



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ**

Биљана Ђ. Глишић

**СИНТЕЗА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА КОМПЛЕКСА
ЗЛАТА(III) СА НЕКИМ ДИПЕПТИДИМА**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2012.

Аутор

Име и презиме: Биљана Ђ. Глишић
Датум и место рођења: 19. 09. 1985. године, Крагујевац
Садашње запослење: истраживач-сарадник

Докторска дисертација

Наслов: Синтеза и карактеризација комплекса злата(III) са неким дипептидима
Број страница: 108 (+53)
Број слика: 46
Број библиографских података: 200
Установа и место где је рад израђен: Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област (УДК): Хемија(54) - Неорганска хемија(546)
Ментор: Проф. др Милош И. Ђуран

Оцена и одбрана

Датум пријаве теме: 13. 04. 2011. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: 380/IX-1 од 11. 05. 2011. године
Комисија за оцену подобности теме и кандидата:
1. Др Милош И. Ђуран, редовни професор Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија
2. Др Катарина Анђелковић, редовни професор Хемијски факултет, Београд
Научна област: Неорганска хемија
3. Др Снежана Рајковић, доцент Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:
1. Др Милош И. Ђуран, редовни професор Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија
2. Др Живадин Д. Бугарчић, редовни професор Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија
3. Др Катарина Анђелковић, редовни професор Хемијски факултет, Београд
Научна област: Неорганска хемија
4. Др Снежана Рајковић, доцент Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија

Датум одбране дисертације: 02. 11. 2012.

Специфичне физичке и хемијске карактеристике злата инспирисале су људе још у старом веку да користе овај метал у медицинске сврхе. У средњовековној Европи, алхемичари су користили злато за припремање магичне супстанце која враћа младост и лечи све болести. Средином XX века комплекси злата(I) су се почели примењивати у медицини за лечење реуматског артритиса. У новије време посебна пажња је посвећена изучавању комплекса злата(III) као потенцијалних антитуморских агенаса. Међутим, примена комплекса злата у медицини је ограничена њиховим токсичним деловањем (нефротоксичност, болести крви и сл). Механизам антиреуматског и антитуморског деловања, као и механизам токсичног деловања, комплекса злата још увек није у потпуности разјашњен и представља предмет интензивних изучавања. Испитивање реакција комплекса злата са биомолекулима, као што су пептиди, од великог је значаја за тумачење механизма деловања ових комплекса и њихову примену у медицини. Због тога су реакције комплекса злата(III) са пептидима предмет интензивних изучавања у истраживачкој групи проф. Милоша Ђурана. Предмет ове докторске дисертације обухвата истраживања која се односе на испитивање реакција комплекса злата(III) са дипептидима који у бочном низу садрже аминокиселине хистидин и метионин, као и са дипептидима који не садрже хетероатом у бочном низу, и на структурну карактеризацију злато(III)-дипептид комплекса који настају у овим реакцијама. Ова истраживања су рађена у Институту за хемију Природно-математичког факултета у Крагујевцу. Резултати постигнути у оквиру ове докторске дисертације су објављени у оквиру шест радова у познатим међународним часописима из неорганске и бионеорганске хемије и део су програма пројекта који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Пројекат 172036). Тему за

докторску дисертацију је предложио др Милош И. Ђуран, редовни професор Природно-математичког факултета у Крагујевцу, коме се искрено захваљујем на разумевању, стрпљењу, подршци и помоћи током рада и писања ове докторске дисертације.

Посебну захвалност дугујем др Снежани Рајковић, доценту Природно-математичког факултета у Крагујевцу, на несебичној помоћи у току израде и писања ове дисертације.

Велику захвалност изражавам проф. др Уршули Рихлевској (Urszula Rychlewska) и др Беати Варзајтис (Beata Warzajtis) са Универзитета Адам Мицкијевич у Познању (Пољска) које су урадиле рендгенску структурну анализу комплекса злата(III) и значајно допринеле интерпретацији резултата.

Искрено се захваљујем проф. др Живадину Д. Бугарчићу са Природно-математичког факултета у Крагујевцу и проф. др Катарини Анђелковић са Хемијског факултета у Београду за корисне савете и сугестије у току писања дисертације, као и за учешће у комисији за оцену и одбрану докторске дисертације.

Захвалност дугујем др Зорки Станић, доценту Природно-математичког факултета у Крагујевцу, на огромној помоћи приликом извођења електрохемијских мерења и интерпретације цикличних волтамограма, као и др Биљани Шмит и дипл. хем. Дарку Ашанину са Природно-математичког факултета у Крагујевцу за помоћ приликом снимања и интерпретације NMR спектра.

Захвалност изражавам свим сарадницима из лабораторије професора М. Ђурана за корисне сугестије током експерименталног рада и писања ове докторске дисертације.

Највећу захвалност дугујем својим родитељима, оцу Ђорђу и мајци Весни, сестри Марији, момку Николи, деди Томиславу и баби Мирјани, као и свим пријатељима на разумевању и подршци коју су ми пружали током израде и писања ове докторске дисертације.

САДРЖАЈ

ИЗВОД.....	I
SUMMARY.....	V
1. ОПШТИ ДЕО.....	1
1.1. ПРИМЕНА ЗЛАТА И ЊЕГОВИХ КОМПЛЕКСНИХ ЈЕДИЊЕЊА У МЕДИЦИНИ.....	2
Примена колоидног злата у медицини.....	3
1.1.1. КОМПЛЕКСИ ЗЛАТА(I) И ЊИХОВА ПРИМЕНА У МЕДИЦИНИ.....	4
Структура комплекса злата(I).....	4
Примена комплекса злата(I) у лечењу реуматског артритиса.....	6
<i>Механизам деловања комплекса злата(I) у лечењу реуматског артритиса.....</i>	8
Антитуморска активност комплекса злата(I).....	9
Антипаразитска активност комплекса злата(I).....	11
1.1.2. КОМПЛЕКСИ ЗЛАТА(III) И ЊИХОВА ПРИМЕНА У МЕДИЦИНИ.....	12
Структура комплекса злата(III).....	12
Антитуморска активност комплекса злата(III).....	13
Антипаразитска активност комплекса злата(III).....	19
1.2. РЕАКЦИЈЕ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА АМИНОКИСЕЛИНАМА, ПЕПТИДИМА И ПРОТЕИНИМА.....	20
1.2.1. РЕАКЦИЈЕ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА АМИНОКИСЕЛИНАМА.....	20
Глицин и L-аланин.....	20
L-Хистидин.....	22
L-Цистеин и L-метионин.....	26
<i>L-Цистеин.....</i>	26

<i>L</i> -Метионин.....	27
1.2.2. РЕАКЦИЈЕ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ПЕПТИДИМА.....	28
Пептиди који не садрже хетероатом у бочном низу.....	28
Пептиди који садрже <i>L</i> -хистидин.....	30
Пептиди који садрже <i>L</i> -цистеин.....	35
Пептиди који садрже <i>L</i> -фенилаланин.....	35
Пептиди који садрже <i>L</i> -триптофан	37
Пептиди који садрже <i>L</i> -серин.....	37
1.2.3. РЕАКЦИЈЕ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ПРОТЕИНИМА.....	38
2. ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА.....	43
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО.....	45
3.1. Хемикалије и реагенси.....	45
3.2. Ацетиловање амино групе у аминокиселинама и пептидима.....	45
3.3. Добијање $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса.....	46
3.4. Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса.....	47
3.5. Добијање $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса.....	49
3.6. Добијање $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса.....	49
3.7. Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса.....	50
3.8. Мерење рН вредности.....	52
3.9. Елементарне микроанализе.....	52
3.10. NMR (^1H и ^{13}C) мерења.....	52
3.11. UV-Vis мерења.....	53
3.12. Волтаметријска мерења цикличном волтаметријом.....	54

4. ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА.....	55
4.1. СИНТЕЗА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА НЕКИМ ДИПЕПТИДИМА.....	55
4.1.1. ИСПИТИВАЊЕ РЕАКЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ДИПЕПТИДИМА КОЈИ НЕ САДРЖЕ ХЕТЕРОАТОМ У БОЧНОМ НИЗУ.....	57
Реакције $H[AuCl_4]$ комплекса са Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептидима.....	57
<i>Реакција $H[AuCl_4]$ комплекса и Gly-Gly дипептида.....</i>	59
<i>Реакција $H[AuCl_4]$ комплекса и Gly-L-Ala дипептида.....</i>	59
<i>Поређење брзина тридентатне координације Gly-Gly, Gly-L-Ala и Gly-L-His дипептида за Au(III) јон.....</i>	61
4.1.2. ИСПИТИВАЊЕ РЕАКЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ДИПЕПТИДИМА КОЈИ САДРЖЕ L-ХИСТИДИН.....	63
Синтеза и карактеризација комплекса злата(III) са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима.....	63
1H NMR карактеризација комплекса злата(III) са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима.....	63
Опис кристалних структура комплекса злата(III) са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима.....	66
Испитивање реакција монофункционалног $[Au(dien)Cl]Cl_2$ комплекса са дипептидима који садрже L-хистидин.....	73
<i>Реакција $[Au(dien)Cl]Cl_2$ комплекса и L-His-Gly дипептида.....</i>	74
<i>Реакција $[Au(dien)Cl]Cl_2$ комплекса и Gly-L-His дипептида.....</i>	78
4.1.3. ИСПИТИВАЊЕ РЕАКЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ДИПЕПТИДИМА КОЈИ САДРЖЕ МЕТИОНИН.....	80
Испитивање реакција Gly-D,L-Met дипептида и његовог N-ацетилованог деривата са $H[AuCl_4]$ комплексом.....	80
<i>Реакције $H[AuCl_4]$ комплекса са еквимоларном количином Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met дипептида.....</i>	80
<i>Реакције $H[AuCl_4]$ комплекса са вишком Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met дипептида.....</i>	86
Опис кристалне структуре $[H^+ Gly-Met-sulfoksid][AuCl_4]$ комплекса.....	88
4.2. ЗАКЉУЧАК.....	94
ЛИТЕРАТУРА.....	96
БИОГРАФИЈА.....	108

СКРАЋЕНИЦЕ И ОЗНАКЕ

КБ	координациони број
^1H NMR	протонска нуклеарна магнетна резонанца
^{13}C NMR	угљеник-13 нуклеарна магнетна резонанца
^{31}P NMR	фосфор-31 нуклеарна магнетна резонанца
L-Cys	L-цистеин
GSH, γ -L-Glu-L-Cys-Gly	глутатион
P388	леукемија код мишева
B16	меланом код мишева
dppp	1,2-bis(дифенилфосфино)етан
Et	етил
^nPr	n-пропил
^iPr	изопропил
Im	имидазол
cq	хлорокин
cqdp	хлорокин-дифосфат
ctz	клотримазол
Gly-L-His	глицил-L-хистидин
A2780	карцином јајника код жена
ДНК	дезоксирибонуклеинска киселина
en	етилендиамин
dien	диетилентриамин
cyclam	1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан
terpy	2,2':6',2''-терпиридин
phen	1,10-фенантролин
bipy	2,2'-бипиридин
bipy ^{dmb}	6-(1,1-диметилбензил)-2,2'-бипиридин
2,6-xylidine	2,6-диметиланилин
py ^{dmb}	2-(1,1-диметилбензил)-пиридин
4,4'-di ^t Bubipy	4,4'-дитерцбутил-2,2'-бипиридин
6-Mebipy	6-метил-2,2'-бипиридин
6-CH ₂ CMe ₃ bipy	6-неопентил-2,2'-бипиридин
6-(2,6-Me ₂ C ₆ H ₃)bipy	6-(2,6-диметилфенил)-2,2'-бипиридин
6,6'-diMebipy	6,6'-диметил-2,2'-бипиридин

dtc	дитиокарбамато
dmdt	<i>N,N</i> -диметилдитиокарбамат
esdt	етил-саркозиндитиокарбамат
dppz	2,5- <i>bis</i> (2-пиридил)пиразин
Gly	глицин
L-Ala	L-аланин
2D NMR	дводимензионална NMR
Quingly	<i>N</i> -(8-хинолил)глицин-карбоксаид
Quinala	<i>N</i> -(8-хинолил)-L-аланин-карбоксаид
IR спектроскопија	инфрацрвена спектроскопија
CE	капиларна електрофореза
CE-ICP-MS	капиларна електрофореза куплована са индуковано спрегнутом плазмом и масеним спектрометром
XRF	рендгенска флуоресценција
MS	масена спектрометрија
L-His	L-хистидин
1,3-pn	1,3-пропилендиамин
1,4-bn	1,4-бутилендиамин
UV-Vis спектрофотометрија	ултраљубичаста-видљива спектрофотометрија
SMC	<i>S</i> -метил-L-цистеин
Ino	инозин
5'-IMP	инозин-5'-монофосфат
5'-GMP	гуанозин-5'-монофосфат
Hepes	4-(2-хидроксиетил)-1-пиперазин-етан-сулфонска киселина
dach	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-диаминоциклохексан
DFT	теорија функционала густине
L-Met	L-метионин
FT-IR спектроскопија	инфрацрвена спектроскопија са Fourier-овом трансформацијом
Gly-Gly	глицил-глицин
Gly-Gly-Gly	глицил-глицил-глицин
Gly-L-Ala	глицил-L-аланин
Gly-L-Ala-L-Ala	глицил-L-аланил-L-аланин
LD	линеарни дихроизам
Å	ангстрем
CD	циркуларни дихроизам
Gly-Gly-L-His	глицил-глицил-L-хистидин
$t_{1/2}$	полувреме реакције
K_a	константа дисоцијације киселине
ESI-MS	електроспреј-јонизациона масена спектрометрија
GSSG ²⁻	глутатион-дисулфид

L-Ala-L-Phe	L-аланил-L-фенилаланин
L-Phe-L-Phe	L-фенилаланил-L-фенилаланин
Gly-L-Phe-Gly	глицил-L-фенилаланил-глицин
L-Trp-L-Phe	L-триптофил-L-фенилаланин
L-Tyr-L-Trp	L-тирозил-L-триптофан
Gly-L-Ser	глицил-L-серин
PHK	рибонуклеинска киселина
TrxR	тиоредоксин редуктаза
HSA	хумани серум албумин
HGR	хумана глутатион редуктаза
HDAC	хистон деацетилаза
PKC	протеин киназа C
H9X	мутирани хумани H феритин
AphA	периплазмична кисела фосфатаза
BSA	говеђи серум албумин
XANES	апсорпција X зрака у близини ивице спектроскопије
EXAFS	апсорпциона спектроскопија синхротронског X зрачења
bpMe	4,4'-диметил-2,2'-бипиридин
bipy ^{mb}	6-(1-метилбензил)-2,2'-бипиридин
HEWL	лизозим из беланцета кокошјег јајета
sac	сахаринато
NADPH	никотинамид-аденин-динуклеотидфосфат
L-Ala-L-His	L-аланил-L-хистидин
L-His-Gly	L-хистидил-глицин
Gly-D,L-Met	глицил-D,L-метионин
Ac-Gly-D,L-Met	N-ацетилглицил-D,L-метионин
GlyNH ₂	глицинамид
Lp фактор	Logenz-ов поларизациони фактор
TSP	натријум-3-(триметилсилил)пропаноат
GC	стакласти угљеник
ZKE	засићена каломелова електрода
CSD	кристалографска база података
Ac-Gly	N-ацетилглицин
CV	циклична волтаметрија

ИЗВОД

Након открића антитуморске активности цисплатине, посебна пажња је посвећена испитивању комплекса злата(III) као потенцијалних антитуморских агенаса, због чињенице да су Au(III) и Pt(II) изоелектронски јони (d^8 електронска конфигурација) и да формирају квадратно-планарне комплексе. Услед потенцијалне примене комплекса злата(III) у лечењу тумора, у току последњих неколико деценија, интензивно су изучаване реакције Au(III) јона са биолошки важним лигандима, као што су аминокиселине, пептиди и протеини. Механизам антитуморског деловања комплекса злата(III) још увек није у потпуности разјашњен и представља предмет интензивних изучавања. Испитивање реакција комплекса злата(III) са пептидима је од великог значаја за дефинисање механизма антитуморског и токсичног деловања ових комплекса.

У Општем делу ове докторске дисертације дат је преглед најновијих резултата постигнутих у области испитивања реакција комплекса злата(III) са аминокиселинама, пептидима и протеинима. У првом делу овог поглавља приказани су резултати испитивања реакција комплекса злата(III) са аминокиселинама, као што су глицин, аланин, хистидин, цистеин и метионин, док су у другом делу дати резултати који се односе на реакције комплекса злата(III) са пептидима и на структурну карактеризацију комплекса који настају као коначни производи у овим реакцијама. На крају Општег дела, приказани су резултати испитивања реакција комплекса злата(III) са протеинима, као примарним акцепторским молекулима за антитуморске комплексе злата(III) (B. Đ. Glišić, U. Rychlewska and M. I. Djuran, *Dalton Trans.*, **41** (2012) 6887-6901).

У делу дисертације који се односи на Дискусију резултата, приказани су резултати спектроскопских и електрохемијских испитивања реакција комплекса злата(III) са дипептидима који у бочном низу не садрже хетероатом, и са дипептидима који садрже аминокиселине хистидин и метионин. Поред тога, злато(III)-пептид комплекси, који настају као коначни производи испитиваних реакција су окарактерисани применом рендгенске структурне анализе. Применом ^1H NMR спектроскопије изучаване су реакције дипептида глицил-глицина (Gly-Gly) и глицил-L-аланина (Gly-L-Ala) са хидроген-тетрахлоридоауратом(III) ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$). Све реакције су испитиване у рН области 2,00 – 5,00 и на 40 °C. Када су ове реакције извођене на рН = 2,00 и 3,00, долази до тридентатне координације Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептида за Au(III) јон. Применом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије окарактерисани су $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ комплекси, који настају као коначни производи у испитиваним реакцијама. На основу добијених спектроскопских резултата, закључено је да се дипептиди тридентатно координују за Au(III) јон преко атома азота терминалне аминокиселине групе, депротонисаног атома азота пептидне везе и кисеониковог атома карбоксилне групе. За четврто координационо место у овим квадратно-планарним комплексима координује се хлоридо лиганд. Када су испитиване реакције извођене на рН > 3,00 (рН = 4,00 и 5,00), Au(III) јон се веома брзо редукује и реакциона смеша потпуно потамни од издвојеног елементарног злата. Реакција тридентатне координације Gly-Gly дипептида за Au(III) јон ($k_2 = (1,63 \pm 0,07) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) је приближно два пута бржа у односу на реакцију координације Gly-L-Ala ($k_2 = (0,71 \pm 0,06) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Разлика у брзини тридентатне координације ових дипептида се може приписати стерном ефекту метил групе у L-аланинском остатку. Међутим, реакције $[\text{AuCl}_4]^-$ са Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептидима су приближно сто пута спорије од реакције између овог комплекса и глицил-L-хистидина (Gly-L-His) ($k_2 = (124,00 \pm 0,30) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) (B. Đ. Glišić, S. Rajković, M. D. Živković and M. I. Djuran, *Bioorg. Chem.*, **38** (2010) 144-148).

У другом делу овог поглавља, применом ^1H NMR спектроскопије и рендгенске структурне анализе окарактерисани су хидратисани и анхидровани облик Au(III) комплекса са Gly-L-His дипептидом, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$. Такође, одређена је кристална структура $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса, где је L-Ala-L-His дипептид L-аланил-L-хистидин. Дипептиди, који у бочном низу садрже аминокиселину

L-хистидин, тридентатно се координују за Au(III) јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена, депротонаног атома азота пептидне везе и атома азота терминалне аминок групе глицина, односно L-аланина, док је за четврто место координован хлоридо лиганд. Катјони $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса имају структуру издуженог октаедра, услед интеракције између Au(III) јона из квадратно-планарне равни ових комплекса и два хлоридна јона из суседних комплексних честица (U. Rychlewska, B. Warżajtis, B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković and M. I. Djuran, *Dalton Trans.*, **39** (2010) 8906-8913).

Такође, применом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије, изучаване су реакције монофункционалног $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса, dien је тридентатно координовани диетилентриамин, са дипептидима који садрже L-хистидин, L-хистидил-глицином (L-His-Gly) и глицил-L-хистидином (Gly-L-His). Све реакције су извођене у воденом раствору у рD области 3,50 – 5,50 и на 25 °C. У реакцији између $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса и L-His-Gly дипептида, који садржи N-терминални L-хистидин, долази до селективне координације дипептида за Au(III) јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена, при чему се формира $[\text{Au}(\text{dien})(\text{L-His-Gly-N3})]^{3+}$ комплекс. Међутим, у реакцији овог комплекса злата(III) са Gly-L-His дипептидом, који садржи C-терминални L-хистидин, при истим експерименталним условима, долази до тридентатне координације дипептида преко N3 имидазоловог атома азота, депротонаног атома азота пептидне везе и атома азота аминок групе, уз истовремену елиминацију dien лиганда. У испитиваним реакцијама, не долази до координације кисеониковог атома депротонане карбоксилне групе пептида за $[\text{Au}(\text{dien})]^{3+}$ фрагмент (B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran, *J. Coord. Chem.*, accepted for publication).

На крају, применом ^1H NMR спектроскопије, изучаване су реакције дипептида глицил-D,L-метионина (Gly-D,L-Met) и његовог N-ацетилованог деривата (Ac-Gly-D,L-Met) са $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплексом. Одговарајући дипептид и $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекс су реаговани у 1:1, 2:1 и 3:1 молским односима. Све реакције су извођене на рН = 2,00 у 0,01 mol/dm³ раствору DCl у D₂O као растварачу и на 25 °C. У првој фази реакције, пептид се монодентатно координује за Au(III) јон преко тиоетарског атома сумпора, при чему настаје $[\text{AuCl}_3(\text{R-Gly-Met-S})]$ комплекс (R = H или Ac). Овај интермедијерни комплекс у следећој фази реагује са метионинским остатком другог

молекула пептида, при чему настаје R-Gly-Met-сулфонијум катјон, који затим подлеже хидролизи дајући одговарајући сулфоксид. Оксидација метионинског остатка у Gly-D,L-Met дипептиду до сулфоксида ($k_2 = 0,363 \pm 0,074 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) је пет пута бржа у односу на оксидацију његовог N-ацетилованог деривата ($k_2 = 0,074 \pm 0,007 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), што се може приписати утицају терминалне аминок групе неацетилованог пептида. Механизам реакције између Gly-D,L-Met дипептида и $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса је додатно испитиван применом UV-Vis спектрофотометрије и цикличне волтаметрије. На основу ових резултата, нађено је да $[\text{AuCl}_2]^-$ комплекс, који настаје у реакцији еквимоларних количина реактанта, подлеже диспропорционисању, дајући $[\text{AuCl}_4]^-$ и елементарно злато, Au(0). Међутим, у присуству вишка пептида, настају стабилнији полинуклеарни Gly-D,L-Met-S-Au(I) и Ac-Gly-D,L-Met-S-Au(I) комплекси (B. Ђ. Glišić, S. Rajković, Z. Stanić and M. I. Djuran, *Gold Bull.*, **44** (2011) 91-98). Структура коначног производа оксидације Gly-D,L-Met дипептида у присуству $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса је додатно потврђена применом рендгенске структурне анализе. Кристална структура $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса се састоји од квадратно-планарних $[\text{AuCl}_4]^-$ аниона и Gly-Met-сулфоксид катјона. Катјон је неуређен у бочном низу метионина, услед присуства два дијастереоизомера у истој јединичној ћелији, који се разликују у конфигурацији на атому сумпора. Процес кристализације $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса је делимично дијастереоселективан, при чему један од два могућа дијастереоизомера настаје у вишку (U. Rychlewska, B. Warżajtis, B. Ђ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, **66** (2010) 51-54).

Постигнути резултати у оквиру ове докторске дисертације представљају значајан допринос развоју нових комплекса злата(III) као потенцијалних антитуморских агенаса, као и тумачењу механизма њиховог токсичног деловања.

SUMMARY

After discovery of the anticancer properties of cisplatin, special attention was devoted to evaluation of gold(III) complexes as potential antitumor agents due to the fact that both Pt(II) and Au(III) ions possess the same d^8 electronic configuration and preferentially form square-planar complexes. The possible involvement of gold(III) complexes in cancer treatment initiated an interest in the area of gold(III) interactions with different biologically important ligands such as amino acids, peptides and proteins. However, the mechanism of antitumor activity of gold(III) complexes is not yet completely understood and further investigation of this subject is required. A better knowledge of the gold(III) reactions with peptides contributes to the future development of gold(III) complexes as potential antitumor agents and also has importance in relation to the severe toxicity of gold-based drugs.

The Introduction part of this thesis highlights recent findings in the field of gold(III) complexes with amino acids, peptides and proteins. The first part of this chapter provides an overview of the gold(III) reactions with amino acids, such as glycine, alanine, histidine, cysteine and methionine, while the second part is mainly focused on the results achieved in the mechanistic studies of the reactions between gold(III) and different peptides and structural characterization of gold(III)-peptide complexes as the final products in these reactions. Finally, the last part of Introduction deals with the reactions of gold(III) complexes with proteins as primary targets for cytotoxic gold compounds (B. Đ. Glišić, U. Rychlewska and M. I. Djuran, *Dalton Trans.*, **41** (2012) 6887-6901).

The Results and Discussion deals with spectroscopic and electrochemical investigations of gold(III) reactions with dipeptides containing no heteroatom in the side

chain, and with histidine- and methionine-containing dipeptides. Furthermore, resulting gold(III)-peptide complexes were characterized by application of X-ray crystallography. The proton NMR spectroscopy was applied to study the reactions of the dipeptides glycyl-glycine (Gly-Gly) and glycyl-L-alanine (Gly-L-Ala) with hydrogen tetrachloridoaurate(III) ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$). All reactions were performed in the pH range 2.00 – 5.00 and at 40 °C. When these reactions were carried out at pH 2.00 and 3.00, the formations of the Au(III)-peptide complexes containing tridentate coordinated Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides were observed. The $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ complexes, as the major products in the investigated reactions, were characterized by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. From the obtained spectroscopic data, it was concluded that coordination of the dipeptides to Au(III) ion occurred through the nitrogen atom of the terminal amino group, the deprotonated peptide nitrogen and the oxygen atom of carboxyl group. The fourth coordination place in these square-planar complexes was occupied by the chloride ion. However, when the reactions of the Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides with $[\text{AuCl}_4]^-$ were performed at pH > 3.00 (pH 4.00 and 5.00), reduction of Au(III) occurred during time and the complete reaction mixture was immediately dark from elemental gold. The $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ complex formation was two times faster ($k_2 = (1.63 \pm 0.07) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) than $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ ($k_2 = (0.71 \pm 0.06) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Difference in the reactivity between these two peptides was attributed to the steric hindrance of the methyl group of L-alanine. However, the reactions of $[\text{AuCl}_4]^-$ with Gly-Gly and Gly-L-Ala were one hundred times slower than with glycyl-L-histidine (Gly-L-His) ($k_2 = (124.00 \pm 0.30) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) (B. Đ. Glišić, S. Rajković, M. D. Živković and M. I. Djuran, *Bioorg. Chem.*, **38** (2010) 144-148).

In the second part of this chapter, two forms of gold(III) complex with Gly-L-His, hydrated $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ and unhydrated $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$, as well as $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ complex were synthesized and characterized by ^1H NMR spectroscopy and X-ray crystallography. In these complexes, L-histidine-containing dipeptides were coordinated to Au(III) ion through N3 nitrogen atom of the imidazole ring, deprotonated amide nitrogen and terminal amino group of glycine or L-alanine, while the fourth coordination place was occupied by the chloride ion. As a consequence of the Au...Cl interactions the square-planar coordination of Au(III) ion in $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ complexes is completed

to an elongated octahedron by two more distant chloride ions belonging to the neighbouring complexes (U. Rychlewska, B. Warzajtis, B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković and M. I. Djuran, *Dalton Trans.*, **39** (2010) 8906-8913).

Furthermore, the reactions of the monofunctional $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ complex, in which dien is diethylenetriamine tridentate coordinated to Au(III) ion, with L-histidine-containing dipeptides, namely L-histidyl-glycine (L-His-Gly) and glycyl-L-histidine (Gly-L-His), were studied by application of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. All reactions were performed in aqueous solution in the pD range 3.50 – 5.50 and at ambient temperature. When the reaction of this complex with N-terminal histidine-containing dipeptide, L-His-Gly, was performed in the investigated pD range, strongly selective coordination of the dipeptide through N3 imidazole nitrogen atom to Au(III) was observed, with formation of $[\text{Au}(\text{dien})(\text{L-His-Gly-N3})]^{3+}$ complex. However, in the reaction with the dipeptide containing C-terminal histidine Gly-L-His, tridentate coordination through the N3, deprotonated amide and amino nitrogen atoms with concomitant detachment of the dien ligand was occurred. No coordination of the carboxylate oxygen atom to Au(III) was observed by ^{13}C NMR spectroscopic measurements for investigated reactions under above mentioned experimental conditions (B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran, *J. Coord. Chem.*, accepted for publication).

Finally, the proton NMR spectroscopy was applied to study the reactions of the dipeptide glycyl-D,L-methionine (Gly-D,L-Met) and its *N*-acetyl derivative (Ac-Gly-D,L-Met) with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ complex. The corresponding dipeptide and $[\text{AuCl}_4]^-$ were reacted in 1:1, 2:1 and 3:1 molar ratios. All reactions were performed at pH 2.00 in 0.01 mol/dm^3 DCl in D_2O as solvent and at 25°C . It was found that the first step of these reactions was very fast coordination of Au(III) to the thioether sulfur with formation of the gold(III)-peptide complex $[\text{AuCl}_3(\text{R-Gly-Met-S})]$ (R = H or Ac). This intermediate further reacts with an additional methionine residue to generate the R-Gly-Met chlorosulfonium cation as the second intermediate product, which readily undergoes hydrolysis to give the R-Gly-Met sulfoxide as the final product of this redox process. The oxidation of the methionine residue in the reaction between Gly-D,L-Met and $[\text{AuCl}_4]^-$ was five times faster ($k_2 = 0.363 \pm 0.074 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) in comparison to the same process with *N*-acetylated derivative of this peptide ($k_2 = 0.074 \pm 0.007 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). The difference in the oxidation rates between these two peptides can be attributed to the free terminal amino group of Gly-D,L-Met dipeptide. The mechanism of the reaction between the Gly-D,L-Met dipeptide and $[\text{AuCl}_4]^-$ was

additionally investigated by UV-Vis and cyclic voltammetry (CV) techniques. From these measurements, it was shown that the $[\text{AuCl}_2]^-$ complex formed in the reaction with equimolar amounts of the reactants showed a strong tendency to disproportionate to $[\text{AuCl}_4]^-$ and metallic gold. However, in the presence of excess of the dipeptide, the resulting polynuclear Gly-D,L-Met-S-Au(I) and Ac-Gly-D,L-Met-S-Au(I) complexes showed themselves to be quite stable products (B. Đ. Glišić, S. Rajković, Z. Stanić and M. I. Djuran, *Gold Bull.*, **44** (2011) 91-98). The structure of the resulting product of gold(III)-induced oxidation of Gly-D,L-Met dipeptide was confirmed by X-ray crystallography. The crystal structure of $[\text{H}^+\text{Gly-D,L-Met sulfoxide}][\text{AuCl}_4]$ consists of discrete square-planar $[\text{AuCl}_4]^-$ anions and glycylmethionine sulfoxide cations. It was shown that the cations are disordered at the methionine side chain due to the presence, at the same crystal site, of two diastereomers differing in their configuration at the triply bonded S atom. The crystallization process of $[\text{H}^+\text{Gly-D,L-Met sulfoxide}][\text{AuCl}_4]$ complex is partially diastereoselective, leading to a substantial excess of one of two possible diastereoisomers (U. Rychlewska, B. Warzajtis, B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, **66** (2010) 51-54).

The results of this thesis can contribute to the development of new gold(III) complexes as potential antitumor agents and also can be important in relation to the severe toxicity of gold-based drugs.

1. ОПШТИ ДЕО

Кроз историју људске цивилизације, злато је заузимало посебно место у медицини као потенцијални лек за многе болести. Старе културе у Египту и Индији су користиле огрлице и амајлије од злата да би се заштитиле од злих духова, за које се веровало да могу проузроковати различита обољења [1,2]. Стари Египћани су сматрали да је злато бесмртно (непроменљиво, нерастворно и некорозивно) и повезивали су га са вечним животом. Прва употреба злата у медицини је забележена код старих Кинеза 2500. године пре нове ере [3-5], када су се фолија и прах од злата користили у лечењу чирева на кожи, великих богиња и зубобоље [5]. Стари Кинези су, такође, први открили да се лекови на бази злата могу користити и у лечењу плућних болести и болова у зглобовима [5].

У средњовековној Европи, алхемичари су користили злато за припремање еликсира живота, магичне супстанце која враћа младост и лечи све болести [6,7]. Пошто се прах од злата показао као изузетно токсичан у појединим случајевима, алхемичари су имали бројне рецепте за припрему еликсира познатог као *aurum potabile* или питко злато. Познати швајцарски лекар и алхемичар, Theophrastus von Hohenheim или Paracelsus (1493-1541), је преписивао *aurum potabile* у лечењу меланхолије јер чини „да нечије срце буде срећно” [7]. Почетком XVII века, злато је постало саставни део званичне листе лекова (фармакопеје), али га лекари нису често примењивали. Nicholas Culpeper (1616-1654) је користио злато у лечењу меланхолије, несвестице, грознице и епилепсије [7].

У XVIII веку, злато је избрисано са званичне листе лекова. Ситуација се значајно мења у XIX веку, када је J. A. Chrestien, француски лекар, употребио смешу злато(III)-хлорида и натријум-хлорида у лечењу сифилиса [7]. Chrestien је открио да

је злато незнатно ефикасније од живе у лечењу секундарног сифилиса и да изазива значајно мању токсичност. Охрабрен веома повољним резултатима из Француске, амерички лекар Leslie I. Keeley је користио смешу злато(III)-хлорида и натријум-хлорида у лечењу алкохолизма и других болести зависности са одличним резултатима [7].

Са открићем немачког бактериолога, Roberta Koch-а, 1890. године, да калијум-дицијанидоаурат(I), $K[Au(CN)_2]$, делује на бацил туберкулозе, *Mycobacterium tuberculosis*, започиње примена злата и његових једињења у савременој медицини [8]. После првобитне примене овог комплекса злата(I) у лечењу туберкулозе са охрабрујућим резултатима, откривено је и његово токсично деловање. Са циљем да се добију комплекси злата који показују антитуберкулозну активност и мање токсично деловање, синтетизовани су тиолато-злато(I) комплекси ($AuSR$) који су се интензивно примењивали од 1925. до 1935. године, због чега је овај период назван *златна декада* у терапији туберкулозе [9]. Ипак, показало се да су тиолато-злато(I) комплекси неефикасни у лечењу ове болести [10].

Погрешно уверење да је бацил туберкулозе узрочник реуматског артритиса¹, навело је Landé-а и Forestier-а да примене тиолато-злато(I) комплексе у лечењу ове болести 1929. године [11-13]. Међутим, Светско удружење реуматолога је признало позитивно дејство ових комплекса у лечењу реуматског артритиса тек након вишегодишњих испитивања, 1960. године [14]. Од тада се комплекси злата(I) примењују за лечење и других реуматских болести укључујући псоријазни, јувенилни и палиндромски артритис, као и системски еритемски лупус [15]. Метода лечења реуматског артритиса помоћу комплекса злата(I) се назива *хризотерапија* (од грчке речи *chrysos* што значи злато) и представља саставни део модерне медицине.

1.1. ПРИМЕНА ЗЛАТА И ЊЕГОВИХ КОМПЛЕКСНИХ ЈЕДИЊЕЊА У МЕДИЦИНИ

Злато (хемијски симбол Au, од латинске речи *aurum* што значи осветљавање) се налази у 11. групи Периодног система елемената, на крају треће серије прелазних

¹Реуматски артритис је системска болест везивног ткива хроничног или постепеног тока чије најизраженије промене воде до деструкције, деформације и укочености зглобова. Овом болешћу су најчешће погођени зглобови шаке, рамена, колена, стопала и глежњеве. Узрок болести је непознат али постоји сумња да болест може имати генетску предиспозицију, или може бити узрокована неким инфекцијама у организму.

метала. Електронска конфигурација основног стања атома злата је $[\text{Xe}]4f^{14}5d^{10}6s^1$. Попуњене d орбитале не заклањају ефикасно спољашњи $6s$ електрон од језгра, услед чега долази до његовог јаког привлачења, што за последицу има велику енергију јонизације (прва енергија јонизације износи 890,13 KJ/mol), високу тачку топљења (1064,18 °C) и релативно мали атомски радијус злата (144,2 ppm). Последица ових особина је велика стабилност и нереактивност овог метала. Елементарно злато не тамни и не оксидује се на ваздуху, чак ни на повишеној температури. Овај метал је, такође, изузетно стабилан према раствору киселина и база, а раствара се једино у царској води и у алкалном раствору цијанида, при чему се образује стабилни $[\text{AuCl}_4]^-$, односно $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ комплекс [16-19].

Злато је механички најковнији и најистегљивији метал, па се може извлачити у најфиније жице и листиће изванредно мале дебљине (око 10^{-5} mm) [16-19]. За разлику од већине метала, који су сиве или сребрnobеле боје, злато има карактеристичну жуту боју и сјај што га је одувек чинило симболом богатства и лепоте.

У комплексним једињењима злато се најчешће јавља у оксидационим стањима +1 и +3, док се у литератури помињу и комплекси са оксидационим стањем +2 и +5 [17-20]. Злато има оксидациони број +5 у комплексима са флуоридо лигандом, $[\text{AuF}_6]^-$ [21], али су та комплексна једињења нестабилна у воденом раствору и немају важну улогу у биолошким процесима. За разлику од њих, динуклеарни и дијамагнетични комплекси злата(II) са различитим хелатним лигандима [22-25], имају важну улогу као интермедијерни производи у току биолошког деловања комплекса злата(I). Преглед најважнијих оксидационих стања злата и могућих геометрија одговарајућих комплекса је дат у табели 1.

Примена колоидног злата у медицини

Колоидни раствор честица злата величине од 0,5 до 50,0 nm (колоидно злато) се користи у медицинским и биолошким истраживањима [26]. У зависности од начина добијања, величине и облика, колоидно злато може бити црвене, плаве или љубичасте боје. На површини колоидне честице се налази негативно наелектрисање преко кога се ова честица везује за протеине. Захваљујући томе, честице колоидног злата се користе у дијагностици и лечењу различитих врста тумора. Тако се, честице злата, обложене туморским антителима, везују за ћелије тумора које добијају златни

одсјај и могу се врло лако разликовати од здравих ћелија. Такође, јаснији снимак јетре се може добити тако што се у ткиво убризга колоид радиоактивног изотопа ^{198}Au . У козметици се користе третмани са колоидним златом за обнову зреле коже, јер елиминишу мрље и имају изванредне ефекте у подизању тонуса коже [27].

Табела 1. Најчешћа оксидациона стања злата у комплексним једињењима и могуће геометрије за одговарајуће оксидационо стање

Оксидационо стање и d електронска конфигурација	Координациони број (КБ)	Геометрија комплекса
Au(I), d^{10}	2*	Линеарна
	3	Тригонална
	4	Тетраедарска
Au(III), d^8	4*	Квадратно-планарна
	5	Тригонално-бипирамидална
	5	Квадратно-пирамидална
	6	Октаедарска

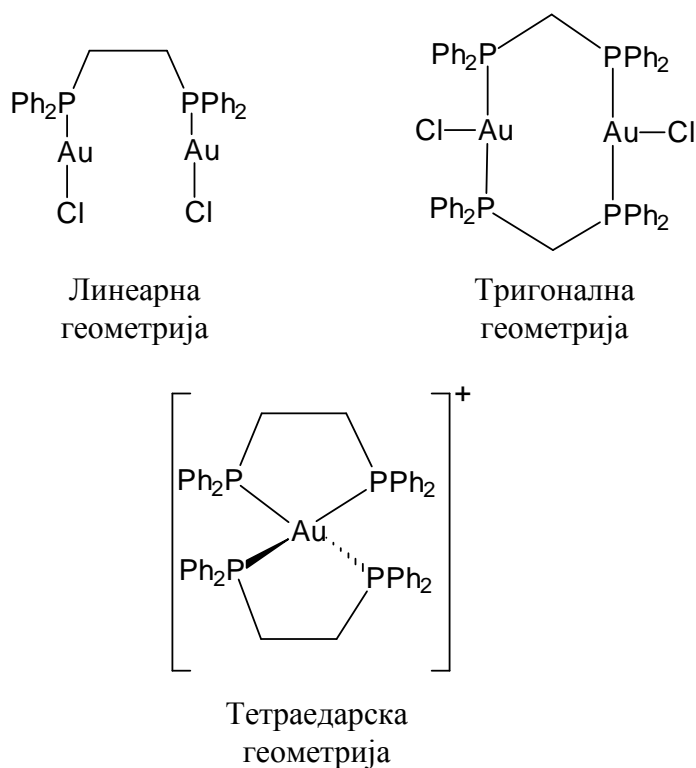
* Најчешћи координациони број

1.1.1. КОМПЛЕКСИ ЗЛАТА(I) И ЊИХОВА ПРИМЕНА У МЕДИЦИНИ

Структура комплекса злата(I)

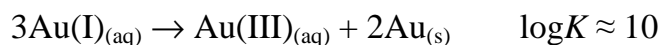
Злато(I) јон ($[\text{Xe}]4f^{14}5d^{10}$) је мека Lewis-ова киселина, па показује велики афинитет према лигандима који садрже меке донорске атоме, као што је сумпор у тиолима (RSH) и тиоетрима (R_2S), фосфор у терцијарним фосфинима (R_3P) и селен у RSe^- лиганду. Халогенидо, цијанидо, изоцијанидо и азидо лиганди се, такође, координују за Au(I) јон [17]. Рендгенска структурна испитивања су показала да је координациони број Au(I) јона у комплексима 2, 3 и 4. Линеарни комплекси са координационим бројем 2 су најбројнији и са биолошког аспекта најважнији. Комплекси са координационим бројем 3 углавном садрже један неутралан лиганд, као што је фосфин, и имају тригоналну геометрију, док је тетраедарска геометрија комплекса са координационим бројем 4 најчешће одређена употребом бидентатних фосфинских лиганата. Примери комплекса злата(I) са одговарајућом геометријом су приказани на слици 1. Дужина везе између Au(I) јона и донорског атома лиганда зависи од природе донорског атома, а за исти лиганд, дужина одговарајуће везе расте

са повећањем координационог броја. Комплекси злата(I) могу бити неутрални ($[\text{AuCl}(\text{PPh}_3)]$), позитивно ($[\text{Au}(\text{PPh}_3)_2]^+$) или негативно наелектрисани ($[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$).



Слика 1. Могуће геометрије комплекса злата(I)

Комплекси злата(I) се добијају редукцијом комплекса злата(III) са вишком одговарајућег фосфина или тиодигликола, при чему се као полазно једињење у ове сврхе обично користи $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекс. Међутим, у последње време се за добијање комплекса злата(I) све више примењују електролитичке методе. Добијање мање количине споредних производа и могући избор контра-анјона су предности ових метода у односу на редукционе [28]. Комплекси злата(I) су стабилни у неводеним апротичним растварачима, као што је ацетонитрил, док су изузетно нестабилни у воденом раствору, при чему се лако диспропорционишу према следећој једначини [29-31] на комплексе злата(III) и колоидно злато(0):



Постоје подаци да се ово диспропорционисање одвија *in vivo* преко миелопероксидазног система у белим крвним ћелијама [32-34], при чему се сматра да је настајање комплекса злата(III) у организму након третмана са комплексима злата(I) процес који изазива токсичне ефекте [32-34]. Стабилност комплекса злата(I)

се може повећати увођењем π -акцепторских лиганата, који са Au(I) јоном граде додатну донорско-акцепторску везу [35].

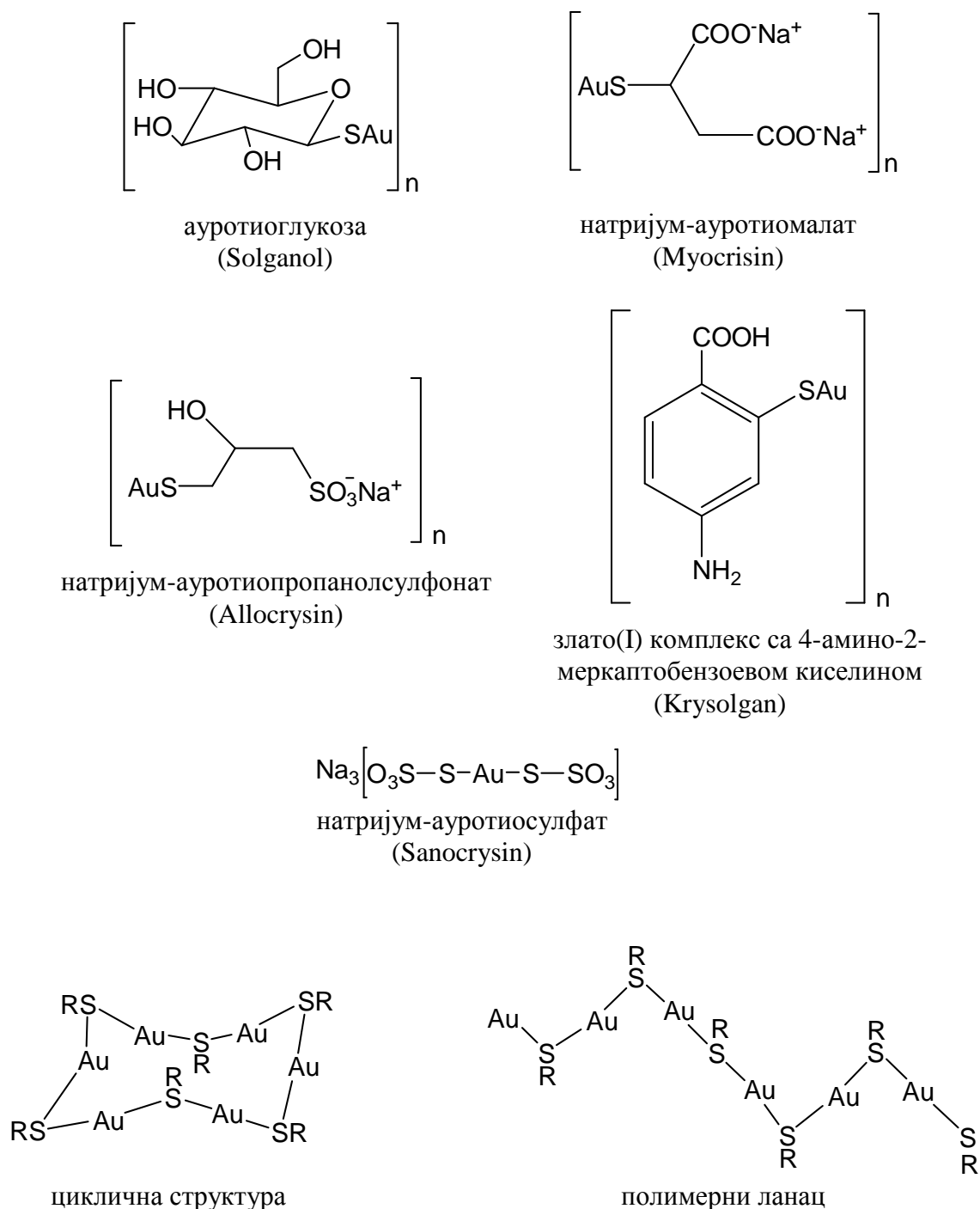
Примена комплекса злата(I) у лечењу реуматског артритиса

Комплекси злата(I) се користе у медицини за лечење тежих облика реуматског артритиса, али је њихова примена ограничена токсичним деловањем [36-43]. Према начину дозирања и дистрибуције у организму у току третмана реуматског артритиса, комплекси злата(I) се могу поделити у две групе. Тиолато-злато(I) комплекси (Слика 2), ауротиоглукоза (Solganol), натријум-ауротиосулфат (Sanocrysin), натријум-ауротиомалат (Myocrisin), натријум-ауротиопропанолсулфонат (Allocrysin) и комплекс злата(I) са 4-амино-2-меркаптобензоевом киселином (Krysolgan), у организам се уносе интравенозно (парентерално). У раствору, као и у чврстом стању, ови комплекси постоје у облику полимерних ланчаних, или цикличних структура у којима су појединачни молекули комплекса међусобно повезани преко атома сумпора (Слика 2).

Од свих комплекса приказаних на слици 2, применом рендгенске структурне анализе, потврђене су структуре натријум-ауротиосулфата (Sanocrysin) [44] и натријум-ауротиомалата (Myocrisin) [45]. Резултати рендгенске структурне анализе су показали да $[\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$ јон има линеарну структуру са S—Au—S углом од 176° и дужином Au—S везе од 2,28 Å, док је најмање растојање између два Au(I) јона 3,30 Å [44]. Натријум-ауротиомалат има полимерну структуру, у чврстом стању, при чему једна симетрична јединица садржи два различита атома злата [45]. Дужина Au₁—S везе (2,289(8) Å) је приближно једнака дужини Au₂—S везе (2,285(7) Å). Угао између S—Au₁—S веза износи $178,9(5)^\circ$, док угао између S—Au₂—S веза ($169,4(4)^\circ$) значајно одступа од 180° [45].

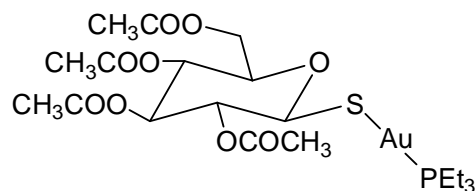
Тиолато-злато(I) комплекси се уносе у организам интравенозно у недељним или месечним дозама које садрже 50 mg злата [46]. Ови комплекси споро делују и потребна је терапија у трајању од 4 до 6 месеци, пре него што се приметне њихови корисни ефекти. Међутим, одмах након уношења тиолато-злато(I) комплекса у организам, долази до акумулације злата у појединим органима, нарочито у бубрезима, што доводи до појаве различитих обољења, као што су нефротоксичност, оштећење коштане сржи, појава разних врста дерматита, ранице у устима и

повремени поремећаји функције јетре. Да би се смањила наведена токсичност, често се након дозирања комплекса, вишак неадсорбованог злата из организма избацује помоћу D-пенициламина (β,β -диметил-D-цистеин) и 2,3-димеркаптопропанола због велике стабилности њихових комплекса са златом [47,48].



Слика 2. Структурне формуле комплекса злата(I) који се интравенозно користе у лечењу реуматског артритиса [36-46]

У циљу проналажења комплекса, који ће имати мању токсичност приликом лечења реуматског артритиса у односу на тиолато-злато(I) комплексе, синтетизовани су различити фосфински комплекси злата(I) и испитивана је њихова антиинфламаторна активност. Нађено је да $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ и $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)_2]$ комплекси показују значајну антиинфламаторну активност, али и да изазивају токсичне ефекте [49,50]. Примена ауранофина (2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-1-тио- β -D-глюкопиранозато-*S*)(триетилфосфин)злато(I), Ridaura) (Слика 3) у лечењу реуматског артритиса је одобрена од стране FDA (Food and Drug Administration) 1985. године. Рендгенска структурна анализа је показала да је овај комплекс у чврстом стању мономеран и да има линеарну геометрију са углом P—Au—S везе од $173,6^\circ$ и дужином Au—S и Au—P веза $2,293 \text{ \AA}$, односно $2,259 \text{ \AA}$ [51]. ^1H , ^{13}C и ^{31}P NMR спектроскопска мерења су показала да ауранофин има сличну структуру и у раствору [52,53].



Слика 3. Структурна формула ауранофина (орални начин примене) [51-53]

Ауранофин се уноси у организам орално у дневним дозама које садрже 3-6 mg злата. Приликом примене ауранофина, адсорпција злата у организму зависи од начина његовог дозирања. Ако се комплекс дозира у чврстом стању, после 24 сата проценат адсорбованог злата у организму је 20-25%, а ако се даје у облику етанолног раствора, онда је адсорпција злата у току 24 сата комплетна [54].

Фосфински комплекси злата(I) са тиобензоевом киселином, $[\text{Au}(\text{PhCOS})(\text{PEt}_3)]$ и супституисаним дериватима тиофенола, $[\text{Au}(o\text{-HOOC}_6\text{H}_4\text{S})(\text{PEt}_3)]$ и $[\text{Au}(o\text{-H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{S})(\text{PEt}_3)]$, показују антиреуматску активност приликом примене на пацовима, али се не примењују клинички у лечењу реуматског артритиса [55]. Такође, квасац који садржи 0,5% злата је веома ефикасан у лечењу јувенилног артритиса [56].

Механизам деловања комплекса злата(I) у лечењу реуматског артритиса

Након дозирања, комплекси злата(I) подлежу супституционим реакцијама. Тиолато-злато(I) комплекси, који се у организам уносе интравенозно, везују се за

протеин албумин преко тиолне групе цистеина (Cys34) [57]. Ауранофин се, такође, везује за албумин, при чему се тетраацетилтиоглукозидни лиганд у комплексу супституише тиолном групом из Cys34 [58]. При томе долази до елиминације фосфинског лиганда и формирања триетилфосфин оксида, Et₃PO, који је идентификован у урину пацијената, након третмана ауранофином [59]. Преко албумина Au(I) јон доспева у ћелију где се даље везује за трипептид глутатион (γ-L-глутамил-L-цистеинил-глицин; GSH), а метаболит [Au(GS)₂]⁻ може бити излучен из ћелије, при чему се Au(I) поново везује за албумин [60]. Дицијанидоаурат(I) комплекс, [Au(CN)₂]⁻ је главни метаболит код свих антиреуматских комплекса злата(I) и нађен је у урину пацијената [61], чиме је доказано да CN⁻ има веома важну улогу у процесу антиреуматског деловања комплекса злата(I) у организму. Познато је да ензим миелопероксидаза преводи ауротиомалат у [Au(CN)₂]⁻, који улази у ћелију и спречава оксидативно сагоревање белих крвних зрнаца и, тако, ублажава секундарне ефекте хроничне упале у зглобовима пацијената [62]. Међутим, у присуству миелопероксидазе, хлоридни јон се оксидује до хипохлорита, који даље оксидује Au(I) јон у ауранофину, ауротиомалату и [Au(CN)₂]⁻ до Au(III) јона. Претпоставља се да је настајање Au(III) јона процес који изазива различите токсичне ефекте [34].

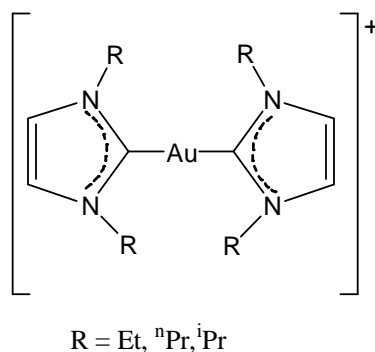
Антитуморска активност комплекса злата(I)

Осим значајне антиинфламаторне, нађено је да комплекси злата(I) показују и активност према различитим ћелијским линијама тумора [63]. Најпре су Lorber и сарадници, 1979. године, пронашли да ауранофин (Слика 3) показује *in vitro* цитотоксичну активност према HeLa туморским ћелијама [64]. Каснија истраживања су показала да ауранофин има сличну, или чак већу *in vitro* цитотоксичну активност према различитим ћелијским линијама од цисплатине, али да је у *in vivo* условима антитуморски активан једино према P388 ћелијској линији (леукемија код мишева), када се дозира интравенозно [65]. Mirabelli и сарадници су испитивали повезаност између *in vitro* цитотоксичне и *in vivo* антитуморске активности 63 комплекса злата(I) опште формуле AuXL према V16 (меланом код мишева) и P388 ћелијским линијама [66]. Цитотоксична активност *in vitro* према V16 ћелијској линији је утврђена за комплексе злата(I) у којима је L фосфински тип лиганда. Сматра се да су ови комплекси активни услед повећане липофилности коју обезбеђује алкил- или

фенилфосфински лиганд. Насупрот томе, тиолато-злато(I) комплекси нису показали значајну цитотоксичност, као ни хлоридозлато(I) комплекси са сулфидима, пиридином, хексаметилентетраамином и циклооктенем. Од свих комплекса злата(I) који не садрже фосфински лиганд, једино хлоридо(триетиларсин)злато(I) показује цитотоксичну активност, која је осам пута мања од активности одговарајућег фосфинског комплекса. Међутим, *in vitro* цитотоксична активност не указује да ће одговарајући комплекс бити активан у *in vivo* условима. Нађено је да највећу *in vivo* анти туморску активност имају комплекси који садрже и фосфински лиганд и тиошећер, при чему се анти туморска активност мења у зависности од врсте фосфинског лиганда [66].

Анти туморску активност показују и тетраедарски комплекси злата(I) са дифосфинима као лигандима [67-69]. На слици 1 је представљена структурна формула тетраедарског $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ комплекса (где је dppe 1,2-*bis*(дифенилфосфино)етан), који је активан према различитим туморским ћелијама. Међутим, овај комплекс није нашао примену у лечењу тумора, јер спречава нормално функционисање митохондрија и изазива озбиљна обољења срца, јетре и плућа. Резултати испитивања комплекса опште формуле $[\text{Au}(\text{R}_2\text{P}(\text{CH}_2)_n\text{PR}_2)_2]\text{Cl}$ су показали да највећу активност имају комплекси код којих је $\text{R} = \text{R}^1 = \text{фенил}$ и $n = 2, 3$ или *cis*- $\text{CH} = \text{CH}$ [67-69]. Уопштено, анти туморска активност ових комплекса се значајно смањује, или чак потпуно губи, заменом фенил група на атому фосфора неким другим групама. Такође, нађено је да анти туморска активност динуклеарних комплекса злата(I), $[\text{ClAu}(\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_n\text{PPh}_2)\text{AuCl}]$ ($n = 1 - 6$) и $[\text{XAu}(\text{dppe})\text{AuX}]$ ($\text{X} = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{AcO}^-, \text{GluS}^-, (\text{Ac})_4\text{GluS}^-$), зависи од могућности ових комплекса да у реакцији са тиолима, који су присутни у крвној плазми, формирају $[\text{Au}(\text{L-P,P})_2]^+$ комплексне врсте (где је L одговарајући лиганд) [69,70].

На слици 4 је приказана структурна формула анти туморски активних комплекса злата(I) опште формуле $[\text{Au}(\text{R}_2\text{Im})_2]^+$, где је R = етил (Et), n-пропил (^nPr) и изопропил (^iPr), а Im имидазол [71]. Највећу анти туморску активност у овој групи комплекса злата(I) показује $[\text{Au}(^i\text{Pr}_2\text{Im})_2]^+$ комплекс који садржи рачвасте изопропил групе на атомима азота имидазоловог прстена.

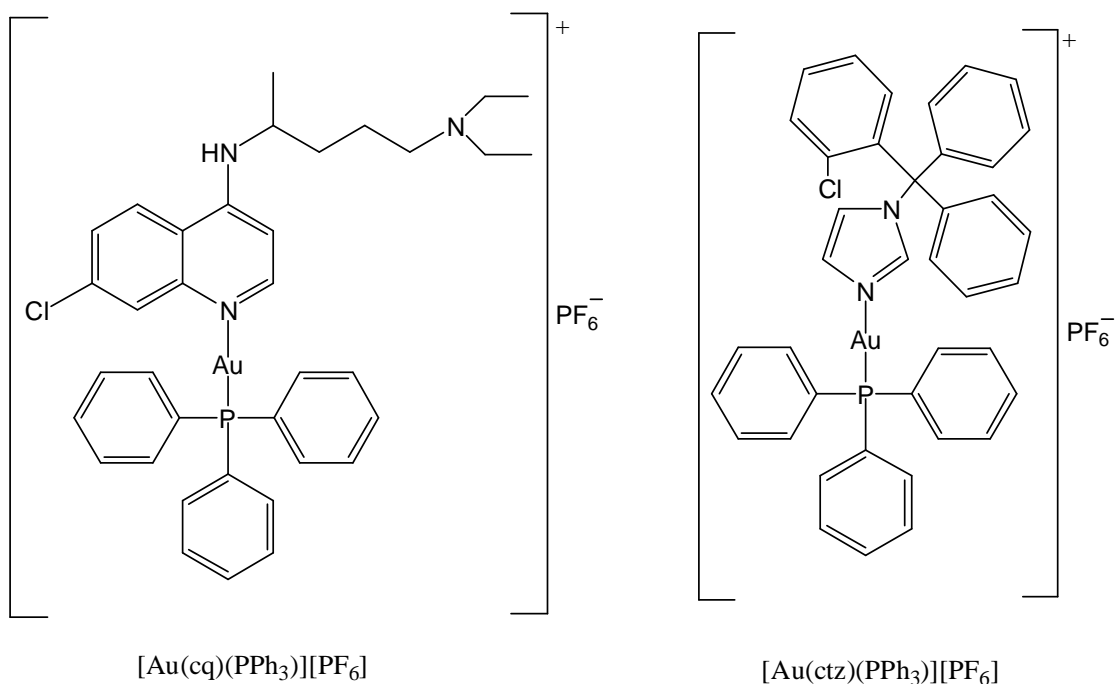


Слика 4. Структурна формула антитуморски активног $[\text{Au}(\text{R}_2\text{Im})_2]^+$ комплекса (R = етил (Et), n-пропил (ⁿPr) и изопропил (ⁱPr); Im имидазол) [71]

Антипаразитска активност комплекса злата(I)

Комплекси злата(I) показују активност према паразитима који су узрочници маларије, лајшманиозе, Chagas-ове болести (америчке трипанозомијазе) и шистозомијазе [72]. Нађено је да $[\text{Au}(\text{cq})(\text{PPh}_3)][\text{PF}_6]$ комплекс (Слика 5), где је cq хлорокин, лек који се користи у лечењу маларије, инхибира раст паразита *Plasmodium berghei* који узрокује маларију код глодара у *in vitro* условима, али и да је ефикасан према FcB1 и FcB2 врстама *Plasmodium falciparum* паразита [73]. Осим тога, овај комплекс показује 5 – 10 пута већу антималяријску активност од хлорокин-дифосфата (cqdp), што указује на чињеницу да координација хлорокина преко азотовог атома хинолинског прстена за Au(I) јон значајно доприноси повећању антималяријске активности. Ауранофин и $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ комплекси такође инхибирају раст *Plasmodium falciparum* паразита при концентрацији од 142 nmol/dm³ за ауранофин, односно 2,1 μmol/dm³ за $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ комплекс [74]. Натријум-ауротиомалат није показао антималяријску активност [74], али је употребљен веома успешно у лечењу пацијената оболелих од лајшманиозе [75].

Комплекси злата(I) са клотримазолом (Слика 5) и кетоконазолом, који су добро познати антигљивични агенси, показују активност према паразиту *Trypanosoma cruzi* који је узрочник Chagas-ове болести или америчке трипанозомијазе [76], док су ауранофин, ауротиоглукоза и натријум-ауротиомалат активни према паразиту који изазива шистозомијазу [77]. Важно је напоменути да од шистозомијазе, годишње у свету умре 280000 људи и да још увек не постоји одговарајућа вакцина, што даје посебан значај даљем испитивању комплекса злата(I) као потенцијалних агенаса у лечењу ове болести.

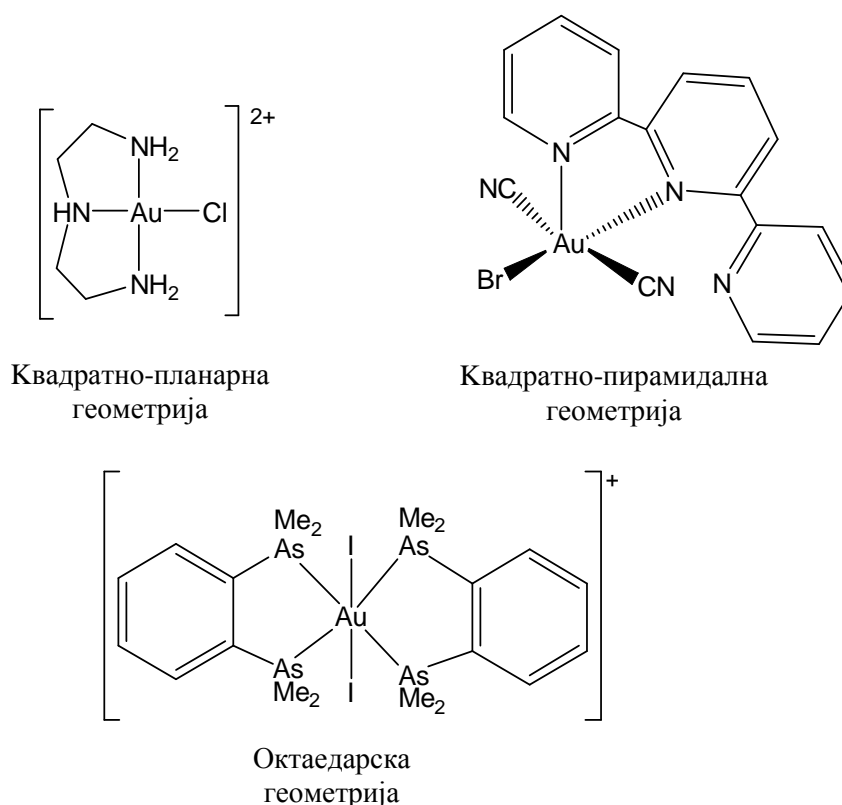


Слика 5. Структурне формуле неких антипаразитски активних комплекса злата(I), где је cq хлорокин и ctz клотримазол [73,76]

1.1.2. КОМПЛЕКСИ ЗЛАТА(III) И ЊИХОВА ПРИМЕНА У МЕДИЦИНИ

Структура комплекса злата(III)

Злато(III) јон ($[\text{Xe}]4f^{14}5d^8$) има мањи јонски радијус ($0,85 \text{ \AA}$) у односу на злато(I) ($1,37 \text{ \AA}$), па је мање поларизабилан. Показује велики афинитет за лиганде који садрже донорске атоме азота и кисеоника (тврде Lewis-ове базе). Поред тога, познати су и комплекси злата(III) са хлоридо, бромидо, цијанидо и азидо лигандима [17]. Комплекси злата(III), најчешће, имају квадратно-планарну геометрију, али су могући и комплекси са квадратно-пирамидалном, тригонално-бипирамидалном и октаедарском геометријом. Дужине веза у комплексима злата(III) су мање од одговарајућих веза у комплексима злата(I), али те разлике нису велике. У тригонално-бипирамидалним и октаедарским комплексима, аксијалне везе су дуже од екваторијалних. Примери комплекса злата(III) са одговарајућим геометријама су приказани на слици 6.



Слика 6. Могуће геометрије комплекса злата(III)

Антитуморска активност комплекса злата(III)

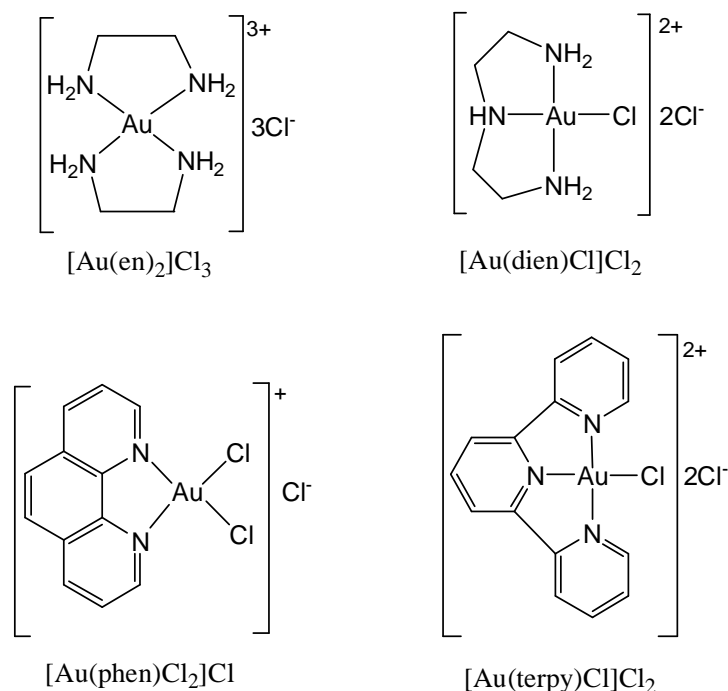
Пошто су Au(III) и Pt(II) изоелектронски јони (d^8 електронска конфигурација), након открића антитуморских особина *cis*-диамминдихлоридоплатина(II) комплекса [78-80], било је за очекивати да ће и квадратно-планарни комплекси злата(III), такође, имати одговарајуће антитуморско деловање. Међутим, у поређењу са комплексима платине(II), комплекси злата(III) су мање стабилни при физиолошким условима ($\text{pH} = 7,40$; $37\text{ }^\circ\text{C}$). Наиме, комплекси злата(III) имају високе вредности редокс потенцијала, што говори о њиховим изразитим оксидационим особинама, при чему се лако редукују до елементарног злата, што их чини мање антитуморски ефикасним и токсичнијим. Међутим, крајем XX и почетком XXI века, синтетизован је велики број комплекса злата(III), који имају већу стабилност при физиолошким условима, мању токсичност и завидну *in vitro* и *in vivo* антитуморску активност према различитим ћелијским линијама тумора [81-92]. Да би се повећала стабилност Au(III) јона, у синтезама нових комплекса коришћени су различити полидентатни лиганди, као што су полиамини, терпиридин,

фенантролин, деривати фенилпиридина, бипиридина и порфирина, пептиди који садрже аминокиселину L-хистидин и дитиокарбамати.

