nombreuses questions se posent concernant les configurations biologiquement actives. Dans notre travail, nous nous intéressons surtout aux complexes d'osmium et de ruthénium. L'exploration des relations structure – activité biologique pour ces complexes n'a pas jamais réellement été développée probablement à cause du nombre réduit d'entités actives. Seuls, quelques exemples rares ont été rapportés dans la littérature,^{122,164,165} ainsi il a été trouvé que l'activité antiproliférative de (H₂trz)[*trans*-RuCl₄(Htrz)₂] (où Htrz = 1*H*-1,2,4-triazole), est supérieure à celle de l'isomère *cis* sur trois lignes de cellule humaines SW480 (cancer du colon), HT29 (cancer du colon) et SK-BR-3

¹⁵⁸ B. Rosenberg, L. Van Camp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature*, **1969**, 385, 222.

¹⁵⁹ B. K. Keppler, *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*, Wiley-VCH, Weinheim, **1993**.

¹⁶⁰ (a) M. J. Cleare, J. D. Höschele, *Plat. Met. Rev.*, **1973**, 17, 2-13. (b) M. J. Cleare, J. D. Höschele, *Bioinorg. Chem.*, **1973**, 2, 187-210.

¹⁶¹ Y. Y. Scaffidi-Domianello, K. Meelich, M. A. Jakupec, V. B. Arion, V. Y. Kukushkin, M. Galanski, B. K. Keppler, *Inorg. Chem.*, **2010**, 49, 5669-5678.

¹⁶² M. Coluccia, A. Nassi, A. Boccarelli, D. Giordano, N. Cardellicchio, D. Locker, M. Leng, M. Sivo, F. P. Intini, G. Natile, *J. of Inorg. Biochem.*, **1999**, 77, 31-35.

¹⁶³ C. Bartel, A. K. Bytzek, Y. Y. Scaffidi-Domianello, G. Grabmann, M. A. Jakupec, C. G. Hartinger, M. Galanski, B. K. Keppler, *J. of Biol. Inorg. Chem.*, **2012**, 17, 465-474.

¹⁶⁴ V. B. Arion, E. Reisner, M. Fremuth, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, V. Y. Kukushkin, A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chem.*, **2003**, 42, 6024-6031.

¹⁶⁵ S. Kolf, W. Preetz, *Zeitschrift Fur Anorganische Und Allgemeine Chemie* **1999**, 625, 411-416.

(cancer du sein).

En relation dans ce chapitre, nous présenterons l'étude cinétique de l'isomérisation *trans* ↔ *cis* du complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ (**Figure 25**) suivi par spectroscopie RMN. Nous montrerons leur stabilité thermodynamique relative et nous suggérons également un mécanisme d'isomérisation.

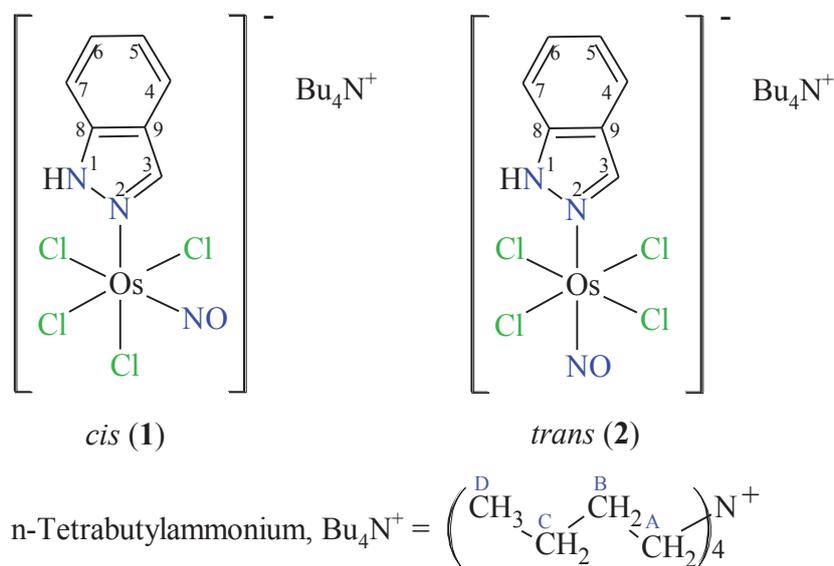


Figure 25. Composés présentés dans ce chapitre avec la numérotation des atomes introduite pour aider à la compréhension de l'attribution des signaux dans les spectres de RMN.

3.2. Etude cinétique par spectroscopie RMN

Le processus d'isomérisation est bien connu depuis longtemps dans la littérature.^{166,167,168,169,170,171,172,173,174,175,176,177,178,179,180,181,182} Les réactions d'échanges au

¹⁶⁶ R. A. Krause, K. Krause, *Inorg. Chem.* **1980**, *19*, 2600-2603.

¹⁶⁷ V. Ferreira, R. A. Krause, S. Larsen, *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *145*, 29-38.

¹⁶⁸ F. Breher, H. Ruediger, M. Mlakar, M. Rudolph, S. Deblon, H. Schonberg, S. Boulmaaz, J. Thomaier, H. Grutzmacher, *Chemistry-A European Journal* **2004**, *10*, 641-653.

¹⁶⁹ C. A. Mebi, B. J. Frost, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 7115-7120.

¹⁷⁰ M. Kakoti, S. Chaudhury, A. K. Deb, S. Goswami, *Polyhedron* **1993**, *12*, 783-789.

¹⁷¹ A. Dovletoglou, T. J. Meyer, *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 215-223.

¹⁷² V. I. Bakhmutov, J. Bertran, M. A. Esteruelas, A. Lledos, F. Maseras, J. Modrego, L. A. Oro, E. Sola, *Chemistry-a European Journal* **1996**, *2*, 815-825.

¹⁷³ V. I. Bakhmutov, M. Visseaux, D. Baudry, A. Dormond, P. Richard, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7316-7324.

¹⁷⁴ E. Guido, G. D'Amico, N. Russo, E. Sicilia, S. Rizzato, A. Albinati, A. Romeo, M. R. Plutino, R. Romeo, *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 2224-2239.

centre métallique ont été largement étudiés pour un grand nombre de métaux (Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt).^{183,184,185,186} En particulier, Les travaux du Pr. Merbach *et coll.* ont permis d'établir le graphe de la **Figure 27**.^{187,188}

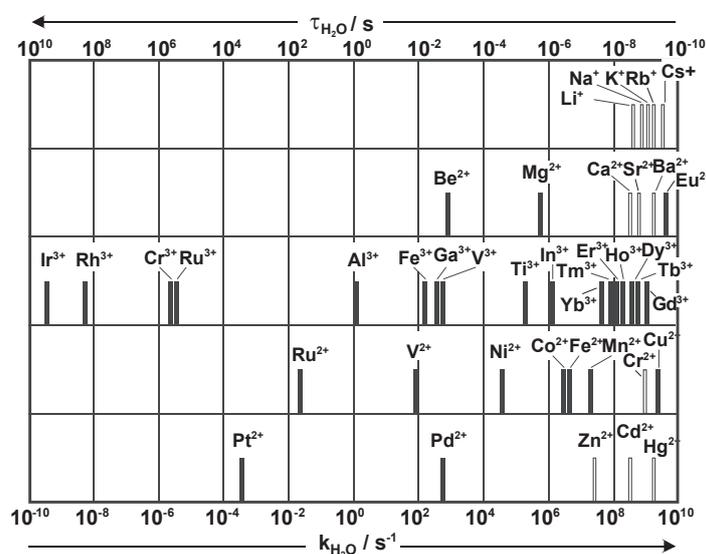


Figure 26. Durée de la vie ($\tau_{\text{H}_2\text{O}}$) et taux d'échange ($k_{\text{H}_2\text{O}}$) à 298K d'une molécule d'eau dans la première couche de coordination. Les barres épaisses indiquent les valeurs déterminées et les barres fines indiquent les valeurs déduites par les études des réactions d'échanges.

Ce graphe représente la durée de vie ($\tau_{\text{H}_2\text{O}}$) et la vitesse d'échange ($k_{\text{H}_2\text{O}}$) à 298 K, d'une molécule d'eau dans la première sphère de coordination du cation métallique

¹⁷⁵ R. P. Hughes, M. A. Meyer, M. D. Tawa, A. J. Ward, A. Williamson, A. L. Rheingold, L. N. Zakharov, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 747-756.

¹⁷⁶ G. Alibrandi, L. M. Scolaro, R. Romeo, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 4007-4013.

¹⁷⁷ B. Shafaatian, A. Akbari, S. M. Nabavizadeh, F. W. Heinemann, M. Rashidi, *Dalton Transactions* **2007**, 4715-4725.

¹⁷⁸ M. T. Ashby, *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 2000-2007.

¹⁷⁹ K. L. Lu, H. U. Lo, Y. C. Lin, Y. Wang, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 4499-4502.

¹⁸⁰ A. Haynes, J. McNish, J. M. Pearson, *Journal of Organometallic Chemistry* **1998**, *551*, 339-347.

¹⁸¹ F. Z. Yang, Y. H. Wang, M. C. Chang, K. H. Yu, S. L. Huang, Y. H. Liu, Y. Wang, S. T. Liu, J. T. Chen, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 7639-7644.

¹⁸² D. C. Smith, G. M. Gray, *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **2000**, 677-683.

¹⁸³ Rapaport, I.; Helm, L.; Merbach, A. E.; Bernhard, P.; Ludi, A., *Inorganic Chemistry* **1988**, *27*, 873-879.

¹⁸⁴ M. Steblerrothlisberger, W. Hummel, P. A. Pittet, H. B. Burgi, A. Ludi, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 1358-1363.

¹⁸⁵ L. Helm, G. M. Nicolle, A. E. Merbach, *Adv. Inorg. Chem.* **2005**, *57*, 327-379.

¹⁸⁶ L. Helm, A. E. Merbach, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1923-1960.

¹⁸⁷ F. Riblet, G. Novitchi, R. Scopelliti, L. Helm, A. Gulea, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 4194-4211.

¹⁸⁸ G. Novitchi, F. Riblet, L. Helm, R. Scopelliti, A. Gulea, A. E. Merbach, *Magn. Reson. Chem.* **2004**, *42*, 801-806.

considéré. Les cations les plus réactifs sont les métaux alcalins, alcalino-terreux et terres rares. On peut citer également des cations comme Co^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cr^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} . On peut considérer comme réactivité moyenne les éléments compris entre $k = 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ et 10^0 s^{-1} . Enfin, parmi les cations les moins réactifs, on distingue Pt^{2+} , Ru^{3+} , Rh^{3+} , Ir^{3+} . Dans ce diagramme les ions $\text{Os}^{2+} - \text{Os}^{4+}$ ne sont pas représentés. Cependant, on peut suggérer que leur réactivité est du même ordre de grandeur que celle des ions Pt et Ru. Cela signifierait que les composés d'osmium sont cinétiquement inertes et très stables. En outre, ils ont de faibles valeurs de constantes de vitesse d'échange. Ainsi, le processus d'isomérisation *cis* \leftrightarrow *trans* devrait être lent et induit par différents facteurs tels que la lumière, la pression, le transfert d'électrons et également la température.

Dans notre travail, nous avons remarqué que les réactions de monosubstitution du chlorure dans le complexe $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]^{2-}$ par un ligand de type azole conduisent, de manière générale, majoritairement à l'isomère *cis*. De plus, pour l'imidazole et le benzimidazole, seul l'isomère *cis* a été obtenu. Compte tenu de ces résultats expérimentaux, nous avons mené une étude approfondie pour comprendre ce phénomène. Pour ce faire, on a choisi le complexe $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ possédant deux isomères *cis* (**1**) et *trans* (**2**). Les résultats développés dans cette étude pourront être généralisées ensuite aux autres complexes d'osmium.

Pour réaliser cette étude, nous avons choisi la spectroscopie RMN. En effet, elle est appropriée pour caractériser les deux isomères et suivre leurs transformations réciproques.

La première étape consistait à attribuer sans ambiguïté les signaux pour chaque isomère. Pour ce faire, les spectres RMN ^1H en 1D et en 2D (COSY) ont été enregistrés. Nous avons pu attribuer les déplacements chimiques pour tous les protons de la molécule d'indazole coordonné sur l'osmium et pour chaque isomère *cis* et *trans* (voir le spectre RMN ^1H 2D **Figure 27**). L'attribution des signaux RMN de 1*H*-indazole coordonné a été effectuée à partir des spectres RMN ^1H corrélé avec celui de 1*H*-indazole non-coordonné.¹⁸⁹

¹⁸⁹ J. Elguero, A. Fruchier, E. M. Tjiou, S. Trofimenko, *Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii*, **1995**, 1159-1179.

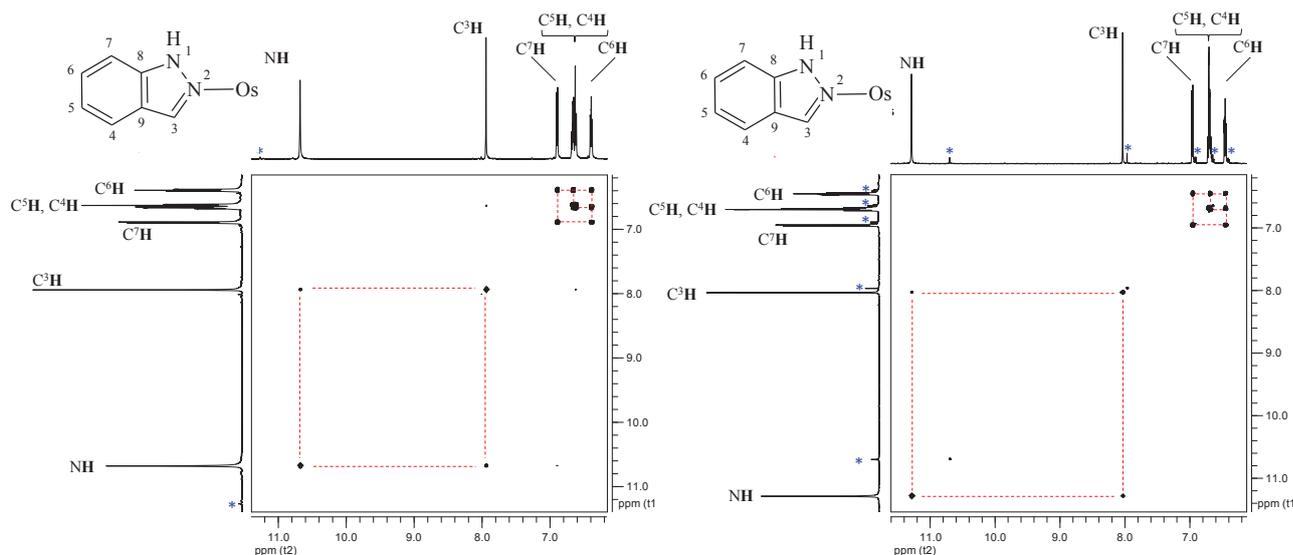


Figure 27. Spectres RMN ^1H , ^1H COSY à 500 MHz pour *trans* (gauche) et *cis* (droite) $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ dans $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$.

Pour mieux caractériser les complexes, nous avons enregistré les spectres (voir **Figure 28**) RMN de corrélation (HSQC) hétéronucléique (^1H , ^{13}C), d'où nous avons établi les déplacements chimiques et attribué les signaux pour chaque « C » du complexe. Les valeurs détaillées pour chaque signal RMN ^1H et ^{13}C dans DMSO- d_6 sont présentés dans le **Tableau 8**.

Tableau 8. Récapitulatif des signaux RMN ^1H et ^{13}C à 500,13 MHz et 125,77 MHz pour l'anion $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ dans DMSO- d_6 .

Anion / ^1H	CH^3	CH^4	CH^5	CH^6	CH^7	NH^1	
$[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (1)	8,62	7,78	7,49	7,26	7,91	13,49	
$[\text{trans-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (2)	8,58	7,76	7,52	7,23	7,90	13,00	
Anion / ^{13}C	C^3	C^4	C^5	C^6	C^7	C^8	C^9
$[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (1)	137,79	111,11	129,12	121,98	121,33	140,78	140,78
$[\text{trans-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (2)	138,30	111,63	129,39	122,11	121,56	139,69	120,26

Les spectres RMN ^1H , ^{13}C HSQC pour les isomères *cis* (droite) et *trans* (gauche), et pour le mélange (1/1) *trans/cis* (au centre) sont présentés sur la **Figure 28**. Grâce aux déplacements chimiques (pour ^1H et ^{13}C) différents entre les isomères *cis* et *trans*, les signaux RMN de leur mélange sont faciles à distinguer. Cela a permis la détermination des rapports des entités *cis* et *trans* dans des mélanges isomères obtenus au cours de l'étude cinétique ci-

dessous.

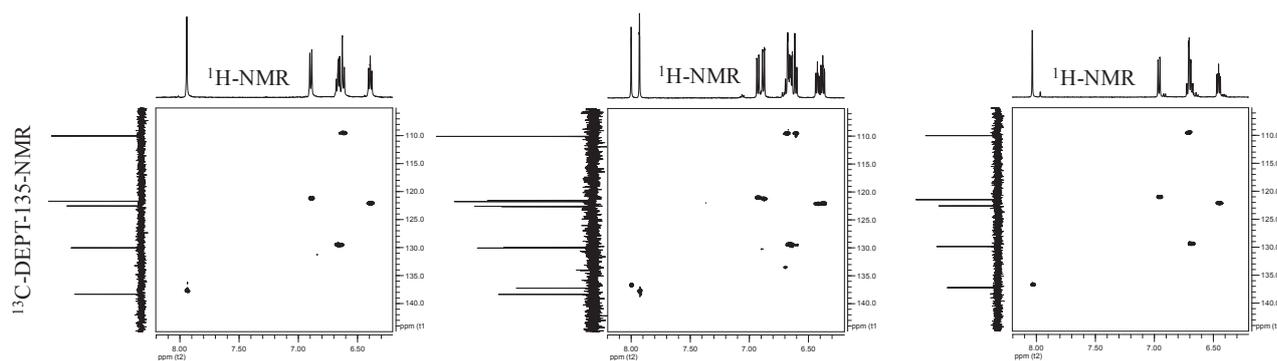


Figure 28. Spectres RMN ^1H , ^{13}C HSQC à 500 MHz pour *trans* (gauche), *cis* (droite) $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ et le mélange *trans/cis* (au milieu) pendant l'isomérisation dans la solution de $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$.

Pour des raisons de meilleure visualisation, nous avons agrandi et superposé la partie la plus importante des spectres RMN du proton pour chaque isomère (**Figure 29**). Ici, nous constatons une différence nette entre les déplacements chimiques des protons de NH et CH de l'indazole coordonné dans les isomères *cis* et *trans* (**Figure 29**). Ce phénomène permet de suivre le taux de chaque isomère dans un mélange et il sera utilisé pour l'étude de la cinétique d'isomérisation présenté plus loin.

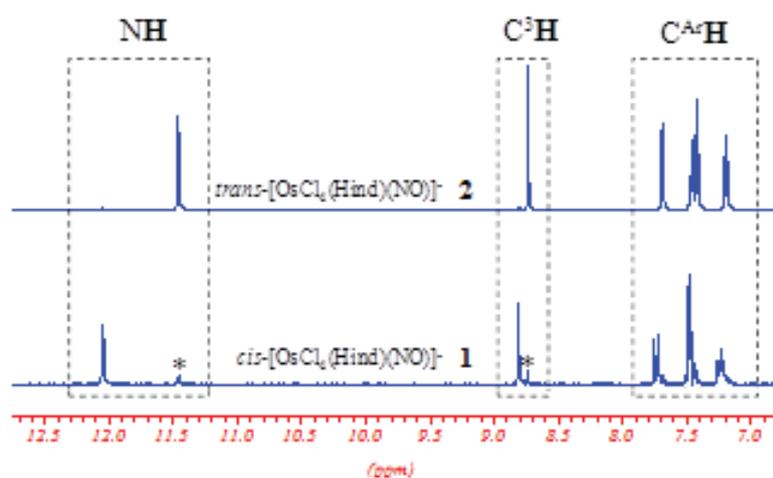


Figure 29. Le domaine sélectionné des spectres RMN ^1H (500 MHz, 298K) de $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ *cis* (**1**) et *trans* (**2**) en $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$.

Pour l'étude d'isomérisation nous avons été confrontée à de nombreuses contraintes, dont la première a été le choix du solvant dans la préparation des solutions de $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$. Nous avons retenu $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ pour des raisons de solubilité, de

propriétés non-coordinantes, et de température d'ébullition assez élevée (147 °C). Tous ces paramètres sont influents pour nos expériences. Le domaine de concentration pour cette étude a été fixé dans l'intervalle 0,0083 – 0,0250 mol/L, en adéquation d'une part, avec la cinétique de la transformation chimique et d'autre part, avec la qualité des signaux RMN. La température a été régulée dans un four pendant plusieurs jours afin d'obtenir une valeur précise et stable. Les spectres RMN ont été enregistrés à température ambiante. Dans ces conditions d'étude, le paramètre « temps » considéré fut la durée d'exposition dans le four, à une température contrôlée. Dans ce contexte, quatre températures ont été utilisées : 105 °C, 110 °C, 120 °C, 130 °C ; cette dernière étant à la limite de l'ébullition du solvant et la première à la limite de détection, du point de vue cinétique de la réaction d'isomérisation.

Une série de spectres RMN ^1H du complexe $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{trans-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ (2) à différents intervalles de temps à 120 °C sont présentés sur la **Figure 30**.

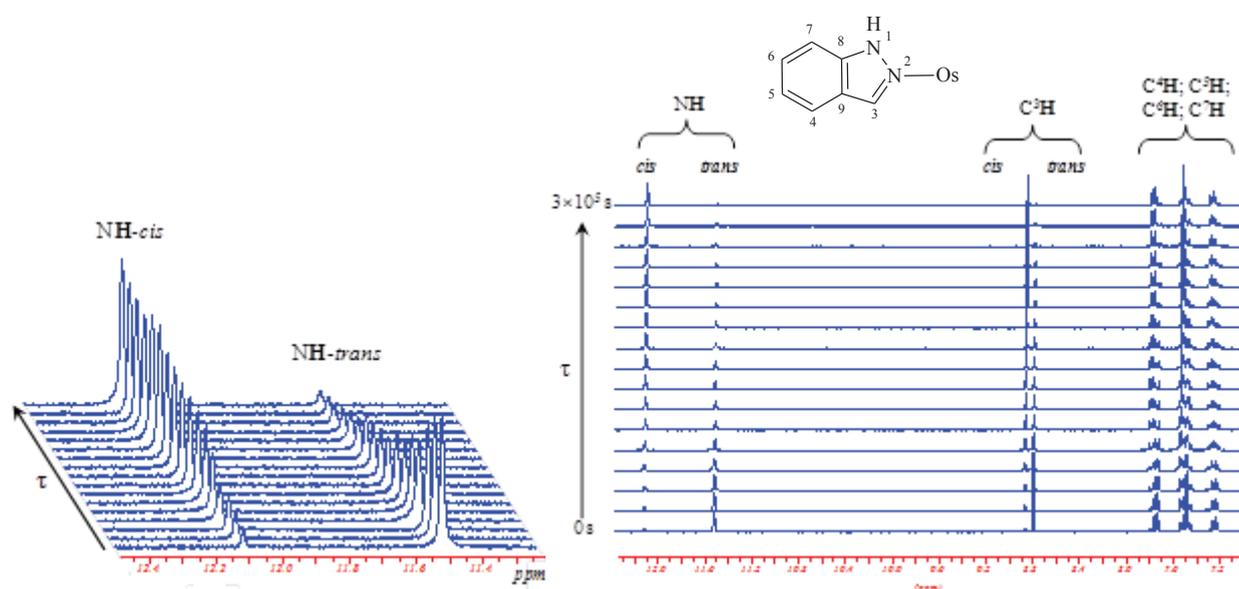


Figure 30. Evolution des spectres RMN ^1H (300 MHz) de $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{trans-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ (droit- la région aromatique, gauche – la région NH) en fonction du temps ($\tau = 0 \div 3 \times 10^5$ s) à 120 °C dans la solution ($C_{\text{cis+trans}} = 15,26$ mmol/L) de $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$.

À droite sont représentés des spectres RMN ^1H enregistrés pendant 96 h de chauffage et les signaux correspondant de chaque proton de la molécule illustré en haut. À gauche de cette même figure, la région en perspective correspondant aux signaux de NH pour *cis* et *trans* est agrandie. L'image en perspective des signaux du proton NH met en évidence, au cours du temps de la réaction d'isomérisation, la diminution de l'isomère *trans* et

l'augmentation concomitante de l'isomère *cis*. Un chauffage à 120 °C pendant 96 h conduisait à la conversion pratiquement totale d'isomère *trans* en *cis*.

D'après l'analyse cinétique, la conversion *cis* → *trans* devrait également intervenir, mais seule la transformation *trans* → *cis* a été étudiée expérimentalement. En effet, le taux de conversion *cis* → *trans* est extrêmement faible. Les intégrales des signaux caractéristiques NH et C³H de 1*H*-indazole coordonné dans les complexes *cis* et *trans*, ont été utilisées pour la détermination du taux d'échange. Les courbes d'évolutions du taux des isomères *cis* et *trans* vis-à-vis du temps d'exposition à différentes températures sont montrés sur la **Figure 31**.

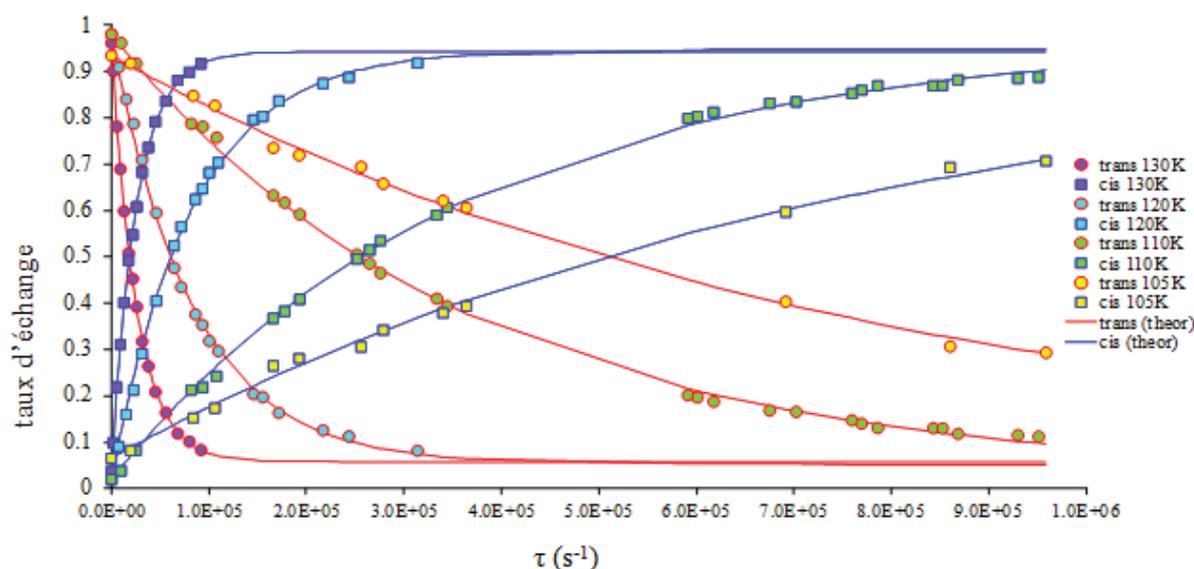


Figure 31. Cinétique d'isomérisation *trans* → *cis* pour $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$. Les tracés correspondent au meilleur ajustement des points expérimentaux pour un modèle théorique d'une réaction réversible d'ordre I aux températures indiquées.

Sur la **Figure 31** sont montrées les évolutions d'isomérisation à 4 températures (105 °C, 110 °C, 120 °C, 130 °C). Les lignes bleues montrent l'augmentation de la concentration d'isomère *cis* et parallèlement en rouge, la diminution de *trans*.

Les processus d'isomérisation *cis* ↔ *trans* semblaient compliqués. L'analyse minutieuse des données expérimentales afin de définir l'ordre et le type de réaction furent fastidieuses. Après les premiers résultats cinétiques à 105 °C et 110 °C, le processus a été attribué, dans un premier temps, à une réaction irréversible d'ordre I. Pour ces températures, la différence entre un modèle irréversible et réversible était à la limite des erreurs expérimentales.

Pour déterminer le bon modèle de notre réaction d'isomérisation, nous avons pris en

compte les données expérimentales à 120 °C et 130 °C. Sur la **Figure 32** sont représentés les taux d'échange (points rouges – *cis* et bleus – *trans*) selon les expériences à 120 °C, 130 °C, où les tirets correspondent à une réaction irréversible d'ordre I (attribué au processus après l'analyse des premières données à 105 °C et 110 °C) et le trait plein à une réaction réversible d'ordre I. Sur la **Figure 32**, nos résultats coïncident avec une réaction réversible d'ordre I, laquelle fut généralisée aux autres températures. Ainsi, le meilleur ajustement des données (voir **Figure 32**) fut le modèle théorique de la loi de vitesse d'isomérisation d'une réaction réversible d'ordre I.

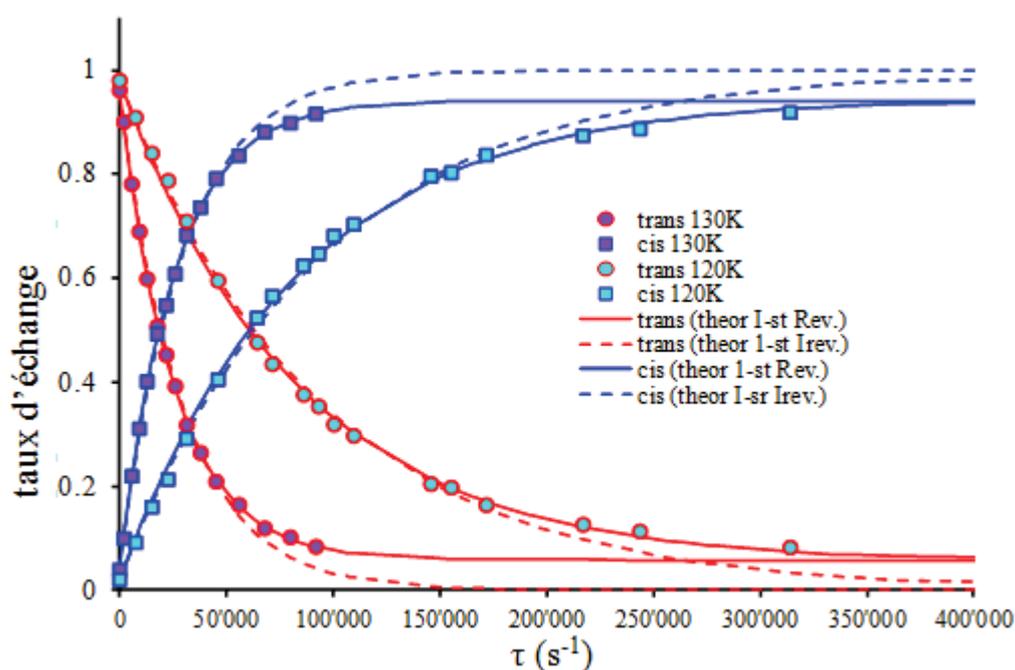


Figure 32. Cinétique d'isomérisation *trans* → *cis* de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ à 120 et 130 °C. Les lignes correspondent au modèle d'une réaction réversible d'ordre I et les tirets à une réaction irréversible d'ordre I aux températures respectives.

Par analogie à d'autres processus d'isomérisation rencontré dans la littérature,^{173,174,190,191,192} la cinétique de la réaction réversible d'ordre I confirmée pour le complexe d'osmium $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ se présente selon les équations suivantes (eq. 1 et 2) :



¹⁹⁰ D. S. Williams, G. M. Coia, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.*, **1995**, *34*, 586-592.

¹⁹¹ B. J. Bae, J. E. Park, Y. Kim, J. T. Park, I. H. Suh, *Organometallics*, **1999**, *18*, 2513-2518.

¹⁹² F. A. Cotton, E. V. Dikarev, W. Y. Wong, *Inorg. Chem.*, **1997**, *36*, 3268-3276.

, où A = l'isomère *trans*, B = l'isomère *cis*, k_1 = constant de vitesse direct, k_{-1} = constant de vitesse inverse.

$$-\frac{dA_\tau^T}{d\tau} = \frac{dB_\tau^T}{d\tau} = k_1 A_\tau^T - k_{-1} B_\tau^T \quad \text{eq2}$$

, où A_τ^T / B_τ^T = la concentration d'isomère *trans* / *cis* au temps « τ » à la température T.

L'intégration de l'équation **eq2** exprimé en taux d'échange, donne les équations **eq3** (pour *trans*) et **eq4** (pour *cis*) montré ci-dessous :

$$\left[\frac{A_\tau^T}{A_\tau^T + B_\tau^T} \right] = \left[\frac{A_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{1}{k_1 + k_{-1}} \right) (k_{-1} + k_1 e^{-(k_1 + k_{-1})\tau}) \right\} \\ + \left[\frac{B_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{k_{-1}}{k_1 + k_{-1}} \right) (1 - e^{-(k_1 + k_{-1})\tau}) \right\} \quad \text{eq3}$$

$$\left[\frac{B_\tau^T}{A_\tau^T + B_\tau^T} \right] = \left[\frac{B_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{1}{k_1 + k_{-1}} \right) (k_1 + k_{-1} e^{-(k_1 + k_{-1})\tau}) \right\} \\ + \left[\frac{A_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{k_1}{k_1 + k_{-1}} \right) (1 - e^{-(k_1 + k_{-1})\tau}) \right\} \quad \text{eq4}$$

, où A_0^T / B_0^T = la concentration initiale d'isomère *trans* / *cis*.

L'évolution de la concentration des isomères *trans*/*cis* en fonction du temps dans le domaine de températures 105–130 °C a été analysée selon ce modèle (équations 3-4)^{193,194} permettant d'estimer les valeurs de constante de vitesse. Dans le **Tableau 9** sont présentés les valeurs de constante de vitesse d'isomérisation *trans* → *cis*, ceux de *cis* → *trans* déduit par la méthode indirect, et les constantes d'équilibre de la transformation, à 4 températures (105, 110, 120 et 130 °C).

Les constantes de vitesse obtenues, se situent dans un intervalle $10^{-6} - 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ pour le processus *trans* → *cis* et de $10^{-8} - 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ pour le processus *cis* → *trans* dans la région de 100 – 130 °C. Ces données confirment encore une fois l'hypothèse de la faible réactivité de l'osmium établi par Pr. Merbach *et coll.*.

¹⁹³ J. D. Atwood, *Inorganic and Organometallic Reaction Mechanisms*. WILEY-VCH: Weinheim, 1997; p 312.

¹⁹⁴ B. H. J. Bielski, C. Capellos, *Kinetic systems; mathematical description of chemical kinetics in solution*. New York, RE Krieger: 1980.

Tableau 9. Constantes k (s^{-1}) avec leurs déviations standard dans les parenthèses et K à différentes températures pour les réactions d'isomérisation de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ *cis* (1) et *trans* (2) en $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$. ^(a) Les paramètres cinétiques ont été obtenus à partir de la loi de la réaction réversible d'ordre I, à partir des données de la conversion *trans* \leftrightarrow *cis*.

Composé	processus	$k_{(105\text{C})} \times 10^{-6}$	$k_{(110\text{C})} \times 10^{-6}$	$k_{(120\text{C})} \times 10^{-6}$	$k_{(130\text{C})} \times 10^{-6}$
$[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (1)	<i>cis</i> \rightarrow <i>trans</i> ^a	0,04(1)	0,08(1)	0,6(1)	2,3(2)
$[\text{trans-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (2)	<i>trans</i> \rightarrow <i>cis</i>	1,26(1)	2,68(2)	11,4(1)	36,6(7)
$[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$	$K = \frac{k_{c-t}}{k_{t-c}}$	0,03	0,03	0,05	0,06

A partir des valeurs de constantes de vitesse (k_f et k_r) à différentes températures, il a été possible de calculer les paramètres d'activation (ΔH^\ddagger et ΔS^\ddagger) par l'équation d'Eyring (eq. 5) ci-dessous :

$$\ln \frac{k}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \cdot \frac{1}{T} + \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad \text{eq5}$$

, où k = constant de vitesse, ΔH^\ddagger = enthalpie d'activation, ΔS^\ddagger = entropie d'activation, R = constante universelle des gaz parfaits ($R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$), k_B = constante Boltzmann, h = constante de Planck, T = température absolue (K).

Cette équation peut être représentée comme une simple expression d'ordre 1 de type $F(x) = ax + b$ (a = la pente et b = ordonnée à l'origine), où dans ce cas peut être attribué : « $F(x)$ » à $\ln(k/T)$, « a » à $-\frac{\Delta H^\ddagger}{R}$, « x » à $\frac{1}{T}$ et « b » à $(\ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R})$. Les valeurs obtenues pour les constantes de vitesse de la réaction d'isomérisation *cis* \leftrightarrow *trans* ont été introduites dans l'équation d'Eyring. La représentation graphique (**Figure 33**) de la loi d'Eyring paramétré, montrent les fonctions d'isomérisation *trans* \rightarrow *cis* (triangles bleu) et *cis* \leftrightarrow *trans* (carrés rouge). On constate que le premier processus a lieu aux énergies d'activation plus basses.

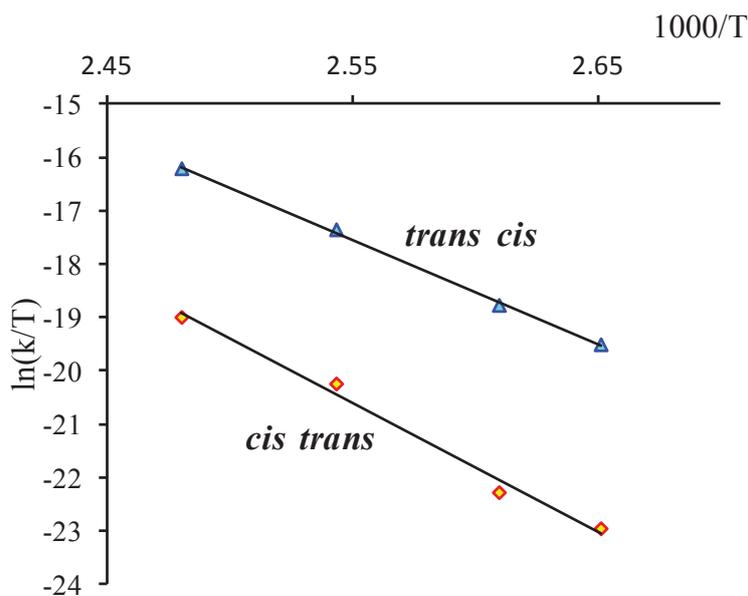


Figure 33. Les courbes d'Eyring pour la réaction d'isomérisation de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ *trans* à *cis* (Δ bleu) et *cis* à *trans* (\square rouge) dans $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$. Les lignes sont les meilleurs affinements des paramètres d'activation du **Tableau 10**.

Grâce à la représentation graphique (**Figure 33**) de la loi d'Eyring, il a été possible de calculer les paramètres thermodynamiques d'activation (la pente donne ΔH^\ddagger et l'ordonnée à l'origine ΔS^\ddagger), qui sont introduit dans le **Tableau 10**. L'énergie d'activation de Gipp's (ΔG^\ddagger) à 25 °C et 110 °C, donnée dans le **Tableau 10**, a été calculé selon l'équation de Gipp's : $\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$ (où, T, P = const.).

Tableau 10. Les paramètres d'activation (ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger , ΔG^\ddagger) pour le processus d'isomérisation de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ *cis* (1) et *trans* (2) en $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$. L'estimation de k_1 et k_{-1} a été faite par l'équation Eyring (eq 5). ^(a) Les paramètres cinétiques ont été obtenus à partir de loi de la réaction réversible d'ordre I, à partir des données de la conversion *trans* à *cis* de (2).

Composé	processus	ΔH^\ddagger (kJ/mol)	ΔS^\ddagger (J/(mol·K))	ΔG^\ddagger (25C) (kJ/mol)	ΔG^\ddagger (110C) (kJ/mol)
$[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (1)	<i>cis</i> → <i>trans</i> ^(a)	200,7±0,7	142,7±8,9	161,7	146,0
$[\text{trans-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]^-$ (2)	<i>trans</i> → <i>cis</i>	168,2±0,6	85,4±3,9	144,9	135,5

Les valeurs (**Tableau 10**) de l'enthalpie d'activation ΔH^\ddagger , l'entropie d'activation et de l'énergie Gibbs de l'isomérisation $cis \leftrightarrow trans$ sont très grandes, ce qui nous confirme encore une fois la faible réactivité de ce complexe d'osmium.

Dans la littérature, nous avons trouvé pour l'isomérisation $trans \rightarrow cis$ du complexe $[\text{Os}(\text{tpy})\text{Cl}_2(\text{N})]^+$ (où tpy = terpyridine), les valeurs $\Delta H^\ddagger = 78 \pm 8 \text{ kJ/mol}$ et $\Delta S^\ddagger = 79 \pm 10 \text{ J/mol}\cdot\text{K}$.¹⁸⁴ Si on compare ces valeurs avec les nôtres, on peut dire que les valeurs d'enthalpie et d'entropie de l'isomérisation $trans \rightarrow cis$ sont presque deux fois plus élevée.

Pour déterminer du point de vue thermodynamique, quel processus d'isomérisation $cis \leftrightarrow trans$ est plus favorable énergétiquement, nous avons représenté le diagramme d'énergie d'activation (enthalpie et entropie) en fonction des coordonnées de réactions (voir **Figure 34**). Dans ce diagramme (**Figure 34**), on constate que la différence entre l'enthalpie du complexe cis et $trans$ donne une valeur assez grande ($\Delta H^\circ = 32,5 \text{ kJ/mol}$) qui confirme la stabilité thermodynamique de l'isomère cis . La différence entre l'entropie du processus d'isomérisation $cis \leftrightarrow trans$ donne une valeur de $57,3 \text{ J/mol}$ prouvant l'idée exposée au-dessus. Enfin, la détermination de la constante d'équilibre du processus $cis \leftrightarrow trans$ confirme la grande stabilité thermodynamique de l'isomère cis : les constantes d'équilibre de la transformation $cis \rightarrow trans$ ont des valeurs très basses situées entre $0,03 - 0,06$ (voir le **Tableau 9**) et la transformation en isomère cis est presque complète (voir **Figure 31**).

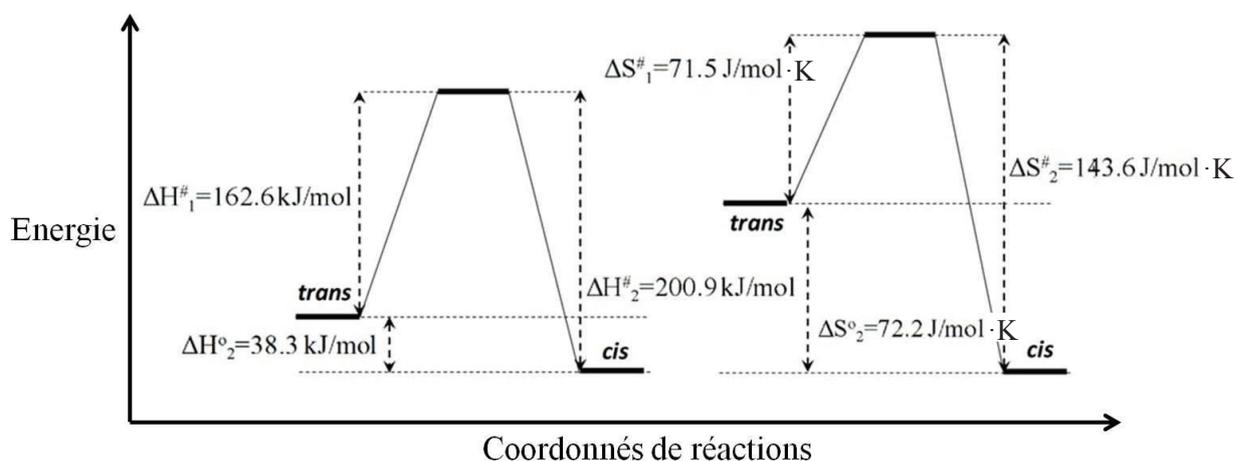


Figure 34. Diagramme des énergies d'activation (ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger , ΔH° et ΔS°) pour l'isomérisation $cis \leftrightarrow trans$.

Le mécanisme d'isomérisation du complexe $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ semble être très compliqué et pose la question de savoir si le mécanisme est de type : dissociatif, associatif ou « twist ».

Une étude similaire a été faite pour un complexe analogue de ruthénium (Bu₄N)[Ru(NO)Cl₄(Hind)]. De plus, cette étude expérimentale a été complétée avec les calculs théoriques (DFT) sur le mécanisme d'isomérisation. Ces calculs ont montré que parmi les trois mécanismes possibles d'isomérisation, seul le mécanisme dissociatif correspond au mieux aux données expérimentales.¹⁹⁵ Comparant les résultats cinétiques et les paramètres thermodynamiques de l'isomérisation *cis* ↔ *trans* pour les complexes analogues d'osmium et du ruthénium, nous avons remarqué que leur comportement est similaire. Par conséquent, il semble que le mécanisme d'isomérisation *cis* ↔ *trans* pour le complexe (Bu₄N)[Os(NO)Cl₄(Hind)] est de type dissociatif.

3.3. Etude électrochimique

A partir des études citées précédemment, sur le processus d'isomérisation *cis* ↔ *trans*, on peut penser que différents facteurs physico-chimiques peuvent induire la réaction d'isomérisation : la lumière, la pression, le transfert électronique et la température. L'aspect thermodynamique a déjà été étudié par les études RMN en fonction de la température. Cependant, ils nous semblent intéressants de déterminer si le transfert d'électron à une électrode peut jouer un rôle sur la réaction d'isomérisation.

Pour les complexes **1** et **2**, des études d'électrochimie ont été menées. La voltampérométrie cyclique montre deux processus réversibles de même intensité mais à deux potentiels différents (voir **chapitre 2**) pour chaque isomère **1** et **2**. Chacun d'eux se distingue parfaitement dans un mélange équimolaire de **1** et **2** (**Figure 35 (A)**). Ainsi, le tracé des voltammogrammes pourrait permettre de distinguer facilement chaque entité de manière qualitative et quantitative, et par conséquent, suivre la réaction d'isomérisation. De plus, le fait d'avoir un système réversible montre la stabilité de l'espèce après transfert d'électron.

¹⁹⁵A. Gavriluta, G. E. Büchel, L. Freitag, G. Novitchi, J. B. Tommasino, E. Jeanneau, P. S. Kuhn, L. González Herrero, V. B. Arion, D. Luneau, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 6260-6272.

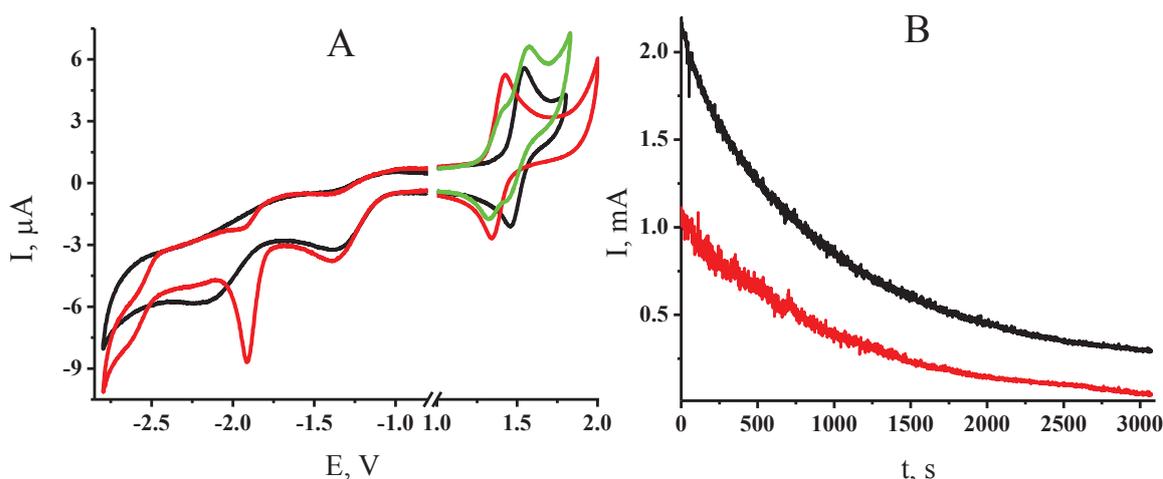


Figure 35. (A) Voltampérométrie cyclique pour les composés **1** (noir), **2** (rouge) et le mélange de **1** et **2** (vert). (B) Courbes d'électrolyse biélectronique de **1** (noir) et monoélectronique de **2** (rouge).

Ce dernier point permettra une étude des espèces oxydées et de leur faculté à subir une réaction d'isomérisation comme schématisé sur la **Figure 36**. Il est à noter que ce schéma carré a déjà été envisagé dans la littérature pour ce type de transformation *cis* ↔ *trans*.¹⁹⁶

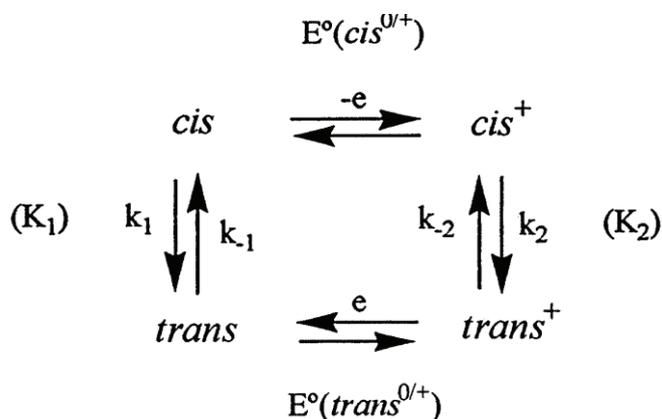


Figure 36. Processus d'isomérisation induit par le transfert électronique.

Afin de déterminer d'une part, le nombre d'électrons échangés et de s'assurer d'autre part de la stabilité des espèces oxydées, les composés **1** et **2** ont subi plusieurs fois une électrolyse exhaustive à +2 V/ ECS. Ces expériences ont montré que le processus d'électroxydation était monoélectronique pour l'isomère *trans* (**2**), et biélectronique pour l'isomère *cis* (**1**). Les courbes d'électrolyses sont illustrées sur la **Figure 35 (B)**, où l'on

¹⁹⁶ A. J. L. Pombeiro, M. da Silva, M. Lemos, *Coord. Chem. Rev.*, **2001**, 219, 53–80.

constate les différences de surfaces Q (Q = nombre de coulombs) enregistrés pour les deux espèces.

Ce résultat est en totale contradiction avec les voltammogrammes enregistrés plus haut. En effet, nous avons observé des systèmes réversibles et de même intensité suggérant un même nombre d'électrons échangés dans le processus redox. Afin de comprendre ce phénomène, nous avons analysé la solution par voltampérométrie cyclique, mais cette fois, après électrolyse. Pour le complexe **2**, on retrouve le même voltammogramme avant et après électrolyse confirmant ainsi, la stabilité de l'espèce oxydée. Pour le composé **1** les voltammogrammes cycliques avant et après électrolyse sont différents (voir **Figure 37**).

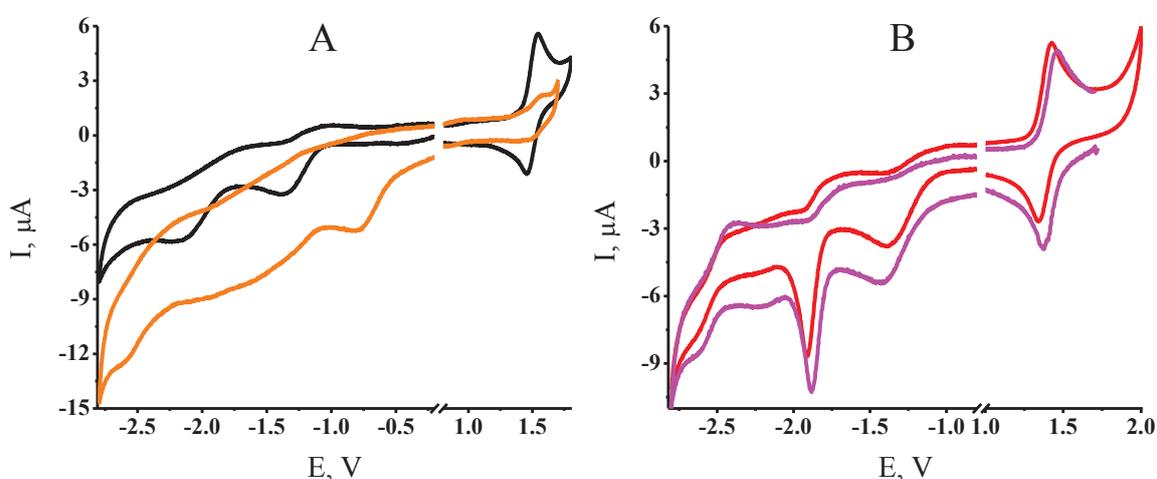


Figure 37. (A) Voltampérométrie cyclique pour le composé **1**, avant d'électrolyse (noir) et après d'électrolyse (orange). (B) Voltampérométrie cyclique pour le composé **2**, avant d'électrolyse (rouge) et après d'électrolyse (rose).

La forme oxydée **1+** est stable à l'échelle de temps de la voltampérométrie cyclique (quelques secondes), mais est instable pendant l'électrolyse, dont l'échelle de temps est de l'ordre de l'heure. A partir de ces observations, nous pouvons déjà décrire, pour le premier processus d'oxydation, la réaction suivante :



Cependant pour l'isomère **1**, nous devons envisager un mécanisme plus compliqué impliquant un transfert d'électron supplémentaire non décelable en voltampérométrie cyclique. Pour ce faire, nous avons envisagé un mécanisme de type ECE (Electrochimie-

Chimie-Electrochimie)¹⁹⁷ comme l'indique les réactions présentées ci-dessous. Dans ce cas, le premier processus était similaire pour les deux isomères. Pour **1**, ce processus redox serait suivi par une réaction chimique C lente conduisant à une nouvelle espèce. Au potentiel appliqué pendant l'électrolyse, cette nouvelle espèce subirait une oxydation monoélectronique conduisant à une nouvelle entité non caractérisée à ce jour.



A partir de l'expérience de RMN à température ambiante, l'isomère *cis* **1** subit une très faible isomérisation en **2**. En corrélation avec les données d'électrochimie, nous pouvons proposer un mécanisme général résumé sur la **Figure 38** semblable à celui de la **Figure 36**:

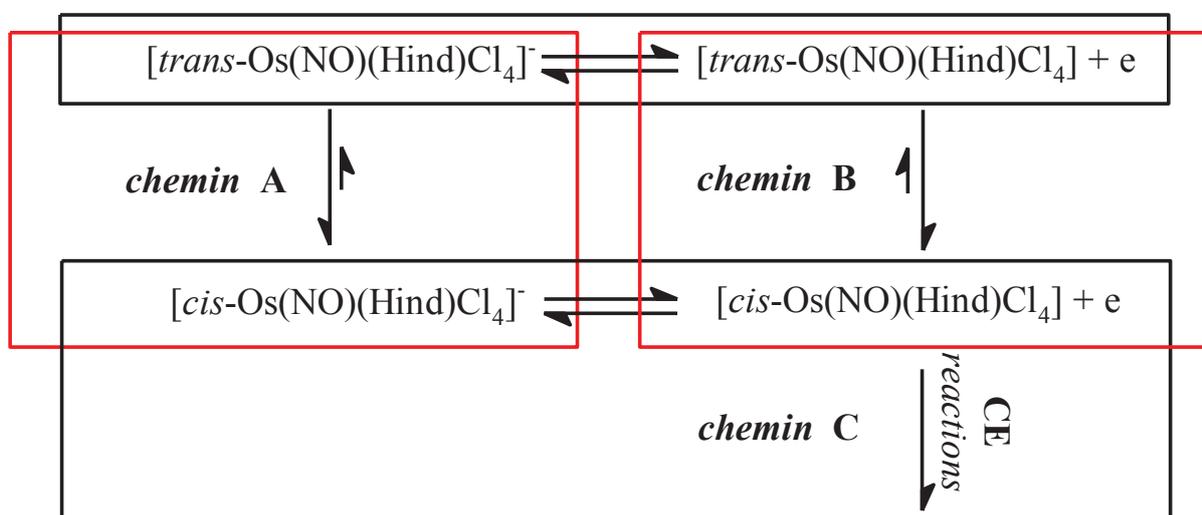


Figure 38. Réactions d'isomérisation *cis* ↔ *trans* (cadre rouge) associé à processus redox (cadre noir).