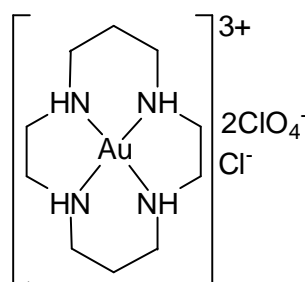
Резултати испитивања комплекса злата(III) су показали да се њихова антитуморска активност, у већини случајева, може приписати присуству Au(III) јона, јер већина лиганда употребљених за синтезу комплекса не показује значајну антитуморску активност. На пример, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекс, Gly-L-His је дипептид глицил-L-хистидин, показује значајну антитуморску активност према A2780/S ћелијској линији (карцином јајника код жена), док су комплекси Gly-L-His дипептида са другим јонима метала, Zn(II), Co(II), Pd(II) и Pt(II), практично неактивни када се врше тестови на истој ћелијској линији [81]. Треба напоменути да дипептид глицил-L-хистидин не показује антитуморску активност.

Познато је да комплекси платине(II), који показују антитуморску активност, у својој структури најчешће имају два монодентатна анјонска, или један бидентатни анјонски лиганд, који се у ћелији супституишу са доносним атомима азота из ДНК молекула. Ова структурна карактеристика, међутим, није неопходна за биолошку активност комплекса злата(III). Комплекси *bis*(етилендиамин)злато(III)-хлорид, $[\text{Au}(\text{en})_2]\text{Cl}_3$ (где је en бидентатно координовани етилендиамин), који у својој структури не садржи хлоридо лиганд координован за Au(III) јон, и $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ (где је dien тридентатно координовани диетилентриамин) показују сличну антитуморску активност према A2780/S ћелијској линији [82]. Структурне формуле неких антитуморски активних комплекса злата(III) са полиаминима као лигандима су приказане на слици 7.

Велика стабилизација Au(III) јона има за последицу његову смањену реактивност, а самим тим и слабије антитуморско деловање одговарајућих комплекса. На пример, $[\text{Au}(\text{cyclam})](\text{ClO}_4)_2\text{Cl}$ комплекс, (cyclam = 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан), чија је структурна формула приказана на слици 8, услед велике стабилизације Au(III) јона не показује значајну антитуморску активност [82].

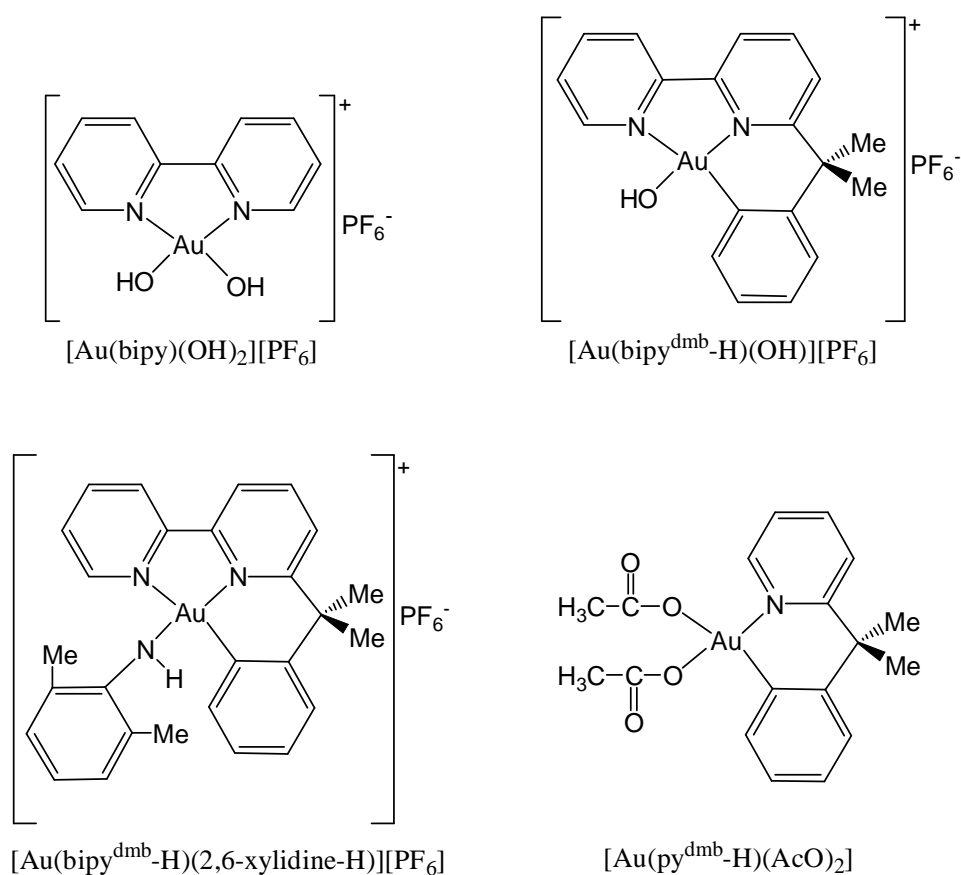


Слика 7. Структурне формуле неких антитуморски активних комплекса злата(III) са аминским лигандима [82]



Слика 8. Структурна формула $[\text{Au}(\text{cyclam})](\text{ClO}_4)_2\text{Cl}$ комплекса [82]

Антитуморску активност показују мононуклеарни и динуклеарни комплекси злата(III), који садрже координовани 2,2'-бипиридин (bipy) или његове деривате [83-85]. Структурне формуле антитуморски активних мононуклеарних комплекса злата(III) са дериватима 2,2'-бипиридина су приказане на слици 9. Структурне формуле неких антитуморски активних динуклеарних комплекса злата(III) опште формуле $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(\text{L-N,N}')_2][\text{PF}_6]_2$ ($\text{L-N,N}' = 2,2'$ -бипиридин или неки његов дериват) приказане су на слици 10 [85]. Ови комплекси садрже $\text{Au}_2\text{O}_2^{2+}$ структурну јединицу у којој су два $\text{Au}(\text{III})$ јона двоструко повезани са мостним кисеоничним лигандом.

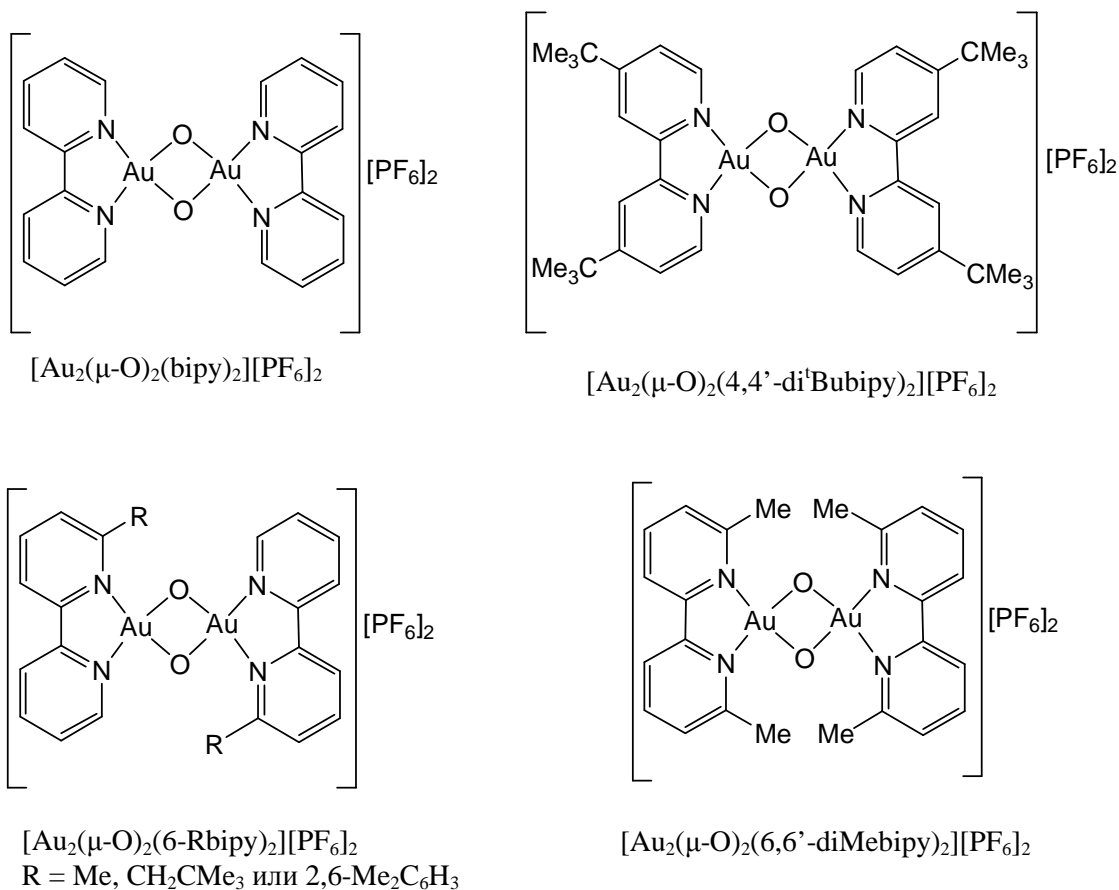


Слика 9. Структурне формуле антитуморски активних комплекса злата(III) са дериватима 2,2'-бипиридина [83,84]

У табели 2 су приказане IC_{50} вредности² ($\mu\text{M} = \mu\text{mol}/\text{dm}^3$), које су одређене након 72 сата деловања различитих комплекса злата(III) на ћелије карцинома јајника код жена (сензитивна (A2780/S) и резистентна (A2780/R) ћелијска линија на *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$). Из ове табеле се може видети да већина испитиваних комплекса, осим $[\text{Au}(\text{cyclam})](\text{ClO}_4)_2\text{Cl}$, показује значајну *in vitro* антитуморску активност према референтној A2780/S ћелијској линији, при чему су IC_{50} вредности у интервалу од 0,2 до 25,4 μM . Од свих приказаних комплекса у табели 2, једино $[\text{Au}(\text{terpy})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекс има IC_{50} вредност мању од IC_{50} вредности цисплатине, што значи да овај комплекс злата(III) има и већу антитуморску активност према A2780/S ћелијској линији. Као што се види, најмању антитуморску активност показују динуклеарни комплекси злата(III). Међутим, може се приметити да увођење различитих алкил- или арил- супституената на положајима 6 и 6' бипиридин лиганда у динуклеарним

² IC_{50} вредност је квантитативна мера која показује колико је одређеног лека или друге супстанце (инхибитора) потребно за инхибицију одређеног биолошког процеса (или компоненте биолошког процеса, тј. ензима или микроорганизма) за половину. Другим речима, то је половина максималне концентрације инхибитора (50% IC или IC_{50}).

комплексима утиче у великој мери на њихову реактивност и антитуморску активност [85]. На пример, дериват 6,6'-диметил-2,2'-бипиридина, $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(6,6'\text{-diMebipy})_2][\text{PF}_6]_2$, показује антитуморску активност према A2780/S и A2780/R ћелијским линијама 5-15 пута већу у поређењу са осталим динуклеарним комплексима (Табела 2) [85]. Од свих лиганата, коришћених за синтезу комплекса злата(III), једино су 2,2':6',2''-терпиридин и 1,10-фенантролин антитуморски активни.



Слика 10. Структурне формуле неких антитуморски активних динуклеарних комплекса злата(III) [85]

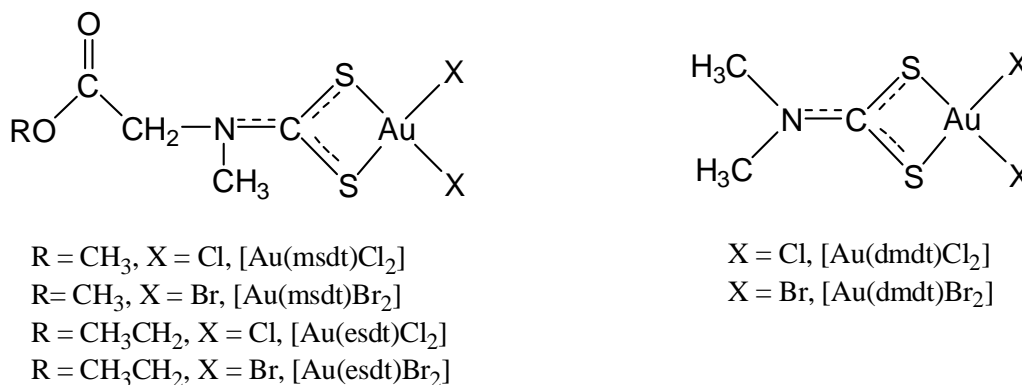
Последњих неколико година посебну пажњу привлаче комплекси злата(III) са дитиокарбаматом и његовим дериватима, опште формуле $[\text{Au}(\text{dtc})\text{X}_2]$, где је $\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- и dtc дитиокарбамато лиганд (Слика 11) [87,88]. На онову резултата *in vitro* и *in vivo* испитивања закључено је да ови комплекси показују већу антитуморску активност и мању нефротоксичност у поређењу са цисплатином. Важно је напоменути да се комплекси $[\text{Au}(\text{dmdt})\text{Br}_2]$ (dmdt = *N,N*-диметилдитиокарбамат) и $[\text{Au}(\text{esdt})\text{Br}_2]$ (esdt = етил-саркозиндитиокарбамат) тренутно испитују на

међународном Институту за борбу против рака, са могућношћу да се у будућности и примене у лечењу ове болести [88].

Табела 2. IC₅₀ вредности (µМ) неких комплекса злата(III) у односу на цисплатину, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], као референтни комплекс. Вредности су одређене након 72 сата деловања комплекса на ћелије карцинома јајника код жена (сензитивна (A2780/S) и резистентна (A2780/R) ћелијска линија на цисплатину)

Комплекс	A2780/S	A2780/R	Реф.
<i>cis</i> -[PtCl ₂ (NH ₃) ₂]	1,22±0,43	14,16±2,72	[82]
[Au(en) ₂]Cl ₃	8,36±0,77	17,0±4,24	[82]
[Au(dien)Cl]Cl ₂	8,2±0,93	18,7±2,16	[82]
[Au(cyclam)](ClO ₄) ₂ Cl	99,0	>120,0	[82]
[Au(terpy)Cl]Cl ₂	0,2	0,37±0,032	[82]
[Au(phen)Cl ₂]Cl	3,8±1,1	3,49±0,91	[82]
[Au(Gly-L-His-N,N',N'')Cl]Cl·3H ₂ O	5,2±1,63	8,5±2,3	[81]
[Au(bipy ^{dmb} -H)(OH)][PF ₆]	3,3±1,4	8,2±1,5	[83]
[Au(bipy)(OH) ₂][PF ₆]	8,8±3,9	24,1±8,7	[83]
[Au(bipy ^{dmb} -H)(2,6-xylylidine-H)][PF ₆]	2,50±0,43	5,7±0,3	[84]
[Au(py ^{dmb} -H)(AcO) ₂]	2,90±0,34	6,40±1,0	[84]
[Au ₂ (µ-O) ₂ (bipy) ₂][PF ₆] ₂	22,8±1,53	23,3±0,35	[85]
[Au ₂ (µ-O) ₂ (4,4'-di ^t Bubipy) ₂][PF ₆] ₂	12,1±1,5	13,5±1,8	[85]
[Au ₂ (µ-O) ₂ (6-Mebipy) ₂][PF ₆] ₂	25,4±2,47	29,8±3,1	[85]
[Au ₂ (µ-O) ₂ (6-CH ₂ CMe ₃ bipy) ₂][PF ₆] ₂	12,7±1,06	19,8±1,8	[85]
[Au ₂ (µ-O) ₂ (6-(2,6-Me ₂ C ₆ H ₃)bipy) ₂][PF ₆] ₂	11,0±1,5	13,2±1,2	[85]
[Au ₂ (µ-O) ₂ (6,6'-diMebipy) ₂][PF ₆] ₂	1,79±0,17	4,81±0,5	[85]

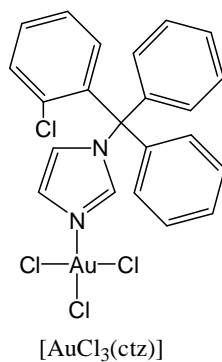
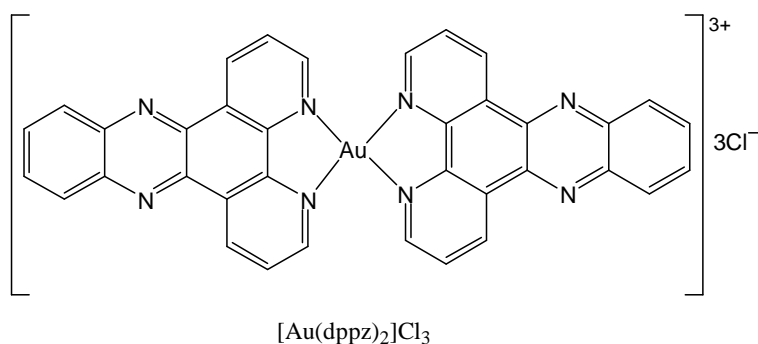
en = етилендиамин; dien = диетилентриамин; cyclam = 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан; terpy = 2,2':6',2''-терпиридин; phen = 1,10-фенантролин; Gly-L-His = глицил-L-хистидин; bipy = 2,2'-бипиридин; bipy^{dmb} = 6-(1,1-диметилбензил)-2,2'-бипиридин; 2,6-xylylidine = 2,6-диметиланилин; py^{dmb} = 2-(1,1-диметилбензил)-пиридин; 4,4'-di^tBubipy = 4,4'-дитерцбутил-2,2'-бипиридин; 6-Mebipy = 6-метил-2,2'-бипиридин; 6-CH₂CMe₃bipy = 6-неопентил-2,2'-бипиридин; 6-(2,6-Me₂C₆H₃)bipy = 6-(2,6-диметилфенил)-2,2'-бипиридин; 6,6'-diMebipy = 6,6'-диметил-2,2'-бипиридин



Слика 11. Структурне формуле неких антитуморски активних комплекса злата(III) са дериватима дитиокарбамата [87,88]

Антипаразитска активност комплекса злата(III)

Осим антитуморске, комплекси злата(III) показују и антипаразитску активност према паразитима који изазивају маларију, лајшманиозу и Chagas-ову болест [72]. Комплекс злата(III) са хлорокином, $[\text{Au}(\text{cq})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}$ је активнији од хлорокин-дифосфата према К1 врсти *Plasmodium falciparum* паразита, који изазива



Слика 12. Структурне формуле неких антипаразитски активних комплекса злата(III), где је dppz 2,5-bis(2-пиридил)пиазин и ctz клотримазол [94,95]

маларију [93]. Комплекс $[\text{Au}(\text{dppz})_2]\text{Cl}_3$, где је dppz 2,5-*bis*(2-пиридил)пиразин (Слика 12), показује знатно већу активност према паразиту *Leishmania mexicana* који је узročник лајшманиозе, од комплекса $\text{Cu}(\text{II})$ и $\text{Ag}(\text{I})$ са истим лигандом [94]. Антипаразитска активност овог комплекса је приписана његовој способности да реагује са ДНК молекулом. На слици 12 је приказана и структурна формула комплекса злата(III) са клотримазолем, $[\text{AuCl}_3(\text{ctz})]$, који је незнатно активнији према паразиту *Trypanosoma cruzi*, узročнику Chagas-ове болести, од самог клотримазола [95].

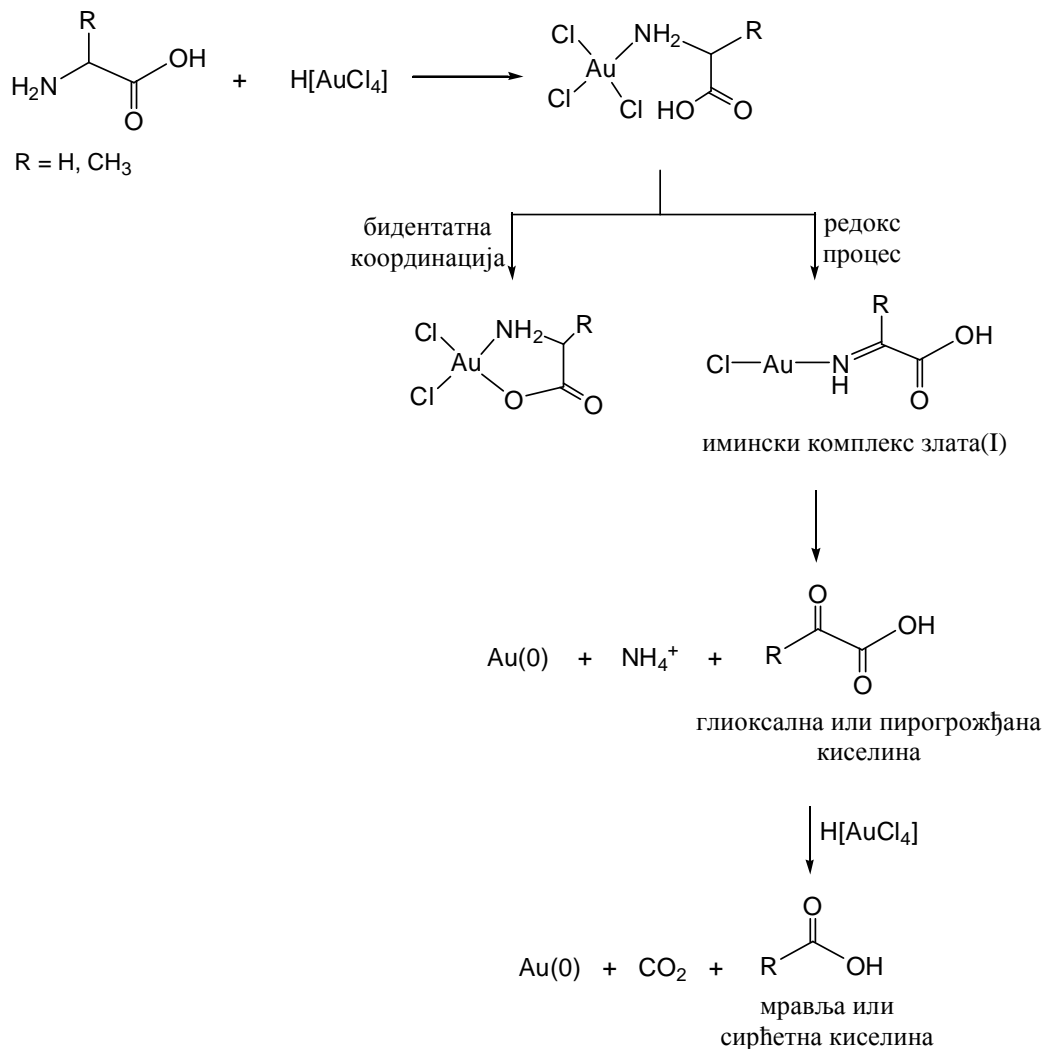
1.2. РЕАКЦИЈЕ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА АМИНОКИСЕЛИНАМА, ПЕПТИДИМА И ПРОТЕИНИМА

1.2.1. РЕАКЦИЈЕ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА АМИНОКИСЕЛИНАМА

Глицин и L-аланин

Реакције између тетрахлоридаурата(III), $[\text{AuCl}_4]^-$, и глицина (Gly), односно L-аланина (L-Ala), у 1:2 молском односу су испитиване у воденом раствору на собној температури на $\text{pH} = 2,44$ за Gly, односно $\text{pH} = 2,90$ за L-Ala [96,97]. Интермедијерни и крајњи производи ових реакција су идентификовани и окарактерисани применом ^{13}C и ^{15}N обележених аминокиселина и мултинуклеарне NMR спектроскопије (^1H , 2D [$^1\text{H}, ^1\text{H}$] COSY, 2D [$^1\text{H}, ^{15}\text{N}$] HSQC-TOSCY, ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ DEPT, 2D [$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$] HSQC NMR). Нађено је да обе аминокиселине подлежу деаминацији и декарбоксилацији у присуству $\text{Au}(\text{III})$ јона, при чему је предложени механизам приказан на слици 13. У првој фази ових реакција долази до координације атома азота амино групе за $\text{Au}(\text{III})$, при чему настаје мононуклеарни $[\text{AuCl}_3(\text{X-N})]$ комплекс ($\text{X} = \text{Gly}$ или L-Ala). Овај комплекс је нестабилан и може прећи у стабилан и нереактиван $[\text{Au}(\text{X-N}, \text{O})\text{Cl}_2]$ комплекс, у коме је аминокиселина бидентатно координована за $\text{Au}(\text{III})$ јон преко атома азота из амино групе и кисеониковог атома депротоноване карбоксилне групе одговарајуће аминокиселине. Такође, може доћи и до интрамолекулског трансфера два електрона са атома азота амино групе на $\text{Au}(\text{III})$ јон у $[\text{AuCl}_3(\text{X-N})]$ комплексу, при чему настаје имински комплекс злата(I). Добијени злато(I) комплекс је нестабилан и подлеже хидролизи, при чему настаје глиоксална киселина од глицина, односно пирогрођана киселина од L-аланина, са истовременим издвајањем елементарног злата, $\text{Au}(0)$, и NH_4^+ јона. Глиоксална и

пирогрожђана киселина подлежу декарбоксилацији у реакцији са $[\text{AuCl}_4]^-$ комплексом, при чему настају мравља, односно сирћетна киселина, угљеник(IV)-оксид и $\text{Au}(0)$ [96,97].

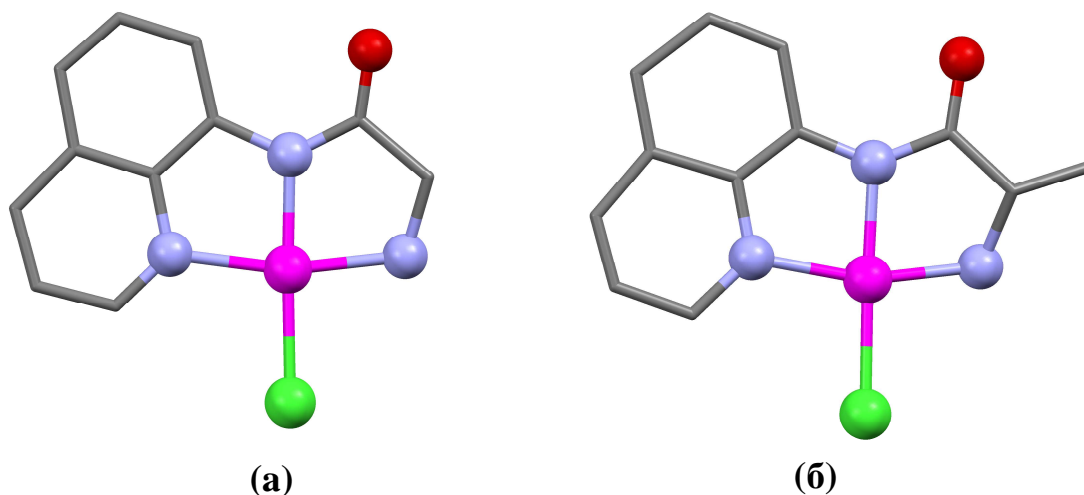


Слика 13. Механизам оксидације глицина и L-аланина у присуству $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса [96,97]

Оксидација глицина и L-аланина у присуству $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса је испитивана спектрофотометријски као реакција *псеудо*-првог реда у ацетатном пуферу, у рН области 3,73 – 4,77 [98,99]. Под наведеним експерименталним условима, улогу оксидационог средства имају две комплексне врсте, $[\text{AuCl}_4]^-$ и $[\text{AuCl}_3(\text{OH})]^-$. Нађено је да повећање концентрације H^+ и Cl^- јона има инхибирајући ефекат на брзину ових реакција, што је у складу са чињеницом да, у овом случају, опада концентрација реактивнијег $[\text{AuCl}_3(\text{OH})]^-$ комплекса. Оксидација глицина у

присуству Au(III) јона је бржа од оксидације L-аланина, при чему је ова разлика приписана стерном ефекту метил групе L-аланина.

У реакцији $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса са хинолинским дериватима глицина и L-аланина, HQuingly и HQuinala, добијена су и рендгенском структурном анализом окарактерисана два веома стабилна комплекса злата(III), $[\text{Au}(\text{Quingly})\text{Cl}]\text{Cl}$ и $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]\text{Cl}$ [100]. Рендгенска структурна анализа је показала да је аминоквинолински лиганд координован за Au(III) јон преко три атома азота, док четврто координационо место заузима хлоридо лиганд (Слика 14). Испитивана је антитуморска активност ових комплекса према различитим ћелијским линијама тумора. Резултати су показали да је комплекс $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]\text{Cl}$ активан према В16-ВL6 ћелијској линији, са брзином инхибиције 67,52% при концентрацији од 10^{-7} mol/dm^3 .

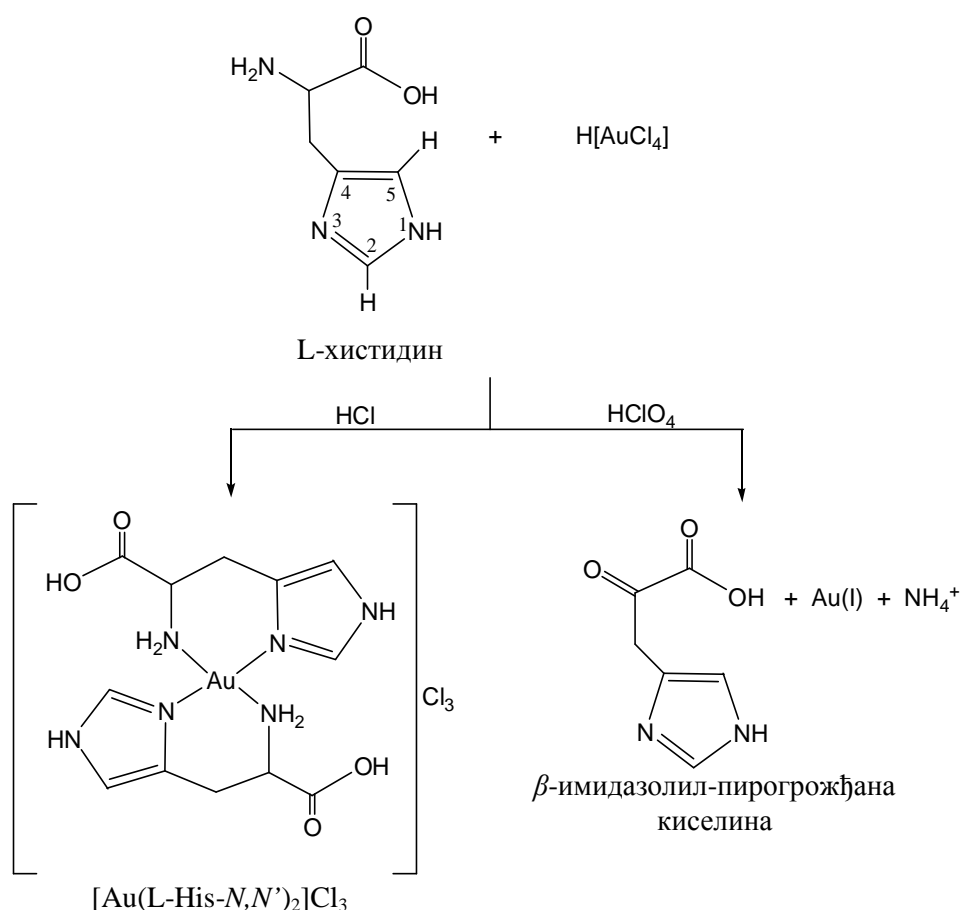


Слика 14. Структура комплексних $[\text{Au}(\text{Quingly})\text{Cl}]^+$ (а) и $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]^+$ (б) катјона у кристалима $[\text{Au}(\text{Quingly})\text{Cl}]\text{Cl}$ и $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]\text{Cl}$ комплекса [100]

L-Хистидин

L-Хистидин је веома важна аминокиселина у биолошким системима за координацију јона метала, јер се налази у активном центру многих ензима [101-103]. Структура комплекса јона метала са L-хистидином зависи од особина одговарајућег јона и рН вредности раствора. Cuadrado и сарадници су испитивали реакцију $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса са еквимоларном количином L-хистидин монохидрохлорида у воденом раствору на собној температури [104]. Структура L-хистидин-Au(III)

комплекса је одређена применом NMR (^1H , ^{13}C) и IR спектроскопије, капиларне електрофорезе (CE), капиларне електрофорезе купловане са индуковано спрегнутом плазмом и масеним спектрометром (CE-ICP-MS), рендгенске флуоресценције (XRF) и масене спектрометрије (MS). На основу добијених спектроскопских резултата, утврђено је да, при наведеним експерименталним условима, долази до бидентатне координације два молекула L-хистидина преко N3 атома азота имидазоловог прстена и азота амино групе, при чему настаје $[\text{Au}(\text{L-His-}N,N')_2]\text{Cl}_3$ комплекс (Слика 15). Формирање овог комплекса је спор процес, при чему је његова концентрација максимална 2 сата после мешања реактаната. Комплекс почиње да се таложи након 3 сата реакције услед депротонације слободне карбоксилне групе, што за последицу има смањење рН вредности раствора.



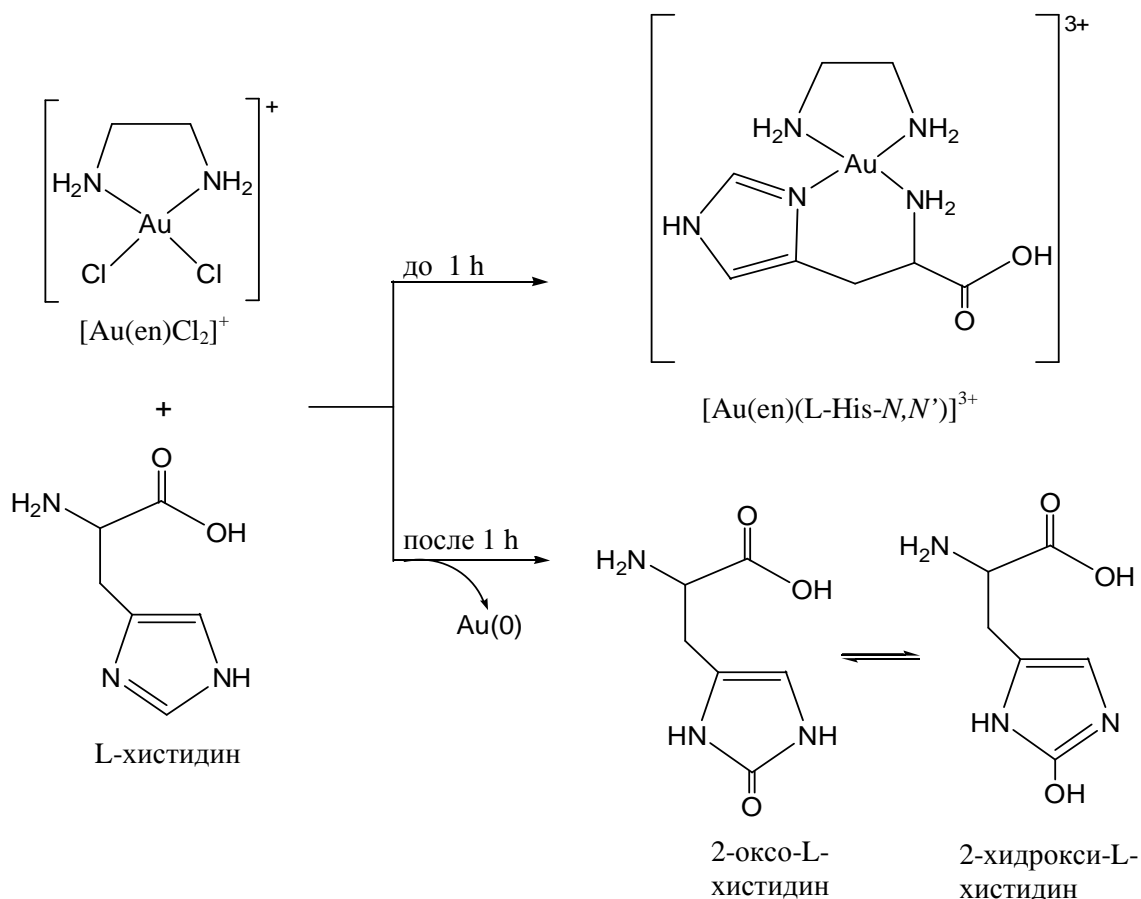
Слика 15. Шематски приказ реакције L-хистидина и $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ у присуству HCl (формирање комплекса) и у присуству HClO_4 (редокс процес) [104,105]

Применом UV-Vis спектрофотометрије, испитиван је механизам оксидације L-хистидина у присуству $[\text{AuCl}_4]^-$ у перхлоратној средини (HClO_4) [105]. Утврђено је

да оксидацијом L-хистидина настаје β -имидазоллил-пирогрождана киселина (Слика 15), док се Au(III) редукује до Au(I). Константа брзине за ову реакцију износи $110 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ на $27 \text{ }^\circ\text{C}$ и опада са повећањем концентрације H^+ и Cl^- јона.

Применом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије испитивана је реакција $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ комплекса са L-хистидином у рD области 1,60 – 10,40 и на собној температури (рD вредност је дефинисана у експерименталном делу ове дисертације) [106]. Када се ова реакција изведе на рD = 1,60, долази до координације L-хистидина за Au(III) јон одмах након мешања реактаната, док је равнотежна смеша 2-оксо-L-хистидина и 2-хидрокси-L-хистидина, која настаје оксидацијом L-хистидина, идентификована у NMR спектру после једног сата. На основу спектроскопских резултата, закључено је да је L-хистидин бидентатно координован за Au(III) јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена и азота амино групе, при чему се формира $[\text{Au}(\text{en})(\text{L-His-N,N}')]^{3+}$ комплекс (Слика 16). На вишим рD вредностима, долази до брже оксидације L-хистидина и редукције Au(III) јона до елементарног Au(0). Резултати испитивања реакција L-хистидина са серијом комплекса $[\text{Au}(\text{L})\text{Cl}_2]^+$, где је L бидентатно координовани етилендиамин (en), 1,3-пропилендиамин (1,3-pn) и 1,4-бутилендиамин (1,4-bn), су показали да брзина ових реакција расте у следећем низу: en < 1,3-pn < 1,4-bn [106]. Вредност константе брзине за реакцију $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ са L-хистидином је одређена применом UV-Vis спектрофотометрије на рH = 2,90 и $25 \text{ }^\circ\text{C}$ и нађено је да износи $k_2 = 39 \pm 3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Константа брзине за ову реакцију је приближно три пута мања од константе брзине за реакцију исте аминокиселине са $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ [105], при чему је ова разлика приписана присуству хлоридо лиганда у $\text{H}[\text{AuCl}_4]$, који лакше подлеже супституцији од en лиганда [106].

Бугарчић и сарадници су испитивали кинетику супституционих реакција $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ и $[\text{Au}(\text{SMC-S,N})\text{Cl}_2]$ (SMC је S-метил-L-цистеин) са L-хистидином и другим биолошки важним азот-донорским нуклеофилима, као што су инозин (Ino), инозин-5'-монофосфат (5'-IMP) и гуанозин-5'-монофосфат (5'-GMP) [107]. Све реакције су изучаване спектрофотометријски применом методе заустављеног тока (stopped-flow) на физиолошкој рH = 7,20 у раствору Нерес пуфера концентрације $0,025 \text{ mol/dm}^3$ у присуству $0,010 \text{ mol/dm}^3$ раствора NaCl. Кинетички резултати су показали да је N3 атом азота имидазоловог прстена L-хистидина најбољи нуклеофил за $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ комплекс.



Слика 16. Реакција $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ комплекса и L-хистидина на $\text{pD} = 1,60$ и на собној температури [106]

Поред тога, применом методе заустављеног тока испитиване су супституционе реакције монофункционалних комплекса злата(III), $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ и $[\text{Au}(\text{terpy})\text{Cl}]^{2+}$, као и бифункционалних комплекса, $[\text{Au}(\text{bipy})\text{Cl}_2]^+$ и $[\text{Au}(\text{dach})\text{Cl}_2]^+$, где је dach (1*R*,2*R*)-1,2-диаминоциклохексан бидентатно координован за $\text{Au}(\text{III})$ јон, са L-хистидином, инозином, инозин-5'-монофосфатом и гуанозин-5'-монофосфатом на $\text{pH} = 7,20$ [108]. Кинетички резултати су показали да је у свим испитиваним реакцијама N3 имидазолов атом азота L-хистидина најбољи нуклеофил, као и у случају $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ комплекса [107]. Поред тога, монофункционални комплекси злата(III) реагују знатно брже од бифункционалних комплекса. Применом квантно-хемијских израчунавања (DFT) додатно је потврђено да је $[\text{Au}(\text{terpy})\text{Cl}]^{2+}$ реактивнији од $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ комплекса, док су спектрофотометријски резултати показали да је $[\text{Au}(\text{bipy})\text{Cl}_2]^+$ комплекс реактивнији од $[\text{Au}(\text{dach})\text{Cl}_2]^+$ са свим испитиваним азот-донорским лигандима.

L-Цистеин и L-метионин

Након открића антиреуматске активности тиолато-злато(I) комплекса, испитиване су реакције комплекса злата(III) са аминокиселинама које у бочном низу садрже атом сумпора, L-цистеином (L-Cys) и L-метионином (L-Met). Сматра се да су управо ове реакције одговорне за токсично деловање комплекса злата(I) у лечењу реуматског артритиса.

L-Цистеин

Резултати испитивања реакције Au(III) јона са L-цистеином, који у бочном низу садржи тиолну SH функционалну групу, су показали да Au(III) оксидује ову аминокиселину [109,110]. Нађено је да оксидацијом L-цистеина настаје дисулфид цистин (Слика 17), док се Au(III) јон редукује до Au(I). Дисулфид цистин редукује Au(III) јон до елементарног злата, при чему се сам оксидује до цистеин-сулфонске киселине (Слика 17) [111,112]. Цистин је јаче редукционо средство од цистеина, јер се цистеин координује за Au(I), градећи стабилан цистеинатозлато(I) комплекс, чиме спречава његову даљу редукцију до елементарног злата [113]. Тако је, у реакцији L-цистеина и калијум-тетрабромидоаурата(III), $K[AuBr_4]$, у 1:3 молском односу, у киселој средини изолован и окарактерисан L-цистеинатозлато(I) комплекс [113].



Слика 17. Шематски приказ оксидације L-цистеина и његовог дисулфида у присуству злата(III) [109-113]

Применом 1H и ^{13}C NMR спектроскопије и UV-Vis спектрофотометрије испитивана је реакција између тетрацијанидоаурата(III), $[Au(CN)_4]^-$, и L-цистеина [114]. Реакција је извођена у различитим молским односима реактаната на физиолошкој $pH = 7,40$ и на собној температури. Када се реакција између Au(III) комплекса и L-цистеина изводи у 1:1 и 2:1 молским односима, у првој фази долази

до веома брзе супституције једног цијанидо лиганда и формирања $[\text{Au}(\text{L-Cys-S})(\text{CN})_3]^-$ комплекса. У следећој фази реагују два интермедијерна $[\text{Au}(\text{L-Cys-S})(\text{CN})_3]^-$ комплекса, при чему долази до формирања цистина и хексацијанидоаурата(II), $[\text{Au}_2(\text{CN})_6]^{2-}$. Комплекс злата(II) је нестабилан и диспропорционише се на $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ и $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ комплексе. Међутим, када се реакција између $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ комплекса и L-цистеина изведе у 1:2 молском односу, у првој фази долази до супституције два цијанидо лиганда L-цистеином, при чему настају два геометријска изомера (*cis*- и *trans*-) $[\text{Au}(\text{L-Cys-S})_2(\text{CN})_2]^-$ комплекса. Међутим, само *cis*- $[\text{Au}(\text{L-Cys-S})_2(\text{CN})_2]^-$ изомер подлеже елиминацији цистина, док се Au(III) редукује до $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ комплекса [114].

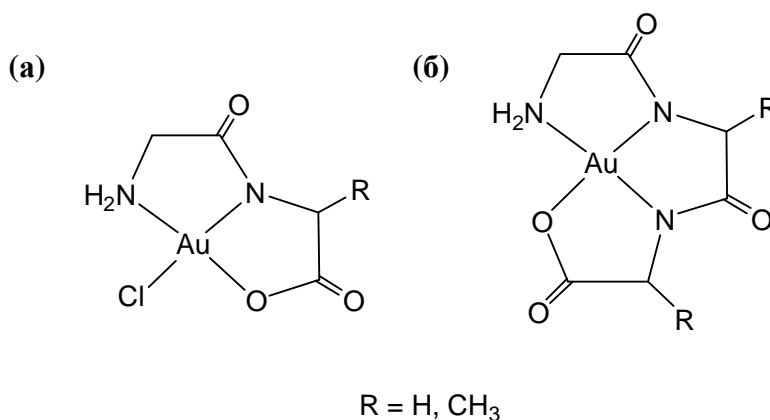
Резултати кинетичких испитивања реакције између диаква(*bis*(пиразол-1-ил))ацетатозлато(III)-хлорида и L-цистеина у рН области 2,92 – 3,72 су показали да у првој фази ове реакције долази до супституције аква лиганда аминокиселином, а затим, до редукције интермедијерног Au(III) комплекса до Au(I) [115]. Нађено је да константа брзине другог реда за редукцију овог Au(III) комплекса, у присуству L-цистеина, износи $1,0 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ на $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

L-Метионин

Оксидација L-метионина у присуству $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса је испитивана у киселој средини применом UV-Vis спектрофотометрије, термалне анализе, NMR, IR и FT-IR спектроскопије [116-118]. Нађено је да у првој фази ове реакције долази до веома брзе супституције једног хлорида лиганда молекулом L-метионина, при чему настаје L-метионин-Au(III) комплекс (Слика 18). Константа брзине за прву фазу реакције је одређена спектрофотометријски, применом методе заустављеног тока, и нађено је да износи $983 \pm 2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ на $21 \text{ }^\circ\text{C}$ [118]. На основу спектроскопских резултата закључено је да аминокиселинска група L-метионина учествује у овом процесу, чак и на $\text{pH} < 2,00$ [116-118]. У другој фази реакције долази до оксидације L-метионина до метионин-сулфоксида, при чему се Au(III) редукује до Au(I) (Слика 18). На основу UV-Vis резултата закључено је да је за другу фазу реакције неопходно присуство другог молекула L-метионина. Наиме, у овој фази долази до преласка атома хлора са злата(III) на тиоетарски атом сумпора у бочном низу другог молекула метионина, што је праћено раскидањем терминалне Au(III)-Cl везе [119]. Као резултат ова два

депротоноване карбоксилне групе (Слика 19) [120]. Тетра-, пента- и хексапептид се понашају као тетрадентатни лиганди, координујући се за Au(III) јон преко азота амино групе и три депротонована атома азота пептидних веза [120]. Применом квантно-хемијских израчунавања претпостављена је квадратно-планарна геометрија свих комплекса са просечним одступањем од планарности $0,8-2,4^\circ$.

Злато(III)-пептид комплекси који настају у реакцијама глицил-L-аланина (Gly-L-Ala) и глицил-L-аланил-L-аланина (Gly-L-Ala-L-Ala) са $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплексом на $\text{pH} = 4,00$ и на собној температури, окарактерисани су применом IR-LD и NMR спектроскопије, као и масене спектрометрије [121]. Нађено је да Au(III) јон депротонује атом азота пептидне везе у овим пептидама под наведеним експерименталним условима. Упоредивањем спектра слободних пептида са спектрима одговарајућих Au(III)-пептид комплекса, закључено је да се дипептид Gly-L-Ala координује тридентатно, а трипептид Gly-L-Ala-L-Ala тетрадентатно за Au(III) јон, при чему се формирају $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-L-Ala-}N,N',N'',O)]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ комплекси (Слика 19). Квадратно-планарна геометрија ових комплекса је потврђена применом DFT израчунавања [121].



Слика 19. Структурне формуле Au(III)-пептид комплекса који настају у реакцијама $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ и (а) Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептида; (б) Gly-Gly-Gly и Gly-L-Ala-L-Ala трипептида [120,121]

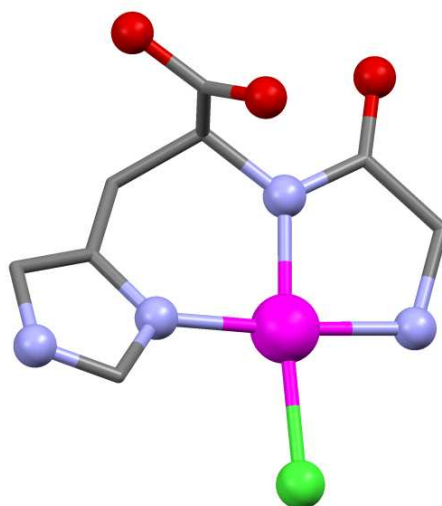
Применом NMR спектроскопије испитивана је реакција трипептида Gly-Gly-Gly и монофункционалног $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса у pH области 2,00 – 10,00 на собној температури [122]. NMR резултати су показали да се овај трипептид координује за Au(III) јон једино преко атома азота терминалне амино групе при $\text{pH} > 5,00$. Комплексне врсте, у којима је трипептид координован за $[\text{Au}(\text{dien})]^{3+}$ фрагмент преко атома кисеоника карбоксилне групе, или преко депротонованог

атома азота пептидне везе, нису идентификоване у NMR спектрима у испитиваној рН области.

Пептиди који садрже L-хистидин

У реакцији $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплекса и дипептида глицил-L-хистидина (Gly-L-His) у рН области 1,50 – 2,00 и на 25 °C синтетизован је мононуклеарни $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекс [123]. Применом рендгенске структурне анализе, утврђено је да овај комплекс има квадратно-планарну геометрију са тридентатно координованим дипептидом за Au(III) јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена L-хистидина, депротонованог атома азота пептидне везе и атома азота терминалне амино групе, док је за четврто место координован хлоридо лиганд (Слика 20).

Дужине веза и углови између веза у $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплексу су приказани у табели 3. Из ове табеле се јасно може видети да су Au-N(амино) и Au-N3(имидазол) везе приближно исте дужине, (2,002(9) и 1,991(8) Å), и да су нешто дуже од везе између Au(III) јона и депротонованог азота пептидне везе (1,94(1) Å).



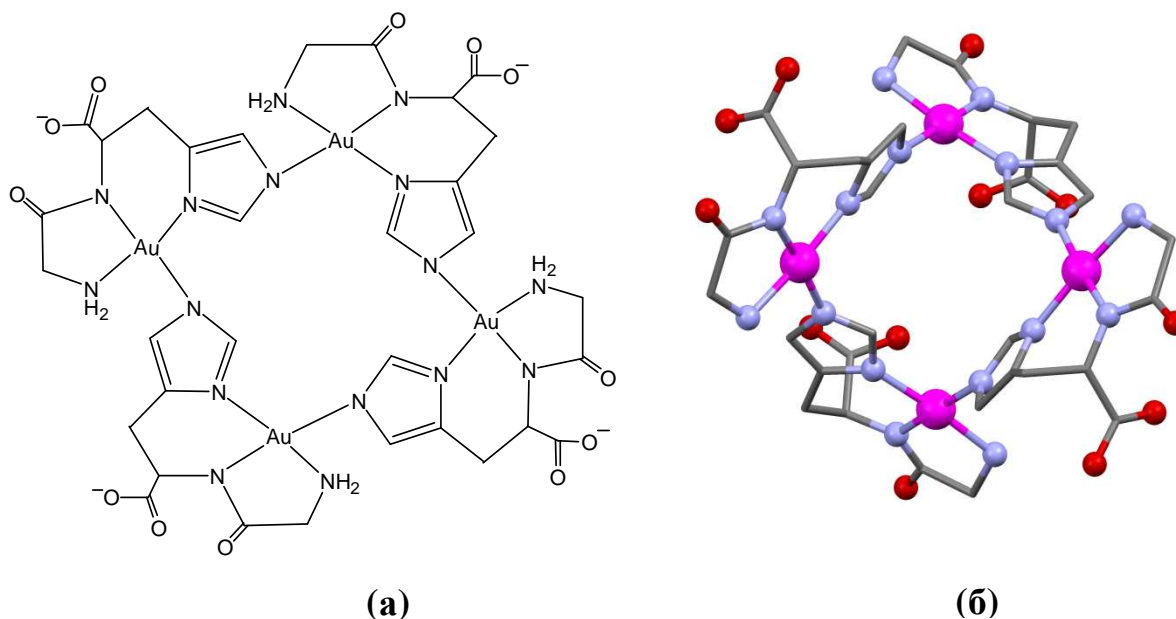
Слика 20. Структура комплексног $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ катјона у $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплексу [123]

Табела 3. Дужине веза (Å) и величине углова између веза (°) у мономерном и тетрамерном Gly-L-His-Au(III) комплексу [123]

Комплекс	[Au(Gly-L-His- N,N',N'')Cl]Cl·3H ₂ O	[Au(Gly-L-His- N,N',N'',N''')] ₄ ·10H ₂ O	
Дужине веза (Å)			
Au—N(амино)	2,002(9)	2,018(8)	1,993(6)
Au—N(пептидна веза)	1,94(1)	1,993(9)	1,999(7)
Au—N1(имидазол)		1,987(7)	2,038(8)
Au—N3(имидазол)	1,991(8)	1,981(8)	1,985(6)
Au—Cl	2,273(3)		
Углови између веза (°)			
N(амино)—Au—N(пептидна веза)	84,9(5)	91,2	82,4
N(амино)—Au—N3(имидазол)	175,5(6)	173,5	175,3
N(пептидна веза)—Au— N3(имидазол)	90,7(4)	92,3	93,9
N(амино)—Au—Cl	89,5(4)		
N(пептидна веза)—Au—Cl	174,5(3)		
N3(имидазол)—Au—Cl	94,9(3)		
N(амино)—Au—N1(имидазол)		94,0	94,8
N(пептидна веза)—Au— N1(имидазол)		174,8	175,8
N3(имидазол)—Au— N1(имидазол)		92,5	89,1

Црвено-браон кристали тетрамерног [Au(Gly-L-His-N,N',N'',N''')]₄·10H₂O комплекса су добијени растварањем жутих кристала [Au(Gly-L-His-N,N',N'')Cl]Cl·3H₂O у води и подешавањем рН вредности раствора на 6,00 – 7,00 додатком КОН [123]. У овом комплексу, Gly-L-His дипептид је координован за Au(III) јон преко три доњорска атома азота, као у мономерном комплексу (азота терминалне амино групе, депротонованог азота пептидне везе и N3 азота имидазоловог прстена), док је за четврто место координован N1 атом имидазоловог прстена другог молекула пептида (Слика 21а). Тако, у овом комплексу, имидазолов прстен L-хистидина има улогу мостног лиганда између два Au(III) јона. Рендгенска структурна испитивања су показала да је сваки Au(III) јон, који је смештен у

теменима дисторгованог тетраедра, окружен са четири донорска атома азота, и да има приближно квадратно-планарну геометрију (Слика 21б), са C_2 симетријом.



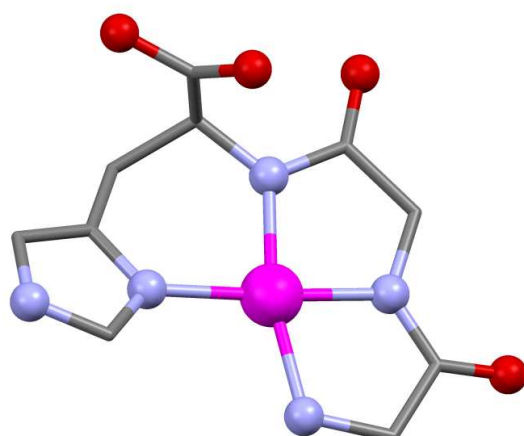
Слика 21. Структурна формула (а) и приказ тродимензионалне структуре (б) цикличног тетрамера $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'',N''')]_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ [123]

Дужине веза и величине углова између веза у тетрамерном $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'',N''')]_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ комплексу су приказани у табели 3. Упоредивањем одговарајућих дужина веза у мономерном и тетрамерном Gly-L-His-Au(III) комплексу, може се закључити да је веза између Au(III) јона и депротонованог атома азота пептидне везе у тетрамерном комплексу (1,995(8) Å) незнатно дужа од те везе у мономерном $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплексу (1,94(1) Å). Разлика у дужини веза је приписана јачем *trans* ефекту N1 атома азота имидазоловог прстена у тетрамерном комплексу, у поређењу са хлоридо лигандом у мономерном комплексу [123]. Важно је напоменути да мономерни $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекс прелази у тетрамерни $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'',N''')]_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ у pH области 6,00 – 7,00, за разлику од Gly-L-His комплекса Cu(II), Ni(II) и Pd(II) који подлежу асоцијацији у базној средини (pH у области 9,00 – 10,00) [123].

Messori и сарадници су испитивали стабилност $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса у воденом раствору при физиолошким условима применом циркуларног дихроизма (CD), ^1H NMR спектроскопије и UV-Vis спектрофотометрије [81]. Резултати су показали да тридентатна координација Gly-L-His пептида стабилизује +3 оксидационо стање злата, спречавајући његову редукцију

до Au(I) и Au(0) при физиолошким условима. Нађено је да овај комплекс показује антитуморску активност према A2780/S ћелијској линији ($IC_{50} = 5,2 \pm 1,63 \mu M$), нешто мању од активности коју показује еквимоларна количина цисплатине ($IC_{50} = 1,6 \pm 0,58 \mu M$). Такође, овај комплекс делује и на A2780/R ћелијску линију ($IC_{50} = 8,5 \pm 2,3 \mu M$), при чему је фактор пораста резистенције 1,6 (у поређењу са вредношћу 10,0 за цисплатину). Као што је већ поменуто, антитуморска активност овог комплекса се може приписати присуству Au(III) јона, јер је нађено да комплекси Zn(II), Pd(II), Pt(II) и Co(II) са Gly-L-His дипептидом показују врло слабу антитуморску активност са IC_{50} вредностима већим од 100,0 μM .

Реакција трипептида глицил-глицил-L-хистидина (Gly-Gly-L-His) са $[AuCl_4]^-$ комплексом је испитивана на различитим pH вредностима на 37 °C применом 1H NMR спектроскопије [124]. Трипептид Gly-Gly-L-His реагује споро са $[AuCl_4]^-$, при чему је полувреме реакције ($t_{1/2}$) 9,3 h на pH = 2,00 и на 37 °C. При напред наведеним реакционим условима, долази до тетрадентатне координације трипептида и настајања $[Au(Gly-Gly-L-His-N,N',N'',N''')]^+$ комплекса. Овај комплекс је, такође, добијен у реакцији Gly-Gly-L-His пептида и $Na[AuCl_4]$ на pH = 2,40 и 37 °C, при чему је његова карактеризација извршена на основу 1H NMR спектроскопије и рендгенске структурне анализе (Слика 22). Све NMR резонанце за $[Au(Gly-Gly-L-His-N,N',N'',N''')]Cl \cdot H_2O$ комплекс померене су ка нижем пољу у односу на резонанце слободног трипептида. Ове разлике у хемијским померањима су узроковане тетрадентатном координацијом трипептида преко атома азота терминалне аминокиселине.



Слика 22. Структура комплексног $[Au(Gly-Gly-L-His-N,N',N'',N''')]^+$ катјона у $[Au(Gly-Gly-L-His-N,N',N'',N''')]Cl \cdot H_2O$ комплексу [124]

групе, два депротонувана атома азота пептидних веза и N3 атома имидазоловог прстена L-хистидина. Структура комплексног $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'',N''')^+]$ катјона у квадратно-планарном $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'',N''')]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ комплексу је приказана на слици 22, а дужине и углови веза у табели 4.

Табела 4. Дужине веза и величине углова између веза у $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'',N''')]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ комплексу [124]

Комплекс	$[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'',N''')]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$
Дужине веза (Å)	
Au—N(амино)	2,049(10)
Au—N(пептидна веза 1)	1,941(9)
Au—N(пептидна веза 2)	2,006(10)
Au—N3(имидазол)	2,038(9)
Углови између веза (°)	
N(амино)—Au—N(пептидна веза 1)	82,8(4)
N(пептидна веза 1)—Au—N(пептидна веза 2)	83,5(4)
N(амино)—Au—N3(имидазол)	100,4(4)
N(пептидна веза 2)—Au—N3(имидазол)	93,3(4)

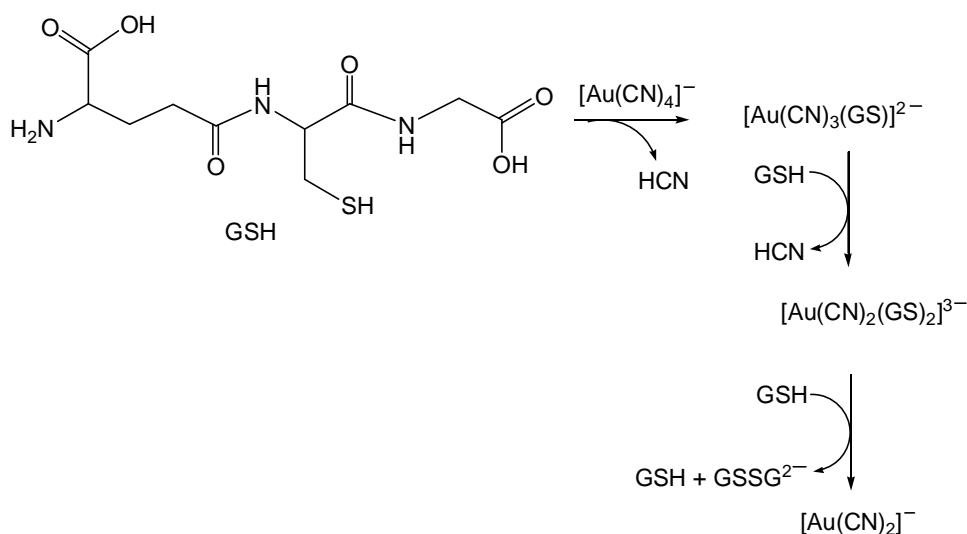
Када се реакција између Gly-Gly-L-His и $[\text{AuCl}_4]^-$ изводи у пуферу у рН области 4,00 – 5,00, у реакционој смеси је, поред $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'',N''')^+]$ комплекса, присутна и полимерна комплексна врста, у којој имидазолов прстен L-хистидина има улогу мостног лиганда између два Au(III) јона [124]. Међутим, када се реакција изводи у рН области 6,50 – 7,00, присутна је само полимерна комплексна врста.

Применом потенциометрије одређене су pK_a вредности за $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'',N''')]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ комплекс [124]. Нађено је да прва pK_a вредност, која је приписана депротонацији слободне карбоксилне групе, износи 2,58. Друга pK_a вредност је 8,63 и приписана је депротонацији некоординоване N1H групе имидазоловог прстена L-хистидина, коју индукује Au(III) јон координован за N3 атом азота имидазоловог прстена. То је најнижа pK_a вредност одређена за неки јон метала и резултат је јаким електрон-привлачних особина Au(III) јона. Трећа pK_a

вредност од 11,50 приписана је депротонацији терминалне аминок групе пептида координоване за Au(III) јон.

Пептиди који садрже L-цистеин

Реакција између трипептида глутатиона (γ -L-Glu-L-Cys-Gly, GSH) и тетрацијанидоаурата(III), $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$, испитивана је у воденом раствору на физиолошкој рН = 7,40 применом UV-Vis спектрофотометрије, ^{13}C NMR и ESI-MS спектроскопије [125,126]. Утврђено је да у првој фази овог редокс процеса долази до супституције цијанидо лиганата у $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ комплексу глутатионом, при чему настају два интермедијерна $[\text{Au}(\text{CN})_3(\text{GS})]^{2-}$ и $[\text{Au}(\text{CN})_2(\text{GS})_2]^{3-}$ комплекса. Када се реакција изводи у вишку Au(III) комплекса, настаје само $[\text{Au}(\text{CN})_3(\text{GS})]^{2-}$ интермедијер. Интермедијерни комплекси у другој фази реакције реагују са глутатионом, при чему настају глутатион-дисулфид (GSSG^{2-}) и $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ комплекс као коначни производи реакције (Слика 23).

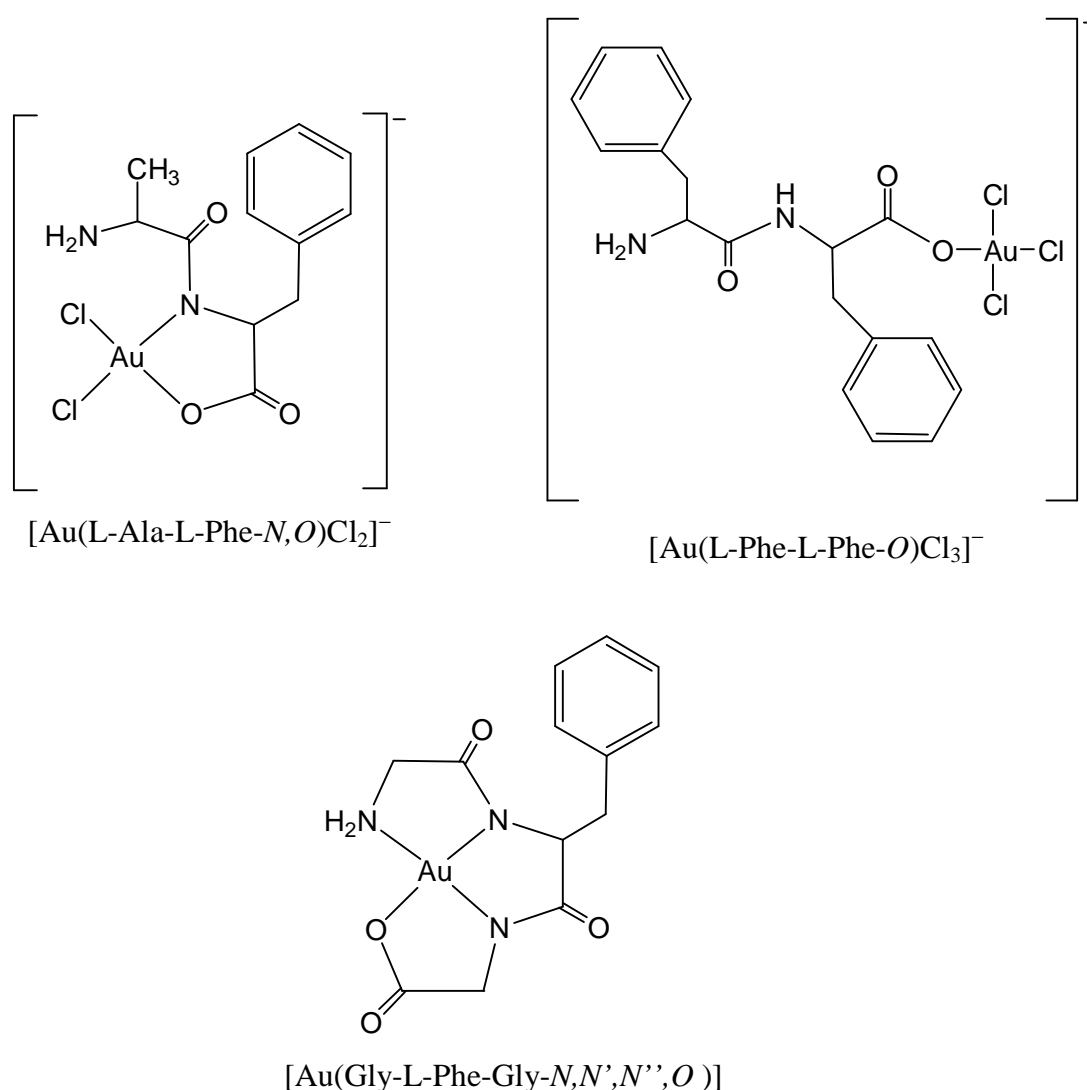


Слика 23. Шематски приказ оксидације глутатиона у присуству $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ комплекса на рН = 7,40 [125, 126]

Пептиди који садрже L-фенилаланин

Применом спектроскопских метода и DFT израчунавања окарактерисани су комплекси који су добијени у реакцијама L-аланил-L-фенилаланина (L-Ala-L-Phe),

L-фенилаланил-L-фенилаланина (L-Phe-L-Phe) и глицил-L-фенилаланил-глицина (Gly-L-Phe-Gly) са $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплексом [127-129]. У реакцији између еквимоларних количина L-Ala-L-Phe и $[\text{AuCl}_4]^-$ у воденом раствору настаје мононуклеарни $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-Phe-N,O})\text{Cl}_2]^-$ комплекс, код кога је дипептид бидентатно координован за Au(III) јон преко атома кисеоника карбоксилне групе и депротонованог атома азота пептидне везе [127]. У реакцији Au(III) јона и L-Phe-L-Phe у 1:1 молском односу, долази до монодентатне координације дипептида преко кисеониковог атома карбоксилне групе и формирања $[\text{Au}(\text{L-Phe-L-Phe-O})\text{Cl}_3]^-$ комплекса [128]. На основу тога је закључено да присуство две фенил групе у L-Phe-L-Phe дипептиду,

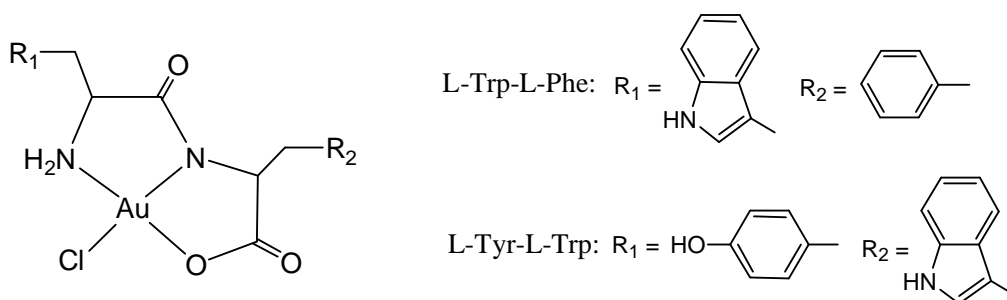


Слика 24. Структурне формуле Au(III)-пептид комплекса који су добијени у реакцијама $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ и пептида који садрже аминокиселину L-фенилаланин [127-129]

о немогућава интеракцију Au(III) јона са пептидним азотом, а самим тим и његову координацију. Насупрот томе, трипептид Gly-L-Phe-Gly, који садржи једну фенил групу, координује се тридентатно за Au(III) јон преко атома азота терминалне аминок групе, два депротонвана атома азота пептидних веза и карбоксилног кисеоника [129]. Структурне формуле Au(III)-пептид комплекса који су добијени у реакцијама H[AuCl₄] и пептида који садрже L-фенилаланин су приказане на слици 24.

Пептиди који садрже L-триптофан

Мононуклеарни [Au(L-Trp-L-Phe-*N,N',O*)Cl] и [Au(L-Tyr-L-Trp-*N,N',O*)Cl]·H₂O комплекси (Слика 25) су добијени у реакцијама L-триптофил-L-фенилаланина (L-Trp-L-Phe) и L-тирозил-L-триптофана (L-Tyr-L-Trp) са H[AuCl₄] комплексом на рН = 4,00 и на собној температури [130]. На основу резултата IR и NMR спектроскопије, као и UV-Vis спектрофотометрије, закључено је да се дипептиди који садрже L-триптофан тридентатно координују преко атома азота терминалне аминок групе, депротонваног азота пептидне везе и карбоксилног кисеоника, док се атом азота из индоловог прстена триптофана не координује за Au(III) јон. Структура ових комплекса је додатно потврђена на основу резултата DFT израчунавања, која су показала да су [Au(L-Trp-L-Phe-*N,N',O*)Cl] и [Au(L-Tyr-L-Trp-*N,N',O*)Cl]·H₂O комплекси квадратно-планарни и да је одступање од планарности мање од 0,9°.

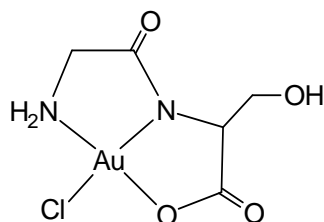


Слика 25. Општа структурна формула Au(III)-дипептид комплекса који су добијени у реакцијама H[AuCl₄] и дипептида који садрже L-триптофан [130]

Пептиди који садрже L-серин

Мононуклеарни [Au(Gly-L-Ser-*N,N',O*)Cl] комплекс је добијен у реакцији дипептида глицил-L-серина (Gly-L-Ser) и H[AuCl₄] у присуству еквимоларне

количине NaOH у метанолу као растварачу (Слика 26) [131]. Применом ^1H , ^{13}C NMR и IR спектроскопије, нађено је да се Gly-L-Ser тридентатно координује за Au(III) јон преко атома азота терминалне амино групе глицина, депротонованог атома азота пептидне везе и карбоксилног кисеоника, док четврто координационо место у овом квадратно-планарном комплексу заузима хлоридо лиганд. На основу спектроскопских података, закључено је да се хидроксилна група серина не координује за Au(III) јон под наведеним реакционим условима.



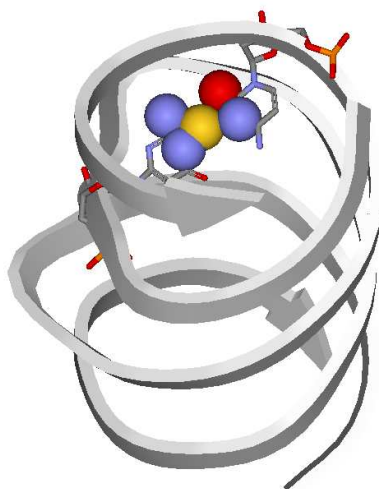
[Au(Gly-L-Ser-*N,N',O*)Cl]

Слика 26. Структурна формула [Au(Gly-L-Ser-*N,N',O*)Cl] комплекса [131]

1.2.3. РЕАКЦИЈЕ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ПРОТЕИНИМА

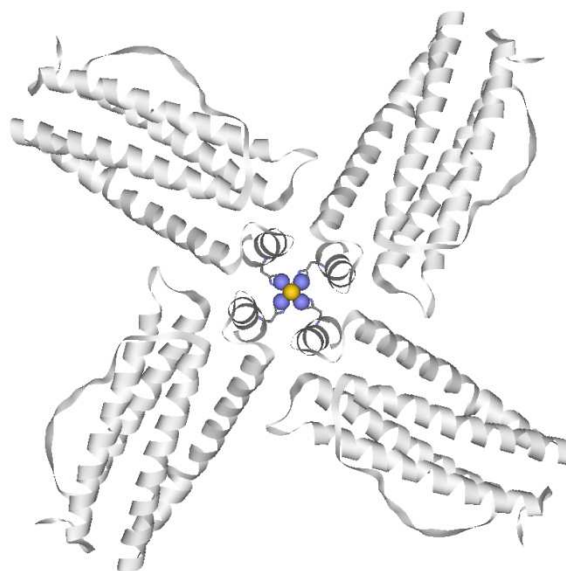
Резултати испитивања комплекса злата(III) као антитуморских агенаса су показали да ови комплекси имају мали афинитет према ДНК молекулу, који је примарни акцепторски молекул за антитуморски активне комплексе платине(II) [90,132]. Међутим, на основу кристалографских података потврђена је координација Au(III) јона за молекул РНК преко доворских атома гуанина и цитозина, након депротоновања N1 атома азота гуанина [133]. На слици 27 приказана је кристална структура РНК дуплекса у коме је јон злата(III) координован за гуанин-цитозин пар преко једног атома кисеоника и три атома азота [133,134].

Нађено је да комплекси злата показују велики афинитет према молекулима протеина, због чега се претпоставља да су интеракције између ових комплекса и протеина одговорне за њихове цитотоксичне ефекте [90,132]. Различити протеини, као што су тиоредоксин редуктаза (TrxR) [135], хумани серум албумин (HSA), хумана глутатион редуктаза (HGR) [136], хистон деацетилаза (HDAC) и протеин киназа C (PKC) [89], могу бити акцепторски молекули за злато(III) комплексе.



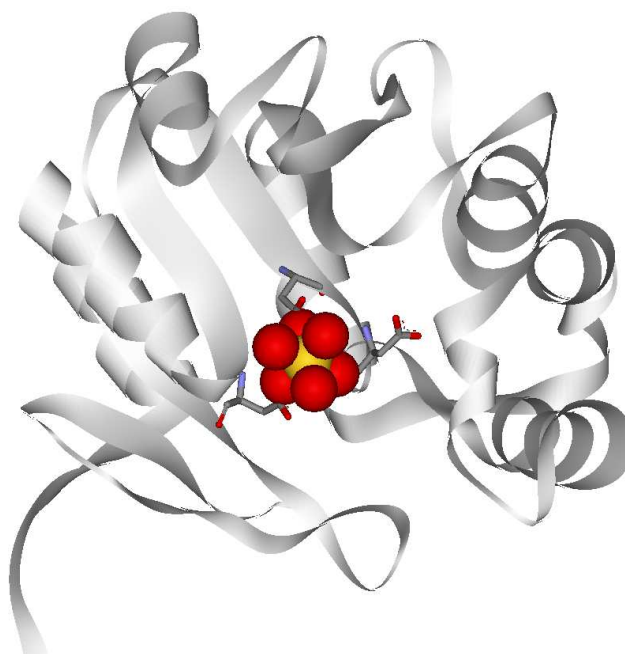
Слика 27. Структура РНК дуплекса са Au(III) јоном координованим за гуанин-цитозин пар преко једног атома кисеоника и три атома азота [133,134]

Резултати истраживања кристалографске базе података [134] показују да се у комплексу злата(III) са мутираним хуманим Н феритином (H9X), јони злата(III) координују за цистеин Cys140 и хистидин, His57 и His60, His118 и His173 (Слика 28), при чему бочни низови His57 и His60 подлежу конформационим променама [137]. Супротно томе је начин координације Au(III) јона у AuCl₃ деривату AphA ензима *Escherichia coli* бактерије (AphA је периплазмична кисела фосфатаза) [138].



Слика 28. Структура комплекса злата(III) са мутираним Н феритином. Au734 се налази на оси симетрије четвртог реда и окружен је са четири His173 јединице [134,137]

Активно место у овом ензиму заузима $Mg(II)$ јон, који је у $AuCl_3$ деривату супституисан $Au(III)$ јоном, при чему не долази до промене начина координације. Тако је, у $AuCl_3$ деривату AphA ензима, $Au(III)$ јон координован искључиво за доноске атоме кисеоника и има октаедарску геометрију (Слика 29).



Слика 29. Структура $AuCl_3$ деривата AphA ензима *Escherichia coli* бактерије [134,138]

Реакције шест комплекса злата(III), $[Au(en)_2]Cl_3$, $[Au(dien)Cl]Cl_2$, $[Au(cyclam)](ClO_4)_2Cl$ (cyclam је тетрадентатно координовани 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан), $[Au(terpy)Cl]Cl_2$ (terpy је тридентатно координовани 2,2':6',2''-терпиридин), $[Au(bipy)(OH)_2][PF_6]$ (bipy је бидентатно координовани 2,2'-бипиридин) и $[Au(bipy^{dmb}-H)(OH)][PF_6]$ ($bipy^{dmb}$ је тридентатно координовани 6-(1,1-диметилбензил)-2,2'-бипиридин) са говеђим серум албумином (BSA) су испитиване применом различитих спектроскопских техника и биохемијских метода раздвајања [139]. Добијени резултати су показали да су интеракције $[Au(en)_2]^{3+}$ и $[Au(cyclam)]^{3+}$ комплекса са BSA протеином релативно слабе и искључиво електростатичке природе. У супротности са тим, у реакцијама овог протеина са $[Au(dien)Cl]Cl_2$ и $[Au(bipy^{dmb}-H)(OH)][PF_6]$ комплексима долази до координације имидазолових атома азота из L-хистидина. Испитивана је стабилност добијених производа при физиолошким условима, при чему је нађено да се веза између $Au(III)$ јона и протеина раскида једино по додатку цијанида у вишку. Најјача оксидациона средства у

испитиваној серији комплекса злата(III), $[\text{Au}(\text{terpy})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ и $[\text{Au}(\text{bipy})(\text{OH})_2][\text{PF}_6]$, оксидују бочни низ протеина, при чему се Au(III) редукује до Au(I) јона. Производ који је добијен у реакцији $[\text{Au}(\text{bipy})(\text{OH})_2][\text{PF}_6]$ и BSA је додатно испитиван применом XANES и EXAFS техника [140]. Редукција Au(III) јона са истовременом елиминацијом бипиридинског лиганда је несумњиво потврђена применом XANES методе, док су EXAFS мерења показала да тај редукциони процес води формирању злато(I)-протеин комплексних врста у којима је Au(I) јон координан за азотове атоме протеина.

Применом ESI-MS методе испитивана је реакција $[\text{Au}(\text{bpMe})\text{Cl}_2][\text{PF}_6]$ (bpMe је бидентатно координан 4,4'-диметил-2,2'-бипиридин) и протеина убиквитина у 3:1 молском односу [91]. Реакција је праћена 24 сата на 37 °C, при чему је нађено да долази до редукције Au(III) јона до Au(I) уз истовремену елиминацију бипиридинског лиганда.

Интеракције два динуклеарна комплекса злата(III), $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(\text{bipy})_2][\text{PF}_6]_2$ и $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(6,6'\text{-diMe bipy})_2][\text{PF}_6]_2$ (6,6'-diMe bipy је 6,6'-диметил-2,2'-бипиридин), са хуманим серум албумином, цитохромом *c* и убиквитином, испитиване су применом различитих спектроскопских метода [85]. Резултати спектроскопских испитивања показују да се у овим реакцијама Au(III) јон редукује до Au(I) уз истовремено раскидање веза између јона злата и кисеоничног мостног лиганда и елиминације bipy, односно 6,6'-diMe bipy лиганда. Поред тога, Au(I) јон остаје координан за протеин. Предложени механизам за испитиване реакције је у складу са резултатима за реакцију динуклеарног $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(6,6'\text{-diMe bipy})_2][\text{PF}_6]_2$ комплекса са хуманим серум апотрансферином, која је испитивана применом XANES и EXAFS техника [140]. Супротно томе, у реакцијама два динуклеарна комплекса злата(III), $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})(\text{bipy}^{\text{dmb}}\text{-H})_2][\text{PF}_6]_2$ и $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})(\text{bipy}^{\text{mb}}\text{-H})_2][\text{PF}_6]_2$, где је bipy^{mb} 6-(1-метилбензил)-2,2'-бипиридин, са лизозимом из беланцета кокошјег јајета (HEWL), не долази до редукције Au(III) јона и елиминације бипиридинског лиганда, већ само до раскидања везе између Au(III) јона и кисеоничног мостног лиганда, и трансформације динуклеарног комплекса у мононуклеарни [141].

Применом ESI-MS методе изучаване су реакције $\text{K}[\text{Au}(\text{sac})_3\text{Cl}]$ и $\text{Na}[\text{Au}(\text{sac})_4]$ комплекса (sac је сахаринато лиганд) са цитохромом *c* и лизозимом [92]. За разлику од претходно наведених, ови комплекси нису посебно реактивни са протеинима, при

чему, у испитиваним реакцијама, долази до њихове делимичне металације и формирања комплексних врста које садрже четири јона злата.

Најновија истраживања у области реакција комплекса злата(III) са протеинима показују да је селеноензим тиоредоксин редуктаза (TrxR) веома специфичан акцепторски молекул за цитотоксичне комплексе злата [142]. Овај ензим садржи цистеин-селеноцистеин редокс пар који је укључен у регулисање интрацелуларне редокс равнотеже [143]. Испитивања механизма инхибиције TrxR ензима помоћу серије комплекса злата(I) и злата(III) су показала да ова једињења производе значајну инхибицију овог ензима након његове претходне редукције са NADPH [144]. Применом MALDI-ToF масене спектрометрије нађено је да се ефекти комплекса злата(I) могу приписати њиховој координацији за –SeH групе у ензиму, док комплекси злата(III) оксидују ове групе, редукујући се до комплекса злата(I). Важно је напоменути да су за већину антитуморских комплекса злата(III) активни метаболити управо Au(I) комплексне врсте, које настају редукцијом Au(III) комплекса *in vivo* [145].

2. ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА

Након открића да неки комплекси злата(III) показују антитуморску активност [81-92], започела су интензивна истраживања у области реакција Au(III) јона са биолошки значајним лигандима, као што су аминокиселине, пептиди и протеини [96-145]. Од раније је познато да се аминокиселине и пептиди могу координовати за различите јоне метала, градећи стабилне хелатне комплексе [146-159]. Међутим, досадашњи резултати постигнути у области синтезе комплекса злата(III) са овим биолигандима су веома оскудни. До сада су синтетизована и применом рендгенске структурне анализе окарактерисана само три комплекса злата(III) са пептидима који у бочном низу садрже аминокиселину L-хистидин, глицил-L-хистидином (Gly-L-His) [123] и глицил-глицил-L-хистидином (Gly-Gly-L-His) [124]. Имајући у виду наведене чињенице, у оквиру ове докторске дисертације предвиђено је да се применом спектроскопских и електрохемијских метода, при различитим експерименталним условима, испитају реакције комплекса злата(III) са дипептидима, који у бочном низу не садрже хетероатом, као и са дипептидима који садрже аминокиселине хистидин и метионин. Поред тога, предвиђено је да се применом рендгенске структурне анализе окарактеришу злато(III)-пептид комплекси, који настају као коначни производи испитиваних реакција.

У првом делу дисертације предвиђено је да се применом ^1H NMR спектроскопије, у рН области 2,00 – 5,00 и на 40 °С, испитају реакције $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса са дипептидима, који у бочном низу не садрже хетероатом, глицил-глицином (Gly-Gly) и глицил-L-аланином (Gly-L-Ala). Добијене резултате у оквиру

ових истраживања поредити са резултатима за реакцију $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплекса са Gly-L-His дипептидом, који у бочном низу садржи аминокиселину L-хистидин.

Уз модификацију раније описаних поступака за синтезу комплекса злата(III) са пептидима, у овој дисертацији предвиђена је синтеза и карактеризација нових комплекса злата(III) са дипептидима глицил-L-хистидином (Gly-L-His) и L-аланил-L-хистидином (L-Ala-L-His). Поред тога, задатак је био да се, применом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије, у pD области 3,50 – 5,50 и на 25 °C, испитају реакције монофункционалног $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса (dien је тридентатно координовани диетилентриамин) са дипептидима, L-хистидил-глицином (L-His-Gly) и глицил-L-хистидином (Gly-L-His). Резултате ових испитивања поредити са резултатима за реакције аналогних комплекса платине(II) и паладијума(II) са L-хистидином и пептидима који садрже ову аминокиселину.

На крају, као задатак ове дисертације предвиђено је да се применом ^1H NMR спектроскопије, UV-Vis спектрофотометрије и цикличне волтаметрије, на pH = 2,00 и на 25 °C, испитају реакције $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплекса са глицил-D,L-метионином (Gly-D,L-Met) и његовим N-ацетилованим дериватом (Ac-Gly-D,L-Met) у различитим молским односима. Производ реакције између $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса и Gly-D,L-Met дипептида окарактерисати применом рендгенске структурне анализе.

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

3.1. Хемикалије и реагенси

Хемикалије и реагенси D₂O (99,8%), DCl, KOD, диетилентриамин (dien), хидроген-тетрахлоридоаурат(III) трихидрат (H[AuCl₄]·3H₂O), глицин (Gly), глицинамид (GlyNH₂), глицил-глицин (Gly-Gly), глицил-L-аланин (Gly-L-Ala), глицил-L-хистидин (Gly-L-His), L-аланил-L-хистидин (L-Ala-L-His), L-хистидил-глицин (L-His-Gly) и глицил-D,L-метионин (Gly-D,L-Met) су набављени од Sigma-Aldrich Chemical Co. Остале хемикалије употребљене у овом раду су комерцијални производи аналитичког степена чистоће и купљене су од домаћег произвођача. Бидестилована вода је употребљена за припремање раствора наведених реагенаса.

3.2. Ацетиловање амино групе у аминокиселинама и пептидима

За ацетиловање амино групе у аминокиселини глицину и пептиду глицил-D,L-метионину употребљена је метода која је раније описана у литератури [160,161].

У што мањој запремини глицеролне киселине растворити $5,0 \cdot 10^{-4}$ мола аминокиселине или пептида и у овај раствор додати $7,5 \cdot 10^{-4}$ мола (71,6 μ l) анхидрида сирћетне киселине. Раствор се меша на собној температури за време од три сата, а затим остави да испари до сува. У већини случајева се добија уљаста супстанца која представља ацетиловану аминокиселину или пептид. Чист ацетилувани производ се може добити прекристалисавањем из смеше вода-ацетон, или неког другог органског растварача, или растварањем уљастог остатка у води, а затим испаравањем раствора на собној температури до сува. По потреби овај

поступак се може поновити више пута. Чистоћа ацетиловане аминокиселине и пептида је проверена помоћу ^1H NMR спектроскопије.

3.3. Добијање $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса

Комплекси злата(III) са дипептидима глицил-L-хистидином (Gly-L-His) и L-аланил-L-хистидином (L-Ala-L-His) су синтетизовани по модификованом поступку који је раније описан у литератури [123].

У $3,0 \text{ cm}^3$ воде растворити $0,1575 \text{ g}$ ($4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mola}$) $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ и у овај раствор додати еквимоларну количину глицил-L-хистидина ($0,0849 \text{ g}$) односно L-аланил-L-хистидина ($0,0905 \text{ g}$) раствореног у $5,0 \text{ cm}^3$ воде. pH вредност раствора одговарајућег дипептида претходно подесити на око 1,50 лаганим додавањем раствора HNO_3 концентрације $1,0 \text{ mol/dm}^3$. Суд са реакционом смешом (pH око 1,50) увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 10 дана. Добијени жути раствор процедити од издвојеног елементарног злата и оставити на собној температури, при чему се запремина смањи на око $3,0 \text{ cm}^3$. Концентровани раствор (pH $\sim 0,90$) оставити у фрижидеру за време од 3 – 5 дана, при чему се издвајају светложути кристали $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса. Кристале одвојити цеђењем, испрати хладним ацетоном и сушити на ваздуху и собној температури. Принос је 48% ($0,1014 \text{ g}$) за $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, односно 55% ($0,1241 \text{ g}$) за $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекс. После дужег стајања на собној температури $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ комплекс губи кристалну воду и прелази у анхидровани облик, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3$. Чистоћа и састав свих комплекса су проверени помоћу резултата елементарне микроанализе.

Израчунато за $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O} = \text{C}_8\text{H}_{13,50}\text{AuClN}_5\text{O}_{7,25}$ (Mr = 528,15): C, 18,19; H, 2,58; N, 13,26. Нађено: C, 18,32; H, 2,50; N, 13,14%.

Израчунато за $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 = \text{C}_8\text{H}_{11}\text{AuClN}_5\text{O}_6$ (Mr = 505,63): C, 19,00; H, 2,19; N, 13,85. Нађено: C, 18,78; H, 2,57; N, 13,18%.

Израчунато за $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O} = \text{C}_9\text{H}_{18}\text{AuClN}_5\text{O}_{8,50}$ (Mr = 564,70): C, 19,14; H, 3,21; N, 12,40. Нађено: C, 19,05; H, 3,27; N, 12,18%.

3.4. Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1,25H₂O, [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ и [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2,5H₂O комплекса

Рендгенска структурна испитивања за кристале [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1,25H₂O, [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ и [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2,5H₂O комплекса су вршена на бази мерења интензитета рефлексија помоћу дифрактометра типа Xcalibur CCD κ -геометрије применом графитне монохроматске Мо-К α радијације ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$). Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе као и други релевантни подаци за поменуте комплексе су приказани у табели 5.

Програми *CrysAlis CCD* [162] и *CrysAlis RED* [163] су употребљени за прикупљање и одабир рефлексија, као и за утачњавање структуре комплекса. Мерени интензитети рефлексија су кориговани за апсорпцију и Lorenz-ов поларизациони (L_p) фактор. Структуре комплекса су решене помоћу директних метода употребом *SHELXS86* програма [164], док је за утачњавање структура употребљен програм *SHELXL97* [164]. Сви атоми тежи од водоника су утачњавани анизотропно. Позиције водоникових атома из –ОН групе су утачњаване употребом опције HFIX83 за [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ и HFIX147 за [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2,5H₂O комплекс у *SHELXL97* програму [164]. Водоникови атоми који припадају молекулима воде нису лоцирани, услед слабе дифракције ових монокристала и присуства тешког атома злата у њима. Позиције осталих водоникових атома су израчунате на стандардним растојањима и утачњаване употребом „riding” модела, при чему су дата растојања: терцијарни C–H = 0,98 Å, секундарни C–H = 0,97 Å, метил C–H = 0,96 Å, имидазолов C–H = 0,93 Å, аминоксислужбени N–H = 0,90 Å, имидазолов N–H = 0,86 Å и хидрокси O–H = 0,82 Å. У кристалу [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2,5H₂O комплекса, кисеоникови атоми који се налазе на атому азота нитратне групе су неуређени, и за њихово утачњавање је употребљен окупациони број 1,00. У завршној фази утачњавања, вредности окупационог броја су износиле 0,56 за главну, односно 0,44 за споредну компоненту. Апсолутна структура кристала је претпостављена на основу познате апсолутне конфигурације дипептида употребљених за синтезу комплекса и додатно потврђена на основу Flack-овог параметра апсолутне структуре [165]. За графичку презентацију

кристалних структура употребљени су програми Siemens XP [166] и CCDC Mercury [167].

Табела 5. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплексе

	$[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$	$[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$	$[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$
Хемијска формула	$\text{C}_8\text{H}_{13,50}\text{AuClN}_5\text{O}_{7,25}$	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{AuClN}_5\text{O}_6$	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{AuClN}_5\text{O}_{8,50}$
Молекулска маса	528,15	505,63	564,70
Тачка топљења (°C)	154-159	154-159	87
Кристални систем	Моноклиничан	Орторомбичан	Орторомбичан
Просторна група	$C2$	$P2_12_12$	$P2_12_12$
Температура (К)	295(2)	130(2)	295(2)
Параметри јединичне ћелије			
a (Å)	24,5647(9)	16,9519(19)	18,0271(6)
b (Å)	6,7463(2)	6,6137(7)	7,0547(2)
c (Å)	17,7095(5)	12,0312(13)	13,5470(4)
α (°)	90	90	90
β (°)	91,215(3)	90	90
γ (°)	90	90	90
V (Å ³)	2934,17(16)	1348,9(3)	1722,85(9)
Z	8	4	4
D_x (g cm ⁻³)	2,391	2,490	2,177
μ (mm ⁻¹)	10,26	11,14	8,74
Димензије кристала (mm)	0,10 × 0,03 × 0,02	0,25 × 0,10 × 0,04	0,30 × 0,04 × 0,01
Број сакупљених рефлексија	20068	9819	24860
Број независних рефлексија	5164	2376	3048
Број употребљених рефлексија	3004 [$I > 2\sigma(I)$]	1761 [$I > 2\sigma(I)$]	2502 [$I > 2\sigma(I)$]
R_{int} (%)	9,3	6,6	5,2

Метода утачњавања структуре	Метода најмањих квадрата на бази F^2 (пуна матрица)		
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0,040	0,054	0,027
$wR(F^2)$	0,060	0,130	0,063
S	0,77	1,18	0,97
$\Delta\rho_{\max}$ (e \AA^{-3})	1,43	2,98	1,15
$\Delta\rho_{\min}$ (e \AA^{-3})	-1,04	-1,12	-0,44
Flack-ов параметар	-0,021(11)	0,03(4)	-0,002 (15)

3.5. Добијање $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса

Комплекс $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ (dien је тридентатно координовани диетилентриамин) је добијен по модификованом поступку који је раније описан у литератури [168,169]. У $2,0 \text{ cm}^3$ воде растворити $0,3544 \text{ g}$ ($9 \cdot 10^{-4} \text{ mola}$) $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса и у овај раствор додавати полако уз мешање раствор који садржи $263 \mu\text{l}$ 97% ($\rho = 0,95 \text{ g/cm}^3$) диетилентриамина ($2,35 \cdot 10^{-3} \text{ mola}$) и $602 \mu\text{l}$ 36,2% ($\rho = 1,18 \text{ g/cm}^3$) HCl ($7,05 \cdot 10^{-3} \text{ mola}$). Жути талог, који се створио одмах по додатку лиганда, растварати укапавањем $2,0 \text{ cm}^3$ раствора NaOH концентрације $2,0 \text{ mol/dm}^3$ ($0,1600 \text{ g}$, $4 \cdot 10^{-3} \text{ mola}$). Укапавање вршити лагано за време од једног сата уз стално мешање и повремено контролисање рН вредности. Добијени жути раствор (рН је у опсегу 3,00 – 4,00) мешати на $0 \text{ }^\circ\text{C}$ за време од 3 сата, а затим оставити на собној температури у мраку за време од 2 дана, при чему се издвајају жути кристали $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса. Кристале одвојити цеђењем, испрати етанолом и сушити на ваздуху. Принос је 62% ($0,2270 \text{ g}$). Чистоћа и састав комплекса су проверени помоћу резултата елементарне микроанализе, ^1H NMR спектроскопије и UV-Vis спектрофотометрије. Добијени експериментални резултати су у сагласности са раније објављеним за $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекс [170,171].

3.6. Добијање $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса

У $5,0 \text{ cm}^3$ воде растворити $0,1032 \text{ g}$ ($5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mola}$) Gly-D,L-Met дипептида и рН вредност добијеног раствора подесити на око 1,50 – 2,00 додавањем раствора HNO_3 или HCl концентрације $1,0 \text{ mol/dm}^3$. У добијени раствор додати еквимоларну количину $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса ($0,1969 \text{ g}$), претходно раствореног у $3,0 \text{ cm}^3$ воде. Суд са реакцијом смешом (рН око 1,50 – 2,00) увити у алуминијумску фолију и

оставити на собној температури уз мешање. Добијени жути раствор процедити од издвојеног елементарног злата и оставити на собној температури 2 – 3 дана, при чему се издвајају жути кристали $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса. Кристале одвојити цеђењем, испрати етанолом и сушити на ваздуху и на собној температури. Принос је 40% (0,1124 g). Чистоћа и састав комплекса су проверени помоћу резултата елементарне микроанализе.

Израчунато за $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4] = \text{C}_7\text{H}_{15}\text{AuCl}_4\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (Mr = 562,04):
C, 14,96; H, 2,69; N, 4,98; S, 5,71. Нађено: C, 15,31; H, 2,70; N, 4,96; S, 5,52%.

3.7. Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса

Рендгенска структурна испитивања за кристале $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса су вршена на дифрактометру типа Kuma KM-4 CCD κ -геометрије применом графитне монохроматске Мо-К α радијације ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$). Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за поменути комплекс, су приказани у табели 6.

За решавање и утачњавање структуре комплекса је употребљен програм *SHELXL97* [164]. Позиција водониковог атома из –ОН групе је утачњавана употребом HFIX147 опције у *SHELXL97* програму [164]. Позиције осталих водоникових атома су израчунате на стандардним растојањима и утачњаване употребом „riding” модела, при чему су дата растојања: терцијарни C–H = 1,00 \AA , секундарни C–H = 0,99 \AA , метил C–H = 0,98 \AA , амонијум N–H = 0,91 \AA , пептидни N–H = 0,88 \AA и хидрокси O–H = 0,84 \AA . Бочни низ метионинског остатка у пептиду је неуређен због присуства R_S и S_S дијастереоизомера, који се разликују у конфигурацији на атому сумпора, у истој јединичној ћелији. Окупациони бројеви за дијастереоизомере су најпре утачњавани слободно, при чему је њихов збир био једнак 1,00. За референтни молекул, који има L конфигурацију на α -угљениковом атому пептида, вредности окупационог броја су утачњене на 0,77 за R_S , односно 0,23 за S_S дијастереоизомер, при чему су ове вредности биле константне у завршној фази утачњавања. Пошто је кристал центросиметричан, он садржи исти број молекула који имају D конфигурацију на α -угљениковом атому пептида, и код којих је однос S_S и R_S дијастереоизомера 77:23.

Табела 6. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекс

	$[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$
Хемијска формула	$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{AuCl}_4\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$
Молекулска маса	562,04
Кристални систем	Триклиничан
Просторна група	$P\bar{1}$
Параметри јединичне ћелије	
a (Å)	7,6250(5)
b (Å)	10,2576(4)
c (Å)	10,7160(7)
α (°)	95,281(4)
β (°)	107,222(6)
γ (°)	92,001(4)
V (Å ³)	795,46(8)
Z	2
Дифрактометар	Кума КМ-4 CCD κ -геометрија
Монохроматор	Графит
Радијација	Мо-К α ($\lambda = 0,71073$ Å)
Температура (К)	130(2)
μ (mm ⁻¹)	10,06
Димензије кристала (mm)	0,30 × 0,20 × 0,03
Корекција на апсорпцију T_{\min} , T_{\max}	0,092; 1,000
Број сакупљених рефлексција	5656
Број независних рефлексција	2756
Број употребљених рефлексција	2650 [$I > 2\sigma(I)$]
R_{int} (%)	0,015
Метода утачњавања структуре	Метода најмањих квадрата на бази F^2
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0,016
$wR(F^2)$	0,042
S	1,12
$\Delta\rho_{\text{max}}$ (e Å ⁻³); $\Delta\rho_{\text{min}}$ (e Å ⁻³)	0,53; -0,91

За главну компоненту, сви атоми различити од атома водоника су утачњавани анизотропно, док је за другу компоненту једино атом сумпора утачњаван анизотропно, док су остали атоми са општим параметром изотропног премештања утачњавани на $0,037(3) \text{ \AA}^2$.

3.8. Мерење рН вредности

Сва рН мерења су рађена на $25 \text{ }^\circ\text{C}$. За ову сврху је употребљен рН-метар Iskra MA 5704, који је калибрисан у односу на Fischer-ов пуферски раствор за рН = 4,00. Измерене рН вредности су, у појединим случајевима, кориговане у односу на деутеријумски ефекат коришћењем једначине $pD = pH + 0,45$ [172].

3.9. Елементарне микроанализе

Елементарне микроанализе за С, Н и N параметре су рађене у Микроаналитичком одељењу Института за хемију Хемијског факултета, Универзитета у Београду.

3.10. NMR (^1H и ^{13}C) мерења

За снимање ^1H и ^{13}C NMR спектра у свим случајевима је употребљен D_2O као растварач и TSP (натријум-3-(триметилсилил)пропаноат) као референтни стандард. Сви ^1H и ^{13}C NMR спектри су снимљени на спектрометру фирме Varian Gemini 2000 на 200 односно 51,3 MHz. Реакције су извођене у NMR киветама пречника 5 mm. Сви NMR спектри су обрађивани коришћењем Varian VNMR компјутерског програма (верзија 6.1, ревизија C).

Реакције $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса са дипептидима Gly-Gly и Gly-L-Ala су праћене помоћу ^1H NMR спектроскопије. Злато(III) комплекс и одговарајући дипептид су мешани у молском односу 1:1 у NMR кивети. Концентрација раствора након мешања је била $0,02 \text{ mol/dm}^3$ у односу на реактанте, а запремина $0,6 \text{ cm}^3$. Реакције су извођене на температури од $40 \text{ }^\circ\text{C}$ у рН области 2,00 – 5,00.

Константе брзине за реакције $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса и Gly-Gly, Gly-L-Ala и Gly-L-His дипептида су одређене применом ^1H NMR спектроскопије. Еквимоларне

количине злато(III) комплекса и одговарајућег дипептида су мешане у NMR кивети. Концентрација раствора након мешања је била $0,02 \text{ mol/dm}^3$ у односу на реактанте, а запремина $0,6 \text{ cm}^3$. Наведене реакције су извођене на температури од $25 \text{ }^\circ\text{C}$ у $0,001 \text{ mol/dm}^3$ раствору DCl у D_2O . Вредности константи брзине (k_2) добијене су из нагиба праве када се из једначине за реакцију другог реда:

$$k_2 t = \frac{x}{a_0(a_0 - x)}$$

израз $x/a_0(a_0-x)$ посматра у функцији времена (t) [173]. У овој релацији a_0 је почетна концентрација слободног дипептида, а x концентрација Au(III)-дипептид комплекса са тридентатно координованим дипептидом у времену t .

Реакције $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса и дипептида који у бочном низу садрже аминокиселину L-хистидин, L-His-Gly и Gly-L-His, испитиване су применом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије. Одговарајући дипептид и $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекс су мешани у молском односу 1:1 у NMR кивети. Концентрација раствора након мешања била је $0,02 \text{ mol/dm}^3$ у односу на реактанте, а запремина $0,6 \text{ cm}^3$. Реакције су извођене на температури од $25 \text{ }^\circ\text{C}$, а рD вредност реакционе смеше је била у опсегу 3,50 – 5,50.

Реакције $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса са дипептидом Gly-D,L-Met и његовим N-ацетилованим дериватом, Ac-Gly-D,L-Met, изучаване су применом ^1H NMR спектроскопије. Одговарајући дипептид и $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекс су мешани у различитим молским односима (1:1, 2:1 и 3:1), при чему је почетна концентрација $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ била $0,02 \text{ mol/dm}^3$. Реакције су извођене на температури од $25 \text{ }^\circ\text{C}$ у раствору DCl у D_2O концентрације $0,01 \text{ mol/dm}^3$. Константе брзине ових реакција су одређене применом ^1H NMR спектроскопије на начин који је напред описан, цртањем графика $x/a_0(a_0-x)$ у функцији времена (t), где је a_0 почетна концентрација слободног дипептида, а x концентрација одговарајућег сулфооксида у времену t [173].

3.11. UV-Vis мерења

Сви електронски апсорпциони спектри су снимљени на Perkin Elmer Lambda 35 спектрофотометру, који је опремљен хелијом за термостатирање.

Реакција између $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса и Gly-D,L-Met дипептида је праћена применом UV-Vis спектрофотометрије. Дипептид и злато(III) комплекс су

растворени у $0,01 \text{ mol/dm}^3$ раствору HCl , а затим мешани у 1:1, 2:1 и 3:1 молским односима на собној температури, при чему је концентрација $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ у коначном раствору била $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$. Електронски апсорпциони спектри су снимљени на сваких 30 s, у опсегу таласних дужина 200 – 500 nm. Експериментални резултати су обрађивани применом компјутерских програма Origin 6.1 и Microsoft Office Excel 2003.

3.12. Волтаметријска мерења цикличном волтаметријом

Циклични волтамограми су снимљени на Autolab потенциостату (PGSTAT 302 N). Електрода од стакластог угљеника (GC) са PTFE цевчицом (3 mm унутрашњи и 9 mm спољашњи пречник) је коришћена као радна електрода. Пре употребе, површина електроде је полирана, док није постала глатка, а затим испирана два пута бидестилованом водом и раствором основног електролита. Засићена каломелова електрода (ZKE) типа 401 (Radiometer, Copenhagen) је употребљена као референтна, а платинска жица као помоћна електрода. Основни електролит за извођење волтаметријских мерења је био раствор NaCl концентрације $0,04 \text{ mol/dm}^3$ на $\text{pH} = 2,00$.

Реакција између $\text{H[AuCl}_4\text{]} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса и Gly-D,L-Met дипептида је праћена узастопним снимањем цикличних волтамограма, при чему је временски интервал између два волтамограма био 30 s. Дипептид и комплекс злата(III) су мешани у 1:1, 2:1 и 3:1 молским односима, при чему је концентрација $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ у коначном раствору била $1,05 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$. Брзина скенирања је била $0,070 \text{ V s}^{-1}$, при следећим условима: $E_{\text{почетно}} = 0,0 \text{ V}$, $E_{\text{крајње}} = 1,5 \text{ V}$ и $E_{\text{step}} = 0,003 \text{ V}$. Сви експерименти су извођени на собној температури и поновљени најмање три пута. За обраду експерименталних резултата употребљен је компјутерски програм Origin 6.1.

4. ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА

4.1. СИНТЕЗА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА НЕКИМ ДИПЕПТИДИМА

Након Rosenberg-овог открића, 1964. године, да *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] комплекс показује антитуморску активност [78,79], започело је интензивно изучавање комплекса прелазних метала као потенцијалних антитуморских агенаса [80]. С обзиром да су Pt(II) и Au(III) изоелектронски јони (*d*⁸ електронска конфигурација) и да формирају квадратно-планарне комплексе, било је за очекивати да ће, слично комплексима платине(II), и комплекси злата(III) бити антитуморски активни. Међутим, комплекси злата(III), због високе позитивне вредности редокс потенцијала и изразитих оксидационих особина, нису довољно стабилни при физиолошким условима. Упркос овој чињеници, у току последње две деценије синтетизован је велики број комплекса злата(III) који су стабилни при физиолошким условима, а самим тим и мање токсични, и који показују активност према широком спектру ћелијских линија тумора [81-92]. Да би се повећала стабилност Au(III) комплекса, у њиховим синтезама коришћени су различити полидентатни лиганди, као што су полиамини, терпиридин, фенантролин, деривати фенилпиридина, бипиридина и порфирина, пептиди и дитиокарбамати [81-92]. Међутим, да би се комплекси злата(III) примењивали у лечењу тумора, неопходно је објаснити механизам њиховог антитуморског и токсичног деловања. Најновија истраживања у овој области су показала да ДНК није примарни акцепторски молекул за комплексе злата(III), као у случају антитуморских комплекса платине(II), већ да су то молекули протеина [90,132]. Имајући наведене чињенице у виду, испитивање реакција комплекса

злата(III) са пептидима може бити од значаја у тумачењу механизма њиховог антитуморског, као и токсичног деловања.

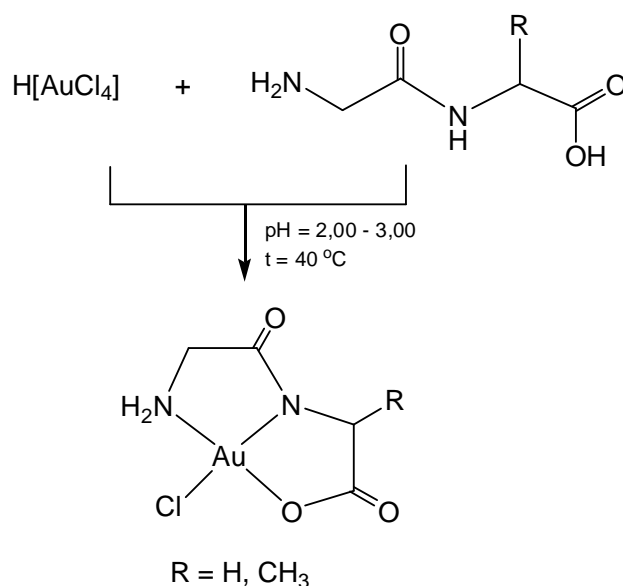
Пептиди садрже различите донорске атоме, преко којих се могу координовати за јон метала, градећи стабилне комплексе [147-159]. Важно је напоменути да формирање стабилних комплекса са пептидима најчешће захтева координацију депротонованог атома азота пептидне везе за одговарајући јон метала [147-159]. Свега неколико јона метала може да депротонује атом азота пептидне везе, при чему pK_a вредност депротонације зависи од врсте јона метала и природе бочног низа пептида [148]. Упркос великом биолошком значају реакција пептида са јонима метала, резултати постигнути у области синтезе комплекса злата(III) са пептидима су веома оскудни. До сада су синтетизована и структурно окарактерисана само три комплекса злата(III) са пептидима који у бочном низу садрже аминокиселину L-хистидин, од којих су два комплекса са дипептидом глицил-L-хистидином (Gly-L-His), мономерни $[Au(Gly-L-His-N,N',N'')Cl]Cl \cdot 3H_2O$ и тетрамерни $[Au(Gly-L-His-N,N',N'',N''')]_4 \cdot 10H_2O$ [123], а један комплекс са трипептидом глицил-глицил-L-хистидином (Gly-Gly-L-His) који је тетрадентатно координован за Au(III) јон, $[Au(Gly-Gly-L-His-N,N',N'',N''')]Cl \cdot H_2O$ [124]. Поред тога, мономерни комплекс злата(III) са Gly-L-His је показао антитуморску активност према A2780/S ћелијској линији, која је нешто мања од одговарајуће активности цисплатине [81].

Имајући у виду биолошки значај реакција комплекса злата(III) са пептидима, као и потенцијалну примену злато(III)-пептид комплекса као антитуморских агенаса, ова докторска дисертација се бави испитивањем реакција и структурном карактеризацијом производа који настају у реакцијама између $H[AuCl_4]$ комплекса и дипептида који у бочном низу садрже хистидин и метионин, као и дипептида који не садрже хетероатом у бочном низу. Поред тога, испитиване су реакције монофункционалног $[Au(dien)Cl]Cl_2$ комплекса (dien је тридентатно координовани диетилентриамин) са дипептидима који садрже C- и N-терминални L-хистидин.

4.1.1. ИСПИТИВАЊЕ РЕАКЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ДИПЕПТИДИМА КОЈИ НЕ САДРЖЕ ХЕТЕРОАТОМ У БОЧНОМ НИЗУ

Реакције $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплекса са Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептидима

Применом ^1H NMR спектроскопије испитиване су реакције хидроген-тетрахлоридоаурата(III) ($\text{H[AuCl}_4\text{]}$) са глицил-глицином (Gly-Gly) и глицил-L-аланином (Gly-L-Ala) у рН области 2,00 – 5,00 на 40 °C. Нађено је да у овим реакцијама при рН = 2,00 и 3,00, долази до тридентатне координације дипептида за Au(III) јон, при чему настају квадратно-планарни $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ комплекси (Слика 30). Ови комплекси су окарактерисани применом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије (Табеле 7 и 8). На основу спектроскопских података, закључено је да је одговарајући дипептид координан за Au(III) јон преко атома азота терминалне аминок групе, депротонованог атома азота пептидне везе и кисеониковог атома карбоксилне групе, док се за четврто место координује хлоридо лиганд. Из табела 7 и 8 се може видети да су сигнали свих водоникових и угљеникових атома за Au(III) -дипептид комплексе померени ка нижем пољу у односу на одговарајуће сигнале слободних дипептида. Хемијска померања сигнала ка нижем пољу су утврђена и раније за реакцију трипептида глицил-глицил-L-хистидина (Gly-Gly-L-His) и $[\text{AuCl}_4\text{}]^-$, при чему долази до тетрадентатне координације овог трипептида и настајања квадратно-планарног $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'',N''')\text{Cl}]^+$ комплекса [124].



Слика 30. Шематски приказ реакција Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептида са $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплексом у рН области 2,00 – 3,00 и на 40 °C

Формирање $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ комплекса је веома спор процес, чија брзина зависи од рН вредности реакционе смеше. Када се реакције Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептида са $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ изводе при $\text{pH} > 3,00$ ($\text{pH} = 4,00$ и $5,00$), долази до веома брзе редукције Au(III) јона. Реакциона смеша потпуно потамни од издвојеног елементарног злата након 12 сати на $\text{pH} = 5,00$ и на 40°C .

Табела 7. ^1H NMR хемијска померања (δ , ppm) за Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептиде и одговарајуће Au(III) -дипептид комплексе, $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$, на $\text{pH} = 3,00$ у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард^a

Пептид/Комплекс Протони	Gly-Gly	$[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$	Gly-L-Ala	$[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$
Gly1CH ₂	3,89 (<i>s</i>)	3,96 (<i>s</i>)	3,84 (<i>s</i>)	3,90 (<i>s</i>)
Gly2CH ₂	4,07 (<i>s</i>)	4,26 (<i>s</i>)		
Ala α CH			4,08 (<i>q</i>)	4,15 (<i>q</i>)
Ala β CH ₃			1,40 (<i>d</i>)	1,44 (<i>d</i>)

^a*s* = синглет; *d* = дублет; *q* = кватрет

Табела 8. ^{13}C NMR хемијска померања (δ , ppm) за Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептиде и одговарајуће Au(III) -дипептид комплексе, $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$, на $\text{pH} = 3,00$ у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард

Пептид/Комплекс Угљеникови атоми	Gly-Gly	$[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$	Gly-L-Ala	$[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$
Gly1CH ₂	43,44	49,95	43,33	49,99
Gly2CH ₂	45,79	50,25		
Gly1CO	170,00	176,06	169,06	175,99
Gly2COO	178,75	188,16		
Ala α CH			54,01	58,06
Ala β CH ₃			20,00	22,34
AlaCOO			182,78	188,60

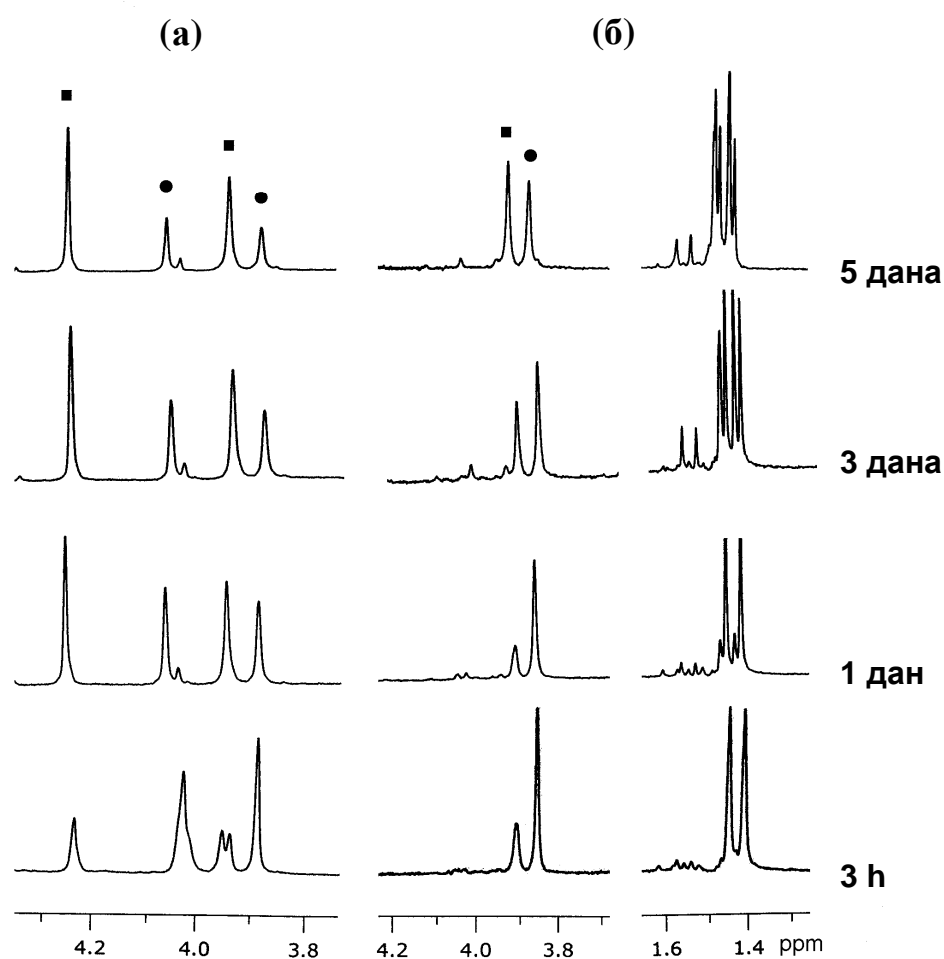
Реакција $H[AuCl_4]$ комплекса и Gly-Gly дипептида

Применом 1H NMR спектроскопије испитивана је реакција Gly-Gly дипептида и $H[AuCl_4]$ комплекса на $pH = 2,00$ и $3,00$ на $40\text{ }^\circ C$ у функцији времена (Слика 31а). Настајање $[Au(Gly-Gly-N,N',O)Cl]$ комплекса се може пратити у 1H NMR спектру на основу промене интензитета сигнала за водоникове атоме координованог и некоординованог глицил-глицина. У некоординованом дипептиду, интензитети сигнала на $\delta = 3,89$ и $4,07$ ppm, који одговарају Gly1CH₂ односно Gly2CH₂ метиленским протонима, се временом смањују, док се интензитети сигнала на $\delta = 3,96$ и $4,26$ ppm, за исте протоне тридентатно координованог дипептида за Au(III) јон, временом повећавају. Реакција је праћена пет дана, а количина насталог $[Au(Gly-Gly-N,N',O)Cl]$ комплекса је израчуната на основу вредности интеграла за сигнале који потичу од Gly1CH₂ и Gly2CH₂ протона слободног Gly-Gly дипептида и вредности интеграла за исте протоне који потичу од тридентатно координованог дипептида. Нађено је да се, након пет дана реакционог времена, око 70% дипептида координује за Au(III) јон. Вредност константе брзине другог реда (k_2), за реакцију $H[AuCl_4]$ комплекса са Gly-Gly дипептидом на $25\text{ }^\circ C$ у $0,001\text{ mol/dm}^3$ раствору DCl у D₂O као растварачу, добијена је из нагиба праве када се из једначине за реакцију другог реда $k_2t = x/a_0(a_0-x)$, израз $x/a_0(a_0-x)$ посматра у функцији времена (t) [173]. У овој релацији a_0 је почетна концентрација Gly-Gly, а x концентрација $[Au(Gly-Gly-N,N',O)Cl]$ комплекса са тридентатно координованим дипептидом у времену t . Одређено је да константа брзине другог реда (k_2) за испитивану реакцију износи $(1,63 \pm 0,07) \times 10^{-7}\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Табела 9).

Реакција $H[AuCl_4]$ комплекса и Gly-L-Ala дипептида

Реакција између Gly-L-Ala дипептида и $H[AuCl_4]$ комплекса је испитивана под истим експерименталним условима као и претходно описана реакција са Gly-Gly дипептидом. Формирање $[Au(Gly-L-Ala-N,N',O)Cl]$ комплекса се може пратити у 1H NMR спектру на основу промене интензитета сигнала за протоне координованог и некоординованог глицил-L-аланина. Интензитети синглета на $\delta = 3,84$ ppm, који потиче од метиленских протона глицина (GlyCH₂) и дублета на $\delta = 1,40$ ppm, који потиче од метил протона L-аланинског остатка (Ala β CH₃) слободног дипептида, се временом смањују, док се интензитети синглета на $\delta = 3,90$ ppm за GlyCH₂ и дублета

на $\delta=1,44$ ppm за $\text{Ala}\beta\text{CH}_3$ који одговарају тридентатно координованом дипептиду за Au(III) јон временом повећавају (Слика 31б). На основу вредности интеграла за сигнале на $\delta = 3,84$ и $3,90$ ppm који потичу од GlyCH_2 протона слободног, односно координованог Gly-L-Ala дипептида, израчунато је да се након пет дана реакционог времена координује око 55% дипептида, при чему настаје $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ комплекс. Константа брзине другог реда (k_2), за ову реакцију на 25°C у $0,001\text{ mol/dm}^3$ раствору DCl у D_2O , израчуната је на претходно описан начин и нађено је да износи $(0,71 \pm 0,06) \times 10^{-7}\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Табела 9).



Слика 31. Делови ^1H NMR спектра за реакције Gly-Gly (а) и Gly-L-Ala (б) са $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ у функцији времена на $\text{pH} = 3,00$ и на 40°C у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард: (а) $\text{Gly-Gly} + \text{H}[\text{AuCl}_4]$, (●) Gly1CH_2 на $\delta = 3,89$ ppm и Gly2CH_2 на $\delta = 4,07$ ppm за слободан дипептид; (■) Gly1CH_2 на $\delta = 3,96$ ppm и Gly2CH_2 на $\delta = 4,26$ ppm за $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ комплекс; (б) $\text{Gly-L-Ala} + \text{H}[\text{AuCl}_4]$, (●) GlyCH_2 на $\delta = 3,84$ ppm за слободан дипептид и (■) GlyCH_2 на $\delta = 3,90$ ppm за $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ комплекс

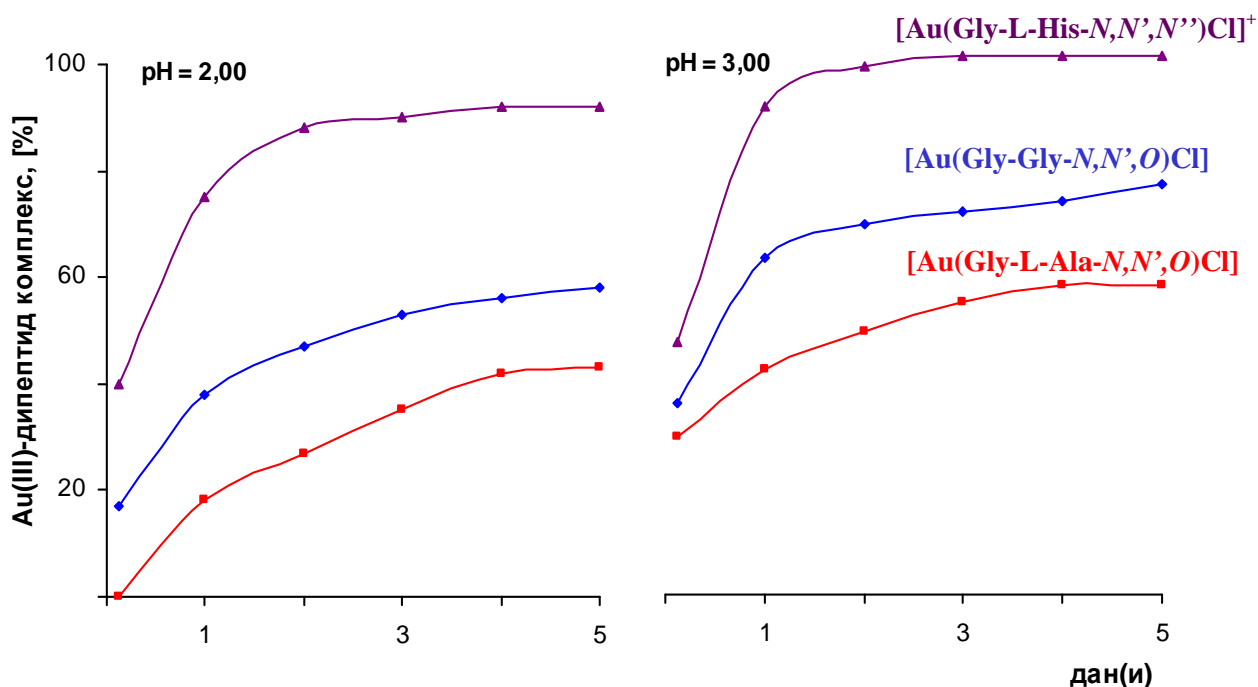
Поређење брзина тридентатне координације Gly-Gly, Gly-L-Ala и Gly-L-His дипептида за Au(III) јон

На основу NMR спектроскопских резултата, закључено је да Au(III) јон депротонује атом азота пептидне везе у Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептидима на рН = 2,00 и 3,00, док при рН вредностима већим од 3,00, долази до веома брзе редукције Au(III) јона. Реакција тридентатне координације Gly-Gly дипептида је приближно два пута бржа у односу на реакцију координације Gly-L-Ala, што се може приписати стерном ефекту метил групе у L-аланинском остатку.

Константе брзине за реакције тридентатне координације Gly-Gly и Gly-L-Ala дипептида за Au(III) јон су поређене са вредношћу константе за реакцију глицил-L-хистидина (Gly-L-His) са овим јоном. Реакција Gly-L-His дипептида и $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса је испитивана у 1:1 молском односу на 25 °C у 0,001 mol/dm³ раствору DCl у D₂O као растварачу. Формирање $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]^+$ комплекса је праћено у функцији времена, на основу смањења интензитета сигнала на $\delta = 3,78$ ppm, који потичу од GlyCH₂ протона слободног дипептида, и повећања интензитета сигнала на $\delta = 3,98$ ppm, који потичу од истих протона тридентатно координаног дипептида. Одређено је да константа брзине другог реда (k_2) за реакцију Gly-L-His и $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ износи $(124,00 \pm 0,30) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Табела 9). Из табеле 9 и слике 32 се може видети да, при истим реакционим условима, брзина координације Gly-X дипептида (X је Gly, L-Ala и L-His) за Au(III) јон зависи од стерног ефекта и природе бочног низа C-терминалне аминокиселине.

На основу разлике у брзини координације испитиваних дипептида за Au(III) јон, закључено је да је N3 атом азота имидазоловог прстена L-хистидина много бољи нуклеофил од донорских атома у пептидима који не садрже L-хистидин (Gly-Gly и Gly-L-Ala). У првој фази реакције Gly-L-His са $[\text{AuCl}_4]^-$ долази до координације дипептида за Au(III) јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена L-хистидина, при чему та фаза одређује брзину настајања Au(III)-дипептид комплекса. Злато(III) јон, који је координан за N3 имидазолов атом азота, депротонује пептидни азот, при чему се, у следећој фази реакције, пептид координује за Au(III) јон преко депротонованог атома азота пептидне везе и азота терминалне аминокиселине глицина. На основу добијених резултата, може се закључити да се, у киселој средини (рН < 3,00), пептиди који садрже L-хистидин брже координују за Au(III) јон од

пептида који не садрже ову аминокиселину у бочном низу, при чему процес тридентатне координације доприноси стабилизацији +3 оксидационог стања злата, спречавајући његову редукцију.



Слика 32. Формирање $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ комплекса у функцији времена у реакцијама Gly-Gly (—), Gly-L-Ala (—) и Gly-L-His (—) са $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ на $\text{pH} = 2,00$ и $3,00$ и на $40\text{ }^\circ\text{C}$

Табела 9. Константе брзине другог реда (k_2) за реакције тридентатне координације Gly-Gly, Gly-L-Ala и Gly-L-His дипептида за Au(III) јон на $25\text{ }^\circ\text{C}$ у $0,001\text{ mol/dm}^3$ раствору DCl у D_2O као растварачу

Реакција	$k_2 \times 10^{-7}\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$
$\text{Gly-L-Ala} + \text{H}[\text{AuCl}_4] \rightarrow [\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$	$0,71 \pm 0,06$
$\text{Gly-Gly} + \text{H}[\text{AuCl}_4] \rightarrow [\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$	$1,63 \pm 0,07$
$\text{Gly-L-His} + \text{H}[\text{AuCl}_4] \rightarrow [\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$	$124,00 \pm 0,30$

4.1.2. ИСПИТИВАЊЕ РЕАКЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ДИПЕПТИДИМА КОЈИ САДРЖЕ L-ХИСТИДИН

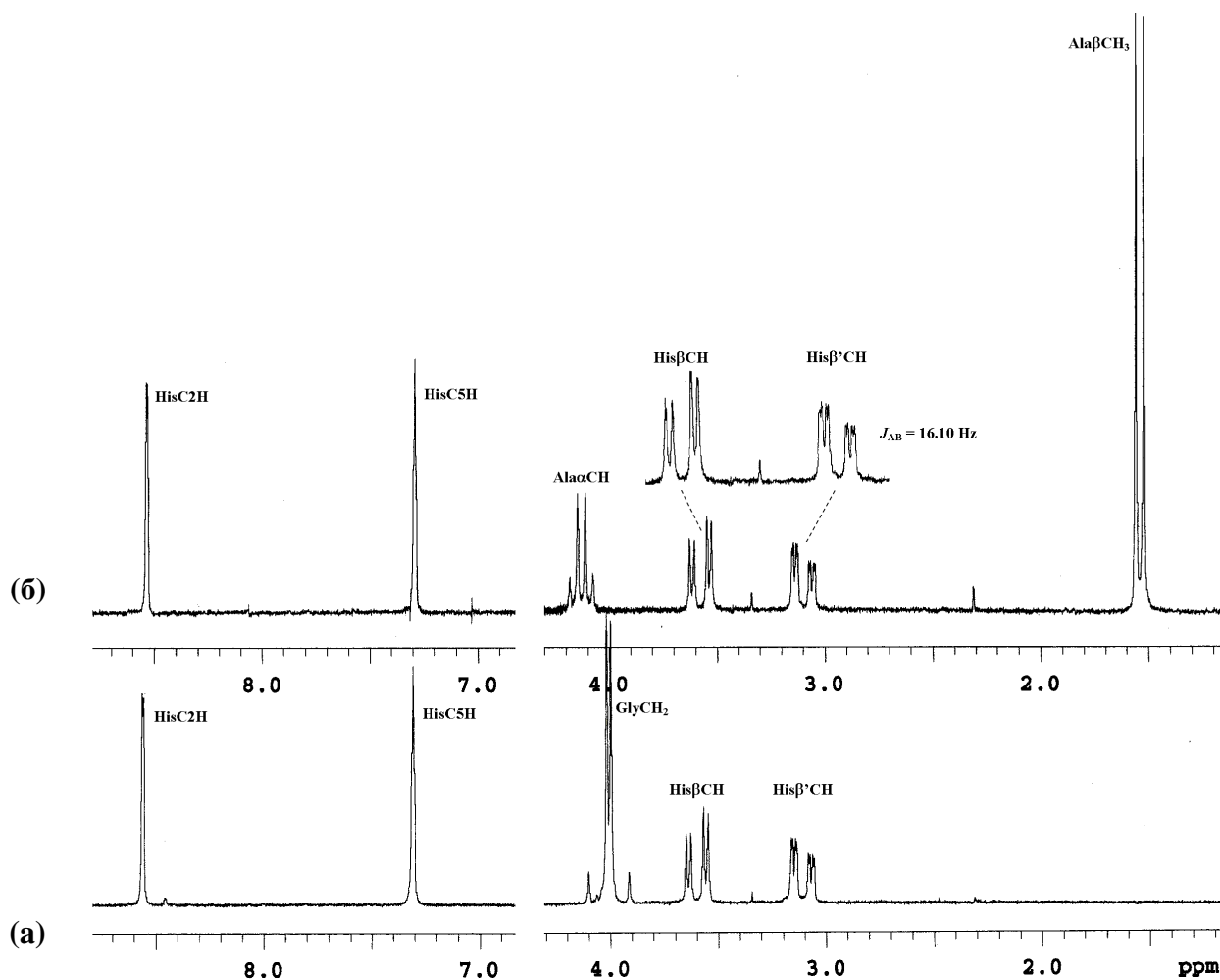
Синтеза и карактеризација комплекса злата(III) са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима

У реакцијама еквимоларних количина $\text{H[AuCl}_4\text{]}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса и дипептида који садрже L-хистидин, глицил-L-хистидина (Gly-L-His) и L-аланил-L-хистидина (L-Ala-L-His) на $\text{pH} = 1,50$ и на собној температури, добијени су Au(III)-дипептид комплекси, који су окарактерисани применом ^1H NMR спектроскопије и рендгенске структурне анализе. За време од 10 дана из воденог раствора ($\text{pH} < 1,00$) издвојили су се кристали $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса.

^1H NMR карактеризација комплекса злата(III) са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима

На слици 33 приказани су ^1H NMR спектри $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса, снимљени у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард.

Хемијска померања протона за некоординоване дипептиде и одговарајуће Au(III)-дипептид комплексе су приказана у табели 10. Поређења ради, у истој табели су дата и хемијска померања раније окарактерисаних Pd(II)-пептид комплекса [124,174,175], као и Au(III) комплекса са Gly-Gly-L-His трипептидом [124]. Ранија испитивања реакција Pd(II) комплекса са пептидима који садрже L-хистидин у бочном низу су показала да се овај јон метала може координовати за имидазолов прстен L-хистидина преко N3 или N1 атома азота, што се у ^1H NMR спектру прати на основу хемијских померања за C2H и C5H протоне имидазоловог прстена хистидина [174-180]. Осим тога, нађено је да Pd(II) јон, након координације за N3 атом азота имидазоловог прстена, депротонује атом азота пептидне везе при pH вредностима нижим од 2,00 [181-186].



Слика 33. ^1H NMR спектри $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ (а) и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ (б) комплекса, снимљени у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард

^1H NMR спектри $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса су веома слични, при чему су ове сличности нарочито изражене у хемијским померањима за C2H и C5H протоне имидазолског прстена (Слика 33 и Табела 10). Сви пептиди који су приказани у табели 10, координују се за јон метала преко N3 атома азота имидазолског прстена хистидина, док се за остала места у квадратно-планарној равни координују депротонирани атом азота пептидне везе и азот терминалне аминок групе.