Afin de prouver que le chemin B sur la **Figure 38** existe, nous avons réalisés des voltammogrammes multi-balayages à très faible vitesse de balayage. L'objectif était de générer le complexe **2** oxydé à l'électrode conduisant par réaction d'isomérisation à l'espèce oxydé **1+**. Cependant, aucun mélange des espèces oxydées **1+** et **2+** n'a pas été observé dans la couche de diffusion pendant l'expérience. Ce résultat indique que soit le chemin B n'existe pas, soit qu'il est trop lent pour être observé à l'échelle de temps de nos expériences.

Finalement, à l'échelle de temps de la coulométrie, nous avons observé un mécanisme plus sophistiqué, qui conduit à la dégradation de l'entité oxydée **1+** après un transfert global

¹⁹⁷ C. Amatore, M. Azzabi, P. Calas, A. Jutand, C. Lefrou, Y. Rollin, *J. Electroanal. Chem.*, **1990**, 288, 45-63.

biélectronique par la voie C. Ainsi, cette voie C devient un paramètre difficilement contournable pour permettre de prouver sans ambiguïté le passage de 2+ à 1+ par le chemin B car, il semblerait difficile de visualiser expérimentalement, à une échelle de temps assez longue, l'apparition du composé 1+ oxydé.

3.4. Conclusions

Dans ce chapitre nous avons présenté l'étude RMN d'isomérisation *trans* ↔ *cis* de (Bu₄N)[Os(NO)Cl₄(Hind)], qui a pu être réalisée grâce à une bonne solubilité dans des solvants aprotiques assurée par la présence de cation Bu₄N⁺. La spectroscopie RMN a montré que les complexes *cis* et *trans* sont stables à température ambiante dans les solutions de DMSO et de C₂D₂Cl₄. Le processus d'isomérisation des complexes d'osmium a lieu aux températures au-dessus de 100 °C et il est beaucoup plus lent par rapport aux autres éléments 3d et 4f. L'étude cinétique d'isomérisation a montré que le processus de la transformation *trans* ↔ *cis* correspond à une réaction réversible d'ordre I. Les constantes de vitesses même à température de 130 °C sont très faibles avec une valeur de 3,66(7)·10⁻⁵ s⁻¹ pour la réaction *trans* → *cis* et de 2,3(2)·10⁻⁶ s⁻¹ pour la réaction opposé *cis* → *trans*.

Les paramètres d'activation, obtenus par l'ajustement des données expérimentales et théoriques des réactions à différentes températures avec l'équation Eyring démontrent encore une fois l'inertie de l'osmium. La valeur de l'entropie d'activation du processus d'isomérisation [*cis* → *trans* est de 142,7 ± 8,9 J/(mol·K) et de *trans* → *cis* de 85,4 ± 3,9 J/(mol·K)] semblent assez importantes, suggérant un mécanisme d'isomérisation dissociatif. En effet, dans ce dernier cas, l'enthalpie d'activation de l'isomérisation *cis* → *trans* est de 200,7 ± 0,7 kJ/mol et de 168,2 ± 0,6 kJ/mol pour *trans* → *cis* confortant encore une fois la stabilité du composé *cis*.

L'étude du processus d'isomérisation *cis* ↔ *trans* à partir du composé (Bu₄N)[*trans*-Os(NO)Cl₄(Hind)] après transferts d'électrons n'a pu être validée car la cinétique d'isomérisation à température ambiante est trop faible pour être appréhender. De plus, les résultats obtenus en coulométrie montre que l'oxydation monoélectronique du composé (Bu₄N)[*cis*-Os(NO)Cl₄(Hind)] est suivi d'un mécanisme consécutif complexe conduisant à un processus global ECE. Ce résultat suggère l'instabilité de l'isomère *cis* monooxydée contrariant encore son accumulation quantitative et par conséquent, sa caractérisation.

**4. Chapitre IV: Complexes de coordination d'osmium
nitrosyle avec glycine, acide picolinique, L-proline et D-
proline**

4.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous mettons l'accent sur deux aspects intéressants: d'une part nous présenterons la synthèse de complexes d'osmium nitrosyle avec les aminoacides comme anticancéreux potentiel et d'autre part notre préoccupation s'est portée sur les informations concernant les interactions de ces complexes avec le milieu cellulaire afin d'élucider l'effet du nitrosyle NO.

L'activité anti-tumorale des médicaments à base de complexes métalliques dépend de nombreux paramètres.¹⁹⁸ L'un des principaux est la réactivité avec les aminoacides : ces derniers sont d'importants ligands biologiques avec une faible masse molaire. L'étude de ces réactions avec les dérivés d'acides aminés peut faciliter la compréhension sur la nature des espèces libérées dans les cellules pendant les réactions biochimiques avec ce type de médicaments. En effet, les complexes peuvent être modifiés dans l'organisme par un mécanisme de détoxification et par un métabolisme appliqué au médicament. Ainsi, nous pourrions identifier les cibles cellulaires potentielles responsables de la cytotoxicité.¹⁹⁹ Afin de mieux comprendre, à titre d'exemple nous pouvons citer un dérivé du platine (II) associé au L-méthionine Pt(L-met)₂, qui a été isolé dans l'urine humaine pendant l'étude du métabolisme du cisplatine.²⁰⁰ Il est bien connu que le milieu cellulaire contient essentiellement des aminoacides, des sels tels que Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, des vitamines et aussi du glucose. Aujourd'hui, l'effet du milieu cellulaire sur les complexes métalliques est devenu un test standardisé. Les composés sont soumis à des milieux chimiques modèles pendant les essais « in vitro » afin d'étudier leur résistance. Dans le deuxième chapitre, nous avons décrits la préparation d'une série de complexes d'osmium-nitrosyle avec les dérivés d'azole. Nous avons également montré une différence notable dans leur activité antiproliférative par rapport aux analogues de ruthénium.¹⁵² Ces études approfondies nous permettent d'avancer des hypothèses sur cette différence de cytotoxicité. Il est connu que le nitrosyle NO joue un rôle clé dans les processus biochimiques^{201,202,203} et l'entité métal-nitrosyle intervient comme médiateur ou régulateur de géométrie autour du centre métallique.²⁰⁴ Cependant, la réactivité

¹⁹⁸ A. L. Noffke, A. Habtemariam, A. M. Pizarro, P. J. Sadler, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5219–5246.

¹⁹⁹ L. E. H. Paul, J. Furrer, B. Therrien, *J. Organomet. Chem.* **2013**, 734, 45–52.

²⁰⁰ a) W. W. Alden, A. J. Repta, *Chem.-Biol. Interact.* **1984**, 48, 121–124; b) J. E. Melvic, O. E. Petersen, *Inorg. Chim. Acta* **1987**, 137, 115–118.

²⁰¹ G. B. Richter-Addo, P. Legdzins, *Metal Nitrosyls*; Oxford: New York, **1992**.

²⁰² G. M. Rosen, P. Tsai, S. Pou, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1191–1199.

²⁰³ I. M. Wasser, S. de Vries, P. Moënné-Loccoz, I. Schröder, K. D. Karlin, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1201–1234.

²⁰⁴ T. Hirano, T. Oi, H. Nagao, K. Morokuma, *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 6575–6583.

de ruthénium-nitrosyle avec les aminoacides sont peu connus,^{205,206} voir inconnus pour les complexes analogues d'osmium-nitrosyle.

Les seuls composés d'osmium avec des aminoacides sont ceux d'osmyle(VI) ($[\text{OsO}_2]^{2+}$) avec les ligands tels que glycine, D,L-alanine, D,L-valine, D,L-leucine, D,L-isoleucine, D,L-phénylalanine, décrits dans les années 1980.²⁰⁷ La plus récente étude sur les complexes à base d'osmium-aminoacides ont été réalisées sur les complexes organométalliques d'osmium(II)-arène avec le L-prolinate obtenant $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Os}(\text{L-prolinate})]_3[\text{BF}_4]_3$ ²⁰⁸ et $[\text{OsCl}(\text{CO})(\text{L-phénylalaninate})(\text{PPh}_3)_2]$.²⁰⁹

Ici nous présenterons la synthèse de quatre nouveaux complexes d'osmium-nitrosyle avec la glycine, l'acide picolinique (pour comparaison), le L-proline et le D-proline (**Figure 39**), ainsi que leurs structures cristallines.

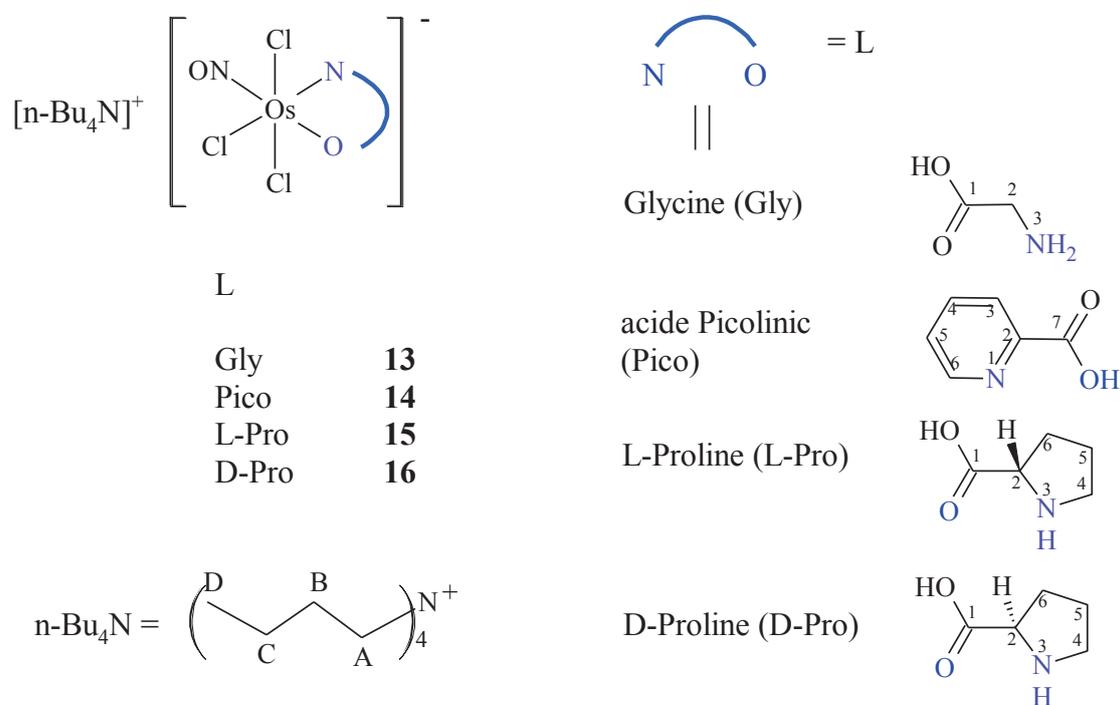


Figure 39. Composés présentés dans ce chapitre avec numérotation atomique correspondant à l'attribution des signaux dans les spectres RMN.

Nous décrirons également les propriétés spectroscopiques et électrochimiques, le

²⁰⁵ A. Zangl, P. Klüfers, D. Schaniel, T. Woike, *Dalton Trans.* **2009**, 1034–1045.

²⁰⁶ T. A. Balakaeva, A. V. Churakov, M. G. Ezernitskaya, L. G. Kuz'mina, B. V. Lokshin, I. A. Efimenko, *Russ. J. Coord. Chem.* **1999**, 25, 579–583.

²⁰⁷ W. J. Roth, C. C. Hinckley, *Inorg. Chem.* **1981**, 20, 2023–2026.

²⁰⁸ D. Carmona, M. P. Lamata, F. Viguri, I. Dobrinovich, F. J. Lahoz, L. A. Oro, *Adv. Synth. Catal.* **2002**, 344, 499–502.

²⁰⁹ K. Severin, K. Sünkel, W. Beck, *Chem. Ber.* **1994**, 127, 615–620.

comportement en solution aqueuse et l'activité antiproliférative sur différentes souches de cellules cancéreuses : A549 (poumon), SW480 (côlon) et CH1 (ovaire). Les complexes synthétisés ont été isolés et caractérisés sans ambiguïté. Enfin, dans un souci d'établir une relation entre structure et activité biologique, une évaluation des capacités antiprolifératives de nos molécules furent menées.

4.2. Synthèse et caractérisation

La synthèse des complexes de type $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$ (où « L » est l'anion de la glycine, l'acide picolinique, de la L-proline et D-proline) a été réalisée de manière similaire aux complexes d'azoles décrits dans le Chapitre II. Les composés ont été obtenus par reflux pendant 24 h dans le n-butanol d'un équivalent de $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]$ avec 1,5 équivalent d'un ligand bidenté (glycine, acide picolinique, L-proline, D-proline), selon l'équation de la **Figure 40**.

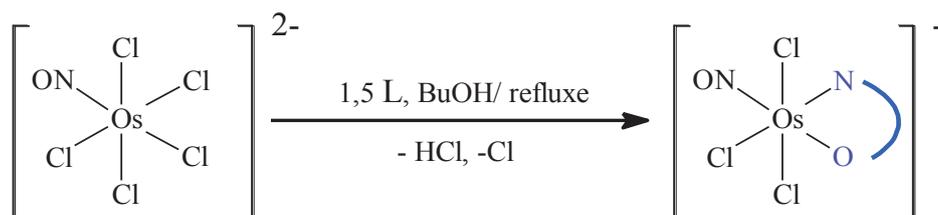


Figure 40. Réactions conduisant aux complexes avec la formule générale $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, L = glycinate, picolinate, L-prolinate, D-prolinate.

Le rendement de ces réactions était dans une intervalle de 44 – 80 % de produit cristallin (44 % pour $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-prolinate})]$, 55 % pour $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-prolinate})]$, 72 % pour $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{picolinate})]$ et 80 % pour $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{glycinate})]$). Pour les ligands bidentés d'aminoacides, deux ions chlorure ont été substitués, tandis que dans les mêmes conditions expérimentales, les dérivés d'azole ont été monosubstitués. Ce phénomène s'explique par l'effet chélate de ligands d'aminoacide.

4.3. Description structurale

Pour tous les composés **13** – **16** nous avons pu déterminer la structure cristalline par diffraction des rayons X sur monocristal. Les composés obtenus dans ce chapitre ont cristallisé grâce à la présence du cation tétrabutylammonium, toujours présent dans la sphère externe des complexes. Ils cristallisent dans différents systèmes cristallins: l'anion $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]^-$ (**14**) monoclinique possède un groupe d'espace $\text{P}2_1/\text{n}$, tandis que les complexes $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]^-$ (**13**), $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]^-$ (**15**) et $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]^-$ (**16**) orthorhombique prennent le groupe d'espace $\text{Pna}2_1$ et $\text{P}2_12_12_1$. Les paramètres structuraux sont présentés dans le **Tableau 11**.

Tableau 11. Données cristallographiques et paramètres de raffinements pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = Gly, Pico, L-Pro, D-Pro.

Composé	13	14	15	16
Formule	$\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{Os}$	$\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{Os}$	$\text{C}_{21}\text{H}_{43}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{Os}$	$\text{C}_{21}\text{H}_{43}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{Os}$
λ (Å)	0,71073	0,71073	0,71073	0,71073
Masse molaire (g/ mol)	643,11	691,16	682,17	682,17
Couleur	rouge	rouge	rouge	rouge
Taille crist. (mm)	0,28×0,21×0,08	0,15×0,15×0,10	0,61×0,47×0,38	0,15×0,15×0,08
Température (K)	293(2)	100(2)	110(2)	100(2)
Groupe d'espace	$\text{Pna}2_1$	$\text{P}2_1/\text{n}$	$\text{P}2_12_12_1$	$\text{P}2_12_12_1$
a (Å)	10,259(2)	10,9354(7)	10,3601(9)	10,3972(3)
b (Å)	16,797(3)	19,6189(13)	14,873(2)	14,8726(5)
c (Å)	15,765(3)	13,4422(9)	17,987(1)	17,9473(60)
α (°)	90	90	90	90
β (°)	90	108,147(1)	90	90
γ (°)	90	90	90	90
V (Å ³)	2716,6(9)	2740,5(3)	2771,5(5)	2775,25(15)
Z	4	4	4	4
$\rho_{\text{calc.}}$ (g cm ⁻³)	1,572	1,675	1,637	1,635
μ (mm ⁻¹)	5,009	4,973	4,916	4,909
R_1 ^(a)	0,0230	0,0399	0,0217	0,0210
wR_2 ^(b)	0,0563	0,1105	0,0492	0,0378
GOF ^(c)	1,000	1,089	1,019	0,907

^a $R_1 = \Sigma ||F_o| - |F_c|| / \Sigma |F_o|$; ^b $wR_2 = \{\Sigma [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \Sigma [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$; ^c $\text{GOF} = \{\Sigma [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)\}^{1/2}$, où n est le nr. total de réflexions et p nr. total de paramètres raffinés.

La coordination d'un ligand bidenté tels que les aminoacides, avec l'entité Os-NO peut conduire à la formation de trois types d'isoméris possibles montrés sur la **Figure 41**.

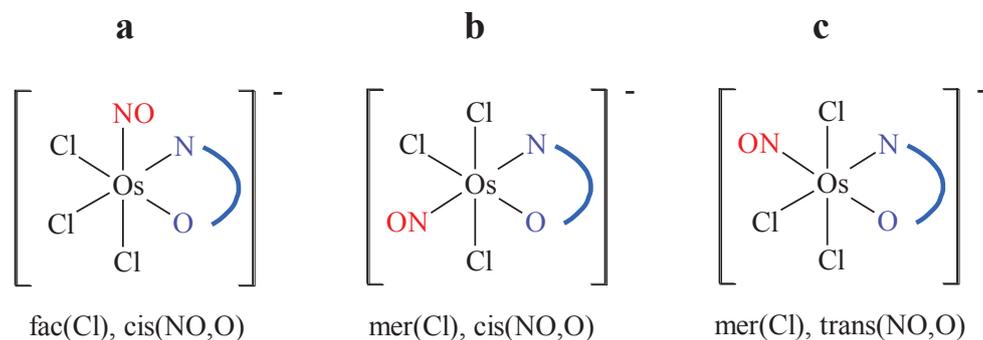


Figure 41. Types d'isoméris possibles pour les complexes avec la formule générale $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$ (où L = Gly, Pico, L-Pro, D-Pro).

Du fait de l'effet chélate des aminoacides, la coordination de nos complexes se fait avec l'atome d'oxygène du groupe carboxylique et l'atome d'azote du groupe amine formant un cycle de 5 atomes très stable du point de vue de la chimie de coordination. Pour tous nos complexes la structure cristalline a montré que se sont des isomères de type (c) $[\text{mer}(\text{Cl}),\text{trans}(\text{NO},\text{O})-\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$ (L = Gly, Pico, L-Pro, D-Pro), où trois ions chlorure occupent les positions méridionales, tandis que le nitrosyle adopte une isoméris *trans* vis-à-vis d'oxygène carboxylique. Le L- et D-proline sont des composés chiraux autour de carbone « α » asymétrique. La chiralité se propage sur le complexe entier, comme mentionnée dans la **Figure 42** pour (15) et (16).

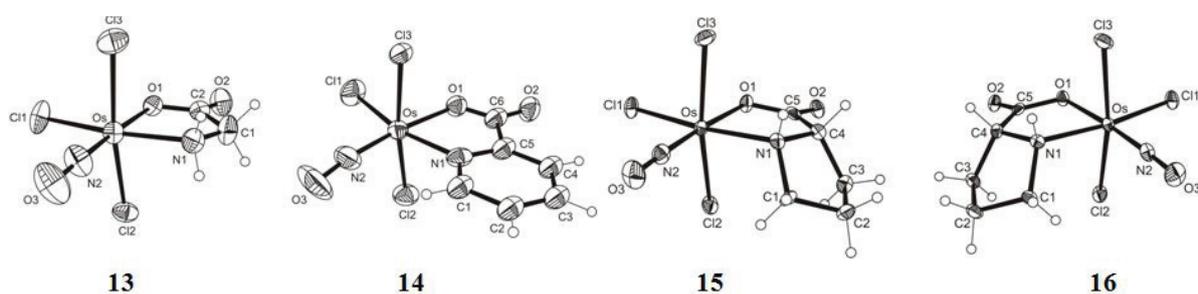


Figure 42. Structure des anions: $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]^-$ (13), $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]^-$ (14), $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]^-$ (15), $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]^-$ (16).

La position « *trans* » vis-à-vis nitrosyle NO est occupée par l'oxygène due à la capacité coordinatrice plus élevée pour l'oxygène par rapport à l'azote dans le cas de l'osmium. L'environnement de ces complexes d'osmium représente des octaèdres avec la

formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{OsCl}_3(\text{NO})(\text{L})]$ (où L = glycinate, picolinate, L-prolinate, D-prolinate). Les distances interatomiques et les angles les plus importantes sont présentées dans le **Tableau 12**.

Tableau 12. Récapitulatif des longueurs de liaisons et des angles (deg.) pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = Gly, Pico, L-Pro, D-Pro.

Liaison (Å), Angle (°)	13	14	15	16
Os–O1	2,016(4)	2,010(4)	2,014(2)	2,0138(18)
Os–N1	2,085(4)	2,107(6)	2,107(3)	2,104(2)
Os–N2	1,707(5)	1,729(6)	1,735(3)	1,719(2)
N2–O3	1,176(7)	1,164(8)	1,164(4)	1,180(3)
Os–Cl1	2,3703(15)	2,3522(18)	2,3740(10)	2,3794(7)
Os–Cl2	2,3876(13)	2,3709(17)	2,3685(9)	2,3766(6)
Os–Cl3	2,3675(15)	2,3567(15)	2,3620(10)	2,3657(7)
<i>O1–Os–N1</i>	<i>79,65(17)</i>	<i>75,0(3)</i>	<i>80,83(10)</i>	<i>81,05(7)</i>
<i>Os–N2–O3</i>	<i>178,4(6)</i>	<i>172,5(7)</i>	<i>176,4(3)</i>	<i>176,5(2)</i>

Les données du **Tableau 12** montrent que la longueur de la liaison Os–O1 (oxygène carboxylique) est de l'ordre de 2,01 Å et celle de Os–N1 (azote aminé) varie entre 2,08 – 2,10 Å. Les valeurs des distances Os–Cl sont comprises dans l'intervalle 2,35 – 2,38 Å et la longueur de la liaison : Os–N2 (azote de NO) varie entre 1,70 – 1,73 Å. Enfin, N2–O3 (NO) est dans la région de 1,16 – 1,18 Å et la configuration Os–N2–O3 tend vers la linéarité.

4.4. Spectroscopie Infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) donne une information rapide sur la présence des différents groupes. Pour les complexes **13** – **16**, les groupes communs sont : nitrosyle NO, carboxylate, le cation tétrabutylammonium et le groupe amine pour **13**, **15**, et **16**. L'enregistrement IR est réalisé dans une fenêtre spectrale de 400 – 4000 cm^{-1} à la température de 298 K. A titre d'exemple, la **Figure 43** représente les spectres IR de **13** – **16**.

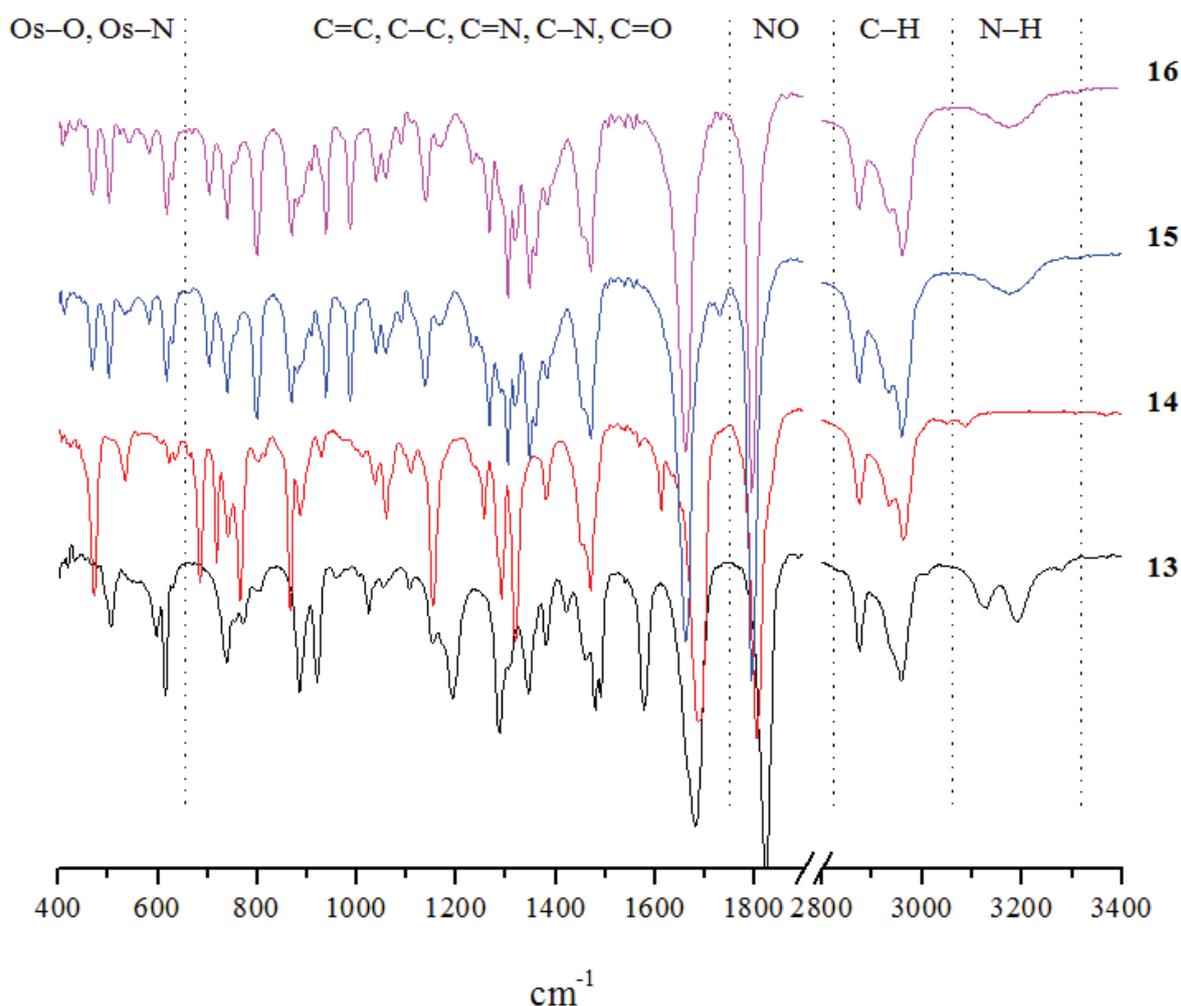


Figure 43. Spectres IR pour les complexes avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = Gly (**13**), Pico (**14**), L-Pro (**15**), D-Pro (**16**).

On peut distinguer plusieurs régions de fréquences spécifiques corrélées aux groupements cités précédemment :

1. $400 - 650 \text{ cm}^{-1}$: domaine de fréquences pour la liaison Os-N, Os-O.
2. $650 - 1750 \text{ cm}^{-1}$: domaine de fréquences pour les liaisons C-C, C=C, C-N, C=N, C=O.
3. $1790 - 1830 \text{ cm}^{-1}$: domaine de fréquence de vibration de NO.
4. $2850 - 3000 \text{ cm}^{-1}$: domaine de fréquences pour les liaisons C-H de Bu_4N^+ .
5. $3100 - 3250 \text{ cm}^{-1}$: domaine de fréquence de la liaison N-H d'amine.

Le **Tableau 13** résume les plus importantes fréquences vibrationnelles. On constate que les fréquences vibrationnelles $\nu(\text{NO})$ pour les complexes **13** – **16** varient entre $1793 - 1822 \text{ cm}^{-1}$, ce qui laisse penser que la nature de NO est dans une forme intermédiaire à NO^- ($\nu(\text{NO})_{\text{M-NO}} = 1550 - 1700 \text{ cm}^{-1}$) et NO^+ ($\nu(\text{NO})_{\text{M-NO}} = 1900 - 2100 \text{ cm}^{-1}$).

Tableau 13. Fréquences justificatives sur les spectres IR pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = Gly (**13**), Pico (**14**), L-Pro (**15**) et D-Pro (**16**), en cm^{-1} .

Composé/ fréquence en IR	NO	Os–O	Os–N	CO ₂	N–H
	$\nu(\text{NO})$	$\nu(\text{OsO})$	$\nu(\text{OsO})$	$\delta(\text{COO})$; $\nu_s(\text{CO}_2)$; $\nu_{as}(\text{CO}_2)$	$\nu(\text{NH})$
13. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$	1822	504	596, 614	771, 884 ; 1344, 1379 ; 1680	3117, 3190
14. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$	1804	470, 533	605 – 630	765, 865 ; 1318, 1380 ; 1687	–
15. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$	1793	467, 500, 531	581, 617	798, 867; 1346, 1382 ; 1662	3173
16. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$	1794	467, 500, 531	581, 617	798, 867; 1346, 1382 ; 1662	3173

Les valeurs des fréquences vibrationnelles $\nu(\text{OsO})$ et $\nu(\text{OsN})$ apparaissent dans la région de $470 - 630 \text{ cm}^{-1}$ démontrant la présence des aminoacides dans la sphère de coordination de l'osmium. La présence des fréquences vibrationnelles $\delta(\text{COO})$, $\nu_s(\text{CO}_2)$ et $\nu_{as}(\text{CO}_2)$, dont les valeurs sont indiquées dans le **Tableau 13**, justifie la coordination des aminoacides et de picolinate sur l'atome d'osmium. L'absence de $\nu(\text{NH})$ pour le complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$ par rapport à **13**, **15**, **16** est en accord avec l'azote aromatique du ligand de picolinate.

4.5. Spectroscopie RMN

La présence d'un noyau diamagnétique $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6$ et la stabilité des complexes dans la solution de DMSO- d_6 ont permis d'enregistrer les spectres RMN ^1H et ^{13}C de complexes **13 – 16**. La pureté des complexes de type « mer(Cl), trans(NO,O) » a été confirmée par ces études RMN en solution. En effet, la présence des autres isomères devrait donner des déplacements chimiques différents, similaire au cas cis et trans $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]$ rapporté dans le deuxième chapitre, ce qui n'est pas observé.

Leurs spectres RMN ^1H et ^{13}C sont montrés sur les **Figure 44** et **Figure 45** : L = Gly (**13** – noir), Pico (**14** – rouge), L-Pro (**15** – bleu), D-Pro (**16** – rose). Les spectres sont composés des deux parties (sauf du solvant): 1) les signaux venant de Bu_4N^+ et 2) les signaux donnés par l'anion $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$.

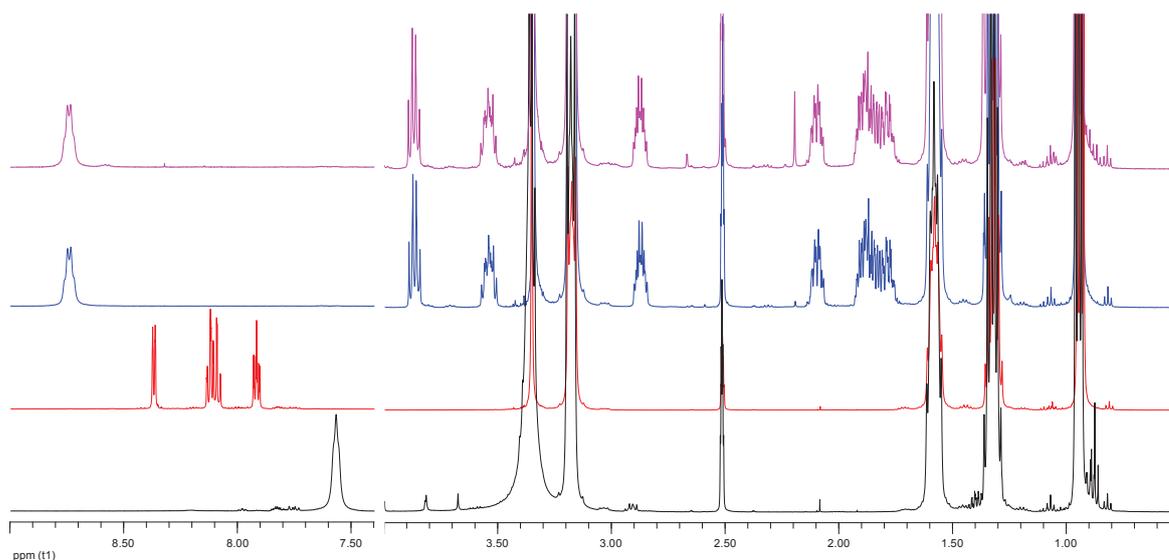


Figure 44. ^1H RMN pour les composés avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = Gly (**13** – noir), Pico (**14** – rouge), L-Pro (**15** – bleu), D-Pro (**16** – rose).

Les déplacements chimiques δ de Bu_4N^+ en RMN ^1H sont identiques pour tous les complexes **13** – **16**. : Triplet à 0,94 ppm pour CH_3 (groupe D), un sextuplet à 1,32 ppm pour CH_2 (groupe C), un quintuplet à 1,58 ppm pour CH_2 (groupe B), un triplet à 3,17 ppm pour CH_2 (groupe B) avec un rapport d'intégration de 12 : 8 : 8 : 8 (les groupes sont illustrés sur la **Figure 39**). Dans les spectres ^{13}C RMN, le cation Bu_4N^+ donne des déplacements chimiques pour ^{13}C à 13,48 ppm (groupe C_D), 19,19 ppm (groupe C_C), 23,06 ppm (groupe C_B), 57,55 ppm (groupe C_A).

Le spectre de RMN ^1H de l'anion $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]^-$ (**13**) NH_2 (groupe N3) donne un singulet à 7,56 ppm. Le CH_2 (groupe C2) a été identifié grâce au spectre 2D (COSY), et apparait à 3,35 ppm, dans la même zone que le pic de l'eau contenu dans le solvant DMSO. Le spectre en ^{13}C RMN donne, pour le carbone sp^3 (groupe C2), un $\delta=46,64$ ppm et pour le carbone sp^2 (groupe C1) $\delta=179,32$ ppm.

Le spectre RMN ^1H de l'anion de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]^-$ (**14**) est composé de plusieurs déplacements chimiques : multiplets à 7,91 ppm (groupe H_5), 8,09 ppm (groupe H_3), 8,12 ppm (groupe H_4) et un doublet à 8,36 ppm (groupe H_6) avec un rapport de 1 : 1 : 1 : 1. Dans le spectre ^{13}C RMN les signaux de groupe (C_4), (C_5), (C_3), (C_2), (C_6) et (C_7) ont des valeurs croissantes comme suit : 126,63 ppm, 129,85 ppm, 141,46 ppm, 147,87 ppm, 148,77 ppm et 170,01 ppm.

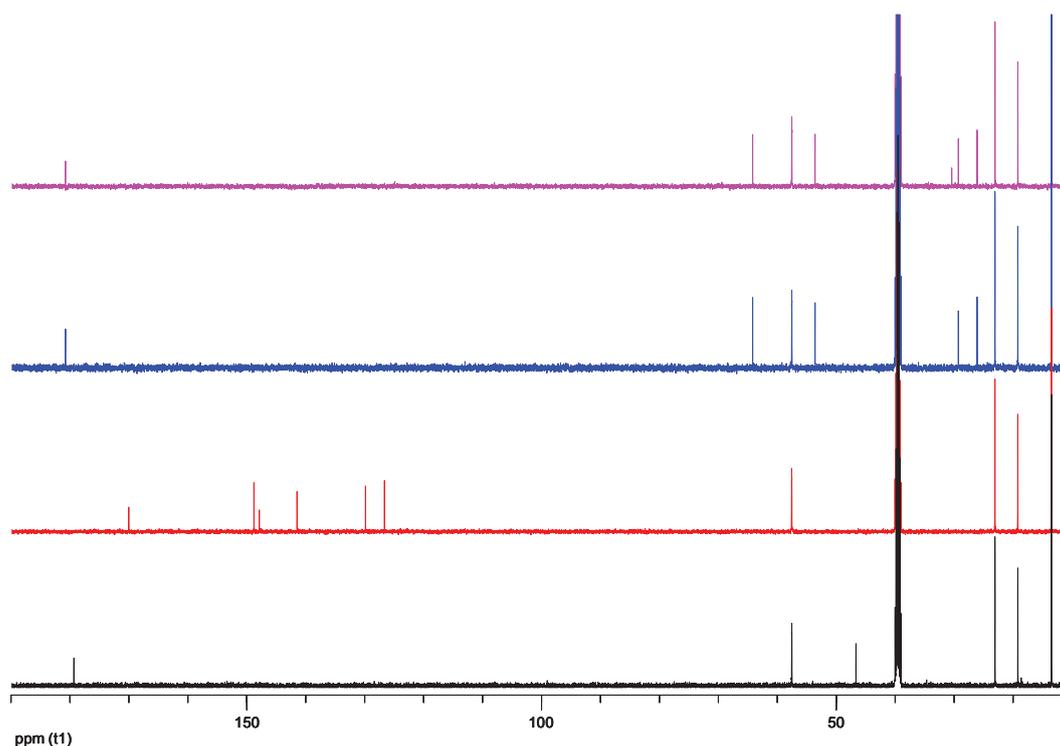


Figure 45. ^{13}C RMN pour les complexes avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = Gly (**13** – noir), Pico (**14** – rouge), L-Pro (**15** – bleu), D-Pro (**16** – rose).

Pour les anions isomères $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]^-$ (**15**) et $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]^-$ (**16**), aucune différence n'a été observée en spectroscopie IR et RMN. Ainsi, les spectres RMN ^1H sont caractérisés par : un multiplet de trois protons H_5'' , H_6' , H_5' situé vers 1,85 ppm, un multiplet du proton H_6'' à 2,09 ppm, un multiplet du proton H_4' à 2,87 ppm, un multiplet du proton H_4'' à 3,54 ppm, un quadruplet de H_2 à 3,86 ppm et un doublet de H_3 à 8,74 ppm. Les spectres ^{13}C RMN des complexes **15** et **16** sont identiques et les déplacements chimiques pour les groupes (C_5), (C_6), (C_4), (C_2) et (C_1) ont des valeurs 26,09 ppm, 29,27 ppm, 53,58 ppm, 64,17 ppm et 180,74 ppm.

4.6. Spectrométrie de masse

Pour les complexes **13** – **16**, la spectrométrie de masse a été enregistrée dans l'acétonitrile par la méthode « Electro Spray et Ionisation à Basse Résolution Positive et Négative » dans une fenêtre de 80 – 2000 m/z, où m = masse molaire d'ion et z = 1. Dans le domaine positif, seule la molécule Bu_4N^+ à 242 m/z a été enregistrée. Les données obtenues à

basse résolution négative sont présentées dans le **Tableau 14**.

Tableau 14. Récapitulatif des pics de spectroscopie de masse pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = Gly (**13**), Pico (**14**), L-Pro (**15**) et D-Pro (**16**), en m/z.

Composé	$[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$	$[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_2(\text{L})-\text{H}^+]^-$	$[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}(\text{L})-2\text{H}^+]^-$
13. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$	401	365	329
14. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$	449	-	-
15. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$	441	405	369
16. $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$	441	405	369

Les complexes **13**, **15** et **16** donnent des pics correspondants aux espèces $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$, $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_2(\text{L})-\text{H}^+]^-$ et $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}(\text{L})-2\text{H}^+]^-$, mais pour le complexe **14** seul le pic correspondant à l'espèce $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$ a été détecté. A partir des résultats de spectrométrie de masse, on peut déduire que l'entité $\text{Os}(\text{NO})^{3+}$ est très stable pendant l'ionisation à 200 °C et que l'ionisation est suivi par une réaction chimique tel que le réarrangement d'Andersson :



Selon ces réactions, on peut observer que l'ionisation à cette température élevée favorise l'élimination de HCl du complexe.

4.7. UV-VIS et Electrochimie

La voltampérométrie cyclique dans l'acetonitrile a également été réalisée sur les complexes $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$ (**13**), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$ (**14**), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ (**15**), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ (**16**). L'électrolyse dans le même solvant a également été fait, mais pour le complexe **14** uniquement.

Pour les complexes **13** – **16**, les voltamogrammes obtenus à 100 mV/s dans $\text{CH}_3\text{CN}/0,1 \text{ M TBAPF}_6$ en utilisant une électrode du travail de carbone vitreux et une électrode saturée de calomel (ECS) comme référence, sont présentés sur la **Figure 46** et **Figure 47**.

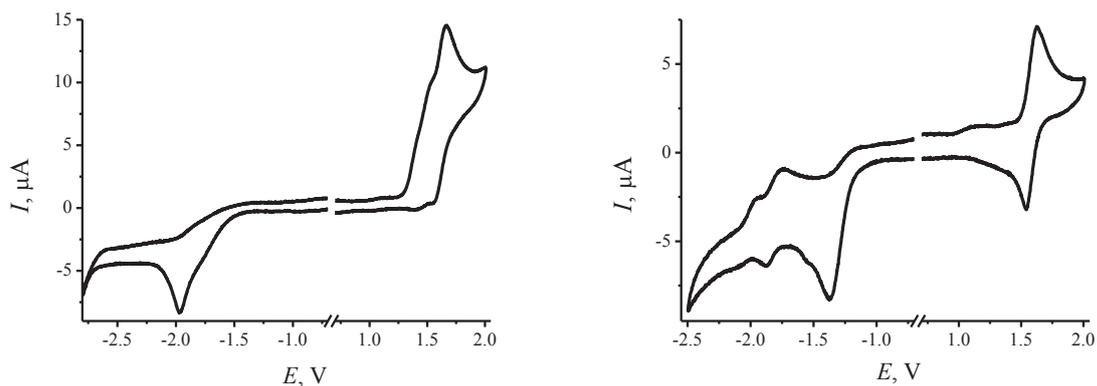


Figure 46. Voltampérométrie cyclique pour les composés avec la formule générale $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où $\text{L} = \text{Gly}$ (**13** – gauche), Pico (**14** – droite).

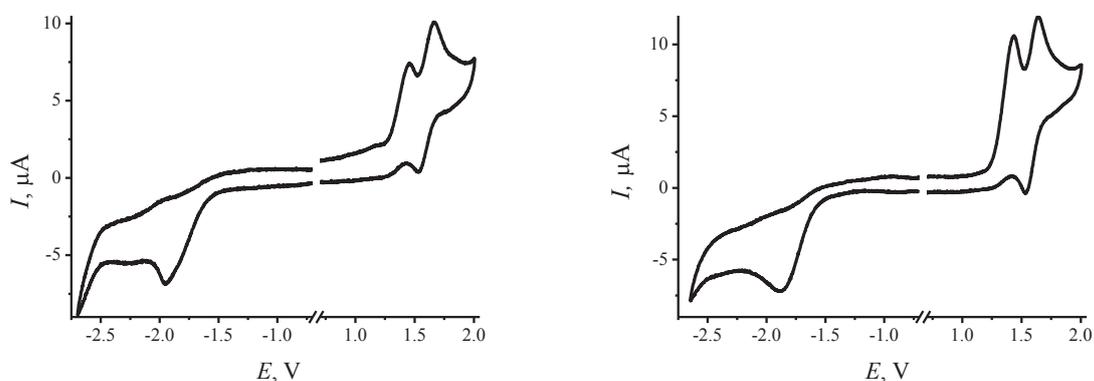


Figure 47. Voltampérométrie cyclique pour les complexes de $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où $\text{L} = \text{L-Pro}$ (**15** – gauche), D-Pro (**16** – droite).

Les voltamogrammes cycliques de tous les composés (**Figure 46** et **Figure 47**) montrent un processus de réduction monoélectronique irréversible (déterminé par la comparaison de la hauteur du courant de pic i_p avec celui du couple standard Fc/Fc^+ dans les mêmes conditions expérimentales). Pour les complexes **13** – **16**, Ces processus redox interviennent à des valeurs de potentiels compris entre -1,37 (**14**) – -1,97 (**13**) V/ ECS (voir le **Tableau 15**) et sont attribués à la réaction $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6 \rightarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^7$.

L'oxydation du complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$ (**14**) est caractérisée par un processus monoélectronique réversible avec un potentiel de demi vague ($E_{1/2}$) = 1,58 V/ ECS, attribué à la réaction $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6 \leftrightarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^5$. Le processus monoélectronique a été confirmé par l'électrolyse exhaustive réalisée à 1,9 V (**Figure 48 à gauche**) entraînant un changement de couleur de la solution caractérisée par une nouvelle bande d'absorption à 505

nm (Figure 48 à droite).

Tableau 15. Les données électrochimiques pour les composés **13** – **16** enregistrés dans CH₃CN à 293 K avec une électrode de carbone vitreux, 0,1 M TBAPF₆ comme électrolyte support; tous les potentiels sont reportés par rapport à ECS, vitesse 0,1V/s. E_{pc} : potentiel de pic cathodique (V) ; E_{1/2} : potentiel de demi vague potentiel (V). ^aPic réversible. ^bPic irréversible. ^cPic quasi-réversible. Ferrocene/ferricinium (E_{1/2}^{ox} = + 0,445 V).

Complexe	Potentiel de pic cathodique		Potentiel de pic anodique	
	(E _{pc})	(E _{pc})	(E _{pc})	(E _{1/2})
13	-1,97 ^b		1,54 ^b	1,67 ^c
14	-1,37 ^b			1,58 ^a
15	-1,95 ^b		1,45 ^b	1,60 ^c
16	-1,88 ^b		1,44 ^b	1,59 ^c

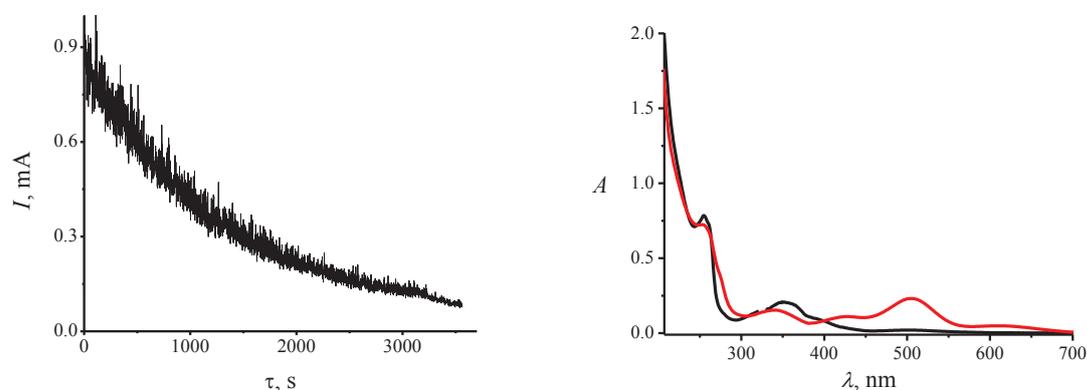


Figure 48. Courbe d'électrolyse exhaustive à 1,9 V (gauche) et les spectres UV-vis avant (en noir) et après (rouge) l'électrolyse du complexe Bu₄N[Os(NO)Cl₃(Pico)] (**14**).

Après l'électrolyse exhaustive du complexe **14**, le voltammogramme de l'espèce oxydée est similaire à celui du composé initial. Ce comportement démontre la stabilité thermodynamique des espèces du couple redox de Bu₄N[Os(NO)Cl₃(Pico)]. Des comportements similaires ont été rencontrés dans le Chapitre II pour les complexes dérivés.

La voltammétrie cyclique en oxydation, pour les complexes Bu₄N[Os(NO)Cl₃(Gly)]

(**13**), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ (**15**) et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ (**16**) est caractérisée par 2 systèmes quasi-réversible ou irréversible. L'interprétation semble plus compliquée probablement à cause des réactions d'oxydation quasi-simultanées de l'ion métallique du complexe et du ligand amino-acidate associé. En effet, les études sur l'oxydation des aminoacides montrent la possible oxydation irréversible du groupe carboxylate dans cette fenêtre de potentiel redox.²¹⁰ De plus, les coulométries exhaustives de nos complexes, menées à 1,9V/ ECS, ont donné une valeur correspondante de 4 électrons apparents. A partir de l'ensemble de ces résultats, nous pouvons suggérer l'attribution du premier pic irréversible d'oxydation à celui du ligand aminoacidate entraînant probablement un changement notable dans la configuration du complexe, ce dernier étant oxydé dans un second temps de manière quasi-réversible selon la réaction $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6 \rightarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^5$.

L'électrolyse de **13**, **15** et **16** a été suivi par un changement de couleur de solution mais les spectres électroniques après électrolyse ne donnent aucune information à cause des réactions d'oxydation destructives du ligand.

Les spectres UV-vis dans l'acetonitrile pour les complexes **13**, **15** et **16** sont montrés sur la **Figure 49**.

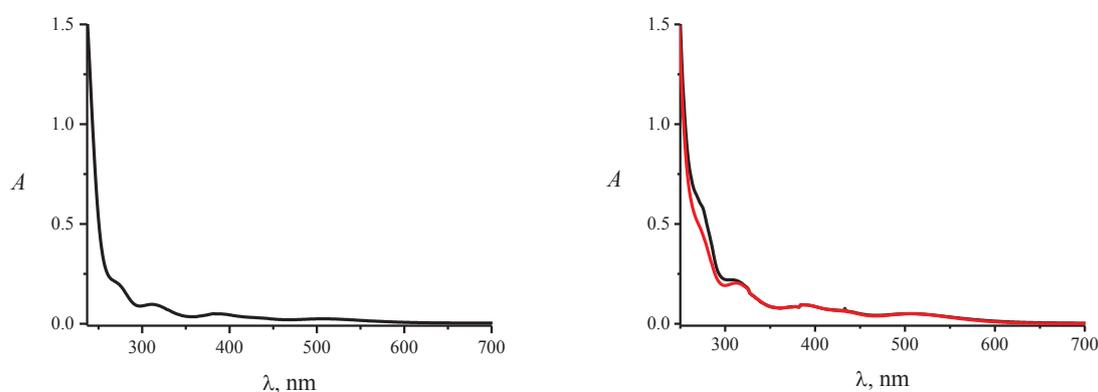


Figure 49. Spectres UV-vis dans l'acetonitrile du complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$ (**13** à gauche), et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L- ou D-Pro})]$ à droite (**15** en noir, **16** en rouge).

Les spectres électroniques des complexes $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$ (**13**), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ (**15**) et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ (**16**) montrent des transitions faibles de $d(\text{Os}) \rightarrow \pi^*(\text{L})$ situées dans la région 270 – 310 nm et encore plus faible pour la transition de $d(\text{Os}) \rightarrow \pi^*(\text{NO})$ entre 380 – 510 nm. Les spectres UV-vis pour les complexes

²¹⁰ N. L. Weinberg and H. R. Weinberg, *Chem. Rev.* **1986**, 68, 449–523.

isomères (15) et (16) sont presque identiques.

Ainsi, les spectroscopies IR, RMN et UV-vis n'ont pas mis en évidence de différences notables entre les complexes isomères (15) et (16). La seule technique d'étude permettant d'identifier les complexes chiraux est le dichroïsme circulaire. Les spectres de dichroïsme circulaire pour les composés $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ (15) et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ (16) sont présentés de façon superposée sur la **Figure 50**. Comme attendu, on observe une différence nette entre les complexes formés par L-Prolinate (15) et D-Prolinate (16).

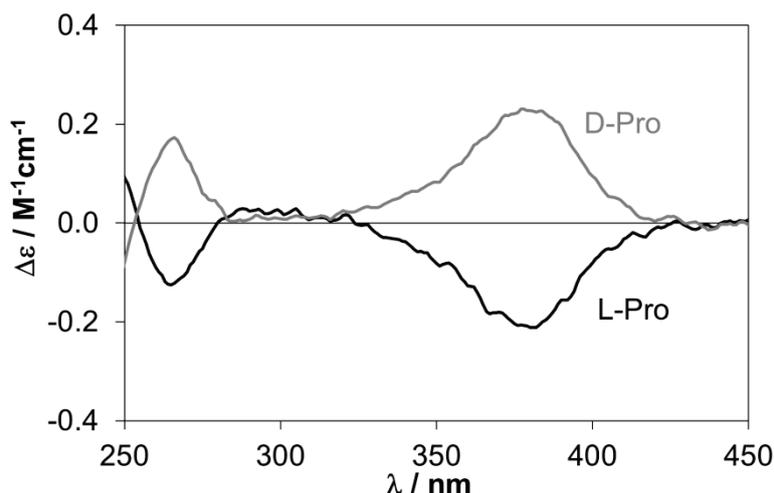


Figure 50. Spectres de dichroïsme circulaire dans H_2O à pH 7.0 pour $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ (15 en bas) et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ (16 en haut). Concentration 4×10^{-4} M; $T = 298$ K, $I = 0,10$ M (KCl) dans H_2O .

4.8. Resistance à l'hydrolyse

L'intérêt d'étudier le comportement des complexes 13 – 16 dans une solution aqueuse est un préalable aux tests de leurs activités antiprolifératives. En effet, comme nous l'avons déjà dit certaines conditions sont nécessaires pour passer aux tests anticancéreux telles que la solubilisation dans le milieu aqueux, qui devrait être plus de 0,5 mM et la résistance à l'hydrolyse. La solubilité des complexes 13 – 16 de l'ordre de 5 mM dans une solution aqueuse avec 1% DMSO entre dans la condition évoquée ci-dessus. L'étude de l'hydrolyse a été réalisée par spectroscopie UV-vis et par spectrométrie de masse « Electro Spray Ionisation (ESI). Les spectres UV-vis pour tous les complexes, après dissolution et après 24 h dans une solution aqueuse à 1 % de DMSO, sont présentés sur la **Figure 51** et **Figure 52**.

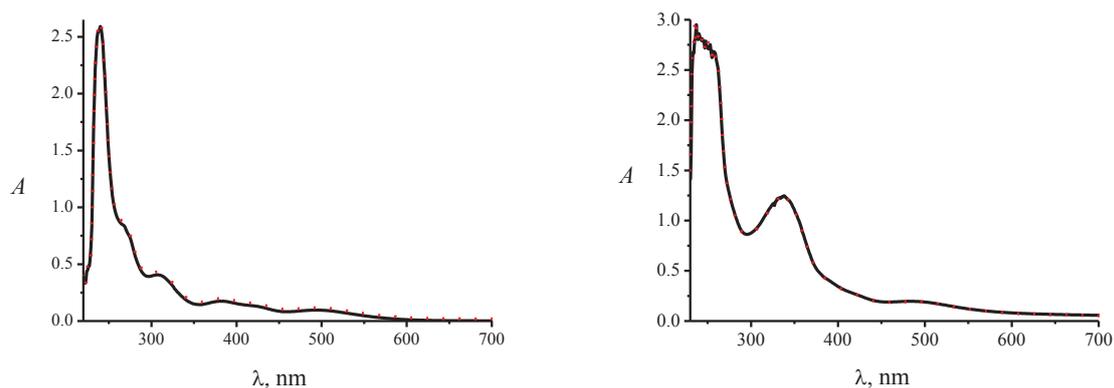


Figure 51. Spectres UV-vis dans une solution aqueuse (1% DMSO) du complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$ (**13** à gauche) et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$ (**14** à droite) mesurés immédiatement (en noir) et après 24 h (en rouge).