Табела 10. ^1H NMR хемијска померања (δ , ppm) за пептиде који садрже L-хистидин и одговарајуће Pd(II) и Au(III) комплексе у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард. ^1H NMR спектри за Au(III) комплексе са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима су снимљени на pH = 2,40

Пептид/Комплекс	Имидазолони протони		Хемијска померања осталих протона
	C2H	C5H	
Gly-L-His	8,62	7,31	3,83 (GlyCH ₂) 4,63 (His α CH) 3,35 (His β CH), 3,21 (His β' CH), $J_{AB} = 15,60$ Hz
[Pd(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]·0,5(CH ₃) ₂ CO [174]	7,92	7,04	3,52 (GlyCH ₂) 4,44 (His α CH) 3,32 (His β CH), 2,91 (His β' CH), $J_{AB} = 15,30$ Hz
[Au(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·1,25H ₂ O	8,56	7,31	4,06 (GlyCH), 3,96 (GlyCH'), $J_{AB} = 20,00$ Hz 4,69 (His α CH) 3,60 (His β CH), 3,11 (His β' CH), $J_{AB} = 15,90$ Hz
L-Ala-L-His	8,64	7,34	4,08 (Ala α CH), 1,53 (Ala β CH ₃) 4,64 (His α CH) 3,40 (His β CH), 3,24 (His β' CH), $J_{AB} = 15,70$ Hz
[Pd(L-Ala-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl] [175]	7,92	7,04	3,65 (Ala α CH), 1,42 (Ala β CH ₃) 4,44 (His α CH) 3,33 (His β CH), 2,93 (His β' CH), $J_{AB} = 16,00$ Hz
[Au(L-Ala-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·2,5H ₂ O	8,56	7,31	4,15 (Ala α CH), 1,56 (Ala β CH ₃) 4,66 (His α CH) 3,58 (His β CH), 3,10 (His β' CH), $J_{AB} = 16,10$ Hz
Gly-Gly-L-His ^a [124]	8,20	7,11	3,86 (Gly1CH ₂) 3,98 (Gly2CH), 3,98 (Gly2CH'), $J_{AB} = 17,20$ Hz ^b 4,49 (His α CH) 3,21 (His β CH), 3,06 (His β' CH), $J_{AB} = 15,40$ Hz
[Pd(Gly-Gly-L-His- <i>N,N',N'',N'''</i>)]·1,5H ₂ O ^a [124]	7,60	6,97	3,63 (Gly1CH ₂) 3,91 (Gly2CH), 3,89 (Gly2CH') ^c , $J_{AB} = 18,90$ Hz ^b 4,30 (His α CH) 3,26 (His β CH), 2,75 (His β' CH), $J_{AB} = 15,20$ Hz
[Au(Gly-Gly-L-His- <i>N,N',N'',N'''</i>)]ClH ₂ O ^a [124]	8,26	7,25	4,15 (Gly1CH ₂) 4,31 (Gly2CH), 4,25 (Gly2CH'), $J_{AB} = 17,80$ Hz ^b 4,52 (His α CH) 3,51 (His β CH), 2,98 (His β' CH), $J_{AB} = 15,80$ Hz

^apH = 7,00; ^b ^1H NMR константе купловања за Gly-Gly-L-His (у 90% H₂O – 10% D₂O, pH = 3,10), [Pd(Gly-Gly-L-His-*N,N',N'',N'''*)]·1,5H₂O (у D₂O, pH = 7,30) и [Au(Gly-Gly-L-His-*N,N',N'',N'''*)]ClH₂O (у D₂O, pH = 3,10); ^c500 MHz у 90% H₂O – 10% D₂O, pH = 6,90

Као што се може видети у табели 10, сигнали за C2H и C5H протоне имидазоловог прстена се померају ка вишем пољу након координације пептида за Pd(II) јон. Због чињенице да је N3 атом азота имидазоловог прстена пептида ближи C2H протону, разлика у хемијским померањима за тај протон у слободном пептиду и

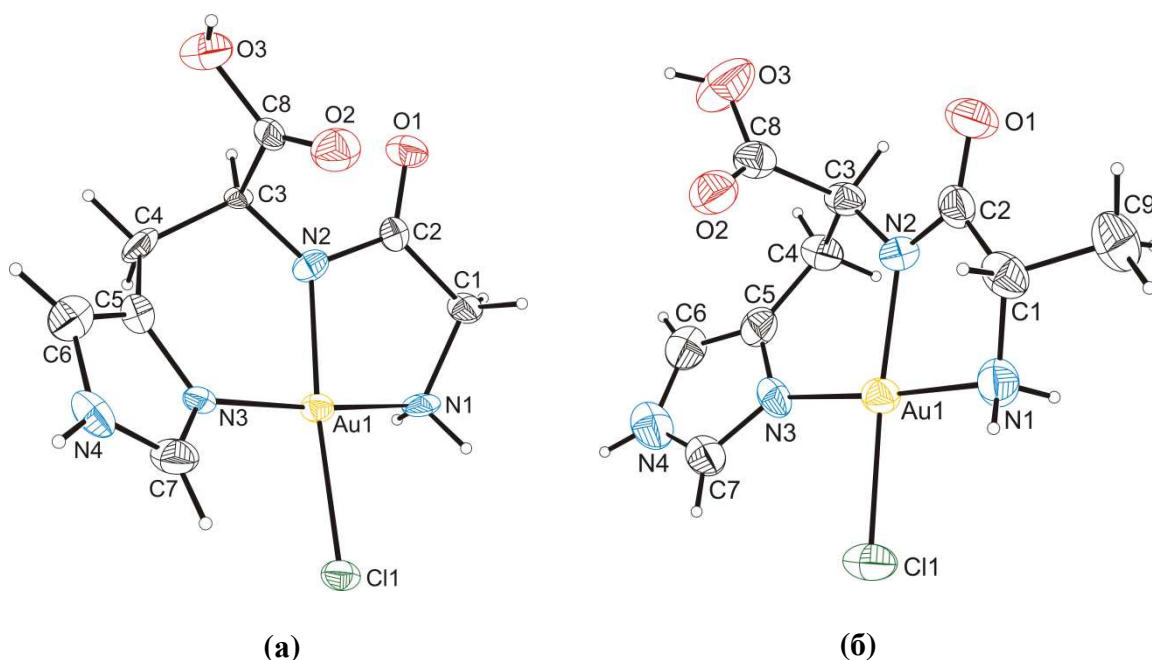
одговарајућем Pd(II)-пептид комплексу ($\Delta\delta = 0,60-0,72$ ppm) је већа од разлике у хемијским померањима за C5H протон ($\Delta\delta = 0,14-0,30$ ppm). Сигнали за остале протоне у Pd(II)-пептид комплексима су померени ка вишем пољу у односу на одговарајуће сигнале некоординаних дипептида, при чему померање сигнала зависи од врсте протона и његовог растојања од Pd(II) јона. Разлике у хемијским померањима C2H и C5H имидазолових протона у Au(III)-пептид комплексима и одговарајућим пептидима су много мање у поређењу са аналогним Pd(II) комплексима. Сигнали који потичу од C2H протона имидазоловог прстена у $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплексима су померени ка вишем пољу у односу на одговарајуће сигнале дипептида, при чему је $\Delta\delta = 0,06$ односно $0,08$ ppm, док су сигнали за C5H протон Au(III)-пептид комплекса и одговарајућег пептида на сличном хемијском померању. Сигнали осталих протона у Au(III)-пептид комплексима су незнатно померени ка нижем пољу у односу на одговарајуће сигнале слободних пептида, при чему највеће померање имају GlyCH₂ протони ($\Delta\delta = 0,29$ ppm).

Опис кристалних структура комплекса злата(III) са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима

Применом рендгенске структурне анализе окарактерисани су хидратисани и анхидровани облик Au(III) комплекса са Gly-L-His дипептидом, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$. Такође, одређена је и кристална структура Au(III) комплекса са L-Ala-L-His, $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$. Синтеза Au(III)-дипептид комплекса је приказана у експерименталном делу ове дисертације (поглавље 3.3), а најважнији експериментални подаци и резултати рендгенске структурне анализе су дати у табели 5 (експериментални део, поглавље 3.4). За разлику од раније описане кристалне структуре $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [123], код свих нових Au(III)-дипептид комплекса, нитратна група је уграђена у кристалној решетки као контра-анјон.

Хидратисани $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ комплекс кристалише у облику две кристалографски независне, и геометријски веома сличне структурне јединице ($Z' = 2$). Друга два кристала $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ садрже један молекул у асиметричном делу јединичне

хелије ($Z' = 1$). Дипептиди Gly-L-His и L-Ala-L-His су, у испитиваним комплексима, у облику моноанјона са протонаним карбоксилним групама и са депротонаним атомима азота пептидних веза. На основу велике разлике у дужини C=O(3) и C–OH(4) веза, потврђено је да је карбоксилна група дипептида у овим комплексима протонана. Комплексни $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ катјони у $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплексима су приказани на слици 34, а одговарајуће дужине веза и углови између веза у табели 11.



Слика 34. Структура $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ (а) и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ (б) комплексних катјона у кристалима $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса. Елипсоиди су дати са 40% степеном вероватноће, а водоникови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника

Из слике 34 се може видети да су Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептиди тридентатно координовани за Au(III) јон преко N3 имидазоловог атома азота, депротонаног атома азота пептидне везе и атома азота терминалне аминок групе глицина, односно L-аланина, док се за четврто место координује хлоридо лиганд. Злато(III) јон има квадратно-планарну геометрију, при чему углови веза између Au(III) јона и донорских атома тридентатно координованог дипептида незнатно

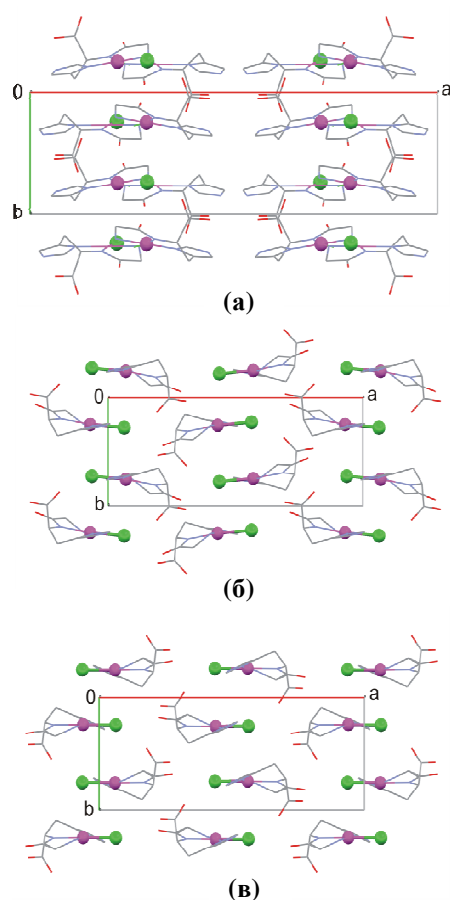
Табела 11. Дужине веза (Å) и углови између веза ($^{\circ}$) у Au(III) комплексима са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима

	[Au(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·1,25H ₂ O	[Au(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃	[Au(L-Ala-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·2,5H ₂ O
Au1—N1	1,987(8) 2,026(10)	2,034(13)	2,019(5)
Au1—N2	2,020(10) 2,021(10)	2,010(13)	1,995(5)
Au1—N3	1,996(9) 1,913(10)	1,998(11)	2,001(6)
Au1—Cl1	2,293(3) 2,297(3)	2,294(4)	2,2869(16)
N1—Au1—N2	82,8(4) 82,3(4)	84,1(5)	81,7(2)
N1—Au1—N3	175,3(4) 175,4(4)	174,1(6)	175,8(2)
N3—Au1—N2	92,7(4) 93,2(4)	91,0(5)	94,2(2)
N1—Au1—Cl1	92,5(2) 92,2(3)	94,0(3)	92,93(17)
N2—Au1—Cl1	174,7(3) 174,0(3)	174,2(4)	174,56(17)
N3—Au1—Cl1	92,1(3) 92,4(3)	91,3(3)	91,20(17)

одступају од 90° . У свим комплексима, карбоксилна група се налази у аксијалном положају у односу на координациону раван. Имидазолов прстен је планаран, док петочлани глицински и L-аланински прстенови, у одговарајућим комплексима, значајно одступају од планарности: средње вредности торзионог угла за два независна катјона у [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1,25H₂O комплексу износе 20,3 и $13,1^{\circ}$, док за [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ ова вредност износи $19,9^{\circ}$, а за [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2,5H₂O комплекс $17,1^{\circ}$. Ово је у супротности са средњом вредношћу $1,9^{\circ}$ за [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]Cl·3H₂O, који садржи хлорид као контра-анјон [123], па се може закључити да је присуство нитратног анјона узрок непланарности глицинског, односно L-аланинског прстена. Шесточлани хелатни прстен у комплексима има конформацију дисторговане полу-лађе са C4 атомом изван равни. Средња вредност ендочикличног торзионог угла за овај прстен износи

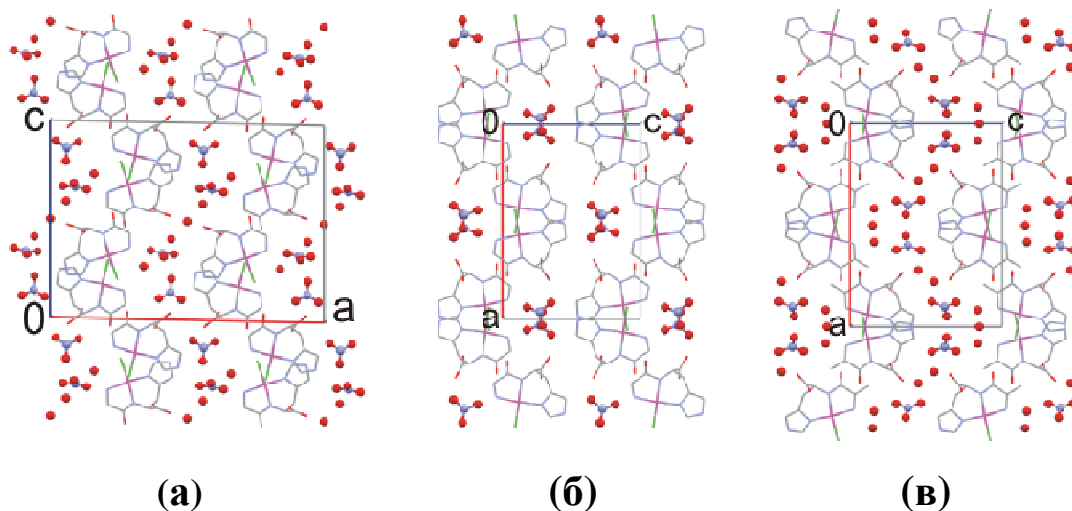
33,6 и 29° за два независна катјона $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ комплекса, 31,4° за његов анхидровани облик и 31,0° за $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$, и веома је слична вредности 32,2° за $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекс [123]. Разлика у структури $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [123] и Au(III)-дипептид комплекса описаних у овом раду је у томе што катјони у новосинтетизованим Au(III)-дипептид комплексима имају структуру издуженог октаедра, услед интеракције између Au(III) јона из квадратно-планарне равни и два хлоридна јона из суседних комплексних честица. У $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ комплексу, Au'...Cl растојање (Au' означава да овај јон припада другом кристалографски независном молекулу) износи 3,339(6) и 3,444(6) Å. Одговарајуће Au...Cl' растојање је много дуже (3,630(6) и 3,694(6) Å) и није паралелно Au'...Cl диполу. Због тога, у овој кристалној структури Au'...Cl интеракције формирају само Cl...Au...Cl...Au... ланце. Насупрот томе, у анхидрованом облику $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ и у $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплексу, Au...Cl интеракције формирају 1D мотиве налик на лестве, при чему Au...Cl растојање износи 3,163(6) и 3,489(6) Å за $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$, односно 3,479(3) и 3,654(3) Å за $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекс. Неке од ових вредности су веће од збира van der Waals-ових радијуса атома злата и хлора (3,41 Å) [187]. Растојање између два јона злата у ланцу и мотиву налик на лестве варира од 4,044(2) до 4,401(1) Å. Ови ланци/лестве протежу се дуж кристалографског правца са јединицом translације око 7 Å (Слика 35). Важно је напоменути да се такви мотиви не јављају у Gly-L-His комплексу злата(III) са хлоридом као контра-анјоном, где је најкраће растојање између два јона злата 6,453 Å. Резултати претраживања оваквих мотива код различитих хлоридо комплекса Au(III), Pt(II) и Pd(II) у кристалографској бази података CSD (Cambridge Structural Database) [188] су показали да мотиви налик на лестве нису присутни у кристалима неутралног $[\text{Pd}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]$ комплекса [174,179]. У $[\text{Pd}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}] \cdot 0,5(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ комплексу [174] присутни су одвојени Pd...Cl димери око осе другог реда, са Pd...Cl растојањем од 3,439 Å. Овакве Pd...Cl интеракције допуњују квадратно-планарни распоред око Pd(II) јона формирајући издужену пирамиду, док се код комплекса описаних у овом раду формира издужени октаедар. Може се сматрати да у неутралним $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$ комплексима постоје мотиви налик на лестве, мада су Pd...Cl растојања релативно велика, тј. у опсегу од 3,559 до 3,764 Å (збир van der Waals-ових радијуса за ова два

атома износи 3,38 Å [187]). Насупрот томе, у различитим комплексима злата(III), као на пример у $[\text{AuCl}_2\text{L}_2]^+$, $[\text{AuCl}_3\text{L}]$ и $[\text{AuCl}_4]^-$, постоје мотиви налик на лестве. Растојање $\text{Au}\dots\text{Cl}$ је у опсегу од 3,183 до 3,648 Å и, у већини случајева, краће је од аналогног $\text{Pd}\dots\text{Cl}$ растојања. Неочекивано, у кристалографској бази података нису пронађене аналогне $\text{Pt}\dots\text{Cl}$ интеракције. На основу добијених резултата претраживања у кристалографској бази података, може се закључити да присуство Au(III) јона фаворизује $\text{Au}\dots\text{Cl}$ интеракције, што има за последицу формирање издуженог октаедра и мотива налик на лестве [189-191]. Међутим, у неким случајевима, нађено је да стерне сметње, које потичу од органских лиганата, спречавају интермолекулске $\text{Au}\dots\text{Au}$ и $\text{Au}\dots\text{Cl}$ интеракције [191].



Слика 35. Распоред Au—Cl дипола у кристалима хидратисаног $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ (а), анхидрованог $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ (б) и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ (в) комплекса. Овакав распоред око квадратно-планарног Au(III) јона формира издужени октаедар, при чему долази до интеракције Au(III) јона и два хлоридо лиганда из суседних комплексних честица и формирања мотива ланца (а) или лестви (б и в). Због јаснијег приказивања на слици су изостављени атоми водоника

Формирање $\text{Au}\dots\text{Cl}$ мотива налик на лестве води посебном типу паковања у коме се органски фрагменти налазе наизменично са обе стране лестви (Слика 35). Поларне групе дипептида, усмерене ка споља, формирају водоничне везе са нитратним контра-анјонима и молекулима воде који се налазе између поларних група лигананда. Распоред молекула воде и нитратних анјона у испитиваним кристалним структурама је приказан на слици 36, а дужине и углови водоничних веза дати су у табели 12.



Слика 36. Распоред нитратних анјона и молекула воде у односу на комплексне катјоне (атоми водоника су изостављени) у кристалима хидратисаног $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ (а), анхидрованог $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ (б) и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ (в) комплекса

У свим кристалним структурама имидазолова NH група формира ди- или трицентричне $\text{N—H(имидазол)}\dots\text{O(нитрат)}$ водоничне везе са једним или два атома кисеоника из нитратне групе, док карбоксилна група формира водоничне везе са атомима кисеоника из кристалне воде или нитратног анјона. Осим водоничних веза између амино групе и пептидне везе, које су присутне у хидратисаном и у анхидрованом облику $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ комплекса, не долази до повезивања комплексних катјона водоничном везом. Насупрот томе, у кристалним облицима неутралног $[\text{Pd}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]$ комплекса [174,179] не постоје катјон...анјон интеракције, па су молекули комплекса повезани водоничним везама које се формирају између амино и карбоксилне групе са кисеониковим атомима амидне и карбонилне групе, као и са хлоридо лигандом. У овим кристалима,

најкраће Pd...Pd растојање износи само 3,963 Å за моноклинични [179], односно 3,728 Å за триклични облик [174].

Табела 12. Дужине и углови интермолекулских водоничних веза у Au(III) комплексима са Gly-L-His и L-Ala-L-His дипептидима

[Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1,25H₂O

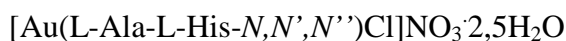
<i>D</i> —H... <i>A</i>	<i>D</i> —H(Å)	H... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> ... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> —H... <i>A</i> (°)
N1—H1N...O2W ⁱ	0,90	2,07	2,961(15)	171
N1—H2N...O1 ⁱⁱ	0,90	2,16	2,876(18)	136
N1'—H1N'...O2W ⁱ	0,90	2,05	2,932(15)	166
N1'—H2N'...O5N ⁱ	0,90	2,11	2,971(16)	161
N4—H4N...O6N	0,86	2,08	2,90(2)	159
N4'—H4N'...O1N ⁱⁱⁱ	0,86	2,00	2,849(17)	171
O3—H3O...O1N	0,82	2,03	2,680(15)	135
O3'—H3O'...O1W	0,82	1,92	2,709(17)	162
O1W...O3W ^{iv}			2,728(17)	
O2W...O2N ^v			2,770(17)	
O2W...O3N ^v			3,217(18)	
O2W...O5N ^{iv}			2,843(15)	
O3W...O4N ^{vi}			2,833(22)	
O3W...O6N			3,064(19)	

Симетријске трансформације које се односе на акцепторски атом (A): (i) $x-1/2, y+1/2, z$; (ii) $-x+3/2, y-1/2, -z+2$; (iii) $-x+2, y, -z+2$; (iv) $x, y-I, z$; (v) $-x+2, y-I, -z+2$; (vi) $x, y+I, z$

[Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃

<i>D</i> —H... <i>A</i>	<i>D</i> —H(Å)	H... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> ... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> —H... <i>A</i> (°)
N1—H1NB...O2N ⁱ	0,90	2,28	3,074(19)	146
N1—H1NA...O1 ⁱⁱ	0,90	2,22	2,87(3)	129
N4—H4N...O1N	0,86	1,97	2,815(18)	166
O3—H3O...O1N ⁱⁱⁱ	0,82	1,76	2,53(2)	158

Симетријске трансформације које се односе на акцепторски атом (A): (i) $x, y, z-1$; (ii) $-x+3/2, y+1/2, -z$; (iii) $x+1/2, -y+3/2, -z+1$



<i>D</i> —H... <i>A</i>	<i>D</i> —H(Å)	H... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> ... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> —H... <i>A</i> (°)
O3—H3O...O1W	0,82	1,85	2,653(14)	168
N1—H1N...O2W	0,90	2,00	2,887(9)	170
N1—H2N...O3W	0,90	2,26	3,142(14)	165
N4—H4N...O2N	0,86	1,96	2,808(19)	170
N4—H4N...O1N'	0,86	2,08	2,89(3)	157
N4—H4N...O3N'	0,86	2,33	3,07(4)	144
O1W...O1N' ⁱ			2,64(3)	
O1W...O2N' ⁱⁱ			2,52(2)	
O2W...O3N ⁱⁱⁱ			3,036(16)	
O2W...O3N ^{iv}			3,036(16)	
O3W...O1 ^v			2,905(12)	
O3W...O1N ^{vi}			3,033(24)	

Симетријске трансформације које се односе на акцепторски атом (A): (i) $-x+2, y-1, z$; (ii) $-x-1/2, -y+3/2, -z+1$; (iii) $x, y, z-1$; (iv) $-x+2, -y+1, z-1$; (v) $-x+3/2, y-1/2, -z$; (vi) $-x+2, -y, z-1$

Испитивање реакција монофункционалног [Au(dien)Cl]Cl₂ комплекса са дипептидима који садрже L-хистидин

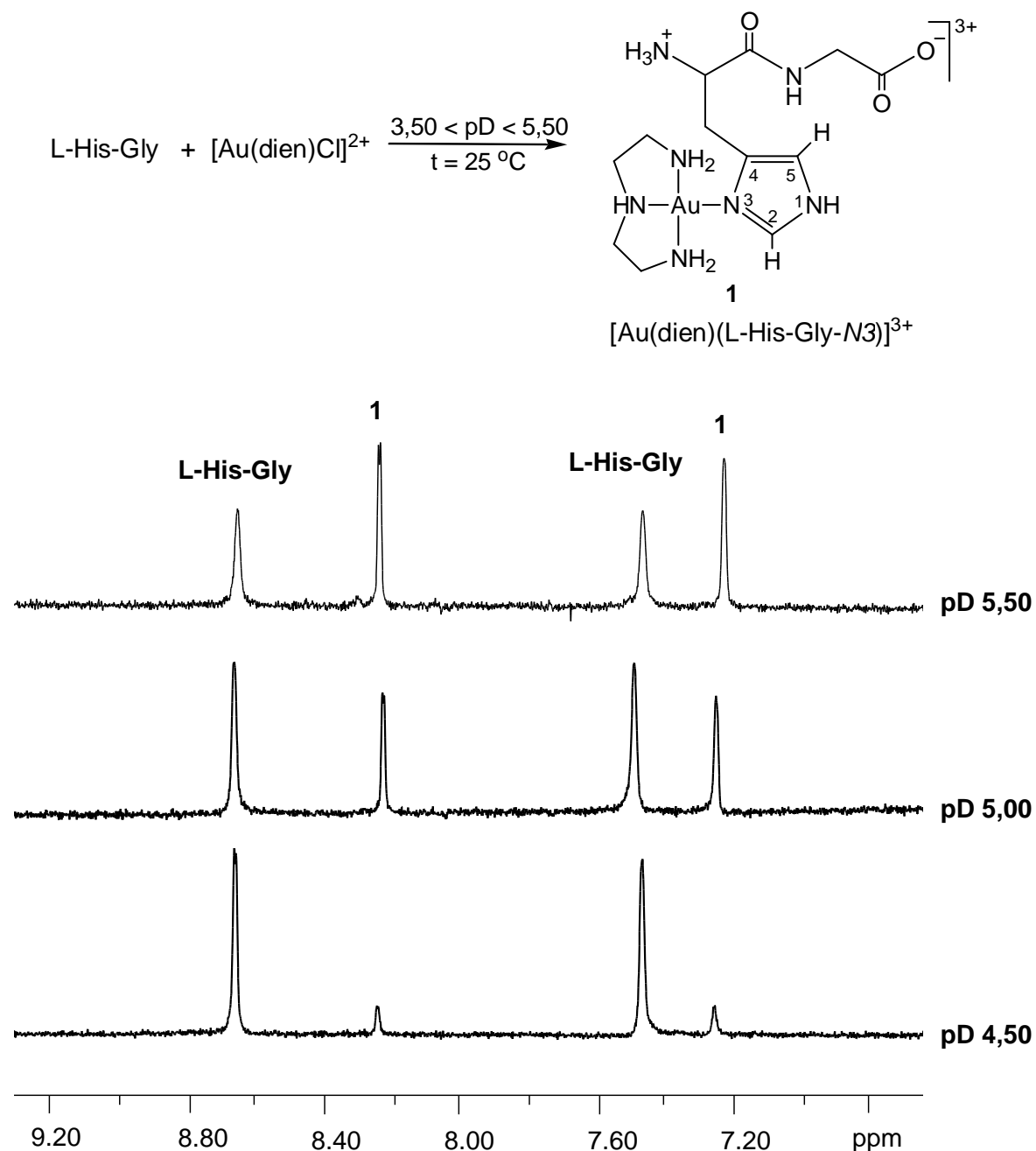
Применом ¹H NMR спектроскопије испитиване су реакције монофункционалног комплекса злата(III), [Au(dien)Cl]Cl₂, у коме је dien тридентатно координован диетилентриамин за Au(III) јон, и дипептида који садрже L-хистидин, L-хистидил-глицина (L-His-Gly) и глицил-L-хистидина (Gly-L-His), у 1:1 молском односу. Све реакције су извођене у воденом раствору, у pD области 3,50 – 5,50 и на собној температури. Када се испитиване реакције изводе при pD > 5,50, Au(III) јон се редукује, при чему реакциона смеша потамни од издвојеног елементарног злата [106], док у јако киселој средини долази до протоновања амино групе у dien лиганду и отварања једног прстена у [Au(dien)Cl]Cl₂ комплексу [168]. Применом ¹³C NMR спектроскопије додатно је испитивана координација депротонованог карбоксилног кисеоника за Au(III) јон. Структурне формуле комплекса, који настају као коначни производи испитиваних реакција, поређене су са формулама раније окарактерисаних комплекса који настају у реакцијама [AuCl₄]⁻ и [M(dien)(H₂O)]²⁺ (M = Pt(II) и Pd(II))

са L-хистидином и његовим дериватима [123,124,176]. На основу добијених спектроскопских података, закључено је да механизам реакције између $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса и пептида који садрже L-хистидин зависи од положаја L-хистидина у бочном низу пептида.

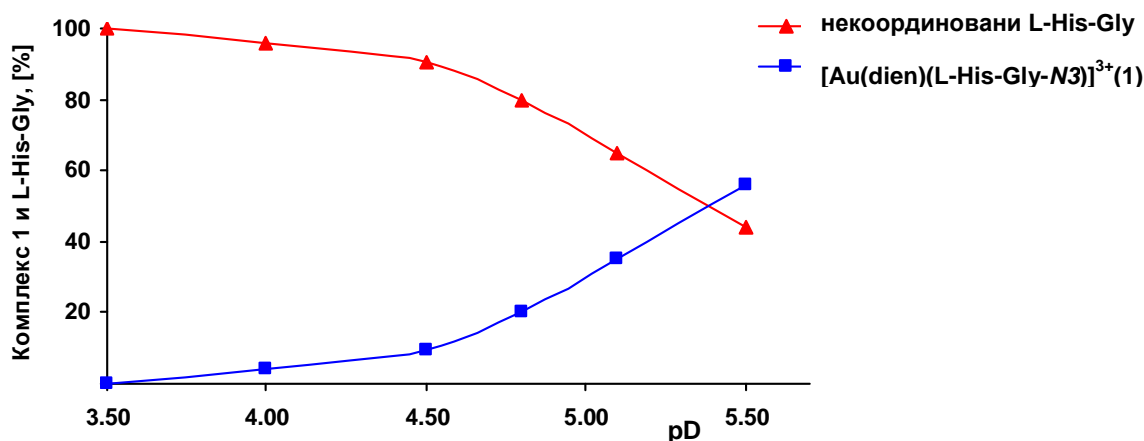
Реакција $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса и L-His-Gly дипептида

Када се $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ комплекс помеша са еквимоларном количином L-His-Gly дипептида у рD области 3,50 – 5,50 и на 25 °C, у раствору је присутан само $[\text{Au}(\text{dien})]$ -дипептид комплекс **1** (Слика 37). У $[\text{Au}(\text{dien})(\text{L-His-Gly-N3})]^{3+}$ комплексу **1**, дипептид је монодентатно координован за Au(III) јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена L-хистидина. Реакција монодентатне координације дипептида за Au(III) јон је веома брза и комплетно је завршена за три минута. Комплекс **1** је веома стабилан током времена, при чему не долази до елиминације dien лиганда, ни након неколико дана реакције. Формирање овог комплекса се може видети у ^1H NMR спектру, на основу смањења интензитета синглета на $\delta = 8,67$ и $7,47$ ppm, који потичу од C2H и C5H имидазолових протона некоординованог L-His-Gly дипептида, и повећања интензитета синглета на $\delta = 8,22$ и $7,22$ ppm, који одговарају истим протонима монодентатно координованог дипептида за N3 имидазолов атом азота (Слика 37 и Табела 13). Хемијска померања C2H и C5H имидазолових протона у комплексу **1** су у сагласности са померањима раније окарактерисаних комплекса који настају координацијом L-хистидина и пептида који у бочном низу садрже ову аминокиселину преко N3 атома азота за Pt(II), односно Pd(II) јон, у реакцијама са монофункционалним $[\text{M}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексима (M = Pt(II) и Pd(II)) [176]. Дистрибуциони дијаграм за комплекс **1** који настаје у реакцији L-His-Gly и $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ у функцији рD вредности је приказан на слици 38. Количина комплекса **1** и дипептида у раствору је израчуната на основу интеграла сигнала за C2H и C5H протоне координованог и некоординованог L-His-Gly дипептида. Укупна количина комплекса **1** и некоординованог дипептида је увек била једнака почетној концентрацији L-His-Gly дипептида. Као што се може видети из слике 38, проценат монодентатно координованог дипептида за Au(III) јон преко N3 атома азота расте са повећањем рD вредности, што се може приписати процесу депротонације секундарног атома азота у dien лиганду, при чему настаје реактивнији $[\text{Au}(\text{dien-H})\text{Cl}]^+$ комплекс [169,170]. Нађено је да pK_a вредност за депротонацију

секундарног атома азота у dien лиганду, који је тридентатно координован за Au(III) јон, износи 4,00 у 0,5 M ClO₄⁻ и 4,70 у 0,5 M Cl⁻ [169,170].



Слика 37. Структурна формула [Au(dien)(L-His-Gly-N3)]³⁺ комплекса **1**, који настаје у реакцији [Au(dien)Cl]²⁺ са еквимоларном количином L-His-Gly и делови ¹H NMR спектра (имидазолова област) снимљени након три минута реакције на pD = 4,50, 5,00 и 5,50 на 25 °C



Слика 38. Дистрибуциони дијаграм за $[\text{Au}(\text{dien})(\text{L-His-Gly-N3})]^{3+}$ комплекс **1** и L-His-Gly дипептид [%] за реакцију између еквимоларних количина $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ комплекса и овог дипептида у функцији pD вредности на 25 °C

Супротно селективној координацији L-His-Gly дипептида за Au(III) јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена, у реакцијама $[\text{M}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (M = Pt(II) и Pd(II)) са L-хистицином и његовим дериватима, настају комплекси у којима је одговарајући лиганд координован за јон метала преко N3 и N1 имидазолових атома азота (Табела 13) [176]. Формирање комплекса са N1 координованим атомом азота за Pd(II) јон је фаворизовано у односу на N3 координацију, док у случају $[\text{Pt}(\text{dien})]^{2+}$ комплексног фрагмента, количина лиганда који је координован за N3, односно N1 атом, зависи од кинетичких, пре него од термодинамичких параметара.

Да бисмо потврдили одсуство координације депротонованог карбоксилног кисеоника ($\text{pK}_{\text{a1}} = 2,32 \pm 0,02$ [192]) за $[\text{Au}(\text{dien})]^{3+}$ фрагмент, реакција L-His-Gly дипептида и злато(III) комплекса је додатно испитивана применом ^{13}C NMR спектроскопије у pD области 3,50 – 5,50 и на 25 °C. У ^{13}C NMR спектру не долази до промене у хемијском померању сигнала за угљеников атом депротоноване карбоксилне групе на $\delta = 177,03$ ppm, чиме је потврђено да се у испитиваној pD области карбоксилна група дипептида не координује за Au(III) јон. Осим тога, ^1H NMR експерименти за реакцију $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса и N-ацетилованог глицина (Ac-Gly) су показали да не долази до промене у хемијском померању синглета који

потиче од слободног Ас-Gly. Комплекси, у којима је лиганд који садржи L-хистидин координован преко карбоксилног кисеоника, не формирају се у реакцијама са $[\text{Pd}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$, док се карбоксилни кисеоник лиганда координује за $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплекс у киселој средини (Табела 13) [176].

Табела 13. ^1H NMR хемијска померања (δ , ppm) C2H и C5H имидазолових протона комплекса који настају у реакцијама $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ и $[\text{M}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (M = Pt(II) и Pd(II)) са неким лигандима који садрже L-хистидин у D₂O као растварачу

Једињење ^a	pD	Имидазолови протони (δ , ppm)	
		C2H	C5H
L-His-Gly	4,50	8,67	7,47
$[\text{Au}(\text{dien})(\text{L-His-Gly-N3})]^{3+}$ (1)	4,50	8,22	7,22
L-His	3,50	8,67	7,39
$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{L-His-O})]^{3+,b}$	2,50	8,69	7,39
$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{L-His-N}_A)]^{3+}$	1,50	8,66	7,39
$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{L-His-N3})]^{2+}$	6,50	8,04	7,25
$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{L-His-N1})]^{2+}$	6,50	7,92	6,94
$[\text{Pd}(\text{dien})(\text{L-His-N3})]^{2+}$	6,80	8,00	7,20
$[\text{Pd}(\text{dien})(\text{L-His-N1})]^{2+}$	6,80	7,80	6,84
Gly-L-His	4,50	8,60	7,27
$[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N3,N}_P,\text{N}_A)\text{Cl}]^c$ (2)	4,50	8,54	7,24
$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{Gly-L-His-N3})]^{2+}$	6,50	8,34	7,17
$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{Gly-L-His-N1})]^{2+}$	6,50	7,85	6,84

^aКоординација лиганата који садрже L-хистидин преко два имидазолова атома азота, атома азота амино групе и депротонованог амидног азота за јоне метала је означена као N3, N1, N_A и N_P

^bNMR спектроскопски подаци за Pt(II) и Pd(II) комплексе су узети из Реф. [176]

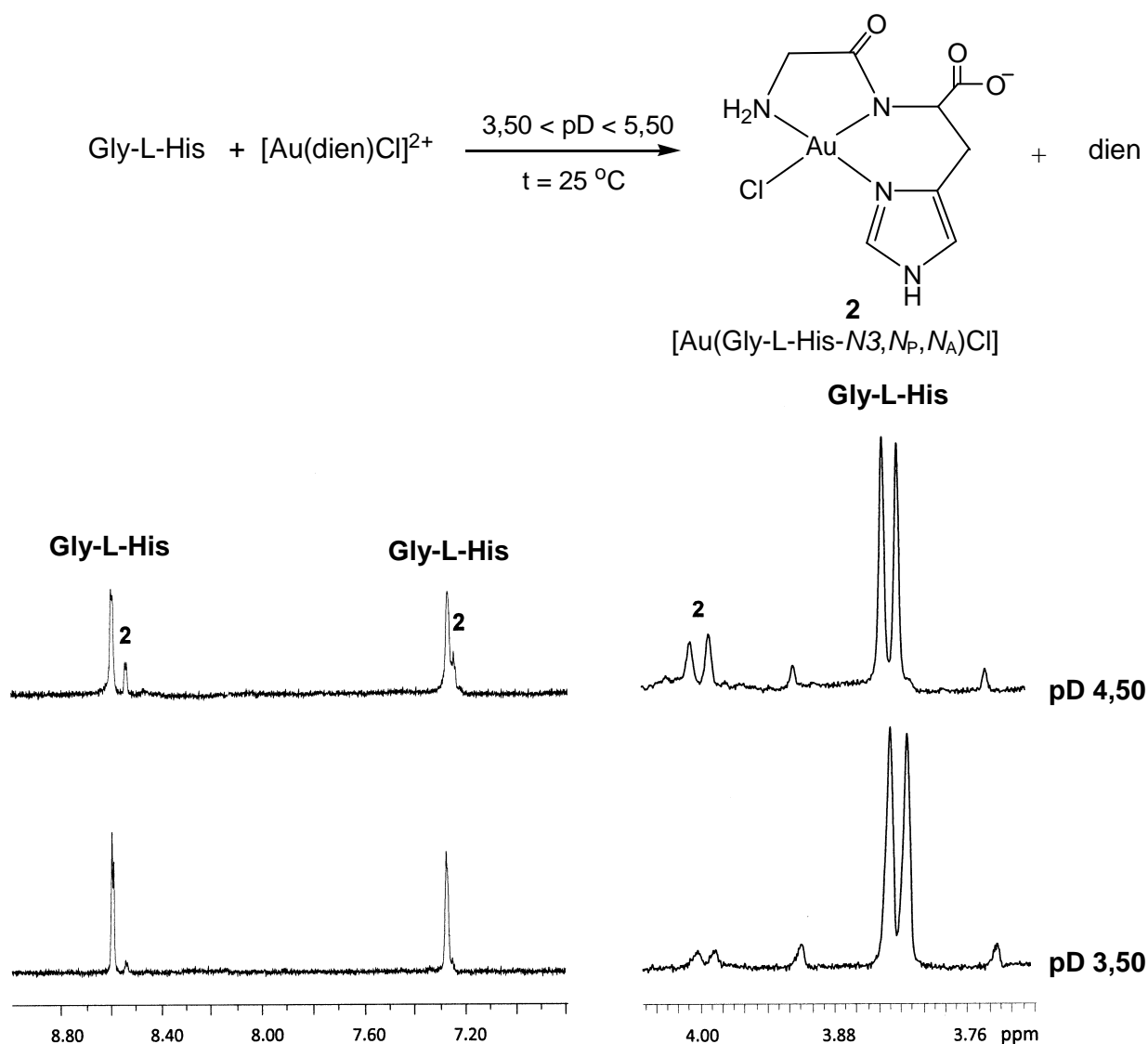
^cХемијска померања имидазолових протона у комплексу **2** су у складу са хемијским померањима за комплекс $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N3,N}_P,\text{N}_A)\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ који је окарактерисан у поглављу 4.1.2. ове дисертације

Одсуство координације амино групе дипептида за Au(III) јон је потврђено у одвојеном ^1H NMR експерименту за реакцију између глицинамида (GlyNH_2) и $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ у испитиваној pD области. Када се реакција прати десет дана на собној температури, у ^1H NMR спектру не долази до померања синглета који потиче од GlyCH_2 протона слободног глицинамида. Ови резултати су у сагласности са резултатима за реакцију $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекса са трипептидом глицил-глицил-глицином (Gly-Gly-Gly), где је нађено да се једино при pH > 5,00 трипептид координује за Au(III) јон преко терминалне амино групе [122].

Реакција $[Au(dien)Cl]Cl_2$ комплекса и Gly-L-His дипептида

Када се реакција између еквимоларних количина $[Au(dien)Cl]^{2+}$ комплекса и Gly-L-His дипептида прати у рД области 3,50 – 5,50 и на 25 °С, само $[Au(Gly-L-His-N_3, N_P, N_A)Cl]$ комплекс **2** настаје као коначан производ (Слика 39). У овом комплексу, Gly-L-His дипептид је тридентатно координован за Au(III) јон преко N3 имидазоловог атома азота, депротонованог амидног азота, N_P, и азота амино групе глицина, N_A. Да у испитиваној реакцији не долази до координације дипептида за Au(III) јон, преко депротонованог кисеониковог атома карбоксилне групе, додатно је потврђено применом ¹³C NMR спектроскопије. У ¹³C NMR спектру снимљеном након десет дана реакционог времена, не долази до померања сигнала на $\delta = 176,98$ ppm, који потиче од угљениковог атома некоординоване карбоксилне групе Gly-L-His дипептида. Формирање комплекса **2** се јасно може видети у ¹H NMR спектру на основу смањења интензитета сигнала на $\delta = 8,60$ и $7,27$ ppm који потичу од C2H и C5H имидазолових протона слободног дипептида и повећања интензитета сигнала на $\delta = 8,54$ и $7,24$ ppm који потичу од ових протона у комплексу **2** (Слика 39 и Табела 13). Количина комплекса **2** је израчуната на основу вредности интеграла за сигнале који потичу од C2H протона слободног и тридентатно координованог Gly-L-His дипептида, при чему на рД = 4,50, након четири дана реакционог времена, настаје око 30% комплекса **2**. Осим тога, услед тридентатне координације Gly-L-His дипептида долази до померања сигнала на $\delta = 3,86$ ppm који потиче од GlyCH₂ протона некоординованог дипептида ка нижем пољу на $\delta = 4,04$ ppm (Слика 39). Такође, нови мултиплет у области $\delta = 3.10 - 3.30$ ppm, који потиче од слободног dien лиганда, указује да долази до супституције овог лиганда са Gly-L-His дипептидом. До тридентатне координације овог дипептида за Au(III) јон долази и у реакцији са $[AuCl_4]^-$ комплексом на рН = 1,50, при чему је коначан производ ове реакције $[Au(Gly-L-His-N_3, N_P, N_A)Cl]NO_3 \cdot 1,25H_2O$ окарактерисан применом ¹H NMR спектроскопије и рендгенске структурне анализе (види поглавље 4.1.2. у овој дисертацији). ¹H NMR спектар $[Au(Gly-L-His-N_3, N_P, N_A)Cl]NO_3 \cdot 1,25H_2O$ комплекса је идентичан спектру комплекса **2**, што указује на исти начин координације Gly-L-His дипептида у реакцијама са $[Au(dien)Cl]^{2+}$ и $[AuCl_4]^-$ комплексима. Супротно томе, у реакцији $[Pt(dien)(H_2O)]^{2+}$ са вишком овог дипептида, долази до монодентатне координације дипептида преко N3 и N1 имидазолових атома азота и формирања

$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{Gly-L-His-N3})]^{2+}$ и $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{Gly-L-His-N1})]^{2+}$ комплекса, при чему dien лиганд остаје координован за Pt(II) јон (Табела 13) [176].



Слика 39. Структурна формула $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N3,Np,NA})\text{Cl}]$ комплекса **2**, који настаје као коначан производ у реакцији $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ са еквимоларном количином Gly-L-His и делови ^1H NMR спектара снимљени након четири дана реакције на $\text{pD} = 3,50$ и $4,50$ на $25\text{ }^\circ\text{C}$

4.1.3. ИСПИТИВАЊЕ РЕАКЦИЈА КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III) СА ДИПЕПТИДИМА КОЈИ САДРЖЕ МЕТИОНИН

Испитивање реакција Gly-D,L-Met дипептида и његовог *N*-ацетилованог деривата са H[AuCl₄] комплексом

Применом ¹H NMR спектроскопије испитиване су реакције дипептида глицил-D,L-метионина (Gly-D,L-Met) и његовог *N*-ацетилованог деривата (Ac-Gly-D,L-Met) са H[AuCl₄] комплексом. Одговарајући дипептид и [AuCl₄]⁻ су мешани у 1:1, 2:1 и 3:1 молским односима. Све реакције су извођене у 0,01 mol/dm³ раствору DCl у D₂O као растварачу на 25 °C, да би се сузбила хидролиза [AuCl₄]⁻ анјона, која је завршена на рН = 3,80 [193]. Када су реакције извођене при рН ≥ 3,00, долази до веома брзе редукције хидролитичких производа [AuCl₄]⁻ комплекса до елементарног злата. У циљу потврде механизма реакције који је предложен на основу NMR спектроскопских мерења, реакција H[AuCl₄] и Gly-D,L-Met је испитивана и применом UV-Vis спектрофотометрије и цикличне волтаметрије (CV).

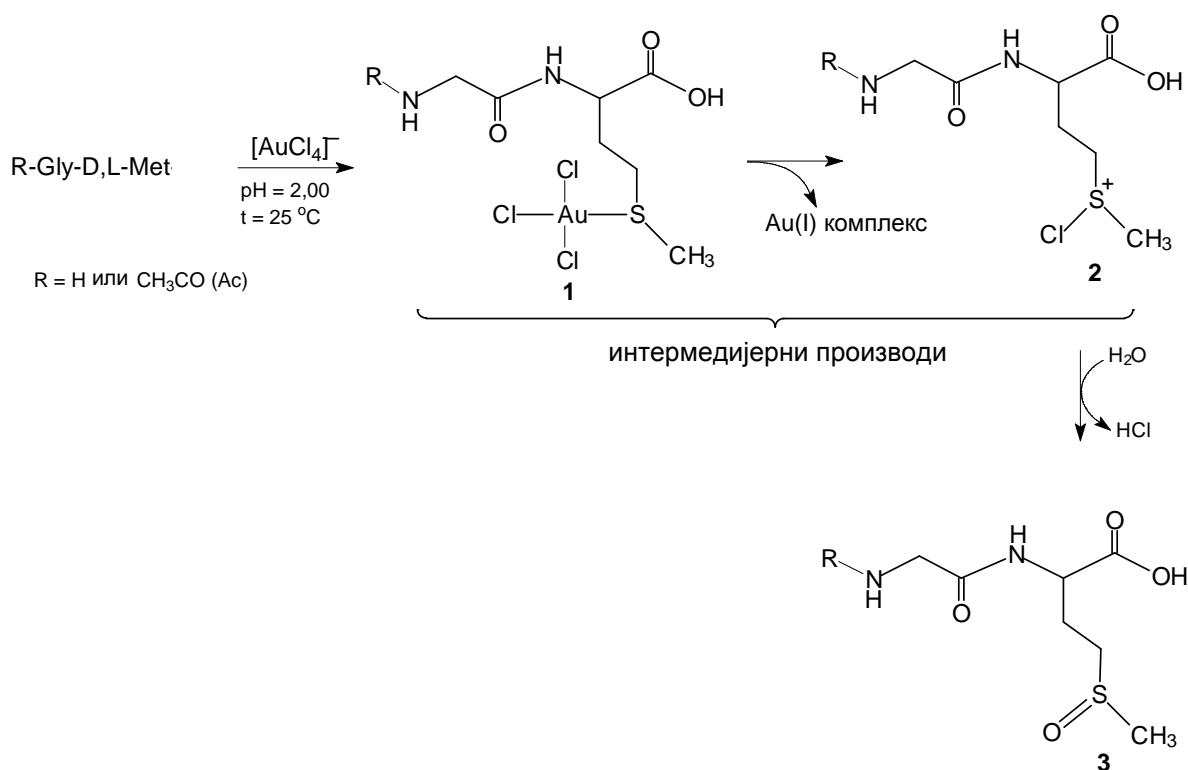
Реакције H[AuCl₄] комплекса са еквимоларном количином Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met дипептида

Када се помеша еквимоларна количина H[AuCl₄] комплекса са R-Gly-D,L-Met дипептидом (R = H или Ac) на рН = 2,00 и на 25 °C, након три минута, применом ¹H NMR спектроскопије, идентификована су три производа (Слика 40). Реакције су праћене током времена и делови ¹H NMR спектра испитиваних реакција су приказани на слици 41. Главни производ реакција (Слика 40, производ **3**) настаје оксидацијом одговарајућег дипептида Au(III) јоном. На основу промене интеграла сигнала који потичу од -SCH₃ протона, израчунато је да се након три минута реакционог времена 52% Gly-Met оксидује до Gly-Met-сулфооксида, односно 47% Ac-Gly-Met до Ac-Gly-Met-сулфооксида. Синглет на δ = 2,71 ppm потиче од -SCH₃ протона производа **3**, што је у сагласности са резултатима добијеним за [H⁺Gly-Met-sulfoksid][AuCl₄] комплекс, чија је синтеза описана у експерименталном делу овог рада (поглавље 3.6), и који је окарактерисан применом ¹H NMR спектроскопије и рендгенске структурне анализе. Производи **1** и **2**, који су приказани на слици 40, су интермедијерне врсте. Производ **1** је Au(III)-дипептид комплекс, [AuCl₃(R-Gly-Met-S)] који настаје монодентатном координацијом дипептида за Au(III) јон преко

тиоетарског атома сумпора. Овај интермедијерни производ у следећој фази реагује са метионинским остатком другог молекула R-Gly-D,L-Met дипептида, при чему настају Au(I) комплекс и R-Gly-Met-хлоросулфонијум катјон (Слика 40, производ **2**) који подлеже хидролизи дајући одговарајући R-Gly-Met-сулфоксид **3**. Механизам ове реакције је сличан механизму оксидације органских сулфида бромом до одговарајућих сулфоксида [194,195]. Natile и сарадници су предложили сличан механизам за реакцију оксидације диалкил-сулфида до сулфоксида у присуству Au(III) јона [119]. Синглети у ^1H NMR спектру на $\delta = 2,89$ и $2,79$ ppm потичу од $-\text{SCH}_3$ протона интермедијерних врста **1** и **2** присутних у раствору (Слика 41). Синглет на $\delta = 2,89$ ppm одговара интермедијерној врсти **1**, док синглет померен ка вишем пољу, на $\delta = 2,79$ ppm, одговара $-\text{SCH}_3$ протонима интермедијера **2**. На основу промене интеграла синглета за $-\text{SCH}_3$ протоне, израчунате су концентрације интермедијерних производа **1** и **2** у раствору након три минута реакције. Нађено је да је 28% Gly-D,L-Met, односно 30% Ac-Gly-D,L-Met, дипептида координовано за Au(III) јон (интермедијерни производ **1**), док је у раствору присутно 20% хлоросулфонијум-катјона дипептида, односно 23% његовог *N*-ацетилованог деривата (интермедијерни производ **2**). Укупна концентрација интермедијерних производа **1** и **2**, и коначног производа **3**, увек је била једнака почетној концентрацији одговарајућег дипептида. Интензитети синглета на $\delta = 2,89$ и $2,79$ ppm се временом смањују, и након 9 минута реакционог времена у раствору је присутан само оксидовани Gly-D,L-Met дипептид, односно Gly-D,L-Met-сулфоксид. Оксидација *N*-ацетилованог Gly-D,L-Met дипептида је спорија и комплетно је завршена након 57 минута реакционог времена. Током овог времена, интензитет синглета на $\delta = 2,71$ ppm, који потиче од $-\text{SCH}_3$ протона производа **3**, се повећавао, при чему је његова концентрација једнака почетној концентрацији одговарајућег дипептида на крају реакције.

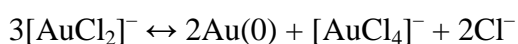
На основу добијених ^1H NMR резултата, може се закључити да је оксидација метионинског остатка у Gly-D,L-Met дипептиду до одговарајућег сулфоксида у присуству $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса пет пута бржа ($k_2 = 0,363 \pm 0,074 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) у поређењу са оксидацијом његовог *N*-ацетилованог деривата ($k_2 = 0,074 \pm 0,007 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Разлика у брзини оксидације ових дипептида може се приписати утицају терминалне аминок групе Gly-D,L-Met дипептида. Ови резултати су у сагласности са раније објављеним резултатима за реакцију L-метионина са $[\text{AuCl}_4]^-$ комплексом, где је нађено да је

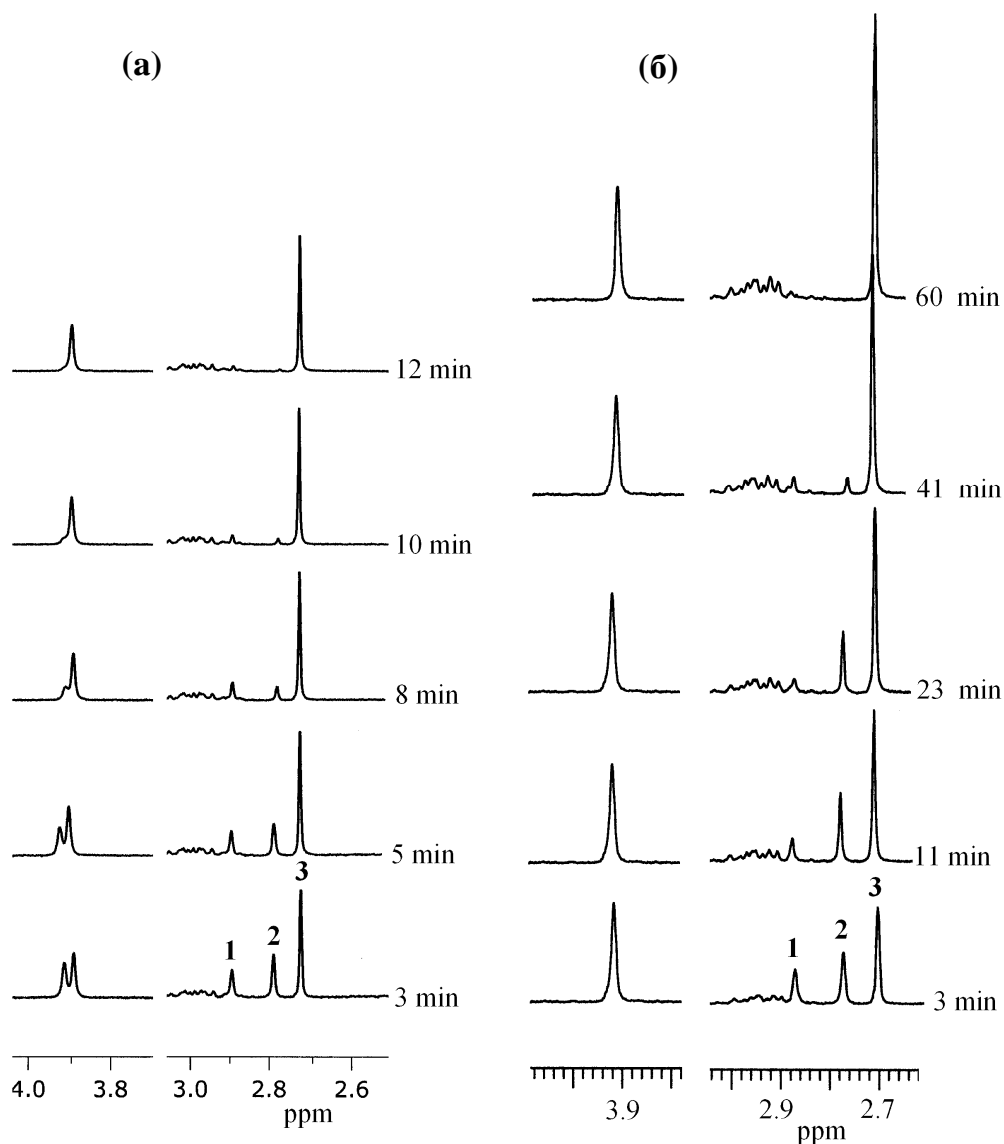
терминална аминокиселинска група укључена у процес оксидације ове аминокиселине до одговарајућег сулфоксида чак и при $\text{pH} < 2,00$ [116-118].



Слика 40. Шематски приказ оксидације Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met дипептида у присуству $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса

Применом UV-Vis спектрофотометрије испитивана је реакција Gly-D,L-Met дипептида са $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплексом у $0,01 \text{ mol/dm}^3$ HCl на $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (Слика 42). Као што се из слике 42 може видети, додатком еквимоларне количине дипептида раствору $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса, вредности апсорпционих максимума на $\lambda = 226$ и 313 nm опадају током 12 минута реакције, што указује на смањивање концентрације $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса. Након тог времена, не долази до промене у вредности апсорбанце, што је у складу са чињеницом да је редокс процес завршен. Количина $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса, која остаје у раствору, израчуната је на основу разлике у интензитету апсорпционог максимума на $\lambda = 226 \text{ nm}$, пре додатка дипептида и после 12 минута реакције, и износи приближно 33%. С обзиром да је раније потврђено да је оксидација метионинског остатка у присуству Au(III) јона стехиометријска реакција, очигледно је да вишак $[\text{AuCl}_4]^-$ настаје диспропорционисањем дихлоридаурат(III) јона ($[\text{AuCl}_2]^-$) према следећој једначини [29,30]:

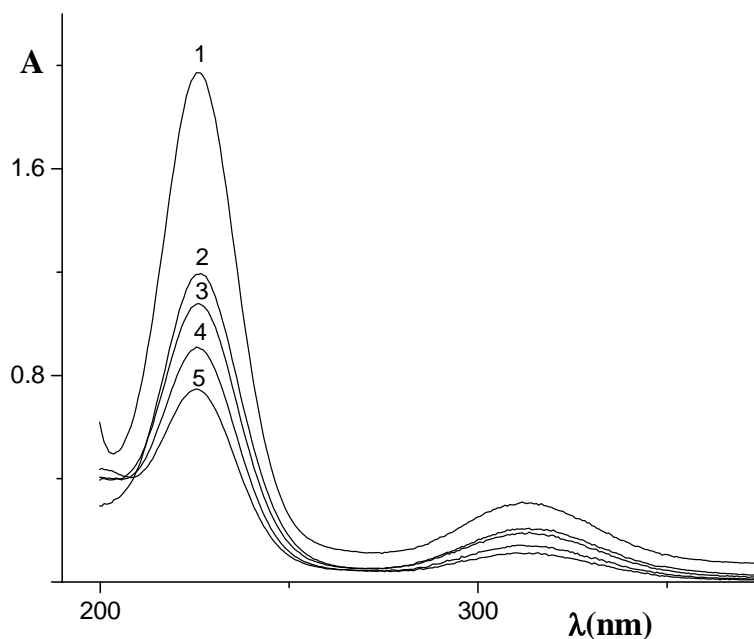




Слика 41. Делови ^1H NMR спектра за реакције Gly-D,L-Met **(а)** и Ac-Gly-D,L-Met **(б)** дипептида са еквимоларном количином $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса у функцији времена на $\text{pH} = 2,00$ и на $25\text{ }^\circ\text{C}$ у $0,01\text{ mol/dm}^3$ раствору DCl у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард. Сигнали на $\delta = 2,89, 2,79$ и $2,71$ ppm одговарају $-\text{SCH}_3$ протонима производа **1**, **2** и **3**

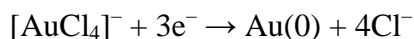
Раније је нађено да је реакција диспропорционисања на собној температури у почетку спора, а онда се њена брзина нагло повећава до константне вредности ($\log K = 7,4$ на $25\text{ }^\circ\text{C}$) [30,31]. Поред тога, у реакцији еквимоларних количина Gly-D,L-Met и $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, добијен је $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекс, а

његова структура је потврђена на основу рендгенске структурне анализе, што је био додатни доказ да у раствору долази до диспропорционисања $[\text{AuCl}_2]^-$ комплекса.



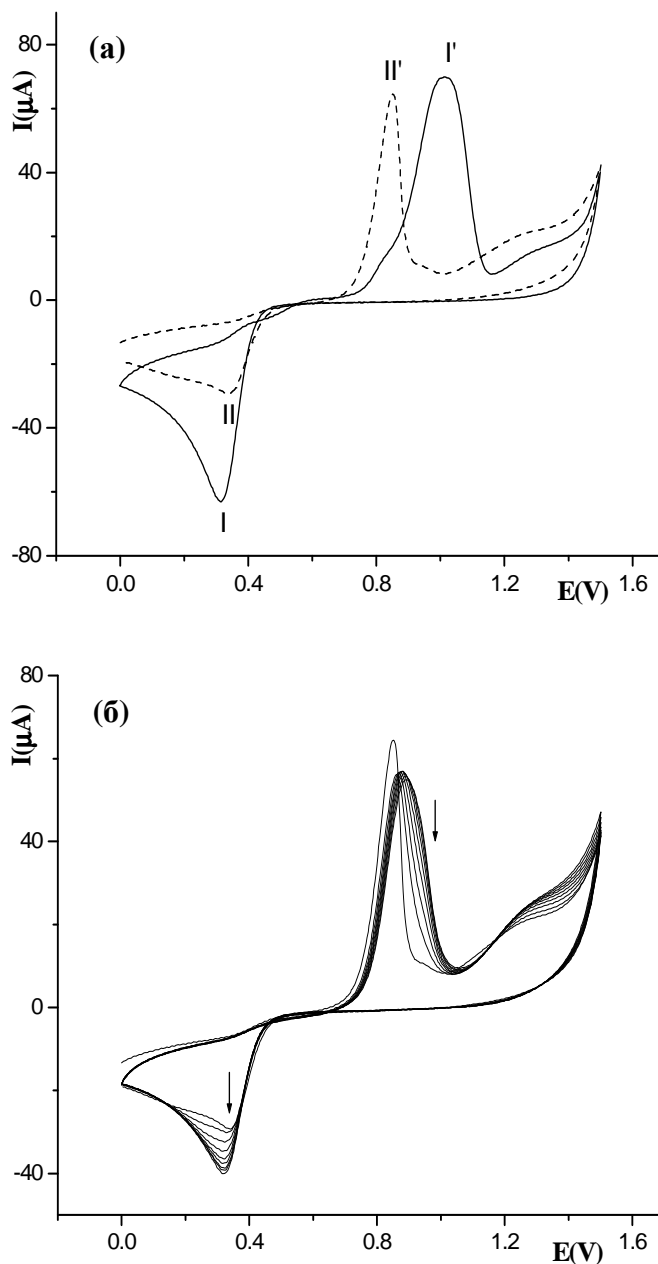
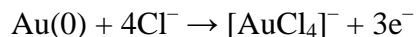
Слика 42. UV-Vis спектри за реакцију $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса са еквимоларном количином Gly-D,L-Met дипептида у $0,01 \text{ mol/dm}^3$ HCl на $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (**1:** 0 s; **2:** 30 s; **3:** 60 s; **4:** 180 s; **5:** 720 s)

Резултати добијени применом ^1H NMR спектроскопије и UV-Vis спектрофотометрије за реакцију Gly-D,L-Met са $[\text{AuCl}_4]^-$ показују добро слагање са резултатима добијеним применом цикличне волтаметрије. Циклични волтамограм раствора $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса концентрације $1,05 \text{ mmol/dm}^3$, у присуству $0,04 \text{ mol/dm}^3$ раствора NaCl као основног електролита, приказан је на слици 43а. Када је вршено снимање потенцијала у катодном смеру, у волтамограму је присутан редукциони пик I на $E_c(\text{I}) = 0,32 \text{ V}$, који одговара редукцији $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса према следећој једначини [35]:



Редукција $\text{Au}(\text{III})$ јона до $\text{Au}(0)$ се додатно може видети и на основу таложења елементарног злата на површини електроде од стакластог угљеника (GS електрода). У цикличном волтамограму није било могуће детектовати $[\text{AuCl}_2]^-$, јер овај комплекс није стабилан у воденом раствору и подлеже диспропорционисању [29,30]. Када се снимање потенцијала врши у супротном смеру, долази до оксидационог процеса са

јасно дефинисаним пиком I' на $E_a(I') = 1,02$ V. Овај пик одговара оксидацији Au(0) до Au(III) јона према једначини:



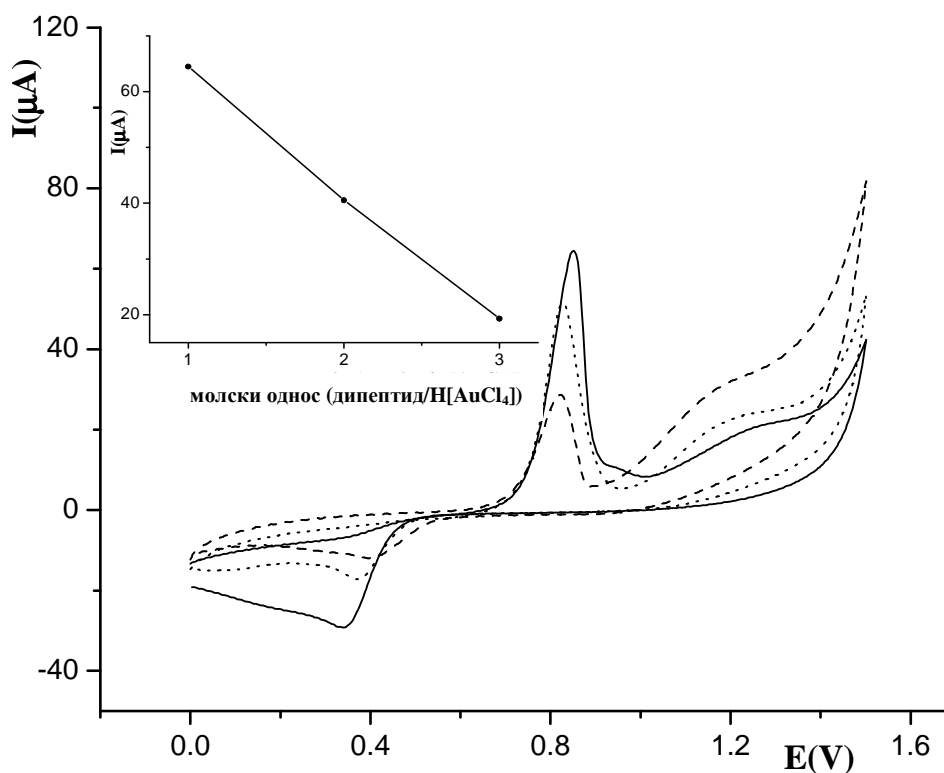
Слика 43. (а) Циклични волтамограми $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса (—) и производа **1** (- - -) снимљени на GC електроди у првих 30 s; (б) Циклични волтамограми за реакцију између еквимоларних количина Gly-D,L-Met и $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ у функцији времена, брзина скенирања = $0,070 \text{ V s}^{-1}$, $E_{\text{step}} = 0,003 \text{ V}$, на $\text{pH} = 2,00$ у $0,04 \text{ mol/dm}^3$ раствору NaCl као основном електролиту. Вертикалне стрелице указују на смер промене јачине струје катодног и анодног пика током реакције

Померања анодног пика I' са 1,02 на 0,85 V (пик II', Слика 43а) је додатна потврда да у реакцији еквимоларних количина Gly-D,L-Met дипептида и H[AuCl₄] комплекса настаје интермедијерни производ **1**, чија је структурна формула приказана на слици 40. Такође, када се реакција прати у функцији времена, јачина струје опада за анодни пик II', док се за катодни пик II на 0,35 V повећава (Слика 43б). Повећање јачине струје катодног пика директно зависи од степена редукције Au(III) јона до Au(0). Као што се може видети из слике 43б, реакција је потпуно завршена за 12 минута, јер након тог времена не долази до промене јачине струје анодног и катодног пика.

Реакције H[AuCl₄] комплекса са вишком Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met дипептида

Оксидација метионинског остатка у Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met дипептидима у присуству H[AuCl₄] комплекса испитивана је у вишку дипептида. Одговарајући дипептид и H[AuCl₄] комплекс су мешани у 2:1 и 3:1 молским односима, и све реакције су извођене под напред наведеним експерименталним условима. У ¹H NMR спектрима, који су снимљени након три минута реакције, присутан је синглет на $\delta = 2,71$ ppm, који одговара оксидованом производу **3** (Слика 40). Одсуство синглета на $\delta = 2,89$ и $2,79$ ppm који одговарају -SCH₃ протонима интермедијерних производа **1** и **2** (Слика 40) потврђује да је оксидација Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met дипептида веома брза, и комплетно завршена пре снимања првог спектра. Концентрација производа **3** је израчуната из односа интеграла синглета на $\delta = 2,71$ ppm и почетне концентрације дипептида, и нађено је да износи приближно 50% за реакцију у 2:1 молском односу, односно 33% за реакцију у 3:1 молском односу дипептида и Au(III) комплекса. Вишак Gly-D,L-Met, односно његовог N-ацетилованог деривата, координује се преко тиоетарског атома сумпора за Au(I) јон, који настаје редукцијом Au(III) јона. У ¹H NMR спектру синглети на $\delta = 2,50$ ppm, односно $\delta = 2,56$ ppm, одговарају -SCH₃ протонима монодентатно координованог Gly-D,L-Met, односно Ac-Gly-D,L-Met дипептида, за Au(I) јон. Ова хемијска померања су у сагласности са раније објављеним резултатима за полинуклеарне Au(I)-сумпор комплексе [196]. Када се реакција између H[AuCl₄] комплекса и Gly-D,L-Met дипептида прати током времена, синглет који потиче од -SCH₃ протона координованог дипептида помера се ка вишем пољу, са $\delta = 2,50$ на

2,11 ppm. Може се претпоставити да је померање синглета у ^1H NMR спектру узроковано супституцијом Gly-D,L-Met дипептида у полинуклеарном $\{[\text{Au}(\text{Gly-Met-S})_2]\}_n$ комплексу хлоридо лигандом. Након шест сати реакције, у раствору је присутан само некоординован дипептид, чијим $-\text{SCH}_3$ протонима одговара синглет на $\delta = 2,11$ ppm. Познато је да Au(I) јон има велики афинитет према лигандима који садрже сумпор, као што су тиоли и сулфиди, али и да је Au(I)-сумпор веза у раствору веома нестабилна [25]. Када се реакција између Ac-Gly-D,L-Met и $[\text{AuCl}_4]^-$ у 2:1 и 3:1 молским односима прати шест дана, не долази до померања сигнала на $\delta = 2,56$ ppm који одговара $-\text{SCH}_3$ протонима $\{[\text{Au}(\text{Ac-Gly-Met-S})_2]\}_n$ комплекса. Ово се може објаснити већом стабилношћу $\{[\text{Au}(\text{Ac-Gly-Met-S})_2]\}_n$ комплекса у односу на полинуклеарни комплекс који настаје у реакцији неацетилованог дипептида са Au(I) јоном. Добијени резултати показују да слободна терминална аминок група дипептида утиче на стабилност полинуклеарних Au(I)-дипептид комплекса, што је у складу са објављеним резултатима Sadlera и сарадника [197].