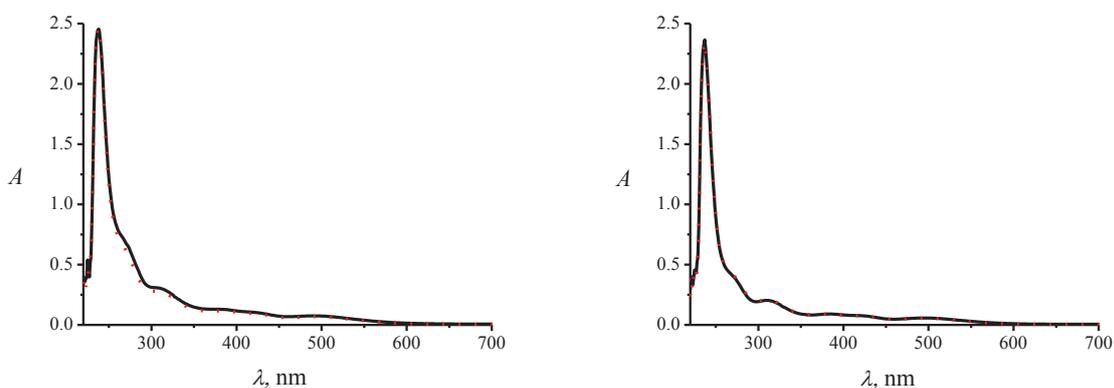


Figure 52. Spectres UV-vis dans une solution aqueuse (1% DMSO) du complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ (**15** à gauche) et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ (**16** à droite) mesurés immédiatement (en noir) et après 24 h (en rouge).

Les données obtenues par spectroscopie UV-vis, montrent que les complexes sont stables pendant 24 h dans une solution aqueuse à 298 K. De plus, l'absence d'hydrolyse au cours de cette période a été démontrée par la spectrométrie de masse (ESI), qui donne toujours le même pic correspondant à l'espèce $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$. Les tentatives d'incubation des complexes **13** – **16**, dans un milieu réducteur de 4 équivalents d'acide ascorbique et dans un milieu contenant la protéine cytochrome c « cyt » (transporteur biologique des électrons) ont démontré encore une fois leur stabilité. L'incubation des complexes **13** – **16** avec « cyt » a abouti à la formation de produits d'addition entre l'anion $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]^-$ et le « cyt », qui peuvent être caractérisés par ESI (**Figure 53**). La formation des adduits des complexes avec

« cyt » ont lieu par l'interaction électrostatique de la charge négative du complexe et les multiples charges positives du cytochrome c.

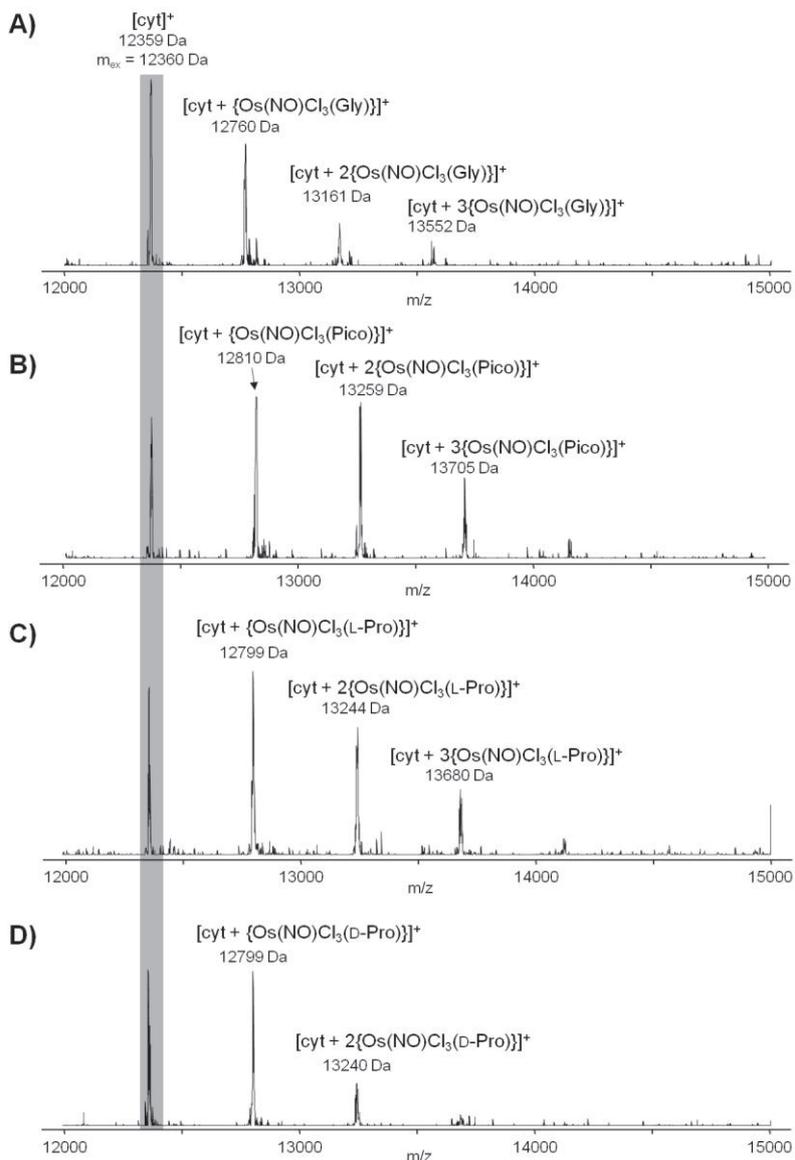


Figure 53. Spectres de masse (ESI) des complexes $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où $\text{L} = \text{Gly}$ (**13** – A), Pico (**14** – B), L-Pro (**15** – C), D-Pro (**16** – D), après 24 h d'incubation avec 0,5 équivalent de cytochrome c.

4.9. Activité antiproliférative

Après une étude physico-chimique détaillée sur les complexes d'osmium-nitrosyle (**13** – **16**) avec trois amino-acidate Gly, L-Pro, D-Pro et picolinate, les composés $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$ (**13**), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$ (**14**), $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ (**15**) et

Bu₄N[Os(NO)Cl₃(D-Pro)] (**16**) ont été testés sur trois souches de cellules cancéreuses humaines : CH1 (cancer d’ovaire), SW480 (cancer du colon) and A549 (cancer du poumon). L’activité antiproliférative des complexes **13** – **16** est présentée par la concentration inhibitrice médiane (CI₅₀), dont les valeurs sont introduites dans le **Tableau 16**.

Tableau 16. Les valeurs de CI₅₀ obtenues par le test MMT (le temps d’exposition 96h) pour les composés **13**, **14**, **15**, **16** et Bu₄NCl (pour comparaison) sur trois lignes des cellules cancéreuses humaines A549, CH1 et SW480.

Complexe	CI ₅₀ , μM		
	A549	CH1	SW480
13. Bu ₄ N[Os(NO)Cl ₃ (Gly)]	629 ± 13	89 ± 11	140 ± 36
14. Bu ₄ N[Os(NO)Cl ₃ (Pico)]	314 ± 76	64 ± 11	174 ± 38
15. Bu ₄ N[Os(NO)Cl ₃ (L-Pro)]	>320	114 ± 37	237 ± 47
16. Bu ₄ N[Os(NO)Cl ₃ (D-Pro)]	>640	148 ± 38	274 ± 40
Bu ₄ NCl	>640	91 ± 16	>320

Tous les complexes présentent une activité élevée vis-à-vis des cellules cancéreuses d’ovaire (CH1). Les complexes **13** – **16** ne semblent pas avoir d’activité sur le cancer d’ovaire (CH1) (89 ± 11 μM pour **13**, 64 ± 11 μM pour **14**, 114 ± 37 μM pour **15** et 148 ± 38 μM pour **16**). En effet, la cytotoxicité des composés **13** – **16** (**Tableau 16**) est du même ordre de grandeur que celle du cation tétrabutylammonium qui possède une cytotoxicité assez élevée pour ce type des cellules (91 ± 16 μM).

Les valeurs CI₅₀ sur les cellules d’A549 pour ces complexes sont (> 300 μM) négligeables. C’est pour les cellules SW480 que l’activité antiproliférative semble la plus significative.

La comparaison des valeurs cytotoxiques (CI₅₀) sur les cellules SW480 pour les complexes **13** – **16** montre que leurs activités diminuent dans l’ordre **13** > **14** > **15** > **16**. Les activités antiprolifératives de Bu₄N[Os(NO)Cl₃(L-Pro)] (**15**) et Bu₄N[Os(NO)Cl₃(D-Pro)] (**16**) sont très faible et la comparaison entre eux n’est pas représentative à cause de la déviation standard des valeurs CI₅₀. Les données obtenues pour les complexes **13** – **16** montrent une activité réduite, dont les valeurs de CI₅₀ > 100 μM et sont largement inférieures aux tendances actuelles, où pour certaines types du cancer CI₅₀ < 1 μM. Si on fait la comparaison de la cytotoxicité des complexes d’Os(NO) de ce chapitre (les composés **13** –

16) avec ceux $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]^-$ (Chapitre II), on peut conclure que le complexe le plus actif est $\text{H}_2\text{ind}[\text{cis-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]$, où Hind = indazole.

4.10. Conclusions

Au cours de ce chapitre, nous avons exposé la synthèse et une étude détaillée des complexes d'osmium et d'acides aminés $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$, où L = glycine, picolinate (pyridine-2-carboxylate), L-prolinate, D-prolinate. Grâce à un effet chélate prononcé des ligands, la synthèse par substitution a été effectuée dans les mêmes conditions expérimentales que la synthèse des dérivés monosubstitués d'azole ($\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{azole})]$). Deux complexes chiraux ont été obtenus à partir de L-proline, D-proline et $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{OsCl}_5(\text{NO})]$. Les rendements sont comprises entre 44 et 80 % d'espèce cristallisée avec des monocristaux appropriés pour la diffraction des rayons X à partir desquels leurs structures à l'état solide ont été résolues et affinées. Les complexes $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Gly})]$, $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{Pico})]$, $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ présentés dans ce chapitre ont été également caractérisés en solution et à l'état solide, par différentes méthodes :

- La spectroscopie IR, permettant de caractériser la présence du NO, le groupe carboxylique et amine;
- la spectroscopie RMN de ^1H , ^{13}C , en 1D et 2D afin d'établir la structure du composé en solution ainsi que sa pureté;
- la spectroscopie de masse donnant une information sur la masse exacte, mais également sur la stabilité des complexes dans différentes solutions /milieux aqueux et non aqueux, biologique et non biologique;
- l'électrochimie pour la connaissance des processus redox en solution, paramètre important pour la détermination des mécanismes lors des réactions biochimiques *in vitro*;
- la spectroscopie UV-vis pour établir la stabilité (résistance à la solvolysse) et la solubilité des composés dans différents solvants aqueux et non aqueux);
- le dichroïsme circulaire pour les complexes $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L-Pro})]$ et $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{D-Pro})]$ pour établir la chiralité du complexe et leur homogénéité et pureté chirales en solution, seule méthode permettant d'obtenir cette information;
- Tests de cytotoxicité sur trois souches de cellules humaines (A549 – cancer du poumon, CH1 – cancer de l'ovaire, SW480 – cancer du colon) pour ces complexes ont montré une faible activité.

**5. Chapitre IV: Complexes hétérométalliques d'osmium
nitrosyle-lanthanides reliés par des ponts oxalate**

5.1. Introduction

La synthèse d'un composé anticancéreux à base d'osmium nitrosyle reste un défi pour ce sujet de thèse. Dans le chapitre II nous avons décrit des complexes d'Os(NO) coordonnés avec des ligands à base d'azote (les dérivés d'azole). Dans le chapitre IV, nous avons parlé des complexes d'osmium nitrosyle à base d'azote et d'oxygène (aminoacides).

L'existence d'un médicament anticancéreux à base de platine avec l'oxalate « oxaplatine » (présenté dans le chapitre I), attribué aux agents anticancéreux de deuxième génération due à son activité élevée par rapport à cisplatine, nous a guidé d'y transposer pour le cas d'osmium. L'introduction de ligands oxygénés dans la sphère de coordination d'osmium nitrosyle pourrait améliorer l'activité antiproliférative. Cette hypothèse nous a amené naturellement à l'utilisation du ligand oxalate (ligand à base d'oxygène) pour l'associer à des entités d'Os(NO).

Il est connu que l'oxalate est un bio-composé de l'organisme, participant à différentes réactions biochimiques au cours du métabolisme. Par ailleurs, l'oxalate du point de vue de la chimie de coordination, est un fantastique ligand grâce à sa simplicité et aux différents modes de coordination (surtout les métaux 3d), permettant d'avoir une grande variété architecturales : clusters mononucléaires, polynucléaires et polymères inorganiques.^{211,212}

L'idée d'un cluster d'Os(NO) à base d'oxalate sera étendue aux complexes hétérométalliques de type osmium-lanthanide. Pourquoi les lanthanides ? Parce que l'assemblage d'un complexe mixte : d'une première partie – bioactive aux cellules cancérogènes et d'une deuxième partie – magnéto-active, pourrait contribuer au traitement de certains types de cancer, lesquels pourraient être suivis par l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). En effet, cette méthode d'investigation médicale (IRM) permet de visualiser les tumeurs du cancer au stade initial, avec des agents de contraste à base de complexes de lanthanides, particulièrement les complexes de gadolinium.^{213,214,215,216}

Axé sur cette idée : activité antiproliférative induit par Os(NO)-oxalate et la

²¹¹ J. Martinez-Lillo, L. Canadillas-Delgado, J. Cano, F. Lloret, M. Julve, J. Faus, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 9242-9244.

²¹² Cambridge Structural Database (CSD) CCDC.

²¹³ P. Caravan, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 512-523.

²¹⁴ P. Wedeking, C. H. Sotak, J. Telsner, K. Kumar, C. A. Chang, M. F. Tweedle, *Magn. Reson. Imaging*, **1992**, 10, 97-108.

²¹⁵ M. Port, C. Corot, I. Raynal, J. M. Idee, A. Dencausse, E. Lancelot, D. Meyer, B. Bonnemain, J. Lautrou, *Invest. Radiol.*, **2001**, 36, 445-454.

²¹⁶ P. H. Kuo, E. Kanal, A. K. Abu-Alfa, S. E. Cowper, *Radiology* **2007**, 242, 647-649.

coordination grâce à ses propriétés coordinatrices. Dans les complexes, l'oxalate peut être lié avec les métaux par différents modes de coordination, qui peuvent être réunis dans quelques groupes principaux présentés sur la **Figure 55**.

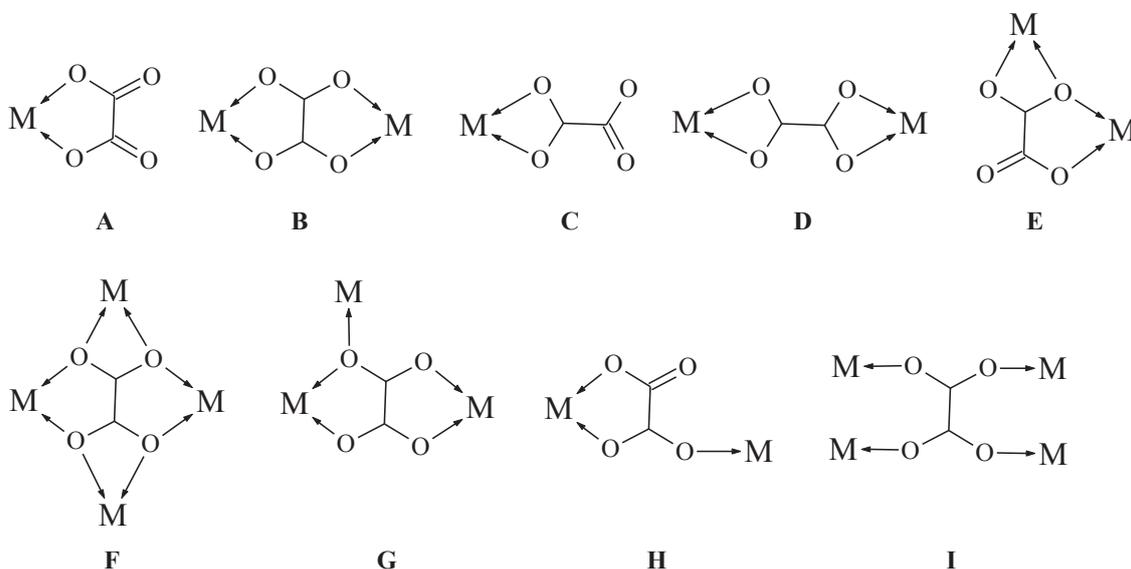


Figure 55. Modes de coordination pour l'oxalate avec les métaux de transition, d'après la base de données cristallographiques CCDC.

Les complexes d'oxalate sont rangés de **A** à **I**. A partir de ces modes de coordination, l'oxalate peut former des composés mononucléaires, polynucléaires et aussi des polymères inorganiques. Le plus souvent, on trouve des complexes oxalate–métaux de transition avec un cycle de 5 et de 3 atomes.

Une recherche sur les complexes d'osmium oxalate a montré l'existence des complexes de type $[\text{Os}(\text{OX})\text{X}_4]^{2-}$, $[\text{Os}(\text{OX})\text{X}_4]^{2-}$ (où OX = oxalate ; X = Cl, Br, I) obtenus par Pr. Preetz *et coll.*²¹⁷ Le complexe bis-oxalate avec la formule $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})_2(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ est proposé comme intermédiaire de la synthèse de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]^{2-}$ (Partie expérimentale, synthèse de $(\text{PPh}_4)_2[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]^{2-}$), mais pour lequel n'a pas été déterminé la structure cristalline.¹³⁸

La synthèse du complexe $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]^{2-}$ a été réalisée en milieu aqueux par la réaction de $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]^{2-}$ avec un excès d'acide oxalique selon le schéma réactionnel illustré sur la **Figure 56**.

²¹⁷ (a) W. Preetz, H. Schulz, *Z. Naturforsch.* **1983**, 38b, 183-189. (b) H. Homborg, W. Preetz, G. Barka, G.Schatzel, *Z. Naturforsch.* **1980**, 35b, 554-570.

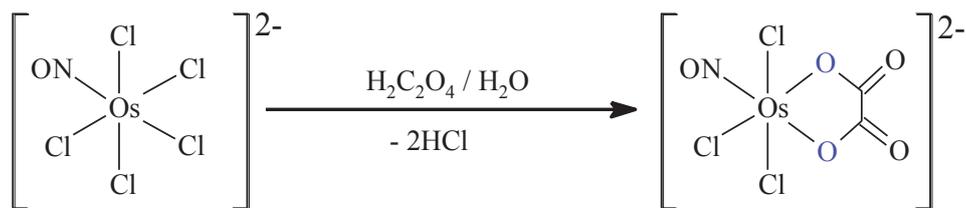


Figure 56. Réaction conduisant au complexe $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**).

L'anion du complexe $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]^{2-}$ a été précipité de la solution aqueuse avec le cation Bu_4N^+ pour donner complexe $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**) avec un rendement de 70 – 75 %. La présence et la pureté du complexe ont été confirmées par différentes analyses. L'analyse élémentaire CHN pour les complexes **17** – **22** a donné un pourcentage proche du théorique. Pour le complexe **17**, les pics de la spectrométrie de masse par ESI dans le mode négatif ont été attribué à l'espèce $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3 + \text{Bu}_4\text{N}]^-$ avec $m/z = 657$ et aux espèces $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_2]^-$, $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3 + \text{Cl}]^-$ et $[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3]^-$ $m/z = 380$, 362 et 327 respectivement.

Le composé $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**) a servi de précurseur pour la réaction d'obtention des complexes polynucléaires avec les formules générales $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^a(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^b\}$, (où $\text{M}^a = \text{Gd}, \text{Tb}, \text{Dy}$, $\text{M}^b = \text{Dy}, \text{Y}$, $\text{OX} = \text{oxalate}$, $\text{Bu} = \text{n-butyle}$). La synthèse de ces clusters avec une architecture de quatre $\text{Os}(\text{NO})$ -oxalate autour du centre métallique lanthanide, a été réalisée par la réaction du complexe **17** en présence d'un excès des sels de chlorure de $\text{Dy}(\text{III})$, $\text{Tb}(\text{III})$, $\text{Gd}(\text{III})$ et $\text{Y}(\text{III})$. La réaction a été effectuée dans un mélange co-solvant acetonitrile/2-propanol à une température de l'ordre de 80 °C pendant 40 min, donnant un rendement total de produit cristallin situé entre 60 – 75 %. Des complexes nona-coordinné de formule générale $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^a(\text{H}_2\text{O})\}$ ont été obtenus pour Tb^{3+} , Gd^{3+} , Dy^{3+} et un complexe octa-coordinné de formule $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Y}\}$ pour Y^{3+} . Selon le même protocole, mais en utilisant des solvants anhydre, nous avons obtenus quelques monocristaux du complexe octa-coordinné également pour Dy^{3+} (**21**). Ces cristaux (**21**) ont été étudiés seulement par l'analyse de diffraction des rayons X. Dans le cas de $\text{Gd}(\text{III})$ et $\text{Tb}(\text{III})$, les complexe octa-coordinné n'ont pas pu être synthétisés même dans nos conditions anhydres.

5.3. Description structurale

Pour tous les complexes **17** – **22** nous avons obtenus des monocristaux permettant la détermination de la structure par diffraction des rayons X. Le précurseur (**17**) est un complexe octaédrique avec la formule $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$. Les clusters d'osmium avec Gd, Tb, Dy et Y sont des polyèdres, dont les données cristallographiques et paramètres d'affinements sont décrits dans le **Tableau 17**.

Tableau 17. Données cristallographiques et paramètres de raffinements pour les complexes $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**), $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})\}$ (**18**) et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Y}\}$ (**22**).

Composé	17	18 (similaire pour 19, 20)	22 (similaire pour 21)
Formule	$\text{C}_{34}\text{H}_{72}\text{N}_3\text{O}_5\text{Cl}_3\text{Os}$	$\text{C}_{88}\text{H}_{182}\text{N}_9\text{O}_{21}\text{Cl}_{12}\text{Os}_4\text{Gd}$	$\text{C}_{88}\text{H}_{180}\text{N}_9\text{O}_{20}\text{Cl}_{12}\text{Os}_4\text{Y}$
λ (Å)	0,71073	0,71073	0,71073
Masse molaire (g/ mol)	899,54	3046,04	2959,68
Couleur	rouge	rouge	rouge
Température (K)	100(2)	100(2)	100(2)
Groupe d'espace	$P 2_1/c$	$C c$	$P -4 2_1/c$
a (Å)	14,9152(4)	18,247(4)	18,437(5)
b (Å)	19,6266(6)	27,330(6)	18,437(5)
c (Å)	31,2783(8)	27,276(6)	18,446(5)
α (°)	90	90	90
β (°)	106,278(3)	91,904(3)	90
γ (°)	90	90	90
V (Å ³)	8789,2(4)	13595(5)	6270(3)
Z	8	4	2
$\rho_{\text{calc.}}$ (g cm ⁻³)	1,357	1,346	1,517
μ (mm ⁻¹)	3,121	4,490	4,807
R_1 ^(a)	0,0492	0,0607	0,0533
w R_2 ^(b)	0,1875	0,1831	0,1388
GOF ^(c)	0,891	1,014	1,045

^a $R_1 = \sum||F_o| - |F_c||/\sum|F_o|$; ^b $wR_2 = \{\sum[w(F_o^2 - F_c^2)^2]/\sum[w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$; ^c $\text{GOF} = \{\sum[w(F_o^2 - F_c^2)^2]/(n - p)\}^{1/2}$, où n est le nr. total de réflexions et p nr. total de paramètres raffinés.

Le précurseur $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**) cristallise dans un système monoclinique et le groupe d'espace $P 2_1/c$. Les paramètres structuraux sont présentés sur la **Figure 57**.

A partir de données présentées sur la **Figure 57**, on peut facilement constater que les

longueurs de la liaison Os–O varient entre 2,019 – 2,056 Å. La liaison Os–O opposée au groupe nitrosyle NO est plus courte (2,019 Å) que celle d’Os–O situé en vis-à-vis de chlorure (2,056 Å). Les longueurs de liaison Os–Cl varient dans le domaine de 2,348 – 2,379 Å, dont la plus courte (2,348 Å) correspond à Os–Cl située en face de l’atome d’oxygène de l’oxalate. Pour les complexes nitrosylé, le plus intéressants sont les données structurales concernant la liaison métal-nitrosyle, déterminant ces propriétés bio-physico-chimiques.

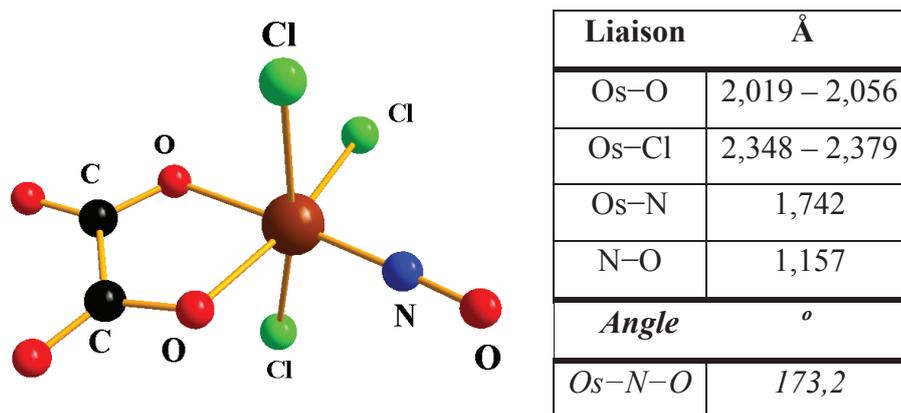


Figure 57. Structure d’anion $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]^{2-}$.

Dans le cas du complexe **17**, les distances d’Os–N et N–O sont respectivement, de l’ordre de 1,742 Å et 1,157 Å. L’angle Os–N–O est légèrement coudé avec une valeur de 173,2 °.

Les complexes Os-Ln octa-coordinés $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^b\}$ (où $\text{M}^b = \text{Dy}$ (**21**) et Y (**22**)) cristallisent dans le système tétragonal correspondant au groupe d’espace $P-4_2/c$. Les paramètres structuraux sont présentés dans la **Figure 58**.

Ici (**Figure 58**) nous avons observé que les distances de liaison M–O varient dans une région de 2,343 – 2,400 Å pour Dy–O, 2,333 – 2,389 Å pour Y–O. Cela s’explique par la non-homogénéité de ces liaisons et la localisation partielle de la charge électronique de $\text{C}-\text{O}^-$ et $\text{C}=\text{O}$. Par contre les distances de liaison Os–O sont à peu près les mêmes pour ces deux complexes, variant entre 2,064 – 2,087 Å et sont plus longues par rapport au précurseur avec une différence de l’ordre de 0,04 Å. Dans le cas de liaison Os–Cl, des modifications notables ont été observées. Les valeurs de la liaison Os–Cl varient entre 2,328 – 2,371 Å et toutes les liaisons Os–Cl sont différentes en contraste avec le précurseur où les liaisons Os–Cl étaient équivalentes.

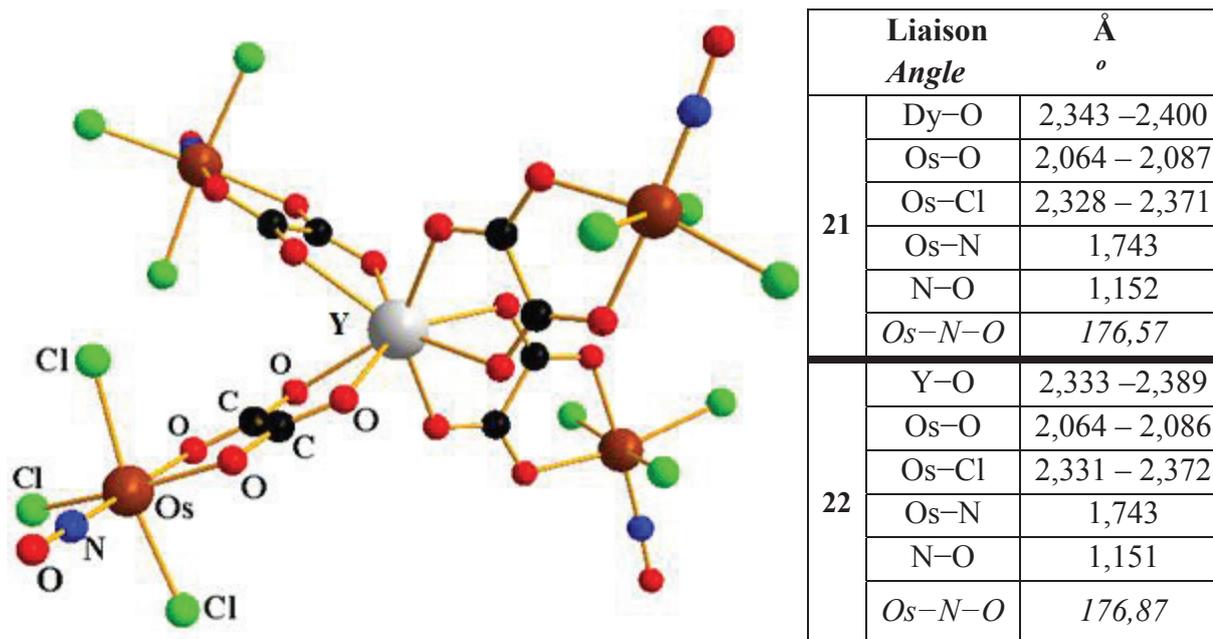


Figure 58. Structure d'anion $\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Y}\}^{5-}$ et un récapitulatif des longueurs de liaisons et des angles pour $\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^b\}^{5-}$ (où $\text{M}^b = \text{Dy}$ (**21**) et Y (**22**)).

Les longueurs de liaisons Os–N et N–O sont similaires à celles du précurseur (**17**) (Os–N = 1,743 Å, N–O = 1,157 Å). Le seul changement est observé pour l'angle d'Os–N–O, où pour les clusters **21** et **22** il est devenu plus linéaire avec des valeurs situées entre 176,57 – 176,87 °. Les changements dans les paramètres structuraux des anions du précurseur $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]^{2-}$ à $\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}\}^{5-}$ sont dus à la répartition globalement homogène de la densité électronique de l'espèce Dy- et Y-Os(NO) ponté par l'oxalate.

Les complexes Os-Ln nona-coordinés $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^a(\text{H}_2\text{O})\}$ (où $\text{M}^a = \text{Gd}$ (**18**), Tb (**19**), Dy (**20**)) cristallisent dans le système monoclinique avec le groupe d'espace Cc. Les paramètres structuraux sont montrés sur la **Figure 59**.

A cause des désordres dans ces molécules (**18**, **19**, **20**) les distances interatomiques sont plus difficiles à interpréter et à comparer celles du précurseur et aussi avec des complexes similaires. On peut toutefois observer que les liaisons interatomiques Ln–O_(OX) (Ln = Gd, Tb, Dy) sont du même ordre de grandeur que Ln–O_(H₂O) avec une valeur approximative de 2,4 Å. Les distances interatomiques Os–Cl et Os–O sont respectivement de l'ordre de 2,3(1) Å et de 2,08(8) Å. Les distances de liaisons Os–N, N–O et l'angle Os–N–O, dans notre cas sont très différentes, donnant pour Os–N une valeur de 1,8(2) Å et pour N–O une valeur 1,3(3) Å. L'angle Os–N–O n'a pas pu être déterminé à cause de désordres sur ces atomes.

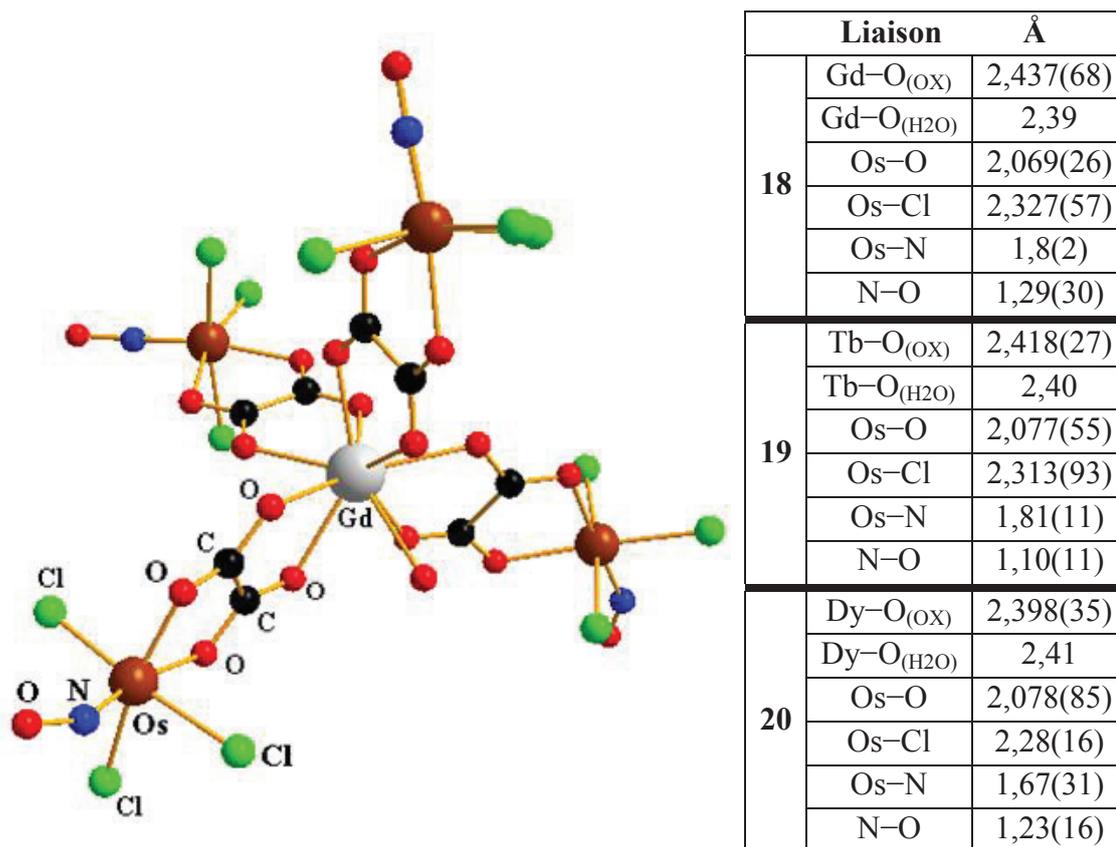


Figure 59. Structure d'anion $\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})\}^{5-}$ avec récapitulatif des longueurs de liaisons pour $\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}(\text{H}_2\text{O})\}^{5-}$, où M = Gd (**18**), Tb (**19**), Dy (**20**).

Les complexes $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Dy}\}$ (**21**) $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Dy}(\text{H}_2\text{O})\}$ (**20**) dans cette étude, la formation des complexe octa- et nona-coordonné (**Figure 60**) pour le dysprosium est intéressante.

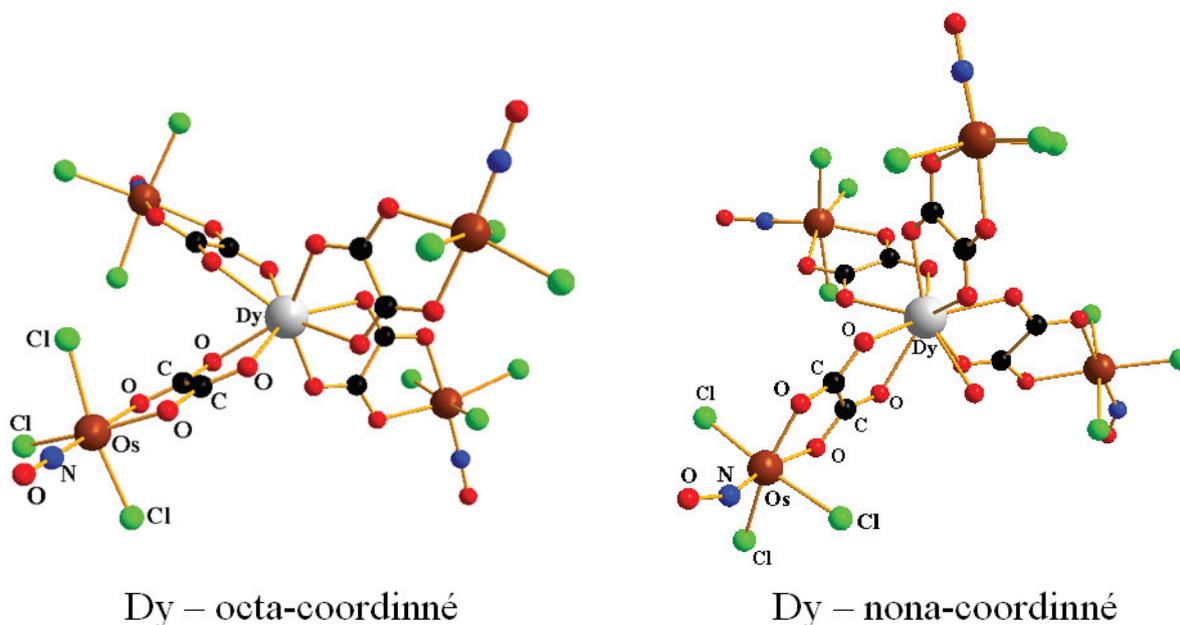


Figure 60. Structure des anions $\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Dy}\}^{5-}$ (à gauche – coordinance de 8) et $\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Dy}(\text{H}_2\text{O})\}^{5-}$ (à droit – coordinance de 9).

Les rayons ioniques d' Y^{3+} , Dy^{3+} , Tb^{3+} , Gd^{3+} avec la coordinance égale 8 et 9, sont présentés dans le **Tableau 18**.

Tableau 18. Rayons ioniques de M^{3+} (où $\text{M} = \text{Y}, \text{Dy}, \text{Tb}, \text{Gd}$),²¹⁸ avec la coordinance 8 et 9. En rouge sont décrits les complexes obtenus avec la coordinance correspondant.

Ion / coord.	8 (Å)	9 (Å)
Y^{3+}	1,019	1,075
Dy^{3+}	1,027	1,083
Tb^{3+}	1,04	1,095
Gd^{3+}	1,053	1,107

Les données indiquées dans le **Tableau 18**, montrent que les rayons ioniques avec la coordinance 8 et 9 augmentent dans l'ordre $\text{Y}^{3+} < \text{Dy}^{3+} < \text{Tb}^{3+} < \text{Gd}^{3+}$.

Les rayons de Dy^{3+} (1,027 Å (coord. = 8) et 1,083 Å (coord. = 9)) sont énergétiquement favorables pour avoir une coordinance de 8 et de 9 pour les complexes avec la formule générale $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Dy}(\text{H}_2\text{O})\}$ et

²¹⁸ R. D. Shannon. *Acta Cryst.* **1976**, A32, 751-767.

$(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Dy}\}$. Il apparait donc que les lanthanides avec un rayon ionique inférieur à Dy^{3+} vont préférer une coordinance de 8 et ceux avec un rayon ionique supérieur à Dy^{3+} opteront pour une coordinance de 9. La coordinance de 8 obtenue pour Y^{3+} (**22**) et de 9 pour Tb^{3+} (**19**) et Gd^{3+} (**18**) est en accord avec celles mentionnées ci-dessus.

On peut remarquer que les rayons ioniques de Dy^{3+} favorisent la formation de deux systèmes cristallins différents : tétragonal (coordinance 8) et monoclinique (coordinance 9). Regardant plus en détail les valeurs de la distance $\text{Dy}-\text{O}_{(\text{OX})}$ pour les deux systèmes cristallins, on constate que la longueur $\text{Dy}-\text{O}_{(\text{OX})}$ dans le système quadratique, de l'ordre de 2,372(40) Å, est légèrement plus courte que pour le système monoclinique, de l'ordre de 2,398(35) Å. La petite différence dans les longueurs de liaison $\text{Dy}-\text{O}_{(\text{OX})}$, pourrait s'expliquer par l'affaiblissement de l'énergie de liaison $\text{Dy}-\text{O}_{(\text{OX})}$ provoqué par la molécule d'eau formant neuvième site de coordination sur Dy^{3+} . Dans le récapitulatif des longueurs de liaisons de la **Figure 60**, on constate que la distance $\text{Ln}-\text{O}_{(\text{H}_2\text{O})}$ (où $\text{Ln} = \text{Dy}, \text{Tb}, \text{Gd}$) diminue selon l'ordre Dy^{3+} (2,41 Å) > Tb^{3+} (2,40 Å) > Gd^{3+} (2,39 Å). Donc, augmentant l'énergie de la liaison $\text{Ln}-\text{O}_{(\text{H}_2\text{O})}$ (où $\text{Ln} = \text{Dy}, \text{Tb}, \text{Gd}$) dans le cristal, il adopte une coordinance de 9, thermodynamiquement plus convenable.

5.4. Spectroscopie Infrarouge

Les complexes **17** – **22** ont été étudiés par spectroscopie d'IR, dont les plus importantes informations sont les fréquences vibrationnelles des groupes nitrosyle NO et carboxylates, et des liaisons métal-azote et métal-oxygène. Les spectres IR superposés pour les complexes $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**), $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{b}}\}$, où $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd}$ (**18**), Tb (**19**), Dy (**20**), $\text{M}^{\text{b}} = \text{Y}$ (**22**), sont présentés sur la **Figure 61**.

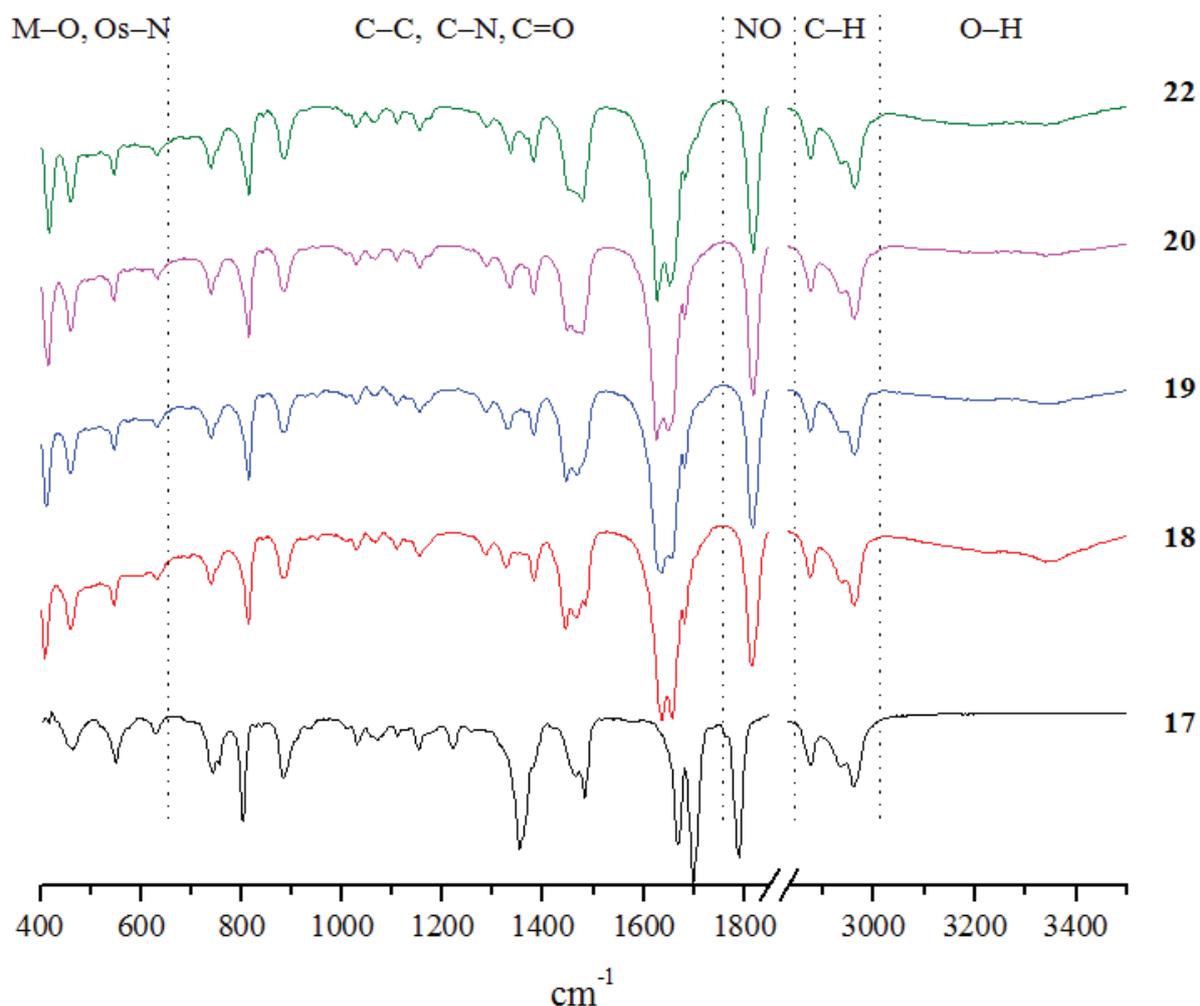


Figure 61. Spectres IR pour les complexes $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**), $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^a(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^b\}$, où $\text{M}^a = \text{Gd}$ (**18**), Tb (**19**), Dy (**20**), $\text{M}^b = \text{Y}$ (**22**).

Les spectres d'IR de la **Figure 61** sont enregistrés dans une fenêtre spectrale de 400 – 4000 cm^{-1} à la température de 298 K et on peut distinguer cinq régions de fréquences vibrationnelles spécifiques corrélés avec les groupes impliqués dans la formation de liaisons chimiques :

1. 400 – 650 cm^{-1} : fréquences pour la liaison M–O (M = Os, Y, Dy, Tb, Gd) et Os–N.
2. 700 – 1750 cm^{-1} : fréquences pour les liaisons C–C, C–N, C=O.
3. 1750 – 1850 cm^{-1} : fréquence vibrationnelle de NO.
4. 2850 – 3000 cm^{-1} : fréquences pour les liaisons C–H de Bu_4N^+ .
5. 3200 – 3500 cm^{-1} : fréquence de la liaison O–H d'eau.

Dans le **Tableau 19**, nous résumons les plus importantes fréquences vibrationnelles d'IR avec leurs valeurs.

Tableau 19. Fréquences justificatives sur les spectres IR pour $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**), $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^a(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^b\}$, (où $\text{M}^a = \text{Gd}$ (**18**), **Tb** (**19**), **Dy** (**20**), $\text{M}^b = \text{Y}$ (**22**)), en cm^{-1} .

Composé/ fréquence IR	NO	$\text{M}^{a,b}\text{-O}$	Os-O	Os-N	CO ₂	O-H
	$\nu(\text{NO})$	$\nu(\text{LnO})$	$\nu(\text{OsO})$	$\nu(\text{OsN})$	$\delta(\text{COO})$; $\nu_s(\text{CO}_2)$; $\nu_{as}(\text{CO}_2)$	$\nu(\text{OH})$
17	1789	–	460, 548	627	802, 882; 1352; 1666, 1697	–
18	1814	407	458	630	811, 881; 1325, 1380; 1634 – 1683	3340
19	1816	410	458, 544	630	812, 882; 1327, 1379; 1633 – 1681	3339
20	1817	413	458, 543	630	812, 883; 1333, 1379; 1624 – 1681	3342
22	1817	412	458, 544	630	813, 883; 1334, 1379; 1626 – 1683	–

Partant des données IR pour ces complexes, la fréquence $\nu(\text{NO})$ pour le précurseur **17** est vu à 1789 cm^{-1} et pour les clusters **18 – 22**, elle est déplacée vers des énergies plus hautes (effet hypsochrome) dans le domaine de $1814 – 1817 \text{ cm}^{-1}$. Les vibrations pour la distance M–O sortent dans le domaine de $407– 413 \text{ cm}^{-1}$ pour $\text{M} = \text{Gd}, \text{Tb}, \text{Dy}$ et de $458– 544 \text{ cm}^{-1}$ pour Os–O. La fréquence $\nu(\text{OsN})$ a été enregistrée dans la région de $627 – 630 \text{ cm}^{-1}$. Les fréquences de carboxylates : $\delta(\text{COO}) = 802 – 883 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_s(\text{CO}_2) = 1325 – 1380 \text{ cm}^{-1}$ et $\nu_{as}(\text{CO}_2) = 1624– 1697 \text{ cm}^{-1}$ justifient la présence d’oxalate dans la molécule du complexe. Les valeurs de la fréquence $\nu_{as}(\text{CO}_2)$ pour les complexes **18 – 22** sont à peu près les mêmes (**Figure 61**), mais déplacées vers les énergies plus basses (effet bathochrome) par rapport au précurseur **17**. La fréquence vibrationnelle $\nu_s(\text{CO}_2)$ pour le composé **17** est plus intense que pour les complexes M–Os(NO) ($\text{M} = \text{Gd}, \text{Dy}, \text{Tb}$ et Y), à cause de la mobilité élevé du C=O non-coordiné en comparaison avec le C=O coordonné aux Lanthanides. La fréquence O–H vers 3340 cm^{-1} vient de la molécule d’eau coordonnée dans les complexes cristallisés dans le système monoclinique (**18, 19, 20**).

5.5. Magnétisme

Nous avons étudié les propriétés magnétiques du complexe monométallique (précurseur) d’osmium $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**) et celles des hétérométalliques $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^a(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^b\}$ (où $\text{M}^a = \text{Gd}$ (**18**), **Tb** (**19**), **Dy** (**20**), $\text{M}^b = \text{Y}$ (**22**)). Le comportement magnétique pour les complexes **17, 18, 19,**

20, **22** a été analysé dans le domaine de température de 300 – 2 K avec un champ magnétique de 0,1 T. Les complexes **17** et **22** ont eu un comportement diamagnétique venant du noyau $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6$ et de Y^{3+} avec $S = 0$. Les complexes hétérométalliques **18** – **20** ont un comportement paramagnétique présenté sur la **Figure 62** sous la forme de la variation thermique du produit de la susceptibilité magnétique par la température (χT) et de la variation de l'aimantation en fonction du champ.

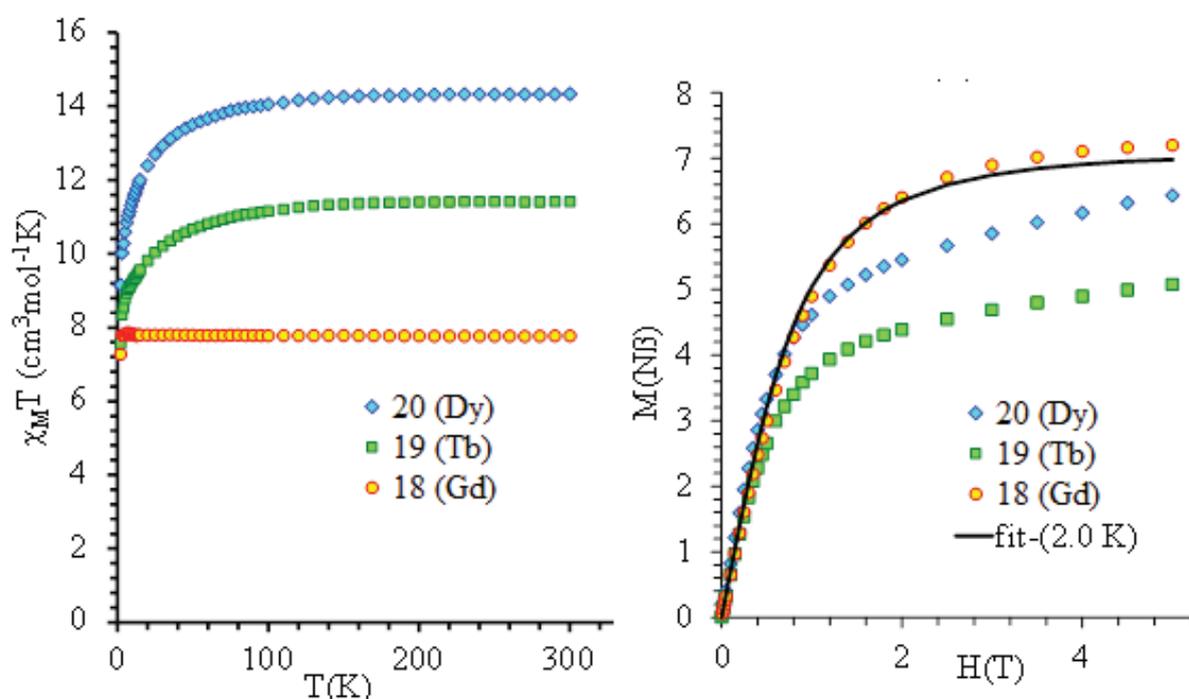


Figure 62. Variation expérimentale du produit χT à 0,1 T en fonction de la température (à gauche) et l'aimantation en fonction du champ à 2 K (à droite) pour $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^a(\text{H}_2\text{O})\}$, où $\text{M}^a = \text{Gd}$ (**18**), Tb (**19**), Dy (**20**). La ligne noire (complexe **18**) de graphique à droite, représente le meilleur ajustement selon la fonction de Brillouin ($S=7/2$; $g=2.01(3)$).

A 300 K, le produit χT est égal à $7,77 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$, $11,41 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$ et $14,34 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$ pour les complexes **18**, **19** et **20**. Ces valeurs correspondent à un lanthanide isolé sans interaction. A basses températures, les valeurs de χT diminuent jusqu'à $7,56 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$ pour **19** et $9,15 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$ pour **20**, qui s'explique par une anisotropie magnétique élevée du terbium (**19**) et du dysprosium (**20**). Dans le cas du gadolinium, χT reste constant (dans la limite d'erreur de l'analyse) dans tout l'intervalle de température. Ces résultats suggèrent l'absence d'interactions magnétiques compte tenu d'un comportement d'ion lanthanide isolé.

5.6. UV-VIS et Electrochimie

Seul le composé **17** $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ a été analysé en électrochimie, cela n'a pas été possible pour les autres à cause de la solvolysse des complexes **18** – **22** $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{b}}\}$ (où $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd}$ (**18**), Tb (**19**), Dy (**20**), $\text{M}^{\text{b}} = \text{Y}$ (**22**)) dans nos conditions expérimentales. L'étude électrochimique (voltampérométrie cyclique) a été réalisée dans $\text{CH}_3\text{CN}/ 0,1 \text{ M TBAPF}_6$ en utilisant une électrode de travail de carbone vitreux et une électrode au calomel saturée (ECS) comme référence. La **Figure 63** illustre le voltamogramme du composé $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ à 100 mV/s .

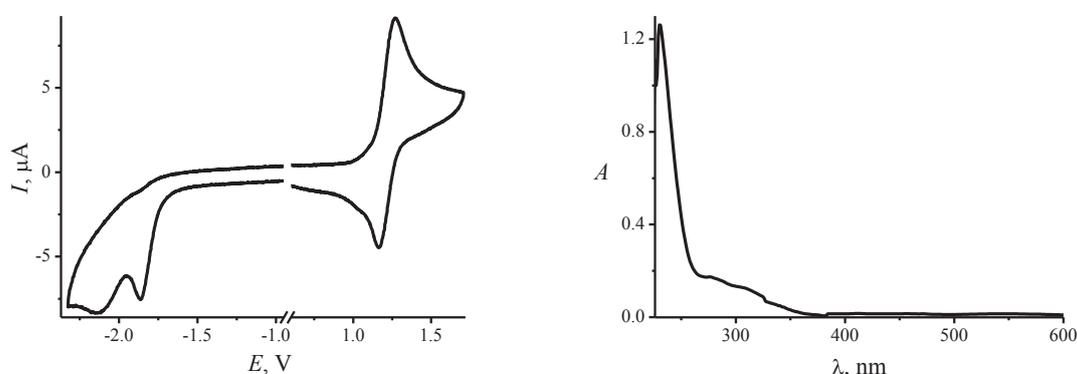


Figure 63. Voltampérométrie cyclique (à gauche) et le spectre UV-vis (à droite) pour le complexe $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ dans CH_3CN .