Слика 44. Циклични волтамограми производа **1**, снимљени у првих 30 s реакције између Gly-D,L-Met дипептида и $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса у 1:1 (—), 2:1 (.....) и 3:1 (- - -) молским односима. Инсертована слика показује зависност јачине струје карактеристичног анодног пика за производ **1** од повећања концентрације дипептида

Реакција $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса са вишком Gly-D,L-Met дипептида је испитивана под напред наведеним експерименталним условима применом UV-Vis и CV техника. На основу UV-Vis спектра, јасно се може видети да долази до веома брзе промене у интензитету апсорпционих максимума на $\lambda = 226$ и 313 nm, карактеристичних за $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекс. На крају реакције, у раствору није присутан $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекс, што се може и видети на основу промене боје раствора из жуте у безбојну. Такође, CV мерења су показала да јачина струје за анодни пик опада знатно брже за реакцију $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса са вишком дипептида (Слика 44).

Опис кристалне структуре $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса

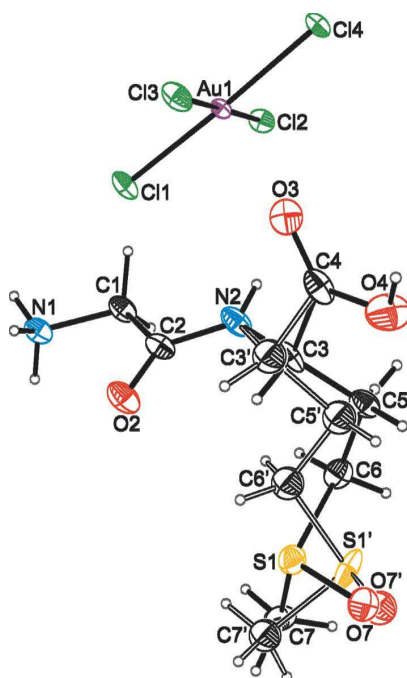
У реакцији еквимоларних количина Gly-D,L-Met дипептида и $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ комплекса на $\text{pH} = 1,50$ и на собној температури, добијен је $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекс, чија је структура претпостављена на основу резултата ^1H NMR спектроскопије, а потврђена применом рендгенске структурне анализе. Хемијска померања за Gly-D,L-Met дипептид и $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекс су дата су у табели 14.

Табела 14. ^1H NMR хемијска померања (δ , ppm) за Gly-D,L-Met дипептид и $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекс снимљени у D_2O као растварачу у односу на TSP као референтни стандард

Пептид/Комплекс	Gly-D,L-Met	$[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$
Протони		
GlyCH ₂	3,89	3,91
Met α CH	4,37	4,37
Met β CH ₂	2,18	2,40
Met γ CH ₂	2,60	3,00
Met δ CH ₃	2,11	2,71

На слици 45 је приказана структура $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса, док су дужине веза и углови између веза у овом комплексу дати у табели 15. Резултати рендгенске структурне анализе су показали да $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекс у структури садржи квадратно-планарни $[\text{AuCl}_4]^-$ анјон и

глицил-метионин-сулфоксид катјон у коме су протонирани атом азота терминалне аминок групе и атом кисеоника карбоксилне групе. Катјон је неуређен у бочном низу метионина, услед присуства два дијастереоизомера у истој јединичној ћелији, који се разликују у конфигурацији на атому сумпора. Иначе, $\text{H}^+\text{Gly-Met-сулфоксид}$ катјон садржи два асиметрична центра, један на α -угљениковом атому метионина, који је означен у овом делу дисертације као S_M или R_M , а други на атому сумпора, који је означен као S_S или R_S . Процес кристализације је делимично дијастереоселективан, при чему један од два могућа дијастереоизомера настаје у вишку ($S_M, R_S : S_M, S_S = 77:23$). Пошто је кристал центросиметричан, он садржи исту количину енантиомера за оба дијастереоизомера, при чему је R_M, S_S и R_M, R_S однос 77:23. Подаци сакупљени за други кристал, из истог узорка, показали су сличан однос одговарајућих дијастереоизомера (70:30). Ови резултати су у супротности са резултатима Natile-а и сарадника да је реакција између еквимоларних количина S -метионина и хидроген-тетрахлоридоаурата(III) стереоспецифична и да је једини производ ове реакције S -метионин- S -сулфоксид [117].



Слика 45. Структура $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса. Елипсоиди су дати са 40% степеном вероватноће, а воденикови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника. Бочни низ метионинског остатка у дипептиду је неуређен због присуства R_S и S_S изомера у истој јединичној ћелији

Табела 15. Дужине веза (Å) и углови између веза ($^{\circ}$) у $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплексу

N1—C1	1,480(5)	C4—O3	1,196(5)
C1—C2	1,517(5)	C4—O4	1,322(5)
C2—O2	1,227(5)	C5—C6	1,521(7)
C2—N2	1,331(5)	C6—S1	1,808(6)
N2—C3	1,454(5)	S1—O7	1,548(3)
C3—C4	1,523(6)	S1—C7	1,808(4)
C3—C5	1,529(7)		
N1—C1—C2	109,9(3)	O3—C4—O4	124,3(4)
O2—C2—N2	124,1(4)	O3—C4—C3	124,8(4)
O2—C2—C1	121,3(3)	O4—C4—C3	110,9(4)
N2—C2—C1	114,5(3)	C6—C5—C3	118,0(4)
C2—N2—C3	122,7(3)	C5—C6—S1	110,3(4)
N2—C3—C4	110,6(4)	O7—S1—C7	103,0(2)
N2—C3—C5	111,7(4)	O7—S1—C6	104,7(2)
C4—C3—C5	113,6(4)	C7—S1—C6	98,0(3)

За конформер који преовлађује, релативна оријентација повезаних јединица је описана помоћу торзионих углова $\psi_1 = 172,2(3)$, $\omega_1 = 173,8(4)$ и $\phi_2 = -118,8(5)^{\circ}$. Бочни низ метионина у дијастереоизомеру, који је у вишку, заузима *gauche, gauche, trans* конформацију (која је описана торзионим угловима $\gamma^1 = \text{N2—C3—C5—C6}$, $\gamma^2 = \text{C3—C5—C6—S1}$ и $\gamma^3 = \text{C5—C6—S1—O7}$ у табели 16), док други дијастереоизомер, чији су атоми означени са прим ('), заузима *gauche, trans, trans* конформацију.

Табела 16. Торзиони углови између веза ($^{\circ}$) у $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплексу

C2—N2—C3—C5	113,2(5)	C2—N2—C3'—C5'	112,4(11)
N2—C3—C5—C6	-60,0(6)	N2—C3'—C5'—C6'	-69,7(17)
C3—C5—C6—S1	-68,1(5)	C3'—C5'—C6'—S1'	-164,6(15)
C5—C6—S1—O7	-70,3(5)	O7'—S1'—C6'—C5'	62,0(2)
C5—C6—S1—C7	-177,5(5)	C7'—S1'—C6'—C5'	169,1(18)

Структура $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса састоји се од неорганских $[\text{AuCl}_4]^-$ и органских $\text{H}^+\text{Gly-Met-сулфоксид}$ слојева наизменично распоређених дуж целог кристала, који су паралелни (001) равни кристалне решетке и налазе се у положајима 0 и $\frac{1}{2}$ дуж c осе (Слика 46а). У неорганском слоју, најкраће $\text{Au}\dots\text{Cl}$ растојање износи 3,3980(10) Å и мање је од збира van der Waals-ових радијуса за ова два атома (3,41 Å) [187], па се може сматрати да ањон има структуру издужене квадратне пирамиде. Две такве квадратно-пирамидалне јединице са центром симетрије на $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0)$ деле два хлоридна ањона, при чему настаје $[\text{Au}_2\text{Cl}_8]^{2-}$ димер са $\text{Au}\dots\text{Au}$ растојањем од 3,8862(3) Å (Слика 46б), што је у сагласности са раније објављеним резултатима [198,199]. Ове димери са јединицом translације дуж a осе формирају интеранјонске $\text{Cl}\dots\text{Cl}$ везе, при чему је дужина веза 3,3015(14) Å, што је мање од збира van der Waals-ових радијуса за атоме хлора (3,50 Å). Тако формиран мотиви налик на лестве понављају се са јединицом translације дуж b осе, и формирају слојеве који су паралелни (001) равни кристалне решетке. Између ових слојева се налазе таласести слојеви који садрже $\text{H}^+\text{Gly-Met-сулфоксид}$ катјоне (Слика 46а и 46в).

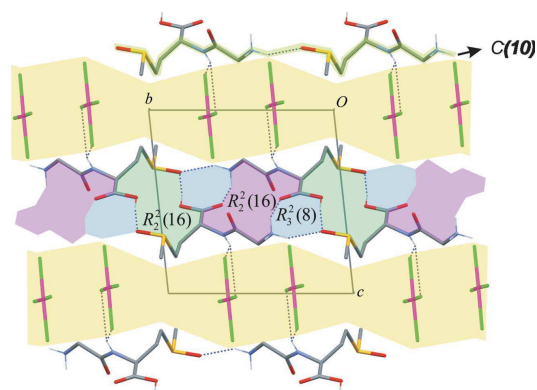
Кристална структура $[\text{H}^+\text{Gly-Met-sulfoksid}][\text{AuCl}_4]$ комплекса је стабилизована различитим типовима водоничних веза (Табела 17). Присуство хлоридних ањона и атома кисеоника из сулфоксидне групе утиче на формирање водоничних веза које нису карактеристичне за дипептиде. Водонична веза, која настаје између протонване амино и карбоксилне групе и која је позната у дипептидима као $C(8)$ мотив, у овом случају формира центросиметрични $R_2^2(16)$ прстенасти мотив [200]. Овај мотив представља део $R_3^2(8)$ прстена, кога чине и водоничне везе које настају између карбоксилне и сулфоксидне, као и протонване

амино и сулфоксидне групе. Такође, центросиметричне водоничне везе између протонване амино групе и пептидне везе, и између карбоксилне и сулфоксидне групе, формирају $R_2^2(10)$ и $R_2^2(16)$ мотиве. Једино водонична веза која настаје између протонване амино и сулфоксидне групе повезује молекуле који се налазе на истом c нивоу. Остале водоничне везе повезују молекуле који се налазе у суседним органским слојевима, који су компоненте једног двослоја (Слика 46в). Наведене водоничне везе не повезују само молекуле који чине двоструки органски слој, већ и органски и неоргански слој. Интермолекулске интеракције се формирају између протонване амино и пептидне N-H групе, и три од четири хлоридна анјона.

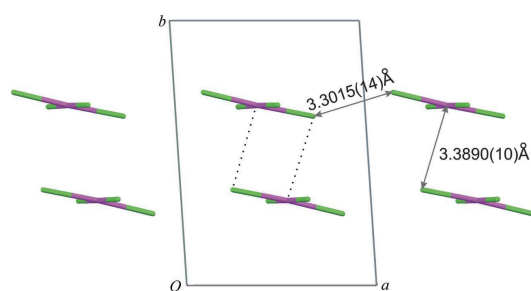
Табела 17. Дужине и углови интермолекулских водоничних веза у $[H^+Gly-Met-sulfoksid][AuCl_4]$ комплексу

$D-H\cdots A$	$D-H(\text{Å})$	$H\cdots A(\text{Å})$	$D\cdots A(\text{Å})$	$D-H\cdots A(^{\circ})$
N1—H11N...C12 ⁱ	0,91	2,69	3,476(4)	145
N1—H11N...C13 ⁱⁱ	0,91	2,78	3,392(3)	126
N1—H12N...O7 ⁱⁱⁱ	0,91	2,05	2,881(7)	151
N1—H13N...O2 ^{iv}	0,91	2,07	2,811(4)	137
N1—H13N...O3 ^v	0,91	2,44	2,942(5)	115
N2—H2N...C12 ^{vi}	0,88	2,80	3,493(4)	136
N2—H2N...C14 ^{vi}	0,88	2,88	3,604(4)	141
O4—H4O...O7 ^{vii}	0,84	1,75	2,585(7)	170

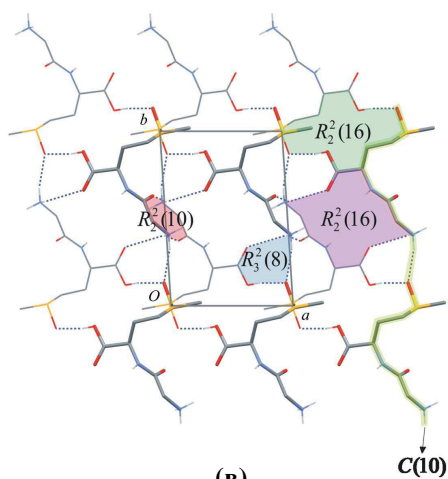
Симетријске трансформације које се односе на акцепторски атом (A): (i) $-x, -y+1, -z$; (ii) $x-1, y, z$; (iii) $x, y+1, z$; (iv) $-x, -y+1, -z+1$; (v) $-x+1, -y+1, -z+1$; (vi) $-x+1, -y+1, -z$; (vii) $-x+1, -y, -z+1$



(а)



(б)



(в)

Слика 46. (а) Наизменични катјонски и анјонски (001) слојеви који се налазе на положајима 0 и $\frac{1}{2}$ дуж c правца. Водоничне везе су приказане тачкастим линијама. Приказ је дат у правцу a осе. (б) Распоред $[\text{AuCl}_4]^-$ анјона у (001) слоју, са најкраћим $\text{Au}\dots\text{Cl}$ и $\text{Cl}\dots\text{Cl}$ растојањима. Тачкасте линије показују $\text{Au}\dots\text{Cl}$ интеракције. Приказ је дат у правцу c осе. (в) Двоструки молекулски катјонски слој у (001) равни, приказан у правцу c осе. Пуне и танке линије раздвајају молекуле који се налазе на различитим c нивоима. Водоничне везе су приказане тачкастим линијама

4.2. ЗАКЉУЧАК

На основу постигнутих резултата у оквиру ове докторске дисертације који се односе на испитивања реакција комплекса злата(III) са: (а) дипептидима који у бочном низу не садрже хетероатом (Gly-Gly и Gly-L-Ala), (б) дипептидима који у бочном низу садрже аминокиселину L-хистидин (Gly-L-His, L-Ala-L-His и L-His-Gly) и (в) дипептидима који у бочном низу садрже аминокиселину метионин (Gly-D,L-Met и Ac-Gly-D,L-Met) могу се извести следећи закључци.

У реакцијама $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплекса и дипептида који у бочном низу не садрже хетероатом, Gly-Gly и Gly-L-Ala, на $\text{pH} = 2,00$ и $3,00$ и на $40\text{ }^\circ\text{C}$, долази до тридентатне координације одговарајућег дипептида за Au(III) јон, при чему настају $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}N,N',O)\text{Cl}]$ и $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}N,N',O)\text{Cl}]$ комплекси. У овим комплексима, дипептиди су координовани за Au(III) јон преко атома азота терминалне аминок групе, депротонованог атома азота пептидне везе и кисеониковог атома карбоксилне групе, док се за четврто место координује хлоридо лиганд. Када су испитиване реакције извођене на $\text{pH} > 3,00$ ($\text{pH} = 4,00$ и $5,00$), Au(III) јон се веома брзо редукује и реакциона смеша потпуно потамни од издвојеног елементарног злата.

У реакцијама $\text{H[AuCl}_4\text{]}$ комплекса са дипептидима који у бочном низу садрже L-хистидин, Gly-L-His и L-Ala-L-His, на $\text{pH} = 1,50$ и на $25\text{ }^\circ\text{C}$, изоловани су стабилни $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекси. На основу спектроскопских и кристалографских испитивања ових комплекса, закључено је да се дипептиди тридентатно координују за Au(III) јон преко N_3 атома азота имидазоловог прстена, депротонованог атома азота пептидне везе и атома азота терминалне аминок групе

дипептида, док се за четврто место координује хлоридо лиганд. Катјони $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3$ и $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ комплекса имају структуру издуженог октаедра, услед интеракције између $\text{Au}(\text{III})$ јона из квадратно-планарне равни злато(III)-дипептид комплекса и два хлоридна ањона из суседних комплексних јединица. Супротно реакцијама са дипептидима који не садрже хетероатом у бочном низу, код којих $\text{Au}(\text{III})$ јон депротонује атом азота пептидне везе на $\text{pH} < 3,00$, у реакцијама са дипептидима који садрже L-хистидин, N3-координовани $\text{Au}(\text{III})$ јон депротонује пептидни азот већ на $\text{pH} < 1,50$. Важно је напоменути да, у поређењу са јонима других метала, као што су Pd(II) ($\text{pH} = 2,00$), Pt(II) ($\text{pH} = 4,00$), Ni(II) и Cu(II) ($\text{pH} = 6,00 - 8,00$), злато(III) јон депротонује атом азота пептидне везе у пептидима који садрже хистидин на најнижој pH вредности.

У реакцији монофункционалног $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ комплекса са L-His-Gly дипептидом, који садржи N-терминални L-хистидин, у pD области 3,50 – 5,50 и на 25 °C, долази до селективне координације дипептида за $\text{Au}(\text{III})$ јон преко N3 атома азота имидазоловог прстена, при чему се формира $[\text{Au}(\text{dien})(\text{L-His-Gly-N3})]^{3+}$ комплекс. Међутим, у реакцији $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ комплекса са Gly-L-His дипептидом, који садржи C-терминални L-хистидин, долази до тридентатне координације дипептида преко N3 имидазоловог атома азота, депротонованог атома азота пептидне везе и атома азота амино групе, уз истовремену елиминацију dien лиганда.

У реакцијама $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ комплекса са Gly-D,L-Met дипептидом и његовим N-ацетилованим дериватом, Ac-Gly-D,L-Met, на $\text{pH} = 2,00$ и на 25 °C, долази до оксидације метионинског остатка у дипептиду до одговарајућег сулфоксида. Структура коначног производа оксидације Gly-D,L-Met дипептида у присуству $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса је додатно потврђена применом рендгенске структурне анализе.

Добијени резултати у оквиру ове докторске дисертације представљају оригинални научни допринос изучавању реакција комплекса злата(III) са пептидима. Постигнути резултати могу бити од значаја за синтезу нових комплекса злата(III) који се потенцијално могу применити као антитуморски агенси. Поред тога, ови резултати могу допринети тумачењу сложеног механизма антитуморског и токсичног деловања комплекса злата.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] H. E. Sigerist, *A History of Medicine*, Vol I, Oxford University Press, New York, 1951.
- [2] A. C. Wootton, *Chronicles of Pharmacy*, Vol I, Macmillan, London, 1910.
- [3] S. P. Fricker, *Gold Bull.* **29** (1996) 53–60.
- [4] J. Needham, *Science and Civilization in China*, Vol V.2, Cambridge University Press, 1974.
- [5] Z. Huaizhi, N. Yuantao, *Gold Bull.* **34** (2001) 24–29.
- [6] P. J. Sadler, *Gold Bull.* **9** (1976) 110–118.
- [7] G. J. Higby, *Gold Bull.* **15** (1982) 130–140.
- [8] R. Koch, *Deutsche Med. Wochenschr.* **16** (1890) 756–757.
- [9] P. D’Arcy Hart, *Brit. Med. J.* **2** (1946) 805–810.
- [10] R. Y. Keers, *Thorax* **35** (1980) 884–889.
- [11] K. Landé, *Munch. Med. Wochenschr.* **74** (1927) 1132–1134.
- [12] J. Forestier, *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris* **53** (1929) 3231.
- [13] J. Forestier, *J. Lab. Clin. Med.* **20** (1935) 827–840.
- [14] Research Sub-committee of the Empire Rheumatism Council, *Ann. Rheum. Dis.* **19** (1960) 95–119.

- [15] G. D. Champion, G. G. Graham, J. B. Ziegler, *Baillière's Clin. Rheumatol.* **4** (1990) 491–534.
- [16] C. E. Housecroft, A. G. Sharpe, *Inorganic Chemistry*, third edn. Prentice Hall, Harlow, 2008.
- [17] M. L. Williams, *Inflammopharmacology* **16** (2008) 110–111.
- [18] H. Schmidbaur, A. Grohmann, M. E. Olmos, In: *Gold: Progress in Chemistry, Biochemistry and Technology*, Ed. H. Schmidbaur, John Wiley & Sons, Chichester, 1999.
- [19] H. Schmidbaur, S. Cronje, B. Djordjevic, O. Schuster, *Chem. Phys.* **311** (2005) 151–161.
- [20] R. J. Puddephatt, *The Chemistry of Gold*, Elsevier, Amsterdam, 1978.
- [21] N. Bartlett, *Gold Bull.* **31** (1998) 22–25.
- [22] A. Grohmann, H. Schmidbaur, In: *Comprehensive Organometallic Chemistry II*, Vol III, Eds. E. W. Abel, F. G. A. Stone, G. Wilkinson, Pergamon, New York, 1995.
- [23] H. Schmidbaur, *Acc. Chem. Res.* **8** (1975) 62–70.
- [24] J. P. Fackler Jr., *Inorg. Chem.* **41** (2002) 6959–6972.
- [25] A. A. Mohamed, H. E. Abdou, J. P. Fackler Jr., *Coord. Chem. Rev.* **254** (2010) 1253–1259.
- [26] J. E. Beesley, *Colloidal Gold: A New Perspective For Cytochemical Marking*, Oxford University Press, Oxford, 1989.
- [27] <http://www.howtoinvesttoday.com/2010/03/17/using-gold-in-cosmetics/>
- [28] R. Kissner, P. Latal, G. Geier, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1993) 136–137.
- [29] J. A. Harrison, J. Thompson, *J. Electroanal. Chem. Interfac.* **59** (1975) 273–280.
- [30] C. H. Gammons, Y. Yu, A. E. Williams-Jones, *Geochim. Cosmochim. Acta* **61** (1997) 1971–1983.
- [31] N. M. Nikolaeva, A. M. Erenburg, V. A. Antipina, *Isvest. Sib. Otd. Akad. Nauk. SSSR Ser. Khim.* **4** (1972) 126–129.
- [32] S. L. Best, P. J. Sadler, *Gold Bull.* **29** (1996) 87–93.

- [33] C. F. Shaw III, *Inorg. Perspect. Biol. Med.* **2** (1979) 287–355.
- [34] C. F. Shaw III, *Chem. Rev.* **99** (1999) 2589–2600.
- [35] S. Zhu, W. Gorski, D. R. Powell, J. A. Walmsley, *Inorg. Chem.* **45** (2006) 2688–2694.
- [36] J. R. Ward, *Am. J. Med.* **85** (1988) 39–44.
- [37] A. Lorber, T. M. Simon, *Gold Bull.* **12** (1979) 149–158.
- [38] D. H. Brown, W. E. Smith, *Chem. Soc. Rev.* **9** (1980) 217–240.
- [39] J. E. F. Reynolds, A. B. Prasad, *Martindale: The Extra Pharmacopoeia*, 28th edn. The Pharmaceutical Press, London, 1982.
- [40] P. J. Sadler, R. E. Sue, *Metal-Based Drugs* **1** (1994) 107–144.
- [41] E. R. T. Tiekink, *Gold Bull.* **36** (2003) 117–124.
- [42] V. Majithia, S. A. Geraci, *Am. J. Med.* **120** (2007) 936–939.
- [43] R. V. Parish, S. M. Cottrill, *Gold Bull.* **20** (1987) 3–12.
- [44] H. Ruben, A. Zalkin, M. O. Faltens, D. H. Templeton, *Inorg. Chem.* **13** (1974) 1836–1839.
- [45] R. Bau, *J. Am. Chem. Soc.* **120** (1998) 9380–9381.
- [46] N. L. Gottlieb, *J. Rheumatol.* **8** (1982) 99–109.
- [47] R. H. S. Thompson, V. P. Whittaker, *Biochem. J.* **41** (1947) 342–346.
- [48] D. F. Hill, *Med. Clin. North Am.* **52** (1968) 733–738.
- [49] D. T. Walz, M. J. DiMartino, B. M. Sutton, A. Misher, *J. Pharm. Exp. Ther.* **181** (1972) 292–297.
- [50] D. T. Hill, *U. S. Patent: 4057630 Chem. Abs.* **88** (1978) 94838.
- [51] D. T. Hill, B. M. Sutton, *Cryst. Struct. Commun.* **9** (1980) 679–686.
- [52] M. T. Razi, P. J. Sadler, D. T. Hill, B. M. Sutton, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1983) 1331–1334.
- [53] M. T. Razi, G. Otiko, P. J. Sadler, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **209** (1983) 371–384.
- [54] S. M. Cottrill, H. L. Sharma, D. B. Dyson, R. V. Parish, C. A. McAuliffe, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* (1989) 53–58.

- [55] B. M. Sutton, J. Weinstock, *U. S. Patent: 3903274 Chem. Abs.* **84** (1976) 17559.
- [56] J. Vinson, E. Mathewson, J. Kelly, W. Yang, J. Bennett, N. Hanchak, N. Farrell, J. Lupia, *Int. Cong. Pac. Basin Socs.* (1989) *Am. Chem. Soc. Abs. BIOS* 130.
- [57] C. F. Shaw III, N. A. Schaeffer, R. C. Elder, M. K. Eidsness, J. M. Trooster, G. H. M. Calis, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 3511–3521.
- [58] A. E. Finkelstein, D. T. Walz, V. Batista, M. Mizraji, F. Roisman, A. Misher, *Ann. Rheum. Dis.* **35** (1976) 251–257.
- [59] R. C. Blodgett Jr., M. A. Heuer, R. G. Pietrusko, *Semin. Arthritis Rheum.* **13** (1984) 255–273.
- [60] C. F. Shaw III, A. A. Isab, M. T. Coffey, C. K. Mirabelli, *Biochem. Pharmacol.* **40** (1990) 1227–1234.
- [61] R. C. Elder, Z. Zhao, Y. F. Zhang, J. G. Dorsey, E. V. Hess, K. Tepperman, *J. Rheumatol.* **20** (1993) 268–272.
- [62] G. G. Graham, A. J. Kettle, *Biochem. Pharmacol.* **56** (1998) 307–312.
- [63] S. J. Berners-Price, Gold-Based Therapeutic Agents: A New Perspective, in *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, ed. E. Alessio, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2011, pp. 197–222.
- [64] T. M. Simon, D. H. Kunishima, G. J. Vibert, A. Lorber, *Cancer* **44** (1979) 1965–1975.
- [65] C. K. Mirabelli, R. K. Johnson, C. M. Sung, L. F. Faucette, K. Muirhead, S. T. Crooke, *Cancer Res.* **45** (1985) 32–39.
- [66] C. K. Mirabelli, R. K. Johnson, D. T. Hill, L. F. Faucette, G. R. Girard, G. Y. Kuo, C. M. Sung, S. T. Crooke, *J. Med. Chem.* **29** (1986) 218–223.
- [67] C. K. Mirabelli, D. T. Hill, L. F. Faucette, F. L. McCabe, G. R. Girard, D. B. Bryan, B. M. Sutton, J. O. Bartus, S. T. Crooke, R. K. Johnson, *J. Med. Chem.* **30** (1987) 2181–2190.
- [68] S. J. Berners-Price, S. R. Girard, D. T. Hill, B. M. Sutton, P. S. Jarrett, L. F. Faucette, R. K. Johnson, C. K. Mirabelli and P. J. Sadler, *J. Med. Chem.* **33** (1990) 1386–1392.
- [69] S. J. Berners-Price, P. J. Sadler, *Struct. Bonding (Berlin)* **70** (1988) 27–102.

- [70] S. J. Berners-Price, P. S. Jarrett, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **26** (1987) 3074–3077.
- [71] J. L. Hickey, R. A. Ruhayel, P. J. Barnard, M. V. Baker, S. J. Berners-Price, A. Filipovska, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 12570–12571.
- [72] M. Navarro, *Coord. Chem. Rev.* **253** (2009) 1619–1626.
- [73] M. Navarro, H. Pérez, R. A. Sánchez-Delgado, *J. Med. Chem.* **40** (1997) 1937–1939.
- [74] A. R. Sannella, A. Casini, C. Gabbiani, L. Messori, A. R. Bilia, F. F. Vincieri, G. Majori, C. Severini, *FEBS Lett.* **582** (2008) 844–847.
- [75] M. P. Singh, M. Mishra, A. B. Khan, S. L. Ramdas, S. Panjiyar, *Br. Med. J.* **299** (1989) 1318.
- [76] M. Navarro, E. J. Cisneros-Fajardo, T. Lehmann, R. A. Sánchez-Delgado, R. Atencio, P. Silva, R. Lira, J. A. Urbina, *Inorg. Chem.* **40** (2001) 6879–6884.
- [77] A. N. Kuntz, E. Davioud-Charvet, A. A. Sayed, L. L. Califf, J. Dessolin, E. S. J. Arnér, D. L. Williams, *PLoS Med.* **4** (2007) 1071–1086.
- [78] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature* **205** (1965) 698–699.
- [79] B. Rosenberg, L. Van Camp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **222** (1969) 385–386.
- [80] B. Lippert, *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, John Wiley & Sons Inc., New York, 1999.
- [81] S. Carotti, G. Marcon, M. Marussich, T. Mazzei, L. Messori, E. Mini, P. Orioli, *Chem. Biol. Interact.* **125** (2000) 29–38.
- [82] L. Messori, F. Abbate, G. Marcon, P. Orioli, M. Fontani, E. Mini, T. Mazzei, S. Carotti, T. O’Connell, P. Zanello, *J. Med. Chem.* **43** (2000) 3541–3548.
- [83] G. Marcon, S. Carotti, M. Coronello, L. Messori, E. Mini, P. Orioli, T. Mazzei, M. A. Cinellu, G. Minghetti, *J. Med. Chem.* **45** (2002) 1672–1677.
- [84] M. Coronello, E. Mini, B. Caciagli, M. A. Cinellu, A. Bindoli, C. Gabbiani, L. Messori, *J. Med. Chem.* **48** (2005) 6761–6765.
- [85] A. Casini, M. A. Cinellu, G. Minghetti, C. Gabbiani, M. Coronello, E. Mini, L. Messori, *J. Med. Chem.* **49** (2006) 5524–5531.

- [86] C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, A. Guerri, M. A. Cinellu, G. Minghetti, M. Corsini, C. Rosani, P. Zanello, M. Arca, *Inorg. Chem.* **47** (2008) 2368–2379.
- [87] L. Ronconi, C. Marzano, P. Zanello, M. Corsini, G. Miolo, C. Maccà, A. Trevisan, D. Fregona, *J. Med. Chem.* **49** (2006) 1648–1657.
- [88] L. Ronconi, D. Fregona, *Dalton Trans.* (2009) 10670–10680.
- [89] A. Casini, G. Kelter, C. Gabbiani, M. A. Cinellu, G. Minghetti, D. Fregona, H. H. Fiebig, L. Messori, *J. Biol. Inorg. Chem.* **14** (2009) 1139–1149.
- [90] S. Nobili, E. Mini, I. Landini, C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, *Med. Res. Rev.* **30** (2010) 550–580.
- [91] A. Casini, M. C. Diawara, R. Scopelliti, S. M. Zakeeruddin, M. Grätzel, P. J. Dyson, *Dalton Trans.* **39** (2010) 2239–2245.
- [92] L. Maiore, M. A. Cinellu, E. Michelucci, G. Moneti, S. Nobili, I. Landini, E. Mini, A. Guerri, C. Gabbiani, L. Messori, *J. Inorg. Biochem.* **105** (2011) 348–355.
- [93] M. Navarro, F. Vásquez, R. A. Sánchez-Delgado, H. Pérez, V. Sinou, J. Schrével, *J. Med. Chem.* **47** (2004) 5204–5209.
- [94] M. Navarro, C. Hernández, I. Colmenares, P. Hernández, M. Fernández, A. Sierraalta, E. Marchán, *J. Inorg. Biochem.* **101** (2007) 111–116.
- [95] R. A. Sánchez-Delgado, M. Navarro, K. Lazard, R. Atencio, M. Capparelli, F. Vargas, J. A. Urbina, A. Bouillez, A. F. Noels, D. Masi, *Inorg Chim. Acta* **275–276** (1998) 528–540.
- [96] J. Zou, Z. Guo, J. A. Parkinson, Y. Chen, P. J. Sadler, *Chem. Commun.* (1999) 1359–1360.
- [97] J. Zou, J. A. Parkinson, P. J. Sadler, *J. Chin. Chem. Soc.* **49** (2002) 499–504.
- [98] P. K. Sen, N. Gani, J. K. Midya, B. Pal, *Trans. Met. Chem.* **33** (2008) 229–236.
- [99] P. K. Sen, N. Gani, J. K. Midya, B. Pal, *Int. J. Chem. Kinet.* **41** (2009) 473–482.
- [100] T. Yang, C. Tu, J. Zhang, L. Lin, X. Zhang, Q. Liu, J. Ding, Q. Xu, Z. Guo, *Dalton Trans.* (2003) 3419–3424.
- [101] R. J. Sundberg, R. B. Martin, *Chem. Rev.* **74** (1974) 471–517.
- [102] A. S. Brill, *Transition Metals in Biochemistry*, Springer, New York, 1977.

- [103] S. Timári, C. Kállay, K. Ósz, I. Sóvágó, K. Várnagy, *Dalton Trans.* (2009) 1962–1971.
- [104] J. A. Cuadrado, W. Zhang, W. Hang, V. Majidi, *J. Environ. Monitor.* **2** (2000) 355–359.
- [105] V. Soni, R. S. Sindal, R. N. Mehrotra, *Polyhedron* **24** (2005) 1167–1174.
- [106] B. A. Al-Maythaly, A. A. Isab, M. I. M. Wazeer, A. Ibdah, *Inorg. Chim. Acta* **363** (2010) 3200–3207.
- [107] M. Milovanović, A. Djeković, V. Volarević, B. Petrović, N. Arsenijević, Ž. D. Bugarčić, *J. Inorg. Biochem.* **104** (2010) 944–949.
- [108] A. Djeković, B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, R. Puchta, R. van Eldik, *Dalton Trans.* **41** (2012) 3633–3641.
- [109] D. H. Brown, W. E. Smith, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **209** (1983) 401–418.
- [110] W. E. Smith, J. Reglinski, *Perspect. Bioinorg. Chem.* **1** (1991) 183–208.
- [111] C. F. Shaw III, M. P. Cancro, P. L. Witkiewicz, J. E. Eldridge, *Inorg. Chem.* **19** (1980) 3198–3201.
- [112] P. L. Witkiewicz, C. F. Shaw III, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1981) 1111–1114.
- [113] C. F. Shaw III, G. Schmitz, H. O. Thompson, P. L. Witkiewicz, *J. Inorg. Biochem.* **10** (1979) 317–330.
- [114] B. A. Al-Maythaly, M. I. M. Wazeer, A. A. Isab, *Inorg. Chim. Acta* **363** (2010) 3244–3253.
- [115] F. K. Keter, S. O. Ojwach, O. A. Oyetunji, I. A. Guzei, J. Darkwa, *Inorg. Chim. Acta* **362** (2009) 2595–2602.
- [116] E. Bordignon, L. Cattalini, G. Natile, A. Scatturin, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1973) 878–879.
- [117] G. Natile, E. Bordignon, L. Cattalini, *Inorg. Chem.* **15** (1976) 246–248.
- [118] A. V. Vujačić, J. Z. Savić, S. P. Sovilj, K. Mészáros Szécsényi, N. Todorović, M. Ž. Petković, V. M. Vasić, *Polyhedron* **28** (2009) 593–599.

- [119] G. Annibale, L. Canovese, L. Cattalini, G. Natile, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1980) 1017–1021.
- [120] B. B. Koleva, S. Zareva, Ts. Kolev, M. Spiteller, *J. Coord. Chem.* **61** (2008) 3534–3548.
- [121] Ts. Kolev, B. B. Koleva, S. Y. Zareva, M. Spiteller, *Inorg. Chim. Acta* **359** (2006) 4367–4376.
- [122] S. L. Best, M. I. Djuran, P. J. Sadler, *Metal-Based Drugs* **1** (1994) 509.
- [123] M. Wienken, B. Lippert, E. Zangrando, L. Randaccio, *Inorg. Chem.* **31** (1992) 1983–1985.
- [124] S. L. Best, T. K. Chattopadhyay, M. I. Djuran, R. A. Palmer, P. J. Sadler, I. Sóvágó, K. Várnagy, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1997) 2587–2596.
- [125] A. J. Canumalla, N. Al-Zamil, M. Phillips, A. A. Isab, C. F. Shaw III, *J. Inorg. Biochem.* **85** (2001) 67–76.
- [126] P. M. Yangyuru, J. W. Webb, C. F. Shaw III, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 584–593.
- [127] B. B. Koleva, Ts. Kolev, S. Y. Zareva, M. Spiteller, *J. Mol. Struct.* **831** (2007) 165–173.
- [128] B. B. Ivanova, *J. Coord. Chem.* **58** (2005) 587–593.
- [129] B. B. Koleva, Ts. Kolev, M. Lamshöft, M. Spiteller, *Trans. Met. Chem.* **33** (2008) 911–919.
- [130] B. B. Koleva, Ts. Kolev, M. Spiteller, *Inorg. Chim. Acta* **360** (2007) 2224–2230.
- [131] Ts. Kolev, B. B. Ivanova, S. Y. Zareva, *J. Coord. Chem.* **60** (2007) 109–115.
- [132] A. Casini, C. Hartinger, C. Gabbiani, E. Mini, P. J. Dyson, B. K. Keppler, L. Messori, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 564–575.
- [133] E. Ennifar, P. Walter, P. Dumas, *Nucl. Acids Res.* **31** (2003) 2671–2682.
- [134] Protein Data Bank (www.rcsb.org), accession codes 2OIJ, 3ES3, 1N8N.
- [135] A. Bindoli, M. P. Rigobello, G. Scutari, C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, *Coord. Chem. Rev.* **253** (2009) 1692–1707.
- [136] K. P. Bhabak, B. J. Bhuyan, G. Mugesh, *Dalton Trans.* **40** (2011) 2099–2111.

- [137] C. A. Butts, J. Swift, S. Kang, L. Di Costanzo, D. W. Christianson, J. G. Saven, I. J. Dmochowski, *Biochemistry* **47** (2008) 12729-12739.
- [138] V. Calderone, C. Forleo, M. Benvenuti, M. C. Thaller, G. M. Rossolini, S. Mangani, *J. Mol. Biol.* **335** (2004) 761-773.
- [139] G. Marcon, L. Messori, P. Orioli, M. A. Cinellu, G. Minghetti, *Eur. J. Biochem.* **270** (2003) 4655-4661.
- [140] L. Messori, A. Balerna, I. Ascone, C. Castellano, C. Gabbiani, A. Casini, C. Marchioni, G. Jaouen, A. Congiu Castellano, *J. Biol. Inorg. Chem.* **16** (2011) 491-499.
- [141] C. Gabbiani, A. Casini, G. Kelter, F. Cocco, M. A. Cinellu, H. H. Fiebig, L. Messori, *Metallomics* **3** (2011) 1318-1323.
- [142] C. Gabbiani, G. Mastrobuoni, F. Sorrentino, B. Dani, M. P. Rigobello, A. Bindoli, M. A. Cinellu, G. Pieraccini, L. Messori, A. Casini, *Med. Chem. Commun.* **2** (2011) 50-54.
- [143] K. Fritz-Wolf, S. Urig, K. Becker, *J. Mol. Biol.* **370** (2007) 116-127.
- [144] A. Casini, *J. Inorg. Biochem.* (2012) doi:10.1016/j.jinorgbio.2011.12.007.
- [145] S. J. Berners-Price, A. Filipovska, *Metallomics* **3** (2011) 863-873.
- [146] T. G. Appleton, *Coord. Chem. Rev.* **166** (1997) 313-359.
- [147] E. Farkas, I. Sóvágó, Metal Complexes of Amino Acids and Peptides, in *Specialist Periodical Reports, Amino Acids, Peptides and Protein*, eds. G. C. Barrett, J. S. Davies, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1998, vol. 29; 2000, vol. 31; 2002, vol. 33.
- [148] H. Sigel, R. B. Martin, *Chem. Rev.* **82** (1982) 385-426.
- [149] I. Sóvágó, Metal Complexes of Peptides and Their Derivatives, in *Biocoordination Chemistry*, ed. K. Burger, Ellis Horwood, New York, 1990, pp. 135-184.
- [150] A. Iakovidis, N. Hadjiliadis, *Coord. Chem. Rev.* **135-136** (1994) 17-63.
- [151] L. D. Pettit, J. E. Gregor, H. Kozłowski, Complex Formation Between Metal Ions and Peptides, in *Perspectives on Bioinorganic Chemistry*, eds. R. W. Hay, J. R. Dilworth, K. B. Nolan, Jai Press Ltd, London, 1991, vol. 1, pp. 1-41.

- [152] L. D. Pettit, R. A. Robinson, Metal-Peptide Complex Formation, in *Handbook of Metal-Ligand Interaction in Biological Fluids*, ed. G. Berthon, Marcel Dekker Inc., New York, 1995, vol. 1, part 3, ch. 2.
- [153] W. Bal, M. Dyba, H. Kozłowski, *Acta Biochim. Pol.* **44** (1997) 467-476.
- [154] H. Kozłowski, W. Bal, M. Dyba, T. Kowalik-Jankowska, *Coord. Chem. Rev.* **184** (1999) 319-346.
- [155] P. Tsiveriotis, N. Hadjiliadis, *Coord. Chem. Rev.* **190-192** (1999) 171-184.
- [156] H. Kozłowski, T. Kowalik-Jankowska, M. Jeżowska-Bojczuk, *Coord. Chem. Rev.* **249** (2005) 2323-2334.
- [157] T. Kowalik-Jankowska, H. Kozłowski, E. Farkas, I. Sóvágó, Nickel Ion Complexes of Amino Acids and Peptides, in *Metal Ions in Life Science*, eds. A. Sigel, H. Sigel, R. K. O. Sigel, John Wiley & Sons, 2007, vol. 2, pp. 63-108.
- [158] I. Sóvágó, K. Ósz, *Dalton Trans.* (2006) 3841-3854.
- [159] C. G. Ágoston, T. K. Jankowska, I. Sóvágó, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1999) 3295-3302.
- [160] I. E. Burgenson, N. M. Kostić, *Inorg. Chem.* **30** (1991) 4299-4305.
- [161] L. Zhu, N. M. Kostić, *Inorg. Chem.* **31** (1992) 3994-4001.
- [162] *CrysAlis CCD*, Oxford Diffraction Ltd, Abingdon, Oxford, England, 2007.
- [163] *CrysAlis RED, including ABSPACK*. Oxford Diffraction Ltd, Abingdon, Oxford, England, 2007.
- [164] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A: Found. Crystallogr.* **64** (2008) 112-122.
- [165] H. D. Flack, *Acta Crystallogr. Sect. A: Found. Crystallogr.* **39** (1983) 876-881.
- [166] *Stereochemical Workstation Operation Manual*, Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1989.
- [167] I. J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edgington, M. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson, R. Taylor, *Acta Crystallogr. Sect. B: Struct.Sci.* **58** (2002) 389-397.
- [168] G. Annibale, G. Natile, L. Cattalini, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1976) 1547-1552.

- [169] G. Nardin, L. Randaccio, G. Annibale, G. Natile, B. Pitteri, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1980) 220–223.
- [170] W. H. Baddley, F. Basolo, H. B. Gray, C. Nölting, A. J. Poë, *Inorg. Chem.* **2** (1963) 921–928.
- [171] S.L. Best, Z. Guo, M. I. Djuran, P. J. Sadler, *Metal-Based Drugs* **6** (1999) 261–269.
- [172] A. Krężel, W. Bal, *J. Inorg. Biochem.* **98** (2004) 161–166.
- [173] K. J. Laidler, *Chemical Kinetics*, third edn. Harper & Row, New York, 1987, p. 22.
- [174] S. U. Milinković, T. N. Parac, M. I. Djuran, N. M. Kostić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1997) 2771–2776.
- [175] M. I. Djuran, S. U. Milinković, *Monatsh. Chem.* **130** (1999) 613–622.
- [176] T. G. Appleton, F. J. Pesch, M. Wienken, S. Menzer, B. Lippert, *Inorg. Chem.* **31** (1992) 4410–4419.
- [177] E. M. A. Ratilla, H. M. Brothers II, N. M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 4592–4599.
- [178] H. M. Brothers II, N. M. Kostić, *Inorg. Chem.* **27** (1988) 1761–1767.
- [179] M. Wienken, E. Zangrando, L. Randaccio, S. Menzer, B. Lippert, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1993) 3349–3357.
- [180] D. Shi, T. W. Hambley, H. C. Freeman, *J. Inorg. Biochem.* **73** (1999) 173–186.
- [181] I. Sóvágó, R. B. Martin, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **43** (1981) 425–429.
- [182] L. Menabue, M. Saladini, M. Sola, *Inorg. Chem.* **29** (1990) 1293–1295.
- [183] E. W. Wilson Jr., R. B. Martin, *Inorg. Chem.* **10** (1971) 1197–1202.
- [184] S. Kasselouri, A. Garoufis, M. Lamera-Hadjiliadis, N. Hadjiliadis, *Coord. Chem. Rev.* **104** (1990) 1–12.
- [185] E. W. Wilson Jr., R. B. Martin, *Inorg. Chem.* **9** (1970) 528–532.
- [186] J. P. Laussac, R. Haran, N. Hadjiliadis, *C. R. Acad. Sci. Ser II* **300** (1985) 137–140.
- [187] A. Bondi, *J. Phys. Chem.* **68** (1964) 441–451.
- [188] F. Allen, *Acta Crystallogr. Sect. B: Struct. Sci.* **58** (2002) 380–388.
- [189] P. G. Jones, E. Bembenek, *Z. Kristallogr.* **208** (1993) 126–127.

- [190] W. Hiller, D. B. Dell'Amico, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1987) 1329–1332.
- [191] S. Schouteeten, O. R. Allen, A. D. Haley, G. L. Ong, G. D. Jones, D. A. Vicic, *J. Organomet. Chem.* **691** (2006) 4975–4981.
- [192] R. P. Agarwal, D. D. Perrin, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1975) 268–272.
- [193] W. Robb, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 382–386.
- [194] P. Kowalski, K. Mitka, K. Ossowska, Z. Kolarska, *Tetrahedron* **61** (2005) 1933–1953.
- [195] S. Patai, Z. Rappoport, *Synthesis of Sulfoxes, Sulfoxides and Cyclic Sulfides*, John Wiley & Sons, Chichester, 1994.
- [196] J. D. Bell, R. E. Norman, P. J. Sadler, *J. Inorg. Biochem.* **31** (1987) 241–246.
- [197] A. A. Isab, P. J. Sadler, *Biochim. Biophys. Acta* **492** (1977) 322–330.
- [198] P. Bourosh, O. Bologa, Y. Simonov, N. Gerbeleu, J. Lipkowski, M. Gdaniec, *Inorg. Chim. Acta* **360** (2007) 3250–3254.
- [199] A. Schimanski, E. Freisinger, A. Erxleben, B. Lippert, *Inorg. Chim. Acta* **283** (1998) 223–232.
- [200] J. Bernstein, R. E. Davis, L. Shimoni, N. L. Chang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34** (1995) 1555–1573.

БИОГРАФИЈА



Биљана Ђ. Глишић је рођена 19. 09. 1985. године у Крагујевцу од оца Ђорђа и мајке Весне. Основну школу и Прву крагујевачку гимназију је завршила у Крагујевцу као носилац дипломе “Вук Караџић”. На Природно-математички факултет у Крагујевцу, група Хемија, смер истраживање и развој, уписала се школске 2004/05. године, где је дипломирала, септембра 2008. године, са просечном оценом у току студија 9,93. Добитница је награде која се додељује најбољем студенту хемије за школску 2005/06, 2006/07. и 2007/08. годину на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, као и Годишње награде Српског хемијског друштва за 2009. годину за изузетан успех у току студија. Поред тога, добитница је Универзитетске стипендије која се додељује најбољим студентима Универзитета у Крагујевцу за школску 2007/08. годину.

Докторске студије, смер Неорганска хемија, уписала је на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, школске 2008/09. године. Бави се истраживачким радом у области синтезе и структурне карактеризације комплекса злата(III), као и испитивањем њихових реакција са пептидима применом спектроскопских и електрохемијских метода. У октобру 2008. године примљена је у радни однос на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, као истраживач-приправник, а јуна 2010. године је изабрана у звање истраживач-сарадник за рад на пројектима које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Пројекат 172036 од јануара 2011. године).

Списак радова и саопштења Биљане Ђ. Глишић

1. Научни радови објављени у међународним научним часописима*

*Радови под бројем 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8. и 1.9. су у оквиру теме за докторску дисертацију

- 1.1. **I. Gutman, B. Furtula, B. Glišić, V. Marković and A. Vesel**
Estrada index of acyclic molecules
Indian J. Chem. A, **46** (2007) 723-728. **M23**
- 1.2. **I. Gutman, B. Furtula, V. Marković and B. Glišić**
Alkanes with greatest estrada index
Z. Naturforsch A, **62** (2007) 495-498. **M23**
- 1.3. **S. Rajković, B. Đ. Glišić, M. D. Živković and M. I. Djuran**
Hydrolysis of the amide bond in methionine-containing peptides catalyzed by various palladium(II) complexes: Dependence of the hydrolysis rate on the steric bulk of the catalyst
Bioorg. Chem., **37** (2009) 173-179. **M22**
- 1.4. **U. Rychlewska, B. Warżajtis, B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran**
Crystallographic evidence of Gly-D,L-Met oxidation to its sulfoxide in the presence of gold(III): solid solution of the racemic mixture of two diastereoisomers
Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun., **66** (2010) 51-54. **M23**
- 1.5. **B. Đ. Glišić, S. Rajković, M. D. Živković and M. I. Djuran**
A comparative study of the complex formation in the reactions of gold(III) with Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His dipeptides
Bioorg. Chem., **38** (2010) 144-148. **M22**
- 1.6. **U. Rychlewska, B. Warżajtis, B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković and M. I. Djuran**
Monocationic gold(III) Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptide complexes: crystal structures arising from solvent free and solvent-containing crystal formation and structural modifications tuned by counter-anions
Dalton Trans., **39** (2010) 8906-8913. **M21**
- 1.7. **B. Đ. Glišić, S. Rajković, Z. Stanić and M. I. Djuran**
A spectroscopic and electrochemical investigation of the oxidation pathway of glycyl-D,L-methionine and its *N*-acetyl derivative induced by gold(III)
Gold Bull., **44** (2011) 91-98. **M21**

- 1.8. **B. Đ. Glišić, U. Rychlewska and M. I. Djuran**
Review article: Reactions and structural characterization of gold(III) complexes with amino acids, peptides and proteins
Dalton Trans., **41** (2012) 6887-6901. **M21**
- 1.9. **B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran**
The reactions of the monofunctional $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex with L-histidine-containing dipeptides: dependence of complex formation on the dipeptide structure
J. Coord. Chem., **accepted for publication** **M22**
2. Стручни радови објављени у националним научним часописима
- 2.1. **Б. Ђ. Глишић и М. И. Ђуран**
Примена злата и његових једињења у медицини. Комплекси злата као антиреуматски и антитуморски агенси
Хемијски преглед, **3** (2011) 71-77. **M53**
3. Саопштења на међународним научним конференцијама штампана у изводу
- 3.1. **M. D. Živković, B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran**
Gold(III) complexes with histidine- and methionine-containing peptides: the reactions studies and complexes characterization
6st International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries, Sofia, September 10-14, 2008, 3-P34. **M34**
- 3.2. **S. Rajković, B. Đ. Glišić, M. D. Živković and M. I. Djuran**
Hydrolysis of the amide bond in methionine-containing peptides catalyzed by various palladium(II) complexes: dependence of the hydrolysis rate on the steric bulk of the catalyst
10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry, Debrecen, September 25-28, 2009, P41. **M34**
- 3.3. **B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković, M. I. Djuran, B. Warzajtis and U. Rychlewska**
Gold(III) complexes of the histidine-containing peptides: syntheses, spectroscopic and structural characterization
10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry, Debrecen, September 25-28, 2009, P42. **M34**
- 3.4. **B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran**
 ^1H NMR investigation of the oxidation reactions of glycyl-D,L-methionine and its N-acetylated derivate in the presence of gold(III)

4. Саопштења на националним научним конференцијама штампана у целини

4.1. M. I. Djuran, B. Đ. Glišić and U. Rychlewska

Spectroscopic investigation of reactions and structural characterization of gold(III) complexes with peptides

50. savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, 14-15. jun 2012. godine, PP 2.

M63

5. Саопштења на националним научним конференцијама штампана у изводу

5.1. B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković and M. I. Djuran

¹H NMR characterization of gold(III) and platinum(II) complexes with tripeptide glycyl-glycyl-L-methionine

XLVII savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, 21. mart 2009. godine, NH 04.

M64

5.2. M. D. Živković, B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran

¹H NMR study of the reactions of a methionine-containing peptides with different Pd(II) complexes: the selective cleavage of the amide bond and steric effects on the catalyst

XLVII savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, 21. mart 2009. godine, NH 09.

M64

5.3. B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran

¹H NMR study of reactions of the [AuCl(dien)]Cl₂ complex with N-acetyl derivatives of some dipeptides

XLIX savetovanje Srpskog hemijskog društva, Kragujevac, 13-14. maj 2011. godine, NH02-O.

M64

5.4. B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran

A study of the reactions of the monofunctional [M(dien)Cl]ⁿ⁺ complexes (M = Au(III), Pt(II) and Pd(II)) with L-histidine-containing dipeptides

Prva konferencija mladih hemičara Srbije, Beograd, 19-20. oktobar 2012. godine, HS 05.

M64

ПРИЛОГ

Acta Crystallographica Section C

**Crystal Structure
Communications**

ISSN 0108-2701

Editor: **Anthony Linden**

Crystallographic evidence of Gly-D,L-Met oxidation to its sulfoxide in the presence of gold(III): solid solution of the racemic mixture of two diastereoisomers

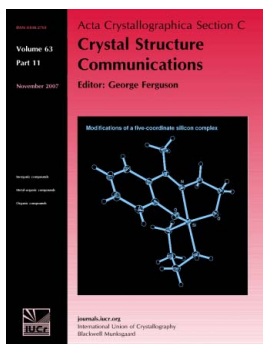
Urszula Rychlewska, Beata Warzajtis, Biljana D. Glisic, Snezana Rajkovic
and Miloš Djuran

Acta Cryst. (2010). **C66**, m51–m54

Copyright © International Union of Crystallography

Author(s) of this paper may load this reprint on their own web site or institutional repository provided that this cover page is retained. Republication of this article or its storage in electronic databases other than as specified above is not permitted without prior permission in writing from the IUCr.

For further information see <http://journals.iucr.org/services/authorrights.html>



Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications specializes in the rapid dissemination of high-quality studies of crystal and molecular structures of interest in fields such as chemistry, biochemistry, mineralogy, pharmacology, physics and materials science. The numerical and text descriptions of each structure are submitted to the journal electronically as a Crystallographic Information File (CIF) and are checked and typeset automatically prior to peer review. The journal is well known for its high standards of structural reliability and presentation. *Section C* publishes approximately 1000 structures per year; readers have access to an archive that includes high-quality structural data for over 10000 compounds.

Crystallography Journals **Online** is available from journals.iucr.org

Crystallographic evidence of Gly-D,L-Met oxidation to its sulfoxide in the presence of gold(III): solid solution of the racemic mixture of two diastereoisomers

Urszula Rychlewska,^{a*} Beata Warzajtis,^a Biljana D. Glisic,^b Snezana Rajkovic^b and Miloš Djuran^b

^aDepartment of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań, Poland, and ^bDepartment of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, PO Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia
Correspondence e-mail: urszular@amu.edu.pl

Received 30 November 2009

Accepted 13 January 2010

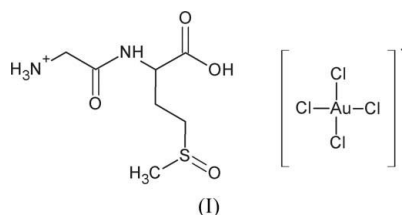
Online 26 January 2010

Crystallographic analysis of a solid solution of two diastereoisomers, *i.e.* ((1*S*,*R*)-1-carboxy-3-[(*R*,*S*)-methylsulfinyl]propyl)aminocarboxylmethanaminium tetrachloridoaurate(III) and ((1*S*,*R*)-1-carboxy-3-[(*S*,*R*)-methylsulfinyl]propyl)aminocarboxylmethanaminium tetrachloridoaurate(III), (C₇H₁₅N₂O₄S)[AuCl₄], has shown that in the presence of gold(III), the methionine part of the Gly-D,L-Met dipeptide is oxidized to sulfoxide, and no coordination to the Au^{III} cation through the S atom of the sulfoxide is observed. In view of our observation, literature reports that methionine acts as a *N,S*-bidentate donor ligand forming stable gold(III) complexes require verification. Moreover, it has been demonstrated that crystallization of the oxidation product leads to a substantial 77:23 excess of both *S*-methionine/*R*-sulfoxide and *R*-methionine/*S*-sulfoxide over *S*-methionine/*S*-sulfoxide and *R*-methionine/*R*-sulfoxide. The presence of two different diastereoisomers at the same crystallographic site is a source of static disorder at this site.

Comment

The prominent role of methionine oxidation/reduction in aging and age-related degenerative diseases and in the regulation of cell function (Hoshi & Heinemann, 2001) stimulated our interest in the role of gold(III) halides in the oxidative process of the amino acid methionine and methionine-containing peptides. By reacting hydrogen tetrachloridoaurate(III) with the Gly-D,L-Met dipeptide and subjecting the final product of this reaction to X-ray analysis, we wished to verify the literature reports on the ability of gold(III) halides to oxidize methionine to its sulfoxide, and furthermore to find out whether the newly formed sulfoxide group has the ability

to replace chloride ligands in the first coordination sphere of the gold(III) cation, in a manner similar to the coordination of methionine sulfoxide to platinum(II) (Freeman, 1977; Bruhn *et al.*, 1999; Ling *et al.*, 1993). It has been known for some time that gold(III) halides are able to oxidize sulfides (Natile *et al.*, 1976), disulfide bridges in albumin and insulin (Witkiewicz & Shaw, 1981), and methionine residues of ribonuclease (Isab & Sadler, 1977). The mechanism of this redox reaction has been investigated (Natile *et al.*, 1976; Vujačić *et al.*, 2009) but so far no crystallographic evidence for the reaction has been provided. We report herein the synthesis, isolation and X-ray analysis of the product of the reaction of hydrogen tetrachloridoaurate(III) with the Gly-D,L-Met dipeptide.



The product turned out to be the tetrachloridoaurate(III) salt, (I), of H⁺Gly-Met sulfoxide. The crystal structure consists of discrete square-planar [AuCl₄][−] anions and glycyilmethionine sulfoxide cations (Fig. 1 and Table 1). The cations are disordered at the methionine side chain due to the presence, at the same crystallographic site, of two diastereomers differing in their configuration at the triply-bonded S atom. Consequently, the Gly-Met sulfoxide cations contain two asymmetric centres, one at a peptide C^α atom (designated as *S_M* or *R_M*)

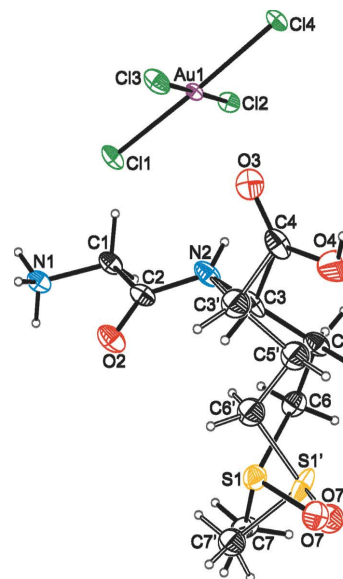
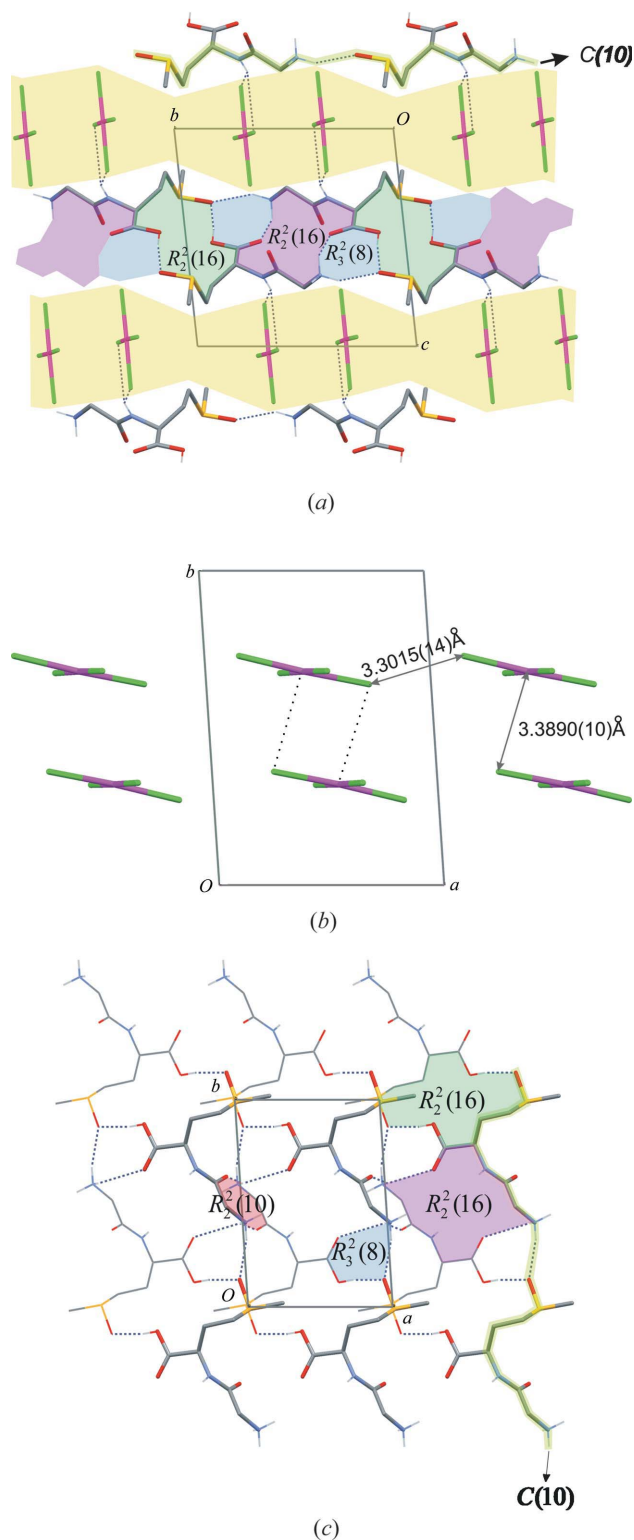


Figure 1

The asymmetric unit of (I), showing the atom-labelling scheme. Displacement ellipsoids are drawn at the 40% probability level and H atoms are shown as small spheres of arbitrary radii. Primed and unprimed atoms connected by open and filled bonds, respectively, illustrate the disorder of the methionine sulfoxide side chain, caused by the presence at the same crystallographic site of both *R_S* and *S_S* isomers.


Figure 2

(a) Alternating cationic and anionic (001) layers situated at, respectively, $\frac{1}{2}$ and 0 along *c*. Hydrogen-bonding interactions are shown as dotted lines. The view is along the *a* axis. (b) The arrangement of the anionic $[\text{AuCl}_4]^-$ species within the (001) layer, with close $\text{Au}\cdots\text{Cl}$ and $\text{Cl}\cdots\text{Cl}$ distances indicated by arrows. Dotted lines indicate $\text{Au}\cdots\text{Cl}$ interactions. The view is along the *c* axis. (c) The undulating double molecular cationic layer in (001), viewed along the *c* axis. Thick and thin lines differentiate molecules situated at different *c* levels. Hydrogen-bonding interactions are shown as dotted lines.

and the other at the S atom (designated as S_S or R_S). The crystallization process is partially diastereoselective, leading to an excess of one of the two possible diastereoisomers for the reference molecule, *i.e.* S_M, R_S over S_M, S_S (Fig. 1), the ratio being 77:23. As the crystal is centrosymmetric, it contains equal amounts of the enantiomers of the two diastereoisomers, with the $R_M, S_S:R_M, R_S$ ratio also being 77:23. Data collected for another crystal selected from the same sample provided a similar ratio of diastereoisomers, *viz.* 0.70:0.30. This crystallographic finding is in contrast with the report (Natile *et al.*, 1976) that the reaction of equimolar amounts of (*S*)-methionine and hydrogen tetrachloridoaurate(III) in water proceeds with total stereospecificity, providing *S*-methionine-*S*-sulfoxide as the sole product. The Gly-Met sulfoxide units of (I) exist as cations, with the N and C termini protonated. For the predominant conformer, the relative orientation of the linked units can be described by a set of three torsion angles, *viz.* $\psi_1 = 172.2$ (3), $\omega_1 = 173.8$ (4) and $\Phi_2 = -118.8$ (5)°. The methionine side chain in the prevalent diastereoisomer adopts a *gauche, gauche, trans* conformation (described by the set of torsion angles $\gamma^1 = \text{N2}-\text{C3}-\text{C5}-\text{C6}$, $\gamma^2 = \text{C3}-\text{C5}-\text{C6}-\text{S1}$ and $\gamma^3 = \text{C5}-\text{C6}-\text{S1}-\text{C7}$ listed in Table 1), while the minor diastereoisomer (defined by the corresponding primed atoms) adopts a *gauche, trans, trans* conformation.

The extended structure of (I) consists of alternating inorganic $[\text{AuCl}_4]^-$ and organic ($\text{H}^+\text{Gly-Met}$ sulfoxide) layers parallel to the (001) lattice planes and situated at, respectively, 0 and $\frac{1}{2}$ along the *c* axis (Fig. 2a). Within the inorganic layer, the closest $\text{Au}\cdots\text{Cl}$ distance [3.3890 (10) Å] is less than the sum of the van der Waals radii of the two atoms (3.41 Å; Bondi, 1964). Thus, the square-planar arrangement of the $[\text{AuCl}_4]^-$ anionic core is complemented into an elongated square pyramid. Two such square-pyramidal units related by a centre of symmetry at $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0)$ share two chloride anions, forming an $[\text{Au}_2\text{Cl}_8]^{2-}$ dimer with an $\text{Au}\cdots\text{Au}$ separation of 3.8862 (3) Å (Fig. 2b), similar to reported examples (Bouroush *et al.*, 2007; Schimansky *et al.*, 1998). These dimeric units, related by a unit translation along the *a* direction, form close interanionic $\text{Cl}\cdots\text{Cl}$ contacts of 3.3015 (14) Å (shorter than the sum of the van der Waals radii for Cl atoms of 3.50 Å). The ladders thus formed, repeated by a unit translation along the *b* direction, extend into layers parallel to the (001) lattice plane (Fig. 2a). In between these layers one finds undulating bimolecular layers consisting of $\text{H}^+\text{Gly-Met}$ sulfoxide cations (Figs. 2a and 2c).