Le voltamogramme montre une réduction monoélectronique (déterminée par la comparaison du courant I_p du couple standard Fc/Fc^+ dans les mêmes conditions expérimentales) irréversible à un potentiel de $E_{\text{pc}} = -1,86 \text{ V}$. Le tracé $I_p = f(\sqrt{v})$ ($v =$ vitesse de balayage potentiels) est linéaire et caractéristique d'un transport de matière par diffusion uniquement. Ce processus peut donc être attribué à la réaction $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6 \rightarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^7$. Le pic à $E_p = -2,14 \text{ V}$ correspondrait alors à la réduction du ligand oxalate.

La voltamétrie cyclique en oxydation pour le complexe $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ (**17**) est caractérisée par une vague quasi-réversible (rapport de pic $R_{I_p} = 0,66$ à 100 mV/s) avec une valeur du potentiel $E_{1/2} = 1,22 \text{ V/ECS}$ attribuée à la réaction $\{\text{Os}(\text{NO})\}^6 \rightarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^5$. En revanche, à l'échelle de l'électrolyse, ce système devient irréversible avec un nombre d'électrons apparent $n_{\text{app}} = 3$. Ceci démontre l'instabilité du complexe après transfert d'électron suivi probablement de l'oxydation du ligand formant in situ le dioxyde de carbone CO_2 .

Le spectre électronique du complexe **17** (**Figure 63** à droite) montrent une transition forte $\pi(\text{OX}) \rightarrow \pi^*(\text{OX})$ à 230 nm, une transition plus faible $d(\text{Os}) \rightarrow \pi^*(\text{OX})$ entre 276 nm et 303 nm et la moins intense correspond à la transition $d(\text{Os}) \rightarrow \pi^*(\text{NO})$ située entre 416 – 547 nm.

5.7. Resistance à l'hydrolyse et activité antiproliférative

Comme précédent et pour les mêmes raisons, l'étude de l'hydrolyse et de l'activité anticancéreuse n'a pas pu être faite que sur le composé (**17**). Le complexe **17** a été solubilisé à 3,4 mM dans une solution aqueuse avec 1% DMSO, valeur qui entre dans les conditions appliquées pour les tests en cytotoxicité. L'étude de l'hydrolyse a été suivie par spectroscopie UV-vis, dont le spectre, au début et après 72 h de la dissolution est présenté sur la **Figure 64**.

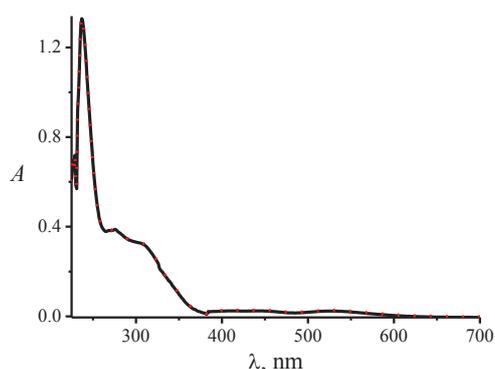


Figure 64. Spectre UV-vis dans une solution aqueuse (1% DMSO) du complexe $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ mesurés immédiatement (en noir) et après 72 h (en rouge).

Sur la **Figure 64**, la superposition des spectres montre que le complexe **17** est stable dans une solution aqueuse (1% DMSO) à 298 K pendant 72 h. Cela montre que l'hydrolyse n'a pas eu lieu au cours de ce délai. Ce composé a donc pu être testé pour son activité anticancéreuse sur trois souches de cellules cancéreuses humaines : CH1 (cancer d'ovaire), SW480 (cancer du colon) and A549 (cancer du poumon). Les résultats de la cytotoxicité du complexe donnent les valeurs de CI_{50} pour A549 = $137 \pm 22 \mu\text{M}$, CH1 = $30 \pm 6 \mu\text{M}$, SW480 = $50 \pm 18 \mu\text{M}$. Les résultats de l'activité antiproliférative pour ce composé, montrent une cytotoxicité nettement supérieure par rapport au cation tétrabutylammonium, qui ne peut être attribuée qu'à l'activité de l'anion $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]^{2-}$. L'anion $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]^{2-}$ semble

être plus actif sur les cellules cancéreuses d'ovaire (CH1) ($30 \pm 6 \mu\text{M}$), relativement actif sur celles de cancer du colon (SW480) ($50 \pm 18 \mu\text{M}$) et beaucoup moins actif sur les cellules cancérogènes du poumon (A549) ($137 \pm 22 \mu\text{M}$). Les valeurs CI_{50} de l'activité anticancéreuse obtenues pour le complexe **17** montrent une activité moyenne $< 100 \mu\text{M}$.

Si on compare la cytotoxicité des complexes d' $\text{Os}(\text{NO})$ synthétisés au cours de nos travaux, on peut remarquer que l'activité exprimée en CI_{50} , de l'anion $[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]^{2-}$ ($\text{CI}_{50} (\text{A549}) = 137 \pm 22 \mu\text{M}$, $\text{CI}_{50} (\text{SW480}) = 50 \pm 18 \mu\text{M}$), est situé dans le même domaine que pour le complexe $\text{H}_2\text{ind}[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ (**3'**) (le plus actif parmi les complexes d'azole et d'aminoacides présentés dans le chapitre II et IV) pour les cellules A549 ($128 \pm 18 \mu\text{M}$) et SW480 ($43 \pm 6 \mu\text{M}$). La supériorité à l'activité antiproliférative du complexe $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ par rapport à $\text{H}_2\text{ind}[\text{cis-}\text{Os}\text{Cl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]$ est obtenue sur les cellules cancéreuses d'ovaire CH1, pour lequel on obtient $\text{CI}_{50} = 30 \pm 6 \mu\text{M}$ contre $\text{CI}_{50} = 48 \pm 14 \mu\text{M}$ pour $\text{H}_2\text{ind}[\text{cis-}\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$.

5.8. Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons exposé la synthèse et l'étude cristallographique de clusters avec les formules générales $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$, $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{b}}\}$ (où $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd}, \text{Tb}, \text{Dy}$, $\text{M}^{\text{b}} = \text{Dy}, \text{Y}$, $\text{OX} = \text{oxalate}$, $\text{Bu} = \text{n-butyle}$) et également de leur précurseur avec la formule $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$. Grâce à la capacité de l'oxalate à former des ponts, on a pu synthétiser avec un très bon rendement de 60 – 75 %, des complexes μ -oxalate d' $\text{Os}(\text{NO})\text{-M}$ (où $\text{M} = \text{Gd}, \text{Dy}, \text{Tb}$ et Y).

Les composés $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{b}}\}$ (où $\text{M}^{\text{b}} = \text{Dy}, \text{Y}$) cristallisent dans le système tétragonal avec le lanthanide octacoordiné, tandis que les composés $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$ (où $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd}, \text{Tb}, \text{Dy}$) cristallisent dans un système monoclinique avec le lanthanide nonacoordiné. Les différences de nombre de coordination semblent dépendre du rayon de l'ion. Les deux modes de coordination ont été obtenus seulement pour Dy^{3+} .

L'étude des propriétés magnétique de tous les complexes montre que le précurseur $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ et le complexe $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{Y}\}$ sont diamagnétiques, mais les complexes avec la formule générale $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$ (où $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd}, \text{Tb}, \text{Dy}$) possèdent un paramagnétisme équivalent au lanthanide isolé.

L'étude spectrale d'IR pour tous les complexes a montré la présence de nitrosyle avec un décalage vers le bleu de $\Delta = 25 \text{ cm}^{-1}$ par rapport au précurseur. Le $\nu_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$ de l'oxalate est décalé vers le rouge avec un $\Delta = 40 \text{ cm}^{-1}$ par rapport à précurseur.

Le complexe précurseur $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ a été caractérisé en solution par la spectrométrie de masse et l'UV-vis prouvant sa stabilité. L'électrochimie du précurseur a mis en évidence les processus $\{\text{Os}(\text{NO})\}^7 \leftarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^6 \rightarrow \{\text{Os}(\text{NO})\}^5$, important pour la détermination du mécanisme lors des réactions biochimiques « *in vitro* ».

L'activité antiproliférative du complexe $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ sur trois souches de cellules humaines (A549 – cancer du poumon, CH1 – cancer de l'ovaire, SW480 – cancer du colon), a montré un comportement semblable à $\text{H}_2\text{ind}[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ pour A549 et SW480, et une cytotoxicité très élevée parmi les complexes d' $\text{Os}(\text{NO})$ étudiés jusqu'à présent, pour le cancer d'ovaire (CH1) avec une valeur $\text{CI}_{50} = 30 \pm 6 \text{ }\mu\text{M}$.

6. Conclusions générales

Ce travail de thèse avait comme objectif primordiale la synthèse de nouveaux composés d'osmium nitrosyle et l'étude de leur activité anticancéreuse.

Pour cette étude, nous sommes restés sur l'entité d'osmium-nitrosyle en coordonnant différents ligands organiques simples porteurs d'atomes donneurs d'électrons N et O. Dans ce travail, nous avons utilisé les ligands tels que les dérivés d'azoles : indazole, benzimidazole, pyrazole et imidazole ; les aminoacides incluant glycine, L- et D-proline et l'acide picolinique et également l'acide oxalique. Le choix de ces ligands était basé sur leurs capacités comme agents bioactifs dans le métabolisme humain et aussi sur l'activité anticancéreuse de leurs complexes de ruthénium et de platine.

La recherche dans un domaine étroit basé uniquement sur l'osmium-nitrosyle avec quelques ligands, nous a permis de synthétiser divers complexes avec différentes isoméries géométrique et pour certains, optiquement actifs.

Dans ce travail de thèse, nous avons synthétisé **22** complexes d'osmium-nitrosyle divisés en trois familles de composés de formules générales : (cation)[Os(NO)Cl₄(azole)] (où azole = indazole, pyrazole, imidazole ou benzimidazole et cation = Bu₄N⁺ (Bu = n-butyle), Na⁺ ou azolium⁺), Bu₄N[Os(NO)Cl₃(L)] (où L = oxalate, glycinate, picolinate (pyridine-2-carboxylate), L-prolinate et D-prolinate), (Bu₄N)₅{[Os(NO)(OX)Cl₃]₄M(L)} (où pour L = H₂O, M = Gd, Tb, Dy et où « L = 0 », M = Dy, Y). Tous les complexes avec le cation tétrabutylammonium ont été obtenus sous forme de monocristaux permettant leur détermination structurale grâce à la diffraction de rayons X sur monocristal. De plus, tous ces complexes ont été caractérisés par différentes méthodes physiques et physico-chimiques :

- Spectroscopie IR et Raman pour certains, ont été utilisés pour caractériser principalement la présence du NO et aussi les fréquences vibrationnelles des liaisons Os-O, Os-N, Os-Cl et ceux de la molécule du ligand;
- Spectroscopie RMN de ¹H, ¹³C et ¹⁵N pour certains, en 1D et 2D a permis d'établir la structure de composés et stabilité en solution ainsi que leur pureté;
- Spectrométrie de masse en ESI a donné des informations sur la masse exacte des complexes, mais également sur leur stabilité en solution;
- Electrochimie a été utilisée pour connaître les processus redox en solution, paramètre important pour la détermination des mécanismes lors des réactions biochimiques *in vitro* et pour la libération de NO;
- Spectroscopie UV-vis a été utilisée pour établir la stabilité (résistance à la solvolysse) et la solubilité des composés dans différents solvants (aqueux et non aqueux).

- Dichroïsme circulaire pour les complexes $\text{Bu}_4\text{N}[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{L})]$ (où $\text{L} = \text{L-Pro, D-Pro}$) pour établir la chiralité du complexe et leur homogénéité et pureté chirales en solution;

Une étude approfondie de la réactivité et de la stabilité thermodynamique a été réalisée pour le complexe $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ avec les isoméries *cis* et *trans*. L'étude a été menée par spectroscopie RMN de H^1 et par électrochimie. Elle a montré que la réactivité de l'entité osmium-nitrosyle était plus lente que celles des éléments 3d et 4f. Au-dessus de la température de $100\text{ }^\circ\text{C}$, le complexe $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ subissait une isomérisation partielle en accord avec à une réaction réversible d'ordre I. Les constantes de vitesse pour l'isomérisation *trans* \rightarrow *cis* et *cis* \rightarrow *trans* étaient de l'ordre de 10^{-5} s^{-1} et 10^{-6} s^{-1} , donc très faible. Les paramètres d'activation obtenus nous ont suggéré que le mécanisme d'isomérisation semble être dissociatif en accord avec les calculs DFT et la stabilité thermodynamique du complexe $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$. L'isomérisation *cis* – *trans*, induit par transferts d'électrons n'a pu être observée à cause du faible taux d'échange à la température ambiante.

Le composé d'osmium-nitrosyle à base d'oxalate nous a fourni des complexes hétérométalliques avec la formule générale $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}(\text{L})\}$ (où pour $\text{L} = \text{H}_2\text{O}$, $\text{M} = \text{Gd, Tb, Dy}$ et où « $\text{L} = 0$ », $\text{M} = \text{Dy, Y}$) très intéressants du point de vue de la cristallographie. Pour la série des lanthanides Gd, Tb, Dy et Y , nous avons observé deux types de complexes, certains avec la coordinance 8 (Y, Dy) cristallisent dans le système quadratique et les autres avec la coordinance 9 (Gd, Tb, Dy) cristallisent dans le système monoclinique. Le rayon du cation du lanthanide semble être l'élément déterminant dans la formation de ces deux types de complexes. La transition est observée à partir de Dy^{3+} qui présente les modes de coordination 8 et 9. Les cations de lanthanides plus petits que Dy^{3+} formeront un complexe avec la coordinance 8 et les autres avec la coordinance 9. Les mesures magnétiques ont montré que le noyau d'osmium-nitrosyle est diamagnétique et le magnétisme des clusters a un comportement semblable à un ion lanthanide isolé.

L'activité antiproliférative était l'objectif principal dans ce travail. Pour réaliser ces tests sur nos complexes, nous devons respecter quelques conditions nécessaires telles que structure, pureté, solubilité dans le milieu aqueux et stabilité à l'hydrolyse. Pour satisfaire ces conditions, surtout la solubilité dans le milieu aqueux, nous avons choisi différentes stratégies changeant pour certains complexes le cation Bu_4N^+ par le cation sodium ou azolium. Les essais antiprolifératifs ont été fait sur trois souches de cellules cancéreuses : A549 – cancer du poumon, CH1 – cancer ovarien, SW480 – cancer du colon. Parmi les complexes que nous

avons synthétisé, étudié et ceux connus dans la littérature, deux complexes $\text{H}_2\text{ind}[\text{cis-Os}(\text{NO})\text{Cl}_4(\text{Hind})]$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]$ ont eu les cytotoxicités les plus élevées contre le cancer ovarien et du colon. Les autres complexes obtenus dans ce travail ont montré une activité antiproliférative trop faible.

Nous espérons que ce travail complétera les connaissances scientifiques sur les complexes anticancéreux à base de métal-nitrosyle par le développement de nouveaux composés de coordination capables de générer NO de manière contrôlée comme schématisé sur la **Figure 65**. La libération de NO d'un complexe nitrosyle après rupture de la liaison métal-nitrosyle pourrait être induite par la lumière ou/ et le transfère d'électrons. Le NO libre possède des propriétés thérapeutiques capables de tuer les cellules cancérigènes. Nous pouvons envisager que le reste métal-ligands agirait également comme agent anticancéreux.

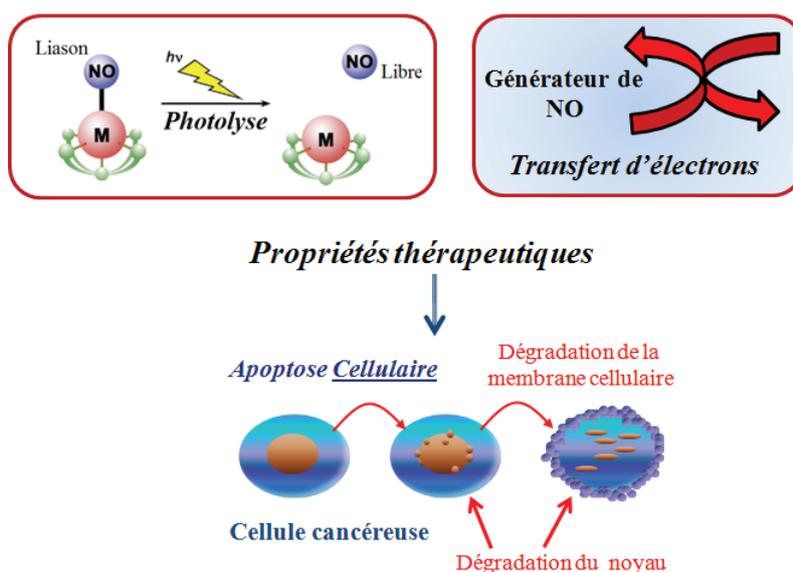


Figure 65. Idée pour un composé anticancéreux à base de métal-nitrosyle.

7. Partie expérimentale

7.1. Mesures physico–bio-chimiques

Les analyses physico-chimiques, en particulier : la diffraction par les rayons X et la RMN, ont été faits en respectant les règles de sécurité en vigueur.

Analyses élémentaires : Les analyses élémentaires ont été réalisées par le Service Central d'Analyse du C.N.R.S. à Solaize et le Service Microanalytique de la Faculté de Chimie de l'Université de Vienne.

Spectroscopie IR : Les spectres infrarouges ont été enregistrés à l'état solide avec un spectromètre NICOLET dans une fenêtre spectrale $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$.

Spectroscopie Raman : Les spectres Raman ont été enregistrés à l'état solide sur un microscope Raman inVia Renishaw 3000, avec une source d'excitation de 785 nm à base d'un laser de diode de l'Université de Montréal. Le microscope a été utilisé pour focaliser la lumière d'excitation jusqu'à un faisceau d'environ $1 \mu\text{m}$ en diamètre et pour collecter la lumière diffusé. La lumière rétrodiffusé a été détecté avec une camera multi canal CCD à refroidissement Peltier. La température d'échantillon a été contrôlée avec un cryostat Linksys 500 en utilisant un courant de N_2 froid. Les mesures ont été faites dans une fenêtre spectrale de $150 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ et dans un intervalle de $83 - 298 \text{ K}$.

Spectroscopie UV-vis : Les spectres UV-vis ont été enregistrés avec un spectromètre Perkin-Elmer Lambda 35.

Spectrométrie de masse : Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil à piège ionique ThermoLCQ équipé avec une source d'ionisation d'électrospray (EIS) dans le mode positif et négatif. Le voltage de spray pour le mode positif et négatif a été 4 kV et -3 kV et la température de transfère capillaire a été $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

Spectroscopie RMN : Les spectres RMN ^1H , ^{13}C et ^{15}N ont été enregistrés à 500,32 ; 125,82 et 50,70 MHz sur un appareil Bruker AV500 Avance III dans la solution de DMSO-d_6 et $\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$. Les spectres RMN ^1H de routine ont été enregistrés à 300 MHz sur un appareil Bruker DRX-300 dans la solution de DMSO-d_6 . Les déplacements chimiques ont été attribués par rapport à TMS (tétraméthylsilane) utilisant les signaux résiduels du solvant. Le logiciel MestRec a été utilisé pour visualiser et calculer les paramètres (intégrales, pics, constants de couplage « J ») de spectres RMN.

Mesures électrochimiques : Les mesures électrochimiques on été enregistrés sur un potentio-galvanostat AMEL 7050 utilisant une cellule électrochimique avec trois électrodes : une électrode du travail de carbone vitreux, une électrode saturée de calomel (ESC) comme

référence et une électrode de platine comme électrode auxiliaire. Les mesures sont faites dans la solution d'acétonitrile avec une concentration de 1 – 2 mM du complexe et 0,1 M de TBAPF₆ comme électrolyte support. La déaération des solutions ont été accompli par un courant de N₂ à travers la solution pendant 30 min avant la mesure et en maintenant une atmosphère de N₂ au cours d'analyse. La référence interne pour l'étude électrochimique a servi le couple Ferrocene/ferricinium, dont le potentiel pour chaque espèce analysé a été donné sous la figure correspondante. Les processus électroniques ont été déterminés par la comparaison de l'hauteur du curen i_p avec le couple standard Fc/ Fc⁺ et par électrolyse exhaustive, dans les mêmes conditions expérimentales.

Diffraction des rayons X sur monocristal : Les données cristallographiques ont été collectées avec un diffractomètre Oxford-Diffraction Gemini A Ultra (Centre de Diffraction Henri Longchambon) ou Bruker X8 APEXII CCD (Institut de Chimie Inorganique de l'Université de Vienne). Les diffractomètres sont munis d'un monochromateur graphite centré sur la raie K α du Mo ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) à 100(2) ou 150(2) K. Les diffractomètres sont équipés d'une camera CCD et contrôlés par le logiciel CrysAlisPro (Oxford-Diffraction Gemini A Ultra) et SAINT²¹⁹ (Bruker X8 APEXII CCD). Les structures ont été résolues par la méthode directe. Les logiciels suivants ont été utilisé : SIR97²²⁰ et SHELXS-97²²¹ pour la résolution des structures ; CRYSTALS²²² et SHELXS-97 pour l'affinement des structures ; Diamond 3.2 pour la visualisation des structures. Les atomes autres que les hydrogènes ont été affinés de façon anisotrope, les atomes d'hydrogènes ont été placés sur des positions idéales calculés avec les paramètres d'agitation thermique isotrope avec un model d'équitation.

Mesures magnétiques : Les mesures de susceptibilité ont été effectuées sur magnétomètre SQUID de Quantum Design (MPMS-XL) du notre laboratoire dans l'intervalle de températures 2 – 300 K et dans un champ de 0,1 T. Les échantillons ont été placés dans un porte échantillon en téflon et les donnés ont été corrigés à partir de Tables des Constantes Pascal.²²³

L'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses : Les essais antiprolifératifs

²¹⁹ SAINT-Plus, version 7.06a et APEX2; Bruker-Nonius AXS Inc.: Madison, WI, 2004.

²²⁰ A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. L. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, 32, 115-119.

²²¹ Sheldrick, G. M., *Acta Crystallogr.* **2010**, A46, 112–122.

²²² D. J. Watkin, C. K. Prout, J. R. Carruthers, P. W. Betteridge, *CRISTAL Issue 11: Chemical Crystallography Laboratory*, Oxford, UK, 1999.

²²³ P. Pascal, *Ann. Chim. Phys.* **1910**, 19, 5.

ont été fait à l'Institut de Chimie Inorganique de l'Université de Vienne dans le groupe du Pr. Michael A. Jakupec par la doctorante Maria Novak.

Les souches de cellules cancéreuses du poumon (A549) et du côlon (SW480) ont été fournies par Pr. Brigitte Marian (Institut de Recherche du Cancer, Département de Médecine I, Université Médicale de Vienne, Autriche). La ligne de cellules cancéreuses d'ovaire (CH1) a été fournie par Pr. Lloyd R. Kelland (Centre CRC pour Thérapies du Cancer, Institute de Recherche du Cancer, Sutton, Grande Bretagne).

Les cellules ont été cultivées en boîtes de 75 cm² dans un milieu complet de : Minimum Essential Medium supplémenté avec 10 % de sérum de veau fœtal, 1 mM de pyruvate de sodium, 1 % des aminoacides non essentiels (de « 100× ready-to-use stock »), 4 mM de L-glutamine et sans antibiotiques. Les cultures sont ensuite maintenues à 37 °C dans un incubateur sous 5 % CO₂/ 95 % d'air et à saturation en vapeur d'eau.

L'activité antiproliférative « *in vitro* » a été déterminée par la méthode colorimétrique utilisant le sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-diméthyl-2-thiazolyl)-2,5-diphényl-2H-tétrazolium). Le test colorimétrique MTT est un test « *in vitro* » mesurant la croissance globale d'une population cellulaire.

Après une culture de quelques jours (3 – 5) en milieu complet et un traitement avec la trypsine, des aliquotes de 100 µL par puits de cellules sont transférés dans des plaques de 96 puits en nombre défini (environ 3000 cellules/puits pour A549, 1000 cellules pour CH1 et 2000 cellules pour SW480), leur permettant ainsi une croissance exponentielle tout au long de l'expérience. Les cellules utilisées dans cette étude ont été incubées pendant 24 h et puis aux cellules ont été ajoutés un aliquote de 100 µL par puits d'une solution (solution aqueuse avec une maxime 0,5 % DMSO) de concentration variable du complexe à tester. Après une exposition de 96 h du mélange « complexe-milieu biologique », le milieu a été remplacé par 100 µL par puits d'une solution de MTT (5 mg/ mL de MTT dans le tampon phosphate salin) et « RPMI 1640 medium » en rapport de 1 : 6, suivie d'une inhibition de 4 h. Ensuite, le milieu a été remplacé avec 150 µL par puits de DMSO pour dissoudre Formazan (produit de la réduction de MTT) formé par des cellules viables. La densité optique à 550 nm a été mesurée avec un lecteur de plaques, donnant la quantité relative des cellules viables, d'où il a été possible de calculer la concentration inhibitrice médiane (CI₅₀). L'évaluation des valeurs CI₅₀ et des erreurs d'analyse, a été basée sur au moins trois expériences indépendantes.

7.2. Synthèses

Précautions particuliers !!!

Synthèses : Dans notre travail, les synthèses partent toujours du tétraoxyde d'osmium (OsO_4), composé très dangereux (selon la fiche de données de sécurité – Annexe 1) nécessitant de grandes précautions lors de son utilisation. La toxicité est surtout liée à sa volatilité à température ambiante, pouvant induire des effets néfastes par inhalation. Une fois que le composé a été réduit aux bas degrés d'oxydation ($< (+8)$), il devient plus facile à travailler, mais il faut toujours être prudent avec ses composés respectant rigoureusement les conditions sécurité nécessaires. Les autres réactions décrites dans ce travail ont été réalisées avec les précautions générales respectant les fiches de sécurité.

Réactifs et solvants : Dans ce travail nous avons utilisé des produits et solvants fournis par différents compagnies sans faire de purifications supplémentaires.

7.2.1 Synthèse de $(\text{PPh}_4)_2[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]$

La synthèse du composé intermédiaire nitrosyle comprend deux étapes: la synthèse d'osmium nitrosyle bi-oxalate et ensuite l'osmium-nitrosyle pentachlorure. La réduction d' OsO_4 se fait en présence de NH_2OH et $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ en solution aqueuse.

Pour la synthèse de $(\text{PPh}_4)_2[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]$, on dissout 1g (3,93 mmol) d' OsO_4 dans environ 30 mL d'eau sous agitation : la solution devient jaunâtre. Ensuite, on ajoute, en excès, 4,0 g (57,5 mmol) de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ et 4,5 g (24,4 mmol) de $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$. On chauffe au bain-marie à 75 – 80 °C pendant 1 h jusqu'à l'obtention d'une solution rouge claire. Le résumé de la réaction est présenté sur la **Figure 66**.

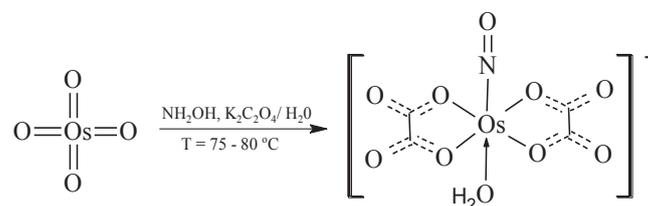


Figure 66. Réaction de formation d'osmium nitrosyle bi-oxalate.

La solution obtenue est mise à l'ébullition après addition de 30 ml d'acide chlorhydrique à 37%, pendant 2 h 30 min. Des ajouts réguliers de $\text{HCl}_{(\text{conc.})}$ sont réalisés afin de ramener au volume initial et compenser ainsi la perte par évaporation de HCl gazeux (typiquement, 2 ou 3 ajouts). A l'issue du dernier ajout de 20 mL de HCl auquel s'ajoute 60

mL d'eau, on ramène naturellement la solution à une température de 60°C.

On rajoute ensuite au milieu réactionnel une solution goûte à goûte de 3,27g (8,72mmol) de PPh_4Cl dissout dans 50 mL d'eau – un précipité gris apparaît. Cette solution est agitée pendant 30 min. Une fois revenue à température ambiante, on filtre. Le précipité obtenu est lavé avec 3×10 mL d'eau, 3×5 mL d'éthanol (50%), et enfin avec 2×5 mL d'éther diéthylique. Le solide est séché sous vide pendant une nuit. Les réactions chimiques associées sont montrées sur la **Figure 67**.

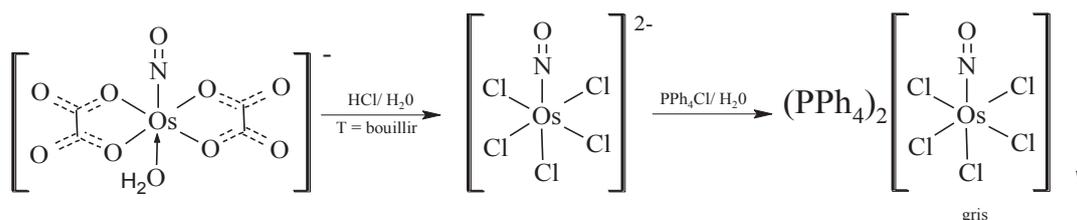


Figure 67. Réactions conduisant au complexe $(\text{PPh}_4)_2[\text{Os}(\text{NO})\text{Cl}_5]$.

Après la réaction, on obtient 3 g de produit et le rendement est de 70 %. Form. $\text{C}_{48}\text{H}_{42}\text{P}_2\text{NO}_2\text{Cl}_5\text{Os}$ ($M_r = 1094,28$ g/ mol).

En raison de la fenêtre électrochimique et les facilités de cristallisation, le cation de PPh_4^+ est substitué par Bu_4N^+ par ajout de Bu_4NPF_6 . Il se forme un précipité blanc de PPh_4PF_6 , que l'on peut séparer aisément du milieu réactionnel.

Pour la synthèse de $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{OsCl}_5\text{NO}]$, on dissout 0,5 g (0,46 mmol) de $(\text{PPh}_4)_2[\text{OsCl}_5\text{NO}]$ formé précédemment dans 50 mL de méthanol à chaud. On ajoute ensuite 0,152 g de $(\text{NH}_4)\text{PF}_6$ ou 0,36 g de $(\text{Bu}_4\text{N})\text{PF}_6$ (0,92mmol) dans 10 mL de méthanol : un précipité blanc apparaît instantanément. On agite pendant 15 minutes, puis on filtre sur fritté. La solution est évaporée sous vide conduisant à un solide rougeâtre. La réaction est résumée dans **eq. 6**.



Le rendement est très élevé (jusqu'à 100 %) et le produit de la réaction est utilisé immédiatement pour les prochaines étapes.

7.2.2 Synthèse de (cation)[Os(NO)Cl₄(Hind)], cation = Na⁺, Bu₄N⁺

La synthèse des composés de type (cation)[Os(NO)Cl₄(Hind)] peut donner deux isomères cis et trans par rapport à NO. Tout d'abord, on obtient le complexe

(Bu₄N)[Os(NO)Cl₄(Hind)]. Pour des raisons de solubilité en milieu aqueux, condition indispensable pour passer les tests biologiques, le Bu₄N⁺ est échangé par l'ion sodium Na⁺. Les analyses qui confirment les entités *cis*- et *trans*-(Bu₄N)[Os(NO)Cl₄(Hind)] et leurs analogues Na[Os(NO)Cl₄(Hind)] sont décrites ci-dessous.

(Bu₄N)[*cis*-Os(NO)Cl₄(Hind)] (1) et (Bu₄N)[*trans*-Os(NO)Cl₄(Hind)] (2). Un mélange d'indazole (100 mg, 0,85 mmol) et (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅] (500 mg, 0,56 mmol) dans *n*-butanol (10 mL) a été chauffé à 105 °C pendant 24 h. La solution a été transférée dans un bécher et après 2 jours, des cristaux rouges d'isomère *cis* sont apparus. Le produit cristallin a été filtré et lavé avec eau/éthanol 1 : 2 (3×10 mL), éther di-éthylique (3×5 mL) et séché sous vide. Rendement: 210 mg, 52 %. Le volume de la solution a été réduit jusqu'à un tiers par évaporation lente permettant d'obtenir des cristaux bleu d'isomère *trans* convenables pour une analyse de diffraction des rayons X. Le composé a été filtré et lavé avec eau/éthanol 1 : 2 (3 × 3 mL), éther di-éthylique (3×1 mL) et séché sous vide. Rendement: 101 mg, 25 %.

Données analytiques pour **1**: Anal. Elém. pour C₂₃H₄₂OsCl₄N₄O (*M_r* = 722,65 g/mol): C, 38,23; H, 5,86; N, 7,75. Trouvé: C, 38,48; H, 5,66; N, 7,62. ESI-MS (CH₃CN) (négative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 480 [Os(NO)Cl₄(Hind)]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 437, 657, 761, 846, 878, 967, 1004, 1091, 1153, 1240, 1279, 1359, 1380, 1476, 1625, 1805 (NO), 2873, 2960, 3258. UV-vis (CH₃CN), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 248 (11573), 393 (sh, 6178), 511 (921). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz), δ , ppm: 0,93 (t, 12H_D, *J* = 7,3 Hz), 1,31 (sxt, 8H_C, *J* = 7,3 Hz), 1,57 (qui, 8H_B, *J* = 7,7 Hz), 3,16 (t, 8H, *J* = 8,4 Hz), 7,26 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H₆), 7,49 (t, 1H, *J* = 7,6 Hz, H₅), 7,78 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, H₄), 7,91 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H₇), 8,62 (s, 1H, H₃), 13,49 (s, 1H, H₁). ¹³C RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz), δ , ppm: 13,47 (C_D), 19,18 (C_C), 23,07 (C_B), 57,54 (C_A), 111,11 (C₄), 121,33 (C₇), 121,98 (C₆), 129,12 (C₅), 137,79 (C₃), 140,78 (C_{8,9}). ¹⁵N RMN (DMSO-d₆, 50,69 MHz), δ , ppm: 65,6 (N de Bu₄N⁺), 187,6 (N₂), 194,2 (d, N₁). Les monocristaux pour l'analyse cristallographique ont été obtenus de la solution initiale.

Données analytiques pour **2**: Anal. Elém. pour C₂₃H₄₂OsCl₄N₄O (*M_r* = 722,65 g/mol): C, 38,23; H, 5,86; N, 7,75. Trouvé: C, 38,49; H, 5,74; N, 7,61. ESI-MS (CH₃CN) (négative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 480 [Os(NO)Cl₄(Hind)]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 437, 520, 594, 616, 660, 736, 757, 832, 878, 967, 1005, 1096, 1150, 1238, 1284, 1361, 1378, 1476, 1517, 1630, 1838 (NO), 2871, 2960, 3300. UV-vis (CH₃CN), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 254 (9207), 270 (8145), 300 (sh, 3808), 579 (116). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz), δ , ppm: 0,93 (t, 12H_D, *J* = 7,3 Hz), 1,31 (sxt, 8H_C, *J* = 7,3 Hz), 1,56 (qui, 8H_B, *J* = 7,2 Hz), 3,16 (t, 8H, *J* =

8,3 Hz), 7,23 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H₆), 7,52 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H₅), 7,76 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H₄), 7,90 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H₇), 8,58 (s, 1H, H₃), 13,00 (s, 1H, H₁). ¹³C RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz), δ , ppm: 13,47 (C_D), 19,18 (C_C), 23,05 (C_B), 57,53 (C_A), 111,63 (C₄), 120,26 (C₉), 121,56 (C₇), 122,11 (C₆), 129,39 (C₅), 138,30 (C₃), 139,69 (C₈). ¹⁵N RMN (DMSO-d₆, 50,69 MHz): δ , ppm: 65,6 (N de Bu₄N⁺), 185,0 (N₂), 238,7 (N₁). Les monocristaux pour l'analyse cristallographique ont été obtenus de la solution mère après la séparation de (**1**) par évaporation lente.

Na[cis-Os(NO)Cl₄(Hind)]·2H₂O (3**)**. A la solution eau/éthanol 1 : 1 (200 mL) de 200 mg de **1** (0,27 mmol) a été ajouté la résine cationique de Dowex Marathon C Na⁺ – forme (25 g). La suspension a été mélangée pendant 12h, puis la résine a été séparée par filtration. De la solution a été récupéré un produit rouge. Rendement: 125 mg, 92 %.

Données analytiques pour **3**: Anal. Elém. pour C₇H₆NaOsCl₄N₃O·2H₂O ($M_r = 539,20$ g/mol): C, 15,59; H, 1,87; N, 7,79. Trouvé: C, 15,86; H, 1,59; N, 7,35. ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z 332 [OsCl₄]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 480 [Os(NO)Cl₄(Hind)]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 430, 560, 641, 746, 845, 969, 1004, 1042, 1092, 1125, 1239, 1359, 1383, 1515, 1627, 1825 (NO), 3309, 3494. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 420 (sh, 114), 505 (83). UV-vis (H₂O), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 420 (sh, 137), 499 (123). UV-vis (DMSO), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 430 (sh, 114), 521 (107). UV-vis (DMF), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 430 (116), 518 (100). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,32 MHz), δ , ppm: 7,17 (s, 1H, H₆), 7,39 (s, 1H, H₅), 7,72 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H₄), 7,85 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz, H₇), 8,55 (s, 1H, H₃), 13,47 (s, 1H, H₁).

Na[trans-Os(NO)Cl₄(Hind)]·1,8H₂O (4**)**. A la solution eau/éthanol 1 : 1 (250 mL) de 200 mg de **2** (0,27 mmol) a été ajoutée la résine cationique Dowex Marathon C Na⁺ – forme (25 g). La suspension a été mélangée pendant 12h, puis la résine a été séparée par filtration de la solution. Un produit bleu a été récupéré. Rendement: 122 mg, 90 %.

Données analytiques pour **4**: Anal. Elém. pour C₇H₆NaOsCl₄N₃O·1,8H₂O ($M_r = 535,29$ g/mol): C, 15,69; H, 1,80; N, 7,84. Trouvé: C, 15,88; H, 1,44; N, 7,58. ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z 332 [OsCl₄]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 480 [Os(NO)Cl₄(Hind)]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 424, 596, 642, 744, 786, 858, 967, 1002, 1090, 1124, 1240, 1272, 1359, 1472, 1514, 1628, 1830 (NO), 3352, 3494. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 420 (sh, 86), 484 (56), 568 (54). UV-vis (H₂O), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 420 (90), 478 (66), 542 (64). UV-vis (DMSO), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 420 (sh, 75), 497 (50), 572 (58). UV-vis (DMF), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 420 (85), 496 (59), 574 (64). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,32 MHz), δ , ppm: 7,23 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, H₆), 7,52 (t, 1H, $J = 6,4$ Hz, H₅), 7,75 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H₄), 7,90 (d,

1H, $J = 7,8$ Hz, H₇), 8,58 (s, 1H, H₃), 12,99 (s, 1H, H₁).

7.2.3 Synthèse de (cation)[Os(NO)Cl₄(Hpz)], cation = H₂pz⁺, Bu₄N⁺

Les synthèses et caractérisations du cis- et trans-(Bu₄N)[OsCl₄(Hpz)(NO)] et ses analogues de H₂pz[Os(NO)Cl₄(Hpz)] sont décrits dans ce sous-chapitre.

(Bu₄N)[trans-Os(NO)Cl₄(Hpz)] (5) and (Bu₄N)[cis-Os(NO)Cl₄(Hpz)] (6). Un mélange de pyrazole (48 mg, 0,70 mmol) et (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅] (410 mg, 0,46 mmol) dans n-butanol (10 mL) a été chauffé à 105 °C pendant 24 h. La solution a été transférée dans un bécher et après 4 jours, des cristaux bleus d'isomère *trans* sont apparus. Le produit cristallin a été filtré et lavé avec de l'éthanol (2 × 3 mL), de l'éther di éthylique (3 × 1 mL) et séché sous vide. Rendement: 92 mg, 30 %. Le lendemain, du filtrat s'est formé des cristaux rouges d'isomère *cis*, qui ont été traité avec la même procédure décrite ci-dessus (filtration, lavage, séchage). Rendement: 125 mg, 40 %.

Données analytiques pour **5**: Anal. Elém. pour C₁₉H₄₀Cl₄N₄OOs ($M_r = 672,59$ g/mol): C, 33,93; H, 5,99; N, 8,33. Trouvé: C, 34,14; H, 5,83; N, 8,21. ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z 430 [Os(NO)Cl₄(Hpz)]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 576, 596, 667, 740, 771, 882, 1052, 1068, 1131, 1358, 1377, 1408, 1455, 1483, 1830, 2871, 2932, 2961, 3322. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 323 (616), 431 (181), 574 (106). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): δ 0,94 (t, 12H_D, $J = 7,3$ Hz), 1,31 (sxt, 8H_C, $J = 7,3$ Hz), 1,57 (qui, 8H_B, $J = 7,7$ Hz), 3,16 (t, 8H, $J = 8,4$ Hz), 6,39 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, H₄), 7,76 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, H₅), 7,90 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, H₃), 12,81 (s, 1H, H₁) ppm. ¹³C RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): δ 13,46 (C_D), 19,18 (C_C), 23,03 (C_B), 57,51 (C_A), 104,94 (C₄), 131,89 (C₅), 142,48 (C₃), ppm. ¹⁵N RMN (DMSO-d₆, 50,69 MHz): δ 65,6 (N de Bu₄N⁺), 209,6 (d, N₁), 228,3 (N₂), ppm. Les monocristaux pour l'étude cristallographique ont été obtenus dans la solution initiale.

Données analytiques pour **6**: Anal. Elém. pour C₁₉H₄₀Cl₄N₄OOs ($M_r = 672,59$ g/mol): C, 33,93; H, 5,99; N, 8,33. Trouvé: C, 34,37; H, 5,73; N, 8,16. ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z 430 [Os(NO)Cl₄(Hpz)]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 587, 600, 688, 740, 777, 881, 1048, 1062, 1128, 1166, 1354, 1467, 1811, 2874, 2961, 3276. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 328 (1164), 431 (466), 521 (393). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): δ 0,93 (t, 12H_D, $J = 7,3$ Hz), 1,31 (sxt, 8H_C, $J = 7,3$ Hz), 1,57 (qui, 8H_B, $J = 7,7$ Hz), 3,16 (t, 8H, $J = 8,4$ Hz), 6,56 (qua, 1H, $J = 2,2$ Hz, H₄), 7,91 (t, 1H, $J = 1,8$ Hz, H₅), 7,97 (t, 1H, $J = 1,7$ Hz, H₃), 13,28 (s, 1H, H₁) ppm. ¹³C RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): δ 13,47 (C_D), 19,17

(C_C), 23,06 (C_B), 57,55 (C_A), 106,22 (C₄), 132,96 (C₅), 141,44 (C₃), ppm. ¹⁵N RMN (DMSO-d₆, 50,69 MHz): δ 65,6 (N de Bu₄N⁺), 179,7 (N₂), 210,5 (d, N₁) ppm. Les monocristaux pour l'étude cristallographique ont été obtenus par la différence de solubilité de la solution initiale.

H₂pz[trans-Os(NO)Cl₄(Hpz)] (7). A la solution eau/éthanol 1 : 1 (200 mL) de 200 mg de **5** (0,3 mmol) a été ajoutée la résine cationique Dowex Marathon C Na⁺ – forme (25 g). La suspension a été soumise à une agitation pendant 12 h. La résine a été séparée par filtration et la solution a été évaporée jusqu'à 5 mL. Le pyrazole (20 mg, 0,3 mmol) et 0,1 mL HCl_(conc.) ont été ajoutés à la solution initiale et laissée sous agitation pendant 30 min. La solution a été évaporée et extraite à l'acétone (2 × 2 mL). 130 mg d'un solide bleu furent récupérés. Rendement: 87 %.

Données analytiques pour **7**: Anal. Elém. pour C₆H₉N₅Cl₄OOS·0,4C₃H₆O (*M_r* = 513,73 g/mol): C, 15,78; H, 2,06; N, 13,63. Trouvé: C, 16,11; H, 1,98; N, 14,01. ESI-MS (CH₃CN) (négative): *m/z* 430 [Os(NO)Cl₄(Hpz)]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 577, 597, 672, 764, 910, 1053, 1097, 1125, 1170, 1264, 1310, 1348, 1405, 1477, 1514, 1538, 1828, 2952, 3128, 3308. UV-vis (CH₃CN), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 334 (175), 425 (sh., 89), 475 (sh., 54), 580 (55). UV-vis (H₂O), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 330 (174), 425 (62), 475 (sh., 47), 560 (54). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,32 MHz): δ 6,39 (psd, 1H, H'₄), 6,41 (pst, 1H, H₄), 7,77 (s, 1H, H₅), 7,81 (s, 2H, H'_{3,5}), 7,91 (s, 1H, H₃), 12,82 (s, 1H, H₁), ppm.

H₂pz[cis-Os(NO)Cl₄(Hpz)] (8). A la solution eau/éthanol 1 : 1 (200 mL) de 196 mg de **5** (0,29 mmol) a été ajoutée la résine cationique Dowex Marathon C Na⁺ – forme (25 g). La suspension a été mélangée pendant 12 h, puis la résine a été séparée par filtration et la solution a été évaporée jusqu'à 3 mL. Le pyrazole (19 mg, 0,29 mmol) et 0,1 mL HCl_(conc.) ont été ajoutés à la solution initiale, laquelle fut agitée pendant 30 min. La solution a été évaporée. Après, solubilisation dans l'acétone (2 × 2 mL) et évaporation, 123 mg d'un solide rouge furent récupérés. Rendement: 85 %.

Données analytiques pour **8**: Anal. Elém. pour C₆H₉N₅Cl₄OOS·0,12C₃H₆O (*M_r* = 506,18 g/mol): C, 15,09; H, 1,93; N, 13,84. Trouvé: C, 15,49; H, 1,81; N, 14,24. ESI-MS (CH₃CN) (négative): *m/z* 430 [Os(NO)Cl₄(Hpz)]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 572, 597, 672, 769, 887, 909, 1046, 1072, 1112, 1170, 1223, 1265, 1312, 1358, 1410, 1456, 1475, 1517, 1549, 1818, 2857, 2896, 2962, 3068, 3125. UV-vis (CH₃CN), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 325 (sh., 216), 378 (232), 502 (sh., 64). UV-vis (H₂O), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 325 (161), 378 (sh., 93), 420 (sh., 75), 502 (68). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,32 MHz): δ 6,56 (qua, 1H, *J* = 2,2 Hz, H₄), 6,39 (t, 1H, *J* = 2,0 Hz, H'₄), 7,79 (d, 2H, *J* = 2,0 Hz, H'_{3,5}), 7,91 (s, 1H,

H₅), 7,99 (s, 1H, H₃), 13,29 (s, 1H, H₁), ppm.

7.2.4 Synthèse de (cation)[Os(NO)Cl₄(Him)], cation = H₂im⁺, Bu₄N⁺

Dans cette partie sont décrites les synthèses et caractérisations du (Bu₄N)[cis-Os(NO)Cl₄(Him)] et son analogue H₂im[cis-Os(NO)Cl₄(Him)].

(Bu₄N)[cis-Os(NO)Cl₄(Him)] (9). L'imidazole (60 mg, 0,88 mmol) a été ajouté à la suspension de (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅] (520 mg, 0,59 mmol) dans n-butanol (10 mL) et le mélange a été chauffé à 105 °C pendant 24 h. La solution a été transférée dans un bécher et après 2 jours, des cristaux rouges d'isomère *cis* sont apparus. Le produit cristallin a été filtré et lavé avec 2 × 3 mL d'un mélange eau/ éthanol (1 : 2), de l'éther di-éthylique (3 × 5 mL) et séché sous vide. Rendement: 295 mg, 75 %.

Données analytiques pour **9**: Anal. Elém. pour C₁₉H₄₀Cl₄N₄O₂ (M_r = 672,59 g/mol): C, 33,93; H, 5,99; N, 8,33. Trouvé: C, 34,06; H, 5,77; N, 8,30. ESI-MS (CH₃CN) (négative): *m/z* 430 [Os(NO)Cl₄(Him)]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 618, 656, 744, 837, 880, 1063, 1092, 1331, 1380, 1469, 1542, 1813, 2873, 2960, 3259. UV-vis (CH₃CN), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 307 (875), 344 (sh., 474), 509 (126). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): δ 0,94 (t, 12H_D, J = 7,3 Hz), 1,31 (sxt, 8H_C, J = 7,3 Hz), 1,58 (qui, 8H_B, J = 7,7 Hz), 3,17 (t, 8H, J = 8,4 Hz), 7,33 (ps.t, 1H, H₅), 7,35 (ps.t, 1H, H₄), 8,2 (ps.t, 1H, H₂), 13,03 (s, 1H, H₁) ppm. ¹³C RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): δ 13,48 (C_D), 19,19 (C_C), 23,07 (C_B), 57,54 (C_A), 116,78 (C₅), 128,87 (C₄), 139,18 (C₃), ppm. ¹⁵N RMN (DMSO-d₆, 50,69 MHz): δ 65,6 (N de Bu₄N⁺), 151,8 (N₂), 171,9 (N₁) ppm. Les monocristaux pour l'analyse cristallographique ont été obtenus de la solution initiale.

H₂im[cis-Os(NO)Cl₄(Him)] (10). A la solution eau/éthanol 1 : 1 (200 mL) de 210 mg de **9** (0,31 mmol) a été ajoutée une résine cationique Dowex Marathon C Na⁺ – forme (25 g). La suspension a été agitée pendant 12 h. La résine a été séparée par filtration et le filtrat a été évaporé jusqu'à 4 mL. L'imidazole (21 mg, 0,31 mmol) et 0,1 mL HCl_(conc.) ont été ajoutés à la solution initiale et soumise à une agitation pendant 30 min. La solution a été évaporée et après extraction à l'acétone (2 × 2 mL), 131 mg d'un solide rouge furent récupérés. Rendement: 85 %.

Données analytiques pour **10**: Anal. Elém. pour C₆H₉N₅Cl₄O₂·0,3C₃H₆O (M_r = 516,63 g/mol): C, 16,04; H, 2,10; N, 13,56. Trouvé: C, 16,25; H, 1,92; N, 13,77. ESI-MS (CH₃CN) (négative): *m/z* 430 [Os(NO)Cl₄(Him)]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 616, 646, 697, 742, 918, 1042, 1068, 1106, 1123, 1179, 1263, 1423, 1510, 1546, 1578,

1806, 2846, 2987, 3136, 3277. UV-vis (CH₃CN), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 368 (248), 511 (60). UV-vis (H₂O), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 368 (sh., 103), 420 (sh., 76), 506 (67). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,32 MHz): δ 7,32 (qua, 1H, $J = 1,5$ Hz, H₅), 7,36 (qua, 1H, $J = 1,2$ Hz, H₄), 7,71 (d, 2H, $J = 1,3$ Hz, H[']_{4,5}), 8,21 (qua, 1H, H₂), 9,10 (t, 1H, $J = 1,2$ Hz, H[']₂), 13,02 (s, 1H, H₁), 14,31 (s, 2H, H[']_{1,3}), ppm.

7.2.5 Synthèse de (cation)[Os(NO)Cl₄(Hbzim)], cation = H₂bzim⁺, Bu₄N⁺

(Bu₄N)[cis-Os(NO)Cl₄(Hbzim)] (**11**). Le benzimidazole (70 mg, 0,59 mmol) a été ajouté à la suspension de (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅] (350 mg, 0,39 mmol) dans le n-butanol (10 mL) et le mélange a été chauffé à 105 °C pendant 24 h. La solution a été transférée dans un bécher et après 4 jours, des cristaux rouges d'isomère *cis* sont apparus. Le produit cristallin a été filtré et lavé avec 3 × 10 mL d'un mélange eau/ éthanol (1 : 2), de l'éther di-éthylique (3 × 5 mL) et séché sous vide. Rendement: 200 mg, 70 %.

Données analytiques pour **11**: Anal. Elém. pour C₂₃H₄₂Cl₄N₄OOS (M_r = 722,65 g/mol): C, 38,23; H, 5,86; N, 7,75. Trouvé: C, 38,39; H, 5,62; N, 7,71. ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z 480 [Os(NO)Cl₄(Hbzim)]⁻, 410 [Os(NO)Cl₂(Hbzim)]⁻ 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 427, 452, 622, 741, 885, 987, 1013, 1110, 1134, 1248, 1309, 1379, 1411, 1464, 1510, 1808, 2873, 2960, 3252. UV-vis (CH₃CN), λ_{\max} , nm (ϵ , M⁻¹cm⁻¹): 270 (6490), 358 (sh., 444), 527 (132). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): δ 0,93 (t, 12H_D, $J = 7,3$ Hz), 1,31 (sxt, 8H_C, $J = 7,3$ Hz), 1,57 (qui, 8H_B, $J = 7,7$ Hz), 3,17 (t, 8H, $J = 8,4$ Hz), 7,37 (qui, 2H, $J = 8,3$ Hz, H_{5,6}), 7,68 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, H₇), 8,01 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H₄), 8,67 (s, 1H, H₂), 13,57 (s, 1H, H₁) ppm. ¹³C RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): δ 13,47 (C_D), 19,18 (C_C), 23,07 (C_B), 57,53 (C_A), 113,16 (C₇), 118,48 (C₄), 123,00 (C₆), 123,97 (C₅), 131,90 (C₈), 140,21 (C₉), 147,48 (C₂), ppm. ¹⁵N RMN (DMSO-d₆, 50,69 MHz): δ 65,6 (N de Bu₄N⁺), 137,8 (N₂), 158,0 (N₁) ppm. Les monocristaux pour l'étude cristallographique ont été obtenus de la solution initiale.

Na[cis-Os(NO)Cl₄(Hbzim)] (**12**). A la solution eau/éthanol 1 : 1 (250 mL) de 202 mg de **11** (0,28 mmol) a été ajouté une résine cationique Dowex Marathon C Na⁺ – forme (25 g). La suspension a été agitée pendant 12 h. La résine a été séparée de la solution par filtration. Après évaporation, 123 mg d'un solide rouge furent récupérés. Rendement: 92 %.

Données analytiques pour **12**: Anal. Elém. pour NaC₇H₆Cl₄N₃OOS·0,4C₃H₆O (M_r = 526,40 g/mol): C, 18,71; H, 1,61; N, 7,98. Trouvé: C, 18,47; H, 1,78; N, 7,60. ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z 480 [Os(NO)Cl₄(Bzim)]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 332 [OsCl₄]⁻. IR, ν ,

cm⁻¹: 421, 452, 586, 607, 666, 730, 989, 1016, 1111, 1246, 1307, 1361, 1416, 1464, 1494, 1514, 1610, 1645, 1827, 3156, 3332, 3536. UV-vis (CH₃CN), λ_{max}, nm (ε, M⁻¹cm⁻¹): 375 (217), 430 (sh., 162), 515 (118). UV-vis (H₂O), λ_{max}, nm (ε, M⁻¹cm⁻¹): 430 (sh., 128), 510 (114). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,32 MHz): δ 7,32 (qui, 2H, J = 6,8 Hz, H_{5,6}), 7,65 (d, 1H, J = 6,5 Hz, H₇), 7,97 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H₄), 8,59 (s, 1H, H₂) ppm.

7.2.6 Synthèse de (Bu₄N)[Os(NO)Cl₃(L)], L = glycinate, picolinate, D-prolinate, L-prolinate

Bu₄N[mer(Cl),trans(NO,O)-Os(NO)Cl₃(Gly)] (13). Un mélange de (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅] (0,88 g, 1,00 mmol) et glycine (0,11 g, 1,50 mmol) dans n-butanol (10 mL) a été chauffé à reflux pendant 24 h. La solution fut refroidie à température ambiante et transférée dans un bécher. Après trois jours, les cristaux rouges formés ont été filtrés et lavés avec un mélange eau /éthanol 1:2 (3 × 10 mL), éther di-éthylique (3 × 5 mL) et séchés sous vide. Rendement : 0,52 g, 80%.