The crystal structure of (I) is stabilized by various types of hydrogen bonds (Table 2). The presence of competitive hydrogen-bond acceptors, such as chloride anions and sulfoxide O atoms, perturbs the hydrogen-bond pattern typical for dipeptides. The ammonium-carboxyl hydrogen bond, known in dipeptides as the C(8) motif, now forms the centrosymmetric $R_2^2(16)$ ring motif (for graph-set notation, see, for example, Bernstein *et al.*, 1995). In addition, it constitutes part of the $R_3^2(8)$ ring pattern, the other constituents being the carboxyl-sulfoxide and the ammonium-sulfoxide hydrogen bonds. Furthermore, pairs of centrosymmetrically related

ammonium–amide and carboxyl–sulfoxide hydrogen bonds lead to the formation of $R_2^2(10)$ and $R_2^2(16)$ motifs. Only the ammonium–sulfoxide $C(10)$ chain joins molecules situated at the same c level. The other hydrogen bonds operate between molecules situated in two neighbouring organic layers, the components of a single bilayer (Fig. 2c). The abovementioned hydrogen bonds not only hold together molecules constituting the double-molecular organic layer, but also join together the organic and inorganic layers. Intermolecular interactions occur between the protonated N-terminus and the peptide N–H group, and three of the four chloride anions.

In conclusion, we have provided crystallographic evidence that the methionine part of the Gly-D,L-Met dipeptide is oxidized to sulfoxide in the presence of gold(III), and no coordination to the gold(III) centre through the S atom of the sulfoxide is observed. In view of these findings, the reported coordination of gold(III) by sulfur in methionine-containing peptides (Ivanova & Mitewa, 2004) requires verification, preferably by crystallographic methods. We have also demonstrated that the crystallization process is partially stereoselective and leads to a substantial excess of one of the two possible diastereoisomers differing in the configuration at the triply bonded S atom.

Experimental

Distilled water was demineralized and purified to a resistance greater than $10 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. All common chemicals were of reagent grade and were used without further purification. The title compound was obtained by mixing together in water equimolar amounts of $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich) and glycyl-D,L-methionine (Sigma) in the pH range 1.5–2.0 (achieved by adding a few drops of nitric acid) at room temperature. The resulting solution was filtered and the filtrate left to stand at room temperature, allowing crystals of (I) to precipitate. These crystals were filtered off and dried. Elemental microanalysis was performed by the Microanalytical Laboratory, Faculty of Chemistry, University of Belgrade. Analysis found: C 15.31, H 2.70, N 4.96, S 5.52%; $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{AuCl}_4\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ requires: C 14.96, H 2.69, N 4.98, S 5.71%; yield ca 40%. Not all products present in the reaction mixture have been identified, but deposits of metallic gold were clearly visible on the walls of the reaction vessel.

The ^1H NMR spectrum of a D_2O solution of (I) containing TSP (sodium trimethylsilylpropane-3-sulfonate) as the internal reference was recorded with a Varian Gemini 200 spectrometer; δ (p.p.m.): 3.91 (Gly CH_2 , s), 2.71 (Met δCH_3 , s), ~ 2.40 (Met βCH_2 , m), ~ 3.00 (Met γCH_2 , m). As the chemical shift of the singlet of the Gly-Met methyl H atoms is 2.11 p.p.m., the observed very intense singlet at 2.71 p.p.m. was assigned to the methyl H atoms of the Gly-Met sulfoxide. The remaining part of the ^1H NMR spectrum resembled that of the Gly-Met dipeptide measured under the same experimental conditions. That the singlet at 2.71 p.p.m. belongs to the methyl H atoms of the Gly-Met sulfoxide was confirmed by measuring the ^1H NMR spectrum for the pure dimethyl sulfoxide in D_2O in acidic solution.

In order to verify whether the presence of nitric acid could have played a role in the oxidation of methionine, the whole synthetic procedure has been repeated using hydrochloric acid instead of nitric acid. On the basis of ^1H NMR and preliminary X-ray data, the reaction product has been identified as that obtained in the presence of nitric acid.

Table 1
Selected torsion angles ($^\circ$).

C2–N2–C3–C5	113.2 (5)	C2–N2–C3'–C5'	112.4 (11)
N2–C3–C5–C6	–60.0 (6)	N2–C3'–C5'–C6'	–69.7 (17)
C3–C5–C6–S1	–68.1 (5)	C3'–C5'–C6'–S1'	–164.6 (15)
C5–C6–S1–O7	–70.3 (5)	O7'–S1'–C6'–C5'	62 (2)
C5–C6–S1–C7	–177.5 (5)	C7'–S1'–C6'–C5'	169.1 (18)

Table 2
Hydrogen-bond geometry (\AA , $^\circ$).

$D-H \cdots A$	$D-H$	$H \cdots A$	$D \cdots A$	$D-H \cdots A$
N1–H11N \cdots Cl2 ⁱ	0.91	2.69	3.476 (4)	145
N1–H11N \cdots Cl3 ⁱⁱ	0.91	2.78	3.392 (3)	126
N1–H12N \cdots O7 ⁱⁱⁱ	0.91	2.05	2.881 (7)	151
N1–H13N \cdots O2 ^{iv}	0.91	2.07	2.811 (4)	137
N1–H13N \cdots O3 ^v	0.91	2.44	2.942 (5)	115
N2–H2N \cdots Cl2 ^{vi}	0.88	2.80	3.493 (4)	136
N2–H2N \cdots Cl4 ^{vi}	0.88	2.88	3.604 (4)	141
O4–H4O \cdots O7 ^{vii}	0.84	1.75	2.585 (7)	170

Symmetry codes: (i) $-x, -y + 1, -z$; (ii) $x - 1, y, z$; (iii) $x, y + 1, z$; (iv) $-x, -y + 1, -z + 1$; (v) $-x + 1, -y + 1, -z + 1$; (vi) $-x + 1, -y + 1, -z$; (vii) $-x + 1, -y, -z + 1$.

Crystal data

$(\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4\text{S})[\text{AuCl}_4]$	$\gamma = 92.001 (4)^\circ$
$M_r = 562.04$	$V = 795.46 (8) \text{\AA}^3$
Triclinic, $P\bar{1}$	$Z = 2$
$a = 7.6250 (5) \text{\AA}$	Mo $K\alpha$ radiation
$b = 10.2576 (4) \text{\AA}$	$\mu = 10.06 \text{ mm}^{-1}$
$c = 10.7160 (7) \text{\AA}$	$T = 130 \text{ K}$
$\alpha = 95.281 (4)^\circ$	$0.30 \times 0.20 \times 0.03 \text{ mm}$
$\beta = 107.222 (6)^\circ$	

Data collection

Kuma KM-4 CCD κ -geometry diffractometer	5656 measured reflections
Absorption correction: multi-scan (CrysAlis RED; Oxford Diffraction, 2007)	2756 independent reflections
$T_{\min} = 0.092, T_{\max} = 1.000$	2650 reflections with $I > 2\sigma(I)$
	$R_{\text{int}} = 0.015$

Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.016$	34 restraints
$wR(F^2) = 0.042$	H-atom parameters constrained
$S = 1.12$	$\Delta\rho_{\text{max}} = 0.53 \text{ e \AA}^{-3}$
2756 reflections	$\Delta\rho_{\text{min}} = -0.91 \text{ e \AA}^{-3}$
201 parameters	

The hydroxy H atom was positioned using the HFIX 147 facility in *SHELXL97* (Sheldrick, 2008). The other H atoms were also positioned geometrically and refined using the riding-model technique, with the following distance constraints: tertiary C–H = 1.00 \AA , secondary C–H = 0.99 \AA , methyl C–H = 0.98 \AA , ammonium N–H = 0.91 \AA , peptide N–H = 0.88 \AA and hydroxy O–H = 0.84 \AA . $U_{\text{iso}}(\text{H})$ values were set at $1.2U_{\text{eq}}(\text{parent})$ or $1.5U_{\text{eq}}(\text{parent})$ for methyl and ammonium groups. The side chain of the methionine sulfoxide was found to be disordered over two sites, representing stereoisomers differing in the configuration at the triply-bonded S atom (R_S or S_S). The occupancy factors were first refined freely with their sum constrained to unity. For the reference molecule, possessing an S configuration at the peptide C^α atom, the values refined to 0.77 and

0.23 for the unprimed (R_S) and primed (S_S) fragments, respectively. These values were kept fixed at the final stages of the refinement. As the investigated crystal is centrosymmetric, it contains equal numbers of molecules possessing an R configuration at the peptide C^α atom, for which the ratio of R_M, S_S and R_M, R_S isomers is of course the same, *i.e.* 77:23. For the major component, all non-H atoms were refined anisotropically, while for the minor component only the S atom was refined anisotropically. The remaining non-H atoms ($C3'$, $C5'$, $C6'$, $C7'$ and $O7'$) were given a common isotropic displacement parameter which refined to a value of $0.037(3) \text{ \AA}^2$. For the disordered fragment, which involves atoms C3, C5, C6, C7, O7 and S1 and their primed equivalents, the following restraints were applied to bond distances: $C-N = S=O = 1.49(2) \text{ \AA}$, $C-C = 1.53(2) \text{ \AA}$ and $C-S = 1.81(2) \text{ \AA}$. The 1,3-distances were set as follows: $C \cdots S$ and $C \cdots C$ in the methylsulfinyl fragment to $2.75(2) \text{ \AA}$, and to $2.52(2) \text{ \AA}$ in the remainder of the disordered fragment; $C \cdots N$ to $2.47(2) \text{ \AA}$; $C \cdots O(\text{carbonyl})$ to $2.39(2) \text{ \AA}$; $C \cdots O(\text{hydroxy})$ to $2.58(2) \text{ \AA}$; $C \cdots O(\text{sulfoxide})$ to 2.66 \AA .

In order to evaluate whether the stereoselectivity was maintained across the crystalline bulk, we performed a data collection and an X-ray analysis for another crystal selected from the same sample. For the second data set, the obtained ratio of $S_M, R_S:R_M, S_S: S_M, S_S:R_M, R_S$ stereoisomers was 70:70:30:30. The ^1H NMR spectrum does not provide any evidence of the presence of diastereoisomers in solution.

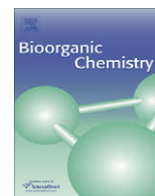
Data collection: *CrysAlis CCD* (Oxford Diffraction, 2007); cell refinement: *CrysAlis RED* (Oxford Diffraction, 2007); data reduction: *CrysAlis RED*; program(s) used to solve structure: *SHELXS86* (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 2008); molecular graphics: *Stereochemical Workstation Operation Manual* (Siemens, 1989) and *Mercury* (Bruno *et al.*, 2002); software used to prepare material for publication: *SHELXL97*.

This work was funded in part by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (project No. 142008).

Supplementary data for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: SQ3231). Services for accessing these data are described at the back of the journal.

References

- Bernstein, J., Davis, R. E., Shimoni, L. & Chang, N.-L. (1995). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34**, 1555–1575.
- Bondi, A. (1964). *J. Phys. Chem.* **68**, 441–452.
- Bouroush, P., Bologa, O., Simonov, Y., Gerbeleu, N., Lipkowski, J. & Gdaniec, M. (2007). *Inorg. Chim. Acta*, **360**, 3250–3254.
- Bruhn, C., Gravenhorst, O., Wagner, C. & Steinborn, D. (1999). *Acta Cryst. C* **55**, 1255–1257.
- Bruno, I. J., Cole, J. C., Edgington, P. R., Kessler, M., Macrae, C. F., McCabe, P., Pearson, J. & Taylor, R. (2002). *Acta Cryst. B* **58**, 389–397.
- Freeman, W. A. (1977). *Acta Cryst. B* **33**, 191–194.
- Hoshi, T. & Heinemann, H. (2001). *J. Physiol.* **531**, 1–11.
- Isab, A. A. & Sadler, P. J. (1977). *Biochim. Biophys. Acta*, **492**, 322–330.
- Ivanova, B. B. & Mitewa, M. I. (2004). *J. Coord. Chem.* **57**, 217–221.
- Ling, E. C. H., Allen, G. W. & Hambley, T. W. (1993). *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* pp. 3705–3710.
- Natile, G., Bordignon, E. & Cattalini, L. (1976). *Inorg. Chem.* **15**, 246–248.
- Oxford Diffraction (2007). *CrysAlis CCD* and *CrysAlis RED*, including *ABSPACK*. Oxford Diffraction Ltd, Abingdon, Oxfordshire, England.
- Schimansky, A., Freisinger, E., Erxleben, A. & Lippert, B. (1998). *Inorg. Chim. Acta*, **283**, 223–232.
- Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst. A* **64**, 112–122.
- Siemens (1989). *Stereochemical Workstation Operation Manual*. Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Vujačić, A. V., Savić, J. Z., Sovilj, S. P., Szécsényi, M. K., Todorović, N., Petković, M. Ž. & Vasić, V. M. (2009). *Polyhedron*, **28**, 593–599.
- Witkiewicz, P. L. & Shaw, C. F. III (1981). *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* pp. 1111–1112.



A comparative study of complex formation in the reactions of gold(III) with Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His dipeptides

Biljana Đ. Glišić, Snežana Rajković, Marija D. Živković, Miloš I. Djuran *

Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P.O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 January 2010

Available online 15 March 2010

Keywords:

Gold(III) complexes
Peptides
NMR spectroscopy
Glycine
L-Alanine
L-Histidine

ABSTRACT

Proton NMR spectroscopy was applied to study the reactions of the dipeptides glycyl-glycine (Gly-Gly) and glycyl-L-alanine (Gly-L-Ala) with hydrogen tetrachloridoaurate(III) ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$). All reactions were performed at pH 2.0 and 3.0 and at 40 °C. The final products in these reactions were $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}1},\text{N}_{\text{G}2},\text{O}_{\text{G}2})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$ complexes. Tridentate coordination of the corresponding dipeptides and square-planar geometry of these Au(III) complexes was confirmed by NMR (^1H and ^{13}C) spectroscopy. This study showed that at $\text{pH} < 3.0$ the Au(III) ion was able to deprotonate the amide nitrogen atom. However this displacement reaction was very slow and the total concentration of the corresponding Au(III)-peptide complex formed after 5 days was less than 60% for the Gly-L-Ala or 70% for the Gly-Gly dipeptide. The kinetic data of the reactions between the Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides and $[\text{AuCl}_4]^-$ were compared with those for the histidine-containing Gly-L-His dipeptide. The differences in the reactivity of these three dipeptides with the Au(III) ion are discussed.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Interest in Au(III) reactions with amino acids, peptides and proteins arises after it was proposed that Au(III) produced from Au(I) drugs might be involved in the toxic side-effects encountered in chrysotherapy [1–4]. In spite of these findings only a few investigations have been performed on the reactions of Au(III) with amino acids and peptides, and most of these investigations have focused on the sulfur-containing amino acids cysteine and methionine [5–13]. It was shown that Au(III) can oxidize the thiols to disulfides [5,6], can cleave the disulfide bond of cystine to give the sulfonic acid [5–8] and can oxidize the sulfur of methionine stereospecifically to the sulfoxide [9–13]. The structural consequences of these reactions can play an important role in the toxicity of Au(III), which precludes its use in chrysotherapy. The oxidation of protein disulfides by Au(III) will disrupt the secondary and tertiary structure of a protein, altering and probably preventing its normal biological function [7,8]. In fact, a recent survey of enzyme inhibition by Au complexes show Au(III) to be a much more potent inhibitor than Au(I) at equimolar concentrations [1]. However, from the current state of the art, it is surprising that investigations of the interactions of Au(III) with histidine-containing and other peptides are rather limited. Only three crystal structures of Au(III)-peptide complexes have been described previously: those of the

dipeptides glycyl-L-histidine (Gly-L-His), $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{H}},\text{N}3)\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [14] and $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{H}},\text{N}3)]_4\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ [14] and glycyl-glycyl-L-histidine (Gly-Gly-L-His), $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}\kappa^4\text{N}_{\text{G}1},\text{N}_{\text{G}2},\text{N}_{\text{H}},\text{N}3)]\text{Cl}\cdot \text{H}_2\text{O}$ [15]. These complexes crystallized from a 1:1 reaction mixture at low pH (1.5–2.0) and their square-planar geometries were determined by X-ray analyses. From these investigations, it was found that the Au(III) ion has the capacity to deprotonate the histidine amide nitrogen in strong acidic solutions. NMR investigations of the reactions of the tripeptide glycyl-glycyl-glycine (Gly-Gly-Gly) with $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ complex showed that this complex at $\text{pH} > 5.0$ binds to the terminal amino nitrogen atom of this peptide [2]. No evidence was found for the involvement of the ether carboxyl or deprotonation of the amide nitrogen atom of the Gly-Gly-Gly tripeptide. The formation of the mononuclear Au(III)-peptide complexes, $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-L-Ala-}\kappa^4\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}1},\text{N}_{\text{A}2},\text{O}_{\text{A}2})]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, was observed in the reactions of the L-alanine-containing peptides, glycyl-L-alanine (Gly-L-Ala) and glycyl-L-alanyl-L-alanine (Gly-L-Ala-L-Ala), with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ [16].

In view of the possible involvement of Au(III) in the immunological side-effects of Au therapy, further work on Au(III)-peptide interactions may help to improve the understanding of the immunochimistry of gold drugs. In light this statement, the present paper deals with a comparative study of the reactions between three dipeptides, glycyl-glycine (Gly-Gly), glycyl-L-alanine (Gly-L-Ala) and glycyl-L-histidine (Gly-L-His) with hydrogen tetrachloridoaurate(III) ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$) at pH 2.0 and 3.0 and at 40 °C.

* Corresponding author. Fax: +381 34 335 040.
E-mail address: djuran@kg.ac.rs (M.I. Djuran).

2. Experimental

2.1. Reagents

Distilled water was demineralized and purified to a resistance greater than $10 \text{ M } \Omega \text{ cm}^{-1}$. The compounds D_2O , DCl, KOD and $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ were obtained from the Aldrich Chemical Co. The dipeptides, glycyl-glycine (Gly-Gly), glycyl-L-alanine (Gly-L-Ala) and glycyl-L-histidine (Gly-L-His) were obtained from the Sigma Chemical Co. All common chemicals were of reagent grade.

2.2. Reactions of Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$

The reactions of Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ were followed by ^1H NMR spectroscopy. Equimolar amounts of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ and dipeptide were mixed in an NMR tube with 40 mM initial concentration of both reactants. All reactions were performed at two different pH values, pH 2.0 and 3.0, and at 40 °C. Attempts to obtain crystallized Au(III)-dipeptide complexes for the reactions of Gly-Gly and Gly-L-Ala with $[\text{AuCl}_4]^-$ were unsuccessful and the $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$ complexes, as the final products in these reactions, were characterized by application of NMR (^1H and ^{13}C) spectroscopy.

2.3. Measurements

All pH measurements were made at room temperature. The pH meter (Iskra MA 5704) was calibrated with a Fischer certified buffer solution of pH 4.0. The results were not corrected for the deuterium isotope effect.

The ^1H and ^{13}C NMR spectra of D_2O solutions containing TSP (sodium trimethylsilylpropane-3-sulfonate) as the internal reference were recorded on a Varian Gemini 200 spectrometer.

2.4. Kinetics

All rate constants were obtained from ^1H NMR measurements. The reactions of Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ were realized in NMR tubes at 25 °C in $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ DCl in D_2O as solvent. The required dipeptide and $[\text{AuCl}_4]^-$ were mixed in a 1:1 M ratio with 40 mM initial concentrations of both reactants and a final volume of 0.6 cm^3 . The reaction of Gly-L-His with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ was investigated previously and the final product of this reaction, the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{H}},\text{N}_3)\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ complex, was characterized by X-ray crystallography [14]. In the present study, this reaction was investigated to compare its rate constant with those for the reactions of Gly-Gly and Gly-L-Ala with $[\text{AuCl}_4]^-$. The values of the rate constants for these reactions were determined when the data from the early part of the reactions (up to 3 h) were fitted to a second-order process [17] by plotting $x/a_0(a_0 - x)$ against t (where a_0 is the initial concentration of the free dipeptide and x is the concentration of the corresponding Au(III)-peptide complex containing tridentate coordinated Gly-Gly, Gly-L-Ala or Gly-L-His dipeptide at time t).

3. Results and discussion

3.1. NMR (^1H and ^{13}C) characterization of the Au(III)-dipeptide complexes

The reactions between two dipeptides, glycyl-glycine (Gly-Gly) and glycyl-L-alanine (Gly-L-Ala), and hydrogen tetrachloridoaurate(III) ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$) were studied by ^1H NMR spectroscopy. All reactions performed at two different pH values (pH 2.0 and 3.0) and at

40 °C. The formations of the Au(III)-peptide complexes containing tridentate coordinated Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides were observed; see Fig. 1. The characterization of the $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$ complexes, as the major products in these reactions, was realized by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy; see Tables 1 and 2. From the obtained spectroscopic data, it was concluded that coordination of these dipeptides to Au(III) ion occurred through the nitrogen atom of the terminal amino group, the deprotonated peptide nitrogen and the oxygen atom of the carboxyl group. The NMR data of the $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$ complexes indicate that the fourth coordination place in these square-planar complexes is a monodentate coordinated ligand, preferably chloride ion. From Tables 1 and 2, it can be seen that all ^1H and ^{13}C NMR resonances of $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-}$

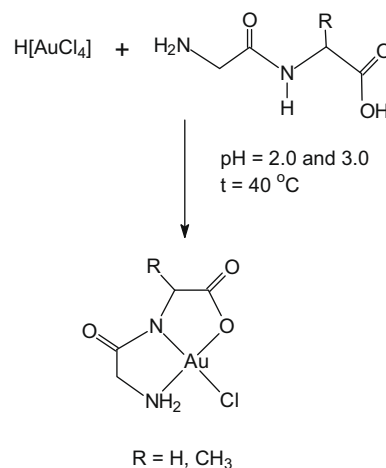


Fig. 1. Schematic representation for the reaction of Gly-Gly and Gly-L-Ala with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$.

Table 1

Proton NMR chemical shifts (δ , ppm) for the Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides and the corresponding Au(III)-peptide complexes, $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$, at pH 3.0 in D_2O as solvent with TSP as the internal standard^a.

Peptide/complex	Gly-Gly	$[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$	Gly-L-Ala	$[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$
<i>Protons</i>				
Gly1CH ₂	3.89 (s)	3.96 (s)	3.84 (s)	3.90 (s)
Gly2CH ₂	4.07 (s)	4.26 (s)		
Ala α CH			4.08 (q)	4.15 (q)
Ala β CH ₃			1.40 (d)	1.44 (d)

^a s = singlet; d = doublet; q = quartet.

Table 2

^{13}C NMR chemical shifts (δ , ppm) for the Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides and the corresponding Au(III)-peptide complexes, $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$, at pH 3.0 in D_2O as solvent with TSP as the internal standard.

Peptide/complex	Gly-Gly	$[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$	Gly-L-Ala	$[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$
<i>Carbon atoms</i>				
Gly1CH ₂	43.44	49.95	43.33	49.99
Gly2CH ₂	45.79	50.25		
Gly1CO	170.00	176.06	169.06	175.99
Gly2COO	178.75	188.16		
Ala α CH			54.01	58.06
Ala β CH ₃			20.00	22.34
AlaCOO			182.78	188.60

Ala- κ^3N_G, N_A, O_A)Cl] complexes with respect to those for the free Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides were shifted downfield. These shifts between the NMR resonances of the Au(III) complexes and free dipeptides were caused by tridentate coordination of the dipeptides to Au(III) ion. Downfield shifting of the 1H NMR resonances was observed previously for Gly-Gly-L-His upon its tetradentate coordination in the $[Au(Gly-Gly-L-His-\kappa^4N_{G1}, N_{G2}, N_H, N3)]Cl \cdot H_2O$ complex [15]. Moreover, shifting of the 1H NMR resonances between peptide and the corresponding Au(III) complex were also observed in the reaction of Gly-L-Ala with $[AuCl_4]^-$ at pH 4.0 [16]. The coordination of Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides to Au(III) ion is a slow process and the rate of this reaction depends on pH (Fig. 2). When the reaction between these peptides and $H[AuCl_4]$ was performed at pH > 3.0 (pH 4.0 and 5.0), reduction of Au(III) occurred during time. This reduction process was much faster at higher pH values and the complete reaction mixture was dark from elemental Au(0) at pH 5.0 after 12 h at 40 °C.

3.2. Reaction of Gly-Gly with $[AuCl_4]^-$

The time dependence of the formation of the $[Au(Gly-Gly-\kappa^3N_{G1}, N_{G2}, O_{G2})Cl]$ complex in the reaction between Gly-Gly and $H[AuCl_4]$ at the pH 2.0 and 3.0 and at 40 °C was monitored by 1H NMR spectroscopy; see Fig. 3a. The resonances at 3.89 ppm of the Gly1CH₂ and at 4.07 ppm of the Gly2CH₂ protons for the free peptide decreased and new resonances at 3.96 and 4.26 ppm, due to these protons for the tridentate coordinated peptide, increased with reaction time. The reaction was followed for 5 days and during this time the amount of $[Au(Gly-Gly-\kappa^3N_{G1}, N_{G2}, O_{G2})Cl]$ complex was calculated from the integral value of the signals for Gly1CH₂ and Gly2CH₂ protons of the free Gly-Gly and the corresponding values of these protons due to the tridentate coordinated peptide. The total amount of $[Au(Gly-Gly-\kappa^3N_{G1}, N_{G2}, O_{G2})Cl]$ complex formed after 5 days of reaction was 70%. The rate constant for this reaction was determined when the data from the early part of the reaction (up to 3 h) were fitted to a second-order process [17] by plotting $x/a_0(a_0 - x)$ vs. t (where a_0 is the initial concentration of Gly-Gly and x is the concentration of $[Au(Gly-Gly-\kappa^3N_{G1}, N_{G2}, O_{G2})Cl]$ at time t), yielding a rate constant of $(1.63 \pm 0.07) \times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$ (Table 3).

3.3. Reaction of Gly-L-Ala with $[AuCl_4]^-$

The reaction between Gly-L-Ala and $[AuCl_4]^-$ was performed under the same experimental conditions as those for Gly-Gly.

The formation of the $[Au(Gly-L-Ala-\kappa^3N_G, N_A, O_A)Cl]$ complex is evident from the simultaneous decline of the singlet at 3.84 ppm and the doublet at 1.40 ppm, arising from the GlyCH₂ and Ala β CH₃ protons of the free Gly-L-Ala dipeptide, respectively, and the growth of the singlet at 3.90 ppm for GlyCH₂ and the doublet at 1.44 ppm for Ala β CH₃, corresponding to the tridentate coordinated Gly-L-Ala dipeptide; see Fig. 3b. The total amount of the $[Au(Gly-L-Ala-\kappa^3N_G, N_A, O_A)Cl]$ complex formed after 5 days of reaction was 55%. The concentration of the $[Au(Gly-L-Ala-\kappa^3N_G, N_A, O_A)Cl]$ complex with time was determined from the integral values of the signals at 3.84 and 3.90 ppm for GlyCH₂ protons of the free and coordinated Gly-L-Ala dipeptide, respectively (Fig. 3b). The second-order rate constant (k_2) for this reaction $((0.71 \pm 0.06) \times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$; see Table 3), was obtained by applying the method previously explained for the reaction of Gly-Gly with $[AuCl_4]^-$ [17].

3.4. Comparative study of the reactivity of Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His dipeptides with $[AuCl_4]^-$

In the reactions of Gly-Gly and Gly-L-Ala with $[AuCl_4]^-$ at pH 2.0 and 3.0 and at 40 °C, two Au(III)-peptide complexes, $[Au(Gly-Gly-\kappa^3N_{G1}, N_{G2}, O_{G2})Cl]$ and $[Au(Gly-L-Ala-\kappa^3N_G, N_A, O_A)Cl]$, were formed (Fig. 1). The NMR (1H and ^{13}C) investigations (Tables 1 and 2) of these reactions showed that the Au(III) ion was capable of displacing the amide proton of the peptide bond under the above-mentioned experimental conditions. However, when the reactions of these two peptides with $[AuCl_4]^-$ were performed at pH > 3.0, the dominant process was the reduction of the Au(III) ion. The rate constant for the Au(III)-dipeptide complex formation in the reaction of Gly-Gly with $[AuCl_4]^-$ was found to be approximately two times higher than that for the reaction of the Gly-L-Ala dipeptide (Table 3). The difference in the reactivity between these two dipeptides can be attributed to the steric hindrance of the methyl group of L-alanine. The rate constants of Au(III)-peptide complex formation for the reactions between Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides and $[AuCl_4]^-$ were compared with that for the reaction of the histidine-containing Gly-L-His dipeptide and $[AuCl_4]^-$; see Table 3. The Gly-L-His and $[AuCl_4]^-$ were reacted in a 1:1 M ratio at pH 3.0 and at room temperature and time dependence of the formation of the $[Au(Gly-L-His-\kappa^3N_G, N_H, N3)Cl]^+$ complex [14] was monitored from the integral values of the 1H NMR resonances at 3.78 and 3.98 ppm due to the Gly protons of the free and coordinated Gly-L-His dipeptide, respectively. The second-order rate constant for this reaction $((124.00 \pm 0.30) \times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$; see Table 3) was

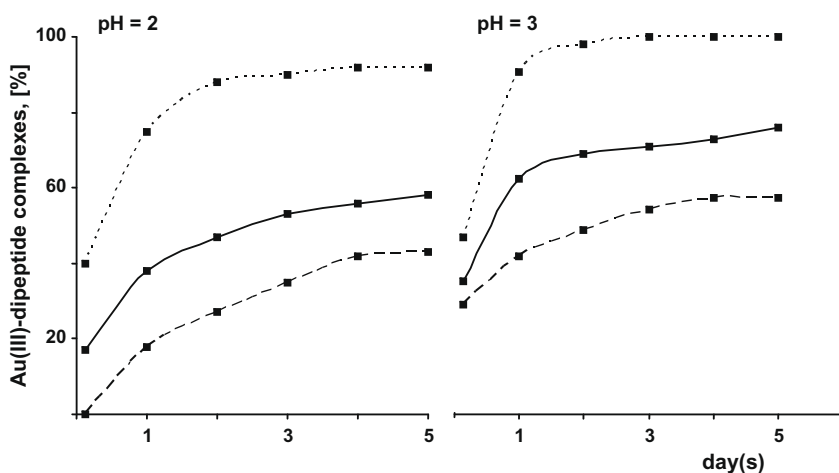


Fig. 2. Dependence of the formation of the $[Au(Gly-Gly-\kappa^3N_{G1}, N_{G2}, O_{G2})Cl]$, $[Au(Gly-L-Ala-\kappa^3N_G, N_A, O_A)Cl]$ and $[Au(Gly-L-His-\kappa^3N_G, N_H, N3)Cl]^+$ complexes on the pH in the reactions of Gly-Gly (—), Gly-L-Ala (---) and Gly-L-His (···) with $H[AuCl_4]$ at 40 °C.

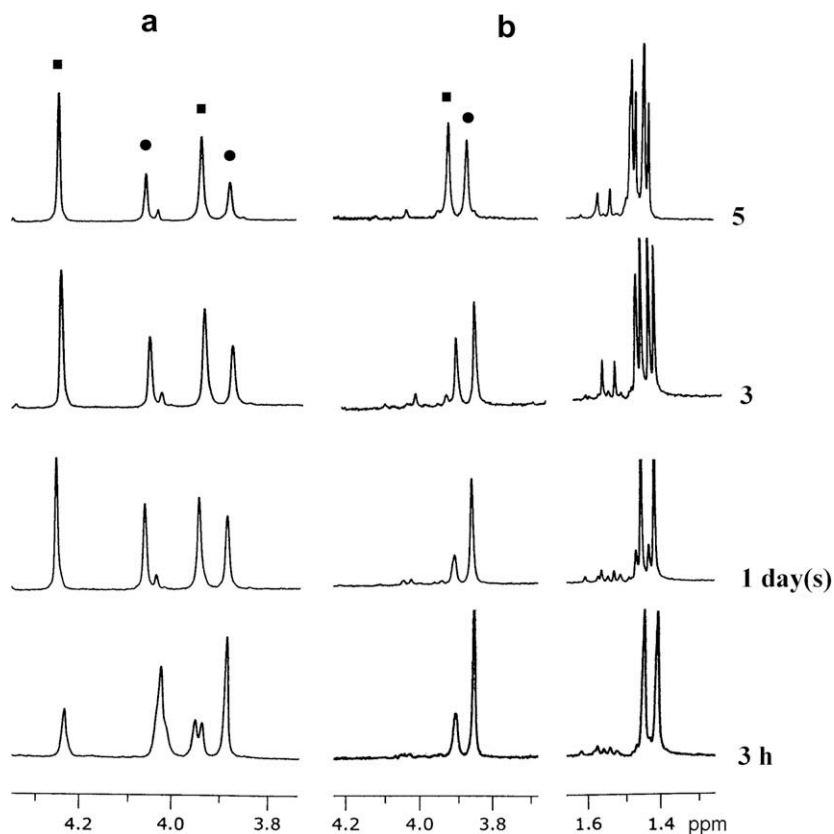


Fig. 3. Parts of the ^1H NMR spectra during the reaction of Gly-Gly (a) and Gly-L-Ala (b) with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ as a function of time at pH 3.0 and at 40°C in D_2O as solvent with TSP as the standard. Resonances are indicated as follows: (a) Gly-Gly + $\text{H}[\text{AuCl}_4]$, (●) Gly1CH₂ at 3.89 and Gly2CH₂ at 4.07 ppm of the free dipeptide; (■) Gly1CH₂ at 3.96 and Gly2CH₂ protons at 4.26 ppm of the $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$ complex; (b) Gly-L-Ala + $\text{H}[\text{AuCl}_4]$, (●) GlyCH₂ at 3.84 ppm of the free dipeptide and (■) GlyCH₂ at 3.90 ppm of the $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$ complex.

Table 3

Second-order rate constants (k_2) of the formation of Au(III)–peptide complexes for the reactions of Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His with $[\text{AuCl}_4]^-$ at 25°C in 1×10^{-3} M DCl in D_2O as solvent.

Reactions	$k_2 \times 10^{-7} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
$\text{Gly-L-Ala} + \text{H}[\text{AuCl}_4] \rightarrow [\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$	0.71 ± 0.06
$\text{Gly-Gly} + \text{H}[\text{AuCl}_4] \rightarrow [\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$	1.63 ± 0.07
$\text{Gly-L-His} + \text{H}[\text{AuCl}_4] \rightarrow [\text{Au}(\text{Gly-L-His-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{H}},\text{N3})\text{Cl}]$	124.00 ± 0.30

obtained by applying the same methods as those previously explained for the reaction of Gly-Gly or Gly-L-Ala with $[\text{AuCl}_4]^-$. From Table 3, it can be seen that these three dipeptides differed greatly in their reactivity with the Au(III) ion. The difference in the reactivity of these three dipeptides with the Au(III) ion is also clearly demonstrated in Fig. 2, which shows the time dependence of the formation of the Au(III)–peptide complex for the reactions of Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ at pH 2.0 and 3.0 and at 40°C . From this figure, it is obvious that the concentrations of the Au(III)–peptide complexes formed during time were different. Difference in the yield for these three complexes, $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-}\kappa^3\text{N}_{\text{G1}},\text{N}_{\text{G2}},\text{O}_{\text{G2}})\text{Cl}]$, $[\text{Au}(\text{Gly-L-Ala-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{A}},\text{O}_{\text{A}})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{H}},\text{N3})\text{Cl}]^+$, as well as difference in the reactivity of the corresponding dipeptides with Au(III) ion, can be attributed to the fact that the N3 nitrogen atom in the imidazole ring of the Gly-L-His dipeptide is a much stronger nucleophile than the other donor atoms present in the none histidine-containing dipeptides, Gly-Gly and Gly-L-Ala. The binding of Au(III) ion to the N3 nitrogen atom is the rate determining step in the formation of the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}\kappa^3\text{N}_{\text{G}},\text{N}_{\text{H}},\text{N3})\text{Cl}]^+$ complex. The N3-anchored Au(III) ion showed itself to be very effective in displacing of the

amide proton and next step of this reaction was the very fast coordination of this metal ion to the deprotonated nitrogen atom of the amide bond and to the terminal amino group as the final step of the reaction, leading to the tridentate coordination of this peptide. Finally, from the present study it can be concluded that in acidic solution the histidine-containing Gly-L-His dipeptide is a better chelating ligand for Au(III) ion than the Gly-Gly and Gly-L-Ala dipeptides. This chelation reaction can contribute to the stabilization of the Au(III) oxidation state and to its protection from further reduction process, which easily occurs in the reactions of Au(III) with sulfur-containing peptides [5–13].

Acknowledgment

This work was funded in part by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project No. 142008).

References

- [1] C.F. Shaw III, *Inorg. Perspect. Biol. Med.* 2 (1979) 287–355.
- [2] S.L. Best, P.J. Sadler, *Gold Bull.* 29 (1996) 87–93.
- [3] C.F. Shaw III, *Chem. Rev.* 99 (1999) 2589–2600.
- [4] C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, *Gold Bull.* 40 (2007) 73–88.
- [5] D.H. Brown, W.E. Smith, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* 209 (1983) 401–418.
- [6] W.E. Smith, J. Reglinski, *Perspect. Bioinorg. Chem.* 1 (1991) 183–208.
- [7] C.F. Shaw III, M.P. Cancro, P.L. Witkiewicz, J.E. Eldridge, *Inorg. Chem.* 19 (1980) 3198–3201.
- [8] P.L. Witkiewicz, C.F. Shaw III, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1981) 1111–1114.
- [9] E. Bordignon, L. Cattalini, G. Natile, A. Scatturin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1973) 878–879.
- [10] G. Natile, E. Bordignon, L. Cattalini, *Inorg. Chem.* 15 (1976) 246–248.

- [11] A.A. Isab, P.J. Sadler, *Biochim. Biophys. Acta* 492 (1977) 322–330.
- [12] A.V. Vujačić, J.Z. Savić, S.P. Sovilj, K. Mészáros Szécsényi, N. Todorović, M.Ž. Petković, V.M. Vasić, *Polyhedron* 28 (2009) 593–599.
- [13] U. Rychlewska, B. Warżajtis, B.Đ. Glišić, S. Rajković, M.I. Djuran, *Acta Cryst. C66* (2010) m51–m54.
- [14] M. Wienken, B. Lippert, E. Zangrando, L. Randaccio, *Inorg. Chem.* 31 (1992) 1983–1985.
- [15] S.L. Best, T.K. Chattopadhyay, M.I. Djuran, R.A. Palmer, P.J. Sadler, I. Sóvágó, K. Várnagy, *J. Chem Soc., Dalton Trans.* (1997) 2587–2596.
- [16] Ts. Kolev, B.B. Koleva, S.Y. Zareva, M. Spiteller, *Inorg. Chim. Acta* 359 (2006) 4367–4376.
- [17] K.J. Laidler, *Chemical Kinetics*, third ed., Harper & Row, New York, 1987. p. 22.

Monocationic gold(III) Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptide complexes: crystal structures arising from solvent free and solvent-containing crystal formation and structural modifications tuned by counter-anions†

Urszula Rychlewska,^a Beata Warzajtis,^a Biljana Đ. Glišić,^b Marija D. Živković,^b Snežana Rajković^b and Miloš I. Djuran^{*b}

Received 18th March 2010, Accepted 18th June 2010

DOI: 10.1039/c0dt00163e

Monocationic gold(III) complexes with histidine-containing peptides, glycyl-L-histidine (Gly-L-His) and L-alanyl-L-histidine (L-Ala-L-His) have been synthesized and characterized by ¹H NMR spectroscopy and X-ray crystallography. The crystallized Au(III) complexes, [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O, were obtained from water solution at pH < 1.0. The chemical shifts in the ¹H NMR spectra of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complexes were compared with those for the corresponding Pd(II) complexes and for Pd(II) and Au(III) complexes with Gly-Gly-L-His tripeptide. Crystal data for the hydrated [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O complex and its serendipitously obtained unhydrated form were compared with previously reported X-ray data for the hydrated chloride complex [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]Cl·3H₂O and with the analogous, though uncharged, Pd(II) and Pt(II) complexes. Furthermore, in the present study the crystal structure of the nitrate salt of Au(III) complex with L-Ala-L-His dipeptide, [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O has been determined.

Introduction

The chemistry of gold and its coordination complexes has recently undergone an explosive growth.¹ While in the past research on the formation of gold complexes has been supported by a number of chemical industries in order to maximise the recovery and purification of gold by the mining industry,² more recently, the discovery of the anticancer properties of cisplatin initiated an interest in the area of the interaction of gold(III) with bioligands^{3a-c} because of the potential uses of gold(III) compounds as antitumour agents^{4a-i} and as luminescent metallointercalators.⁵ Au(III) is isoelectronic with Pt(II) and forms structurally similar complexes, however in comparison with Pt(II) complexes, Au(III) analogues turned out to be relatively unstable and light sensitive,⁶ and undergo easy reduction to Au(I) or metallic gold.⁷ In order to enhance the stability of the Au(III) complexes, multidentate ligands such as polyamines, cyclam, terpyridine, phenanthroline, amino acids and peptides that form tridentate *N*-chelates have been utilized.¹ Despite that, data present in the literature are scarce, probably as a consequence of the high reactivity of Au(III) complexes. There are only a few reports of reactions of Au(III) with amino acids, and these have focused on the sulfur-containing amino acids, namely cyst(e)ine and methionine.^{8a-h} Also lacking is the crystallographic information probably due to intrinsic difficulties in obtaining

crystals suitable for X-ray analysis. The very few crystal structures of Au(III)-peptide complexes so far reported include the complexes [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]Cl·3H₂O and [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]₄·10H₂O,⁹ the former of which contains the dipeptide ligand coordinated through the amino, amidate (deprotonated peptide) and imidazole nitrogen atoms with the carboxylic acid group uncoordinated and the latter of which is tetrameric and contains the dipeptide ligand coordinated through the amino, amidate and imidazolate (bridging) groups with the carboxylate group uncoordinated. In the tripeptide complex [Au(Gly-Gly-L-His-*N,N',N'',N'''*)Cl]·H₂O, the Au(III) is bound to the amino, two amidate and imidazole nitrogen atoms.¹⁰ With regards to the cytotoxic properties of these complexes, chloridoglycylhistidine Au(III) complex was reported to display promising chemical and biological properties.¹¹ This Au(III) peptide complex manifested a far higher cytotoxic activity than its Zn(II), Pd(II), Pt(II) and Co(II) analogues, proving that the Au(III) centre has a crucial role in determining the pharmacological effects.^{4e}

Recently in our laboratory, NMR spectroscopy (¹H and ¹³C) was applied to study the complex formation in the reactions of the dipeptides Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His with H[AuCl₄].¹² All reactions were performed at the pH interval 2.0–5.0 and at 40 °C. This study showed that the tridentate coordination of the corresponding dipeptides with square-planar geometry of Au(III) complexes was the dominant process in investigated reactions. When the reaction between these dipeptides and H[AuCl₄] was performed at pH > 3.0, reduction of Au(III) occurred during time. This reduction process was much faster at higher pH values and complete reaction mixture was dark from elemental Au(0) at pH 5.0 after 12 h at 40 °C. Herein we report the syntheses and the crystal structures of two crystalline forms of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ hydrated and unhydrated, as well as [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complex. To our knowledge the

^aFaculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Grunwaldzka 6, 60-780, Poznań, Poland

^bDepartment of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P.O. Box 60, 34000, Kragujevac, Serbia. E-mail: djuran@kg.ac.rs; Tel: +381(34) 300 251; Fax: +381(34) 335 040.

† Electronic supplementary information (ESI) available: Selected bond distances and angles, hydrogen bond parameters and crystal packing diagrams. CCDC reference numbers 770509–770511. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c0dt00163e

latter complex is the first Au(III) complex with L-Ala-L-His so far structurally characterized by X-ray analysis.

Experimental

Materials

Distilled water was demineralized and purified to a resistance greater than 10 M Ω cm⁻¹. The compounds D₂O and H[AuCl₄] \cdot 3H₂O were obtained from the Aldrich Chemical Co. The dipeptides, glycyl-L-histidine (Gly-L-His) and L-alanyl-L-histidine (L-Ala-L-His) were obtained from the Sigma Chemical Co. All common chemicals were of reagent grade and used without further purification.

Syntheses of Au(III) complexes with Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptides

The Au(III) complexes with Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptides were synthesized according to the modified procedure published in the literature for preparation of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]Cl \cdot 3H₂O.⁹

[Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 2.5H₂O. The corresponding dipeptide (84.9 mg of Gly-L-His or 90.5 mg of L-Ala-L-His, 0.4 mmol) was dissolved in water (5 cm³) and the pH of the solution adjusted to 1.5 by addition of 1 M HNO₃. To this solution was added H[AuCl₄] \cdot 3H₂O (153.2 mg, 0.4 mmol) dissolved in 3 cm³ of water. The resulting solution was stirred in the dark at ambient temperature for 10 days. The Au(0) particles were filtered off and yellow filtrate was left standing at ambient temperature in the dark to slowly evaporate to a volume of 3 cm³. The concentrated solution (pH ~ 0.9) was then stored in a refrigerator and pale yellow crystals of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 2.5H₂O complexes were formed after 3–5 days. These were filtered off, washed twice with cold acetone, and dried in the dark at ambient temperature. Yield: 101.4 mg (48%) for Gly-L-His and 124.2 mg (55%) for L-Ala-L-His. Found: C 18.32, N 13.14, H 2.50%. [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 1.25H₂O, C₈H_{13.5}AuClN₅O_{7.25} (528.15) requires: C 18.19, N 13.26, H 2.58%. Found: C 19.05, N 12.18, H 3.27%. [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 2.5H₂O, C₉H₁₈AuClN₅O_{8.50} (564.70) requires: C 19.14, N 12.40, H 3.21%.

[Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃. The unhydrated crystals of the [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ complex were obtained by serendipity and, therefore, we were trying to establish the conditions at which these crystals grow. One possibility was to modify the pH of the solute. For this purpose, the Gly-L-His dipeptide (84.9 mg, 0.4 mmol) was dissolved in water and the pH of this solution was adjusted to 1.5 by addition of 1 M HNO₃. To this solution was added H[AuCl₄] \cdot 3H₂O (153.2 mg, 0.4 mmol) dissolved in 3 cm³ of water. The resulting solution was stirred in the dark at ambient temperature for 10 days and during this time the pH of the reaction mixture was kept at *ca.* 1.5 by means of 0.1 M KOH. Any colloidal gold formed was removed by filtration and yellow filtrate was left at ambient temperature to slowly evaporate to a volume of 3 cm³. The pH of the resulting solution was adjusted to 1.5 and then it was stored in a refrigerator overnight. The pale yellow crystals were filtered off,

washed with acetone and dried in the dark at ambient temperature. The preliminary X-ray investigations indicated that the newly formed crystals represent the hydrated form of the [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ complex. Hence, our only source of unhydrated [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ crystals remained the sample that, presumably, deteriorated after a long exposure to the air in darkness at room temperature. This, obviously, had a considerable impact on the quality of the collected X-ray data set. By carefully checking the samples under the microscope we have eliminated a possibility of the two modifications crystallizing concomitantly.

Measurements

All pH measurements were made at ambient temperature. The pH meter (Iskra MA 5704) was calibrated with Fischer certified buffer solution of pH 4.00. The ¹H NMR spectra of D₂O solutions containing TSP (sodium trimethylsilylpropane-3-sulfonate) as the internal reference were recorded with a Varian Gemini 200 spectrometer. The concentration of the solutions was 20 mM in each complex. The chemical shifts are reported in ppm, and the coupling constants (*J*) in Hz. Elemental microanalyses were performed by the Microanalytical Laboratory, Faculty of Chemistry, University of Belgrade.

Crystallographic data collection and refinement of the structures

The crystals of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 2.5H₂O complexes suitable for X-ray diffraction analysis were obtained by slow evaporation of water solution in the presence of nitric acid. The unhydrated crystalline form of the nitrate salt of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]⁺ complex has been obtained by serendipity, and despite many efforts we could not repeat the crystallization procedure that lead to the unhydrated form. The X-ray measurements have been performed for both forms. The most relevant crystal and refinement data are collected in Table 1. Single crystal X-ray diffraction data were collected on Xcalibur CCD κ -geometry diffractometer with a graphite monochromated Mo-K α radiation source. Data collection strategy was calculated with the program *CrysAlis CCD*.¹³ Data reduction and cell refinement were performed with the program *CrysAlis RED*.¹⁴ The intensity data were corrected for Lp effects. An absorption correction was applied using the algorithm as implemented in the program *CrysAlis RED*.¹⁴ The structures were solved by direct methods using *SHELXS86*¹⁵ and refined by least-squares techniques with *SHELXL97*.¹⁵ Anisotropic displacement parameters were employed for all non-hydrogen atoms. Restraints for the approximate isotropic behaviour were applied to the displacement parameters in both Au(Gly-L-His) crystal structures and to the atoms constituting the nitrate group in the [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 2.5H₂O crystal. In general, precision in the atomic and displacement parameters for the light atoms in these crystals has been hampered by weak diffraction of the monocrystals and by the presence of the heavy atom. The hydroxy H-atoms were positioned using facilities provided by *SHELXL97*; HFIX83 for [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ or HFIX147 for [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ \cdot 2.5H₂O, but water hydrogens have not been located. The positions of the remaining hydrogen atoms were calculated at standardized distances and were refined

Table 1 Crystallographic data collection and structure refinement information for Au(III) complexes

	[Au(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·1.25H ₂ O	[Au(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃	[Au(L-Ala-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·2.5H ₂ O
Crystal data			
Chemical formula	C ₈ H _{13.50} AuClN ₅ O _{7.25}	C ₈ H ₁₁ AuClN ₅ O ₆	C ₉ H ₁₆ AuClN ₅ O _{8.50}
<i>M</i> _r	528.15	505.63	564.70
m.p./°C	154–159	154–159	87
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic	Orthorhombic
Space group	<i>C</i> 2	<i>P</i> 2 ₁ 2	<i>P</i> 2 ₁ 2
<i>T</i> / <i>K</i>	295(2)	130(2)	295(2)
<i>a</i> /Å	24.5647(9)	16.9519(19)	18.0271(6)
<i>b</i> /Å	6.7463(2)	6.6137(7)	7.0547(2)
<i>c</i> /Å	17.7095(5)	12.0312(13)	13.5470(4)
<i>α</i> /°	90	90	90
<i>β</i> /°	91.215(3)	90	90
<i>γ</i> /°	90	90	90
<i>V</i> /Å ³	2934.17(16)	1348.9(3)	1722.85(9)
<i>D</i> _c	2.391	2.490	2.177
<i>Z</i>	8	4	4
<i>μ</i> /mm ⁻¹	10.26	11.14	8.74
Crystal size/mm	0.10 × 0.03 × 0.02	0.25 × 0.10 × 0.04	0.30 × 0.04 × 0.01
Data collection			
<i>R</i> [<i>F</i> ² > 2σ(<i>F</i> ²)]	0.040	0.054	0.027
w <i>R</i> (<i>F</i> ²)	0.060	0.130	0.063
<i>S</i>	0.77	1.18	0.97
No. of measured, independent and observed [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)] reflections	20 068, 5164, 3004	9819, 2376, 1761	24 860, 3048, 2502
<i>R</i> _{int}	9.3	6.6	5.2
Parameters, restraints	404, 277	190, 167	258, 62
Δ _{max} , Δ _{min} /e Å ⁻³	1.43, -1.04	2.98, -1.12	1.15, -0.44
Flack parameter	-0.021(11)	0.03(4)	-0.002(15)

using a riding model with the following distance constraints: tertiary C–H = 0.98 Å, secondary C–H = 0.97 Å, methyl C–H = 0.96 Å, imidazole C–H = 0.93 Å, amine N–H = 0.90 Å, imidazole N–H = 0.86 Å and hydroxy O–H = 0.82 Å. *U*_{iso}(H) values were set at 1.2 *U*_{eq}(parent) or 1.5 *U*_{eq}(parent) for methyl and hydroxyl groups. The nitrate group in [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O was found to be disordered over two sites. The occupancy factors for the two sites were first refined freely with their sum constrained to unity. At the final stages of the refinement these values were kept fixed at 0.56 and 0.44 for the major and minor component, respectively. Selected groups of atoms were subjected to weak geometric restraints (1,2 and 1,3, distances in glycine; imidazole ring of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃; nitrate groups in both [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O). The absolute structure of the crystals was assumed from the known absolute configuration of the dipeptides used in the synthesis and was confirmed by the Flack parameter.¹⁶ Figures were prepared using XP¹⁷ and Mercury¹⁸ programs.

Results and discussion

Two histidine-containing peptides, glycyl-L-histidine (Gly-L-His) and L-alanyl-L-histidine (L-Ala-L-His) were used for syntheses and structural characterization of Au(III) complexes. The corresponding peptide and H[AuCl₄]₃·H₂O were mixed in equimolar amounts in water at pH 1.5, achieved by adding a few drops of nitric acid, and at room temperature. These reactions were carried out for 10 days and during this time the pH of the reaction mixture dropped-down. Consequently the crystallized Au(III) complexes, [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and

[Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O, were obtained from water solution at pH < 1.0. The ¹H NMR spectroscopy was applied for structural characterization of these complexes and the obtained spectra were compared with those for corresponding Pd(II) complexes. The crystal structures for both hydrated [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and unhydrated [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃, and for [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complexes are reported.

¹H NMR spectral characterization of Au(III) complexes with Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptides

¹H NMR spectra of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complexes are shown in Fig. 1. The chemical shifts of these two complexes are reported in Table 2 and these data are compared with those for the corresponding Pd(II) complexes^{19a,b} and for Pd(II) and Au(III) complexes with Gly-Gly-L-His tripeptide.¹⁰ The imidazole ring of the histidine residue, with its two N3 and N1 nitrogen atoms,‡ has been shown to be a good metal-binding site in the reaction of histidine-containing peptides with Pt(II) and Pd(II) complexes.^{19b,20a–f} The chemical shifts of the C2H and C5H protons of imidazole ring showed to be very good indicating parameters for binding of the metal center to the N3 or N1 nitrogen atom.^{20a} It is well known that Pd(II) anchored to the N3 nitrogen atom in the histidine side chain is highly effective in displacing the amide proton and form very stable six-membered chelate ring.^{20d} The

‡ The numbering of the imidazole ring used in this section does not match the one applied in the X-ray studies, reported below.

Table 2 Proton NMR chemical shifts (δ , ppm) of histidine-containing peptides and corresponding Pd(II) and Au(III) complexes in D₂O. ¹H NMR spectra of Au(III) complexes with Gly-L-His and L-Ala-L-His were measured at pH = 2.4

Peptide/Complex	Imidazole protons		Chemical shifts of other protons
	C2H	C5H	
Gly-L-His	8.62	7.31	3.83 (GlyCH ₂) 4.63 (His α CH)
[Pd(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]·0.5(CH ₃) ₂ CO ^{19a}	7.92	7.04	3.35 (His β CH), 3.21 (His β' CH), $J_{AB} = 15.60$ Hz 3.52 (GlyCH ₂) 4.44 (His α CH)
[Au(Gly-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·1.25H ₂ O	8.56	7.31	3.32 (His β CH), 2.91 (His β' CH), $J_{AB} = 15.30$ Hz 4.06 (GlyCH), 3.96 (GlyCH'), $J_{AB} = 20.00$ Hz 4.69 (His α CH)
L-Ala-L-His	8.64	7.34	3.60 (His β CH), 3.11 (His β' CH), $J_{AB} = 15.90$ Hz 4.08 (Ala α CH), 1.53 (Ala β CH ₃) 4.64 (His α CH)
[Pd(L-Ala-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl] ^{19b}	7.92	7.04	3.40 (His β CH), 3.24 (His β' CH), $J_{AB} = 15.70$ Hz 3.65 (Ala α CH), 1.42 (Ala β CH ₃) 4.44 (His α CH)
[Au(L-Ala-L-His- <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·2.5H ₂ O	8.56	7.31	3.33 (His β CH), 2.93 (His β' CH), $J_{AB} = 16.00$ Hz 4.15 (Ala α CH), 1.56 (Ala β CH ₃) 4.66 (His α CH)
Gly-Gly-L-His ^a	8.20	7.11	3.58 (His β CH), 3.10 (His β' CH), $J_{AB} = 16.10$ Hz 3.86 (Gly1CH ₂) 3.98 (Gly2CH), 3.98 (Gly2CH'), $J_{AB} = 17.20$ Hz ^b 4.49 ^c (His α CH)
[Pd(Gly-Gly-L-His- <i>N,N',N'',N'''</i>)]1.5H ₂ O ^{d10}	7.60	6.97	3.21 ^e (His β CH), 3.06 ^e (His β' CH), $J_{AB} = 15.40$ Hz 3.63 (Gly1CH ₂) 3.91 (Gly2CH), 3.89 (Gly2CH') ^e , $J_{AB} = 18.90$ Hz 4.30 (His α CH)
[Au(Gly-Gly-L-His- <i>N,N',N'',N'''</i>)Cl]·H ₂ O ^{f10}	8.26	7.25	3.26 (His β CH), 2.75 (His β' CH), $J_{AB} = 15.20$ Hz 4.15 (Gly1CH ₂) 4.31 (Gly2CH), 4.25 (Gly2CH') ^e , $J_{AB} = 17.80$ Hz 4.52 (His α CH) 3.51 (His β CH), 2.98 (His β' CH), $J_{AB} = 15.80$ Hz

^a pH = 7.0. ^b Proton NMR coupling constants in Gly-Gly-L-His (in 90% H₂O–10% D₂O, pH = 3.1) [Pd(Gly-Gly-L-His-*N,N',N'',N'''*)]1.5H₂O (in D₂O, pH = 7.3) and [Au(Gly-Gly-L-His-*N,N',N'',N'''*)Cl]·H₂O (in D₂O, pH = 3.1). ^c Mean chemical shift value of splitting pattern. ^d pH = 7.0. ^e 500 MHz in 90% H₂O – 10% D₂O, pH = 6.9. ^f pH = 7.0.

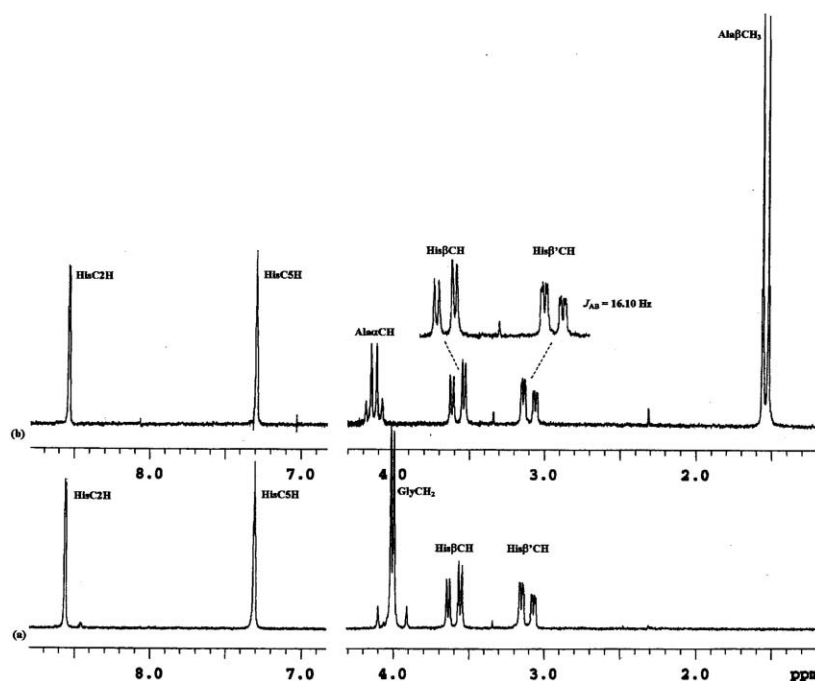


Fig. 1 ¹H NMR spectra of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O (a) and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O (b) complexes.

estimated pK_a for this reaction is *ca.* 2.0, and the displacement is observed even in solutions with $pH < 2.0$.^{20d,21a-f}

The ¹H NMR spectra of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complexes are very similar and these similarities are specially exhibited in the chemical shifts for the C5H and C2H imidazole protons; see Fig. 1 and Table 2. All Pd(II) and Au(III) complexes from Table 2 contain histidine-containing peptides coordinated through the N3 nitrogen atom of imidazole ring. The other coordination sites in these square-planar complexes are deprotonated amide nitrogen and terminal amino group. From Table 2 it can be seen that the C2H and C5H resonances of the imidazole are upfield shifted after peptide coordination through the N3 nitrogen atom of the imidazole to Pd(II). The higher field chemical shifts for the C2H ($\Delta\delta = 0.60\text{--}0.72$ ppm) with respect to the C5H proton ($\Delta\delta = 0.14\text{--}0.30$ ppm) result from the fact that this proton is closer to the N3 binding center. The resonances of the other protons for all investigated Pd(II) complexes are also upfield shifted with respect to those for the free histidine-containing peptide. It can be seen that this upfield shifting is different and strongly dependent on the nature of the proton and its distance from the Pd(II) binding nucleophile. Differences in the chemical shifts between the C2H and C5H imidazole protons for the Au(III) complexes and those for corresponding free histidine-containing peptides are not significant and they are much smaller in comparison with those for analogous Pd(II) complexes. The resonances of the C2H proton for the [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complexes with respect to those for corresponding free peptides are upfield shifted, $\Delta\delta$ 0.06 and 0.08 ppm, respectively, while for the C5H proton these resonances are almost on the same chemical shifts. However, in the case of [Au(Gly-Gly-L-His-*N,N',N'',N'''*)]Cl·H₂O complex the resonance of the C2H proton in relation to this for the free peptide is downfield shifted ($\Delta\delta$ 0.06 ppm). Also, the resonances of the other protons for all investigated Au(III) complexes listed in Table 2 in relation to those for the free peptide are slightly downfield shifted and the largest shift is observed for the terminal glycine protons ($\Delta\delta$ 0.29 ppm).

Crystal structures of Au(III) complexes with Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptides

Unlike the previously reported,⁹ all newly investigated Au(III) peptide complexes incorporate into the crystal lattice nitrate groups as counter-ions. The X-ray analyses have been carried out for two crystalline forms of Au(Gly-L-His) complex, *i.e.* hydrated [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and unhydrated [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃. Furthermore, we have determined the crystal structure of Au(III) complex with L-Ala-L-His dipeptide, [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O. The crystal structure of the hydrated chloride salt of the Au(III) complex with Gly-L-His has been reported previously,⁹ while the [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]⁺ complex cation has not been so far structurally characterized by X-ray analysis. Selected crystal data for the three investigated complexes are presented in Table 1.

The hydrated form of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ complex crystallizes with two crystallographically independent, though geometrically very similar, structural units ($Z' = 2$), while the other two crystals contain one formal molecule in the asymmetric

part of the unit cell ($Z' = 1$). All three types of crystals are chiral by virtue of the homochiral peptide linkers. The peptide Gly-L-His and L-Ala-L-His ligands exist as monoanions with the C- termini protonated and with single deprotonation of the peptide fragment. The existence of CO₂H group is, apart from NO₃⁻ being present in these crystals, also evident from the significantly different bond lengths between C=O(3) and C-OH(4). The Gly-L-His and L-Ala-L-His anions coordinate in the expected tridentate *N,N',N''* fashion. The [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]⁺ and the [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]⁺ complex cations, constituents of the corresponding hydrated complexes [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O and [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O, are illustrated in Fig. 2, while Table S1, included in ESI,[†] contains selected bond lengths and valence angles. Gold(III) is co-ordinated to the amino group of the glycylyl/alanyl residue, to the deprotonated amide nitrogen of the dipeptide, to the nitrogen atom of the imidazole ring and to the chloride ion. In its dipeptide complexes, Au(III) has a square-planar co-ordination geometry, with some marked deviations in angles about the metal caused by the bite of the tridentate peptide ligand. In all these structures the carboxyl group adopts an axial orientation with respect to the coordination plane. The imidazole rings are planar, but the five-membered glycylyl/alanyl rings deviate significantly from planarity: the average torsion angle magnitude in two independent complex cations of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O amounts to 20.3 and 13.1°, in the [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃ complex it is 19.9°, and in the [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complex it reaches the value of 17.1°. This is contrasted with the average value of 1.9° observed in [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]Cl·3H₂O, containing the chloride atom as a counter-ion.⁹ Hence, it seems as though the marked non-planarity of the glycylyl/alanyl rings might result from the presence of the nitrate, as opposed to the chloride, anions. The six-membered ring of the L-His entity represents a very distorted half-boat conformation with only C4 markedly out of the plane. The average endocyclic torsion angle magnitude for this ring amounts to 33.6 and 29.0° in two independent complex cations of [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O, 31.4° in its unhydrated analog, and 31.0° in the [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O complex, very much like in the previously reported⁹ [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]Cl·3H₂O, chloride complex where it amounts to 32.2°. The noteworthy distinction between the previously reported [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]Cl·3H₂O structure and the structures presented in this paper is that in all three investigated crystal structures the square-planar coordination of Au(III) is completed to an elongated octahedron by two more distant chloride ions belonging to the neighbouring complexes. In [Au(Gly-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·1.25H₂O crystal the Au'...Cl distances (primes designate the other crystallographically independent molecule) amount to 3.339(6) and 3.444(6) Å. The corresponding Au...Cl' dipoles are much longer (3.630(6) and 3.694(6) Å), and they are not parallel to the Au'...Cl dipoles. Hence, in this crystal structure the Au'...Cl interactions are involved in building solely the Cl...Au...Cl...Au... chain motif. At variance, in the unhydrated analogue and in the [Au(L-Ala-L-His-*N,N',N''*)Cl]NO₃·2.5H₂O crystal, the mutually antiparallel Au-Cl dipoles are involved in Au...Cl interactions which leads to the formation of the 1D ladder motif. The corresponding

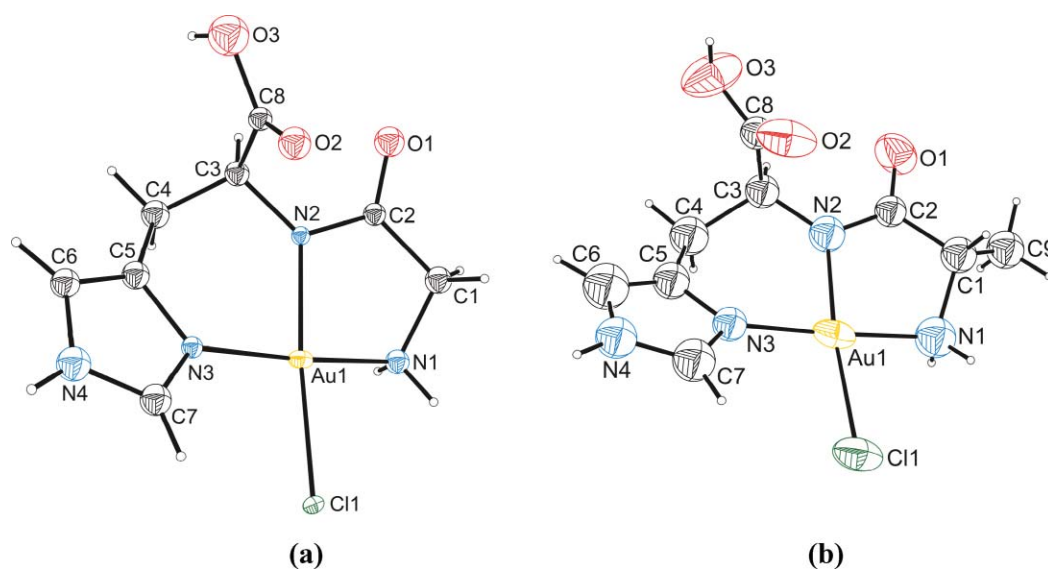


Fig. 2 Ellipsoid representation of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ (a) and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ (b) cations in the crystals of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ (only one of the two crystallographically independent molecules is presented) and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$. Displacement ellipsoids are drawn at 40% probability level. The hydrogen atoms are presented in an arbitrary scale.

distances amount to 3.163(6) and 3.489(6) Å ($[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$) and 3.479(3) and 3.654(3) Å ($[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$). Some of these values are slightly greater than the sum of the van der Waals radii of the two atoms (3.41 Å).²² The Au...Au separation within the chains/ladders varies from 4.044(2) to 4.401(1) Å. These chains/ladders extend along the crystallographic direction with a unit translation of about 7 Å, as illustrated in Fig. 3. Interestingly, such motifs are absent in the crystals of the chlorido complex $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$,⁹ where the closest Au...Au separation amounts to 6.453 Å. We have performed a survey of the literature *via* the Cambridge Crystallographic Data Base²³ in a search for this type of supramolecular motifs among various Au(III), Pd(II) and Pt(II) chlorido complexes. It turned out that in both crystal forms of neutral $[\text{Pd}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]$ complex^{19a,20e} the ladder motif is not present, although in one of these structures, *i.e.* $[\text{Pd}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}] \cdot 0.5(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ ^{19a} discrete Pd...Cl dimers around two-fold axis, with a Pd...Cl distance of 3.439 Å are observed. These Pd...Cl interactions complement the square-planar arrangement around Pd(II) into an elongated pyramid, at variance with an elongated octahedron formed in the crystal structures reported in this paper. The ladder motifs can be observed in neutral complexes of the type $[\text{PdL}_2\text{Cl}_2]$. However, the Pd...Cl distances are relatively long, ranging from 3.559 to 3.764 Å (the sum of the van der Waals radii of the two atoms is equal to 3.38 Å).²² Contrasted with this is the presence of the ladder motifs in various types of Au(III) complexes, *i.e.* $[\text{AuL}_2\text{Cl}_2]^+$, $[\text{AuLCl}_3]$ as well as $[\text{AuCl}_4]^-$. The Au...Cl distances range from 3.183 to 3.648 Å, being, in majority of cases, shorter than the analogous Pd...Cl distances. Rather unexpectedly, we were not able to find the analogous Pt...Cl interactions in any of the crystal structures deposited in the CSD. This might be an indication that Au...Cl interactions, which complement the square-planar arrangement of ligands around the metal centre into an elongated octahedron and lead to the formation of ladder motifs, are particularly favoured by Au(III) cations (see for example ref. 24a–c)

although in some cases the steric bulk of the organic ligand might shield the intermolecular Au...Au or Au...Cl contacts.^{24c}

Formation of Au...Cl ladder motifs leads to this type of packing in which the organic fragments are situated alternately on both sides of the ladder (Fig. 3). The dipeptide units, having their polar groups directed outwards, form hydrogen bonds with counter-ions and water molecules situated in between the ligand polar groups (the hydrogen-bond donor groups). The arrangement of water molecules and nitrate anions in the investigated crystal structures is illustrated in Fig. S1 in the ESI,[†] while the hydrogen bond parameters are listed in Table S2. In all presented crystal structures the imidazole NH group invariably acts as a donor to one or two oxygen atoms from the nitrate group, forming either two- or three-center N–H(imidazole)...O(nitrate) hydrogen bonds, while the carboxylate groups donate their protons either to the nitrate or water oxygen atoms. Except for the amine...amide hydrogen bonds, which are present in both crystal forms of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$, but not in the crystal of $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, no direct hydrogen bond linkage between complex cations is present: the complex cations are H-bonded *via* either water or nitrate molecules. Obviously, the hydrogen bonds to the nitrate groups are mediated by electrostatic interactions. At variance, in two crystal forms of neutral $[\text{Pd}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]$ complexes^{19a,20e} no cation...anion interactions exist, so the molecules are directly connected by a series of hydrogen bonds in which the amine and carboxylate groups donate their protons to the amide and carbonyl oxygen atoms of the neighbouring molecules or to the coordinated chloride ion. In these crystals, the closest Pd...Pd separation amounts to only 3.963 and 3.728 Å in monoclinic^{20e} and trigonal^{19a} forms, respectively.

Conclusions

It has been a primary objective of this work to synthesise and spectrally as well as structurally characterize Au(III) complexes

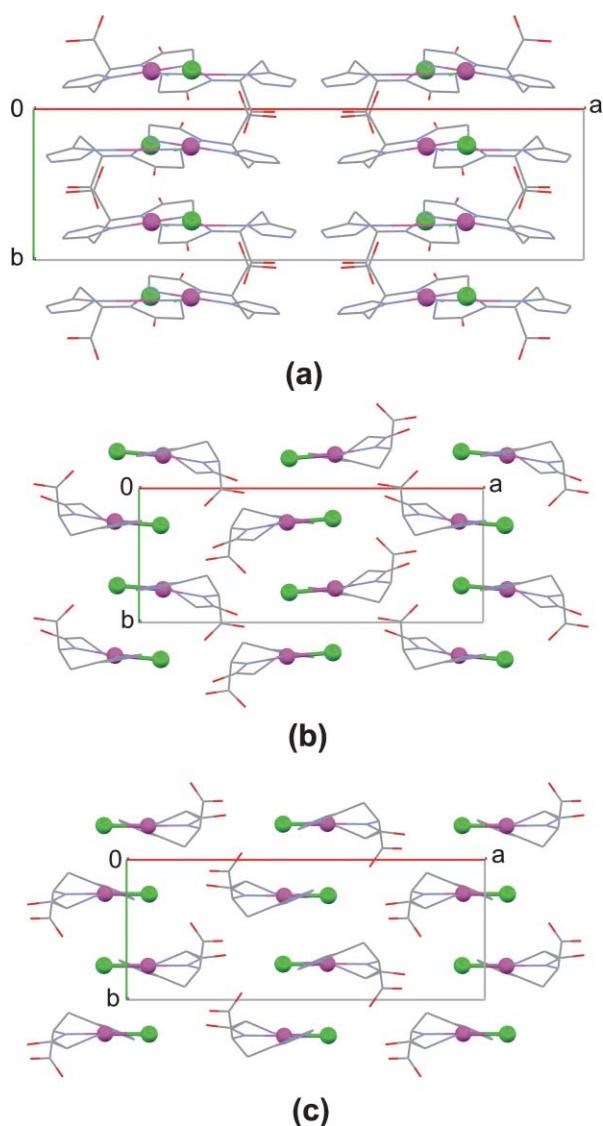


Fig. 3 The arrangement of Au–Cl dipoles (represented as balls and sticks) in hydrated (a) and unhydrated (b) crystal forms of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3$, and in $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ crystal (c). Such arrangement supplements the square-planar coordination around Au(III) to an elongated octahedron by two more distant chloride ions and leads to the formation of either chain (a) or ladder motifs (b and c) held together by $\text{Au} \cdots \text{Cl}$ interactions. Hydrogen atoms have been omitted for clarity.

with Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptides. The results of this study confirm that deprotonated peptide groups are potential coordinating sites for Au(III) in interactions of this metal ion with proteins particularly in the presence of other coordinating groups ('anchors') such as side chain donor atoms.

The most obvious difference with the previously reported metal complexes of this type, is the incorporation of nitrate groups as counter-ions into the crystal lattice. The nitrate salts display a tendency to associate with apparently prevailing $\text{Au} \cdots \text{Cl}$ interactions throughout the crystal, a feature not generally observed in chloride complexes of this type. The $\text{Au} \cdots \text{Cl}$ interactions supplement the square-planar coordination around Au(III) to an elongated octahedron by two more distant chloride ions. Hence,

our investigations point out that the mode of association of Au(III) dipeptide cations is dependent on the type of the counter-anion and is substantially different than that of platinum(II) and palladium(II) analogues which are of neutral charge.^{19a} This indicates that despite profound structural similarities, *i.e.* the preference for square planar coordination and d^8 electronic configuration, the supramolecular properties of Au(III) peptide complexes differ from those of Pt(II) and Pd(II) complexes.

Another manifestation of this difference is that Au(III) complexes display different ^1H NMR spectral properties than their Pd(II) analogues. Important modifications are detected in the characteristic ^1H NMR chemical shifts in Pd(II), while the spectra of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ are almost unaffected.

Acknowledgements

This work was funded in part by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project No. 142008).

References

- M. A. Cinellu, *Gold Chemistry, Applications and Future Directions in the Life Sciences*, ed. Fabian Mohr, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim, 2009, pp. 47–92.
- M. L. Williams, *Inflammopharmacology*, 2008, **16**, 110–111.
- (a) A. Bindoli, M. P. Rigobello, G. Scutari, C. Gabbiani, A. Casini and L. Messori, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 1692–1707; (b) L. Messori, G. Marcon, A. Innocenti, E. Gallori, M. Franchi and P. Orioli, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2005, **3**, 239–253; (c) G. Marcon, S. Carotti, M. Coronello, L. Messori, E. Mini, P. Orioli, T. Mazzei, M. A. Cinellu and G. Minghetti, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 1672–1677.
- (a) X. Wang and Z. Guo, *Dalton Trans.*, 2008, 1521–1532; (b) K. J. Kilpin and W. Henderson, *Chemistry in New Zealand*, 2009, **73**, 102–105; (c) R. W.-Y. Sun and C.-M. Che, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 1682–1691; (d) C. F. Shaw III, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2589–2600; (e) C. Gabbiani, A. Casini and L. Messori, *Gold Bull.*, 2007, **40**, 73–88; (f) L. Messori and G. Marcon, *Met. Ions Biol. Syst.*, 2004, **42**, 385–424; (g) L. Messori, G. Marcon and P. Orioli, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2003, **1**, 177–187; (h) E. R. T. Tiekink, *Gold Bull.*, 2003, **36**, 117–124; (i) C. X. Zhang and S. J. Lippard, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003, **7**, 481–489.
- H.-Q. Liu, T.-C. Cheung, S.-M. Peng and C.-M. Che, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1995, 1787–1788.
- S. Carotti, A. Guerri, T. Mazzei, L. Messori, E. Mini and P. Orioli, *Inorg. Chim. Acta*, 1998, **281**, 90–94.
- U. Rychlewska, B. Warżajtis, B. D. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 2010, **66**, m51–m54.
- (a) C. F. Shaw III, M. P. Cancro, P. L. Witkiewicz and J. E. Eldridge, *Inorg. Chem.*, 1980, **19**, 3198–3201; (b) P. L. Witkiewicz and C. F. Shaw III, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1981, 1111–1114; (c) D. H. Brown and W. E. Smith, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.*, 1983, **209**, 401–418; (d) W. E. Smith and J. Reglinski, *Perspect. Bioinorg. Chem.*, 1991, **1**, 183–208; (e) E. Bordignon, L. Cattalini, G. Natile and A. Scatturin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1973, 878–879; (f) G. Natile, E. Bordignon and L. Cattalini, *Inorg. Chem.*, 1976, **15**, 246–248; (g) A. A. Isab and P. J. Sadler, *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, **492**, 322–330; (h) A. V. Vujačić, J. Z. Savić, S. P. Sovilj, K. Mészáros Szécsényi, N. Todorović, M. Ž. Petković and V. M. Vasić, *Polyhedron*, 2009, **28**, 593–599.
- M. Wienken, B. Lippert, E. Zangrando and L. Randaccio, *Inorg. Chem.*, 1992, **31**, 1983–1985.
- S. L. Best, T. K. Chattopadhyay, M. I. Djuran, R. A. Palmer, P. J. Sadler, I. Sívágó and K. Várnagy, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1997, 2587–2596.
- S. Carotti, G. Marcon, M. Marussich, T. Mazzei, L. Messori, E. Mini and P. Orioli, *Chem.-Biol. Interact.*, 2000, **125**, 29–38.
- B. D. Glišić, S. Rajković, M. D. Živković and M. I. Djuran, *Bioorg. Chem.*, 2010, **38**, 144–148.

- 13 *CrysAlis CCD*. Oxford Diffraction Ltd, Abingdon, Oxford, England, 2007.
- 14 *CrysAlis RED, including ABSPACK*. Oxford Diffraction Ltd, Abingdon, Oxford, England, 2007.
- 15 G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, 2008, **64**, 112–122.
- 16 H. D. Flack, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, 1983, **39**, 876–881.
- 17 *Stereochemical Workstation Operation Manual*, Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1989.
- 18 I. J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edgington, M. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson and R. Taylor, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, 2002, **58**, 389–397.
- 19 (a) S. U. Milinković, T. N. Parac, M. I. Djuran and N. M. Kostić, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1997, 2771–2776; (b) M. I. Djuran and S. U. Milinković, *Monatsh. Chem.*, 1999, **130**, 613–622.
- 20 (a) T. G. Appleton, F. J. Pesch, M. Wienken, S. Menzer and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 1992, **31**, 4410–4419; (b) E. M. A. Ratilla, H. M. Brothers II and N. M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 4592–4599; (c) H. M. Brothers II and N. M. Kostić, *Inorg. Chem.*, 1988, **27**, 1761–1767; (d) H. Sigel and R. B. Martin, *Chem. Rev.*, 1982, **82**, 385–426; (e) M. Wienken, E. Zangrando, L. Randaccio, S. Menzer and B. Lippert, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1993, 3349–3357; (f) D. Shi, T. W. Hambley and H. C. Freeman, *J. Inorg. Biochem.*, 1999, **73**, 173–186.
- 21 (a) I. Sóvágó and R. B. Martin, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1981, **43**, 425–429; (b) L. Menabue, M. Saladini and M. Sola, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 1293–1295; (c) E. W. Wilson Jr. and R. B. Martin, *Inorg. Chem.*, 1971, **10**, 1197–1202; (d) S. Kasselouri, A. Garoufis, M. Lamera-Hadjiliadis and N. Hadjiliadis, *Coord. Chem. Rev.*, 1990, **104**, 1–12; (e) E. W. Wilson Jr. and R. B. Martin, *Inorg. Chem.*, 1970, **9**, 528–532; (f) J. P. Laussac, R. Haran and N. Hadjiliadis, *C. R. Acad. Sci., Ser. II*, 1985, **300**, 137–140.
- 22 A. Bondi, *J. Phys. Chem.*, 1964, **68**, 441–451.
- 23 F. Allen, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, 2002, **58**, 380–388.
- 24 (a) P. G. Jones and E. Bembenek, *Z. Kristallogr.*, 1993, 126–127; (b) W. Hiller and D. B. Dell'Amico, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1987, 1329–1332; (c) S. Schouteeten, O. R. Allen, A. D. Haley, G. L. Ong, G. D. Jones and D. A. Vici, *J. Organomet. Chem.*, 2006, **691**, 4975–4981.

A spectroscopic and electrochemical investigation of the oxidation pathway of glycyl-D,L-methionine and its *N*-acetyl derivative induced by gold(III)

Biljana Đ. Glišić · Snežana Rajković · Zorka D. Stanić · Miloš I. Djuran

Published online: 12 April 2011

© The Author(s) 2011. This article is published with open access at Springerlink.com

Abstract The ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy was applied to study the reaction of the dipeptide glycyl-D,L-methionine (H-Gly-D,L-Met-OH) and its *N*-acetylated derivative (Ac-Gly-D,L-Met-OH) with hydrogen tetrachloridoaurate(III) ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$). The corresponding peptide and $[\text{AuCl}_4]^-$ were reacted in 1:1, 2:1, and 3:1 molar ratios, and all reactions were performed at pH 2.45 in 0.01 M DCl as solvent and at 25°C. It was found that the first step of these reactions is coordination of Au(III) to the thioether sulfur atom with formation of the gold(III)-peptide complex $[\text{AuCl}_3(\text{R-Gly-Met-OH-S})]$ (R=H or Ac). This intermediate gold(III) complex further reacts with an additional methionine residue to generate the R-Gly-Met-OH chlorosulfonium cation as the second intermediate product, which readily undergoes hydrolysis to give the corresponding sulfoxide. The oxidation of the methionine residue in the reaction between H-Gly-D,L-Met-OH and $[\text{AuCl}_4]^-$ was five times faster ($k_2=0.363\pm 0.074 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) in comparison to the same process with *N*-acetylated derivative of this peptide ($k_2=0.074\pm 0.007 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). The difference in the oxidation rates between these two peptides can be attributed to the free terminal amino group of H-Gly-D,L-Met-OH dipeptide. The mechanism of this redox process is discussed and, for its clarification, the reaction of the H-Gly-D,L-Met-OH dipeptide with $[\text{AuCl}_4]^-$ was additionally investigated by UV-Vis and cyclic voltammetry techniques. From these measurements, it was shown that the $[\text{AuCl}_2]^-$ complex under these experimental conditions has a strong tendency to disproportionate, forming $[\text{AuCl}_4]^-$ and metallic gold. This study contributes to a better understanding of the

mechanism of the Au(III)-induced oxidation of methionine and methionine-containing peptides in relation to the severe toxicity of anti-arthritic and anticancer gold-based drugs.

Keywords Glycyl-D,L-methionine · Gold(III)-induced oxidation · ^1H NMR · UV-Vis · Cyclic voltammetry · Gold-based drugs

Introduction

The clinical use of gold compounds, chrysotherapy, is an accepted part of modern medicine [1–4]. Injectable gold(I) thiolates, such as sodium aurothiomalate, aurothioglucose, and aurothiopropanol sulfonate, and the oral drug auranofin are used clinically against rheumatoid arthritis [1–4]. A large number of gold(I) compounds have also been tested for antitumor activity against various cancerous cell lines [5–9]. A wide variety of phosphinegold(I) thiolates display significant cytotoxicity in vitro [10, 11]. Gold(III) complexes, isostructural and isoelectronic with platinum(II), have also been evaluated as potential candidates for cancer treatment. In comparison to Pt(II) complexes, Au(III) analogs are relatively unstable, light-sensitive [12], and easily reducible, which makes them less effective [13] and probably more toxic as metal-based drugs. However, in recent years, new gold(III) compounds were synthesized, characterized, and shown to have appreciable stability under physiological conditions [14]. In order to enhance the stability of the gold(III) center, polydentate ligands, such as polyamines, cyclam, terpyridine, phenanthroline, and dithiocarbamates, were used [13–16]. Some of these gold(III) complexes displayed in vitro cytotoxicity comparable or even higher than cisplatin toward several human tumor cell lines resistant to cisplatin [11, 16–22].

B. Đ. Glišić · S. Rajković · Z. D. Stanić · M. I. Djuran (✉)
Department of Chemistry, Faculty of Science,
University of Kragujevac,
R. Domanovića 12, P.O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia
e-mail: djuran@kg.ac.rs

The clinical application of gold complexes is limited because of severe toxicity such as blood disorders and kidney damage [23]. It was suggested that Au(III) produced from Au(I) drugs might be responsible for the toxic side effects encountered in chrysotherapy [20, 23–25]. Strong oxidants, which can oxidize Au(I) to Au(III), are potentially available in vivo in inflammatory situations [26, 27]. Anti-arthritic gold(I) drugs can be oxidized to Au(III) by the hypochlorite ion generated from H_2O_2 and Cl^- in the presence of the enzyme myeloperoxidase, which is produced and released by phagocytic cells [27]. Au(III) is very short-lived in the presence of different biomolecules because it can rapidly oxidize them, thereby being reduced to Au(I). It has been known for some time that Au(III) can oxidize thiols to disulfides [28, 29], cleave the disulfide bond of cystine to give the sulfonic acid [28–31], oxidize dialkyl sulfides to sulfoxide [32], the sulfur atom of the amino acid methionine stereospecifically to methionine-sulfoxide [33–37], and can desulfonate thioamides [38]. The structural consequences of these reactions can play an important role in the toxic side effects of gold-based drugs.

Previous kinetics studies of the reaction between $[\text{AuCl}_4]^-$ and amino acid L-methionine provide evidence that this reaction occurred in two stages [34, 35]. Very fast substitution of one chloride ion in $[\text{AuCl}_4]^-$ complex by a methionine molecule was followed by slow reduction of this intermediate Au(III)–methionine complex with formation of the methionine-sulfoxide and Au(I) species as the final products of this reaction. Although the oxidation of amino acid methionine by Au(III) ion has been extensively investigated, the mechanism of the redox process is not yet completely understood. In order to gain more information on the mechanism of methionine oxidation with gold(III) ion in the present study, special attention was paid to the identification of intermediate and final products for the reactions of glycyl-D,L-methionine dipeptide and its *N*-acetylated derivative with hydrogen tetrachloridoaurate(III).

Experimental

Materials

Tetrachloridoaurate(III) acid ($\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), the dipeptide glycyl-D,L-methionine (H-Gly-D,L-Met-OH), and deuterium oxide (99.8 %) were obtained from the Sigma-Aldrich Chemical Co. Hydrochloric acid and potassium chloride were obtained from Zorka Pharma, Šabac. All the employed chemicals were of analytical reagent grade, and doubly distilled water was used throughout. The terminal amino group in the H-Gly-D,L-Met-OH dipeptide was acetylated by a standard method [39].

^1H NMR spectroscopy

All the ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded on a Varian Gemini 2000 spectrometer (200 MHz) using 5-mm NMR tubes. Sodium trimethylsilylpropane-3-sulfonate (TSP) was used as an internal reference. The ^1H NMR spectra were acquired using the WATERGATE sequence for water suppression. Typical acquisition conditions were as follows, 90° pulses, 24,000 data number points, 4 s acquisition time, 1 s relaxation delay, collection of 16–128 transients, and final digital resolution of 0.18 Hz per point. All the NMR spectra were processed using the Varian VNMR software (version 6.1, revision C). The chemical shifts are reported in parts per million (ppm).

The NMR samples were prepared in 0.01 M DCl in D_2O as solvent, and the total volume was 600 μl . Fresh solutions of dipeptide and $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ were prepared separately and then mixed in different molar ratios (1:1, 2:1, and 3:1) at room temperature. The initial concentration of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ was 20 mM. All rate constants were obtained from ^1H NMR measurements. The values of the rate constants for the reactions between equimolar amounts of $[\text{AuCl}_4]^-$ and R-Gly-D,L-Met-OH dipeptide (R=H or Ac) were determined when the data from the reactions were fitted to a second-order process [40] by plotting $x/a_0(a_0-x)$ against t (where a_0 is the initial concentration of the R-Gly-D,L-Met-OH dipeptide and x is the concentration of the corresponding sulfoxide at time t).

UV-Vis spectrophotometry

The ultraviolet-visible (UV-Vis) spectra were recorded on a Perkin Elmer Lambda 35 double-beam spectrophotometer equipped with thermostated 1.00-cm quartz Suprasil cells. Stock solutions of $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and dipeptide were prepared directly before use in 0.01 M HCl (pH 2.00). H-Gly-D,L-Met-OH and $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ were mixed in 1:1, 2:1, and 3:1 molar ratios, respectively, at room temperature, with the concentration of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ in the final solution being 5×10^{-5} M. The kinetic measurements were made by repetitively scanning the spectra at set time intervals over the wavelength range 200–500 nm. Data were collected and analyzed using Origin 6.1 and Microsoft Office Excel 2003 programs.

Voltammetric measurements by cyclic voltammetry

Cyclic voltammetric (CV) measurements were performed with an Autolab potentiostat (PGSTAT 302 N). The working electrode for the cyclic voltammetric measurements was glassy carbon (GC) with 3 mm inner and 9 mm outer diameter of the PTFE sleeve. Prior to use, the GC electrode was wet-polished on an Alpha A

polishing cloth (Mark V Lab) with successively smaller particles (0.3- and 0.05- μm diameter) of alumina. The electrode was washed twice with doubly distilled water and then with the background electrolyte solution. The washed electrode was then placed into a voltammetric cell with supporting electrolyte solution. The reference electrode was a saturated calomel electrode type 401 (Radiometer, Copenhagen), and the counter electrode was a platinum wire.

Stock solutions of $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and the dipeptide were prepared just before use by dissolving $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and H-Gly-D,L-Met-OH in 0.01 M HCl, which were then diluted with 0.01 M HCl to give the working solutions. The required amount of the dipeptide and $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ were mixed in different molar ratios (1:1, 2:1, and 3:1, respectively) with the final concentration of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ being 1.05 mM. The supporting electrolyte used to perform the cyclic voltammetric experiments was 0.04 M NaCl at pH 2.00. The time interval between two consecutive voltammograms was 30 s. The measurements were realized in the background electrolyte (pH 2.00) at a scan rate of 0.070 V s^{-1} . The conditions were the following, $E_{\text{begin}}=0.0 \text{ V}$, $E_{\text{end}}=1.5 \text{ V}$, and $E_{\text{step}}=0.003 \text{ V}$. All experiments were performed at room temperature and repeated at least three times. The data were collected and analyzed using the Origin 6.1 program.

pH measurements

All pH measurements were made at room temperature. The pH meter (Iskra MA 5704) was calibrated with a Fischer-certified buffer solution of pH 4.00. Reported pD values were corrected for the deuterium isotopic effect by adding 0.45 units to the pH meter reading [41].

Results and discussion

The reactions between H-Gly-D,L-Met-OH or Ac-Gly-D,L-Met-OH, and $[\text{AuCl}_4]^-$ were studied by ^1H NMR spectroscopy, and in addition of this study, the reaction of H-Gly-D,L-Met-OH with $[\text{AuCl}_4]^-$ was investigated by UV-Vis and CV techniques. All reactions were performed at pD

2.45 in 0.01 M DCl (or pH 2.00 in 0.01 M HCl) as solvent and at 25°C . Differences in the reactivity between these two dipeptides were compared in order to investigate the influence of the terminal amino group of glycine on the rate of oxidation of the methionine residue. All reactions were carried out in different molar ratios (peptide, gold(III)= 1:1, 2:1, and 3:1, respectively), and for each case, the reaction mixture was kept at pH 2.00 in order to suppress, or minimize, hydrolysis of $[\text{AuCl}_4]^-$ anion that was reported to be completed at pH 3.80 [42]. However, in our case, hydrolytic products of $[\text{AuCl}_4]^-$ followed by very fast reduction of gold (III) to Au(0) appeared at $\text{pH}\geq 3.00$.

The reaction of $[\text{AuCl}_4]^-$ with an equimolar amounts of H-Gly-D,L-Met-OH and Ac-Gly-D,L-Met-OH dipeptides

When an equimolar amount of $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ was incubated with the corresponding R-Gly-D,L-Met-OH dipeptide (R=H or Ac) under the above-mentioned conditions, three NMR detectable products were observed in solution in the first 3 min of the reaction (Fig. 1). The time dependence of the formation of the products in this reaction is shown in Fig. 2. The major product obtained in a yield of 52% was H-Gly-Met-OH sulfoxide and 47% for Ac-Gly-Met-OH sulfoxide (product 3; Fig. 1), formed by the oxidation of the corresponding dipeptides with $[\text{AuCl}_4]^-$. The resonance at 2.71 ppm was assigned to the methyl protons of product 3, which is in agreement with those previously reported for $[\text{H-Gly-Met-OH sulfoxide}]^+[\text{AuCl}_4]^-$ characterized by ^1H NMR spectroscopy and X-ray crystallography [37].

The other two products 1 and 2 in Fig. 1, observed in the first 3 min of the reaction, were intermediate species. Product 1 resulted from the coordination of Au(III) to the thioether sulfur with formation of the gold(III)–peptide complex $[\text{AuCl}_3(\text{R-Gly-Met-OH-S})]$. This intermediate gold(III) complex further reacts with an additional methionine residue to generate Au(I) complex and intermediate species 2 which readily undergoes hydrolysis yielding to the corresponding sulfoxide 3 as the final product in this investigated reaction. The reaction pathway for the present investigation reaction (see Fig. 1) is thus similar to that

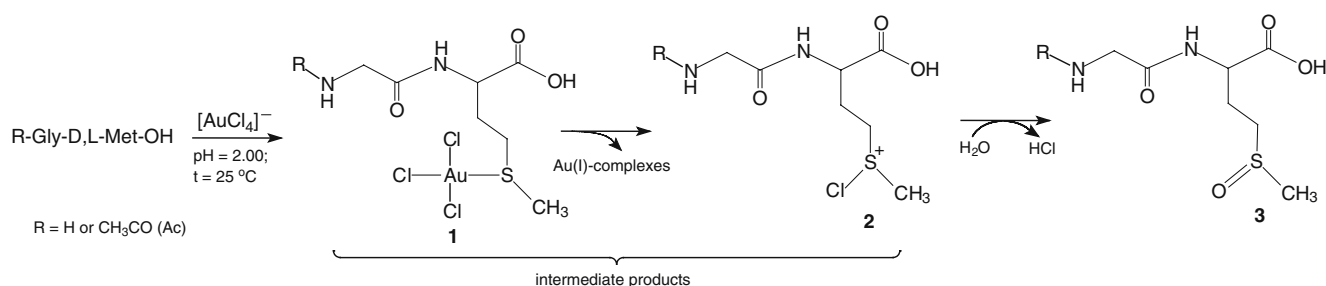
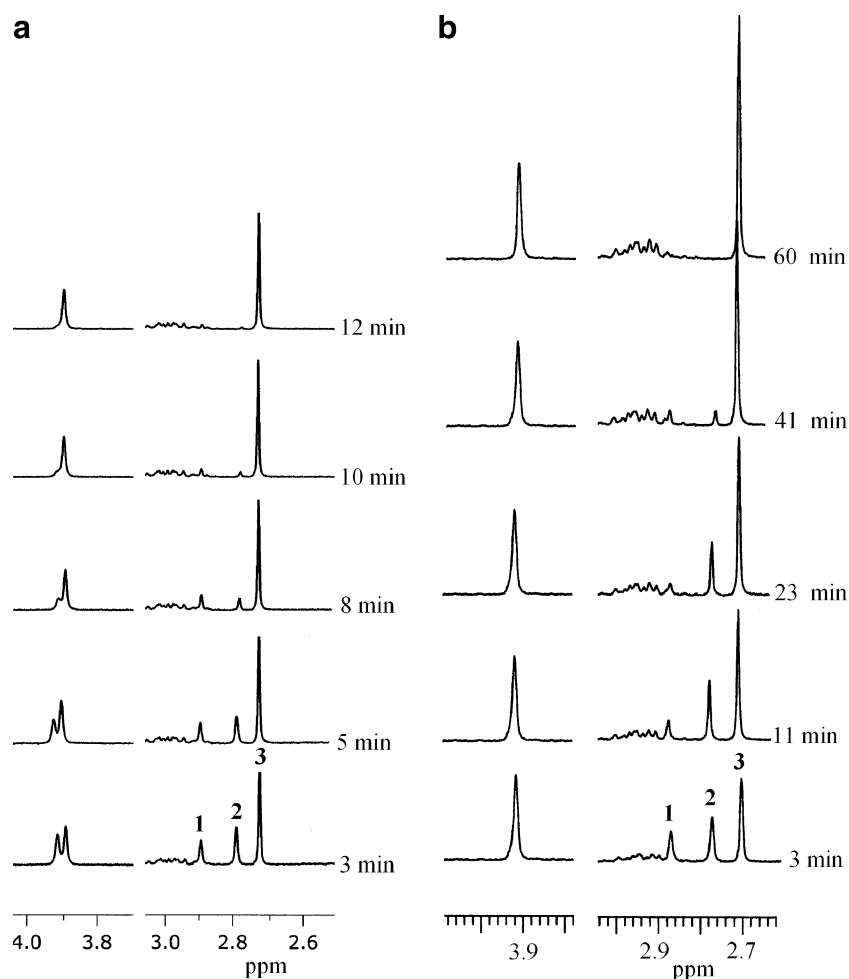


Fig. 1 Schematic presentation of the oxidation reaction of H-Gly-D,L-Met-OH and Ac-Gly-D,L-Met-OH in the presence of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$

Fig. 2 Parts of the ^1H NMR spectra during the reaction of H-Gly-D,L-Met-OH (**a**) and Ac-Gly-D,L-Met-OH (**b**) with an equimolar amount of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ as a function of time at pD 2.45 and at 25°C in 0.01 M DCl in D_2O as solvent with TSP as the internal standard. The resonances at 2.89, 2.79, and 2.71 ppm are assigned for the $\text{S}-\text{CH}_3$ protons of the products 1, 2, and 3, respectively



operative in the oxidation of organic sulfides with bromine, resulting in the corresponding sulfoxides [43, 44]. Furthermore, the same reaction mechanism was suggested by Natile et al. in the kinetic study of the reduction gold(III) to gold(I) by dialkyl sulfides in aqueous methanol solution [32]. The formations of products 1 and 2 are evident in the ^1H NMR spectrum from the chemical shifts of the resonances at 2.89 and 2.79 ppm, due to the methyl protons of the methionine residue (Fig. 2a, b). The signal at 2.89 ppm belongs to the product 1 while the upfield shifted signal at 2.79 ppm was assigned to the $-\text{SCH}_3$ protons of product 2. The concentration of each intermediate product was calculated from the integral values of these two signals and during the first 3 min of the reaction these products were obtained in a yield of 28% (or 30%) for 1 and 20% (or 23%) for product 2 for H-Gly-D,L-Met-OH and Ac-Gly-D,L-Met-OH, respectively. The total amount of products 1 and 2 and the final product 3 was always equal to the initial concentration of the dipeptide. The intensities of the signals at 2.79 and 2.89 ppm decreased during time with their complete disappearance after the subsequent 9 min for H-Gly-D,L-Met-OH and 57 min for Ac-Gly-D,L-Met-OH

(Fig. 2a, b). During this time, the intensity of the signal at 2.71 ppm for the methyl protons of product 3 was enhanced, and finally, its concentration was equal to the initial concentration of the corresponding dipeptide.

From above proton NMR results, it can be concluded that at the stoichiometric amounts of the reactants, the oxidation of the methionine residue in H-Gly-D,L-Met-OH to its sulfoxide was five times faster ($k_2=0.363\pm 0.074 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) in comparison to the same process between the *N*-acetylated derivative of this peptide and $[\text{AuCl}_4]^-$ ($k_2=0.074\pm 0.007 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). The difference in the oxidation rates between these two peptides can be attributed to the free terminal amino group of H-Gly-D,L-Met-OH dipeptide. These results are in accordance with those previously reported for the reaction of *L*-methionine with $[\text{AuCl}_4]^-$, where it was stated that the NH_2 group was involved in the oxidation of this amino acid to its sulfoxide [34, 35].

The reaction of H-Gly-D,L-Met-OH with $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ was studied by UV-Vis spectrophotometric measurements in 0.01 M HCl as solvent (pH 2.00) at 25°C ; see Fig. 3. As it can be seen from this figure, when an equimolar amount of the peptide was added to a solution of $[\text{AuCl}_4]^-$, the

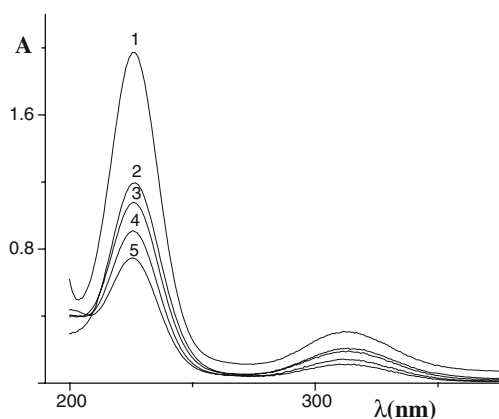


Fig. 3 UV-Vis spectra recorded during the reaction of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ with an equimolar amount of H-Gly-D,L-Met-OH at pH 2.00 and at 25°C in 0.01 M HCl as solvent (1:0; 2:30; 3:60; 4:180; 5:720 s of reaction)

absorbance of two maxima at $\lambda=226$ and $\lambda=313$ nm decreased during 12 min of the reaction, which indicates a decreasing $[\text{AuCl}_4]^-$ concentration. After this time, no change in the absorbance was observed, indicating that this redox process was finished. The total amount of $[\text{AuCl}_4]^-$ consumed during this redox reaction was calculated from differences in absorbance of the maximum at $\lambda=226$ nm before addition of the peptide and after 12 min of the reaction. It was found that approximately 33% of $[\text{AuCl}_4]^-$ remained in solution after completion of this redox reaction. Due to the fact that the oxidation of methionine residue in the presence of gold(III) was undoubtedly confirmed as a stoichiometric reaction [34, 35], obviously, the excess of $[\text{AuCl}_4]^-$ resulted from the disproportionation of $[\text{AuCl}_2]^-$ to $\text{Au}(0)$ and $[\text{AuCl}_4]^-$. The disproportionation of the aqueous $\text{Au}(I)$ complex was extensively investigated in literature, and the following reaction for decomposition of this complex was proposed: $3[\text{AuCl}_2]^- \leftrightarrow 2\text{Au}(0) + [\text{AuCl}_4]^- + 2\text{Cl}^-$ [45, 46]. It was found that the rate of this reaction at room temperature was very slow in the early stage of the reaction and then rapidly increased to values that remained approximately constant with further reaction progress ($\log K=7.4$ at 25°C) [46, 47]. Furthermore, recent crystallographic results for $[\text{H-Gly-Met-OH sulfoxide}]^+[\text{AuCl}_4]^-$ obtained by oxidation of the corresponding peptide in the presence of an equimolar amount of $[\text{AuCl}_4]^-$ additionally confirmed that disproportionation of $[\text{AuCl}_2]^-$ occurred under these circumstances [37].

The above ^1H NMR and UV-Vis results for the reaction of H-Gly-D,L-Met-OH with $[\text{AuCl}_4]^-$ revealed good agreement with those obtained for CV measurements. The survey cyclic voltammogram (Fig. 4a) of a 1.05 mM solution of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ in 0.01 M HCl in the presence of 0.04 M NaCl as background electrolyte recorded at a GC electrode displayed a distinct cathodic peak I at 0.32 V: $\text{AuCl}_4^- + 3\text{e}^- \rightarrow \text{Au}^0 + 4\text{Cl}^-$ [48]. The $\text{Au}(III)\text{-Au}(0)$ re-

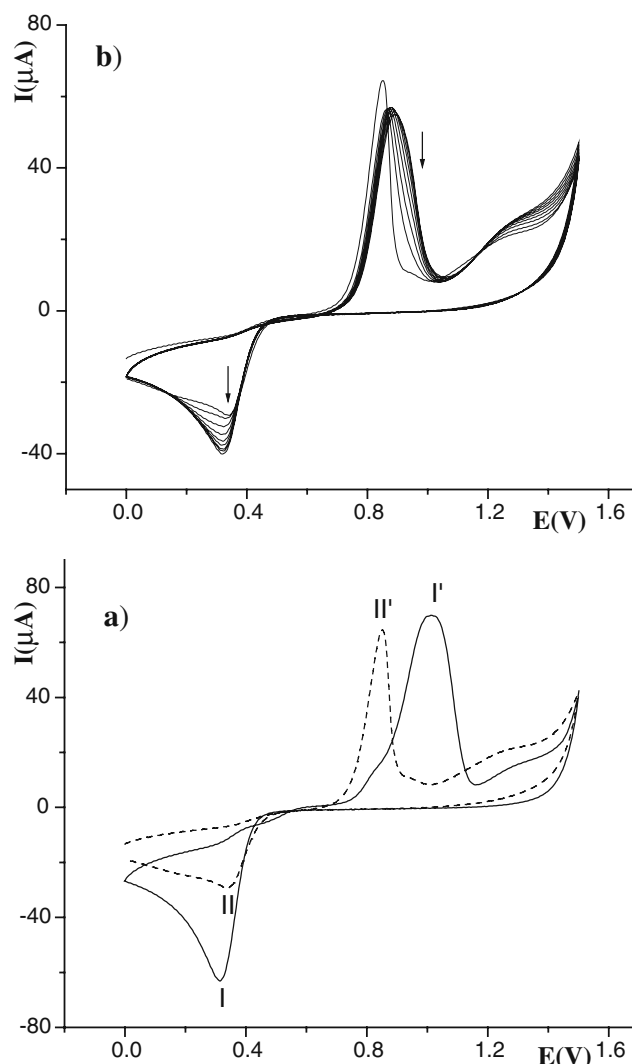


Fig. 4 a Cyclic voltammograms of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ (solid line) and product 1 (dashed line) recorded in the first 30 s of the reaction; b Survey cyclic voltammograms recorded during the progress of the reaction between equimolar amounts of H-Gly-D,L-Met-OH and $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ of a GC electrode, scan rate= 0.070 V s^{-1} , $E_{\text{step}}=0.003 \text{ V}$, pH 2.00, and 40 mM NaCl as background electrolyte. The vertical arrows indicate the direction of a change in the peak currents during the course of the reaction

duction was also evident from the presence of metallic gold on the electrode surface. In the cyclic voltammogram, no $[\text{AuCl}_2]^-$ complex could be detected due to the fact that the chlorido ligand is not a π -acceptor which could stabilize this complex [48]. On the reverse sweep, a definite oxidation wave I' at 1.02 V was observed (Fig. 4a): $\text{Au}^0 + 4\text{Cl}^- \rightarrow \text{AuCl}_4^- + 3\text{e}^-$.

As a result of the formation of product 1 (see Fig. 1) in the reaction between equimolar amounts of H-Gly-D,L-Met-OH and $\text{H}[\text{AuCl}_4]$, the characteristic peak I' was shifted from 1.02 to 0.85 V (peak II' , Fig. 4a). Furthermore, as a consequence of the progress of this reaction, the current response decreased with time in relation to characteristic

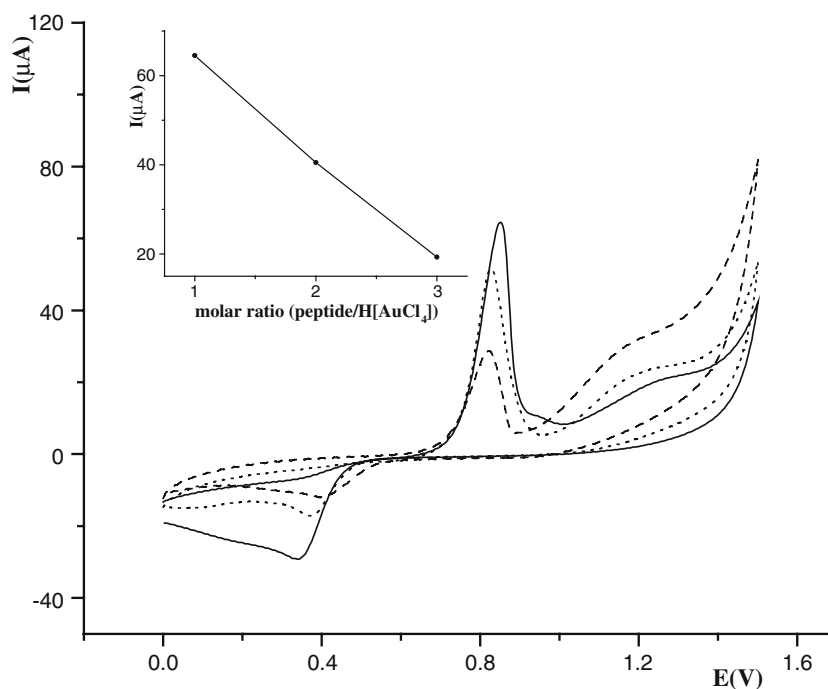
anodic peak II', while the characteristic cathodic peak II increased (at 0.35 V; Fig. 4b). The current enhancement of the cathodic peak is purely dependent on the degree of reduction of Au(III) to Au(0). As can be also seen from Fig. 4b, the reaction was finished after 12 min. This is coupled with the fact that, after 12 min, there was no change of the current response of the characteristic anodic peak as well as the characteristic cathodic peak.

The reaction of $[\text{AuCl}_4]^-$ with an excess of H-Gly-D,L-Met-OH and Ac-Gly-D,L-Met-OH dipeptides

The oxidation of the methionine residue in the presence of $[\text{AuCl}_4]^-$ was studied in an excess of the H-Gly-D,L-Met-OH or the Ac-Gly-D,L-Met-OH dipeptide. The $[\text{AuCl}_4]^-$ and the corresponding peptide were mixed in 1:2 or 1:3 molar ratio, respectively, and all reactions were performed under the above-mentioned experimental conditions. The first ^1H NMR spectrum ran in the first 3 min of reaction indicated that the oxidation of the methionine residue was almost over. The absence of resonances in the ^1H NMR spectrum at 2.89 and 2.79 ppm due to the methyl protons of the intermediate products 1 and 2, respectively, (see Fig. 1) indicates that the redox process with an excess of the H-Gly-D,L-Met-OH or Ac-Gly-D,L-Met-OH dipeptide was much faster than with equimolar amounts of $[\text{AuCl}_4]^-$ and dipeptide. The amount of product 3 was calculated from the intensity of the signal at 2.71 ppm in respect to the initial concentration of the dipeptide, and the total amount of this product was approximately 50% for the 1:2 and 33% for the 1:3 molar ratio for each sulfoxide. The singlets at 2.50 ppm

for H-Gly-D,L-Met-OH and at 2.56 ppm for Ac-Gly-D,L-Met-OH were assigned to the methyl protons of these two dipeptides both coordinated to Au(I) through the methionine sulfur atom. These chemical shifts are consistent with those previously reported for polynuclear Au(I)-sulfur-type complexes [49]. When the reaction of $[\text{AuCl}_4]^-$ with H-Gly-D,L-Met-OH was followed during time, the signal at 2.50 ppm shifted to a higher field, from 2.50 to 2.11 ppm. It can be assumed that this shifting was caused by the replacement of H-Gly-D,L-Met-OH in the polynuclear $\{[\text{Au}(\text{H-Gly-Met-OH-S})_2]\}_n$ complex with chloride ion, resulting after 6 h in the formation of free dipeptide (signal at 2.11 ppm). These results are in accordance with those previously reported of the relatively strong affinity of Au(I) for sulfur-containing ligands, such as thiols, thiolates, and sulfides, and also of the lability of Au(I)-sulfur bound species in solution [50]. However, in the reaction between Ac-Gly-D,L-Met-OH and $[\text{AuCl}_4]^-$ under the above-mentioned conditions, the chemical shifts of the resonance at 2.56 ppm due to the methyl protons of the polynuclear $\{[\text{Au}(\text{Ac-Gly-Met-OH-S})_2]\}_n$ complex did not change during 6 days of reaction. The consistent value for the chemical shifts of these protons can be explained by the higher stability of the polynuclear $\{[\text{Au}(\text{Ac-Gly-Met-OH-S})_2]\}_n$ complex with respect to that obtained in the reaction of the non-acetylated dipeptide with a free terminal amino group. These results are in accordance with those previously reported by Sadler et al. [36] that the stability of Au(I)-methionine species is dependent on the availability of free NH_2 groups, which catalyze their disproportionation.

Fig. 5 Cyclic voltammograms of product 1 recorded in the first 30 s of the reaction between $[\text{AuCl}_4]^-$ and H-Gly-D,L-Met-OH in 1:1 (solid line), 1:2 (dotted line), and 1:3 (dashed line) molar ratios, respectively. The inserted figure shows the dependence of the peak current of the characteristic anodic peak of product 1 in relation to increasing concentrations of peptide



The reaction of $[\text{AuCl}_4]^-$ with excess of H-Gly-D,L-Met-OH was also investigated under the above-mentioned experimental conditions by UV-Vis and CV measurements. Very fast change in absorbance of $[\text{AuCl}_4]^-$ with no presence of this anion in the UV-Vis spectrum was observed at the end of these reactions. These findings are in accordance to the fact that the color of the solution had finally changed from yellow to colorless. Also, the current response of the anodic peak also decreased rapidly under these circumstances (see Fig. 5).

Concluding remarks

From the present investigation of the reactions of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ with H-Gly-D,L-Met-OH and its *N*-acetyl derivative Ac-Gly-D,L-Met-OH, at pD 2.45 in 0.01 M DCl (or pH 2.00 in 0.01 M HCl) and at 25°C, the following conclusions can be drawn. The gold(III)-induced oxidation of the methionine residue in these peptides to the corresponding sulfoxides proceeded in two steps. The first step of this reaction is very fast coordination of Au(III) to the thioether sulfur with formation of the gold(III)-peptide complex $[\text{AuCl}_3(\text{R-Gly-Met-OH-S})]$ (R=H or Ac). This gold(III) complex further reacts with an additional methionine residue to generate the R-Gly-Met-OH chlorosulfonium cation as the second intermediate product, which readily undergoes hydrolysis to give the corresponding sulfoxide. The $[\text{AuCl}_2]^-$ complex formed in the reaction with equimolar amounts of reactants showed a strong tendency to disproportionate to $[\text{AuCl}_4]^-$ and metallic gold as the final products of this redox process. However, in the presence of excess of the dipeptide, the resulting polynuclear H-Gly-D,L-Met-S-Au(I) and Ac-Gly-D,L-Met-S-Au(I) complexes showed themselves to be quite stable products. The finding that the oxidation of the methionine residue in Ac-Gly-D,L-Met-OH to its sulfoxide was five times slower than that in the non-protected H-Gly-D,L-Met-OH dipeptide undoubtedly confirmed that the terminal amino group of the methionine-containing peptide had an evident influence on the acceleration of this redox process.

The results from this study together with those obtained in previous studies [33–37] show that gold(III)-induced oxidation of methionine, methionine-containing peptides, and proteins may be important in relation to the severe toxicity of gold-based drugs. Based on the above-mentioned hypotheses, studies aimed at investigating the interactions of gold(III) complexes with sulfur-containing peptides can be of great importance for the medical application of gold-based drugs.

Acknowledgments This work was funded in part by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project No. 172036).

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits any use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

References

1. Reynolds JEF, Prasad AB (1982) Martindale: The Extra Pharmacopoeia, 28th edn. The Pharmaceutical Press, London
2. Miranda S, Vergara E, Mohr F, De Vos D, Cerrada E, Mendia A, Laguna M (2008) *Inorg Chem* 47:5641–5648
3. Zou J, Taylor P, Dorman J, Robinson SP, Walkinshaw MD, Sadler PJ (2000) *Angew Chem Int Ed* 39:2931–2934
4. Fricker SP (1996) *Gold Bull* 29:53–60
5. Berners-Price SJ, Mirabelli CK, Johnson RK, Mattern MR, McCabe FL, Faucette LF, Sung CM, Mong SM, Sadler PJ, Crooke ST (1986) *Cancer Res* 46:5486–5493
6. McKeage MJ, Berners-Price SJ, Galetti P, Bowen RJ, Brouwer W, Ding L, Zhuang L, Baguley BC (2000) *Cancer Chemother Pharmacol* 46:343–350
7. Caruso F, Rossi M, Tanski J, Pettinari C, Marchetti F (2003) *J Med Chem* 46:1737–1742
8. Pillarsetty N, Katti KK, Hoffman TJ, Volkert WA, Katti KV, Kamei H, Koide T (2003) *J Med Chem* 46:1130–1132
9. Suresh D, Balakrishna MS, Rathinasamy K, Panda D, Mobin SM (2008) *Dalton Trans* 21:2812–2814
10. Tiekink ERT (2002) *Crit Rev Oncol Hematol* 42:225–248
11. Ott I (2009) *Coord Chem Rev* 253:1670–1681
12. Carotti S, Guerri A, Mazzei T, Messori L, Mini E, Orioli P (1998) *Inorg Chim Acta* 281:90–94
13. Ronconi L, Marzano C, Zanella P, Corsini M, Miolo G, Maccà C, Trevisan A, Fregona D (2006) *J Med Chem* 49:1648–1657
14. Messori L, Marcon G, Orioli P (2003) *Bioinorg Chem Appl* 1:177–187
15. Cinellu MA (2009) Chemistry of Gold(III) Complexes with Nitrogen and Oxygen Ligands. In: Mohr F (ed) *Gold Chemistry, Applications and Future Directions in the Life Sciences*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, pp 47–92
16. Ronconi L, Fregona D (2009) *Dalton Trans* 48:10670–10680
17. Casini A, Kelter G, Gabbiani C, Cinellu MA, Minghetti G, Fregona D, Fiebig HH, Messori L (2009) *J Biol Inorg Chem* 14:1139–1149
18. Bindoli A, Rigobello MP, Scutari G, Gabbiani C, Casini A, Messori L (2009) *Coord Chem Rev* 253:1692–1707
19. Nobili S, Mini E, Landini I, Gabbiani C, Casini A, Messori L (2010) *Med Res Rev* 30:550–580
20. Gabbiani C, Casini A, Messori L (2007) *Gold Bull* 40:73–81
21. Che CM, Sun RWY, Yu WY et al. (2003) *Chem Commun* 1718–1719
22. Gabbiani C, Casini A, Messori L, Guerri A, Cinellu MA, Minghetti G, Corsini M, Rosani C, Zanella P, Arca M (2008) *Inorg Chem* 47:2368–2379
23. Best SL, Sadler PJ (1996) *Gold Bull* 29:87–93
24. Shaw CF III (1979) *Inorg Perspect Biol Med* 2:287–355
25. Shaw CF III (1999) *Chem Rev* 99:2589–2600
26. Schuhmann D, Kubicka-Muranyi M, Mirtschewa J, Gunther J, Kind P, Gleichmann E (1990) *J Immunol* 145:2132–2139
27. Beverly B, Couri D (1987) *Fed Proc* 46:854
28. Brown DH, Smith WE (1983) *Am Chem Soc Symp Ser* 209:401–418
29. Smith WE, Reglinski J (1991) *Perspect Bioinorg Chem* 1:183–208
30. Shaw CF III, Cancro MP, Witkiewicz PL, Eldridge JE (1980) *Inorg Chem* 19:3198–3201

31. Witkiewicz PL, Shaw CF III (1981) *J Chem Soc Chem Commun* 1111–1114
32. Annibale G, Canovese L, Cattalini L, Natile G (1980) *J Chem Soc Dalton Trans* 7:1017–1021
33. Bordignon E, Cattalini L, Natile G et al. (1973) *J Chem Soc Chem Commun* 878–879.
34. Natile G, Bordignon E, Cattalini L (1976) *Inorg Chem* 15:246–248
35. Vujačić AV, Savić JZ, Sovilj SP, Mészáros Szécsényi K, Todorović N, Petković MŽ, Vasić VM (2009) *Polyhedron* 28:593–599
36. Isab AA, Sadler PJ (1977) *Biochim Biophys Acta* 492:322–330
37. Rychlewska U, Warzajtis B, Glišić BĐ et al. (2010) *Acta Crystallogr Sect C*:m51–m54
38. Kouroulis KN, Hadjikakou SK, Kourkoumelis N, Kubicki M, Male L, Hursthouse M, Skoulika S, Metsios AK, Tyurin VY, Dolganov AV, Milaeva ER, Hadjiliadis N (2009) *Dalton Trans* 47:10446–10456
39. Zhu L, Kostić NM (1992) *Inorg Chem* 31:3994–4001
40. Laidler KJ (1987) *Chemical Kinetics*, 3rd edn. Harper & Row, New York
41. Krężel A, Bal W (2004) *J Inorg Biochem* 98:161–166
42. Robb W (1967) *Inorg Chem* 6:382–386
43. Kowalski P, Mitka K, Ossowska K, Kolarska Z (2005) *Tetrahedron* 61:1933–1953
44. Patai S, Rappoport Z (1994) *Syntheses of Sulphones, Sulfoxides and Cyclic Sulphides*, Wiley, Chichester
45. Harrison JA, Thompson J (1975) *J Electroanal Chem Interfac* 59:273–280
46. Gammons CH, Yu Y, Williams-Jones AE (1997) *Geochim Cosmochim Acta* 61:1971–1983
47. Nikolaeva NM, Erenburg AM, Antipina VA (1972) *Isvest Sib Otd Akad Nauk SSSR Ser Khim* 4:126–129
48. Zhu S, Gorski W, Powell DR, Walmsley JA (2006) *Inorg Chem* 45:2688–2694
49. Bell JD, Norman RE, Sadler PJ (1987) *J Inorg Biochem* 31:241–246
50. Abdou HE, Mohamed AA, Fackler JP Jr, Burini A, Galassi R, López-de-Luzuriaga JM, Olmos ME (2009) *Coord Chem Rev* 253:1661–1669

Reactions and structural characterization of gold(III) complexes with amino acids, peptides and proteins

Biljana Đ. Glišić,^a Urszula Rychlewska^b and Miloš I. Djuran^{*a}

Received 23rd January 2012, Accepted 16th March 2012

DOI: 10.1039/c2dt30169e

The present review article highlights recent findings in the field of gold(III) complexes with amino acids, peptides and proteins. The first section of this article provides an overview of the gold(III) reactions with amino acids, such as glycine, alanine, histidine, cysteine and methionine. The second part of the review is mainly focused on the results achieved in the mechanistic studies of the reactions between gold(III) and different peptides and structural characterization of gold(III)–peptide complexes as the final products in these reactions. The last section of this article deals with the reactions of gold(III) complexes with proteins as primary targets for cytotoxic gold compounds. Systematic summaries of these results contribute to the future development of gold(III) complexes as potential antitumor agents and also have importance in relation to the severe toxicity of gold-based drugs.

Introduction

After the great success of cisplatin in cancer treatment,^{1–3} special attention was devoted to evaluation of gold(III) complexes as potential antitumor agents^{4,5} due to the fact that both Pt(II) and Au(III) ions possess the same d⁸ electronic configuration and preferentially form square-planar complexes. In contrast to platinum(II) complexes, gold(III) analogues are not stable enough under physiological conditions because of their high reduction

potential and fast rate of hydrolysis.⁶ However, in recent years, a large number of gold(III) complexes, in which the reduction potential of the metal center was lowered by the use of polydentate ligands, have been reported to be appreciably stable under physiological conditions and to manifest very promising anti-tumor activity against different human tumor cell lines, both *in vitro* and *in vivo*.^{6–20}

The possible involvement of gold(III) complexes in cancer treatment initiated an interest in the area of gold(III) interactions with different biologically important ligands such as amino acids and peptides. It was previously well established that amino acids and peptides are good chelating ligands being able to coordinate various metal ions.^{21–33} The naturally occurring amino acids have two common metal binding sites, amino nitrogen and carboxylate oxygen atoms and tend to form stable five-membered

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P.O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia. E-mail: djuran@kg.ac.rs; Fax: +381(34) 335 040; Tel: +381(34) 300 251

^bFaculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań, Poland



Biljana Đ. Glišić

Biljana Đ. Glišić was born in 1985 in Kragujevac, Serbia. In 2008, she received her BSc in Chemistry from University of Kragujevac, Faculty of Science. She is currently a PhD student in Prof. Miloš Djuran's group. Her research is focused on the synthesis and structural characterization of gold(III) complexes and spectroscopic investigations of their reactions with peptides.



Urszula Rychlewska

Urszula Rychlewska is a professor of chemistry at Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland and Dr Honoris Causa of the University of Kragujevac, Serbia. She was a research associate at the University of Florida in Gainesville, USA and at the University of North Carolina in Chapel Hill, USA, and a visiting professor at the University of Wyoming, Laramie, USA. Currently she is a member of the Commission on Structural Chemistry International Union of Crystallography and co-editor of Acta Crystallographica Section B. Her research interests involve issues connected with X-ray crystallography.

chelates with different metal ions. Also, different metal binding sites are present in the side chain residues of amino acids such as imidazole nitrogen atoms in L-histidine or thiolate and thioether sulfur atoms in L-cysteine and L-methionine, respectively. In the case of peptides, terminal amino nitrogen and carboxylate oxygen are too far from each other to coordinate to the same metal ion in the form of a stable chelate ring.³³ Consequently, in the reactions of metal ions with peptides, the formation of stable complexes usually proceeds through the involvement of the nitrogen atom of the amide bond(s).^{22–33} However, coordination of a given peptide to a metal ion requires deprotonation of the NH group of the peptide bond. Only a few metal ions are capable to induce deprotonation and subsequent coordination to the amide nitrogen with different pK_a values measured for this process.^{33,34} Also, the formation of the bond between corresponding metal ions and deprotonated amide nitrogen requires the presence of a primary ligating or anchoring group.³³ Among the nitrogen donors, the terminal amino group and the imidazole nitrogen atoms of the histidyl residues play a crucial role in the promotion of amide binding.³³

The mechanism of the reactions of different metal ions with amino acids and peptides as well as the structural characterization of the metal complexes formed in these reactions have been investigated in detail and published in numerous papers and reviews. Herein we report an overview of the findings in the field of the reactions of gold(III) with amino acids, peptides and proteins. The review focuses on results obtained in our laboratories, and on related work in other groups. To the best of our knowledge this is the first systematic presentation of the results achieved in this subject.

Reactions of gold(III) complexes with amino acids

Glycine and L-alanine

The NMR study of the oxidation pathway of amino acids glycine (Gly) and L-alanine (L-Ala) induced by gold(III) was reported by Sadler *et al.*^{35,36} The reactions between tetrachloridoaurate(III),

$[\text{AuCl}_4]^-$, and these two amino acids in a 1:2 molar ratio, respectively, were investigated in acidic solution at pH 2.44 for glycine and pH 2.90 for L-alanine at room temperature. The identification of the intermediates and final products in these reactions was done by using ^{13}C and ^{15}N isotopically-labelled amino acids and multinuclear NMR techniques (^1H , 2D [^1H , ^1H] COSY, 2D [^1H , ^{15}N] HSQC-TOSCY, ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ DEPT, 2D [^1H , ^{13}C] HSQC NMR). It was found that Au(III) induced deamination and subsequent decarboxylation of both amino acids with the same reaction mechanism.^{35,36} The proposed mechanism for gold(III)-induced oxidation of glycine and L-alanine is shown in Fig. 1. In the initial stage of these reactions, a mononuclear $[\text{AuCl}_3(\text{X}-\text{N})]$ (X = Gly or L-Ala) complex was formed upon coordination of the amino nitrogen atom to gold(III). This intermediate product can undergo chelation to form a stable and unreactive $[\text{Au}(\text{X}-\text{N},\text{O})\text{Cl}_2]$ complex or can give rise to an unstable Au(I)-imine intermediate through a two-electron transfer process from the amino group to the Au(III) ion. The Au(I)-imine product readily undergoes hydrolysis to give glyoxylic (from glycine) or pyruvic acid (from L-alanine) with concomitant formation of NH_4^+ and Au(0). Glyoxylic and pyruvic acid undergoes oxidative decarboxylation in further reactions with $[\text{AuCl}_4]^-$ giving formic and acetic acid, respectively, carbon dioxide and Au(0).

The kinetics of the oxidation of glycine and L-alanine by the complex $[\text{AuCl}_4]^-$ was studied spectrophotometrically under pseudo-first-order conditions in acetate buffer medium in the pH range 3.73–4.77.^{37,38} Under these experimental conditions, $[\text{AuCl}_4]^-$ and $[\text{AuCl}_3(\text{OH})]^-$ were the predominant oxidizing species. It was found that the increase in H^+ and Cl^- concentrations had an inhibiting effect on the rate of reaction due to the fact that the concentration of more reactive oxidizing species, $[\text{AuCl}_3(\text{OH})]^-$, decreased in that case. Gold(III)-induced oxidation of glycine was faster than the oxidation of L-alanine and this difference in the oxidation rates was attributed to the steric hindrance of the methyl group of L-alanine.

In conclusion it can be stated that the reactions of glycine and L-alanine with $[\text{AuCl}_4]^-$ primarily proceed through oxidation of these two amino acids. However, in the reactions of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ and quinoline derivatives containing one of these two amino acids, such as HQuingly and HQuinala, two very stable $[\text{Au}(\text{Quingly})\text{Cl}]\text{Cl}$ and $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]\text{Cl}$ complexes were obtained.³⁹ The crystal structures of the cations of these complexes (Fig. 2) showed tridentate coordination of both ligands to the Au(III) ion.^{39–41} These complexes were tested against a series of tumor cell lines including B16-BL6, P388, HL-60, A-549 and BEL-7402. The obtained data showed that $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]\text{Cl}$ was active against B16-BL6 with an inhibition rate of 67.52% at a concentration of 10^{-7} mol dm^{-3} . In the reactions between Quingly- and Quinala-Au(III) complexes and calf thymus (CT) DNA the same intercalation effect was observed, while in the reaction between the latter complex and 5'-GMP (guanosine-5'-monophosphate) an adduct was detected by electrospray mass spectrometry (ESMS).

L-Histidine

Amino acid L-histidine (L-His) is probably the most important metal binding site in biological systems, since it is found in the



Miloš I. Djuran

Miloš I. Djuran received his PhD in Chemistry from the University of Kragujevac in 1985. He worked as a postdoc at the Leiden University with Professor Jan Reedijk (1989–1990), and then at the University of London with Professor Peter J. Sadler (1992–1994). In 1985 he was appointed as Assistant Professor at the University of Kragujevac, where he subsequently became Associate Professor in

1995, and Full Professor in 2001. He was rector of University of Kragujevac from 2004 to 2009. His research focuses on the syntheses and structural characterization of transition metal complexes and spectroscopic investigations of their reactions with peptides.

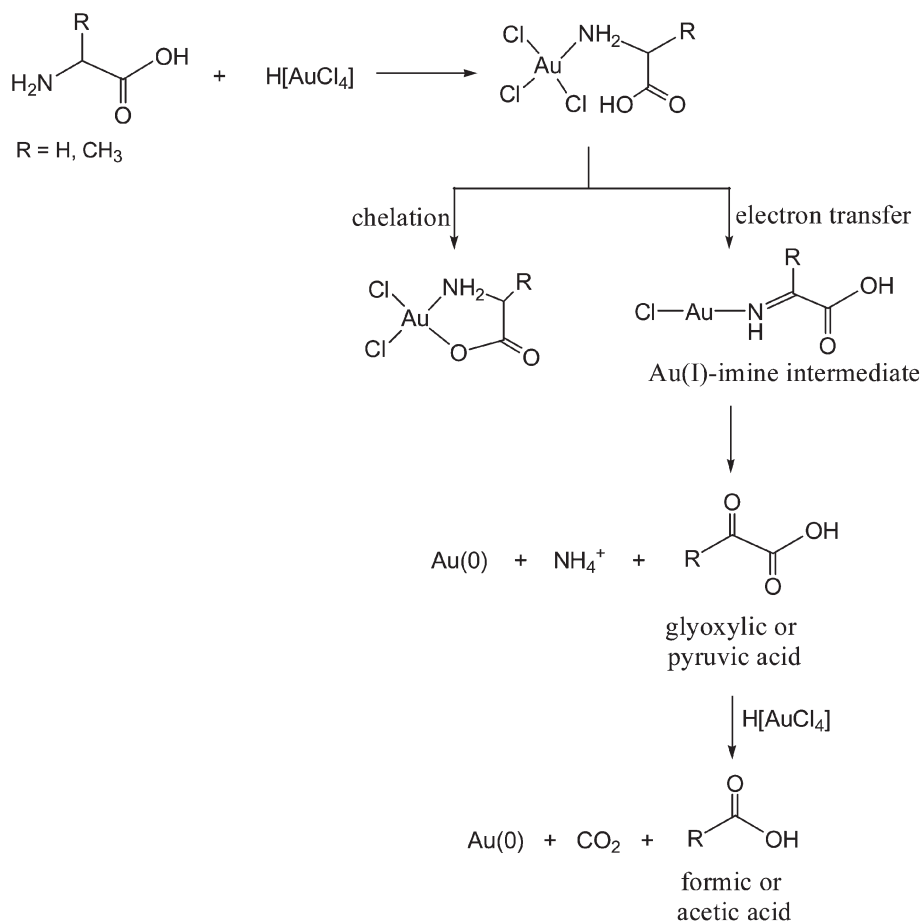


Fig. 1 The proposed mechanism for the oxidation of amino acids glycine and L-alanine induced by gold(III) in acidic solution.^{35,36}

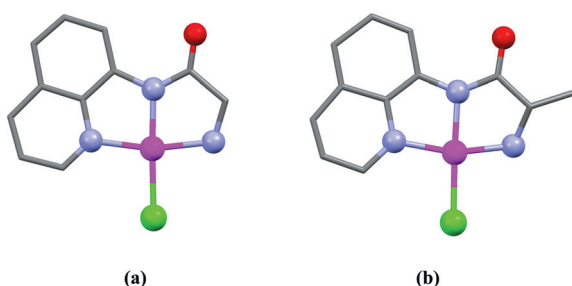


Fig. 2 Ball and stick representation of $[\text{Au}(\text{Quingly})\text{Cl}]^+$ (a) and $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]^+$ (b) cations in the crystals of $[\text{Au}(\text{Quingly})\text{Cl}]\text{Cl}$ and $[\text{Au}(\text{Quinala})\text{Cl}]\text{Cl}$, respectively.³⁹ Hydrogen atoms have been omitted for clarity and atomic coordinates were taken from CSD.⁴⁰ This figure as well as Fig. 6–11 were drawn using the Mercury program.⁴¹

active centers of many enzymes.^{42,43} The structure of the L-histidine–metal complexes depends on the properties of the corresponding ion as well as on the solution pH. The complex formation in the reaction between equimolar amounts of $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ and L-histidine monohydrochloride was studied by Cuadrado *et al.* in aqueous solution at room temperature.⁴⁴ NMR (^1H , ^{13}C) and IR spectroscopy, capillary electrophoresis (CE), capillary electrophoresis-inductively coupled plasma-mass (CE-ICP-MS), X-ray fluorescence spectroscopy (XRF), matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) and laser

desorption mass spectroscopy (LDMS) were used in order to determine the structure of the L-histidine–Au(III) complex. On the basis of the results obtained by a multi-instrumental approach, it was found that two L-histidine molecules were coordinated bidentately to Au(III) through the amino and N3 imidazole nitrogen atoms (Fig. 3). The formation of the $[\text{Au}(\text{L-His-}N,N')_2]\text{Cl}_3$ complex was a kinetically slow process under the above-mentioned experimental conditions with its maximal concentration after 2 h of mixing of the reactants. The complex started to precipitate after 3 h of reaction as a consequence of the deprotonation of the free carboxyl group, resulting in an increase of the solution acidity.⁴⁴

The kinetics of the oxidation of L-histidine induced by $[\text{AuCl}_4]^-$ were investigated in perchloric acid solution by applying UV-Vis spectrophotometry and β -imidazolyl-pyruvic acid was identified as the final product of this reaction (Fig. 3).⁴⁵ It was found that the first-order rate constant of this reaction ($k_{\text{obs}} = 110 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ at 27°C) decreased with increasing H^+ and Cl^- concentrations.