Donnes analytiques pour **13**: Anal. Elem. pour C₁₈H₄₀N₃O₃Cl₃Os (M_r = 643,11 g/mol): C 33,62; H 6,27; N 6,53 (%). Trouvé: C 33,70; H 6,12; N 6,50 (%). ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z = 401 [Os(NO)Cl₃(Gly)]⁻, 365 [Os(NO)Cl₂(Gly)-H⁺]⁻, 329 [Os(NO)Cl(Gly)-2H⁺]⁻. IR: ν, cm⁻¹: 504, 596, 614, 738, 771, 884, 919, 1022, 1192, 1286, 1344, 1379, 1478, 1577, 1680, 1822, 2874, 2958, 3117, 3190. UV-vis (CH₃CN): λ_{max} (ε) = 270 (478), 311 (222), 381 (116), 506 (56) nm (M⁻¹cm⁻¹). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): δ = 0,94 (t, 12H_D, J = 7,3 Hz), 1,32 (sxt, 8H_C, J = 7,3 Hz), 1,58 (qui, 8H_B, J = 7,8 Hz), 3,18 (t, 8H_A, J = 8,4 Hz), 3,35 (2H, H₂), 7,56 (s, 2H, H₃), ppm. ¹³C {¹H} RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): δ = 13,47 (C_D), 19,18 (C_C), 23,06 (C_B), 46,64 (C₂), 57,53 (C_A), 179,32 (C₁), ppm. ¹⁵N RMN (DMSO-d₆, 50,69 MHz): δ = 375,43 (s, N₃), ppm. Les monocristaux pour l'étude cristallographique ont été sélectionnés de la solution initiale.

Bu₄N[mer(Cl),trans(NO,O)-Os(NO)Cl₃(Pico)] (14). Un mélange de (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₅] (0,88 g, 1,00 mmol) et acide picolinique (0,19 g, 1,50 mmol) dans n-butanol (10 mL) a été chauffé à reflux pendant 24 h. La solution fut refroidie à température ambiante et transférée dans un bécher. Après deux jours, les cristaux rouges formés ont été filtrés et lavés avec eau /éthanol 1:2 (3 × 10 mL), éther di-éthylique (3 × 5 mL) et séchés sous vide. Rendement: 0,50 g, 72%.

Donnes analytiques pour **14**: Anal. Elem. pour C₂₂H₄₀N₃O₃Cl₃Os (M_r = 691,16 g/mol): C 38,23; H 5,83; N 6,08 (%). Trouvé: C 38,33; H 5,60; N 5,98 (%). ESI-MS

(CH₃CN) (négative): $m/z = 449$ [Os(NO)Cl₃(Pico)]⁻. IR: ν , cm⁻¹: 470, 533, 618, 683, 717, 740, 765, 865, 885, 920, 1022, 1058, 1107, 1152, 1256, 1291, 1318, 1380, 1470, 1611, 1687, 1804, 2873, 2962. UV-vis (CH₃CN): λ_{max} (ϵ) = 255 (7606), 349 (1844), 499 (207) nm (M⁻¹cm⁻¹). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): $\delta = 0,94$ (t, 12H_D, $J = 7,3$ Hz), 1,32 (sxt, 8H_C, $J = 7,3$ Hz), 1,58 (qui, 8H_B, $J = 7,8$ Hz), 3,17 (t, 8H_A, $J = 8,4$ Hz), 7,91 (m, 1H, $J = 6,5$ Hz, H₅), 8,09 (m, 1H, $J = 7,6$ Hz, H₃), 8,12 (m, 1H, $J = 7,7$ Hz, H₄), 8,36 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz, H₆), ppm. ¹³C{¹H} RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): $\delta = 13,48$ (C_D), 19,19 (C_C), 23,06 (C_B), 57,55 (C_A), 126,63 (C₄), 129,85 (C₅), 141,46 (C₃), 147,87 (C₂), 148,77 (C₆), 170,01 (C₇), ppm. Les monocristaux pour l'étude cristallographique ont été obtenus par évaporation lente de la solution initiale.

Bu₄N[mer(Cl),trans(NO,O)-Os(NO)Cl₃(L-Pro)] (15). Un mélange de (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₃] (0,88 g, 1,00 mmol) et L-proline (0,17 g, 1,50 mmol) dans n-butanol (10 mL) a été chauffé à reflux pendant 24 h. La solution a été évaporée à l'évaporateur rotatif et le produit a été purifié par chromatographie sur colonne de silice utilisant comme éluant un mélange de CHCl₃/THF 3:2 et collectant la première fraction ($R_f = 0,74$). Rendement: 0,38 g, 55%.

Donnes analytiques pour **15**: Anal. Elem. pour C₂₁H₄₃N₃O₃Cl₃Os (M_r = 682,17 g/mol): C 36,97; H 6,35; N 6,16 (%). Trouvé: C 37,00; H 6,14; N 6,00 (%). ESI-MS (CH₃CN) (négative): $m/z = 441$ [Os(NO)Cl₃(L-Pro)]⁻, 405 [Os(NO)Cl₂(L-Pro) - H⁺]⁻, 369 [Os(NO)Cl(L-Pro) - 2H⁺]⁻. IR: ν , cm⁻¹: 410, 467, 500, 531, 581, 617, 702, 738, 798, 867, 937, 987, 1038, 1057, 1136, 1266, 1303, 1317, 1346, 1382, 1471, 1662, 1793, 2873, 2959, 3173. UV-vis (CH₃CN): λ_{max} (ϵ) = 276 (579), 306 (225), 386 (96), 507 (52) nm (M⁻¹cm⁻¹). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): $\delta = 0,94$ (t, 12H_D, $J = 7,3$ Hz), 1,32 (sxt, 8H_C, $J = 7,3$ Hz), 1,58 (qui, 8H_B, $J = 7,8$ Hz), 1,85 (m, 3H, H₅'', H₆', H₅'), 2,09 (m, 1H, H₆''), 2,87 (m, 1H, H₄'), 3,17 (t, 8H_A, $J = 8,4$ Hz), 3,54 (m, 1H, H₄''), 3,86 (qua, 1H, $J = 7,2$ Hz, H₂), 8,74 (d, 1H, $J = 7,1$ Hz, H₃), ppm. ¹³C{¹H} RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): 13,48 (C_D), 19,19 (C_C), 23,06 (C_B), 26,09 (C₅), 29,27 (C₆), 53,58 (C₄), 57,55 (C_A), 64,17 (C₂), 180,74 (C₁), ppm. Les monocristaux pour l'analyse cristallographique ont été choisis du produit cristallin après l'évaporation lente de la solution de fraction correspondante.

Bu₄N[mer(Cl),trans(NO,O)-Os(NO)Cl₃(D-Pro)] (16). Un mélange de (Bu₄N)₂[Os(NO)Cl₃] (0,88 g, 1,00 mmol) et D-proline (0,17 g, 1,50 mmol) dans n-butanol (10 mL) a été chauffé à reflux pendant 24 h. La solution a été évaporée à l'évaporateur rotatif et le produit a été purifié par chromatographie sur colonne de silice utilisant comme éluant un

mélange de CHCl₃/THF 3:2 et collectant la première fraction ($R_f = 0,74$). Rendement: 0,30 g, 44 %.

Donnes analytiques pour **16**: Anal. Elem. pour C₂₁H₄₃N₃O₃Cl₃Os ($M_r = 682,17$ g/mol): C 36,97; H 6,35; N 6,16 (%). Trouvé: C 37,47; H 6,34; N 6,03 (%). ESI-MS (CH₃CN) (négative): $m/z = 441$ [Os(NO)Cl₃(D-Pro)]⁻, 405 [Os(NO)Cl₂(D-Pro) - H⁺]⁻, 369 [Os(NO)Cl(D-Pro) - 2H⁺]⁻. IR: ν , cm⁻¹: 406, 467, 500, 539, 581, 617, 702, 738, 798, 868, 937, 987, 1037, 1057, 1087, 1137, 1266, 1303, 1317, 1346, 1382, 1471, 1662, 1794, 2873, 2959, 3173. UV-vis (CH₃CN): λ_{\max} (ϵ) = 272 (493), 312 (209), 387 (96), 507 (51) nm (M⁻¹cm⁻¹). ¹H RMN (DMSO-d₆, 500,13 MHz): $\delta = 0,94$ (t, 12H_D, $J = 7,3$ Hz), 1,32 (sxt, 8H_C, $J = 7,3$ Hz), 1,58 (qui, 8H_B, $J = 7,8$ Hz), 1,85 (m, 3H, H₅'', H₆', H₅'), 2,09 (m, 1H, H₆''), 2,87 (m, 1H, H₄'), 3,17 (t, 8H_A, $J = 8,4$ Hz), 3,54 (m, 1H, H₄''), 3,86 (qua, 1H, $J = 7,2$ Hz, H₂), 8,74 (d, 1H, $J = 7,1$ Hz, H₃), ppm. ¹³C{¹H} RMN (DMSO-d₆, 125,77 MHz): 13,48 (C_D), 19,19 (C_C), 23,06 (C_B), 26,09 (C_S), 29,27 (C₆), 53,58 (C₄), 57,55 (C_A), 64,17 (C₂), 180,74 (C₁), ppm. Les monocristaux pour l'étude cristallographique ont été obtenus dans un mélange THF/hexane.

7.2.7 Synthèse de (Bu₄N)₂[Os(NO)(OX)Cl₃], OX = oxalate

(Bu₄N)₂[mer(Cl)-Os(NO)(OX)Cl₃] (**17**). Une solution de 0,98 g (6 mmol) de NH₄PF₆ dans 20 mL de méthanol, a été ajouté 3,24 g (3 mmol) de (Ph₄P)₂[Os(NO)Cl₅], l'ensemble dissout dans 200mL méthanol. Le mélange a été agité pendant 10 min à température ambiante et le précipité formé de (Ph₄P)PF₆ a été séparé par filtration. Le filtrat a été évaporé à sec. A la poudre récupérée fut ajouté un excès d'acide oxalique (5 g) et 50 mL d'eau. La solution a été mise à reflux pendant 6 h et après un refroidissement lent, on a été ajouté goûte à goûte une solution de 2 g (7,2 mmol) de Bu₄NCl dissout dans 30 mL d'eau. Pendant l'ajout du cation Bu₄N⁺, un précipité rouge du complexe (**1**) apparait. Ce dernier est fut filtré et lavé à l'eau (3x10 mL), à l'eau /éthanol 1:1 (3 × 5 mL), à l'éther di-éthylique (3 × 3 mL) et séché sous vide. Rendement : 1,95 g, 72 %.

Donnes analytiques pour **17**: Anal. Elem. pour C₃₄H₇₂N₃O₅Cl₃Os ($M_r = 899,54$ g/mol): C, 45,40; H, 8,07; N, 4,67. Trouvé: C, 45,44; H, 7,76; N, 4,61. ESI-MS (CH₃CN) (négative): m/z 657 [Os(NO)(OX)Cl₃+Bu₄N]⁻, 380 [Os(NO)(OX)Cl₂]⁻, 362 [Os(NO)Cl₃+Cl]⁻, 327 [Os(NO)Cl₃]⁻. IR, ν , cm⁻¹: 460, 548, 627, 742, 802, 882, 1030, 1068, 1151, 1221, 1352, 1481, 1666, 1697, 1789, 2874, 2959. UV-vis (CH₃CN): λ_{\max} (ϵ): 230 (12620), 276 (1738), 303 (1306), 416 (157), 457 (150), 547 (145) nm (M⁻¹cm⁻¹). Les monocristaux pour l'étude

cristallographique ont été obtenus par recristallisation dans l'acétonitrile.

7.2.8 Synthèse de $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{b}}\}$, $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd, Tb, Dy}$, $\text{M}^{\text{b}} = \text{Dy, Y}$

$(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{a}}(\text{H}_2\text{O})\}$ et $(\text{Bu}_4\text{N})_5\{[\text{Os}(\text{NO})(\text{OX})\text{Cl}_3]_4\text{M}^{\text{b}}\}$, où $\text{M}^{\text{a}} = \text{Gd (18), Tb (19) Dy (20)}$ and $\text{M}^{\text{b}} = \text{Dy (21), Y (22)}$. A la solution contenant 0,1 mmol de produit **17** dissout dans 2,5 mL d'acétonitrile, a été ajouté 0,03 mmol de sel du $\text{M}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ et 1,5 mL de 2-propanol. Le mélange a été agité pendant 40 min à la température de 80 °C. La solution chaude a été filtré et après 3 – 5 jours sont apparus des cristaux hexagonaux. Le composé cristallin a été filtré et lavé avec l'éther di-éthylique (3 × 3 mL) et séché sous vide.

Rendement de **18**: 53 mg, 69 %. Données analytiques pour **18**: Anal. Elem. pour $\text{C}_{88}\text{H}_{182}\text{N}_9\text{O}_{21}\text{Cl}_{12}\text{Os}_4\text{Gd}$ ($M_r = 3046,04$ g/mol): C, 34,70; H, 6,02; N, 4,14. Trouvé: C, 34,87; H, 5,93; N, 4,01. IR, ν , cm^{-1} : 407, 458, 544, 737, 811, 881, 1028, 1063, 1107, 1152, 1284, 1325, 1380, 1443, 1464, 1634, 1655, 1814, 2873, 2960, 3340.

Rendement de **19**: 57 mg, 75 %. Données analytiques pour **19**: Anal. Elem. pour $\text{C}_{88}\text{H}_{182}\text{N}_9\text{O}_{21}\text{Cl}_{12}\text{Os}_4\text{Tb}$ ($M_r = 3047,72$ g/mol): C, 34,68; H, 6,02; N, 4,14. Trouvé: C, 34,84; H, 5,96; N, 4,03. IR, ν , cm^{-1} : 410, 458, 544, 630, 737, 812, 882, 1027, 1065, 1107, 1153, 1285, 1327, 1379, 1445, 1462, 1633, 1658, 1816, 2874, 2960, 3339.

Rendement de **20**: 50 mg, 65 %. Données analytiques pour **20**: Anal. Elem. pour $\text{C}_{88}\text{H}_{182}\text{N}_9\text{O}_{21}\text{Cl}_{12}\text{Os}_4\text{Dy}$ ($M_r = 3051,29$ g/mol): C, 34,64; H, 6,01; N, 4,13. Trouvé: C, 34,74; H, 5,87; N, 4,10. IR, ν , cm^{-1} : 413, 458, 543, 630, 737, 812, 883, 1027, 1064, 1107, 1153, 1287, 1333, 1379, 1477, 1624, 1647, 1817, 2874, 2960, 3342.

Rendement de **21**: quelques cristaux ont été récupérés en utilisant des solvants anhydres, mais ils ne furent pas stables.

Rendement de **22**: 44 mg, 59 %. Données analytiques pour **22**: Anal. Elem. pour $\text{C}_{88}\text{H}_{180}\text{N}_9\text{O}_{20}\text{Cl}_{12}\text{Os}_4\text{Y}$ ($M_r = 2959,68$ g/mol): C, 35,71; H, 6,13; N, 4,26. Trouvé: C, 35,44; H, 7,76; N, 4,61. IR, ν , cm^{-1} : 412, 458, 544, 630, 737, 813, 883, 1027, 1060, 1107, 1153, 1286, 1334, 1379, 1476, 1626, 1651, 1817, 2874, 2960.

Les monocristaux des complexes **18, 19, 20, 21, 22**, pour l'étude cristallographique ont été obtenus de la solution initiale.

8. CURRICULUM VITAE

CV

Personal information

Name: Anatolie
Surname: GAVRILUȚA
Date and place of birth: May 27, 1986, R. of Moldova
Sex: Male
Nationality: Moldovan
Civil status: Married
Email: gavrilita.anatolie@gmail.com



Education

- 2010 – Present PhD in Bioinorganic Chemistry at Prof. Dominique LUNEAU, University Claude Bernard Lyon1, Laboratory of Multimaterials and Interfaces – UMR 5615, France;
- 2008 – 2010 Master in Chemistry, State University of Moldova, Faculty of Chemistry, [GPA score: 10/ 10];
- 2005 – 2008 Bachelor in Chemistry, State University of Moldova, Faculty of Chemistry, [GPA score: 9.61/ 10];
- 2005 Baccalaureate sciences, [GPA score: 9/ 10].

Professional experience

- 2010 – Present PhD at University Claude Bernard Lyon1 and University of Vienna in the frame of French-Austrian joint project managed by Prof. D. LUNEAU and Prof. V. B. ARION, with the PhD topic:
Osmium Nitrosyl Complexes with Bioactive Ligands: Synthesis, Structure, Reactivity and Antiproliferative Activity in Vitro;
- 2008 – 2010 Master in Chemistry at State University of Moldova, Master Thesis:
Analytical Aspects of the Nanocrystals of Lead Sulfide;
- 2007 – 2010 Active participation in research projects for *synthesis and characterization of the nanoparticles of PbS/ Se, CdS/ Se, GaP, SiO₂ and TiO₂*, Laboratory of Physics of Ternary and Multinary Compound, Institute of Applied Physics, Academy of Sciences of Moldova.

Competence and Technical Characterization

- Coordination/ Inorganic Chemistry – Os, Ru, and 3d, 4f metals;
- Organometallic Chemistry – (η^6 -arene)Os/ Ru(L)₃;
- Organic Chemistry – ligand synthesis;
- Colloidal Chemistry – PbS/ Se, CdS/ Se, GaP, SiO₂ and TiO₂ nanoparticles synthesis;
- Air sensitive reactions – Schlenk system, glovebox.
- Crystallography – collect and structure resolution and refinement;
- Electrochemical techniques – voltammetry, coulometry, potentiometry;
- Spectroscopy – FT-IR, UV-vis, NMR (¹H, ¹³C and ¹⁵N in 1D and 2D), luminescence, Raman, MS-ESI, TGA;
- Magnetism measuring – SQUID.

Formation and Collaboration

Anticancer compounds, Antiproliferative activity Crystallography	Prof. V. B. ARION Dr. N. CLAISER Dr. E. JEANNEAU	University of Vienna, Austria, 3 years Austrian-French project; University of Lorraine, (feb. 2012) University Lyon 1, (proj. memb.);
Electrochemistry NMR	Dr. J. B. TOMMASINO Dr. G. NOVITCHI (post-doc Marie Curie)	University Lyon 1, (proj. memb.); University Lyon 1, (2011) ;
Magnetism Raman spectroscopy, Luminescence Summer School	Prof. D. LUNEAU Prof. C. REBER European School on Magnetism 2011	PhD Studies; University of Montreal, Canada, (Jun. 2012); Targoviste, Romania.

Scientific Work

Papers published	3 (2 – Inorganic Chemistry, 1 – Journal of Inorganic and General Chemistry – <i>Z. Anorg. Allg. Chem.</i>)
Papers in progress	2
Patents	2
Conferences and exhibitions	5 + 2

Stage Supervisor

Graduate student	Frédérique Guégan	<i>Osmium Complexes as Potential Anticancer Agents, École Normale Supérieure de Lyon, France;</i>
Master 1	Lény Garcia	<i>Osmium Antiproliferative Compounds with Azoles Derivates, University Claude Bernard Lyon1, France.</i>

Languages

Romanian (maternal)
French
English
Russian

References

Prof. Dominique Luneau – dominique.luneau@univ-lyon1.fr

Prof. Vladimir B. Arion – vladimir.arion@univie.ac.at

CV Annexe

Research Projects

- 2010 – Present *Novel Ruthenium and Osmium Nitrosyl and Nitroxide Complexes: Synthesis, Structure, Reactivity and Antiproliferative Activity in Vitro*
Austrian-French Bilateral Project:
French National Research Agency (ANR), ANR-09-BLAN-0420-01 (VILYGRu), managed by Prof. D. LUNEAU;
Austrian Science Fund (FWF), I374-N19, managed by Prof. V. B. ARION;
- 2009 – 2010 *Semiconductor colloidal nanocrystals for applications in infra-red photoelectrical devices*
Moldavian Project:
Moldavian State Program “Nanotechnologies and Nanomaterials”, 07.408.04.03PA, managed by Prof. L. CULIUC;
- 2010
(10 months) *Advanced Light Emissive Device Structures*
International Project:
International Science and Technology Center (in Ukraine) (ISTC/ STCU), STCU 4610 Project (2009 – 2012), sponsored by the US Government, managed by Prof. S. PYSHKIN;
- 2007 – 2009 *PbS and PbSe quantum dots for IR photoelectrical device applications*
Private – Public Project, managed by Prof. L. CULIUC;
Company “OR-MENT Development LLC” and Institute of Applied Physics, Academy of Sciences of Moldova.

Publications

1. A. Gavriluta, G. E. Büchel, L. Freitag, G. Novitchi, J. B. Tommasino, E. Jeanneau, P. S. Kuhn, L. González Herrero, V. B. Arion, D. Luneau, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 6260-6272;
2. G. E. Büchel, A. Gavriluta, M. Novak, S. M. Meier, M. A. Jakupec, O. Cuzan, C. Turta, J. B. Tommasino, E. Jeanneau, G. Novitchi, D. Luneau, V. B. Arion, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 6273-6285;
3. A. Gavriluta, M. Novak, J. B. Tommasino, S. M. Meier, M. A. Jakupec, D. Luneau, V. B. Arion, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2013**, 639, 1590-1597;
4. A. Gavriluta, N. Claiser, G. Novitchi, J. B. Tommasino, V. B. Arion, D. Luneau, *Synthesis, Structure, Spectroscopic Properties and Antiproliferative Activity of Novel Osmium Oxalate Compounds*, **in progress**;
5. A. Gavriluta, P. S. Kuhn, M. Novak, N. Claiser, G. Novitchi, M. A. Jakupec, V. B. Arion, D. Luneau, *New Polynuclear Osmium and Ruthenium-Lanthanides Compounds as Anticancer Potential Drug*, **in progress**.

Patents

1. A. Gavriluta, C. German, A. Mitioglu, R. Lascova, G. Novitchi, M. Revenco, L. Culiuc, "Method for producing PbS nanoparticles stabilized with gelatine", s 2009 0238, *MD – BOPI 7/2010*, 37 p;
<http://www.db.agepi.md/inventions/Details.aspx?id=s+2009+0238>
2. A. Gavriluta, C. German, A. Mitioglu, R. Lascova, G. Novitchi, M. Revenco, L. Culiuc, "Method for producing hydrophilic PbS nanocrystals", s 2010 0019, *MD – BOPI 7/2010*, 37 p.
<http://www.db.agepi.md/inventions/Details.aspx?id=s+2010+0019>

Conference and Exhibition (based on patent*) Participations

1. A. Gavriluta, J.B. Tommasino, D. Luneau, "New antiproliferative compounds of Osmium nitrosyl", The "Journée de la Société Chimique de France Rhône-Alpes", **2013**, Grenoble, France, p. 20;
2. A. Gavriluta, J. B. Tommasino, E. Jeanneau, G. Novitchi, V. Arion, D. Luneau, "New antiproliferative compounds of Osmium-nitrosyl with azoles", The "Journées de Chimie de Coordination de la Société Chimique de France" **2013**, Lyon, France, p. 43 (oral presentation);
3. A. Gavriluta, J.B. Tommasino, E. Jeanneau, D. Luneau, "New antiproliferative compounds of Osmium with nitrosyl and antibiotics", The "Journée de la Société Chimique de France Rhône-Alpes", **2011**, Chambéry, France, p. 44;
4. *M. Revenco, A. Gavriluta, C. German, R. Lascova, A. Mitioglu, G. Novitchi, L. Culiuc, „Stabilization and Application of the Nanoparticles of PbS and PbSe in the natural polymers" – International Exhibition of Inventions, **2010**, Geneva, Switzerland – **SILVER MEDAL**;
5. *M. Revenco, A. Gavriluta, R. Lascova, G. Novitchi, L. Culiuc. „Procedure for obtaining of the Nanoparticles of PbS stabilized in gelatin" – INVENTIKA International Fair of Inventions, Scientific Research and New Technologies, **2010**, Bucharest, Romania – **SILVER MEDAL**;
6. A. Gavriluta, R. Lascova, A. Mitioglu, C. Gherman, M. Revenco, L. Kulyuk, „Synthesis and properties of aqueous solutions of PbS quantum dots", Humboldt Kolleg&Symposium NANO-**2009**, p. 27;
7. A. Gavriluta. Potentiometric sensor for determination the content of salicylates. International conference „Students for students", **2007**, Cluj-Napoca, Romania, p. 170-171.

9. Annexe

Fiches internationales de sécurité chimique

TETROXYDE D'OSMIUM

ICSC: 0528

			
<p>TETROXYDE D'OSMIUM Acide osmique Tétraoxyde d'osmium O₄Os Masse moléculaire : 254.2</p>			
<p>N° CAS : 20816-12-0 N° RTECS : RN1140000 N° ICSC : 0528 N° ONU : 2471 N° CE : 076-001-00-5</p>			
			
TYPES DE RISQUES/ EXPOSITIONS	RISQUES/ SYMPTOMES AIGUS	PREVENTION	PREMIER SECOURS/ AGENTS D'EXTINCTION
INCENDIE	Non combustible mais favorise la combustion d'autres substances.		En cas d'incendie à proximité: tous les agents d'extinction sont autorisés.
EXPLOSION	Risques d'incendie et d'explosion lors de mélange avec des substances combustibles.		
CONTACT PHYSIQUE		EVITER LA DISPERSION DE POUSSIERE! EVITER TOUT CONTACT!	
INHALATION	Toux. Maux de tête. Essoufflement. Respiration sifflante. Troubles de la vue. Symptômes d'effets retardés (voir Notes).	Aspiration locale ou protection respiratoire.	Air frais, repos. Respiration artificielle si nécessaire. Consulter un médecin.
PEAU	Rougeur. Brûlures cutanées. Décoloration de la peau.	Gants de protection.	Retirer les vêtements contaminés. Rincer et laver la peau abondamment à l'eau et au savon. Consulter un médecin.
YEUX	Troubles de la vue. Perte de la vue.	Lunettes à coques, ou protection oculaire associée à une protection respiratoire en présence de poudre.	Rincer d'abord abondamment à l'eau pendant plusieurs minutes (retirer si possible les lentilles de contact), puis consulter un médecin.
INGESTION	Sensation de brûlure. (Suite, voir Inhalation).	Ne pas manger, ne pas boire ni fumer pendant le travail.	Rincer la bouche. Ne rien donner à boire. Repos.
DEVERSEMENTS & FUITES		STOCKAGE	CONDITIONNEMENT & ETIQUETAGE
Evacuer la zone dangereuse! Consulter un expert! Ventilation. Balayer et récupérer la substance répandue dans des récipients, si approprié, humidifier d'abord afin d'éviter la formation de poussière, puis emporter en lieu sûr. NE PAS absorber avec de la sciure ou avec un autre absorbant combustible. (protection individuelle spéciale: tenue de protection complète comprenant un appareil de protection respiratoire autonome).		Séparer des substances combustibles et des réducteurs, des aliments et des produits alimentaires. Ventilation au niveau du sol.	Récipient incassable; mettre les récipients fragiles dans un emballage incassable fermé. Ne pas transporter avec des aliments ni des produits alimentaires. Symbole T+ R: 26/27/28-34 S: (1/2-)/9-26-45 Classe de danger ONU: 6.1 Classe d'emballage ONU: I
VOIR IMPORTANTES INFORMATIONS AU DOS			
<p>ICSC: 0528 Préparé dans le cadre de la coopération entre le Programme International sur la Sécurité Chimique et la Commission Européenne (C) 1993</p>			

Fiches internationales de sécurité chimique

TETROXYDE D'OSMIUM

ICSC: 0528

<p style="margin: 0;">D O N N E E S</p> <p style="margin: 0;">I M P O R T A N T E S</p>	<p>ASPECT PHYSIQUE; APPARENCE: SOLIDE DE FORMES VARIABLES, INCOLORE A JAUNE PALE, D'ODEUR ACRE.</p> <p>DANGERS PHYSIQUES:</p> <p>DANGERS CHIMIQUES: La substance se décompose en chauffant fortement, produisant des fumées d'osmium. La substance est un oxydant fort qui réagit avec les matières combustibles et les réducteurs. Réagit avec l'acide chlorhydrique pour former du chlore, un gaz toxique (voir ICSC # 0126). Forme des composés instables avec les alcalis.</p> <p>LIMITES D'EXPOSITION PROFESSIONNELLE (LEP): TLV (Os): 0.0002 ppm; 0.0016 mg/m³ (TWA); 0.0006 ppm; 0.0047 mg/m³ (STEL) (ACGIH 1991-1992).</p>	<p>VOIES D'EXPOSITION: La substance peut être absorbée par l'organisme par inhalation de ses vapeurs, par inhalation de ses aérosols et par ingestion.</p> <p>RISQUE D'INHALATION: Une contamination dangereuse de l'air est très rapidement atteinte lors de l'évaporation de cette substance à 20°C.</p> <p>EFFETS DES EXPOSITIONS DE COURTE DUREE: Lacrémogène. La substance est corrosive pour les yeux, la peau et les voies respiratoires. L'inhalation de cette substance peut causer un œdème pulmonaire (voir Notes). La vapeur de cette substance est corrosive pour les yeux, la peau et les voies respiratoires. L'exposition à des concentrations élevées peut entraîner la mort. Les effets peuvent être retardés.</p> <p>EFFETS DES EXPOSITIONS PROLONGEES OU REPETEES: Un contact répété ou prolongé avec la peau peut causer une dermatite. La substance peut avoir des effets sur les reins.</p>
	<p>PROPRIETES PHYSIQUES</p> <p>Point d'ébullition : 130°C (voir Notes) Point de fusion : 42°C Densité relative (eau = 1) : 4.9</p>	<p>Solubilité dans l'eau : modérée Tension de vapeur à 27°C : 1.5 kPa Densité de vapeur relative (air = 1) : 8.8</p>
NOTES		
<p>Commence à sublimer et distille bien au-dessous du point d'ébullition. Les symptômes de l'œdème pulmonaire ne se manifestent souvent qu'après quelques heures et sont aggravés par l'effort physique. Le repos et la surveillance médicale sont par conséquent essentiels. L'odeur n'est pas un signal fiable lorsque la valeur limite d'exposition est dépassée. NE PAS emporter de vêtements de travail chez soi.</p> <p style="text-align: right;">Carte de données d'urgence pour le transport: TREMCARD (R)-61G09.</p>		
AUTRES INFORMATIONS		
<p>ICSC: 0528 TETROXYDE D'OSMIUM</p> <p style="text-align: center; font-size: small;">© PISSC, CEC, 1993</p>		
<p>NOTICE LEGALE IMPORTANTE: La CE de même que le PISSC ou toute personne agissant au nom de la CE ou du PISSC ne sauraient être tenues pour responsables de l'utilisation qui pourrait être faite de ces informations. Cette fiche exprime l'avis du comité de révision du PISSC et peut ne pas toujours refléter les recommandations de la législation nationale en la matière. L'utilisateur est donc invité à vérifier la conformité des fiches avec les prescriptions en usage dans son pays.</p> <p>Traduction autorisée de l'International Chemical Safety Card (ICSC), publié par l'UNEP/ILO/WHO dans le cadre de la coopération entre le PISSC et la CE. Programme International sur la Sécurité des Substances Chimiques - Commission Européenne, 1993.</p>		

Striking Difference in Antiproliferative Activity of Ruthenium- and Osmium-Nitrosyl Complexes with Azole Heterocycles

Gabriel E. Büchel,^{†,‡,⊥} Anotolie Gavriluta,^{†,‡,⊥} Maria Novak,[†] Samuel M. Meier,[†] Michael A. Jakupec,[†] Olesia Cuzan,[§] Constantin Turta,[§] Jean-Bernard Tommasino,[‡] Erwann Jeanneau,[‡] Ghenadie Novitchi,^{||} Dominique Luneau,^{*,‡} and Vladimir B. Arion^{*,†}

[†]Institute of Inorganic Chemistry, University of Vienna, Währinger Strasse 42, A-1090 Vienna, Austria

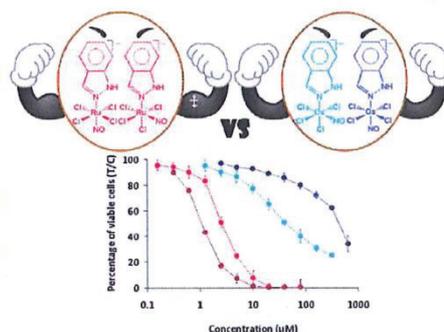
[‡]Laboratoire des Multimatiériaux et Interfaces (UMRS615), Université Claude Bernard Lyon 1, Campus de La Doua, 69622 Villeurbanne, Cedex, France

[§]Institute of Chemistry, Academy of Sciences of Moldova, Academiei Str. 3, MD-2028 Chisinau, Moldova

^{||}Laboratoire National des Champs Magnétiques Intenses-CNRS, Université Joseph Fourier, 25 Avenue des Martyrs, 38042 Grenoble Cedex 9, France

Supporting Information

ABSTRACT: Ruthenium nitrosyl complexes of the general formulas (cation)⁺[*cis*-RuCl₄(NO)(Hazole)]⁻, where (cation)⁺ = (H₂ind)⁺, Hazole = 1*H*-indazole (Hind) (1c), (cation)⁺ = (H₂pz)⁺, Hazole = 1*H*-pyrazole (Hpz) (2c), (cation)⁺ = (H₂bzim)⁺, Hazole = 1*H*-benzimidazole (Hbzim) (3c), (cation)⁺ = (H₂im)⁺, Hazole = 1*H*-imidazole (Him) (4c) and (cation)⁺[*trans*-RuCl₄(NO)(Hazole)]⁻, where (cation)⁺ = (H₂ind)⁺, Hazole = 1*H*-indazole (1t), (cation)⁺ = (H₂pz)⁺, Hazole = 1*H*-pyrazole (2t), as well as osmium analogues of the general formulas (cation)⁺[*cis*-OsCl₄(NO)(Hazole)]⁻, where (cation)⁺ = (*n*-Bu₄N)⁺, Hazole = 1*H*-indazole (5c), 1*H*-pyrazole (6c), 1*H*-benzimidazole (7c), 1*H*-imidazole (8c), (cation)⁺ = Na⁺; Hazole = 1*H*-indazole (9c), 1*H*-benzimidazole (10c), (cation)⁺ = (H₂ind)⁺, Hazole = 1*H*-indazole (11c), (cation)⁺ = H₂pz⁺, Hazole = 1*H*-pyrazole (12c), (cation)⁺ = (H₂im)⁺, Hazole = 1*H*-imidazole (13c), and (cation)⁺[*trans*-OsCl₄(NO)(Hazole)]⁻, where (cation)⁺ = *n*-Bu₄N⁺, Hazole = 1*H*-indazole (5t), 1*H*-pyrazole (6t), (cation)⁺ = Na⁺, Hazole = 1*H*-indazole (9t), (cation)⁺ = (H₂ind)⁺, Hazole = 1*H*-indazole (11t), (cation)⁺ = (H₂pz)⁺, Hazole = 1*H*-pyrazole (12t), have been synthesized. The compounds have been comprehensively characterized by elemental analysis, ESI mass spectrometry, spectroscopic techniques (IR, UV-vis, 1D and 2D NMR) and X-ray crystallography (1c·CHCl₃, 1t·CHCl₃, 2t, 3c, 6c, 6t, 8c). The antiproliferative activity of water-soluble compounds (1c, 1t, 3c, 4c and 9c, 9t, 10c, 11c, 11t, 12c, 12t, 13c) in the human cancer cell lines A549 (nonsmall cell lung carcinoma), CH1 (ovarian carcinoma), and SW480 (colon adenocarcinoma) has been assayed. The effects of metal (Ru vs Os), *cis*/*trans* isomerism, and azole heterocycle identity on cytotoxic potency and cell line selectivity have been elucidated. Ruthenium complexes (1c, 1t, 3c, and 4c) yielded IC₅₀ values in the low micromolar concentration range. In contrast to most pairs of analogous ruthenium and osmium complexes known, they turned out to be considerably more cytotoxic than chemically related osmium complexes (9c, 9t, 10c, 11c, 11t, 12c, 12t, 13c). The IC₅₀ values of Os/Ru homologs differ by factors (Os/Ru) of up to ~110 and ~410 in CH1 and SW480 cells, respectively. ESI-MS studies revealed that ascorbic acid may activate the ruthenium complexes leading to hydrolysis of one M–Cl bond, whereas the osmium analogues tend to be inert. The interaction with myoglobin suggests nonselective adduct formation; i.e., proteins may act as carriers for these compounds.



INTRODUCTION

Ruthenium nitrosyl complexes have been of interest to researchers since 1965.¹ Numerous compounds have been prepared with the aims of studying the structure and bonding in ruthenium complexes with noninnocent NO ligand,² investigating novel reactivities,³ and, in particular, considering them as potential precursors for the synthesis of N₂ complexes,^{3a} as models for the investigation of the elementary key steps in the global biogeochemical nitrogen cycle.⁴ Other aspects of biological, medicinal, and environmental applications emphasize-

ing the significance of ruthenium nitrosyl compounds have been subjects of reviews,^{3d,5} as have their use as catalysts or catalyst precursors in a number of organic reactions.^{5,6}

Ruthenium and osmium classic coordination compounds, as well as organoruthenium(II) and organoosmium(II) complexes, are subjects of current investigation as promising anticancer drug candidates.^{7,8} Two most prominent investiga-

Received: March 5, 2013

Published: May 9, 2013

Chart 1. Compounds Reported in This Work

		$(\text{cation})^+$ cis			$(\text{cation})^+$ trans		
		M	L	config	(cation) ⁺	comp ^a	
1 <i>H</i> -indazole (Hind)		Ru	Hind	cis	H ₂ ind ⁺	<u>1c</u>	
		Ru	Hind	trans	H ₂ ind ⁺	<u>1t</u>	
1 <i>H</i> -pyrazole (Hpz)		Ru	Hpz	cis	H ₂ pz ⁺	<u>2c</u>	
		Ru	Hpz	trans	H ₂ pz ⁺	<u>2t</u>	
1 <i>H</i> -benzimidazole (Hbzim)		Ru	Hbzim	cis	H ₂ bzim ⁺	<u>3c</u>	
		Ru	Him	cis	H ₂ im ⁺	<u>4c</u>	
1 <i>H</i> -imidazole (Him)		Os	Hind	cis	Bu ₄ N ⁺	<u>5c</u>	
		Os	Hind	trans	Bu ₄ N ⁺	<u>5t</u>	
		Os	Hpz	cis	Bu ₄ N ⁺	<u>6c</u>	
		Os	Hpz	trans	Bu ₄ N ⁺	<u>6t</u>	
		Os	Hbzim	cis	Bu ₄ N ⁺	<u>7c</u>	
		Os	Him	cis	Bu ₄ N ⁺	<u>8c</u>	
		Os	Hind	cis	Na ⁺	<u>9c</u>	
		Os	Hind	trans	Na ⁺	<u>9t</u>	
		Os	Hbzim	cis	Na ⁺	<u>10c</u>	
		Os	Hind	cis	H ₂ ind ⁺	<u>11c</u>	
		Os	Hind	trans	H ₂ ind ⁺	<u>11t</u>	
		Os	Hpz	cis	H ₂ pz ⁺	<u>12c</u>	
		Os	Hpz	trans	H ₂ pz ⁺	<u>12t</u>	
		Os	Him	cis	H ₂ im ⁺	<u>13c</u>	

ⁿ-Tetrabutylammonium^b = *n*-(Bu₄N) = (CH₃^D-CH₂^C-CH₂^B-CH₂^A)₄N⁺

^aUnderlined compounds have been studied by X-ray crystallography. ^bAtom labeling was introduced for assignments of resonances in NMR spectra.

tional drugs, namely (H₂ind)[*trans*-Ru^{III}Cl₄(Hind)₂], where Hind = 1*H*-indazole, (KP1019)⁹ and (H₂im)[*trans*-Ru^{III}Cl₄(DMSO)(Him)], where Him = imidazole, (NAMI-A),¹⁰ are currently in phase I–II clinical trials. The prodrug *trans*-[Ru^{III}Cl₄(Hind)₂][−] is active as an anticancer agent in preclinical models of colon cancer and other malignancies¹¹ as well as in the clinical setting in refractory solid tumors including metastatic disease.⁹ Although the antitumor activity of this compound was reported about 20 years ago, the mechanism of action remains unclear at least at the molecular level, and the identification of its active species is of major interest. Recently, it was reported that the combined antiangiogenic and anti-invasive properties of NAMI-A are attributed to a NO capturing mechanism responsible for metastasis control of this investigational drug.¹² The high affinity of ruthenium to NO is well-documented in the literature.¹³ The pronounced effect on angiogenesis of NAMI-A was confirmed in the chick allantoic membrane and in the eye cornea model in the rabbit.^{14,15} It should also be noted that NO, which is produced by a number of nitric oxide synthase (NOS) enzymes from *L*-arginine in the body,¹⁶ plays a major role as a signaling molecule in biological signal transducing systems, e.g., in blood pressure regulation,^{17,18} neurotransmission,^{19,20} inflammatory response,^{21,22} as well as necrosis²³ and apoptosis.^{24,25} Nitric oxide is therefore essential in biological systems, but its excess as well as deficiency leads to pathologies. All this prompted us to

synthesize ruthenium- and osmium-nitrosyl complexes with azole heterocycles and to test them for antiproliferative activity in human cancer cell lines.

Herein we report on the synthesis of 20 *cis* and *trans* isomers of ruthenium- and osmium-nitrosyl complexes (18 of which are new) of the general formula (cation)[MCl₄(NO)(Hazole)] (Chart 1) aiming at the study of the *cis*–*trans* effect on their spectroscopic features, as well as the effects of metal (Ru vs Os), *cis*/*trans* isomerism, azole heterocycle, and counterion identity on their antiproliferative activity.

EXPERIMENTAL SECTION

Materials. Na₂[RuCl₅(NO)]·6H₂O was synthesized as just reported in the literature.²⁶ RuCl₃ and OsO₄ were purchased from Johnson Matthey. NH₂OH·HCl, K₂C₂O₄·H₂O, NaNO₂, 1*H*-indazole (Hind), 1*H*-benzimidazole (Hbzim), 1*H*-pyrazole (Hpz), and 1*H*-imidazole (Him) were from Aldrich and Acros, while Na¹⁵NO₂ was from Cambridge Isotope Laboratories. All these chemicals were used without further purification. (H₂azole)₂[RuCl₅(NO)] (Hazole = Hpz, Him, Hind, Hbzim) were prepared by heating Na₂[RuCl₅(NO)]·6H₂O with the corresponding azole heterocycle in 6 M HCl. (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] was synthesized as described in the literature.^{27,28} (*n*-Bu₄N)[*cis*-OsCl₄(NO)(Hind)] (**5c**) and (*n*-Bu₄N)-[*trans*-OsCl₄(NO)(Hind)] (**5t**) were prepared by reaction of (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] with 1*H*-indazole and separated by fractional crystallization.²⁹ L(+)-Ascorbic acid was obtained from Acros, and ubiquitin (bovine erythrocytes) and myoglobin (equine heart) from

Sigma. The solvents for ESI-MS studies were methanol (VWR Int., HiPerSolv CHROMANORM), formic acid (Fluka), and Milli-Q water (18.2 MΩ, Synergy 185 UV Ultrapure Water System, Millipore, France).

Syntheses of Complexes. (*H₂ind*)[*cis*-RuCl₄(NO)-(Hind)]·0.25CHCl₃ (**1c**·0.25CHCl₃) and (*H₂ind*)[*trans*-RuCl₄(NO)-(Hind)]·CHCl₃ (**1t**·CHCl₃). A suspension of (*H₂ind*)₂[RuCl₅(NO)] (230 mg, 0.36 mmol) in 1-propanol (8 mL) was heated at 75 °C for 6 h. The solvent was removed *in vacuo*, and the residue was dissolved in chloroform. Fractional crystallization afforded rose crystals of trans-isomer **1t**·CHCl₃ (first fraction) which was filtered off, washed with diethyl ether, and dried *in vacuo*. Yield: 47 mg, 21%. The second fraction crystallized as *cis*-isomer **1c**·0.25CHCl₃ was filtered off, washed with diethyl ether, and dried *in vacuo*. Yield: 79 mg, 36%. Analytical data for **1c** follow. Anal. Calcd for C₁₄H₁₃Cl₄N₅ORu·0.25 CHCl₃ (*M_r* = 540.01 g/mol): C, 31.69; H, 2.47; N, 12.96. Found: C, 31.64; H, 2.57; N, 13.28. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 243 [RuCl₄]⁻, 273 [RuCl₄(NO)]⁻, 391 [RuCl₄(NO)(Hind)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 119 (*H₂ind*)⁺. MIR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 614, 649, 840, 925, 965, 999, 1091, 1125, 1150, 1175, 1214, 1237, 1278, 1358, 1379, 1435, 1475, 1513, 1582, 1629 (C=N), 1854 (NO), 2993, 3127 (NH), 3308. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 258 (21 517), 294 sh (15 948), 373 sh (154), 453 (68), 539 sh (46). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.10 (t, 1H₅, *J* = 7.01 Hz), 7.24 (t, 1H₅, *J* = 7.21 Hz), 7.34 (t, 1H₆, *J* = 7.30 Hz), 7.49 (t, 1H₆, *J* = 7.16 Hz), 7.52 (d, 1H₇, *J* = 7.45 Hz), 7.77 (d, 2H_{4/7}, *J* = 9.61 Hz), 7.90 (d, 1H₄, *J* = 8.15 Hz), 8.06 (s, 1H₃), 8.62 (s, 1H₃), 13.28 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ , ppm: 110.54 (C₇), 111.62 (C₅), 120.64 (C_{4/7}), 120.94 (C_{4/7}), 121.50 (C₄), 121.92 (C₉), 122.33 (C₅), 123.24 (C₉), 126.35 (C₆), 129.07 (C₆), 133.78 (C₃), 137.80 (C₃), 140.10 (C₈), 141.04 (C₈). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.68 MHz), δ , ppm: 163.44 (N₁). Suitable crystals for X-ray diffraction study were grown by slow evaporation of a solution of **1c** in chloroform.

(*H₂ind*)[*cis*-RuCl₄(¹⁵NO)(Hind)] was produced by following the same protocol as for **1c**, but starting from Na₂[RuCl₅(¹⁵NO)]·6H₂O. IR (ATR), $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 3123 (NH), 1831 (¹⁵NO), 1625 (C=N). ¹⁵N NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆), δ , ppm: 339.50 (NO).

Analytical data for **1t**·CHCl₃ follow. Anal. Calcd for C₁₄H₁₃Cl₄N₅ORu·CHCl₃ (*M_r* = 629.54 g/mol): C, 28.62; H, 2.24; N, 11.12. Found: C, 28.83; H, 2.05; N, 10.97. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 243 [RuCl₄]⁻, 273 [RuCl₄(NO)]⁻, 391 [RuCl₄(NO)(Hind)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 119 (*H₂ind*)⁺. MIR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 588, 615, 657, 731, 739, 861, 899, 962, 999, 1091, 1121, 1148, 1228, 1270, 1298, 1358, 1449, 1471, 1511, 1582, 1635 (C=N), 1891 (NO), 2995, 3158, 3232 (NH), 3317. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 260 (21 883), 283 sh (16 175), 383 sh (99), 504 (36), 597 (19). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.10 (t, 1H₅, *J* = 7.11 Hz), 7.22 (t, 1H₅, *J* = 7.21 Hz), 7.34 (t, 1H₆, *J* = 7.23 Hz), 7.51 (t, 1H₆, *J* = 7.34 Hz), 7.54 (d, 1H₇, *J* = 7.35 Hz), 7.76 (d, 1H₄, *J* = 7.76 Hz), 7.79 (d, 1H₇, *J* = 7.75 Hz), 7.90 (d, 1H₄, *J* = 8.25 Hz), 8.07 (s, 1H₃), 8.63 (s, 1H₃), 12.95 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ , ppm: 110.54 (C₇), 112.13 (C₇), 120.64 (C₅), 120.94 (C₄), 121.01 (C₉), 121.94 (C₄), 122.36 (C₅), 123.23 (C₉), 126.36 (C₆), 129.40 (C₆), 133.78 (C₃), 138.21 (C₃), 140.14 (C₈), 140.33 (C₈). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.68 MHz), δ , ppm: 161.97 (N₁). Suitable crystals for X-ray diffraction study were grown by slow evaporation of a solution of **1t** in chloroform.

(*H₂ind*)[*trans*-RuCl₄(¹⁵NO)(Hind)] was produced by following the same protocol as for **1t**, but starting from Na₂[RuCl₅(¹⁵NO)]·6H₂O. IR (ATR), $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 3237 (NH), 1849 (¹⁵NO), 1631 (C=N). ¹⁵N NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆), δ , ppm: 343.49 (NO).

(*H₂pz*)[*cis*-RuCl₄(NO)(Hpz)] (**2c**) and (*H₂pz*)[*trans*-RuCl₄(NO)(Hpz)] (**2t**). A suspension of (*H₂pz*)₂[RuCl₅(NO)] (160 mg, 0.36 mmol) in 1-propanol was heated at 80 °C for 7 h. The solvent was removed *in vacuo*, and the residue was dissolved in chloroform. The reddish product **2t** crystallizing first was obtained by slow diffusion of diethyl ether into the chloroform solution. Yield: 44 mg, 30%. The second collected fraction was a 1:1 mixture of **2c** and **2t**. Analytical data for **2c** follow: C₆H₉Cl₄N₅ORu (*M_r* = 410.05 g/mol). ¹H NMR (DMSO-*d*₆,

500.32 MHz): δ 6.32 (s, 1H₄), 6.50 (s, 1H₄), 7.69 (s, 2H_{3/5}), 7.89 (s, 1H₂), 7.94 (s, 1H₃), 13.06 (s, 1H₁) ppm.

Analytical data for **2t** follow: C₆H₉Cl₄N₅ORu (*M_r* = 410.05 g/mol). ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 341 [RuCl₄(NO)(Hpz)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 69 (*H₂pz*)⁺. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz): δ 6.32 (s, 1H₄), 6.43 (s, 1H₄), 7.69 (s, 2H_{3/5}), 7.81 (s, 1H₂), 8.01 (s, 1H₃), 12.76 (s, 1H₁) ppm. Suitable crystals for X-ray diffraction study were grown by slow diffusion of diethyl ether into a solution of **2t** in chloroform.

(*H₂bzim*)[*cis*-RuCl₄(NO)(Hbzim)] (**3c**). A suspension of (*H₂bzim*)₂[RuCl₅(NO)] (200 mg, 0.36 mmol) in 1-propanol (4 mL) was heated at 75 °C for 17 h. The pale-rose precipitate was filtered off, washed with diethyl ether, and dried *in vacuo*. Yield: 128 mg, 68%. Anal. Calcd for C₁₄H₁₃Cl₄N₅ORu (*M_r* = 510.17 g/mol): C, 32.96; H, 2.57; N, 13.72. Found: C, 32.99; H, 2.33; N, 13.38. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 243 [RuCl₄]⁻, 273 [RuCl₄(NO)]⁻, 391 [RuCl₄(NO)(Hbzim)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 119 (*H₂bzim*)⁺. MIR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 591, 617, 721, 741, 750, 848, 936, 986, 1008, 1107, 1135, 1222, 1250, 1308, 1371, 1426, 1444, 1496, 1619, 1860 (NO), 3170. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 267 (25 836), 251 (23 293), 383 sh (99), 504 (36), 597 (19), 470 (77), 551 (62). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.37 (m, 2H_{5/6}), 7.59 (m, 2H_{5/6}), 7.60 (m, 1H₇), 7.86 (m, 2H_{4/7}), 8.11 (m, 1H₄), 8.72 (d, 1H₂, *J* = 1.47 Hz), 9.53 (s, 1H₂), 13.47 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ , ppm: 113.57 (C₇), 114.96 (C_{4/7}), 119.16 (C₄), 123.43 (C_{6/5}), 124.20 (C_{5/6}), 126.47 (C_{5/6}), 131.16 (C_{8/9}), 132.52 (C_{8/9}), 139.94 (C_{8/9}), 141.20 (C_{8/9}), 141.01 (C₂), 147.08 (C₂). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.68 MHz), δ , ppm: 135.08 (N₁). Suitable crystals for X-ray diffraction study were grown by slow evaporation of a solution of **3c** in dichloromethane.

(*H₂im*)[*cis*-RuCl₄(NO)(Him)]·0.1CHCl₃ (**4c**·0.1CHCl₃). A suspension of (*H₂im*)₂[RuCl₅(NO)] (300 mg, 0.67 mmol) in 1-propanol was heated at 75 °C for 19 h. The solvent was removed *in vacuo* and the residue dissolved in acetone. The unreacted starting material was precipitated as a rose powder by addition of chloroform to the acetone solution. The product was obtained by slow diffusion of diethyl ether into the mother liquor. Yield: 43 mg, 15%. Anal. Calcd for C₆H₉Cl₄N₅ORu·0.1CHCl₃ (*M_r* = 421.99 g/mol): C, 17.36; H, 2.17; N, 16.59. Found: C, 17.36; H, 2.02; N, 16.43. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 341 [RuCl₄(NO)(Him)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 69 (*H₂im*)⁺. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.28 (s, 1H₂), 7.33 (s, 1H₄), 7.70 (s, 2H_{4/5}), 8.19 (s, 1H₂), 9.10 (s, 1H₂), 12.91 (s, 1H₁), 14.21 (s, 1H_{1/3}).

(*Bu₄N*)[*cis*-OsCl₄(NO)(Hpz)] (**6c**) and (*Bu₄N*)[*trans*-OsCl₄(NO)(Hpz)] (**6t**). A mixture of 1*H*-pyrazole (48 mg, 0.70 mmol) and (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] (410 mg, 0.46 mmol) in *n*-butanol (10 mL) was heated at 105 °C for 24 h. The solution was allowed to stand in an open beaker, and after 4 days blue crystals of the trans-isomer were isolated by filtration, washed with ethanol (2 × 3 mL) and diethyl ether (3 × 1 mL), and dried *in vacuo*. Yield: 92 mg, 30%. The filtrate produced red crystals of *cis*-isomer, which were filtered off on the next day, washed with ethanol (2 × 2 mL) and diethyl ether (2 × 1 mL), and dried *in vacuo*. Yield: 125 mg, 40%. Analytical data for **6c** follow. Anal. Calcd for C₁₉H₄₀Cl₄N₄OOS (*M_r* = 672.59 g/mol): C, 33.93; H, 5.99; N, 8.33. Found: C, 34.37; H, 5.73; N, 8.16. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 430 [OsCl₄(NO)(Hpz)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 587, 600, 688, 740, 777, 881, 1048, 1062, 1128, 1166, 1354, 1467, 1812 (NO), 2874, 2961, 3276. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 328 (1164), 431 (466), 521 (393). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.13 MHz), δ , ppm: 0.93 (t, 12H_D, *J* = 7.3 Hz), 1.31 (sxt, 8H_C, *J* = 7.3 Hz), 1.57 (qui, 8H_B, *J* = 7.7 Hz), 3.16 (t, 8H, *J* = 8.4 Hz), 6.56 (qua, 1 H_A, *J* = 2.2 Hz), 7.91 (t, 1H₅, *J* = 1.8 Hz), 7.97 (t, 1 H₃, *J* = 1.7 Hz), 13.28 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ , ppm: 13.47 (C_D), 19.17 (C_C), 23.06 (C_B), 57.55 (C_A), 106.22 (C₁), 132.96 (C₅), 141.44 (C₃). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.69 MHz), δ , ppm: 65.6 (N from Bu₄N⁺), 179.7 (N₂), 210.5 (d, N₁). Suitable crystals for X-ray diffraction study were picked manually from the reaction vessel under a microscope.

Analytical data for **6t** follow. Anal. Calcd for C₁₉H₄₀Cl₄N₄OOS (*M_r* = 672.59 g/mol): C, 33.93; H, 5.99; N, 8.33. Found: C, 34.14; H, 5.83;

N, 8.21. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 430 [OsCl₄(NO)(Hpz)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 576, 596, 667, 740, 771, 882, 1052, 1068, 1131, 1358, 1377, 1408, 1455, 1483, 1830 (NO), 2871, 2932, 2961, 3322. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 323 (616), 431 (181), 574 (106). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.13 MHz), δ , ppm: 0.94 (t, 12H_D, *J* = 7.3 Hz), 1.31 (sxt, 8H_C, *J* = 7.3 Hz), 1.57 (qui, 8H_B, *J* = 7.7 Hz), 3.16 (t, 8H, *J* = 8.4 Hz), 6.39 (t, 1H_A, *J* = 2.4 Hz), 7.76 (d, 1H_S, *J* = 2.4 Hz), 7.90 (d, 1H₃, *J* = 2.2 Hz), 12.81 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ , ppm: 13.46 (C_D), 19.18 (C_C), 23.03 (C_B), 57.51 (C_A), 104.94 (C₄), 131.89 (C₅), 142.48 (C₃). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.69 MHz), δ , ppm: 65.6 (N from Bu₄N⁺), 209.6 (d, N₁), 228.3 (N₂). Suitable crystals for X-ray diffraction study were picked manually from the reaction vessel under a microscope.

(Bu₄N)[*cis*-OsCl₄(NO)(Hbzim)] (7c). A mixture of 1H-benzimidazole (70 mg, 0.59 mmol) and (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] (350 mg, 0.39 mmol) in *n*-butanol (10 mL) was heated at 105 °C for 24 h. The solution was allowed to stand in an open beaker producing red crystals, which were filtered off after 4 days, washed with water/ethanol 1:2 (3 × 10 mL) and diethyl ether (3 × 5 mL), and dried in vacuo. Yield: 200 mg, 70%. Anal. Calcd for C₂₃H₄₂Cl₄N₄OOS (M_r = 722.65 g/mol): C, 38.23; H, 5.86; N, 7.75. Found: C, 38.39; H, 5.62; N, 7.71. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 410 [OsCl₂(NO)(Hbzim)]⁻, 480 [OsCl₄(NO)(Hbzim)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 427, 452, 622, 741, 885, 987, 1013, 1110, 1134, 1248, 1309, 1379, 1411, 1464, 1510, 1808, 2873, 2960, 3252. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 270 (6490), 358 sh (444), 527 (132). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.13 MHz), δ , ppm: 0.93 (t, 12H_D, *J* = 7.3 Hz), 1.31 (sxt, 8H_C, *J* = 7.3 Hz), 1.57 (qui, 8H_B, *J* = 7.7 Hz), 3.17 (t, 8H, *J* = 8.4 Hz), 7.37 (qui, 2H_{S,6}, *J* = 8.3 Hz), 7.68 (d, 1H₇, *J* = 7.2 Hz), 8.01 (d, 1H₄, *J* = 8.0 Hz), 8.67 (s, 1H₂), 13.57 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ , ppm: 13.47 (C_D), 19.18 (C_C), 23.07 (C_B), 57.53 (C_A), 113.16 (C₇), 118.48 (C₅), 123.00 (C₆), 123.97 (C₃), 131.90 (C₈), 140.21 (C₉), 147.48 (C₂). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.69 MHz), δ , ppm: 65.6 (N from Bu₄N⁺), 137.8 (N₂), 158.0 (N₁). X-ray diffraction quality single crystals were picked manually from the reaction vessel under a microscope.

(Bu₄N)[*cis*-OsCl₄(NO)(Him)] (8c). A mixture of 1H-imidazole (60 mg, 0.88 mmol) and (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] (520 mg, 0.59 mmol) in *n*-butanol (10 mL) was heated at 105 °C for 24 h. The solution was allowed to stand in an open beaker producing red crystals, which were filtered after 2 days, washed with water/ethanol 1:2 (3 × 10 mL) and diethyl ether (3 × 5 mL), and dried in vacuo. Yield: 295 mg, 75%. Anal. Calcd for C₁₉H₄₀OsCl₄N₄O (M_r = 672.59 g/mol): C, 33.93; H, 5.99; N, 8.33. Found: C, 34.06; H, 5.77; N, 8.30. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 430 [Os(NO)Cl₄(Him)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 618, 656, 744, 837, 880, 1063, 1092, 1331, 1380, 1469, 1542, 1813 (NO), 2873, 2960, 3259. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 307 (875), 344 sh (474), 509 (126). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.13 MHz), δ , ppm: 0.94 (t, 12H_D, *J* = 7.3 Hz), 1.31 (sxt, 8H_C, *J* = 7.3 Hz), 1.58 (qui, 8H_B, *J* = 7.7 Hz), 3.17 (t, 8H, *J* = 8.4 Hz), 7.33 (ps.t, 1H_S), 7.35 (ps.t, 1H₄), 8.2 (ps.t, 1H₂), 13.03 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ , ppm: 13.48 (C_D), 19.19 (C_C), 23.07 (C_B), 57.54 (C_A), 116.78 (C₅), 128.87 (C₄), 139.18 (C₃). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.69 MHz), δ , ppm: 65.6 (N from Bu₄N⁺), 151.8 (N₂), 171.9 (N₁). Suitable crystals for X-ray diffraction study were picked manually from the reaction vessel under a microscope.

Na[*cis*-OsCl₄(NO)(Hind)]·2H₂O (9c·2H₂O). To a solution of (*n*-Bu₄N)[*cis*-OsCl₄(NO)(Hind)]²⁺ (5c) (200 mg, 0.27 mmol) in water/ethanol 1:1 (200 mL) was added ion exchanger Dowex Marathon C Na⁺-form (25 g). The suspension was stirred for 12 h, the ion exchanger separated by filtration, and the solution lyophilized to give a red solid. Yield: 125 mg, 92%. Anal. Calcd for C₇H₆Cl₄N₃NaOOS·2H₂O (M_r = 539.20 g/mol): C, 15.59; H, 1.87; N, 7.79. Found: C, 15.86; H, 1.59; N, 7.35. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, *m/z* 480 [OsCl₄(NO)(Hind)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 430, 560, 641, 746, 845, 969, 1004, 1042, 1092, 1129, 1359, 1383, 1515, 1627, 1825, 3309, 3494. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 sh (114), 505

(83). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 sh (137), 499 (123). UV-vis (DMSO), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 430 sh (114), 521 (107). UV-vis (DMF), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 430 (116), 518 (100). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.17 (s, 1H₆), 7.39 (s, 1H₃), 7.72 (d, 1H₄, *J* = 8.2 Hz), 7.85 (d, 1H₇, *J* = 7.3 Hz), 8.55 (s, 1H₂), 13.47 (s, 1H₁).

Na[*trans*-OsCl₄(NO)(Hind)]·1.8H₂O (9t·1.8H₂O). To a solution of (*n*-Bu₄N)[*trans*-OsCl₄(NO)(Hind)]²⁺ (5t) (200 mg, 0.27 mmol) in water/ethanol 1:1 (250 mL) was added ion exchanger Dowex Marathon C Na⁺-form (25 g). The suspension was stirred for 12 h, the ion exchanger was separated by filtration, and the solution lyophilized to give a blue solid. Yield: 122 mg, 90%. Anal. Calcd for C₇H₆Cl₄N₃NaOOS·1.8H₂O (M_r = 535.29 g/mol): C, 15.69; H, 1.80; N, 7.84. Found: C, 15.88; H, 1.44; N, 7.58. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, *m/z* 480 [OsCl₄(NO)(Hind)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 424, 596, 642, 744, 786, 858, 967, 1002, 1090, 1124, 1240, 1272, 1359, 1472, 1514, 1628, 1830, 3352, 3494. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 sh (86), 484 (56), 568 (54). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 (90), 478 (66), 542 (64). UV-vis (DMSO), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 sh (75), 497 (50), 572 (58). UV-vis (DMF), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 (85), 496 (59), 574 (64). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.23 (t, 1H₆, *J* = 6.6 Hz), 7.52 (t, 1H₃, *J* = 6.4 Hz), 7.75 (d, 1H₄, *J* = 8.4 Hz), 7.90 (d, 1H₇, *J* = 7.8 Hz), 8.58 (s, 1H₂), 12.99 (s, 1H₁).

Na[*cis*-OsCl₄(NO)(Hbzim)]·0.4C₃H₆O (10c·0.4C₃H₆O). To a solution of 7c (202 mg, 0.28 mmol) in water/ethanol 1:1 (250 mL) was added ion exchanger Dowex Marathon C Na⁺-form (25 g). The suspension was stirred for 12 h, the ion exchanger was separated by filtration, and the solution was evaporated. The residue was dissolved in acetone. The solution generated a red product by slow evaporation. Yield: 123 mg, 92%. Anal. Calcd for C₇H₆Cl₄N₃NaOOS·0.4C₃H₆O (M_r = 526.40 g/mol): C, 18.71; H, 1.61; N, 7.98. Found: C, 18.47; H, 1.78; N, 7.60. ESI-MS in CH₃CN (negative): ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 480 [OsCl₄(NO)(Hbzim)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 421, 452, 586, 607, 666, 730, 989, 1016, 1111, 1246, 1307, 1361, 1416, 1464, 1494, 1514, 1610, 1645, 1827 (NO), 3156, 3332, 3536. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 375 (217), 430 sh (162), 515 (118). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 430 sh (128), 510 (114). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.32 (qui, 2H_{S,6}, *J* = 6.8 Hz), 7.65 (d, 1H₇, *J* = 6.5 Hz), 7.97 (d, 1H₄, *J* = 7.2 Hz), 8.59 (s, 1H₂).

(H₂ind)[*cis*-OsCl₄(NO)(Hind)] (11c). To 1H-indazole (20 mg, 0.17 mmol) in water (1.5 mL) was added 12 M hydrochloric acid (0.02 mL, 0.24 mmol). The resulting solution of indazolium chloride was then added to a solution of 9c (70 mg, 0.13 mmol) in water (1.5 mL). The reaction mixture produced a red solid, which was filtered off, washed with water (3 × 1 mL), and dried in vacuo. Yield: 35 mg, 45%. Anal. Calcd for C₁₄H₁₃N₃Cl₄OOS (M_r = 617.35 g/mol): C, 27.24; H, 2.45; N, 11.34. Found: C, 27.48; H, 2.40; N, 10.79. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 378 [OsCl₂(Hind) - H]⁻, 480 [OsCl₄(NO)(Hind)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 427, 446, 536, 613, 741, 828, 968, 1003, 1092, 1125, 1150, 1187, 1247, 1304, 1357, 1378, 1431, 1513, 1584, 1629, 1813 (NO), 3126, 3492. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 375 sh (236), 418 sh (172), 504 (120). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 sh (140), 499 (128). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.10 (t, 1H_S, *J* = 7.1 Hz), 7.26 (t, 1H₆, *J* = 7.2 Hz), 7.34 (t, 1H₆, *J* = 7.3 Hz), 7.49 (t, 1H₃, *J* = 7.5 Hz), 7.52 (d, 1H₇, *J* = 7.5 Hz), 7.75 (d, 2H_{4/7}, *J* = 8.1 Hz), 7.91 (d, 1H₇, *J* = 8.2 Hz), 8.07 (s, 1H₃), 8.61 (s, 1H₃), 13.50 (s, 1H₁).

(H₂ind)[*trans*-OsCl₄(NO)(Hind)]·0.5H₂O (11t·0.5H₂O). To 1H-indazole (25 mg, 0.21 mmol) in water (1.7 mL) was added 12 M hydrochloric acid (0.02 mL, 0.24 mmol). The resulting solution of indazolium chloride was then added to a solution of 9t (100 mg, 0.18 mmol) in water (1.7 mL). The reaction mixture produced a blue solid, which was filtered off, washed with water (3 × 1 mL), and dried in vacuo. Yield: 56 mg, 52%. Anal. Calcd for C₁₄H₁₃N₃Cl₄OOS·0.5H₂O (M_r = 608.34 g/mol): C, 27.64; H, 2.32; N, 11.51. Found: C, 27.96; H, 2.32; N, 11.17. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 378 [OsCl₂(Hind) - H]⁻, 480 [OsCl₄(NO)

Table 1. Crystal Data and Details of Data Collection for 1c·CHCl₃, 1t·CHCl₃, 2t, and 3c

	1c·CHCl ₃	1t·CHCl ₃	2t	3c
empirical formula	C ₁₅ H ₁₄ Cl ₇ N ₅ ORu	C ₁₅ H ₁₄ Cl ₇ N ₅ ORu	C ₆ H ₉ Cl ₄ N ₃ ORu	C ₁₄ H ₁₃ Cl ₄ N ₃ ORu
fw	629.53	629.53	410.05	510.16
space group	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$	$P2_12_12_1$
a [Å]	10.4202(8)	7.2490(7)	7.2264(2)	7.0814(4)
b [Å]	10.8557(9)	11.4371(13)	11.2833(4)	15.7409(8)
c [Å]	11.2737(9)	14.1067(18)	17.5497(6)	16.9995(9)
α [deg]	108.729(5)	68.991(5)	77.815(2)	
β [deg]	101.077(4)	89.138(5)	87.994(2)	
γ [deg]	103.425(4)	88.127(4)	77.155(2)	
V [Å ³]	1124.43(16)	1091.2(2)	1363.61(8)	1894.89(18)
Z	2	2	4	4
λ [Å]	0.710 73	0.710 73	0.710 73	0.710 73
ρ_{calcd} [g cm ⁻³]	1.859	1.916	1.923	1.788
cryst size [mm ³]	0.45 × 0.25 × 0.25	0.70 × 0.12 × 0.08	0.15 × 0.08 × 0.03	0.15 × 0.08 × 0.03
T [K]	100(2)	100(2)	100(2)	200(2)
μ [mm ⁻¹]	1.547	1.594	1.923	1.404
R1 ^a	0.0224	0.0338	0.0348	0.0363
wR2 ^b	0.0528	0.0778	0.0635	0.0897
GOF ^c	1.094	1.023	1.012	1.018

^aR1 = $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. ^bwR2 = $\{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$. ^cGOF = $\{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)\}^{1/2}$, where n is the number of reflections and p is the total number of parameters refined.

(Hind)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 425, 494, 538, 592, 651, 735, 787, 838, 860, 965, 1001, 1091, 1125, 1151, 1240, 1275, 1302, 1358, 1450, 1471, 1514, 1583, 1628, 1822 (NO), 2921, 3126, 3233, 3313, 3469. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 360 sh (292), 424 sh (142), 490 sh (80), 570 (75). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 420 sh (160), 475 sh (120), 540 sh (104). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.10 (t, 1H₅, J = 7.1 Hz), 7.23 (t, 1H₆, J = 7.5 Hz), 7.34 (t, 1H₆, J = 7.2 Hz), 7.52 (ps. qua, 2H_{5/7}), 7.75 (ps. qua, 2H_{4/4}), 7.90 (d, 1H₇, J = 8.1 Hz), 8.07 (s, 1H₃), 8.57 (s, 1H₃), 13.00 (s, 1H₁). (H₂pz)[*cis*-OsCl₄(NO)(Hpz)]·0.12C₃H₆O (12c·0.12C₃H₆O). To a solution of 6c (196 mg, 0.29 mmol) in water/ethanol 1:1 (200 mL) was added ion exchanger Dowex Marathon C Na⁺-form (25 g). The suspension was stirred for 12 h, the ion exchanger separated by filtration, and the solution was reduced in volume to 3 mL by evaporation under reduced pressure. Pyrazole (20 mg, 0.29 mmol) and 12 M HCl (0.1 mL) were added, and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. The solution was evaporated, and the red solid was dissolved in acetone to afford the product on slow evaporation of the solution. Yield: 123 mg, 85%. Anal. Calcd for C₆H₉N₅Cl₄O_{0.12}C₃H₆O (M_r = 506.18 g/mol): C, 15.09; H, 1.93; N, 13.84. Found: C, 15.49; H, 1.81; N, 14.24. ESI-MS in CH₃CN (negative): m/z 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 430 [OsCl₄(NO)(Hpz)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 572, 597, 672, 769, 887, 909, 1046, 1072, 1112, 1170, 1223, 1265, 1312, 1358, 1410, 1456, 1475, 1517, 1549, 1818 (NO), 2857, 2896, 2962, 3068, 3125. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 325 sh (216), 378 (232), 502 sh (64). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 325 (161), 378 sh (93), 420 sh (75), 502 (68). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 6.39 (t, 1H₄, J = 2.0 Hz), 6.56 (qua, 1H₄, J = 2.2 Hz), 7.79 (d, 2H_{3/5}, J = 2.0 Hz), 7.91 (s, 1H₅), 7.99 (s, 1H₃), 13.29 (s, 1H₁).

(H₂pz)[*trans*-OsCl₄(NO)(Hpz)]·0.4C₃H₆O (12t·0.4C₃H₆O). To a solution of 6t (200 mg, 0.3 mmol) in water/ethanol 1:1 (200 mL) was added ion exchanger Dowex Marathon C Na⁺-form (25 g). The suspension was stirred for 12 h, the ion exchanger separated by filtration, and the solution volume reduced to 5 mL. Pyrazole (20 mg, 0.3 mmol) and 12 M HCl (0.1 mL) were added to this solution, and the mixture was stirred for 30 min. The solvent was removed under reduced pressure, and the blue solid was crystallized from acetone. Yield: 130 mg, 87%. Anal. Calcd for C₆H₉OsCl₄N₃O·0.4C₃H₆O (M_r = 513.73 g/mol): C, 15.78; H, 2.06; N, 13.63. Found: C, 16.11; H, 1.98; N, 14.01. ESI-MS in CH₃CN (negative): m/z 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 430 [OsCl₄(NO)(Hpz)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 577, 597, 672,

764, 910, 1053, 1097, 1125, 1170, 1264, 1310, 1348, 1405, 1477, 1514, 1538, 1828 (NO), 2952, 3128, 3308. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 334 (175), 425 sh (89), 475 sh (54), 580 (55). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 330 (174), 425 (62), 475 sh (47), 560 (54). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz): δ , ppm: 6.39 (ps.d, 1H₄), 6.41 (ps.t, 1H₄), 7.77 (s, 1H₅), 7.81 (s, 2H_{3/5}), 7.91 (s, 1H₃), 12.82 (s, 1H₁).

(H₂im)[*cis*-OsCl₄(NO)(Him)]·0.3C₃H₆O (13c·0.3C₃H₆O). To a solution of 8c (210 mg, 0.31 mmol) in water/ethanol 1:1 (200 mL) was added ion exchanger Dowex Marathon C Na⁺-form (25 g). The suspension was stirred for 12 h, the ion exchanger separated by filtration, and the solution was evaporated under reduced pressure to a volume of ca. 4 mL. 1*H*-Imidazole (21 mg, 0.31 mmol) and 12 M HCl (0.1 mL) were added to this solution, and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. The solvent was removed under reduced pressure, and the red solid was crystallized from acetone. Yield: 131 mg, 85%. Anal. Calcd for C₆H₉OsN₃Cl₄O·0.3C₃H₆O (M_r = 516.63 g/mol): C, 16.04; H, 2.10; N, 13.56. Found: C, 16.25; H, 1.92; N, 13.77. ESI-MS in CH₃CN (negative): m/z 332 [OsCl₄]⁻, 362 [Os(NO)Cl₄]⁻, 430 [Os(NO)Cl₄(Him)]⁻. IR, $\bar{\nu}$, cm⁻¹: 616, 646, 697, 742, 918, 1042, 1068, 1106, 1123, 1179, 1263, 1423, 1510, 1546, 1578, 1806 (NO), 2846, 2987, 3136, 3277. UV-vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 368 (248), 511 (60). UV-vis (H₂O), λ_{max} nm (ϵ , M⁻¹ cm⁻¹): 368 sh (103), 420 sh (76), 506 (67). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ , ppm: 7.32 (qua, 1H₅, J = 1.5 Hz), 7.36 (qua, 1H₄, J = 1.2 Hz), 7.71 (d, 2H_{4/5}, J = 1.3 Hz), 8.21 (qua, 1H₂), 9.10 (t, 1H₂, J = 1.2 Hz), 13.02 (s, 1H₁), 14.31 (s, 2H_{1/3}).

Physical Measurements. Elemental analyses were performed by the Microanalytical Service of the Faculty of Chemistry of the University of Vienna. MIR spectra were measured by using an ATR unit with a Perkin-Elmer 370 FTIR 2000 instrument (4000–400 cm⁻¹). FIR spectra were obtained with the same instrument in transmission mode using CsI-pellets. UV-vis spectra were recorded on a Perkin-Elmer Lambda 20 UV-vis spectrophotometer using samples dissolved in DMSO, DMF, THF, water, or methanol. The ¹H, ¹³C, and ¹⁵N NMR spectra were recorded at 500.32, 125.82, and 50.70 MHz on a Bruker DPX500 (Ultrasield Magnet) in DMSO-*d*₆. 2D ¹³C¹H HSQC, ¹⁵N¹H HSQC, ¹³C¹H HMBC, and ¹H¹H COSY experiments were performed. Atom labeling with an apostrophe (Y_x') was introduced for assignment of the azolium ions resonances in NMR spectra (Chart 1). Individual peaks are marked as singlet (s), doublet (d), triplet (t), quartet (qua), quintet (qui), multiplet (m),

Table 2. Crystal Data and Details of Data Collection for 6c, 6t, and 8c

	6c	6t	8c
empirical formula	C ₁₉ H ₄₀ Cl ₄ N ₄ O ₈	C ₁₉ H ₄₀ Cl ₄ N ₄ O ₈	C ₁₉ H ₄₀ Cl ₄ N ₄ O ₈
fw	672.55	672.55	672.55
space group	P2 ₁ /c	C2/c	P2 ₁ /c
a [Å]	11.4520(10)	16.9831(5)	10.370(1)
b [Å]	13.4450(10)	17.8121(4)	19.654(2)
c [Å]	17.167(2)	19.7349(6)	14.216(1)
β [deg]	92.778(9)	111.041(3)	108.02(1)
V [Å ³]	2640.1(4)	5571.8(3)	2755.3(4)
Z	4	8	4
λ [Å]	0.71073	0.71073	0.71073
ρ _{calcd} [g cm ⁻³]	1.692	1.603	1.621
cryst size [mm ³]	0.42 × 0.24 × 0.16	0.31 × 0.18 × 0.11	0.22 × 0.20 × 0.11
T [K]	110(2)	293(2)	110(2)
μ [mm ⁻¹]	5.252	4.977	5.033
R1 ^a	0.0306	0.0242	0.0533
wR2 ^b	0.0736	0.0614	0.1482
GOF ^c	1.087	1.004	1.031

^aR1 = $\sum |F_o| - |F_c| / \sum |F_o|$. ^bwR2 = $\{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$. ^cGOF = $\{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)\}^{1/2}$, where *n* is the number of reflections and *p* is the total number of parameters refined.

pseudodoublet (ps d), pseudotriplet (ps t). Electrospray ionization mass spectrometry was carried out with a Bruker Esquire₃₀₀₀ instrument (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) by using methanol as solvent. Expected and measured isotope distributions were compared. ESI-MS studies for monitoring hydrolysis and the reactivity toward biomolecules were performed on a Bruker AmaZon ion trap mass spectrometer (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) by direct infusion at 4 μL/min using the following parameters: RF level 55%, average accumulation time 61 μs, trap drive 57.3, dry temp 180 °C, nebulizer 8 psi, dry gas 6 L/min, HV capillary +4.5 kV. For protein experiments, the samples were diluted with water/methanol/formic acid (50/50/0.1) prior to injection, and the following parameters were optimized: RF level 114%, average accumulation time 10 μs, nebulizer 6 psi, HV capillary -3.5 kV. Protein spectra were acquired over 0.5 min and averaged. Maximum entropy deconvolution was obtained by automatic data point spacing and 0.2 instrument peak width. The spectra were recorded and processed using ESI Compass 1.3 and Data Analysis 4.0 software (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany).

Crystallographic Structure Determination. X-ray diffraction measurements of ruthenium complexes were performed on a Bruker X8 APEXII CCD diffractometer, while those of osmium complexes were performed on an Oxford-Diffraction XCALIBUR, both equipped with an Oxford Cryosystem cooler device. The single crystals of 1c·CHCl₃, 1t·CHCl₃, 2t, and 3c were positioned at 35 mm from the detector, and 1866, 899, 788, and 898 frames were measured, each for 30, 20, 20, and 10 s over 1° or 2° (3c) scan width. The data for ruthenium complexes were processed using SAINT software.³⁰ The unit cell determination and data integration for osmium complexes were performed using the CrysAlis RED package.³¹ Crystal data, data collection parameters, and structure refinement details are given in Tables 1 and 2. The structures were solved by direct methods and refined by full-matrix least-squares techniques. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic displacement parameters. H atoms were inserted in calculated positions and refined with a riding model. The following software programs and computer were used: structure solution, SHELXS-97; refinement, SHELXL-97;³² molecular diagrams, ORTEP-3;³³ computer, Intel CoreDuo.

Stability in Aqueous Solutions and Reactivity Toward Ascorbic Acid, Ubiquitin, and Myoglobin. Stock solutions of complexes 1c, 1t, 5c, and 5t (200 μM), ascorbic acid (800 μM), myoglobin (100 μM), and ubiquitin (200 μM) were prepared in water. The compounds were incubated with ascorbic acid in a 1:8 molar ratio and with myoglobin/ubiquitin in a 2:1 molar ratio. The reaction mixtures containing 50 μM of the respective complex were incubated

at 37 °C in the dark, and mass spectra were recorded after 0.5, 1, 3, 6, 17, 24, 72, and/or 96 h.

Inhibition of Cancer Cell Growth. Human nonsmall cell lung carcinoma (A549) and colon carcinoma cells (SW480) were provided by Brigitte Marian, Institute of Cancer Research, Department of Medicine I, Medical University of Vienna, Austria. Human ovarian carcinoma cells (CH1) were provided by Lloyd R. Kelland, CRC Centre for Cancer Therapeutics, Institute of Cancer Research, Sutton, U.K.

Cells were grown as adherent cultures in 75 cm² flasks (Iwaki) in Minimal Essential Medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 1 mM sodium pyruvate, 1% nonessential amino acids (from 100× ready-to-use stock), and 4 mM L-glutamine (all purchased from Sigma-Aldrich Austria) without antibiotics at 37 °C under a moist atmosphere containing 5% CO₂ and 95% air.

Cytotoxicity was determined by the MTT assay (MTT = 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide). For this purpose, cells were harvested from culture flasks by trypsinization and seeded in aliquots of 100 μL/well into 96-well microculture plates (Iwaki) in the following cell densities to ensure exponential growth of untreated controls: 2.7 × 10³ (A549), 0.9 × 10³ (CH1), and 2.3 × 10³ (SW480) cells/well. Cells were allowed to settle for 24 h and then exposed to the test compounds by addition of 100 μL/well aliquots of appropriate dilutions in culture medium. After exposure for 96 h, the medium was replaced with 100 μL/well of a 1:6 mixture of MTT solution (5 mg MTT reagent per ml phosphate-buffered saline) and RPMI 1640 medium. The medium/MTT mixture was replaced after 4 h with 150 μL/well DMSO to dissolve the formazan product formed by viable cells. Optical densities at 550 nm (corrected for unspecific absorbance at 690 nm) were measured with a microplate reader (Tecan Spectra Classic) to yield relative quantities of viable cells. The 50% inhibitory concentrations (IC₅₀) were calculated by interpolation. Evaluation is based on at least three independent experiments, except for cases of inactivity, which were tested only twice.

RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis and Characterization of the Complexes. Taking into account our previous experience in carrying out chemical transformations by exploring Anderson rearrangements,³⁴ complexes 1c, 1t, 2c, 2t, 3c, and 4c were synthesized by heating (H₂azole)₂[RuCl₃(NO)], where Hazole = 1H-indazole, 1H-pyrazole, 1H-benzimidazole, 1H-imidazole in 1-propanol at 70–75 °C for 6–17 h. Separation of cis- and trans-

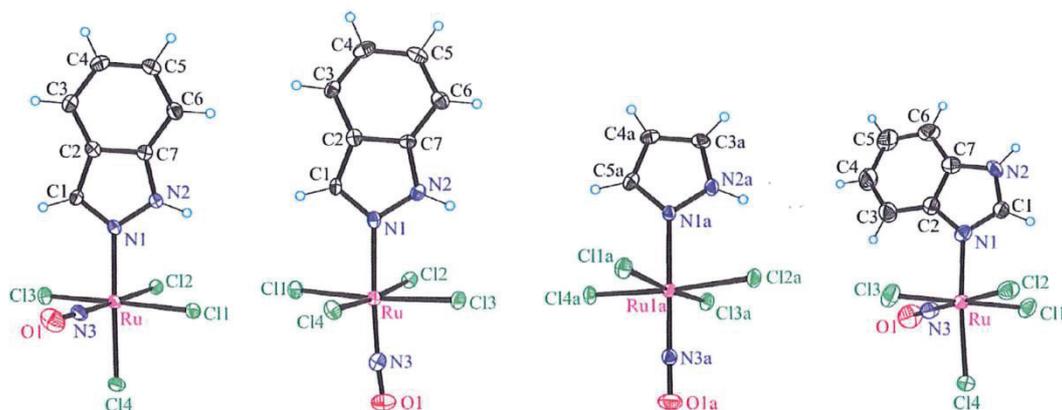


Figure 1. ORTEP views of the *cis*-[RuCl₄(NO)(Hind)]⁻, *trans*-[RuCl₄(NO)(Hind)]⁻, *trans*-[RuCl₄(NO)(Hpz)]⁻, and *cis*-[RuCl₄(NO)(Hbzim)]⁻ complex anions in **1c**, **1t**, **2t**, and **3c** (from left to right); thermal ellipsoids are drawn at 50% probability level.

Table 3. Selected Bond Distances (Å) and Angles (deg) in **1c**·CHCl₃, **1t**·CHCl₃, **2t**, and **3c**

bond	1c ·CHCl ₃	1t ·CHCl ₃	2t	3c
Ru–N1	2.073(2)	2.104(3)	2.094(2), 2.088(2)	2.068(4)
Ru–Cl _{eq} (av)	2.368(14)	2.376(6)	2.361(10), 2.363(6)	2.363(20)
Ru–Cl _{ax}	2.3672(6)			2.3893(13)
Ru–N3	1.728(2)	1.730(3)	1.727(2), 1.726(2)	1.733(5)
N3–O1	1.145(3)	1.151(3)	1.143(3), 1.147(3)	1.130(6)
Ru–N3–O1	178.2(2)	174.4(3)	175.4(2), 178.0(2)	178.0(5)

isomers of (H₂ind)[RuCl₄(NO)(Hind)] (compounds **1c** and **1t**, respectively) was realized by fractional crystallization in chloroform. The less soluble *trans*-isomer **1t** crystallized first, and the more soluble *cis*-isomer **1c** thereafter. The separation of complexes **2c** and **2t** was attempted analogously. The less soluble *trans*-compound **2t** crystallized first. The second fraction, however, proved to be a 1:1 mixture of *cis* and *trans* complexes **2c** and **2t** as confirmed by ¹H NMR and X-ray crystallography. The quality of X-ray data was too poor for publication. It should be noted that the preparation of (H₂im)[*trans*-RuCl₄(Him)(NO)] starting from (H₂im)[*trans*-RuCl₄(dmsO)(NO)] was reported by Alessio et al., when they studied the reactivity of NAMI-A (and analogues) toward NO.¹² Our attempts to prepare this compound by following the published procedure were not successful. However, we succeeded in synthesizing the corresponding *cis*-isomer **4c**. Osmium complexes **6c** and **6t** were prepared by reacting 1*H*-pyrazole with (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] in 1-butanol at 105 °C for 24 h. Fractional crystallization of the reaction mixture afforded 30% of the blue *trans*-isomer **6t** and then by slow evaporation of the filtrate 40% of red crystals of the *cis*-isomer **6c**. The reaction of 1*H*-benzimidazole and 1*H*-imidazole with (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] in 1-butanol on heating led to *cis*-isomers **7c** and **8c** in 70% and 75% yield, respectively. The formation of *trans*-isomers under these reaction conditions was negligible. To improve the aqueous solubility, to make the estimation of the toxicity caused by the tetrabutylammonium cation possible, and to elucidate structure–activity relationships, some tetrabutylammonium salts of osmium complexes were converted into the corresponding sodium and/or azolium salts. In particular, complexes **5c**, **5t**, and **7c** were treated with DOWEX Marathon C exchange resin for 12 h affording sodium salts **9c**, **9t**, and **10c** in 90–92% yield. Metathesis reactions of complexes **9c** and **9t** with indazolium chloride in water gave rise to **11c** and **11t** in 45% and 52% yield, respectively. Starting

from **6c** and **6t** the corresponding sodium salts Na[*cis*-OsCl₄(NO)(Hpz)] and Na[*trans*-OsCl₄(NO)(Hpz)] prepared *in situ* were further reacted with pyrazolium chloride to give *cis*- and *trans*-(H₂pz)[OsCl₄(NO)(Hpz)] (compounds **12c** and **12t**) in 85–87% yield. The formation of ruthenium- and osmium-nitrosyl complexes with azole heterocycles was confirmed by negative ion ESI mass spectra, which showed the presence of peaks attributed to [MCl₄(NO)(Hazole)]⁻, where M = Ru, Os. All compounds possess an *S* = 0 ground state as confirmed by “normal” ¹H NMR spectra (without paramagnetic shift and line broadening) even at room temperature, which is in agreement with the proposed structures for compounds shown in Chart 1. *Cis*-isomers are characterized by lower $\nu(\text{NO})$ wavenumbers than the *trans*-species. In particular, stretching vibration $\nu(\text{NO})$ for **1c** is seen at 1854, while that of **1t** is at 1891 cm⁻¹. This vibration and the shift observed for *trans*-isomers relative to *cis*-ones ($\Delta\nu$) is markedly affected by counterion. The $\Delta\nu$ for isomers **9c** (1825 cm⁻¹) and **9t** (1830 cm⁻¹) is only 5 cm⁻¹. For pyrazole derivatives **6c** and **6t** the $\nu(\text{NO})$ was observed at 1811 and 1830 cm⁻¹, while for related complexes **12c** and **12t** it was observed at 1818 and 1828 cm⁻¹. The ¹⁵N resonances of ¹⁵NO enriched isomers **1c** and **1t** are seen at 339.5 and 343.5 ppm versus solid ¹⁵NH₄Cl. The established spectroscopic differences for *cis*- and *trans*-isomers [¹H, ¹⁵N NMR chemical shifts, $\nu(\text{NO})$] can serve as reliable diagnostic criteria for their identification. Note that this assignment became possible only after investigation of the isolated products by X-ray crystallography (vide infra) and correlation of their solid state structure with spectroscopic properties.

Crystal Structures. The crystal structures of **1c**·CHCl₃, **1t**·CHCl₃, **2t**, and **3c** contain essentially octahedral complexes of the general formula [RuCl₄(NO)(Hazole)]⁻ (Figure 1). Complexes **1c**, **1t**, and **2t** crystallized in the triclinic centrosymmetric space group *P* $\bar{1}$, while **3c** crystallized in the

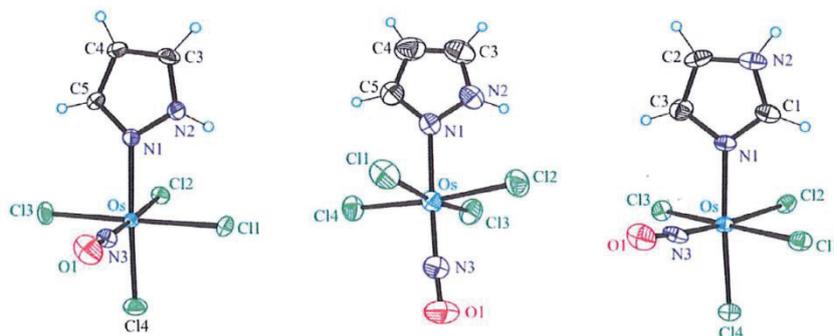


Figure 2. ORTEP views of the *cis*-[OsCl₄(NO)(Hpz)]⁻, *trans*-[OsCl₄(NO)(Hpz)]⁻, and *cis*-[OsCl₄(NO)(Him)]⁻ complex anions in **6c**, **6t**, and **8c** (from left to right); thermal ellipsoids are drawn at 50%, 30%, and 50% probability levels, respectively.

orthorhombic noncentrosymmetric space group $P2_12_12_1$. The asymmetric unit of **2t**, in contrast to those of **1c**, **1t**, and **3c**, consists of two crystallographically independent complex anions, with well-comparable metric parameters. Compounds **1c** and **3c** are *cis*-isomers, in which three chlorido ligands and one NO molecule are bound to ruthenium in equatorial plane, and the axial sites are occupied by an azole heterocycle and fourth chlorido ligand. In *trans*-isomers **1t** and **2t** the equatorial plane is occupied by four chlorides, and the axial positions by NO and the azole heterocycle.

Table 3 quotes some geometrical parameters of the ruthenium coordination sphere in **1c**, **1t**, **2t**, and **3c**. It can be easily seen that Ru–N1, Ru–N3, and N3–O1 bonds in *cis*-isomer **1c** are significantly (6σ) shorter than in *trans*-isomer **1t**. In addition, the deviation from linearity of the Ru–N3–O1 bond is more pronounced in the *trans*-isomer than in *cis*.

The X-ray diffraction structures of complex anions in osmium complexes **6c**, **6t**, and **8c** are shown in Figure 2, and selected geometrical parameters can be seen in Table 4. Compounds **6c** and **8c** crystallized in the monoclinic space group $P2_1/c$, while **6t** crystallized in the monoclinic space group $C2/c$.

Table 4. Selected Bond Distances (Å) and Angles (deg) in **6c**, **6t**, and **8c**

	6c	6t	8c
Os–N1	2.082(3)	2.116(3)	2.082(6)
Os–Cl _{eq} (av)	2.374(13)	2.368(4)	2.377(12)
Os–Cl _{ax}	2.3477(9)		2.388(2)
Os–N3	1.733(4)	1.736(4)	1.745(7)
N3–O1	1.153(4)	1.136(4)	1.155(9)
Os–N3–O1	178.1(3)	176.6(4)	173.7(6)

NMR Spectra of Ruthenium- and Osmium-Nitrosyl Complexes. ¹H and ¹³C NMR spectra of compounds with azolium (**1c**, **1t**, **2c**, **2t**, **3c**, **4c**, and **11c**, **11t**, **12c**, **12t**, **13c**), sodium (**9c**, **9t**, **10c**), and *n*-Bu₄N⁺ (**6c**, **6t**, **7c**, **8c**) as counteranions in DMSO-*d*₆ indicate that they remain intact in solution over several days at room temperature. The spectra show signals due to *n*-Bu₄N⁺ or azolium cations and the coordinated azole heterocycles. The ¹H NMR spectra are well resolved and display identical signal sets for coordinated and metal-free azoles suggesting a diamagnetic {M(NO)}⁶ configuration.

¹H NMR spectra of azolium cations reveal a set of split signals which is typical for a protonated azole heterocycle: two

singlets for the pyrazolium cation in (**2c**, **2t**, **12c**, **12t**) at 6.31 and 7.68 ppm with relative intensities 1:2 (1H_{4'}, 2H_{3,5'}) in accord with C₂ molecular symmetry for this cation; two triplets at 7.11 (1H_{5'}) and 7.34 (1H_{6'}) ppm, two doublets at 7.53 (1H_{7'}) and 7.75 ppm (1H_{4'}), and one singlet at 8.07 ppm (1H_{3'}) for the indazolium cation in **1c**, **1t**, **11c**, **11t**; two multiplets at 7.59 ppm (H_{5,6'}) and 7.86 (H_{4,7'}) and one singlet (H_{2'}) for the benzimidazolium cation in **3c** with relative intensities 2:2:1 in line with its C₂ symmetry; imidazolium proton signals in **4c** and **13c** appear at 7.01 (H_{4,5'}), 9.10 (H_{2'}), and 14.31 (H_{1,3'}) with relative intensities of 2:1:2.

Cis or *trans* configuration of a complex can be easily assigned by the chemical shift of the H₁ signal. The signals for *cis*-isomers are shifted to lower field (around 13 ppm) as compared to those for *trans*-complexes (around 12 ppm). The *cis*/*trans* shift difference for the signal of H₁ can be up to 1.3 ppm. We measured two-dimensional NMR spectra for compounds **1c**, **1t**, **2c**, **3c**, **6c**, **6t**, **7c**, **8c** (¹⁵N,¹H HSQC, ¹³C,¹H HSQC, ¹³C,¹H HMBC, ¹H,¹H NOESY, ¹H,¹H COSY).

Indazole Compounds. The ¹H NMR signals of the coordinated indazole in **1c**, **1t**, **9c**, **9t**, **11c**, and **11t** show almost identical chemical shifts for all signals, except for H₁, the resonance of which appears at 13.28 (**1c**), 13.47 (**9c**), and 13.50 (**11c**) ppm for *cis*-compounds and 12.95 (**1t**), 12.99 (**9t**) and 13.00 (**11t**) ppm, respectively, for *trans*-compounds. These have been identified from ¹⁵N,¹H HSCQ spectra (see Figures S1, S2). Another singlet for H₃ is observed at 8.6 ppm. The multiplicity of the proton resonances of coordinated indazole is the same as for the metal-free indazole. ¹H,¹H COSY spectra indicate H₄–H₅ and H₆–H₇ couplings (see Figures S3, S4). A coupling of H₃ with H₄ can be found in ¹H,¹³C HMBC spectra (see Figures S5, S6). Hence, two doublets are due to H₄ (7.9 ppm) and H₇ (7.7 ppm), and two triplets can be assigned to H₅ (7.2 ppm) and H₆ (7.4 ppm). The ¹³C{¹H} NMR spectra show CH signals for C₇, C₄, C₅, and C₆ at 112, 121, 122, and 129 ppm, correspondingly (see Figures S7, S8). C₃ is detected at 137 ppm, and two signals originating from the quaternary carbons C₈ and C₉ are at 121 and 140 ppm, respectively (see Figures S5, S6). Assignment of signals from indazole coordinated to ruthenium and osmium was performed analogously.

Benzimidazole Compounds. The ¹H NMR spectra of the coordinated benzimidazole in **3c**, **7c**, and **10c** show almost identical chemical shifts for all signals, except for H₁ which is seen at 13.47 (**3c**) and 13.57 ppm (**7c**), respectively (not detected in **10c**), in ¹⁵N,¹H HSCQ spectrum (see Figure S9). Another singlet for H₂ is observed at 8.7 ppm. H₇ can be

identified from a crosspeak with H_1 in $^1H, ^1H$ TOCSY. $^1H, ^1H$ COSY spectrum indicates couplings of two signals from H_4 and H_7 with two overlapping signals of H_5 and H_6 with intensities 1:1:2 (see Figure S10). The $^{13}C\{^1H\}$ NMR spectrum shows CH signals for C_7 , C_4 , $C_{5/6}$, and $C_{5/6}$ at 113, 119, 123, and 124 ppm, correspondingly. C_2 is detected at 147 ppm, and two signals originating from the quaternary carbons C_8 and C_9 are at 132 and 139 ppm (see Figure S11). Assignment of signals from benzimidazole coordinated to ruthenium and osmium was performed analogously.

The spectroscopic (IR, NMR) data, the diamagnetic properties, and X-ray diffraction structures indicate that the monoanionic complexes $[MCl_4(NO)(\text{Hazole})]^-$ can be described as $\{M(NO)\}^6$ systems according to the notation introduced by Feltham and Enemark, where 6 is the sum of the number of electrons in the Ru(Os) d orbitals and the number of electrons in the nitrosyl π^* orbitals.^{2a}

Aqueous Solubility, Resistance to Hydrolysis, and Reactivity toward Ubiquitin and Myoglobin. The aqueous solubility of complexes **1c**, **1t**, **2c**, **2t**, **3c**, and **4c** at 298 K varies between 1.3 mM (**3c**) and 5.4 mM (**4c**), depending on theazole heterocycle identity and the counteranion. The aqueous solution behavior of **1c**, **1t**, **11c**, and **11t** with respect to hydrolysis was studied by optical spectroscopy. The UV-vis

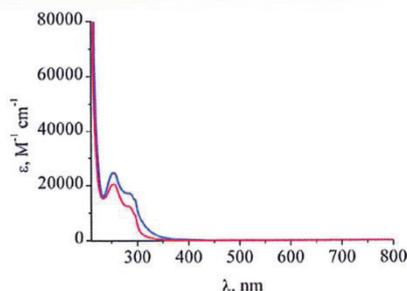


Figure 3. UV-vis spectra of aqueous solutions of $(H_2ind)[cis-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ (**1c**) (red trace) and $(H_2ind)[trans-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ (**1t**) (blue trace).

spectra of isomers **1c** and **1t** are shown in Figure 3, while their 1H NMR spectra are in Figure 4. The complexes remain intact in aqueous solution at 294 K over at least 24 h (Ru) or 72 h (Os) (see Figures S12 and S13). Negative ion ESI-MS studies supported the findings by UV-vis experiments. The detected mass signals correspond to intact $[RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ (m/z

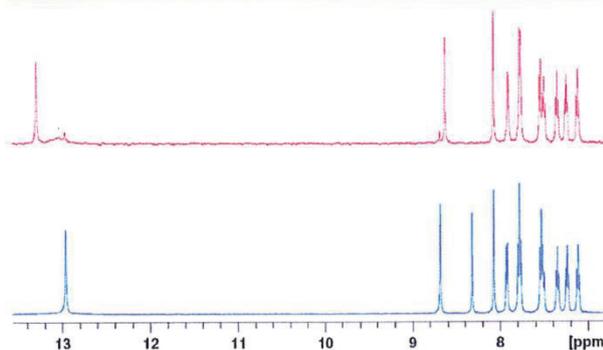


Figure 4. 1H NMR spectra of **1c** (red trace) and **1t** (blue trace).

391) of **1c** and **1t** and intact $[OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (m/z 480) of **11c** and **11t**. The latter was also observed for incubations with $(n-Bu_4N)[cis-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (**5c**) and $(n-Bu_4N)[trans-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (**5t**).

In addition to the parent mass signal corresponding to $[M]^-$, the complexes **1c**, **1t**, **5c**, and **5t** showed other peaks in the mass spectrum, which differ slightly for each metal. The osmium compounds **5c** and **5t** yielded $[M - (Hind)]^-$ (m/z 361.9 ± 0.1 , $m_{theor} = 361.83$, $22 \pm 6\%$), where M is $[cis-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ or $[trans-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$. Fragments corresponding to $[M - (Hind) + H]^-$ (m/z 274.6 ± 0.1 , $m_{theor} = 274.78$, 100%) and $[RuCl_4 + H]^-$ (m/z 245.1 ± 0.1 , $m_{theor} = 244.79$, $25 \pm 5\%$), where M is $[cis-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ or $[trans-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$, were detected in the mass spectra of **1c** and **1t**. The mass signals due to indazole- or NO-loss were detected over the entire incubation period at constant relative intensities (Figure 5). It is therefore assumed that these signals are caused by the spraying process and not by cleavage in solution. Unlike for **5c** and **5t**, the mass signals of $[M - (Hind) + H]^-$ and $[RuCl_4 + H]^-$, where M is $[cis-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ or $[trans-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$, are found at one heavier m/z -value than expected. This indicates the attachment of one proton to the fragments. In order to obtain one negative charge, the metal complex/metal ion must consequently be reduced by one electron. Hence, in the cases of the ruthenium analogues, the loss of indazole and NO in the mass spectrometer seems to be accompanied by a chemical reduction. Such a behavior was not observed for the osmium complexes. Generally, the simulated and experimental isotopic distributions match perfectly.

The unexpected redox behavior of ruthenium complexes prompted the investigation of the reactivity of both ruthenium and osmium complexes in the presence of ascorbic acid, a natural reducing agent present in every cell. Complexes **5c** and **5t** were stable in the presence of 8 equiv ascorbic acid for at least 3 days, as indicated by the presence of peaks attributed to $[M]^-$ (100%) and $[M - (Hind)]^-$ ($17 \pm 6\%$) ions, which were similarly observed when purely aqueous solutions were measured. In contrast, the mass spectra recorded upon the incubation of **1c** and **1t** with 8 equiv ascorbic acid showed complete conversion into one species within 6 h corresponding to $[M - HCl]^-$ (m/z 355.9 ± 0.1 , $m_{theor} = 355.85$). Transient adduct formation with ascorbic acid was observed as indicated by the mass signal at $[M - Cl + Asc + H_2O]^-$ (m/z 549.9, $m_{theor} = 549.89$), Figure 6. Therefore, it seems that the ruthenium analogues can be activated by biological nucleophiles such as ascorbic acid leading to hydrolysis, whereas this feature was not observed for the investigated osmium compounds. The different redox behavior of the ruthenium and osmium complexes potentially provides a reason for the higher antiproliferative activity of ruthenium complexes compared to the osmium analogues.

Since the biological effect of metallodrugs may be associated with their binding to proteins, the reactivity of the four compounds was investigated toward ubiquitin (Ub) and myoglobin (Mb). The reactivity of the complexes in water and even in the presence of 8 equiv ascorbic acid yielded, however, no proof of any selective interaction in contrast to experiments with other metallodrugs.³⁵ The only interaction products stem from nonselective electrostatic interactions of the intact negatively-charged complexes with the positively-charged proteins (Figure S14). This suggests that serum proteins may serve as a carrier for the present metallodrugs.

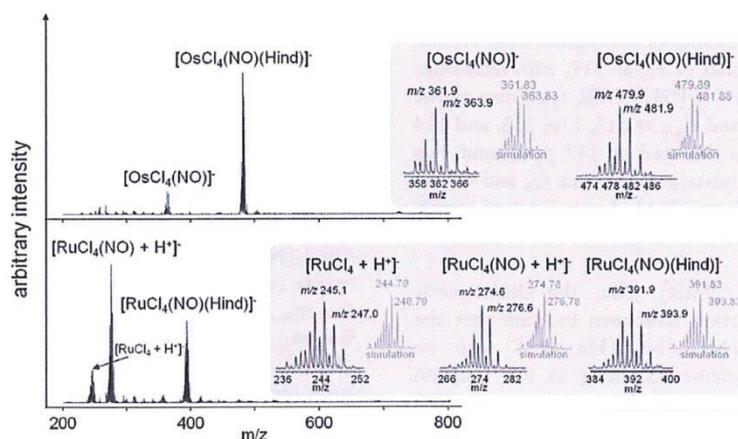


Figure 5. Full mass spectra of **1c** (bottom) and $(\text{Bu}_4\text{N})[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]$ (**St**) (top) in water after 3 days. Cleavage of indazole and NO seems to occur during the spraying process. Additionally, such cleavage may result in a one-electron reduction of the metal center for **1c**. The insets show details of the metal-based mass signals and their respective simulations. All experimental values are given with STD $m/z \pm 0.1$.

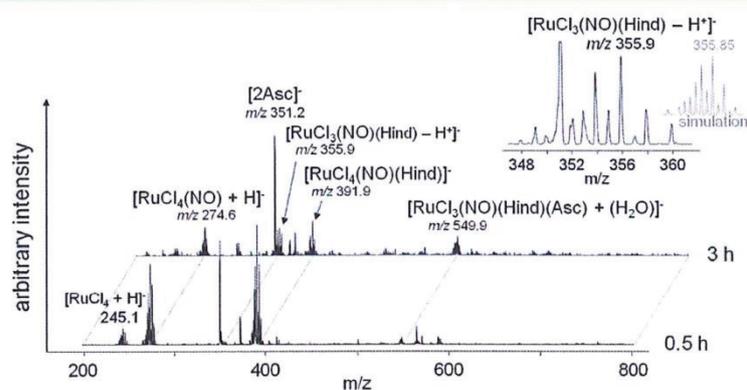


Figure 6. Mass spectra measured upon interaction between **1c** and 8 equiv ascorbic acid in aqueous solution after 0.5 and 3 h. The presence of ascorbic acid seems to lead to hydrolysis of one chlorido ligand *via* transient formation of an ascorbate adduct.

Inhibition of Cancer Cell Growth. Antiproliferative activity of novel *cis*- and *trans*-configured ruthenium- and osmium-based nitrosyl complexes withazole heterocycles was studied in the human cancer cell lines A549, CH1, and SW480. The IC_{50} values of ruthenium/osmium nitrosyl complexes are presented in Table 5. The ruthenium complexes showed similar effects in the generally more chemosensitive ovarian carcinoma cell line CH1 and the colon carcinoma cell line SW480, whereas the nonsmall cell lung cancer cell line A549 proved to be much less sensitive. On the other hand, both SW480 and A549 cells are more or less insensitive to the majority of the osmium complexes.

Overall, ruthenium complexes (**1c**, **1t**, **3c** and **4c**) yielded IC_{50} values in the low micromolar range and turned out to be much more cytotoxic than osmium complexes (**9c**, **9t**, **10c**, **11c**, **11t**, **12c**, **12t**, **13c**), which mostly require concentrations of $>100 \mu\text{M}$ to exert noteworthy effects. In three specific cases, a comparison of analogues differing only in the central metal was possible (**1c** vs **11c**, **1t** vs **11t**, **4c** vs **13c**). Concentration–effect curves of these pairs of analogues are depicted in Figure 7 (for **3c**, **9c**, **9t**, **10c**, **12t**, **13c**, see Figure S15). The strongest difference was observed between *trans*-configured ruthenium complex **1t** (with indazole) and its osmium congener **11t**, with IC_{50} values differing by factors (Os/Ru) of ~ 110 and ~ 410 in CH1 and SW480 cells, respectively. A precise factor in A549

Table 5. Inhibition of Cancer Cell Growth by Compounds **1c**, **1t**, **3c**, **4c** and **9c**, **9t**, **10c**, **11c**, **11t**, **12c**, **12t**, **13c** in Three Human Cancer Cell Lines with 50% Inhibitory Concentrations (Means \pm Standard Deviations), Obtained by the MTT Assay (Exposure Time: 96 h)

compd	IC_{50} , μM		
	A549	CH1	SW480
1c	14 ± 3	2.7 ± 0.6	2.6 ± 0.3
1t	8.0 ± 1.3	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.3
3c	7.6 ± 2.6	0.83 ± 0.17	1.8 ± 0.1
4c	35 ± 13	4.0 ± 1.1	3.7 ± 0.5
9c	>640	111 ± 45	630 ± 71
9t	>640	122 ± 14	362 ± 2
10c	>640	316 ± 57	>640
11c	128 ± 18	48 ± 13	43 ± 6
11t	>640	145 ± 12	450 ± 35
12c	>640	>640	>640
12t	>640	>640	>640
13c	>640	348 ± 112	>640
KP1019	n.d.	44 ± 11^a	79 ± 5^a

^a Taken from ref 8b.

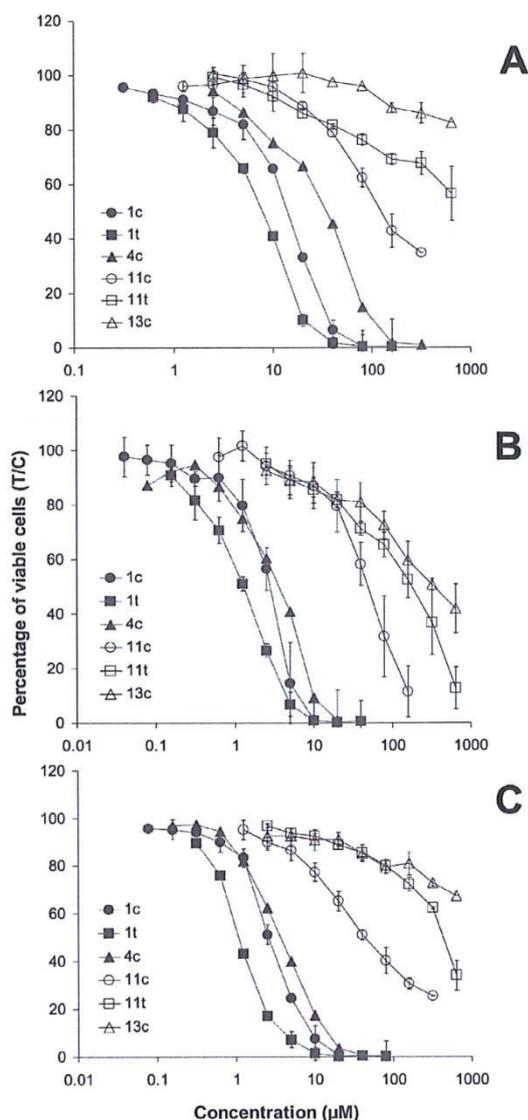


Figure 7. Concentration–effect curves of ruthenium- (**1c**, **1t**, and **4c**; filled symbols) and osmium-based analogues (**11c**, **11t**, and **13c**; unfilled symbols) in A549 (A), CH1 (B), and SW480 (C) cells, based on means \pm standard deviations of at least three independent experiments each.

cells cannot be given because of the inactivity of **11t** in the concentration range tested. Even the smallest differences, those between the corresponding cis isomers **1c** and **11c**, are very pronounced, with factors of 9–18 (depending on the cell line).

The impact of cis/trans isomerism on cytotoxic potency is much smaller than that, and it is different depending on the central metal: The trans-configured ruthenium complex **1t** is about 2 times more potent than its cis analogue **1c**, based upon IC_{50} values. In contrast, the cis-configured osmium complex **11c** (with indazole) is about 3- to 10-fold more potent than its trans isomer **11t**. Alessio et al. have reported IC_{50} values in the range between 20 and 60 μM for the trans analogue of **4c** (with Ru and imidazole), which they prepared as a model compound for potential NO-containing metabolites of NAMI-A (by formal replacement of dmsO with NO), but values should be compared

with caution because of methodological differences. Interestingly, though, the authors obtained discouraging results in a lymphoma model in vivo, but alternatively proposed testing their compound in solid tumors under the aspect that interactions with NO might be involved in the antiangiogenic effects of NAMI-A.^{10b}

The much stronger activity of ruthenium complexes is particularly remarkable, since nearly all previous comparisons of ruthenium and osmium analogues revealed either similar activities of both or higher potency of some osmium analogues.^{36–47} An exception was reported for one out of three pairs of Ru(III) and Os(III) tetrazole complexes,⁴⁸ where the ruthenium species was 30 times more cytotoxic than the osmium complex. However, the difference observed in the present work is much larger. This might be caused by the contrasting hydrolytic behavior of the complexes in the presence of reductants as established by kinetic mass-spectrometric studies. Nitric oxide is a multifunctional molecule involved in a number of physiological and pathological processes. It plays a role in cellular pathways (cGMP pathway, apoptosis, and necrosis), shows activity versus DNA and hemion proteins (soluble guanylate cyclase, cytochrome C oxidase, and myoglobin), and probably can interact with the mitochondrial respiration system and induce oxidative stress.^{49–52} Our results as well as those reported by others indicate that the Ru–NO bond might be more labile⁵³ than the Os–NO bond. Studies on the effect of ruthenium and osmium complexes on the cGMP pathway, along with investigation of their reactivity toward amino acids, are underway in our laboratory, and the results will be reported in due course.

Final Remarks. The synthesis of 18 novel ruthenium and osmium nitrosyl complexes with azole heterocycles gave a unique opportunity to study structure–cytotoxicity relationships of such type of complexes. These include water-soluble compounds with biologically relevant counterions, as well as cis and trans isomers, which have been so far unavailable. Cis- and trans-isomers can be identified by IR and NMR spectroscopy. Cis-complexes are generally characterized by lower $\nu(\text{NO})$ wavenumbers than the trans-species; however, $\Delta\nu$ for isomeric pairs is markedly affected by counterions. The ^{15}N resonance of ^{15}N enriched cis-isomer **1c** is upfield shifted relative to the trans-isomer **1t**, and this is appropriate for isomer identification. The effects of metal (Ru vs Os), cis/trans isomerism, and azole heterocycle identity on cytotoxic potency in the human cancer cell lines A549, CH1, and SW480 have been elucidated. An unprecedented difference in cytotoxicity for chemically related pairs of ruthenium and osmium complexes has been found. The strongest difference was observed between $(\text{H}_2\text{ind})[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]$ (**1t**) and $(\text{H}_2\text{ind})[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]$ (**11t**), with IC_{50} values differing by factors (Os/Ru) of ~ 110 and ~ 450 in CH1 and SW480 cells, respectively. This difference in cytotoxic activity is tentatively ascribed to the tendency of the compounds to be reduced in the biological environment. ESI-MS studies showed that **1c** and **1t** are activated in the presence of ascorbic acid leading to hydrolysis of the M–Cl bond, whereas the osmium-analogues **5c** and **5t** were inert.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

^{15}N , ^1H HSCQ spectra of **1c**, **1t**, and **3c** (Figures S1, S2, S9); ^1H , ^1H COSY spectra of **1c**, **1t**, **3c** (Figures S3, S4, S10); ^1H , ^{13}C HMBC spectra of **1c** and **1t** (Figures S5, S6); ^{13}C , ^1H HMBC

plot of **1c**, **1t**, and **3c** (Figures S7, S8, S11); UV–vis spectra of aqueous solutions of **1c** (left) and **1t** (right) (Figure S12), **11c** (left) and **11t** (right) (Figure S13); ESI MS evidence for nonselective adduct formation between myoglobin and complexes **1c**, **1t** and **5c**, **5t** (Figure S14), concentration–effect curves of complexes **3c**, **9c**, **9t**, **10c**, **12t**, and **13c** in A549 (A), CH1 (B), and SW480 (C) cells (Figure S15). Crystallographic data in CIF format. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: dominique.luneau@univ-lyon1.fr (D.L.); vladimir.arion@univie.ac.at (V.B.A.).

Author Contributions

[†]These coauthors contributed equally.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Alexander Roller for collection of X-ray data sets for **1c**, **1t**, **2c**, **2t**. We are also indebted to the Austrian Science Fund (FWF) and Agence Nationale de Recherche (France) for financial support of the bilateral project I374–N19 and ANR-09-BLAN-0420-01 (VILYGRu), respectively. The PHC Amadeus and OEAD (project no. FR01/2012) are also acknowledged for their support.

REFERENCES

- (1) (a) Griffith, W. P. *Adv. Organomet. Chem.* **1969**, *7*, 211–239. (b) Johnson, B. F. G.; McCleverty, J. A. *Prog. Inorg. Chem.* **1966**, *7*, 277–359. (c) Connelly, N. G. *Inorg. Chim. Acta, Rev.* **1972**, *6*, 47–89. (d) Bottomley, F. *Coord. Chem. Rev.* **1978**, *26*, 7–32.
- (2) (a) Enemark, J. H.; Feltham, R. D. *Coord. Chem. Rev.* **1974**, *13*, 339–406. (b) Swinehart, J. H. *Coord. Chem. Rev.* **1967**, *2*, 385–402. (c) Eisenberg, R.; Meyer, C. D. *Acc. Chem. Res.* **1975**, *8*, 26–34.
- (3) (a) McCleverty, J. A. *Chem. Rev.* **1979**, *7*, 53–76. (b) Wolak, M.; van Eldik, R. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *230*, 263–282. (c) Ford, P. C.; Lorkovic, I. M. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 993–1017. (d) Tfouni, E.; Krieger, M.; McGarvey, B. R.; Franco, D. W. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *236*, 57–69. (e) Videla, M.; Jacinto, J. S.; Baggio, R.; Garland, M. T.; Singh, P.; Kaim, W.; Slep, L. D.; Olabe, J. A. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8608–8617. (f) Bottomley, F.; White, P. S.; Mukaida, M.; Shimura, K.; Kakihana, H. *Dalton Trans.* **1988**, 2965–2969.
- (4) (a) Hughes, M. N. In *The Inorganic Chemistry of Biological Processes*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: New York, 1981. (b) Arikawa, Y.; Asayama, T.; Moriguchi, Y.; Agari, S.; Onishi, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14160–14161.
- (5) McCleverty, J. A. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 403–418.
- (6) Pandey, K. K. *Coord. Chem. Rev.* **1983**, *51*, 69–98.
- (7) (a) Ang, W. H.; Dyson, P. J. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, *20*, 4003–4018. (b) Ang, W. H.; Daldini, E.; Scopelliti, R.; Juillerat-Jeanerret, L.; Dyson, P. J. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 9006–9013. (c) Gossens, C.; Dorcier, A.; Dyson, P. J.; Rothlisberger, U. *Organometallics* **2007**, *26*, 3965–3975. (d) Dyson, P. J.; Sava, G. *Dalton Trans.* **2006**, 1929–1933.
- (8) (a) Büchel, G. E.; Stepanenko, I. N.; Hejl, M.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 10737–10747. (b) Büchel, G. E.; Stepanenko, I. N.; Hejl, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K.; Arion, V. B. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 7690–7697. (c) Filak, L. K.; Göschl, S.; Heffeter, P.; Samper, K. G.; Egger, A. E.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K.; Berger, W.; Arion, V. B. *Organometallics* **2013**, *32*, 903–914.
- (9) (a) Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Kapitza, S.; Reisner, E.; Eichinger, A.; Pongratz, M.; Marian, B.; Graf von Keyserlingk, N.; Keppler, B. K. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **2005**, *12*, 595–596. (b) Hartinger, C. G.; Zorbas-Seifried, S.; Jakupec, M. A.; Kynast, B.; Zorbas, H.; Keppler, B. K. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 891–904. (c) Heffeter, P.; Böck, K.; Atil, B.; Reza Hoda, M. A.; Körner, W.; Bartel, C.; Jungwirth, U.; Keppler, B. K.; Micksche, M.; Berger, W.; Koellensperger, G. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2010**, *15*, 737–748.
- (10) (a) Rademaker-Lakhai, J. M.; van den Bongard, D.; Pluim, D.; Beijnen, J. H.; Schellens, J. H. M. *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 3717–3727. (b) Alessio, E.; Mestroni, G.; Bergamo, B.; Sava, G. *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 1525–1535.
- (11) Berger, M. R.; Garzon, F. T.; Keppler, B. K.; Schmähl, D. *Anticancer Res.* **1989**, *9*, 761–765.
- (12) Serli, B.; Zangrado, E.; Iengo, E.; Mestroni, G.; Yellowlees, L.; Alessio, E. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 4033–4043.
- (13) Serli, B.; Zangrado, E.; Gianferrara, T.; Yellowlees, L.; Alessio, E. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *245*, 73–83.
- (14) Vacca, A.; Bruno, M.; Boccarelli, A.; Coluccia, M.; Ribatti, D.; Bergamo, A.; Garbisa, S.; Sartor, L.; Sava, G. *Br. J. Cancer* **2002**, *86*, 993–998.
- (15) Morbidelli, L.; Donnini, S.; Filippo, S.; Messori, L.; Piccioli, F.; Orioli, P.; Sava, G.; Ziche, M. *Br. J. Cancer* **2003**, *88*, 1484–1491.
- (16) Silverman, R. B. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 439–445.
- (17) de Mel, A.; Murad, F.; Seifalian, A. M. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5742–5767.
- (18) Furchgott, R. F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 1870–1880.
- (19) Garthwaite, J.; Charles, S. L.; Chess-Williams, R. *Nature* **1988**, *336*, 385–388.
- (20) Dawson, T. M.; Snyder, S. H. *J. Neurosci.* **1994**, *14*, 5147–5159.
- (21) Cirino, G.; Distrutti, E.; Wallace, J. L. *Inflammation Allergy: Drug Targets* **2006**, *5*, 115–119.
- (22) Laroux, F. S.; Pavlick, K. P.; Hines, I. N.; Kawachi, S.; Harada, H.; Bharwani, S.; Hoffman, J. M.; Grisham, M. B. *Acta Phys. Scand.* **2001**, *173*, 113–118.
- (23) Blaise, G. A.; Gauvin, D.; Gangal, M.; Authier, S. *Toxicology* **2005**, *208*, 177–192.
- (24) Weigert, A.; Brüne, B. *Nitric Oxide* **2008**, *19*, 95–102.
- (25) Brüne, B.; von Knethen, A.; Sandau, K. B. *Cell Death Differ.* **1999**, *6*, 969–975.
- (26) Bučinský, L.; Büchel, G. E.; Ponec, R.; Rapta, P.; Breza, M.; Kožíšek, J.; Gall, M.; Biskupič, S.; Fronc, M.; Schiessl, K.; Cuzan, O.; Prodius, D.; Turta, C.; Shova, S.; Zajac, D. A.; Arion, V. B. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, DOI: 10.1002/ejic.201201526.
- (27) Bhattacharya, R.; Saha, A. M.; Ghosh, P. N.; Mukherjee, M.; Mukherjee, A. K. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1991**, *3*, 501–510.
- (28) Singh, P.; Sarkar, B.; Sieger, M.; Niemeyer, M.; Fiedler, J.; Zalis, S.; Kaim, W. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 4602–4609.
- (29) Gavriluta, A.; Büchel, G. E.; Freitag, L.; Novitchi, G.; Tommasino, J. B.; Jeanneau, E.; Kuhn, P.-S.; González, L.; Arion, V. B.; Luneau, D. *Inorg. Chem.* **2013**, DOI: 10.1021/ic4004824.
- (30) SAINT-Plus, version 7.06a and APEX2; Bruker-Nonius AXS Inc.: Madison, WI, 2004.
- (31) CrysAlis RED, version 1.171.35.15 (release 03-08-2011 CrysAlis171.NET); Oxford Diffraction Ltd., 2011.
- (32) Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr.* **2008**, *A46*, 112–122.
- (33) Burnett, M. N.; Johnson, G. K. ORTEP-III. Report ORNL-6895; OAK Ridge National Laboratory: Oak Ridge, TN, 1996.
- (34) Davies, J. A.; Hockensmith, C. M.; Kukushkin, V. Yu.; Kukushkin, Yu. N. *Synthetic Coordination Chemistry—Principles and Practice*; World Scientific: Hackensack, NJ, 1995; pp 392–396.
- (35) Meier, S. M.; Hanif, M.; Kandioller, W.; Keppler, B. K.; Hartinger, C. G. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *108*, 91–95.
- (36) Schmid, W. F.; John, R. O.; Mühlgassner, G.; Heffeter, P.; Jakupec, M. A.; Galanski, M.; Berger, W.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6343–6355.
- (37) Schuecker, R.; John, R. O.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *Organometallics* **2008**, *27*, 6587–6595.
- (38) Filak, L. K.; Mühlgassner, G.; Jakupec, M. A.; Heffeter, P.; Berger, W.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2010**, *15*, 903–918.

- (39) Filak, L. K.; Mühlgassner, G.; Bacher, F.; Roller, A.; Galanski, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K.; Arion, V. B. *Organometallics* **2011**, *30*, 273–283.
- (40) Hanif, M.; Nazarov, A. A.; Hartinger, C. G.; Kandioller, W.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Dyson, P. J.; Keppler, B. K. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 7345–7352.
- (41) Mühlgassner, G.; Bartel, C.; Schmid, W. F.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *116*, 180–187.
- (42) Stepanenko, I. N.; Novak, M. S.; Mühlgassner, G.; Roller, A.; Hejl, M.; Arion, V. B.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 11715–11728.
- (43) Cebrián-Losantos, B.; Krokhin, A. A.; Stepanenko, I. N.; Eichinger, R.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 5023–5033.
- (44) Dorcier, A.; Ang, W. H.; Bolaño, S.; Gousalvi, L.; Juillerat-Jeannerat, L.; Laurency, G.; Peruzzini, M.; Phillips, A. D.; Zanobini, F.; Dyson, P. J. *Organometallics* **2006**, *25*, 4090–4096.
- (45) Peacock, A. F. A.; Melchart, M.; Deeth, R. J.; Habtemariam, A.; Parsons, S.; Sadler, P. J. *Chem.—Eur. J.* **2007**, *13*, 2601–2613.
- (46) Peacock, A. F. A.; Habtemariam, A.; Moggach, S. A.; Prescimone, A.; Parsons, S.; Sadler, P. J. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 4049–4059.
- (47) Maksimoska, J.; Williams, D. S.; Atilla-Gokcumen, G. E.; Smalley, K. S. M.; Carroll, P. J.; Webster, R. D.; Filippakopoulos, P.; Knapp, S.; Meggers, E. *Chem.—Eur. J.* **2008**, *14*, 4816–4822.
- (48) Stepanenko, I. N.; Krokhin, A. A.; John, R. O.; Roller, A.; Arion, V. B.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 7338–7347.
- (49) Bonavida, B.; Khineche, S.; Huerta-Yepez, S.; Garbán, H. *Drug Resist. Updates* **2006**, *9*, 157–173.
- (50) Brüne, B.; Knethen, A.; Sandau, K. B. *Eur. J. Pharmacol.* **1998**, *351*, 261–272.
- (51) Heinrich, T. A.; Von Poelhsitz, G.; Reis, R. I.; Castellano, E. E.; Neves, A.; Lanznaster, M.; Machado, S. P.; Batista, A. A.; Costa-Neto, C. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3616–3622.
- (52) Mocellin, S.; Bronte, V.; Nitti, D. *Med. Res. Rev.* **2007**, *27*, 317–352.
- (53) Cleare, M. J. *Platinum Met. Rev.* **1968**, *12*, 131–133.

Mechanism Elucidation of the *cis*–*trans* Isomerization of an Azole Ruthenium–Nitrosyl Complex and Its Osmium Counterpart

Anatolie Gavriluta,^{†,‡} Gabriel E. Büchel,^{†,‡} Leon Freitag,[§] Ghenadie Novitchi,^{*,†,||} Jean Bernard Tommasino,[†] Erwann Jeanneau,[†] Paul-Steffen Kuhn,[‡] Leticia González,^{*,§} Vladimir B. Arion,^{*,‡} and Dominique Luneau^{*,†}

[†]Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces (UMR 5615), Campus de la Doua, 69622 Villeurbanne Cedex, France

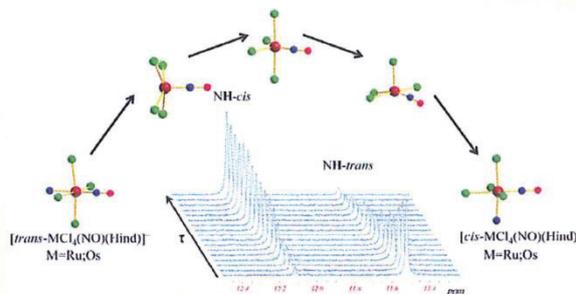
[‡]University of Vienna, Institute of Inorganic Chemistry, Währinger Strasse 42, A-1090 Vienna, Austria

[§]University of Vienna, Institute of Theoretical Chemistry, Währinger Strasse 17, A-1090 Vienna, Austria

^{||}Laboratoire National des Champs Magnétiques Intenses-CNRS, Université Joseph Fourier, 25 Avenue des Martyrs, 38042 Grenoble Cedex 9, France

S Supporting Information

ABSTRACT: Synthesis and X-ray diffraction structures of *cis* and *trans* isomers of ruthenium and osmium metal complexes of general formulas $(n\text{Bu}_4\text{N})[\text{cis-MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]$, where M = Ru (1) and Os (3), and $(n\text{Bu}_4\text{N})[\text{trans-MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]$, where M = Ru (2) and Os (4) and Hind = 1*H*-indazole are reported. Interconversion between *cis* and *trans* isomers at high temperatures (80–130 °C) has been observed and studied by NMR spectroscopy. Kinetic data indicate that isomerizations correspond to reversible first order reactions. The rates of isomerization reactions even at 110 °C are very low with rate constants of 10^{-5} s^{-1} and 10^{-6} s^{-1} for ruthenium and osmium complexes, respectively, and the estimated rate constants of isomerization at room temperature are of ca. 10^{-10} s^{-1} . The activation parameters, which have been obtained from fitting the reaction rates at different temperatures to the Eyring equation for ruthenium [$\Delta H_{\text{cis} \rightarrow \text{trans}}^\ddagger = 122.8 \pm 1.3$; $\Delta H_{\text{trans} \rightarrow \text{cis}}^\ddagger = 138.8 \pm 1.0$ kJ/mol; $\Delta S_{\text{cis} \rightarrow \text{trans}}^\ddagger = -18.7 \pm 3.6$; $\Delta S_{\text{trans} \rightarrow \text{cis}}^\ddagger = 31.8 \pm 2.7$ J/(mol·K)] and osmium [$\Delta H_{\text{cis} \rightarrow \text{trans}}^\ddagger = 200.7 \pm 0.7$; $\Delta H_{\text{trans} \rightarrow \text{cis}}^\ddagger = 168.2 \pm 0.6$ kJ/mol; $\Delta S_{\text{cis} \rightarrow \text{trans}}^\ddagger = 142.7 \pm 8.9$; $\Delta S_{\text{trans} \rightarrow \text{cis}}^\ddagger = 85.9 \pm 3.9$ J/(mol·K)] reflect the inertness of these systems. The entropy of activation for the osmium complexes is highly positive and suggests the dissociative mechanism of isomerization. In the case of ruthenium, the activation entropy for the *cis* to *trans* isomerization is negative [-18.6 J/(mol·K)], while being positive [31.0 J/(mol·K)] for the *trans* to *cis* conversion. The thermodynamic parameters for *cis* to *trans* isomerization of $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, viz. $\Delta H^\circ = 13.5 \pm 1.5$ kJ/mol and $\Delta S^\circ = -5.2 \pm 3.4$ J/(mol·K) indicate the low difference between the energies of *cis* and *trans* isomers. The theoretical calculation has been carried out on isomerization of ruthenium complexes with DFT methods. The dissociative, associative, and intramolecular twist isomerization mechanisms have been considered. The value for the activation energy found for the dissociative mechanism is in good agreement with experimental activation enthalpy. Electrochemical investigation provides further evidence for higher reactivity of ruthenium complexes compared to that of osmium counterparts and shows that intramolecular electron transfer reactions do not affect the isomerization process. A dissociative mechanism of *cis*↔*trans* isomerization has been proposed for both ruthenium and osmium complexes.



INTRODUCTION

Metal–nitrosyl complexes have attracted considerable attention because of their electron-transfer properties,^{1–6} light-induced linkage isomerism,⁷ and catalytic activities in organic synthesis.^{8,9} They are also among the essentials in teaching coordination chemistry. It is the noninnocent nitrosyl molecule (NO) that mainly causes their interesting properties. It is also what makes it often difficult to assign an oxidation number to the metal center, so the electronic structure of the $\{\text{M}(\text{NO})\}$ moiety remains a field of current interest.^{10–15} The relatively strong binding of the nitrosyl ligand to transition metal ions

enables many substitution reactions on the metal centers. Along this, the strong *trans* effect of the nitrosyl ligand plays an important role in the chemical reactivity, electronic structure, and stereochemistry of the initial and final complexes.^{16,17} It follows a great versatility of the complexes. They have long been limited to transition metal ions,^{15,16,18} but have recently crossed the f-element border with the report of an actinide complex.¹⁹

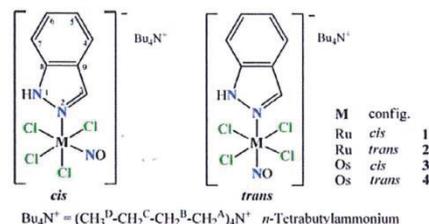
Received: February 28, 2013

Published: May 15, 2013

Metal-nitrosyl complexes are not only interesting for their physical and chemical properties. They have also been increasingly investigated for biomedical applications as suppliers or scavengers of NO^{18,20–22} since being recognized as biologically relevant.²³ In this regard, a very well documented example of a coordination compound containing NO in clinical use is sodium nitroprusside (Na₂[Fe(CN)₅(NO)]), which has been amply studied for its photochemical properties²⁴ and is now the strongest available vasodilator.^{22,25}

Metal–nitrosyl complexes, particularly those of the platinum group, are of interest to us as potential anticancer agents that may kill the cancer cells by releasing a cocktail of NO and metal complex.²⁶ In the field of anticancer metal drugs, it is well-known that the reactivity and biological properties can vary significantly with the isomeric compounds. The classical example of contrasting biological activity is cisplatin, which is the first clinically used metal-based anticancer agent, whereas its *trans* isomer shows no biological activity.^{27,28} Two other platinum(II) complexes in clinical use today, namely *cis*-diamine(cyclobutane-1,1-dicarboxylato-*O,O'*)platinum(II) (carboplatin) and (1*R*,2*R*)-diaminocyclohexane-oxalatoplatinum(II) (oxaliplatin), are also *cis*-configured complexes. It follows that the *cis* geometry was for a long time considered as a prerequisite for anticancer activity,^{29,30} and therefore, the *trans*-configured complexes have attracted little attention of researchers. The situation has changed, however, in recent years after several classes of *trans*-configured complexes have been reported to exhibit higher cytotoxicity than the corresponding *cis* isomers³¹ with some of them exhibiting antitumor activity *in vivo*, with a lack of cross-resistance to cisplatin.³² Cellular accumulation experiments have shown that accumulation in the SW480 cells of *trans*-configured platinum(II) complexes with acetone oxime and 3-pentanone oxime was up to 50 times higher than that of platinum(II) complexes and resulted in pronounced DNA strand cleavage for *trans* complexes, and a lack of DNA degradation for *cis* complexes.³³ All of these examples are concerned with square-planar platinum complexes. In the case of octahedral ruthenium and osmium complexes, the exploration of such structure–activity relationships is hindered by the low number of available compounds, although some rare examples of well-documented isomers have been reported in the literature.^{34–37} In particular, the antiproliferative activity of (H₂trz)[*trans*-RuCl₄(Htrz)₂], where Htrz = 1*H*-1,2,4-triazole, was found higher than that of the corresponding *cis* isomer in human cancer cell lines SW480 (colon carcinoma), HT29 (colon carcinoma), and SK-BR-3 (mammary carcinoma). These examples show the crucial need in the field of antiproliferative complexes, as for any pharmaceuticals, to control the stereochemistry and to know about the interconversion processes in between the isomeric forms. This goes well beyond the scope of metallopharmaceuticals, given that stereochemistry studies are the basis of coordination chemistry.

With this in mind and as a tribute to Alfred Werner Nobel prize celebrations, we report herein on the synthesis, structure, and spectroscopic and electrochemical properties of the *trans* and *cis* isomers of the ruthenium- and osmium-nitrosyl complexes of the general formula (*n*-Bu₄N)[MCl₄(NO)(Hind)] where M = Ru or Os and Hind = 1*H*-indazole (Scheme 1). This is completed by in depth studies of their relative thermodynamic stabilities and of the *trans* ↔ *cis* isomerization mechanism that has been investigated exper-

Scheme 1. Compounds Reported in This Work^a

^aAtom labeling was introduced for assignment of resonances in NMR spectra.

imentally by NMR and theoretically by DFT calculations in a complementary way.

EXPERIMENTAL SECTION

Starting Materials. Na₂[RuCl₅(NO)]·6H₂O was synthesized as previously reported in the literature.³⁸ (H₂ind)₂[RuCl₅(NO)] (Hind = 1*H*-indazole) was prepared by heating the sodium salt with indazole in a 1:2 molar ratio in 6 M HCl. The starting compound (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] was synthesized as previously reported in the literature.³⁹ OsO₄ (99.8%) was purchased from Johnson Matthey. NH₂OH·HCl, K₂C₂O₄·H₂O, and indazole were from Aldrich.

(H₂ind)[*cis*-RuCl₄(NO)(Hind)] and (H₂ind)[*trans*-RuCl₄(NO)(Hind)]. A suspension of (H₂ind)₂[RuCl₅(NO)] (230 mg, 0.36 mmol) in 1-propanol (8 mL) was heated at 75 °C for 6 h. The solvent was removed *in vacuo*, and the residue was extracted with chloroform. Fractionated crystallization afforded pink crystals of the *trans* isomer (first fraction), which was filtered off, washed with diethyl ether, and dried *in vacuo*. Yield: 47 mg, 21%. The second fraction crystallized as a *cis* isomer was filtered off, washed with diethyl ether, and dried *in vacuo*. Yield: 79 mg, 36%. Analytical data for *cis* isomer: Anal. Calcd for C₁₄H₁₃RuCl₄N₃O·0.25 CHCl₃ (M_r = 540.01 g/mol): C, 31.69; H, 2.47; N, 12.96. Found: C, 31.64; H, 2.57; N, 13.28. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 243 [RuCl₄]⁻, 273 [RuCl₄(NO)]⁻, 391 [RuCl₄(NO)(Hind)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 119 (H₂ind)⁺. MIR, ν, cm⁻¹: 614, 649, 840, 925, 965, 999, 1091, 1125, 1150, 1175, 1214, 1237, 1278, 1358, 1379, 1435, 1475, 1513, 1582, 1629 (C=N), 1854 (NO), 2993, 3127 (NH), 3308. UV–vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ε, M⁻¹ cm⁻¹): 258 (21 517), 294 sh (15 948), 373 sh (154), 453 (68), 539 sh (46). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ, ppm: 7.10 (t, 1H₅, J = 7.01 Hz), 7.24 (t, 1H₅, J = 7.21 Hz), 7.34 (t, 1H₆, J = 7.30 Hz), 7.49 (t, 1H₆, J = 7.16 Hz), 7.52 (d, 1H₇, J = 7.45 Hz), 7.77 (d, 2H_{4/7}, J = 9.61 Hz), 7.90 (d, 1H₄, J = 8.15 Hz), 8.06 (s, 1H₃), 8.62 (s, 1H₃), 13.28 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ, ppm: 110.54 (C₇), 111.62 (C₅), 120.64 (C_{4/7}), 120.94 (C_{4/7}), 121.50 (C₄), 121.92 (C₉), 122.33 (C₅), 123.24 (C_{9'}), 126.35 (C_{6'}), 129.07 (C₆), 133.78 (C₃), 137.80 (C₃), 140.10 (C₈), 141.04 (C₈). ¹⁵N NMR (DMSO-*d*₆, 50.68 MHz), δ, ppm: 163.44 (N₁). Suitable crystals for the X-ray diffraction study were grown by slow evaporation of a solution of the *cis* isomer in chloroform. Analytical data for the *trans* isomer: Anal. Calcd for C₁₄H₁₃RuCl₄N₃O·CHCl₃ (M_r = 629.54 g/mol): C, 28.62; H, 2.24; N, 11.12. Found: C, 28.83; H, 2.05; N, 10.97. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 243 [RuCl₄]⁻, 273 [RuCl₄(NO)]⁻, 391 [RuCl₄(NO)(Hind)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 119 (H₂ind)⁺. MIR, ν, cm⁻¹: 588, 615, 657, 731, 739, 861, 899, 962, 999, 1091, 1121, 1148, 1228, 1270, 1298, 1358, 1449, 1471, 1511, 1582, 1635 (C=N), 1891 (NO), 2995, 3158, 3232 (NH), 3317. UV–vis (CH₃CN), λ_{max} nm (ε, M⁻¹ cm⁻¹): 260 (21 883), 283 sh (16 175), 383 sh (99), 504 (36), 597 (19). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500.32 MHz), δ, ppm: 7.10 (t, 1H₅, J = 7.11 Hz), 7.22 (t, 1H₅, J = 7.21 Hz), 7.34 (t, 1H₆, J = 7.23 Hz), 7.51 (t, 1H₆, J = 7.34 Hz), 7.54 (d, 1H₇, J = 7.35 Hz), 7.76 (d, 1H₄, J = 7.76 Hz), 7.79 (d, 1H₇, J = 7.75 Hz), 7.90 (d, 1H₄, J = 8.25 Hz), 8.07 (s, 1H₃), 8.63 (s, 1H₃), 12.95 (s, 1H₁). ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 125.77 MHz), δ, ppm: 110.54 (C₇), 112.13 (C₇), 120.64 (C₅), 120.94 (C₄), 121.01 (C₉), 121.94 (C₄), 122.36 (C₅), 123.23 (C₉), 126.36 (C₆), 129.40 (C₆), 133.78 (C₃), 138.21 (C₃), 140.14 (C₈), 140.33

(C₈). ¹⁵N NMR (DMSO-d₆, 50.68 MHz), δ, ppm: 161.97 (N₁). Suitable crystals for the X-ray diffraction study were grown by slow evaporation of a solution of the *trans* isomer in chloroform.

(Bu₄N)[*cis*-RuCl₄(NO)(Hind)] (1). To a solution of (H₂ind)[*cis*-RuCl₄(NO)(Hind)] (43 mg, 0.08 mmol) in 20 mL of water *n*-Bu₄NCl was added (30 mg, 0.1 mmol). The solution becomes immediately cloudy and product **1** precipitates after several minutes. The pale pink precipitate was filtered off washed with diethyl ether (2 × 10 mL) and dried *in vacuo*. Yield: 33 mg, 61%. Anal. Calcd for C₂₃H₄₂Cl₄N₄ORu (M_r = 633.49 g/mol): C, 43.61; H, 6.68; N, 8.84. Found: C, 43.67; H, 6.50; N, 8.78. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 391 [RuCl₄(NO)(Hind)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 242 Bu₄N⁺. IR, ν, cm⁻¹: 658, 677, 729, 764, 782, 848, 869, 963, 1091, 1114, 1241, 1358, 1381, 1442, 1476, 1508, 1623, 1846 (NO), 2873, 2959, 3250. ¹H NMR (DMSO-d₆, 500.32 MHz), δ, ppm: 0.95 (t, 12H_D, J = 7.2 Hz), 1.32 (sxt, 8H_C, J = 7.2 Hz), 1.57 (qui, 8H_B, J = 7.8 Hz), 3.17 (t, 8H_A, J = 7.7 Hz), 7.23 (t, 1H_S, J = 7.21 Hz), 7.49 (t, 1H₆, J = 7.16 Hz), 7.77 (d, 1H_{4/7}, J = 9.61 Hz), 7.89 (d, 1H₄, J = 8.15 Hz), 8.62 (s, 1H₃), 13.28 (s, 1H₁). Suitable crystals for X-ray diffraction study were grown by slow evaporation of the mother liquor.

(Bu₄N)[*trans*-RuCl₄(NO)(Hind)] (2). To a solution of (H₂ind)-[*trans*-RuCl₄(NO)(Hind)] (40 mg, 0.08 mmol) in 20 mL of water *n*-Bu₄NCl was added (30 mg, 0.1 mmol). The solution becomes immediately cloudy and product **2** precipitates after several minutes. The pale pink precipitate was filtered off washed with diethyl ether (2 × 10 mL) and dried *in vacuo*. Yield: 34 mg, 68%. Anal. Calcd for C₂₃H₄₂Cl₄N₄ORu (M_r = 633.49 g/mol): C, 43.61; H, 6.68; N, 8.84. Found: C, 43.53; H, 6.54; N, 8.74. IR, ν, cm⁻¹: 591, 659, 737, 747, 757, 784, 833, 879, 965, 1002, 1097, 1238, 1282, 1360, 1378, 1459, 1476, 1514, 1629, 1875 (NO), 2872, 2960, 3302. ESI-MS in MeOH (negative): *m/z* 391 [RuCl₄(NO)(Hind)]⁻. ESI-MS in MeOH (positive): *m/z* 242 Bu₄N⁺. ¹H NMR (DMSO-d₆, 500.32 MHz), δ, ppm: 0.95 (t, 12H_D, J = 7.2 Hz), 1.32 (sxt, 8H_C, J = 7.2 Hz), 1.57 (qui, 8H_B, J = 7.8 Hz), 3.17 (t, 8H_A, J = 7.7 Hz), 7.23 (t, 1H_{S/6}, J = 7.2 Hz), 7.51 (t, 1H_{S/6}, J = 3.7 Hz), 7.78 (d, 1H_{4/7}, J = 8.8 Hz), 7.92 (d, 1H_{4/7}, J = 8.3 Hz), 8.68 (s, 1H₃), 12.96 (s, 1H₁). Suitable crystals for X-ray diffraction study were grown by slow evaporation of the mother liquor.

(Bu₄N)[*cis*-OsCl₄(NO)(Hind)] (3) and (Bu₄N)[*trans*-OsCl₄(NO)(Hind)] (4). A mixture of indazole (100 mg, 0.85 mmol) and (*n*-Bu₄N)₂[OsCl₅(NO)] (500 mg, 0.56 mmol) in *n*-butanol (10 mL) was heated at 105 °C for 24 h. The solution was allowed to stand in an open beaker, and after 2 days the red crystals of the *cis* isomer were filtered off, washed with 1:2 water/ethanol (3 × 10 mL) and diethyl ether (3 × 5 mL), and dried *in vacuo*. Yield: 210 mg, 52%. The volume of the filtrate was reduced to one-third, and slow diffusion of diethyl ether afforded the formation of blue crystals of the *trans* isomer. These were filtered off, washed with 1:2 water/ethanol (3 × 3 mL) and diethyl ether (3 × 1 mL), and dried *in vacuo*. Yield: 101 mg, 25%.

Analytical Data for 3. Anal. Calcd for C₂₃H₄₂OsCl₄N₄O (M_r = 722.65 g/mol): C, 38.23; H, 5.86; N, 7.75. Found: C, 38.48; H, 5.66; N, 7.62. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 480 [OsCl₄(NO)(Hind)]⁻. IR, ν, cm⁻¹: 437, 657, 761, 846, 878, 967, 1004, 1091, 1153, 1240, 1279, 1359, 1380, 1476, 1625, 1805 (NO), 2873, 2960, 3258. UV-vis (CH₃CN), λ_{max}, nm (ε, M⁻¹ cm⁻¹): 248 (11 573), 393 (sh, 6178), 511 (921). ¹H NMR (DMSO-d₆, 500.13 MHz), δ, ppm: 0.93 (t, 12H_D, J = 7.3 Hz), 1.31 (sxt, 8H_C, J = 7.3 Hz), 1.57 (qui, 8H_B, J = 7.7 Hz), 3.16 (t, 8H, J = 8.4 Hz), 7.26 (t, 1H, J = 7.5 Hz, H₆), 7.49 (t, 1H, J = 7.6 Hz, H₅), 7.78 (d, 1H, J = 8.1 Hz, H₄), 7.91 (d, 1H, J = 8.2 Hz, H₇), 8.62 (s, 1H, H₃), 13.49 (s, 1H, H₁). ¹³C⁴⁰ NMR (DMSO-d₆, 125.77 MHz), δ, ppm: 13.47 (C_D), 19.18 (C_C), 23.07 (C_B), 57.54 (C_A), 111.11 (C₄), 121.33 (C₇), 121.98 (C₆), 129.12 (C₅), 137.79 (C₃), 140.78 (C_{8,9}). ¹⁵N NMR (DMSO-d₆, 50.69 MHz), δ, ppm: 65.6 (N from Bu₄N⁺), 187.6 (N₂), 194.2 (d, N₁). X-ray diffraction quality single crystals of **3** were picked from the reaction vessel.

Analytical Data for 4. Anal. Calcd for C₂₃H₄₂OsCl₄N₄O (M_r = 722.65 g/mol): C, 38.23; H, 5.86; N, 7.75. Found: C, 38.49; H, 5.74; N, 7.61. ESI-MS in CH₃CN (negative): *m/z* 332 [OsCl₄]⁻, 362 [OsCl₄(NO)]⁻, 480 [OsCl₄(NO)(Hind)]⁻. IR, ν, cm⁻¹: 437, 520, 594, 616, 660, 736, 757, 832, 878, 967, 1005, 1096, 1150, 1238, 1284,

1361, 1378, 1476, 1517, 1630, 1838, 2871, 2960, 3300. UV-vis (CH₃CN), λ_{max}, nm (ε, M⁻¹ cm⁻¹): 254 (9207), 270 (8145), 300 (sh, 3808), 579 (116). ¹H NMR (DMSO-d₆, 500.13 MHz), δ, ppm: 0.93 (t, 12H_D, J = 7.3 Hz), 1.31 (sxt, 8H_C, J = 7.3 Hz), 1.56 (qui, 8H_B, J = 7.2 Hz), 3.16 (t, 8H, J = 8.3 Hz), 7.23 (t, 1H, J = 7.5 Hz, H₆), 7.52 (t, 1H, J = 7.7 Hz, H₅), 7.76 (d, 1H, J = 8.5 Hz, H₄), 7.90 (d, 1H, J = 8.2 Hz, H₇), 8.58 (s, 1H, H₃), 13.00 (s, 1H, H₁). ¹³C⁴⁰ NMR (DMSO-d₆, 125.77 MHz), δ, ppm: 13.47 (C_D), 19.18 (C_C), 23.05 (C_B), 57.53 (C_A), 111.63 (C₄), 120.26 (C₉), 121.56 (C₇), 122.11 (C₆), 129.39 (C₅), 138.30 (C₃), 139.69 (C₈). ¹⁵N NMR (DMSO-d₆, 50.69 MHz) δ, ppm: 65.6 (N from Bu₄N⁺), 185.0 (N₂), 238.7 (N₁). Suitable crystals of **4** for X-ray diffraction analysis were obtained from mother liquor after isolation of **3** by slow diffusion of diethyl ether.

Physical Measurements. Elemental analyses were performed by the Microanalytical Service of the Faculty of Chemistry of the University of Vienna.

MIR spectra of **1** and **2** were obtained by using an ATR unit with a Perkin-Elmer 370 FTIR 2000 instrument (4000–400 cm⁻¹), while ESI mass spectrometry was carried out with a Bruker Esquire 3000 instrument (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) by using methanol as solvent. Expected and measured isotope distributions were compared. The ¹H, ¹³C, and ¹⁵N NMR spectra were recorded at 500.32, 125.82, and 50.70 MHz on a Bruker DPX500 (Ultrasield Magnet) d₆-DMSO (2.50 ppm) or C₂D₂Cl₄ (5.98 ppm). 2D ¹³C¹H HSQC, ¹⁵N¹H HSQC, ¹³C¹H HMBC, and ¹H¹H COSY experiments were performed.

IR spectra of **3** and **4** were recorded in the solid state on a NICOLET spectrophotometer in the 400–4000 cm⁻¹ range, while UV-vis spectra were recorded on a Perkin-Elmer Lambda 35 UV-vis spectrophotometer using samples dissolved in CH₃CN. Mass spectra were recorded on an ion trap mass spectrometer (LCQ Thermo, Bremen, Germany) equipped with an electrospray (ESI) ion source in the positive and negative ion mode. The spray voltage for the positive and negative ion mode is respectively 4 kV and -3 kV. The capillary transfer temperature is 200 °C. For ¹H and ¹³C NMR experiments, all samples were prepared under a N₂ atmosphere in 5 mm NMR tubes. The chemical shifts were referred to TMS using the residual signals from the solvent d₆-DMSO (2.50 ppm) or C₂D₂Cl₄ (5.98 ppm). The 2D NMR spectra were recorded on a Bruker AV500 spectrometer and kinetic ¹H NMR spectra on a Bruker DRX-300 spectrometer.

Electrochemical Measurements. Electrochemical measurements were performed using an AMEL 7050 all-in-one potentiostat, using a standard three-electrode setup with a glassy carbon electrode, a platinum auxiliary electrode, and a SCE (saturated calomel electrode) as the reference electrode. Deaeration of solutions was accomplished by passing a stream of N₂ through the solution for 30 min prior to the measurement and then maintaining a blanket atmosphere of N₂ over the solution during the measurement. The complex solution in CH₃CN was 1 or 2 mM in the supporting electrolyte of 0.1 M (*n*-Bu₄N)PF₆. Under these experimental conditions, the ferrocene/ferrocinium couple, used as an internal reference for potential measurements, was located at E_{1/2}^{ox} = +0.425 V. The cyclic voltammetry of a mixture of **3** and **4** was characterized by two reversible oxidation waves corresponding to each isomer studied separately, whereas no separation oxidation peak was observed with a mixture of **1** and **2**.

Kinetic Analysis. The integrals of NMR signals were obtained by fitting Lorentzian functions to the experimental spectra using the "NMRICMA 3.0"⁴¹ program for MATLAB (see Supporting Information, Figure S1). The adjustable parameters are the resonance frequency, intensity, line width, baseline, and phasing. Data analyses were carried out with the nonlinear least-squares fitting program VISUALIZEUR-OPTIMISEUR⁴² for MATLAB, using the Levenberg-Marquardt algorithm. Irreversible and reversible first-order reaction models were applied to analyze the time evolution of *trans* and *cis* Ru and Os isomer concentrations. The experimental data were fitted according to eqs 1–4 where A₀^{II} and B₀^{II} correspond to initial concentrations of *trans* and *cis* isomers, respectively. The samples were heated in an external constant temperature steam sterilizer at the desired temperature, whose value is assumed to be accurate within

Table 1. Crystal Data, Data Collection Parameters, and Structure Refinement Details for (Bu₄N)[*cis*-MCl₄(NO)(Hind)] (M = Ru (1); Os (3)) and (Bu₄N)[*trans*-MCl₄(NO)(Hind)] (M = Ru (2); Os (4))

compound	1	2	3	4
empirical formula	C ₂₃ H ₄₂ Cl ₄ N ₄ ORu	C ₂₃ H ₄₂ Cl ₄ N ₄ ORu	C ₂₃ H ₄₂ Cl ₄ N ₄ OOS	C ₂₃ H ₄₂ Cl ₄ N ₄ OOS
fw	633.48	633.48	722.61	722.62
space group	P2 ₁ /n	P2 ₁ /c	P2 ₁ /n	P2 ₁ /c
a [Å]	12.4091(4)	10.0975(5)	12.35414(12)	10.0836(7)
b [Å]	52.5720(15)	15.8422(9)	52.4121(4)	15.8530(10)
c [Å]	13.7339(4)	18.9705(10)	13.87637(13)	18.9740(10)
α [deg]				
β [deg]	100.7330(10)	100.759(2)	100.7569(9)	101.298(7)
γ [deg]				
V [Å ³]	8802.9(5)	2981.3(3)	8827.14(14)	2974.3(3)
Z	12	4	12	4
λ [Å]	0.70713	0.71073	1.54184	0.71070
ρ _{calcd} [g cm ⁻³]	1.434	1.411	1.631	1.614
cryst size [mm ³]	0.14 × 0.14 × 0.10	0.15 × 0.02 × 0.02	0.27 × 0.17 × 0.14	0.57 × 0.29 × 0.15
T [K]	150(2)	150(2)	100(2)	100(2)
μ [mm ⁻¹]	0.921	0.906	11.698	4.668
R ₁ ^a	0.0715	0.0310	0.0316	0.0304
wR ₂ ^b	0.1288	0.0641	0.0860	0.0697
GOF ^c	1.064	1.025	1.042	1.033

^aR₁ = $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. ^bwR₂ = $\{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$. ^cGOF = $\{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)\}^{1/2}$, where *n* is the number of reflections and *p* is the total number of parameters refined.

Table 2. Selected Bond Lengths (Å) and Angles (deg) (experimental and calculated) for Compounds *cis*-(Bu₄N)[MCl₄(NO)(Hind)] (M = Ru (1), Os (3)) and *trans*-(Bu₄N)[MCl₄(NO)(Hind)] (M = Ru (2), Os (4))

bond	X-ray				B3LYP/6-31G*			
	1 ^a	2	3 ^a	4	1	2	3	4
M–N1	2.092(4)	2.104(2)	2.080(4)	2.114(3)	2.151	2.204	2.161	2.182
M–Cl _{eq} (av)	2.350(19)	2.360(3)	2.373(9)	2.368(3)	2.469	2.451	2.406	2.438
M–Cl _{ax}	2.3675(13)		2.3728(11)		2.405		2.390	
M–N3	1.784(5)	1.717(2)	1.8220(9)	1.763(3)	1.747	1.735	1.732	1.715
N3–O1	1.041(6)	1.144(3)	1.1346(12)	1.133(4)	1.171	1.167	1.161	1.157
M–N3–O1	176.1(5)	178.2(2)	176.4(4)	178.0(4)	178.7	179.7	179.5	179.8

^aQuoted parameters refer to crystallographically independent complex anions not affected by the disorder.

±0.5 K. The temperature was monitored by a thermometer situated near the NMR sample tubes. NMR spectra of the investigated samples were measured at room temperature (20 °C) after rapid sample cooling using a water bath. Due to extremely low isomerization process rates in these systems, the time during NMR measurements is neglected. The time used in kinetic analysis (τ) corresponds to the heating time at indicated temperatures.

Crystallographic Structure Determination. X-ray diffraction measurements for ruthenium complexes **1** and **2** were performed on a Bruker X8 APEXII CCD diffractometer at 150 K with Mo *K*α monochromated radiation. Diffraction data for osmium complexes **3** and **4** were collected on Gemini R and Gemini A Ultra diffractometers from Agilent Technologies Ltd. at 100 K with Cu *K*α and Mo *K*α graphite-monochromated radiation, respectively, both equipped with a CCD camera and controlled by the CrysAlisPro Software (Agilent Technologies, versions 1.171.33.55 and 1.171.34.49). The data on ruthenium complexes were processed using SAINT software,⁴³ and those on osmium complexes with the CrysAlisPro package.⁴⁴ For all crystals, an analytical absorption correction was applied using the modeled faces of the crystal.⁴⁵ Crystal data, data collection parameters, and structure refinement details are given in Table 1. The structures were solved by direct methods and refined by full-matrix least-squares techniques. All non-hydrogen atoms in **1**, **2**, and **4** were refined with anisotropic displacement parameters, while the non-hydrogen atoms of indazole in **3** (vide infra) were refined isotropically. H atoms were inserted in calculated positions and refined with a riding model. The nitrosyl ligand in **1** and **3** was found to be disordered over three

positions in the equatorial plane of the metal. One of three crystallographically independent complex anions in **1** and two of three in **3** were found to be affected by this disorder. In addition, the indazole ligand in one crystallographically independent anion of **3** was found to be disordered over two positions with a s.o.f. of 0.5:0.5. The disorder was solved by using SADI, DFIX, and EADP instructions implemented in SHELXL. The following software programs and computer were used: structure solution, SHELXS-97; refinement, SHELXL-97;⁴⁶ molecular diagrams, ORTEP-3;⁴⁷ computer, Intel CoreDuo. Selected bond distances and angles for **1**–**4** are listed in Table 2.

Computational Details. The equilibrium geometries of the compounds **1**–**4** have been optimized in the gas phase combining the functional B3LYP^{48,49} and the 6-31G* basis set for the light atoms. For ruthenium complexes **1** and **2** and osmium compounds **3** and **4**, the Stuttgart–Dresden 28-electron quasi-relativistic effective core potential (MWB28)⁵⁰ and the analogous 60-electron pseudopotential (MWB60),⁵⁰ respectively, have been used to account for the scalar relativistic effects. The possible transition state structures for the *cis*↔*trans* isomerization reaction of the Ru complexes were calculated at the same level of theory. In all the calculations, only the anions of all compounds have been considered, i.e., without any counterions. To verify the nature of the minima and the transition states, as well as to analyze the NO stretching frequency, harmonic vibrational frequency calculations have been carried out. Following the work of Scott and Radom,⁵¹ the calculated harmonic vibrational frequencies were refined with a scaling factor of 0.9614 to account for the anharmonicity.

The mechanistic study of the $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ *cis*↔*trans* isomerization requires high accuracy of the relative energies of the species. Therefore, additional single-point calculations on the optimized structures have been carried out on all Ru species using the double-hybrid B2GP-PLYP⁵² functional and the 6-311G* basis set and MWB28 pseudopotential. The B2GP-PLYP functional has been used previously for accurate calculations of thermochemical data of late transition metal reactions.⁵³ These single point calculations have been carried out both in the gas phase and incorporating solvent effects in DMSO using the integral equation formalism (IEF)^{54,55} of the polarizable continuum model (PCM).^{56–58} To estimate the overall effect of the solvent on the relative energies and geometries of the species, two additional calculations have been carried out: (i) a B3LYP/6-311G* single-point calculation using the PCM on the B3LYP/6-31G* gas-phase optimized geometries (labeled as PCM-B3LYP/6-311G*/B3LYP/6-31G*) and (ii) a PCM-B3LYP/6-31G* optimization (on compounds 1 and 2 and one transition state for the dissociative mechanism). The PCM-B3LYP/6-31G* geometries showed negligible differences from the gas-phase B3LYP/6-31G* ones, and relative PCM-B3LYP/6-31G* energies deviated by less than 3 kJ/mol from the values calculated at the PCM-B3LYP/6-311G*/B3LYP/6-31G* level of theory. Therefore, gas-phase B3LYP/6-31G* geometries have been used for all subsequent calculations in the whole study. All calculations have been carried out with the Gaussian 09 program package.⁵⁹

RESULTS AND DISCUSSION

Syntheses. Anderson rearrangement reaction of $(\text{H}_2\text{ind})_2[\text{RuCl}_5(\text{NO})]$ in alcohols at elevated temperatures yielded $(\text{H}_2\text{ind})[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ and $(\text{H}_2\text{ind})[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, which were separated by fractionated crystallization. A metathesis reaction with a small excess of $(n\text{-Bu}_4\text{N})\text{Cl}$ afforded complexes 1 and 2, respectively.

The isomeric osmium–nitrosyl complexes 3 and 4 were obtained by reaction of $(n\text{-Bu}_4\text{N})_2[\text{OsCl}_5(\text{NO})]$ with 1*H*-indazole in a 1:1.5 molar ratio in *n*-butanol at 105 °C for 24 h with an overall yield between 75 and 80%. Fractionated crystallization of the reaction mixture afforded 2/3 of the red *cis* isomer 3, and then by slow diffusion of diethyl ether into the concentrated filtrate, 1/3 of blue crystals of the *trans*-isomer 4 were afforded.

The reactivity of pentahalogenonitrosyl metalate $[\text{MX}_5(\text{NO})]^{2-}$ ($\text{M} = \text{Ru}, \text{Os}$; $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) increases in the order $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ and $\text{Os} < \text{Ru}$, and the ligand substitution should be favored in the *trans* position to the NO group due to the well-known *trans* effect.¹⁷ However, in our case, the main compounds isolated were the *cis* isomers 1 and 3. The lower yield of *trans* isomers 2 and 4 suggests that they are transient species, transforming into the *cis* forms under reaction conditions (*n*-propanol at 75 °C for ruthenium, *n*-butanol at 105 °C for osmium). This prompted us to study the *trans/cis* conversion by ¹H NMR in detail.

The peak with m/z 391 in the negative ion mode ESI mass spectra of 1 and 3 was assigned to $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, while signals at m/z 480, 362, and 332 for 2 and 4 were attributed to $[\text{OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, $[\text{OsCl}_4(\text{NO})]^-$, and $[\text{OsCl}_4]^-$, respectively. All compounds possess an $S = 0$ ground state as confirmed by magnetic measurements and NMR spectra. In IR spectroscopy, *cis* isomers are characterized by lower $\nu(\text{NO})$ wavenumbers than the *trans* species. In particular, the $\nu(\text{NO})$ for 1 and 3 is seen at 1846 and 1805 cm^{-1} , while that of 2 and 4 are at 1875 and 1838 cm^{-1} , respectively.

Crystal Structures. The crystal structures of 1–4 contain essentially octahedral Ru and Os complexes of the general formula $(n\text{-Bu}_4\text{N})[\text{MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ ($\text{M} = \text{Ru}$ or Os ; $\text{Hind} =$

1*H*-indazole; Figure 1). Complexes 1 and 3 crystallized in the monoclinic space group $P2_1/n$, while 2 and 4 crystallized in the

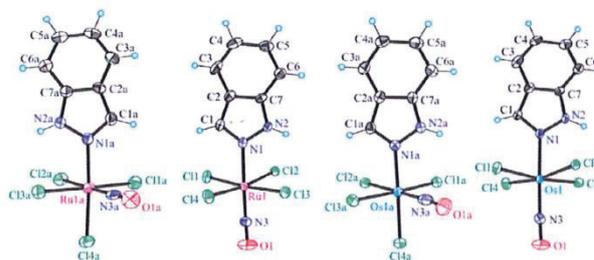


Figure 1. ORTEP views of the $[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, $[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, $\text{cis-}[\text{OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, and $\text{trans-}[\text{OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ complex anions in 1–4 (from left to right). Thermal ellipsoids are drawn at the 50% probability level.

monoclinic space group $P2_1/c$. Compounds 1 and 3 are *cis* isomers, in which three chlorido ligands and one NO molecule are bound to ruthenium (1) or osmium (3) in the equatorial plane, and the axial sites are occupied by an indazole heterocycle and a fourth chlorido ligand. In *trans* isomers 2 and 4, the equatorial plane is occupied by four chlorides and the axial positions by NO and the indazole heterocycle. Crystal data and structure refinement parameters for 1–4 are shown in Table 1.

Selected bond lengths and angles of the compounds 1–4, as obtained from the crystal structures and theoretical calculations, are shown in Table 2. All complexes show a distorted octahedral coordination geometry around the metal center and a linear NO binding. In the *cis* compounds, NO lies in one plane with the equatorial Cl^- ligands, while in the *trans* compounds the Cl^- ligands are slightly bent out-of-plane toward the indazole ligand. In the calculated structures, we observe slightly longer (by ca. 0.1 Å) M–Cl bonds and a slightly more linear NO coordination compared to the crystal structures (Table 2). Otherwise, the optimized geometries are in good agreement with the X-ray structures.

Kinetic Study by NMR Spectroscopy. It is well-known that isomerization processes^{60–76} as well as exchange/substitution reactions^{77–80} at the metal center in platinum group (Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt) metal complexes are much slower in comparison with those for 3d and 4f metal complexes.^{81,82} Platinum group metal complexes are kinetically very inert and thermodynamically more stable. In addition, they have low isomerization rate constants. The two ruthenium isomers 1 and 2 and two related osmium isomers 3 and 4 presented in this work are in accord with these general rules. High resolution NMR spectroscopy is an appropriate technique to characterize isomers in solution and to monitor their mutual transformations.

The assignment of NMR signals of the coordinated 1*H*-indazole has been performed based on 2D NMR spectroscopy (see Supporting Information, Figures S2–S4) and was correlated with the spectra of the noncoordinated 1*H*-indazole.⁸³ A marked difference in the chemical shifts of NH and CH protons of the coordinated 1*H*-indazole ligand in *cis* and *trans* isomers (Figure 2) allows for the determination of population rates and an investigation of the kinetics of isomerization.

A typical series of time-dependent ¹H NMR spectra upon isomerization of $[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ to $[\text{cis-}$

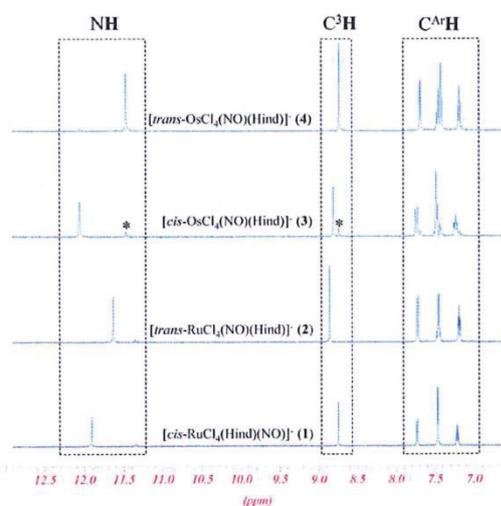


Figure 2. Selected region of ^1H NMR (500 MHz; 25 $^\circ\text{C}$) spectra of $(n\text{-Bu}_4\text{N})[\text{cis-MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ ($M = \text{Ru}$ (1), Os (3)) and $(n\text{-Bu}_4\text{N})[\text{trans-MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ ($M = \text{Ru}$ (2), Os (4)) in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$.

$\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})^-$ ($[\text{t-c}]$) and $[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ to $[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ ($[\text{c-t}]$) is shown in Figure 3, while

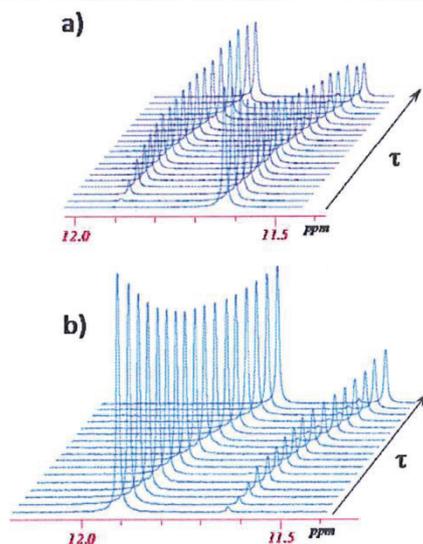


Figure 3. Evolution of ^1H NMR spectra (500 MHz) in the NH region of the $[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (a) and $[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (b) isomers as a function of time ($\tau = [0-3] \times 10^5$ s) at 100 $^\circ\text{C}$ in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ ($C_{0(\text{trans})} = 14.5$ mmol/L; $C_{0(\text{cis})} = 13.7$ mmol/L) showing the formation of the *cis* and *trans* isomers, respectively.

that of $[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ conversion into $[\text{cis-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ and vice versa is displayed in Figure 4. From Figures 3a and 4, a progressive decrease of the NH signal intensity with time, corresponding to the *trans* isomer, and an increase of the signal corresponding to the *cis* isomer is seen. After 72 h of heating at 100 $^\circ\text{C}$, $[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ is partially converted into $[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, and the *trans-cis* equilibrium is reached. Similarly, starting from the $[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ isomer, the same equilibrium ratio between the *cis* and *trans* isomers is reached after 72 h of heating the solution at 100 $^\circ\text{C}$. These time-dependent NMR

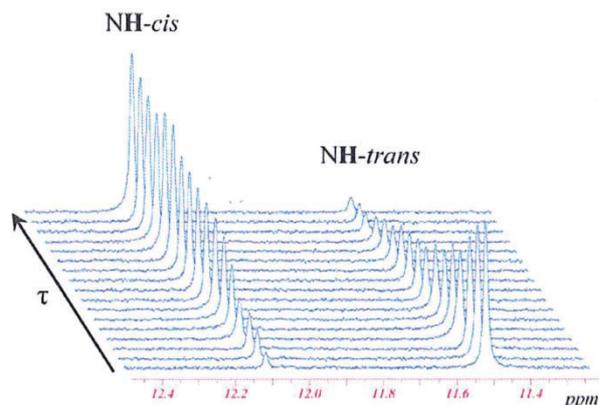


Figure 4. Evolution of ^1H NMR spectra (300 MHz) of the $[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ isomer in the NH region as a function of time ($\tau = [0-3] \times 10^5$ s) at 120 $^\circ\text{C}$ in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ ($C_0 = 15.26$ mmol/L) showing the formation of the *cis* isomer (for complete aromatic region spectrum, see Supporting Information Figure S5).

spectra and the same equilibrium ratios between *cis* and *trans* isomers indicate the reversibility of the isomerization process.

The *trans* to *cis* conversion is also detected in the case of the $[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ anion. However, the isomerization occurs slower and can be efficiently monitored only upon heating at temperatures higher than 100 $^\circ\text{C}$. As can be seen from Figure 4, heating at 120 $^\circ\text{C}$ for 96 h leads to an almost complete conversion of the *trans* isomer into the *cis* one. According to the kinetic analysis (see below), the conversion of the *cis* isomer into the *trans* isomer in the case of osmium complexes also takes place, but only *trans* to *cis* transformation was experimentally investigated because of the very low conversion rate of *cis* species into *trans*.

Plots of population evolution of *cis* and *trans* isomeric species of ruthenium and osmium complexes versus heating times at different temperatures are shown in Figures 5, 6, and S6–S9.

For the estimation of population rates upon isomerization, the NH and C^3H signals of coordinated 1*H*-indazole in *cis* and

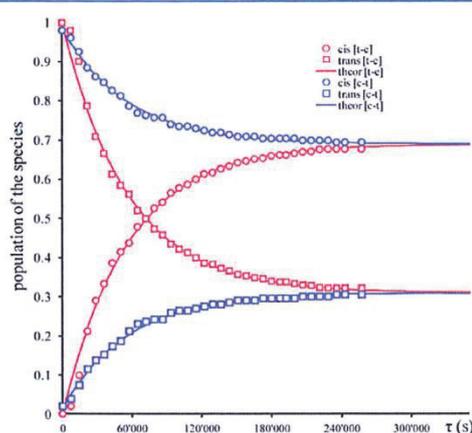


Figure 5. Time evolution of populations for $[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (○) and $[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (□) isomers at 100 $^\circ\text{C}$ in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ for *cis* to *trans* [c-t] (blue) and *trans* to *cis* [t-c] (red) isomerization processes. The solid lines are the best fits with activation parameters indicated in the text (for fitted plots at 90, 105, and 110 $^\circ\text{C}$, see Supporting Information Figures S6 and S7).

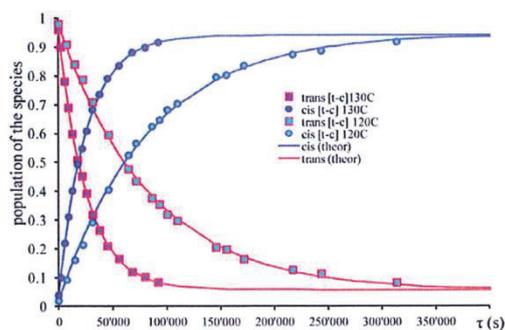


Figure 6. Time evolution of populations for $[cis-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (O) and $[trans-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (□) isomers at 120 and 130 °C in $C_2D_2Cl_4$ for *trans* to *cis* [t-c] isomerization processes. The solid lines are the best fits with activation parameters indicated in the text (see also Figure S8 in the Supporting Information).

trans complexes from NMR spectra were used. Analogously to other isomerization processes,^{73,74,84–86} the reversible first order kinetics are assumed for ruthenium and osmium complexes (see eqs 1 and 2).



$$-\frac{dA_\tau^T}{d\tau} = \frac{dB_\tau^T}{d\tau} = k_1 A_\tau^T - k_{-1} B_\tau^T \quad (2)$$

In eqs 1 and 2, A is *trans* and B is *cis* isomer. Concentration evolution of *trans* (A_τ^T) and *cis* (B_τ^T) isomers as functions of time (τ) at different temperatures (T) were analyzed (by nonlinear least-squares fits) according to a reversible first order model via the eqs 3 and 4:^{87,88}

$$\left[\frac{A_\tau^T}{A_\tau^T + B_\tau^T} \right] = \left[\frac{A_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{1}{k_1 + k_{-1}} \right) (k_{-1} + k_1 e^{-(k_1+k_{-1})\tau}) \right\} + \left[\frac{B_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{k_{-1}}{k_1 + k_{-1}} \right) (1 - e^{-(k_1+k_{-1})\tau}) \right\} \quad (3)$$

$$\left[\frac{B_\tau^T}{A_\tau^T + B_\tau^T} \right] = \left[\frac{B_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{1}{k_1 + k_{-1}} \right) (k_1 + k_{-1} e^{-(k_1+k_{-1})\tau}) \right\} + \left[\frac{A_0^T}{A_0^T + B_0^T} \right] \left\{ \left(\frac{k_1}{k_1 + k_{-1}} \right) (1 - e^{-(k_1+k_{-1})\tau}) \right\} \quad (4)$$

Appropriate temperature values 80–110 °C for 1 and 2 and 105–130 °C for 3 and 4 were used in this analysis. The best fits of experimental data were obtained by using eqs 3 and 4 (Table 3). Initially, the conversion of $[trans-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ into $[cis-OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ was analyzed as a first order irreversible process. The deviation of experimental data from the theoretical ones at high temperatures (120 and 130 °C) at longer time intervals (see Figure S9) suggested applying the reversible first order isomerization law. The activation parameters (ΔH^\ddagger and ΔS^\ddagger) have been estimated using two methods (Table 4). In the first one (method I), the corresponding values of k_1 and k_{-1} at different temperatures have been obtained after fitting the experimental population rates with those calculated via eqs 3 and 4 and analysis by the logarithmic Eyring eq 5:

$$\ln \frac{k}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \times \frac{1}{T} + \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad (5)$$

In the second method (method II), the experimental population ratios at different temperatures were fitted simultaneously by using the reversible first order model (eqs 4 and 5) with constraining eq 5. In this case, two enthalpies of activation ($\Delta H_{cis \rightarrow trans}^\ddagger$ and $\Delta H_{trans \rightarrow cis}^\ddagger$) and two entropies of activation ($\Delta S_{cis \rightarrow trans}^\ddagger$ and $\Delta S_{trans \rightarrow cis}^\ddagger$) were used as variable parameters (Table 4). The results obtained from both methods are similar. The second method was not applied in the case of osmium complexes because of the absence of experimental data for *cis* to *trans* transformation.

The best fit for activation parameters (ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger) and calculated Gibbs energy (ΔG^\ddagger) for the isomerization reactions of $[cis-MCl_4(NO)(Hind)]^-$ (M = Ru (1), Os (3)) and $[trans-MCl_4(NO)(Hind)]^-$ (M = Ru (2), Os (4)) in $C_2D_2Cl_4$ are quoted in Table 4 (see also Figure 7). The obtained enthalpies of isomerization is approximately two times as high as that

Table 3. Rate Constants k (s^{-1}) with Standard Deviations in Parentheses and Equilibrium Constant K at Different Temperatures for the Isomerization Reactions of $[cis-MCl_4(NO)(Hind)]^-$ (M = Ru (1), Os (3)) and $[trans-MCl_4(NO)(Hind)]^-$ (M = Ru (2), Os (4)) in $C_2D_2Cl_4$

process	$k(80\text{ }^\circ\text{C}) \times 10^{-6}$	$k(90\text{ }^\circ\text{C}) \times 10^{-6}$	$k(100\text{ }^\circ\text{C}) \times 10^{-6}$	$k(105\text{ }^\circ\text{C}) \times 10^{-6}$	$k(110\text{ }^\circ\text{C}) \times 10^{-6}$	$k(120\text{ }^\circ\text{C}) \times 10^{-6}$	$k(130\text{ }^\circ\text{C}) \times 10^{-6}$
$[cis-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ (1) <i>cis</i> \rightarrow <i>trans</i>	0.58(8)	1.78(2)	5.51(6)	8.3(1)	20.1(7)		
$[trans-RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ (2) <i>trans</i> \rightarrow <i>cis</i>	1.05(6)	2.66(3)	12.2(1)	19.5(2)	50.1(5)		
$[RuCl_4(NO)(Hind)]^-$ $K = (k_{-1}/k_{1-c})$	0.55	0.57	0.45	0.42	0.40		
$cis-[OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (3) <i>cis</i> \rightarrow <i>trans</i> ^a				0.04(1)	0.08(1)	0.6(1)	2.3(2)
$trans-[OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (4) <i>trans</i> \rightarrow <i>cis</i>				1.26(1)	2.68(2)	11.4(1)	36.6(7)
$[OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ $K = (k_{-1}/k_{1-c})$				0.03	0.03	0.05	0.06

^aThe kinetic parameters were obtained from reversible first order law analysis of *trans* to *cis* conversion data of $trans-[OsCl_4(NO)(Hind)]^-$ (4).

Table 4. Activation Parameters (ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger , ΔG^\ddagger) for the isomerization of $[\text{cis-MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ ($M = \text{Ru}$ (1), Os (3)) and $[\text{trans-MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ ($M = \text{Ru}$ (2), Os (4)) in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ ^a

compound	process	ΔH^\ddagger (kJ/mol)		ΔS^\ddagger (J/(mol·K))		$\Delta G^\ddagger(25^\circ\text{C})$ (kJ/mol)	$\Delta G^\ddagger(110^\circ\text{C})$ (kJ/mol)
		method I	method II	method I	method II	method I	method I
$[\text{cis-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (1)	$\text{cis} \rightarrow \text{trans}$	124.1 ± 0.3	122.8 ± 1.3	-14.9 ± 0.7	-18.7 ± 3.6	128.5	129.8
$[\text{trans-RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (2)	$\text{trans} \rightarrow \text{cis}$	143.7 ± 0.5	138.8 ± 1.0	28.5 ± 1.4	31.0 ± 2.7	135.2	132.8
$[\text{cis-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (3)	$\text{cis} \rightarrow \text{trans}$ ^b	200.7 ± 0.7		142.7 ± 8.9		161.7	146.0
$[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (4)	$\text{trans} \rightarrow \text{cis}$	168.2 ± 0.6		85.4 ± 3.9		144.9	135.5

^aEstimation from method I by fitting k_1 and k_{-1} by Eyring equation (eq 5) and by method II, simultaneously fitting the all population ratios at different temperatures via eqs 3 and 4 with constraining eq 5. ^bThe kinetic parameters were obtained from reversible first order law analysis of trans to cis conversion data of 4.

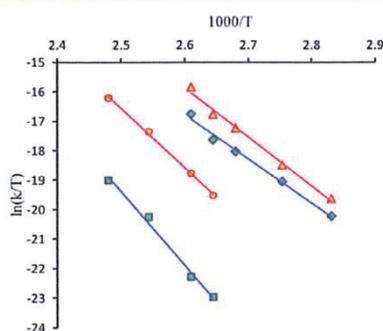


Figure 7. Eyring plots for the isomerization reactions of $[\text{MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ trans to cis (in red) ($M = \text{Ru}$ (2) (Δ), Os (4) (\circ)) and cis to trans (in blue) ($M = \text{Ru}$ (1) (\diamond), Os (3) (\square)) in $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$. The solid lines are the best fits with activation parameters quoted in Table 4.

reported for trans to cis isomerization of $[\text{Os}(\text{tpy})\text{Cl}_2(\text{N})]^+$, where tpy = terpyridine ($\Delta H^\ddagger = 78 \pm 8$ kJ/mol $\Delta S^\ddagger = 79 \pm 10$ J/mol·K),⁸⁴ while the entropy factors are similar.⁸⁴

The equilibrium constants at different temperatures were obtained as a ratio between the rate constant for $\text{trans} \rightarrow \text{cis}$ and $\text{cis} \rightarrow \text{trans}$ isomerizations (Table 3). The equilibrium constants (K_i) for isomerization of $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ are not changing much with temperature and vary slightly between 0.57 and 0.40, indicating the low thermodynamic differences between cis and trans isomers.

The thermodynamic parameters ($\Delta H^\circ = 13.5 \pm 1.5$ kJ/mol; $\Delta S^\circ = -5.2 \pm 3.4$ J/(mol·K)) for $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ isomerization have been obtained by fitting the experimental data with eq 6 (see van't Hoff plot in Figure S10 of Supporting Information):

$$\ln K = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (6)$$

The enthalpy of isomerization reaction obtained from van't Hoff plot is close to value obtained from difference between two enthalpy of activation ($\Delta H^\circ = \Delta H^\ddagger_{\text{trans} \rightarrow \text{cis}} - \Delta H^\ddagger_{\text{cis} \rightarrow \text{trans}}$) $\Delta H^\circ = 16$ kJ/mol (method I) and 19.6 kJ/mol (method II). For osmium complexes, the equilibrium constants have low values (0.03–0.06) and suggest the dominant stability of the cis isomer. This result is in accordance with the evolution of NMR spectra for $[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (Figure 4), which was almost completely transformed into the cis isomer upon heating.

Note that the isomerization also occurs in DMSO-d_6 (see Figure S11). However, the isomerization in DMSO is accompanied by the ligand substitution process ($\text{DMSO}/\text{indazole}$). Detailed investigation of isomerization in different

solvents and of exchange/substitution reactions will be part of a separate work.

Electrochemistry. The cyclic voltammograms of ruthenium and osmium complexes 1–4 in CH_3CN containing 0.10 M TBAPF₆ as the supporting electrolyte using a glassy carbon working electrode and a saturated calomel electrode (SCE) as a reference electrode are shown in Figures S12 and 8,

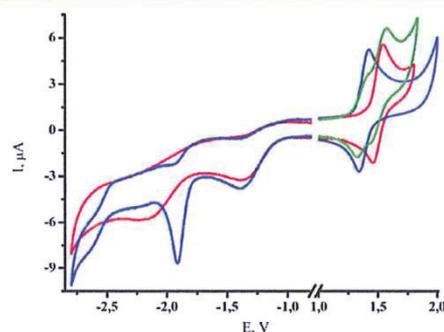


Figure 8. Cyclic voltammetry of $[\text{cis-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (red), $[\text{trans-OsCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ (blue), and their mixture (green) at 100 mV/s on GC electrode (3 mm) in 0.1 M TBAPF₆ in CH_3CN (see also Figure S17).

respectively. The redox processes occur exclusively on the complex anions $[\text{MCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, where $M = \text{Ru}$ or Os . The cyclic voltammograms of 1 and 2 showed a large irreversible reduction wave at -1.0 V and an irreversible oxidation wave at 1.77 V vs SCE (Figure S12). The multiscan cyclic voltammetry on the oxidation peak at 0.1 V/s is characterized by a dramatic decrease of the peak intensity, presumably due to nonconductor deposit generation. The peak intensities (normalized vs concentration) are similar for 1 and 2, and one-electron processes were determined by calibration with the Fc/Fc^+ couple. In the isomeric mixture, 1 and 2 cannot be distinguished by cyclic voltammetry since the phenomenon of deposit was encountered again during the coulometry with a fast and abnormal decrease of the current intensity. The ruthenium complexes are generally more reactive than the related osmium compounds. This seems to affect their redox processes, in which, both the oxidized and reduced species generated are unstable.

The cyclic voltammograms of the osmium complexes 3 and 4 display two irreversible reductions and a reversible oxidation wave (Figure 8) with $E_{1/2} = 1.40$ and 1.52 V vs SCE for trans 3 and cis 4 complexes, respectively (Figure 8). The difference in redox potentials indicates that the two isomers can be identified by standard cyclic voltammetry measurement (see Experimen-

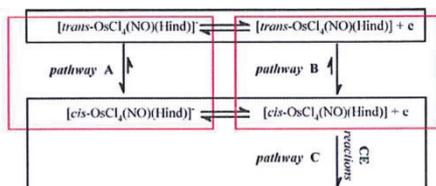
tal Section and Figure 8). The linear dependence of the oxidation peak current I_p versus the square-root of the scan rate potential between 0.025 and 0.3 V/s for 3 and 4 is indicative of a diffusion-controlled process. Moreover, the oxidation peak intensities (at the same concentration) of 3 and 4 are similar (Figure 8). The exhaustive electrolysis of 4 performed at 2.00 V exhibited a one-electron oxidation accompanied by development of a new visible absorption band with λ_{\max} at 519 nm (Figures S13 and S14). The cyclic voltammetry followed after electrolysis showed the same reversible wave, indicating the stability of the oxidized state of 4 under an inert atmosphere. Similar electrochemical behavior was reported for $[\text{OsCl}_5(\text{NO})]^{2-}$.^{89–91}

Thus, we can assign a reversible one-electron oxidation for these two isomers as follows:



An exhaustive electrolysis of 3 at 2.00 V resulted in the appearance of a new visible band with λ_{\max} at 502 nm (Figures S15 and S16). Unexpectedly, the determined electron apparent number value was $n_{\text{app}} = 2$ (Figure S18). The voltammograms recorded immediately after coulometry showed the disappearance of all the initial redox processes. So, the oxidized form of 3 appeared to be stable at the time scale of the cyclic voltammetry but unstable at the time scale of the coulometry. From the NMR experiment at room temperature, *cis* isomer 3 undergoes a slow isomerization into 4. By association with the electrochemical results, a general mechanism can be proposed as summarized in Scheme 2:

Scheme 2. *cis*–*trans* Isomerization Reactions (Red Outline) Associated with the Redox Processes (Black Outline)



The same isomerization reaction can be envisaged from the one-electron oxidized form of 4 in agreement with the mechanism presented in Scheme 2. Some examples of a redox-induced *cis*–*trans* isomerization of metal complexes are well-documented in the literature.⁹² In order to prove whether pathway B in Scheme 2 is indeed operative in our case, the multiscan cyclic voltammetry of 4 at a slow scan rate of potential was performed to generate the 1e oxidized species of 4 at the electrode, which could hypothetically convert into the corresponding isomer (1e oxidized form of 3). However, no mixture of one-electron oxidized species of 4 and 3 was observed in the diffusion layer during the experiment. This result indicates that (i) pathway B is not operative or (ii) the rate of the transformation of 1e oxidized species of 4 into the corresponding oxidized form of 3 is very slow, and we cannot observe it on the time scale of our experiments. Finally, on the time scale of the coulometry, we observed a more complex mechanism which led to the degradation of the oxidized form of 3 after two electrons transfer according to pathway C. We can suggest a CE mechanism in which the chemical reaction C can be considered slow on the time scale of the cyclic voltammetry.⁹³ Indeed, the system 3/1e oxidized 4 is reversible

in cyclic voltammetry, even at a slow scan rate of the potential. On the coulometry time scale, the process is irreversible because a chemical reaction occurs followed by an irreversible 1e oxidation reaction in accord with a general ECE mechanism with a global apparent electron number value $n_{\text{app}} = 2$.

Computational Study. The theoretical analysis starts with a brief comparison of the calculated NO stretching vibrational frequencies of 1–4 to their experimental values. This allows for verifying the experimental distinguishability of the *cis* and *trans* isomers by the $\nu(\text{NO})$ wavenumber in the IR spectrum, that is the most prominent peak in the IR spectra of all investigated compounds. It deserved particular attention for two reasons: first, it is the peak with the highest intensity, and second, its vibrational frequency differs for the *cis* and *trans* isomers due to different *trans* effects of the chlorido and indazole ligands.

Table 5 shows calculated and experimental wavenumber values for the NO vibrational frequency. The *trans* isomers (2

Table 5. Experimental and Scaled NO Stretching Vibrations (in cm^{-1}) at the B3LYP/6-31G* Level of Theory

complex	1	2	3	4
calculated	1863	1892	1829	1860
experimental	1846	1875	1805	1838

and 4) show an NO absorption frequency which is larger by ca. 30 cm^{-1} than that of the corresponding *cis* isomers. Although calculations overestimate the NO absorption frequency by ca. 20 cm^{-1} on average, the error is systematic; i.e., the difference between the NO frequencies in *trans* and *cis* compounds is almost the same. Thus, the calculations support the distinguishability of the *cis* and *trans* isomers by their NO vibrational frequencies. The good agreement between the experimental and the B3LYP/6-31G* geometries validates the employed method for the calculation of equilibrium geometries.

In the following, we discuss the *cis*↔*trans* isomerization mechanism of the $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$ complex. We present and compare activation energies for three different isomerization pathways: the dissociative mechanism with intermediates, the associative mechanism, and the twist mechanism. The outlines for the three mechanisms showing the involved transition states and intermediates are given in Figure 9, showing the most relevant geometrical parameters. All the optimized values can be found in the Supporting Information (Tables S1–S9). Although the mechanisms are described only in the *cis* → *trans* direction, they are thermodynamically reversible, and hence the described reaction paths are also valid for the reverse reaction.

The Dissociative Mechanism. Starting from the *cis* structure, the dissociative mechanism (Figure 9A) is found to consist of three key steps: (i) the dissociation of the indazole ligand, (ii) migration of a Cl^- ligand around the metal center from the axial to the equatorial position, and (iii) reassociation of the indazole ligand. Each of the three substeps shows a transition state and metastable intermediates. After the ligand dissociation (step i), the system is found in a metastable intermediate (a local minimum along the reaction coordinate, labeled *cis-min*) showing a distorted square-pyramidal coordination geometry around Ru. This minimum presents a hydrogen bond-like interaction of the NH group of the indazole with one of the Cl ligands. The H–Cl bond length in *cis-min* is 2.10 Å and remains in the range of 2.10–2.38 Å throughout all intermediates and transition states. The Cl–Ru–

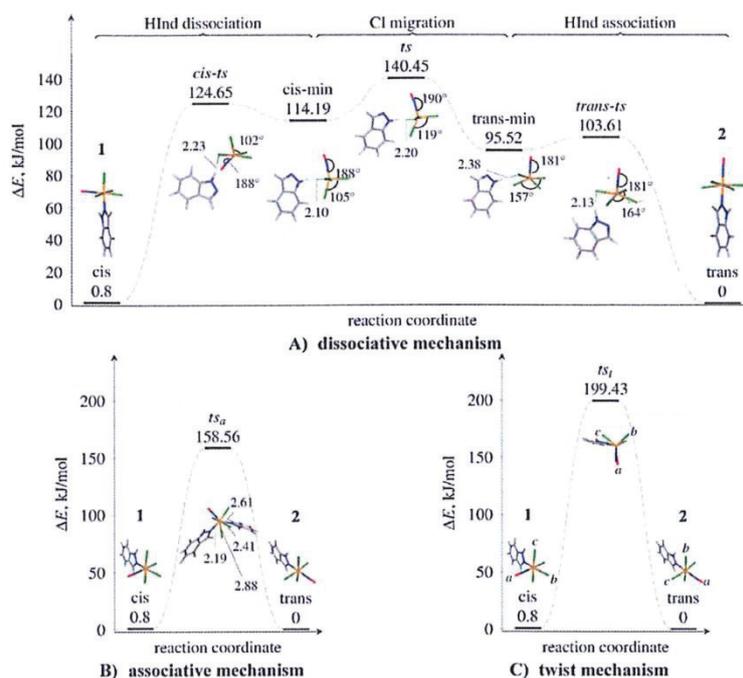


Figure 9. Schematic representation of three *cis*–*trans* isomerization mechanisms investigated for $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$: dissociative (A), associative (B), and twist (C). The involved transition states and the reaction intermediates are shown, together with the most relevant geometrical parameters (in Å and degrees) obtained at the B3LYP/6-31G* level of theory in the gas phase. The relative energies are calculated at the PCM-B2GP-PLYP/6-311G**/B3LYP/6-31G* level of theory. The labels *cis-ts*, *ts*, and *trans-ts* refer to transition states, while *cis-min* and *trans-min* are intermediates. For a better illustration of the twist mechanism (c), the letters *a*, *b*, and *c* mark the NO–Cl–Cl triangle. Upon the isomerization, the triangle rotates around the ruthenium atom, as shown in the figure.

Cl angle increases from 90° in the *cis* compound to 102° in the *cis-min* structure.

The ligand dissociation from the *cis* complex is immediately accompanied with an NO bending up to 9° out of the Ru–Cl–N plane: this is most likely due to the noninnocent character of the NO ligand, i.e. the ability of NO to donate another electron pair to ruthenium after the indazole ligand has dissociated. Upon conversion to the *trans* structure, NO becomes linear again during step ii. In step ii, the *cis-min* structure is easily converted to another, more stable *trans-min* intermediate via the transition state *ts*, which shows a trigonal-bipyramidal coordination geometry around Ru. Both the *cis-min* and the *trans-min* structures show a square-pyramidal coordination geometry with the Ru atom coming out from the basal plane. In the *cis-min* structure, one of the Cl^- ligands is bound apically, while in the *trans-min* structure, all four Cl^- ligands are equatorially bound. The Cl^- migrates from the apical position in *cis-min* to the equatorial position in *trans-min*, while the rest of the coordination sphere remains almost unchanged—only the Cl–Ru–Cl angle changes from 105° in *cis-min* via 119° in *ts* to 158° in *trans-min*. Step iii, the final step, is the reversion of the step i, where an indazole ligand reassociates to the square-pyramidal coordination polyhedron and completes the isomerization process. The dissociative mechanism described herein is similar to that of Berry pseudorotation in PF_5 .^{94–97} In our case, the square-pyramidal transition states (*cis-ts* and *trans-ts*) are more stable than the trigonal-bipyramidal intermediate (*ts*). This can be explained by a large crystal field splitting of 4d orbitals of ruthenium.

The Associative and the Twist Mechanisms. The associative mechanism involves coordination of a second

indazole ligand to ruthenium, resulting in a pentagonal–bipyramidal coordination geometry around ruthenium in the transition state (Figure 9B). The transition state (labeled *ts_a*) is asymmetric: the Ru–indazole bond lengths for the indazoles attached *cis* and *trans* relatively to the NO are 2.19 and 2.41 Å, respectively. The Ru–Cl bond lengths are not identical either. One of them involving the chlorido ligand between the two indazole ligands is of 2.88 Å, while the other Ru–Cl bonds are shorter at 2.41 Å. Inspection of the vibrational normal mode associated with the imaginary frequency shows that *ts_a* is also a transition state for the indazole vs chlorido ligand substitution reaction: while in a direct *cis*↔*trans* isomerization one would expect a transition state with an imaginary frequency associated with an asymmetric indazole–indazole stretch, the found saddle point normal mode is a linear combination of the indazole–indazole and indazole–chlorido asymmetric stretches.

The twist mechanism (Figure 9C) is likewise mediated by one transition state (*ts_t*), where the NO–Cl–Cl triangle (marked with *a*, *b*, and *c* in Figure 9C) rotates on top of the central atom and the three remaining ligands. This transition state shows a trigonal-prismatic coordination geometry around ruthenium. Along with the NO–Cl–Cl rotation, the indazole ligand rotates slightly around the Ru–N bond, so that the two H atoms of the indazole close to other chlorido ligands can maintain hydrogen bond-like interactions with them. The vibrational normal-mode analysis of the transition state shows a low frequency corresponding to the Ru–indazole stretching normal mode. A relaxed potential energy surface scan at the B3LYP/6-31G* level of theory along with the normal mode the Ru–indazole stretching coordinate has revealed that at slightly longer Ru–indazole distances (2.481 Å) this coordinate

Table 6. Electronic Energies (in kJ/mol, Relative to the *trans* Compound 2 for *cis* (1) and *trans* (2) Minima), Transition States and Associated Intermediates Calculated at Different Levels of Theory

method	(A) dissociative mechanism						(B) associative	(C) twist	
	<i>cis</i> (1)	<i>cis-ts</i>	<i>cis-min</i>	<i>ts</i>	<i>trans-min</i>	<i>trans-ts</i>	<i>trans</i> (2)	ts_a	ts_t
B3LYP _{gas} ^a	15.28	96.03	91.29	92.12	72.85	86.6	0	139.19	193
B3LYP _{sol} ^b	-3.94	111.99	107.65	125.3	90.56	94.82	0	140.47	189.09
B2GP-PLYP _{gas} ^c	27.61	118.38	109.04	112.08	87.02	105.99	0	163.68	192.58
B2GP-PLYP _{sol} ^d	0.8	124.65	114.19	140.45	95.52	103.61	0	158.56	199.43
ΔH°	16.0			138.8 ^e			0	138.8 ^e	138.8 ^e

^aB3LYP/6-31G*. ^bPCM-B3LYP/6-311G**/B3LYP/6-31G*. ^cB2GP-PLYP/6-311G**/B3LYP/6-31G*. ^dPCM-B2GP-PLYP/6-311G**/B3LYP/6-31G*. ^eActivation enthalpy is obtained without explicit considerations of a particular transition state.

becomes dissociative; in other words, an indazole ligand dissociates very easily from the twist transition state.

Relative Thermodynamic Stabilities and Activation Energies. Table 6 quotes the relative energies of 1 and 2 and all the transition state species involved in the isomerization reaction. The enthalpy ΔH° for the isomerization reaction is taken from Table 4, and it is equal to the difference between activation enthalpy obtained from kinetic study ΔH^\ddagger for the *trans* \rightarrow *cis* and *cis* \rightarrow *trans* reactions. This value corresponds to the rate limiting step transition state (*ts* in Figure 9A). The experimental enthalpy for the *cis* compound is calculated as the difference of the experimental activation enthalpies ΔH^\ddagger for the *cis* \rightarrow *trans* and *trans* \rightarrow *cis* isomerization, also taken from Table 4 (method II):

$$\Delta H^\circ = \Delta H_{trans \rightarrow cis}^\ddagger - \Delta H_{cis \rightarrow trans}^\ddagger$$

All calculated energies are relative to the *trans* compound 2. Moreover, electronic energies are used instead of calculated enthalpies: B3LYP/6-31G* enthalpies at 298 K show that the deviations of electronic energies from enthalpies are under 1 kJ/mol. A comparison of calculated electronic energies with experimental activation enthalpy as performed here introduces errors which are negligible in comparison to the intrinsic error of the method.

As can be clearly seen, the thermodynamic values obtained with B3LYP and B2GP-PLYP functionals are substantially different, confirming the need of a highly accurate functional for estimating energetics. However, the inclusion of the solvent with the PCM method is reflected in a similar manner for both B3LYP and B2GP-PLYP functionals. For instance, in the dissociative mechanism, the *cis* isomer is stabilized by ca. 19 kJ/mol and ca. 27 kJ/mol, respectively, as compared to the *trans*, while the limiting step transition state (*ts*) is destabilized (by 33 and 28 kJ/mol), increasing the total activation energy for the reaction. The increase of the activation energy for the dissociative mechanism is consistent with the fact that it is harder for the ligand to escape the metal coordination sphere to initiate a reaction when the molecule is trapped in a solvent cage. This is not relevant for the twist mechanism, where no dissociation is required to initiate the reaction. Accordingly, the solvent effect on the activation barrier is much smaller (less than 10 kJ/mol).

Conspicuously, the B3LYP/6-31G* gas phase result for the relative *cis*-*trans* thermodynamic stability (15.3 kJ/mol) is very close to the experimental value (13.5 kJ/mol). However, the inclusion of the solvent effects changes the value down to -3.9 kJ/mol, leading to the *cis* isomer being thermodynamically more stable than the *trans*, in contrast to the experiment. This evidences the importance of including solvent effects. Both the

gas phase and PCM values obtained with the B2GP-PLYP functional are in line with the experiment, although the solvated value predicts both *cis* and *trans* isomers as almost degenerate. We attribute the discrepancy between the experimental and B2GP-PLYP calculated value at least in part to the fit errors in the Eyring plots.

The best value for the activation energy in the dissociative mechanism is given by the PCM-B2GP-PLYP/6-311G* (140.45 kJ/mol, see *ts* energy in Table 6), remarkably close to the experimental activation enthalpy (138.8 kJ/mol). At the same level of theory, the corresponding energies for the associative and twist mechanisms are higher in energy, i.e. ca. 159 and 200 kJ/mol, respectively. It is important to note that regardless of the functional and the exact comparison with the experimental value, the activation energy for the dissociative mechanism is the lowest. Therefore, we propose the dissociative mechanism as the primary mechanism for the *cis* \leftrightarrow *trans* isomerization of the ruthenium complexes.

CONCLUSION

In this work, we report on the synthesis and crystal structures of ruthenium and osmium compounds of the general formula (Bu₄N)[MCl₄(NO)(Hind)], where M = Ru or Os and Hind = 1*H*-indazole. All compounds have an octahedral {MCl₄N₂} structure and have been isolated as *cis* and *trans* isomers. The negative charge of each complex is counterbalanced by one tetrabutylammonium (Bu₄N⁺) cation. A good solubility of the compounds in aprotic solvents assured by the presence of the (Bu₄N⁺) cation allowed for the investigation of these compounds in solution by electrochemistry and NMR spectroscopy.

NMR spectroscopy showed that the *cis* and *trans* complexes are stable in DMSO and C₂D₂Cl₄ solutions at room temperature. In the case of ruthenium complexes, the *cis* \leftrightarrow *trans* isomerization in C₂D₂Cl₄ solution is discovered at temperatures above 80 °C. For osmium complexes, the isomerization process occurs at temperatures above 100 °C in accord with higher inertness of osmium complexes as compared to ruthenium counterparts. A kinetic investigation by NMR spectroscopy revealed that the isomerization reaction corresponds to a reversible first order process. The rates of isomerization reaction even at 110 °C are very low at 10⁻⁵ s⁻¹ in the case of ruthenium and 10⁻⁶ s⁻¹ in the case of osmium. The activation parameters, which have been obtained from fitting the reaction rates at different temperatures to the Eyring equation, are also in line with the inertness of these systems. The entropy of activation for the isomerization process of the osmium compounds is highly positive and suggests the dissociative mechanism of isomerization. In the case of ruthenium, the activation entropy for the *cis* to *trans*

isomerization is negative ($-18.6 \text{ J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$), but positive for the *trans* to *cis* isomerization reaction ($31.0 \text{ J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$). The thermodynamic parameters for *cis/trans* isomerization of $[\text{RuCl}_4(\text{NO})(\text{Hind})]^-$, viz., $\Delta H^\circ = 13.5 \pm 1.5 \text{ kJ/mol}$ and $\Delta S^\circ = -5.2 \pm 3.4 \text{ J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$, indicate the low difference between the energy of *cis* and *trans* isomers. The obtained thermodynamic parameters are consistent with kinetic results. Estimation of rates of the isomerization reactions at room temperature is on the order of 10^{-10} s^{-1} , representing one of the slowest isomerization processes reported so far.

The theoretical calculation of possible isomerization mechanisms has been carried out on ruthenium complexes with DFT methods. The dissociative, associative, and intramolecular twist isomerization mechanisms have been considered. The best value for the activation energy is given for the dissociative mechanism by the PCM-B2GP-PLYP/6-311G* method (140.5 kJ/mol), close to the experimental activation enthalpy (138.8 kJ/mol). At the same level of theory, the corresponding energies for the associative and twist mechanisms are higher in energy, i.e., ca. 159 and 200 kJ/mol, respectively. Electrochemical investigation confirmed higher reactivity of ruthenium complexes compared to those of osmium and showed that intramolecular electron transfer reactions do not affect the isomerization process. On the basis of the results above and also taking into account the high temperature of reactions, we propose the dissociative mechanism as the primary mechanism for the *cis*↔*trans* isomerization of both the ruthenium and osmium complexes.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

Crystallographic refinement details, NMR spectra, and results of kinetic analysis for 1–4; results of theoretical calculation for 1 and 2; and calculated structures (in xyz format) for 1, 2, and all transition states and intermediates for the theoretically investigated mechanism. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: ghenadie.novitchi@lncmi.cnrs.fr (G. N.); leticia.gonzalez@univie.ac.at (L.G.); vladimir.arion@univie.ac.at (V. B. A.); luneau@univ-lyon1.fr (D. L.).

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. Jozef Kožišek and Alexander Roller for collection of X-ray data sets for complexes 3 and 4, respectively. The authors also thank Professor André E. Merbach from École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) and Dr. S. Shova from The State University of Moldova for useful discussions and suggestions. This work was done in the frame of an Austrian–French joint project supported in France by ANR (Agence Nationale de la Recherche) through project ANR-09-BLAN-0420-01 (VILYGRu) and in Austria by FWF (Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung) through the project I 374-N19. The PHC Amadeus is also greatly acknowledged for his support.

■ REFERENCES

- (1) Baumann, F.; Kaim, W.; Baraldo, L. M.; Slep, L. D.; Olabe, J. A.; Fiedler, J. *Inorg. Chim. Acta* **1999**, *285*, 129–133.
- (2) Ferlay, S.; Schmale, H. W.; Francese, G.; Stoeckli-Evans, H.; Imlau, M.; Schaniel, D.; Woike, T. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 3500–3506.
- (3) Schaniel, D.; Woike, T. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 4391–4395.
- (4) Schaniel, D.; Woike, T.; Behrnd, N. R.; Hauser, J.; Kramer, K. W.; Todorova, T.; Delley, B. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 11399–11406.
- (5) Zangl, A.; Klufers, P.; Schaniel, D.; Woike, T. *Dalton Trans.* **2009**, 1034–1045.
- (6) Singh, P.; Sarkar, B.; Sieger, M.; Niemeyer, M.; Fiedler, J.; Zalis, S.; Kaim, W. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 4602–4609.
- (7) Cormary, B.; Ladeira, S.; Jacob, K.; Lacroix, P. G.; Woike, T.; Schaniel, D.; Malfant, I. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 7492–7501.
- (8) Zuech, E. A.; Hughes, W. B.; Kubicek, D. H.; Kittleman, E. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 528–531.
- (9) Wilson, S. T.; Osborn, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 3068–3070.
- (10) Videla, M.; Jacinto, J. S.; Baggio, R.; Garland, M. T.; Singh, P.; Kaim, W.; Slep, L. D.; Olabe, J. A. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8608–8617.
- (11) Roncaroli, F.; Videla, M.; Slep, L. D.; Olabe, J. A. *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 1903–1930.
- (12) Montenegro, A. C.; Amorebieta, V. T.; Slep, L. D.; Martin, D. F.; Roncaroli, F.; Murgida, D. H.; Bari, S. E.; Olabe, J. A. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 4213–4216.
- (13) Serres, R. G.; Grapperhaus, C. A.; Bothe, E.; Bill, E.; Weyhermüller, T.; Neese, F.; Wieghardt, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5138–5153.
- (14) Radon, M.; Broclawik, E.; Pierloot, K. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 1518–1528.
- (15) Hayton, T. W.; Legzdins, P.; Sharp, W. B. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 935–991.
- (16) Baraldo, L. M.; Forlano, P.; Parise, A. R.; Slep, L. D.; Olabe, J. A. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *219*, 881–921.
- (17) Sinityn, N. M.; Svetlov, A. A.; Bobrova, L. V. *Zh. Neorg. Khim.* **1980**, *25*, 780–783.
- (18) McCleverty, J. A. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 403–418.
- (19) Siladke, N. A.; Meihaus, K. R.; Ziller, J. W.; Fang, M.; Furche, F.; Long, J. R.; Evans, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 1243–1249.
- (20) Rose, M. J.; Mascharak, P. K. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 238–244.
- (21) Tfouni, E.; Truzzi, D. R.; Tavares, A.; Gomes, A. J.; Figueiredo, L. E.; Franco, D. W. *Nitric Oxide-Biol. Chem.* **2012**, *26*, 38–53.
- (22) Butler, A. R.; Megson, I. L. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1155–1165.
- (23) Ignarro, L. J.; Byrns, R. E.; Wood, K. S. *Circulation* **1986**, *74*, 287–287.
- (24) Carducci, M. D.; Pressprich, M. R.; Coppens, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2669–2678.
- (25) Khot, U. N.; Novaro, G. M.; Popovic, Z. B.; Mills, R. M.; Thomas, J. D.; Tuzcu, E. M.; Hammer, D.; Nissen, S. E.; Francis, G. S. *New Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 1756–1763.
- (26) Serli, B.; Zangrando, E.; Gianfeffara, T.; Yellowlees, L.; Alessio, E. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *245*, 73–83.
- (27) Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H. *Nature* **1969**, *222*, 385–386.
- (28) *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*; Keppler, B. K., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 1993.
- (29) Cleare, M. J.; Höschel, J. D. *Plat. Met. Rev.* **1973**, *17*, 2–13.
- (30) Cleare, M. J.; Höschel, J. D. *Bioinorg. Chem.* **1973**, *2*, 187–210.
- (31) Scaffidi-Domianello, Y. Y.; Meelich, K.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Kukushkin, V. Y.; Galanski, M.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 5669–5678 (and references therein).
- (32) Coluccia, M.; Nassi, A.; Boccarelli, A.; Giordano, D.; Cardellicchio, N.; Locker, D.; Leng, M.; Sivo, M.; Intini, F. P.; Natile, G. *J. Inorg. Biochem.* **1999**, *77*, 31–35.
- (33) Bartel, C.; Bytzeck, A. K.; Scaffidi-Domianello, Y. Y.; Grabmann, G.; Jakupec, M. A.; Hartinger, C. G.; Galanski, M.; Keppler, B. K. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2012**, *17*, 465–474.

- (34) Arion, V. B.; Reisner, E.; Fremuth, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K.; Kukushkin, V. Y.; Pombeiro, A. J. L. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 6024–6031.
- (35) Stepanenko, I. N.; Cebrian-Losantos, B.; Arion, V. B.; Krokhn, A. A.; Nazarov, A. A.; Keppler, B. K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 400–411.
- (36) Kolf, S.; Preetz, W. Z. *Anorg. Allg. Chem.* **1999**, *625*, 411–416.
- (37) Ni, W. X.; Man, W. L.; Yiu, S. M.; Ho, M.; Cheung, M. T. W.; Ko, C. C.; Che, C. M.; Lam, Y. W.; Lau, T. C. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 1582–1588.
- (38) Bučinský, L.; Büchel, G. E.; Ponec, P.; Breza, M.; Kožisek, J.; Gall, M.; Biskupič, S.; Fronc, M.; Schiessl, K.; Cuzan, O.; Prodius, D.; Turta, C.; Shova, S.; Zajac, D. A.; Arion, V. B. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, 2505–2519.
- (39) Bhattacharyya, R.; Saha, A. M.; Ghosh, P. N.; Mukherjee, M.; Mukherjee, A. K. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1991**, 501–510.
- (40) Fritz, H. P.; Keller, H. J.; Schwarzhans, K. E. *J. Organomet. Chem.* **1967**, *7*, 105.
- (41) Helm, L. *NMRICMA 3.0*; Institut des Sciences et Ingénierie Chimiques, EPFL: Lausanne, Switzerland, 2003.
- (42) Yerly, F. *VISUALISEUR-OPTIMISEUR*; EPFL: Lausanne, Switzerland, 2001.
- (43) *SAINT-Plus*, version 7.06a; *APEX2*; Bruker-Nonius AXS Inc.: Madison, WI, 2004.
- (44) *CrysAlisPro*; Oxford Diffraction Ltd.: Abingdon, England, 2009.
- (45) Clark, R. C.; Reid, J. S. *Acta Crystallogr.* **1995**, *A51*, 887–897.
- (46) Sheldrick, G. *Acta Crystallogr., Sect. A* **2008**, *64*, 112–122.
- (47) Johnson, G. K. *Report ORNL-5138*; OAK Ridge National Laboratory: Oak Ridge, TN, 1976.
- (48) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.
- (49) Lee, C. T.; Yang, W. T.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785–789.
- (50) Andrae, D.; Haussermann, U.; Dolg, M.; Stoll, H.; Preuss, H. *Theor. Chim. Acta* **1990**, *77*, 123–141.
- (51) Scott, A. P.; Radom, L. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 16502–16513.
- (52) Karton, A.; Tarnopolsky, A.; Lamere, J. F.; Schatz, G. C.; Martin, J. M. L. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 12868–12886.
- (53) Escudero, D.; Weisheit, T.; Weigand, W.; González, L. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 9505–9513.
- (54) Cancès, E.; Mennucci, B. *J. Math. Chem.* **1998**, *23*, 309–326.
- (55) Mennucci, B.; Cancès, E.; Tomasi, J. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 10506–10517.
- (56) Miertus, S.; Scrocco, E.; Tomasi, J. *Chem. Phys.* **1981**, *55*, 117–129.
- (57) Cammi, R.; Tomasi, J. *Comput. Math.* **1995**, *16*, 1449–1458.
- (58) Scalmani, G.; Frisch, M. J. *J. Chem. Phys.* **2010**, *132*, 114110.
- (59) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09*; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2009.
- (60) Krause, R. A.; Krause, K. *Inorg. Chem.* **1980**, *19*, 2600–2603.
- (61) Ferreira, V.; Krause, R. A.; Larsen, S. *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *145*, 29–38.
- (62) Breher, F.; Ruegger, H.; Mlakar, M.; Rudolph, M.; Deblon, S.; Schonberg, H.; Boulmaaz, S.; Thomaier, J.; Grutzmacher, H. *Chem.—Eur. J.* **2004**, *10*, 641–653.
- (63) Mebi, C. A.; Frost, B. *J. Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 7115–7120.
- (64) Kakoti, M.; Chaudhury, S.; Deb, A. K.; Goswami, S. *Polyhedron* **1993**, *12*, 783–789.
- (65) Dovletoglu, A.; Meyer, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 215–223.
- (66) Bakhmutov, V. I.; Bertran, J.; Esteruelas, M. A.; Lledos, A.; Maseras, F.; Modrego, J.; Oro, L. A.; Sola, E. *Chem.—Eur. J.* **1996**, *2*, 815–825.
- (67) Bakhmutov, V. I.; Visseaux, M.; Baudry, D.; Dormond, A.; Richard, P. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7316–7324.
- (68) Guido, E.; D'Amico, G.; Russo, N.; Sicilia, E.; Rizzato, S.; Albinati, A.; Romeo, A.; Plutino, M. R.; Romeo, R. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 2224–2239.
- (69) Hughes, R. P.; Meyer, M. A.; Tawa, M. D.; Ward, A. J.; Williamson, A.; Rheingold, A. L.; Zakharov, L. N. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 747–756.
- (70) Alibrandi, G.; Scolaro, L. M.; Romeo, R. *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 4007–4013.
- (71) Shafaatian, B.; Akbari, A.; Nabavizadeh, S. M.; Heinemann, F. W.; Rashidi, M. *Dalton Trans.* **2007**, 4715–4725.
- (72) Ashby, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2000–2007.
- (73) Lu, K. L.; Lo, H. U.; Lin, Y. C.; Wang, Y. *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 4499–4502.
- (74) Haynes, A.; McNish, J.; Pearson, J. M. *J. Organomet. Chem.* **1998**, *551*, 339–347.
- (75) Yang, F. Z.; Wang, Y. H.; Chang, M. C.; Yu, K. H.; Huang, S. L.; Liu, Y. H.; Wang, Y.; Liu, S. T.; Chen, J. T. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 7639–7644.
- (76) Smith, D. C.; Gray, G. M. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**, 677–683.
- (77) Rapaport, I.; Helm, L.; Merbach, A. E.; Bernhard, P.; Ludi, A. *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 873–879.
- (78) Steblerrothlisberger, M.; Hummel, W.; Pittet, P. A.; Burgi, H. B.; Ludi, A.; Merbach, A. E. *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 1358–1363.
- (79) Helm, L.; Nicolle, G. M.; Merbach, A. E. *Adv. Inorg. Chem.* **2005**, *57*, 327–379.
- (80) Helm, L.; Merbach, A. E. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1923–1959.
- (81) Riblet, F.; Novitchi, G.; Scopelliti, R.; Helm, L.; Gulea, A.; Merbach, A. E. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 4194–4211.
- (82) Novitchi, G.; Riblet, F.; Helm, L.; Scopelliti, R.; Gulea, A.; Merbach, A. E. *Magn. Reson. Chem.* **2004**, *42*, 801–806.
- (83) Elguero, J.; Fruchier, A.; Tjiou, E. M.; Trofimenko, S. *Khim. Geterotsikl. Soedin.* **1995**, 1159–1179.
- (84) Williams, D. S.; Coia, G. M.; Meyer, T. J. *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 586–592.
- (85) Bae, B. J.; Park, J. E.; Kim, Y.; Park, J. T.; Suh, I. H. *Organometallics* **1999**, *18*, 2513–2518.
- (86) Cotton, F. A.; Dikarev, E. V.; Wong, W. Y. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 3268–3276.
- (87) Atwood, J. D. *Inorganic and Organometallic Reaction Mechanisms*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 1997.
- (88) Bielski, B. H. J.; Capellos, C. *Kinetic Systems; Mathematical Description of Chemical Kinetics in Solution*; RE Krieger: New York, 1980.
- (89) Ooyama, D.; Nagao, N.; Nagao, H.; Sugimoto, Y.; Howell, F. S.; Mukaida, M. *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *261*, 45–52.
- (90) Svetlov, A. A.; Sinitsyn, N. M. *Zh. Neorg. Khim.* **1986**, *31*, 2902–2914.
- (91) Svetlov, A. A.; Sinitsyn, N. M.; Kravchenko, V. V. *Zh. Neorg. Khim.* **1990**, *35*, 336–343.
- (92) Pombeiro, A. J. L.; da Silva, M.; Lemos, M. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *219*, 53–80.
- (93) Amatore, C.; Azzabi, M.; Calas, P.; Jutand, A.; Lefrou, C.; Rollin, Y. *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *288*, 45–63.
- (94) Berry, R. S. *J. Chem. Phys.* **1960**, *32*, 933–938.
- (95) Tobe, M. L. *Inorganic Reaction Mechanisms*; Nelson: London, 1972.
- (96) Ugi, I.; Marquard, D.; Klusacek, H.; Gillespi, P.; Ramirez, F. *Acc. Chem. Res.* **1971**, *4*, 288–296.
- (97) Koga, N.; Morokuma, K. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 823–842.