^1H and ^{13}C NMR spectroscopy was used to study the reaction of the $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ complex (en is diaminoethane) with L-histidine at pD range 1.60–10.40.⁴⁶ It was found that the rate and course of this reaction strongly depend on the solution pD value. At pD 1.60, binding of L-histidine to the complex $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ starts immediately after mixing of the reactants, while the equilibrium mixture of 2-oxo-L-histidine and 2-hydroxy-L-histidine

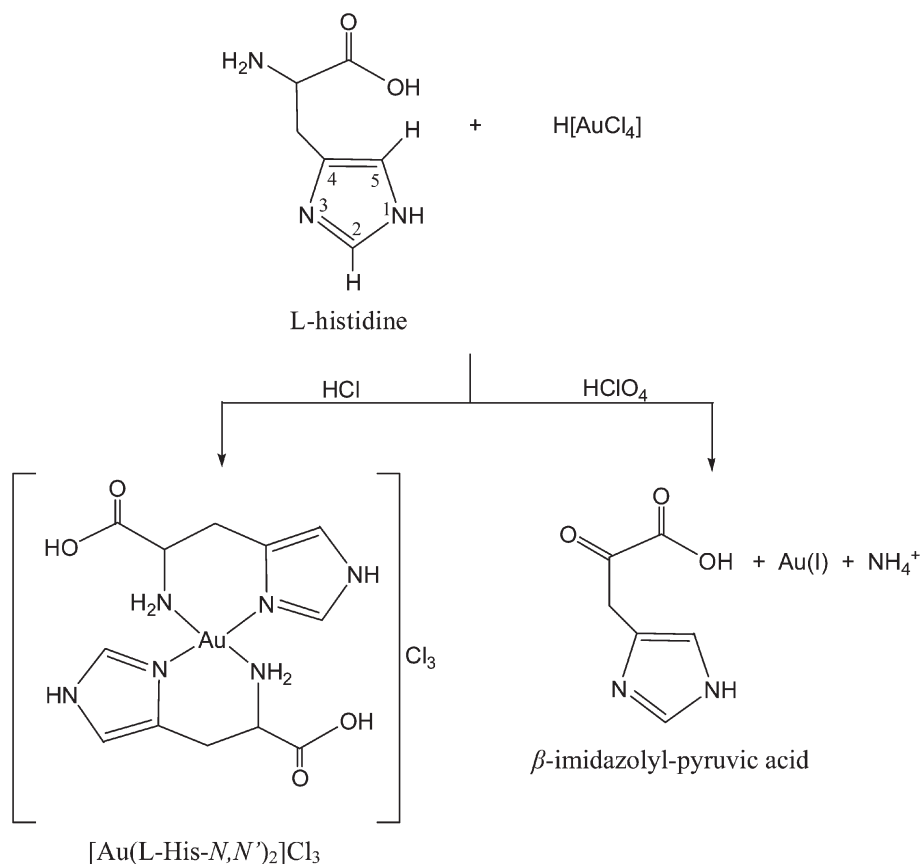


Fig. 3 The course of the reaction between L-histidine and $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ in the presence of HCl (complex formation) and in HClO_4 (redox process).^{44,45}

formed by the oxidation of L-histidine was identified in NMR spectrum after a reaction duration of 1 h. It was concluded that the L-histidine was coordinated to Au(III) through the amino and imidazole N3 nitrogen atoms forming the $[\text{Au}(\text{en})(\text{L-His-}N,N')]^{3+}$ complex (Fig. 4). At higher pH values, a faster oxidation of L-histidine along with reduction of Au(III) to Au(0) occurred and the complete reaction mixture was immediately dark due to elemental gold. The results from the reactions of $[\text{Au}(\text{L})\text{Cl}_2]^+$ type complexes (L is a different bidentate coordinated diamine ligand) with L-histidine showed that the rate of the reactions increased in the following order $\text{en} < 1,3\text{-pn}$ (1,3-diaminopropane) $< 1,4\text{-bn}$ (1,4-diaminobutane).⁴⁶ Moreover, a first-order rate constant for the reaction of $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ and L-histidine, $k_{\text{obs}} = 39 \pm 3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, was determined at pH 2.90 and 25 °C by using UV-Vis spectrophotometry, and it was found to be approximately three times lower than that for the reaction of this amino acid with $[\text{AuCl}_4]^-$.⁴⁵ The large difference in k_{obs} was attributed to the availability of more exchangeable chlorido ligands in $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ than in the $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ complex with one side blocked by en ligand.⁴⁶

Bugarčić *et al.* investigated the substitution reactions of the $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ and $[\text{Au}(\text{SMC-}S,N)\text{Cl}_2]$ (SMC is *S*-methyl-L-cysteine) complexes with L-histidine and other biologically important nitrogen bonding nucleophiles such as inosine (Ino), inosine-5'-monophosphate (5'-IMP) and guanosine-5'-monophosphate (5'-GMP).⁴⁷ All reactions were studied at physiological pH 7.20 in 25 mM Hepes with the presence of 10 mM NaCl using a stopped-flow technique. It was found that the N3

nitrogen atom of L-histidine was the best nucleophile for the $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ complex as a consequence of its steric and electronic properties.⁴⁷

L-Cysteine and L-methionine

After discovery of the antiarthritic properties of gold(I) thiolates, there has been an increasing interest in the interactions between gold(III) complexes and sulfur-containing amino acids, namely L-cysteine (L-Cys) and L-methionine (L-Met). These interactions are thought to be responsible for the toxic-side effects encountered in chrysotherapy such as nephrotoxicity.

L-Cysteine

It was found that the thiol-containing amino acid L-cysteine reduced gold(III) in aqueous solution.^{48,49} Cystine was found to be the major oxidation product in this reaction (see Fig. 5), with Au(III) being reduced to Au(I) which can be stabilized with excess L-cysteine. Disulfide cystine was capable of reducing Au(III) to elemental Au(0) while being itself oxidized to cysteic acid.^{50,51} Furthermore, cystine was found to be a better reducing agent than L-cysteine as a consequence of the ability of amino acid L-cysteine to stabilize gold(I) complex and remove it from solution.⁵² Thus, in the reaction of L-cysteine and potassium-tetrabromidoaurate(III), $\text{K}[\text{AuBr}_4]$ in a 1 : 3 molar ratio in acidic solution, L-cysteinatogold(I) complex was isolated and characterized.⁵²

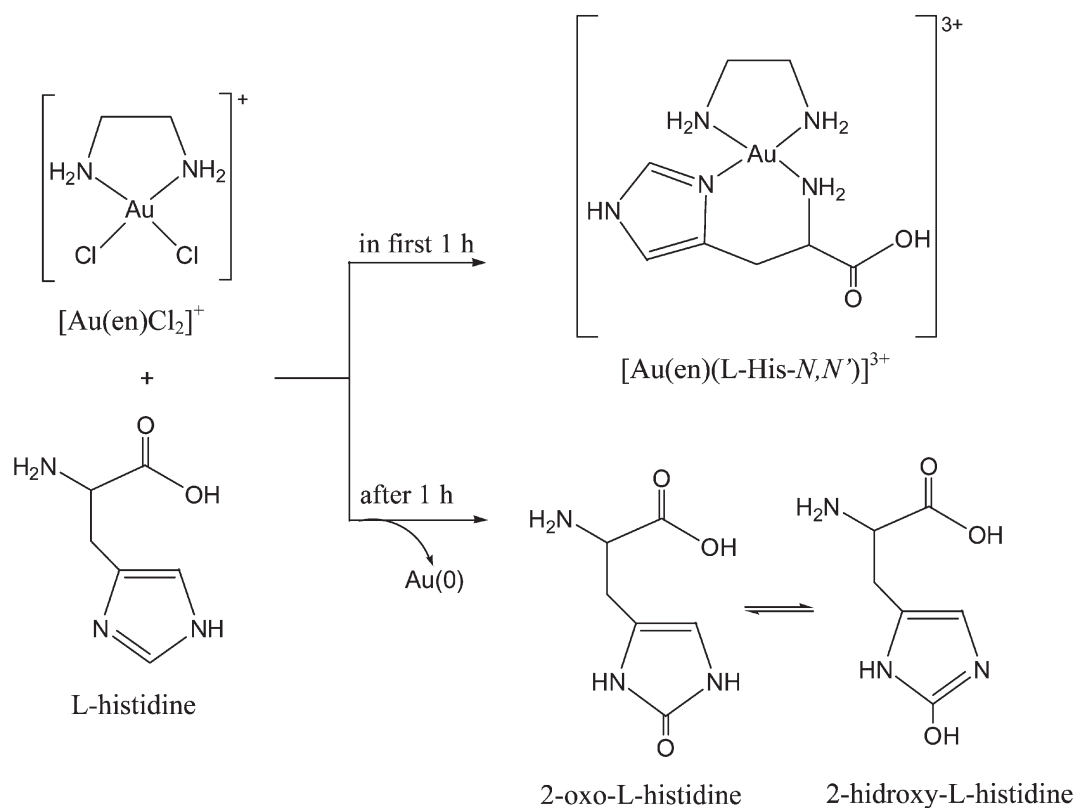


Fig. 4 Two time dependent reaction pathways of amino acid L-histidine with $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ at pD 1.60 and at 25 °C.⁴⁶

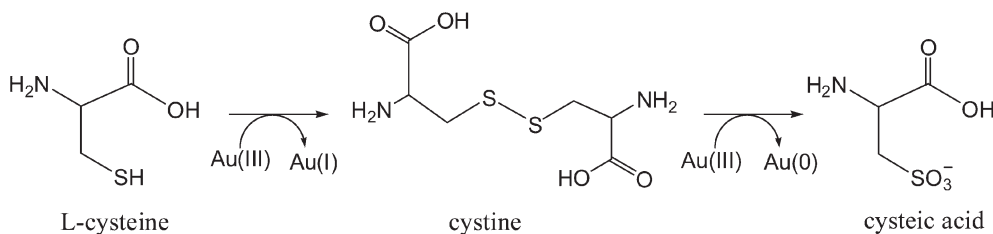


Fig. 5 Schematic presentation of the oxidation of L-cysteine and its disulfide induced by gold(III).^{48–51}

The reaction of $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ with L-cysteine in different molar ratios was followed by using NMR (^1H , ^{13}C) and UV-Vis techniques at pH 7.40 and 25 °C.⁵³ When the reaction of this gold(III) complex and amino acid was performed in a 2 : 1 and 1 : 1 molar ratio, respectively, very fast substitution of one cyanido ligand with formation of a $[\text{Au}(\text{L-Cys-S})(\text{CN})_3]^-$ complex was observed. In the next stage, the reaction between two monosubstituted intermediates proceeded through reductive elimination of cystine with concomitant formation of hexacyanidodiatrate(II), $[\text{Au}_2(\text{CN})_6]^{2-}$ that disproportionates to $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ and $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$. When the reaction of $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ and L-cysteine was followed in a 1 : 2 molar ratio, respectively, two possible geometric isomers (*cis*- and *trans*-) of $[\text{Au}(\text{L-Cys-S})_2(\text{CN})_2]^-$ complex were formed. However, only the *cis*- $[\text{Au}(\text{L-Cys-S})_2(\text{CN})_2]^-$ isomer underwent reductive elimination of cystine, along with gold(III) reduction to $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$.⁵³

The UV-Vis studies of the reaction between L-cysteine and diaqua(*bis*(pyrazol-1-yl)acetato)gold(III) chloride in pH range of

2.92–3.72 showed that this reaction proceeded in two steps, involving the substitution of the aqua ligands with amino acid and subsequent reduction to gold(I).⁵⁴ The second-order rate constant for reduction of this gold(III) complex in the presence of L-cysteine was found to be $1.0 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ at 25 °C.

L-Methionine

The mechanism of the redox reaction between $[\text{AuCl}_4]^-$ and the amino acid L-methionine was studied by UV-Vis spectrophotometry, thermal analysis, NMR, IR and FT-IR spectroscopy in acidic solution.^{55–57} It was found that this reaction occurred in two stages. Initially, the very fast substitution of one chloride ion by a L-methionine molecule with formation of the short lived $\text{Au}(\text{III})$ -methionine complex was observed. Additionally, it was confirmed that the amino group of methionine was involved in this process even at pH below 2.00.^{55–57} The rate constant for the first stage of this reaction determined by applying a stopped-

flow technique was found to be $983 \pm 2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ at $21 \text{ }^\circ\text{C}$.⁵⁷ The second stage of this reaction was reduction of the intermediate Au(III)–methionine complex with formation of methionine sulfide and a Au(I) complex as the final products. The UV-Vis results implied that a second L-methionine was required in order to promote the reduction of the Au(III)–methionine complex.^{55–57} The most plausible mechanism for the reduction step is an atom-transfer process in which a chlorine atom is transferred from gold(III) to the thioether sulfur atom of methionine, accompanying by the cleavage of the terminal Au(III)–Cl bond.⁵⁸ These simultaneous processes lead to the formation of L-Met chlorosulfonium cation which undergoes hydrolysis to give methionine sulfoxide as the final product of the reaction.⁵⁸ The rate constant for the second stage of the investigated reaction was found to be $11.5 \pm 0.6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ at $21 \text{ }^\circ\text{C}$.⁵⁷ Furthermore, Natile *et al.* reported that the oxidation of L-methionine was stereospecific with complete transformation of this amino acid to the corresponding L-methionine-S-sulfoxide.⁵⁶

However, the absence of the reaction between $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ and L-methionine in different molar ratios at pD values 7.00 and 12.00 was confirmed by applying ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy.⁵³ Non-reactivity of the $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ complex toward L-methionine was explained as a consequence of the presence of a strong Au(III)–CN bond which stabilized this complex.⁵³

Reactions of gold(III) complexes with peptides

Peptides containing no heteroatom in the side chain

The reactions between two dipeptides, glycyl–glycine (Gly–Gly) and glycyl–L-alanine (Gly–L-Ala) and $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ were studied at pH 2.00 and 3.00 at $40 \text{ }^\circ\text{C}$ by ^1H NMR spectroscopy.⁵⁹ The final products in these reactions, $[\text{Au}(\text{Gly–Gly–N,N',O})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly–L-Ala–N,N',O})\text{Cl}]$ complexes, were identified and characterized by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. Proton NMR chemical shifts (δ , ppm) for Gly–Gly and Gly–L-Ala dipeptides and corresponding Au(III) complexes are shown in Table 1. From NMR data it was concluded that both dipeptides are tridentate coordinated to Au(III) ion through the nitrogen atom of the terminal amino group, the deprotonated peptide nitrogen and the oxygen atom of carboxyl group. The fourth coordination place in these square-planar complexes was occupied by the chloride ion. As a result of tridentate coordination, all ^1H NMR resonances for the gold(III)–peptide complexes are shifted downfield with respect to those for the free dipeptides.⁵⁹ It was stated that coordination of Gly–Gly and Gly–L-Ala dipeptides to Au(III) was a slow process strongly dependent on pH. The $[\text{Au}(\text{Gly–Gly–N,N',O})\text{Cl}]$ complex formation was two times faster ($k_2 = (1.63 \pm 0.07) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) than $[\text{Au}(\text{Gly–L-Ala–N,N',O})\text{Cl}]$ ($k_2 = (0.71 \pm 0.06) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Difference in the reactivity between these two peptides was attributed to the steric hindrance of the methyl group of L-alanine. However, the reactions of $[\text{AuCl}_4]^-$ with Gly–Gly and Gly–L-Ala were one hundred times slower than with glycyl–L-histidine (Gly–L-His) ($k_2 = (124.00 \pm 0.30) \times 10^{-7} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).⁵⁹

The coordination mode of glycyl-containing homopeptides, from dipeptide to hexapeptide, to Au(III) was reported both in solution and in solid-state by Koleva *et al.*⁶⁰ The coordination modes of these peptides to Au(III) was clarified by comparison

of IR, NMR and UV-Vis spectra of the free peptides and corresponding Au(III) complexes. It was found that in the case of tripeptide the Au(III) ion was bound through the amino, two amidate nitrogens and carboxylate oxygen atom, while tetra-, penta- and hexapeptides acted as tetradentate ligands coordinating through the terminal amino group and three deprotonated peptide nitrogen atoms. The geometries of these complexes were predicted by quantum chemical calculation and for all cases distortion of the flat square configuration was obtained with deviation of the planarity varying from 0.8 – 2.4° .

The complex formation in the reactions between L-alanine-containing peptides, Gly–L-Ala and Gly–L-Ala–L-Ala with $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ at pH 4.00 in aqueous solution was investigated using linear-dichroic infrared (IR-LD), NMR and mass spectroscopy as well as quantum chemical calculations.⁶¹ It was shown that the Au(III) ion was capable of displacing the amide proton of the peptide bond of these two peptides under the above-mentioned experimental conditions. The obtained results indicated tridentate coordination for Gly–L-Ala and tetradentate for Gly–L-Ala–L-Ala with formation of $[\text{Au}(\text{Gly–L-Ala–N,N',O})\text{Cl}]$ and $[\text{Au}(\text{Gly–L-Ala–L-Ala–N,N',N'',O})\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ complexes, respectively.

Summing up, it can be stated that the Au(III) ion is capable of deprotonating the amide nitrogen in the reactions with peptides containing no heteroatom in the side chain in the pH range 2.00–4.00. A similar pH range for amide deprotonation was also observed in the reaction for this type of peptides with Pd(II) ion.³⁴ However, displacement of the amide proton in the reactions between these peptides and Cu(II), Ni(II) and Co(II) ions occurred at higher pH values. Thus, the pK_a value measured for this process induced by Cu(II) was around 4.00,²³ while with Ni(II) ($\text{pK}_a \sim 8.00$) and Co(II) ($\text{pK}_a \sim 10.00$) these values were much higher.²³

The monofunctional gold(III) complex, $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ (dien is tridentate coordinated diethylenetriamine) has proved to be very useful as a probe for gold(III) binding sites on different biological molecules such as peptides and proteins. Thus, NMR study of the binding of Gly–Gly–Gly peptide to $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ complex showed that the terminal amino group of this tripeptide was the only gold(III) binding site at pH > 5.00.⁶² In this study no evidence was found for the involvement of the carboxyl group or for deprotonation of the amide nitrogen atom in the pH range 2.00–10.00.

L-Histidine-containing peptides

Amino acid L-histidine-containing dipeptide, glycyl–L-histidine (Gly–L-His) was used for synthesis and structural characterization of the corresponding Au(III) complex.⁶³ The crystal structure of $[\text{Au}(\text{Gly–L-His–N,N',N''})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ showed square-planar geometry of this complex, with the Au(III) ion coordinated through the nitrogen atom of the terminal amino group of glycine, the deprotonated peptide nitrogen, the imidazole N3 nitrogen and the chloride ion in the fourth coordination place (Fig. 6). Selected crystallographic data, bond lengths (Å) and angles ($^\circ$) for this complex are shown in Tables 2 and 3. Au–N(amino) and Au–N3 imidazole bond lengths (2.002(9) and 1.991(8) Å, respectively) are similar and slightly longer than the Au–N(amide) bond (1.94(1) Å) (Table 3).⁶³

Table 1 Proton NMR chemical shifts (δ , ppm) for some peptides and corresponding Au(III)–peptide complexes in D₂O as solvent with TSP (sodium 3-(trimethylsilyl)propionate) as the internal standard

Peptide/complex	Imidazole protons		Chemical shifts of other protons
	C2H	C5H	
Gly–Gly ^{a,59}			3.89 (Gly1CH ₂) 4.07 (Gly2CH ₂)
[Au(Gly–Gly–N,N',O)Cl] ^{a,59}			3.96 (Gly1CH ₂) 4.26 (Gly2CH ₂)
Gly–L-Ala ^{a,59}			3.84 (GlyCH ₂) 4.08 (Ala α CH) 1.40 (Ala β CH ₃)
[Au(Gly–L-Ala–N,N',O)Cl] ^{a,59}			3.90 (GlyCH ₂) 4.15 (Ala α CH) 1.44 (Ala β CH ₃)
Gly–L-His ^{a,65}	8.62	7.31	3.83 (GlyCH ₂) 4.63 (His α CH) 3.35 (His β CH) 3.21 (His β' CH), J_{AB} = 15.60 Hz
[Au(Gly–L-His–N,N',N'')Cl]NO ₃ ·1.25H ₂ O ^{a,65}	8.56	7.31	4.06 (GlyCH) 3.96 (GlyCH'), J_{AB} = 20.00 Hz 4.69 (His α CH) 3.60 (His β CH) 3.11 (His β' CH), J_{AB} = 15.90 Hz
L-Ala–L-His ^{a,65}	8.64	7.34	4.08 (Ala α CH) 1.53 (Ala β CH ₃) 4.64 (His α CH) 3.40 (His β CH) 3.24 (His β' CH), J_{AB} = 15.70 Hz
[Au(L-Ala–L-His–N,N',N'')Cl]NO ₃ ·2.5H ₂ O ^{a,65}	8.56	7.31	4.15 (Ala α CH) 1.56 (Ala β CH ₃) 4.66 (His α CH) 3.58 (His β CH) 3.10 (His β' CH), J_{AB} = 16.10 Hz
Gly–Gly–L-His ^{b,70}	8.20	7.11	3.86 (Gly1CH ₂) 3.98 (Gly2CH) 3.98 (Gly2CH'), J_{AB} = 17.20 Hz ^c 4.49 ^d (His α CH) 3.21 ^d (His β CH) 3.06 ^d (His β' CH), J_{AB} = 15.40 Hz
[Au(Gly–Gly–L-His–N,N',N'',N''')Cl]·H ₂ O ^{b,70}	8.26	7.25	4.15 (Gly1CH ₂) 4.31 (Gly2CH) 4.25 (Gly2CH'), J_{AB} = 17.80 Hz ^c 4.52 (His α CH) 3.51 (His β CH) 2.98 (His β' CH), J_{AB} = 15.80 Hz
Gly–D,L-Met ^{a,75}			3.89 (GlyCH ₂) 2.11 (Met δ CH ₃) 2.18 (Met β CH ₂) 2.60 (MetyCH ₂)
[HGly–Met sulfoxide] ⁺ [AuCl ₄] ⁻ ^{a,75}			3.91 (GlyCH ₂) 2.71 (Met δ CH ₃) 2.40 (Met β CH ₂) 3.00 (MetyCH ₂)

^a pH = 2.00. ^b pH = 7.00. ^c Proton NMR coupling constants in Gly–Gly–L-His (in 90% H₂O – 10% D₂O, pH = 3.10) and [Au(Gly–Gly–L-His–N,N',N'',N''')Cl]·H₂O (in D₂O, pH = 3.10). ^d Mean chemical shift value of splitting pattern.

When the yellow crystals of [Au(Gly–L-His–N,N',N'')Cl]Cl·3H₂O were dissolved in water and the pH was adjusted to 6.00–7.00, reddish-brown, transparent crystals of cyclic tetramer [Au(Gly–L-His–N,N',N'',N''')₄]·10H₂O were obtained.⁶³ In this tetrameric complex each Au(III) ion is coordinated by three nitrogen atoms as in a monomeric complex (amino, amidate and N3 imidazole nitrogens), and in addition to the N1 nitrogen of the deprotonated imidazole ring (Fig. 7a). Thus, the imidazole acts as a bridging ligand between two Au(III) ions. The crystal structure of [Au(Gly–L-His–N,N',N'',N''')₄]·10H₂O (Fig. 7b) shows

that each of four Au(III) ions in this cyclic tetramer is situated at the vertices of a distorted tetrahedron with four donor nitrogen atoms in an approximately square-planar arrangement.⁶³ The Au–N(amide) bond length in the cyclic tetramer complex (1.995(8) Å) is longer than the corresponding bond in the [Au(Gly–L-His–N,N',N''')Cl]Cl·3H₂O complex (1.94(1) Å) (Table 3) that has been interpreted as an illustration of the greater *trans* influence of the deprotonated imidazole nitrogen than that of the chlorido ligand. The formation of the cyclic tetramer at pH 6.00–7.00 makes the [Au(Gly–L-His–N,N',N'')Cl]Cl·3H₂O

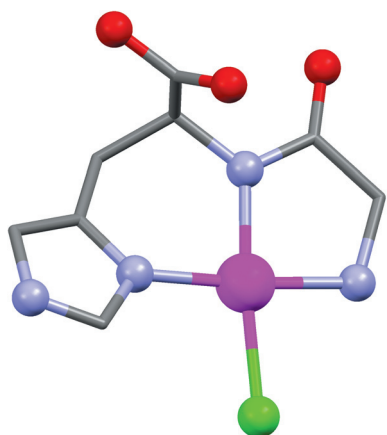


Fig. 6 Ball and stick representation of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ cation present in the crystals of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$.⁶³ Hydrogen atoms have been omitted for clarity and atomic coordinates were taken from CSD.⁴⁰

complex different from the Gly-L-His complexes of Cu(II), Ni(II) and Pd(II) which undergo association into tetrameric structures in alkaline solution (pH 9.00–10.00).⁶³

The solution behavior under physiological conditions, the cytotoxic activity and the DNA binding properties of the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ complex were reported by Messori *et al.*⁶⁴ Circular dichroism, ¹H NMR and UV-Vis spectroscopy showed that tridentate coordination of the Gly-L-His dipeptide stabilized the Au(III) oxidation state and prevented its reduction to Au(I) or Au(0) under physiological conditions. The cytotoxic properties of the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ complex were evaluated toward the reference tumor cell line A2780 (human ovarian carcinoma) both sensitive (A2780/S) and resistant (A2780/R) to cisplatin.⁶⁴ It was shown that this complex exhibited significant cytotoxic activity towards the A2780/S cell line ($\text{IC}_{50} = 5.2 \pm 1.63 \mu\text{M}$), only slightly smaller than the equimolar amount of cisplatin ($\text{IC}_{50} = 1.6 \pm 0.58 \mu\text{M}$). Also, the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ complex retains a relevant cytotoxicity on the A2780/R cell line ($\text{IC}_{50} = 8.5 \pm 2.3 \mu\text{M}$) with a resistance factor of only 1.6 (in comparison with a value of 10 found for cisplatin). The observed cytotoxicity for this Au(III) complex was ascribed to the presence of the gold(III) center, because it was found that Zn(II), Pd(II), Pt(II) and Co(II) analogues were poorly cytotoxic with IC_{50} values higher than 100 μM .

Recently, in our laboratory, two forms of the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3$ complex, hydrated and unhydrated, as well as the $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ complex were synthesized and characterized by ¹H NMR spectroscopy and X-ray crystallography.⁶⁵ ¹H NMR chemical shifts (δ , ppm) of Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptides and the corresponding Au(III) complexes are shown in Table 1. Differences in the chemical shifts between C2H and C5H imidazole protons for Au(III) complexes and the corresponding peptides are not significant. The C2H resonances for the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ complexes in comparison to these protons of the uncoordinated peptides are upfield shifted, $\Delta\delta$ 0.06 and 0.08 ppm respectively, while C5H resonances are almost unaffected. However, the

resonances of the other protons for Au(III)-peptide complexes are slightly shifted downfield with respect to those for the free dipeptides. From NMR data it was concluded that the coordination sites of the Au(III) ion in both L-histidine-containing dipeptides were the N3 nitrogen atom of the imidazole ring, the deprotonated amide nitrogen and the terminal amino group of glycine or L-alanine.

The obtained results for the reactions of Gly-L-His and L-Ala-L-His with Au(III) undoubtedly confirmed that the N3-anchored Au(III) ion was able to deprotonate amide nitrogen in these peptides even at pH < 2.00.^{63,65} The same pH range for displacement of the amide proton was also observed for the reaction of the Gly-L-His dipeptide with Pd(II).⁶⁶ However, deprotonation of the amide nitrogen in the reactions of this dipeptide with Cu(II), Ni(II), Zn(II) and Co(II) occurred at higher pH, and pK_a values 4.15, 6.03, 6.73 and 7.40, respectively, were reported for these metal ions.^{67,68} In general, it can be concluded that histidine-containing peptides are more reactive with Au(III) than peptides containing no heteroatom in the side chain. This difference in the reactivity resulted from the fact that the N3-histidine anchoring the Au(III) ion is more effective at displacing the amide proton than Au(III) attached to the either carboxylate oxygen or terminal amino nitrogen atom in no-histidine-containing peptides.⁵⁹

The crystal structures of the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ complex cations are illustrated in Fig. 8a and b while selected crystal data, bond lengths (Å) and angles (°) are presented in Tables 2 and 3. The coordination geometry of these complexes is square-planar with the protonated carboxyl group in an axial position with respect to the coordination plane.⁶⁵ The imidazole rings are planar, but in contrast to previously reported, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$,⁶³ these complexes showed significant deviation from planarity of the five membered glycyll or L-alanyl rings. Moreover, $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ complexes possessing nitrate as a counter-ion displayed a tendency to associate with relatively short Au...Cl contacts resulting from nearly antiparallel arrangement of Au-Cl bonds belonging to the neighbouring molecules, a feature not observed for the $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]^+$ with chloride as the counter-anion.⁶⁵ As a consequence of these interactions the square-planar coordination of Au(III) is completed to an elongated octahedron by two more distant chloride ions belonging to the neighbouring complexes (Fig. 8c). The CSD search⁴⁰ shows that chlorido complexes of Pt(II) rarely display the tendency to extend their coordination sphere beyond four. This different behaviour of the two isoelectronic metal ions could be ascribed to electrostatic forces since platinum(II) complexes are usually of neutral charge while gold(III) complexes are charged. Also, different coordination properties of Pd(II) and Au(III) have been noted during the studies on deposition mechanism of these two metal ions in protein cages.⁶⁹

The course of the reaction of tripeptide glycyll-glycyll-L-histidine (Gly-Gly-L-His) with $[\text{AuCl}_4]^-$ was studied at different pH values by ¹H NMR spectroscopy.⁷⁰ Thus, tetradentate coordination of the tripeptide with formation of the $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N,N',N'')\text{Cl}]\text{H}_2\text{O}$ complex as the major product was observed at pH 2.00. The solid form of this complex was characterized by ¹H NMR spectroscopy and X-ray crystallography

Table 2 Some relevant crystallographic data for Au(III)–peptide complexes

Crystal data	Complex						
	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)Cl]Cl·3H ₂ O ⁶³ PAHHOV ^a	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>) ₄ ·10H ₂ O ⁶³ PAHHUB ^a	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)–Cl]NO ₃ ·1.25H ₂ O ⁶⁵ MACGII ^a	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ⁶⁵ MACGOO ^a	[Au(L–Ala–L–His– <i>N,N',N''</i>)–Cl]NO ₃ ·2.5H ₂ O ⁶⁵ MACGUU ^a	[Au(Gly–Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)Cl]·H ₂ O ⁷⁰ DAGDIY ^a	[HGly–Met sulfoxide] ⁺ [AuCl ₄] [–] ⁷⁵ KUQFOS ^a
Chemical formula	C ₈ H ₁₇ AuCl ₂ N ₄ O ₆	C ₃₂ H ₆₄ Au ₄ N ₁₆ O ₂₂	C ₈ H _{13.5} AuClN ₅ O _{7.25}	C ₈ H ₁₁ AuClN ₅ O ₆	C ₉ H ₁₈ AuClN ₅ O _{8.50}	C ₁₀ H ₁₅ AuClN ₅ O ₅	C ₇ H ₁₅ AuCl ₄ N ₂ O ₄ S
<i>M</i> _r	533.13	1812.86	528.15	505.63	564.70	517.68	562.04
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic	Monoclinic	Orthorhombic	Orthorhombic	Orthorhombic	Triclinic
Space group	<i>P</i> 2 ₁	<i>C</i> 222 ₁	<i>C</i> 2	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	<i>P</i> $\bar{1}$
<i>a</i> (Å)	11.505(1)	12.335(3)	24.5647(9)	16.9519(19)	18.0271(6)	9.437(2)	7.6250(5)
<i>b</i> (Å)	6.879(2)	21.542(8)	6.7463(2)	6.6137(7)	7.0547(2)	10.1389(8)	10.2576(4)
<i>c</i> (Å)	11.606(1)	22.484(7)	17.7095(5)	12.0312(13)	13.5470(4)	15.812(1)	10.7160(7)
α (°)	90	90	90	90	90	90	95.281(4)
β (°)	116.94(1)	90	91.215(3)	90	90	90	107.222(6)
γ (°)	90	90	90	90	90	90	92.001(4)
<i>V</i> (Å ³)	818.9(3)	5974.5(2)	2934.17(16)	1348.9(3)	1722.85(9)	1512.9(4)	795.46(8)
<i>Z</i>	2	16	8	4	4	4	2

^a CSD⁴⁰ refcodes.**Table 3** Selected bond lengths (Å) and angles (°) for Au(III) complexes with L-histidine-containing peptides

Bond lengths (Å)	Complex					
	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)Cl]Cl·3H ₂ O ⁶³	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>) ₄ ·10H ₂ O ^{a,63}	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)–Cl]NO ₃ ·1.25H ₂ O ⁶⁵	[Au(Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ⁶⁵	[Au(L–Ala–L–His– <i>N,N',N''</i>)Cl]NO ₃ ·2.5H ₂ O ⁶⁵	[Au(Gly–Gly–L–His– <i>N,N',N''</i>)Cl]·H ₂ O ⁷⁰
Au–N(amino)	2.002(9)	2.018(8)	1.993(6)	1.987(8), 2.026(10)	2.034(13)	2.019(5)
Au–N(amide1)	1.94(1)	1.993(9)	1.999(7)	2.020(10), 2.021(10)	2.010(13)	1.995(5)
Au–N(amide2)						2.006(10)
Au–N1(imidazole)		1.987(7)	2.038(8)			
Au–N3(imidazole)	1.991(8)	1.981(8)	1.985(6)	1.996(9), 1.913(10)	1.998(11)	2.001(6)
Au–Cl	2.273(3)			2.293(3), 2.297(3)	2.294(4)	2.2869(16)
Bond angles (°)						
N(amino)–Au–N(amide1)	84.9(5)	91.2	82.4	82.8(4), 82.3(4)	84.1(5)	81.7(2)
N(amide1)–Au–N(amide2)						82.8(4)
N(amino)–Au–N3(imidazole)	175.5(6)	173.5	175.3	175.3(4), 175.4(4)	174.1(6)	175.8(2)
N(amide1)–Au–N3(imidazole)	90.7(4)	92.3	93.9	92.7(4), 93.2(4)	91.0(5)	94.2(2)
N(amide2)–Au–N3(imidazole)						100.4(4)
N(amino)–Au–Cl	89.5(4)	94.0	94.8	92.5(2), 92.2(3)	94.0(3)	92.93(17)
N(amide1)–Au–Cl	174.5(3)	174.8	175.8	174.7(3), 174.0(3)	174.2(4)	174.56(17)
N3(imidazole)–Au–Cl	94.9(3)	92.5	89.1	92.1(3), 92.4(3)	91.3(3)	91.20(17)
N(amino)–Au–N1(imidazole)		94.0	94.8			
N(amide1)–Au–N1(imidazole)		174.8	175.8			
N3(imidazole)–Au–N1(imidazole)		92.5	89.1			

^a s.u. values for valence angles not provided by the authors.

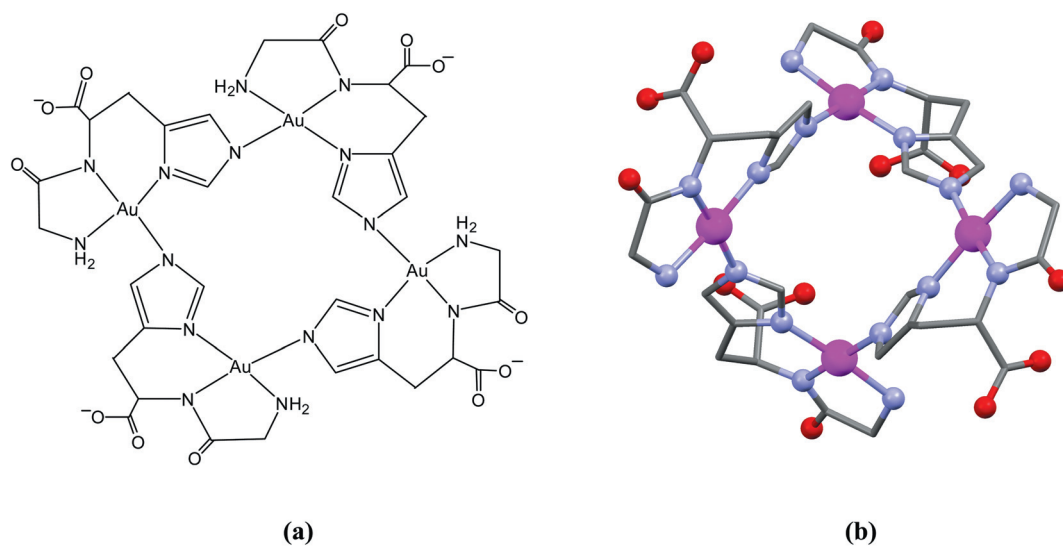


Fig. 7 Structural formula (a) and ball and stick representation (b) of cyclic tetramer $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N'',N'''})_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}]^{63}$. Hydrogen atoms have been omitted for clarity and atomic coordinates were taken from the CSD.⁴⁰

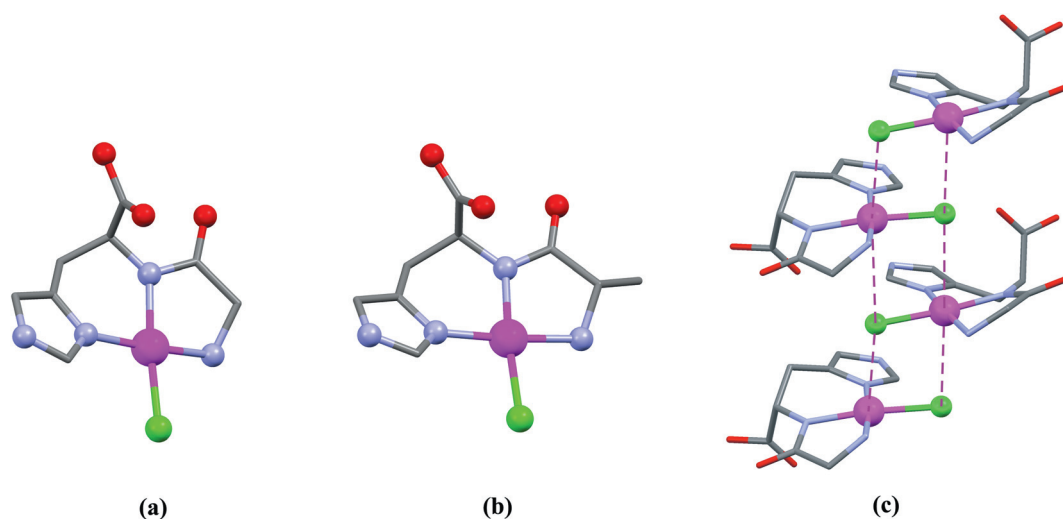


Fig. 8 Ball and stick representation of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N'')Cl}]^+$ (a) and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N'')Cl}]^+$ (b) cations in the crystals of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N'')Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ and $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-N,N',N'')Cl}]\text{NO}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, respectively and antiparallel arrangement of Au-Cl dipoles leading to the extension of the coordination sphere of gold(III) as seen in the crystal structure of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N,N',N'')Cl}]\text{NO}_3$ (c).⁶⁵ Hydrogen atoms have been omitted for clarity.

(Tables 1–3 and Fig. 9). As it was illustrated in Table 1 all ^1H NMR resonances of the $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-N,N',N'')Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ complex with respect to those for the free peptide were shifted downfield. Differences in the chemical shifts were caused by tetradentate coordination of the peptide through the terminal amino group, two deprotonated peptide nitrogens, and N3 imidazole nitrogen.⁷⁰ The coordination mode of the tripeptide and square-planar geometry of $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-N,N',N'')Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ complex are presented in Fig. 9, while some relevant crystal data and selected bond lengths (\AA) and angles ($^\circ$) are reported in Tables 2 and 3. When the reaction of $[\text{AuCl}_4]^-$ and Gly-Gly-L-His peptide was performed in buffer at pH 4.00 or 5.00, along with $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-N,N',N'')}]^+$ complex,

an imidazole-bridged polymer was also observed. However, when this reaction was carried out at pH 6.50 to 7.00, only the product of the cross-linking process was present.⁷⁰

The pK_a values for the $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-N,N',N'')Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ complex were determined by potentiometry and additionally confirmed by ^1H NMR spectroscopy.⁷⁰ The first pK_a value of 2.58 was attributed to the carboxyl group, confirming that this group was not coordinated to Au(III). The second pK_a value of 8.63 was assigned to removal of the proton from uncoordinated NH group of the imidazole ring through across-the-ring-ionization by gold(III) attached to N3 imidazole nitrogen.⁷⁰ It is the lowest pK_a value measured so far for any metal, at which deprotonation of the imidazole NH group takes place. The

process proceeds by across-the-ring-ionization and illustrates strong electron-withdrawing properties of gold(III). The third value of 11.50 was assigned to the deprotonation of the coordinated terminal amino group of the peptide.

Most recently in our laboratory, NMR spectroscopy was applied to study the reactions of the monofunctional $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ complex with L-histidine-containing peptides, L-His-Gly and Gly-L-His, and their *N*-acetyl derivatives, Ac-L-His-Gly and Ac-Gly-L-His.⁷¹ All reactions were performed in aqueous solution in the pH range 3.00–8.50 at 25 °C and different reaction products were observed depending on the solution pH and structure of the peptide. Thus, in the reactions of the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex with peptides containing N-terminal histidine, L-His-Gly and Ac-L-His-Gly, the N3 and N1 nitrogen atoms of the imidazole ring were found to be the preferred anchoring sites of this complex. However, when L-His-Gly was reacted with $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ at pH > 5.00, ring-opening of the dien ligand and bidentate coordination of the peptide through N3 imidazole and amino nitrogens were observed. In the reactions between $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and peptides containing C-terminal histidine, Gly-L-His and Ac-Gly-L-His, three final products with different coordination modes of the peptides, including monodentate through N3, bidentate through N3 and deprotonated amide for Ac-Gly-L-His, and tridentate coordination through the N3, deprotonated amide and amino nitrogen atoms for Gly-L-His were observed. No binding of the carboxylate oxygen atom to Au(III) was observed by ¹³C NMR spectroscopy for all investigated reactions under above mentioned experimental conditions.⁷¹

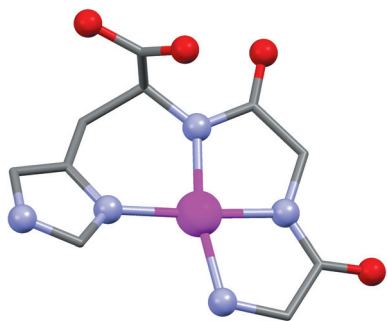


Fig. 9 Ball and stick representation of $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-N,N',N''})\text{Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}$.⁷⁰ Hydrogen atoms have been omitted for clarity and atomic coordinates were taken from CSD.⁴⁰

L-Cysteine- and methionine-containing peptides

The redox reaction between glutathione (GSH, γ -L-Glu-L-Cys-Gly) and tetracyanoaurate(III), $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ was investigated in aqueous solution at pH 7.40 by UV-Vis, ¹³C NMR and electro-spray ionization mass spectroscopy (ESI-MS).^{72,73} It was found that the reduction of $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ by glutathione proceeded through two intermediates, $[\text{Au}(\text{CN})_3(\text{GS})]^{2-}$ and $[\text{Au}(\text{CN})_2(\text{GS})_2]^{3-}$. These intermediate species further react with an additional molecule of glutathione to generate $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ and glutathione disulfide (GSSG^{2-}) as the final products of the reaction.^{72,73}

The reaction pathway of gold(III)-induced oxidation of methionine-containing peptides, namely glycyl-D,L-methionine (Gly-D,L-Met) and its *N*-acetyl derivative (Ac-Gly-D,L-Met) was studied by ¹H NMR, UV-Vis and cyclic voltammetry (CV) techniques at pH 2.00 and room temperature.⁷⁴ It was found that gold(III) induced oxidation of the methionine residue to the corresponding sulfoxide proceeded in two steps (see Fig. 10). The first step of this reaction was very fast coordination of Au(III) to the thioether sulfur with formation of the gold(III)-peptide complex $[\text{AuCl}_3(\text{R-Gly-Met-S})]$ (R = H or Ac) as an intermediate product. This intermediate further reacts with an additional methionine residue to generate the R-Gly-Met chlorosulfonium cation as the second intermediate product, which readily undergoes hydrolysis to give the R-Gly-Met sulfoxide as the final product of this redox process. The $[\text{AuCl}_2]^-$ complex formed in the reaction with equimolar amounts of reactants showed a strong tendency to disproportionate to $[\text{AuCl}_4]^-$ and metallic gold. The finding that the oxidation of the methionine residue in Ac-Gly-D,L-Met to its sulfoxide was five times slower than that in the non-protected Gly-D,L-Met dipeptide undoubtedly confirmed that the terminal amino group of the methionine-containing peptide had an evident influence on the acceleration of this redox process.⁷⁴

The structure of the final product of gold(III)-induced oxidation of methionine-containing peptides was confirmed by X-ray crystallography (Fig. 11).⁷⁵ The crystal structure of $[\text{HGly-D,L-Met sulfoxide}]^+[\text{AuCl}_4]^-$ consists of discrete square-planar $[\text{AuCl}_4]^-$ anions and glycylmethionine sulfoxide cations. It was shown that the cations are disordered at the methionine side chain due to the presence, at the same crystal site, of two diastereomers differing in their configuration at the triply bonded S atom. However, the ratio of the two diastereomers substantially differed from 1.0 illustrating that crystallization of the oxidation product is partially diastereoselective, leading to a substantial excess of L-methionine-*R*-sulfoxide and D-methionine-

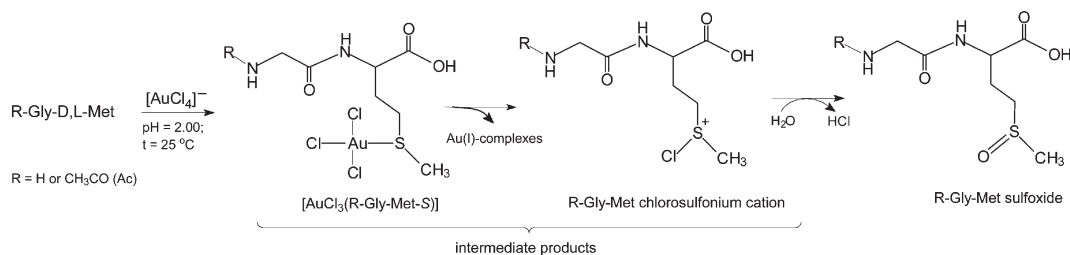


Fig. 10 Schematic presentation of the oxidation reaction of Gly-D,L-Met and Ac-Gly-D,L-Met induced by gold(III).⁷⁴

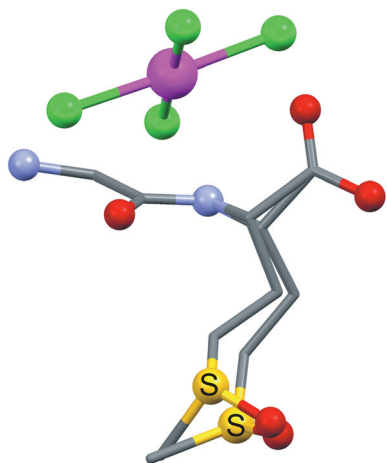


Fig. 11 Ball and stick representation of the asymmetric unit of the crystals of [HGly-Met sulfoxide]⁺[AuCl₄]⁻. Hydrogen atoms have been omitted for clarity. The disorder of the methionine sulfoxide side chain is caused by the presence at the same crystallographic site of both *R*-sulfoxide and *S*-sulfoxide attached to *L*-methionine. The ratio of the two diastereomers is 0.77 : 0.23.⁷⁵

S-sulfoxide over *L*-methionine-*S*-sulfoxide, and *D*-methionine-*R*-sulfoxide.

Other peptides

Coordination abilities of the three *L*-phenylalanine-containing peptides, *L*-alanyl-*L*-phenylalanine (*L*-Ala-*L*-Phe), *L*-phenylalanyl-*L*-phenylalanine (*L*-Phe-*L*-Phe) and glycyl-*L*-phenylalanyl-glycine (Gly-*L*-Phe-Gly), to Au(III) ion in solution and in the solid state were studied by spectroscopic techniques and theoretical calculations.^{76–78} In the reaction of *L*-Ala-*L*-Phe with [AuCl₄]⁻ only mononuclear [Au(*L*-Ala-*L*-Phe-*N,O*)Cl₂]⁻ complex was formed with bidentate coordination of the dipeptide through the oxygen atom of the carboxyl group and deprotonated of the peptide nitrogen.⁷⁶ However, in the reaction of Au(III) ion with *L*-Phe-*L*-Phe only monodentate coordination via the oxygen atom of the carboxyl group with formation of the [Au(*L*-Phe-*L*-Phe-*O*)Cl₃]⁻ complex was observed.⁷⁷ Meanwhile, tripeptide Gly-*L*-Phe-Gly acted as a tetradentate ligand coordinating to the metal ion through the terminal amino group, two deprotonated peptide nitrogens and carboxylate oxygen.⁷⁸

Mononuclear gold(III) complexes with two tryptophan-containing dipeptides, *L*-tryptophyl-*L*-phenylalanine (*L*-Trp-*L*-Phe) and *L*-tyrosyl-*L*-tryptophan (*L*-Tyr-*L*-Trp), were characterized by applying UV-Vis, IR and NMR spectroscopy.⁷⁹ In addition, the structures of these complexes were confirmed by density functional theory (DFT) calculations. The tridentate coordination of these peptides and square planar geometry of [Au(*L*-Trp-*L*-Phe-*N,N',O*)Cl] and [Au(*L*-Tyr-*L*-Trp-*N,N',O*)Cl]·H₂O with maximal deviation of total planarity less than 0.9° were notified. The same mode of coordination was also observed in the reaction of glycyl-*L*-serine (Gly-*L*-Ser) and [AuCl₄]⁻ and the solid form of the [Au(Gly-*L*-Ser-*N,N',O*)Cl] complex was characterized by NMR and IR techniques.⁸⁰ No evidence was found for the involvement of the hydroxyl group of seryl residue in this coordination reaction.

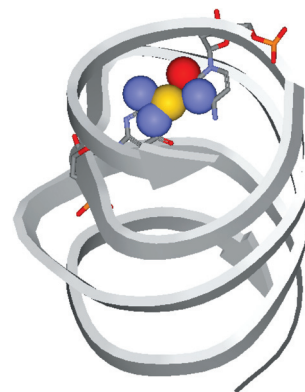


Fig. 12 Gold(III) mediated G–C base pair in the crystal structure of RNA duplex (PDB accession code 2OIJ).^{82,83} This figure as well as Fig. 13 and 14 were drawn using Accelrys DS ViewerPro program.⁸⁴ The RNA or protein chain, or the part of it near the metal site, are shown as a ribbon, while the G–C base pair (or the side chains of the donor amino acid residues) are shown in ‘stick’ form; metal ions, donor atoms and oxygen atoms of water molecules are shown as spheres.

Reactions of gold(III) complexes with proteins

Recent findings by Messori *et al.* showed that most of the cytotoxic gold(III) complexes have a weak binding affinity for DNA, which is the primary target for platinum(II) antitumor drugs.^{19,81} However, a crystallographic study of the binding of metal ions to RNA duplexes confirmed the binding of the Au(III) ion exactly between the Watson–Crick sites of a G–C base pair after deprotonation of the N1 atom of the guanine base.⁸² The binding of the Au(III) ion to one oxygen and three nitrogen atoms of RNA in a square-planar fashion clearly perturbed the base pair but did not disrupt it (Fig. 12).^{83,84} Also, it was found that cytotoxic gold complexes have shown high reactivity toward different model proteins.^{19,81} Consequently, the gold–protein interactions are thought to be responsible for cytotoxic effects produced by gold-based drugs. Different proteins have been reported as targets for cytotoxic gold complexes, including thioredoxin reductase (TrxR),⁸⁵ the proteasome,⁸⁶ cysteine proteases⁸⁷ as well as serum albumin (HSA), human glutathione reductase (hGR) and protein tyrosine phosphatases (PTPs).⁸⁸ Also, histone deacetylase (HDAC), protein kinase C (PKC) and cyclin-dependent kinases (CDK) have been suggested as possible targets for gold(III) complexes.⁸⁹ Moreover, gold(III) complexes were shown to efficiently react with zinc-finger PARP domains (PARP is poly-(adenosine diphosphate (ADP)-ribose) polymerase) with substitution of the Zn(II) by the Au(III) ion, and formation of the so called gold fingers.⁹⁰

Available crystallographic data⁸³ illustrate that in the gold(III) complex with mutated human H ferritin (H9X), gold(III) ions are bound to Cys140 and to histidines, His57 and His60, His118, and His173 (Fig. 13).⁹¹ Significantly, the side chains of His60 and His57 undergo conformational changes with respect to the unsoaked protein in order to accommodate the Au(III) ion. In contrast with this binding scheme is the gold(III) binding site in the *Escherichia coli* AphA enzyme (AphA is periplasmic acid phosphatase).⁹² The active site of the native enzyme hosts a Mg(II) ion, while in its AuCl₃ derivative, this ion is replaced by Au(III), without much interruption of the metal binding site.

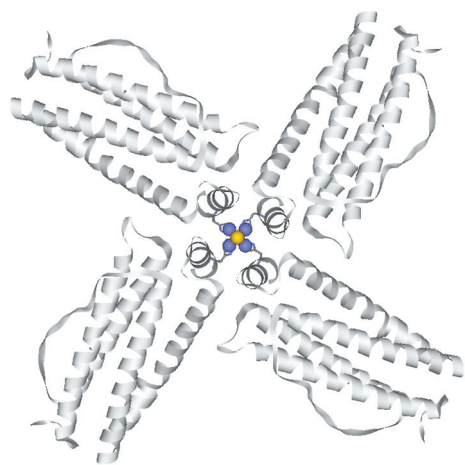


Fig. 13 One of a few gold(III) surroundings in human H ferritin mutant. Au734 is situated on a four-fold axis and surrounded by four His173 units (PDB accession code 3ES3).^{83,91}

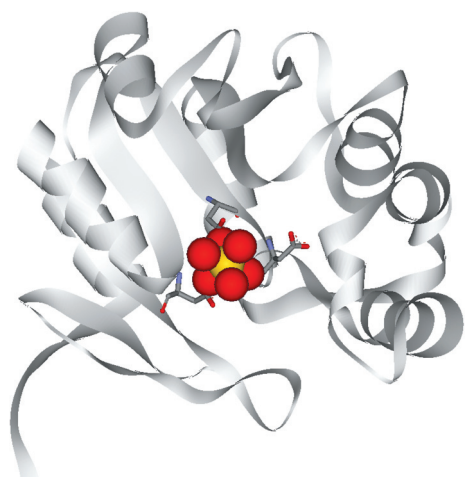


Fig. 14 Gold(III) binding site in the AuCl₃ derivative of the native *E. coli* AphA enzyme (PDB accession code 1N8N).^{83,92}

Hence, the Au(III) in the AuCl₃ derivative of AphA enzyme is surrounded exclusively by the oxygen donors and possesses octahedral coordination (Fig. 14).

The reactions of six gold(III) complexes, namely [Au(en)₂]Cl₃, [Au(dien)Cl]Cl₂, [Au(cyclam)](ClO₄)₂Cl (cyclam is 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane), [Au(terpy)Cl]Cl₂ (terpy is 2,2':6',2''-terpyridine), [Au(bipy)(OH)₂][PF₆] (bipy is 2,2'-bipyridine) and [Au(bipy^{dmb}-H)(OH)][PF₆] (bipy^{dmb} is 6-(1,1-dimethylbenzyl)-2,2'-bipyridine), with bovine serum albumin (BSA) were studied using different spectroscopic methods and biochemical separation techniques.⁹³ The obtained results showed that the interactions of [Au(en)₂]³⁺ and [Au(cyclam)]³⁺ with BSA protein were relatively weak and electrostatic in nature. At variance with this, tight metal–protein adducts are formed in the reactions of [Au(dien)Cl]Cl₂ and [Au(bipy^{dmb}-H)(OH)][PF₆] with BSA. It was suggested that formation of the gold(III)–protein adducts in these reactions proceeded through the coordination of Au(III) to the imidazole side chains of surface histidine residues of the protein. The stability of these adducts was investigated under

physiologically relevant conditions and it was found that complete detachment of the metal from the protein has occurred only after the addition of the excess of cyanide. However, [Au(terpy)Cl]Cl₂ and [Au(bipy)(OH)₂][PF₆] complexes, which are the stronger oxidizing agents in the investigated series, react with protein side chains oxidizing them, thereby being reduced to Au(I). The adduct formed in the reaction of [Au(bipy)(OH)₂][PF₆] and BSA was also studied by X-ray absorption near-edge spectroscopy (XANES) and extended X-ray absorption fine structure (EXAFS).⁹⁴ Gold(III) reduction with concomitant release of the bipyridyl ligand was undoubtedly confirmed by XANES technique. Furthermore, EXAFS measurements showed that this reduction process led to the formation of gold(I)–protein species, in which Au(I) was anchored to the protein nitrogen atoms.

Reactivity of the [Au(bpMe)Cl₂][PF₆] complex (bpMe is 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine) towards the model protein ubiquitin was investigated by ESI-MS technique.⁹⁵ The gold(III) complex was reacted with ubiquitin in a 3 : 1 molar ratio during 24 h at 37 °C and an adduct was detected in the resulting spectrum. It was found that this reaction proceeded through the reduction of Au(III) to Au(I) with concomitant detachment of the bipyridyl ligand.

The interactions of two dinuclear gold(III) complexes, namely [Au₂(μ-O)₂(bipy)₂][PF₆]₂ and [Au₂(μ-O)₂(6,6'-diMe bipy)₂][PF₆]₂ (6,6'-diMe is 6,6'-dimethyl-2,2'-bipyridine), with a few model proteins, human serum albumin, cytochrome *c* and ubiquitin, were investigated in detail by various spectroscopic techniques.⁹ It was shown that both complexes manifested a high reactivity toward the mentioned model proteins. Thus, in these reactions, reduction of Au(III) associated with the cleavage of a gold–gold dioxo bridge and with the release of the bipyridyl ligands has occurred. Also, it was found that the resulting Au(I) ion remained attached to the protein. These findings are in accordance with the results obtained for the reaction of [Au₂(μ-O)₂(6,6'-diMe bipy)₂][PF₆]₂ with human serum apotransferrin by using XANES and EXAFS techniques.⁹⁴ However, recent mechanistic studies on two dinuclear organogold(III) compounds showing appreciable antiproliferative properties, *i.e.* [Au₂(μ-O)(bipy^{mb}-H)₂][PF₆]₂, where bipy^{mb} is 6-(1-methylbenzyl)-2,2'-bipyridine and [Au₂(μ-O)(bipy^{dmb}-H)₂][PF₆]₂, revealed that these complexes manifested a far higher stability than several other classes of cytotoxic gold(III) compounds under physiological like conditions even in the presence of ascorbic acid and glutathione.⁹⁶ In the reactions with hen egg white lysozyme (HEWL) and horse heart cyt *c* used as model proteins, these two complexes form monometallic adducts, where the gold center remains in the oxidation state +3 and maintains its ligand. This implies that in these reactions, the cleavage of the oxygen bridge with the conversion of the bimetallic complexes into monometallic species has occurred. In spite of the apparent stability of their oxidation state +3 these complexes still manifest appreciable cytotoxic properties when challenged against a representative panel of 12 human tumor cell lines.

The reactions of K[Au(sac)₃Cl] and Na[Au(sac)₄] complexes (sac is saccharinate ligand) with the model proteins, cytochrome *c* and lysozyme, were monitored by ESI-MS technique.⁹⁷ It was found that these gold(III) complexes caused moderate protein metallation with formation of tetragold adducts.

Recent findings in the field of gold(III) reactions with proteins showed that the selenoenzyme thioredoxin reductase (TrxR) seems to be a very specific target for cytotoxic gold complexes.^{85,98} This enzyme contains a cysteine–selenocysteine redox pair that is involved in the regulation of the intracellular redox balance.⁹⁹ The investigation of the mechanism of Trx inhibition by a series of gold(I) and gold(III) complexes showed that these compounds produced potent enzyme inhibition only after its pre-reduction with NADPH, indicating that Trx inhibition was the result of protein structural changes taking place upon cofactor binding.¹⁰⁰ Matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight (MALDI-Tof) mass spectrometry provided evidence for extensive TrxR metallation. While the effects produced by gold(I) complexes could be ascribed to its coordination to the enzyme active site selenol, the effects caused by the various gold(III) complexes were interpreted as oxidative protein damage.¹⁰⁰ Also, it is important to note that for almost all of the known active gold(III) complexes, the active metabolites could be Au(I) species produced by Au(III) reduction *in vivo*.¹⁰¹

Concluding remarks

The article presents an overview of the results achieved in the studies of the reactions of gold(III) ion with amino acids, peptides and proteins. The amino acid L-histidine and L-histidine-containing peptides with N3 anchoring site of the imidazole ring have been shown as good coordinating ligands for gold(III). The N3-coordinated Au(III) ion appeared to be very effective in displacing the amide proton leading to the chelation of the L-histidine-containing peptides. The chelate gold(III) complexes with L-histidine-containing peptides have shown appreciable stability under physiological conditions with promising cytotoxic activity toward different tumor cell lines. However, the reactions of gold(III) with sulfur-containing amino acids and peptides primarily proceed through reduction of gold(III) and oxidation of the sulfur side chain. This redox process will presumably disrupt the secondary and tertiary structure of sulfur-containing proteins, altering and probably preventing their normal biological function. The content of this review article can contribute to the developments of new gold(III) complexes as potential antitumor agents and also can be important in relation to the severe toxicity of gold-based drugs.

Acknowledgements

This work was funded in part by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia (Project No. 172036). The authors wish to thank Dr Beata Warzajtis for preparation of Fig. 2, 6–9 and 11–14.

References

- B. Rosenberg, L. Van Camp and T. Krigas, *Nature*, 1965, **205**, 698–699.
- B. Rosenberg, L. Van Camp, J. E. Trosko and V. H. Mansour, *Nature*, 1969, **222**, 385–386.
- B. Lippert, *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anti-cancer Drug*, John Wiley & Sons Inc., New York, 1999.
- R. V. Parish, B. P. Howe, J. P. Wright, J. Mack, R. G. Pritchard, R. G. Buckley, A. M. Elsom and S. P. Fricker, *Inorg. Chem.*, 1996, **35**, 1659–1666.
- R. G. Buckley, A. M. Elsom, S. P. Fricker, G. R. Henderson, B. R. C. Theobald, R. V. Parish, B. P. Howe and L. R. Kelland, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**, 5208–5214.
- S. J. Berners-Price, Gold-based therapeutic agents: a new perspective, in *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, ed. E. Alessio, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2011, pp. 197–222.
- L. Messori, F. Abbate, G. Marcon, P. Orioli, M. Fontani, E. Mini, T. Mazzei, S. Carotti, T. O'Connell and P. Zanello, *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 3541–3548.
- G. Marcon, S. Carotti, M. Coronello, L. Messori, E. Mini, P. Orioli, T. Mazzei, M. A. Cinellu and G. Minghetti, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 1672–1677.
- A. Casini, M. A. Cinellu, G. Minghetti, C. Gabbiani, M. Coronello, E. Mini and L. Messori, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 5524–5531.
- C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, A. Guerri, M. A. Cinellu, G. Minghetti, M. Corsini, C. Rosani, P. Zanello and M. Arca, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 2368–2379.
- C.-M. Che, R. W.-Y. Sun, W.-Y. Yu, C.-B. Ko, N. Zhu and H. Sun, *Chem. Commun.*, 2003, 1718–1719.
- L. Ronconi, C. Marzano, P. Zanello, M. Corsini, G. Miolo, C. Maccà, A. Trevisan and D. Fregona, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 1648–1657.
- L. Ronconi and D. Fregona, *Dalton Trans.*, 2009, 10670–10680.
- E. R. Tiekink, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2002, **42**, 225–248.
- M. Coronello, E. Mini, B. Caciagli, M. A. Cinellu, A. Bindoli, C. Gabbiani and L. Messori, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 6761–6765.
- I. Ott, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 1670–1681.
- X. Wang and Z. Guo, *Dalton Trans.*, 2008, 1521–1532.
- R. W.-Y. Sun and C.-M. Che, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 1682–1691.
- S. Nobili, E. Mini, I. Landini, C. Gabbiani, A. Casini and L. Messori, *Med. Res. Rev.*, 2010, **30**, 550–580.
- A. N. Wein, A. T. Stockhausen, K. I. Hardcastle, M. R. Saadein, S. Peng, D. Wang, D. M. Shin, Z. Chen and J. F. Eichler, *J. Inorg. Biochem.*, 2011, **105**, 663–668.
- T. G. Appleton, *Coord. Chem. Rev.*, 1997, **166**, 313–359.
- E. Farkas and I. Sóvágó, Metal complexes of amino acids and peptides, in *Specialist Periodical Reports, Amino Acids, Peptides and Protein*, ed. G. C. Barrett and J. S. Davies, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1998, vol. 29; 2000, vol. 31; 2002, vol. 33.
- H. Sigel and R. B. Martin, *Chem. Rev.*, 1982, **82**, 385–426.
- I. Sóvágó, Metal complexes of peptides and their derivatives, in *Bio-coordination Chemistry*, ed. K. Burger, Ellis Horwood, New York, 1990, pp. 135–184.
- A. Iakovidis and N. Hadjiliadis, *Coord. Chem. Rev.*, 1994, **135–136**, 17–63.
- L. D. Pettit, J. E. Gregor and H. Kozłowski, Complex formation between metal ions and peptides, in *Perspectives on Bioinorganic Chemistry*, ed. R. W. Hay, J. R. Dilworth and K. B. Nolan, Jai Press Ltd, London, 1991, vol. 1, pp. 1–41.
- L. D. Pettit and R. A. Robinson, Metal-peptide complex formation, in *Handbook of Metal-Ligand Interaction in Biological Fluids*, ed. G. Berthou, Marcel Dekker Inc., New York, vol. 1, 1995, part 3, ch. 2.
- W. Bal, M. Dyba and H. Kozłowski, *Acta Biochim. Pol.*, 1997, **44**, 467–476.
- H. Kozłowski, W. Bal, M. Dyba and T. Kowalik-Jankowska, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **184**, 319–346.
- P. Tsvieriotis and N. Hadjiliadis, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **190–192**, 171–184.
- H. Kozłowski, T. Kowalik-Jankowska and M. Jeżowska-Bojczuk, *Coord. Chem. Rev.*, 2005, **249**, 2323–2334.
- T. Kowalik-Jankowska, H. Kozłowski, E. Farkas and I. Sóvágó, Nickel ion complexes of amino acids and peptides, in *Metal Ions in Life Science*, ed. A. Sigel, H. Sigel and R. K. O. Sigel, John Wiley & Sons, 2007, vol. 2, pp. 63–108.
- I. Sóvágó and K. Ősz, *Dalton Trans.*, 2006, 3841–3854.
- C. G. Agoston, T. K. Jankowska and I. Sóvágó, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1999, 3295–3302.
- J. Zou, Z. Guo, J. A. Parkinson, Y. Chen and P. J. Sadler, *Chem. Commun.*, 1999, 1359–1360.
- J. Zou, J. A. Parkinson and P. J. Sadler, *J. Chin. Chem. Soc.*, 2002, **49**, 499–504.
- P. K. Sen, N. Gani, J. K. Midya and B. Pal, *Transition Met. Chem.*, 2008, **33**, 229–236.
- P. K. Sen, N. Gani, J. K. Midya and B. Pal, *Int. J. Chem. Kinet.*, 2009, **41**, 473–482.

- 39 T. Yang, C. Tu, J. Zhang, L. Lin, X. Zhang, Q. Liu, J. Ding, Q. Xu and Z. Guo, *Acta Crystallogr.*, 2003, 3419–3424.
- 40 F. H. Allen, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, 2002, **58**, 380–388.
- 41 I. J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edgington, M. K. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson and R. Taylor, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, 2002, **58**, 389–397.
- 42 R. J. Sundberg and R. B. Martin, *Chem. Rev.*, 1974, **74**, 471–517.
- 43 S. Timári, C. Kállay, K. Ősz, I. Sóvágó and K. Várnagy, *Dalton Trans.*, 2009, 1962–1971.
- 44 J. A. Cuadrado, W. Zhang, W. Hang and V. Majidi, *J. Environ. Monit.*, 2000, **2**, 355–359.
- 45 V. Soni, R. S. Sindal and R. N. Mehrotra, *Polyhedron*, 2005, **24**, 1167–1174.
- 46 B. A. Al-Maythaly, A. A. Isab, M. I. M. Wazeer and A. Ibdah, *Inorg. Chim. Acta*, 2010, **363**, 3200–3207.
- 47 M. Milovanović, A. Djeković, V. Volarević, B. Petrović, N. Arsenijević and Ž. D. Bugarčić, *J. Inorg. Biochem.*, 2010, **104**, 944–949.
- 48 D. H. Brown and W. E. Smith, *ACS Symp. Ser.*, 1983, **209**, 401–418.
- 49 W. E. Smith and J. Reglinski, *Perspect. Bioinorg. Chem.*, 1991, **1**, 183–208.
- 50 C. F. Shaw III, M. P. Cancro, P. L. Witkiewicz and J. E. Eldridge, *Inorg. Chem.*, 1980, **19**, 3198–3201.
- 51 P. L. Witkiewicz and C. F. Shaw III, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1981, 1111–1114.
- 52 C. F. Shaw III, G. Schmitz, H. O. Thompson and P. L. Witkiewicz, *J. Inorg. Biochem.*, 1979, **10**, 317–330.
- 53 B. A. Al-Maythaly, M. I. M. Wazeer and A. A. Isab, *Inorg. Chim. Acta*, 2010, **363**, 3244–3253.
- 54 F. K. Keter, S. O. Ojwach, O. A. Oyetunji, I. A. Guzei and J. Darkwa, *Inorg. Chim. Acta*, 2009, **362**, 2595–2602.
- 55 E. Bordignon, L. Cattalini, G. Natile and A. Scaturin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1973, 878–879.
- 56 G. Natile, E. Bordignon and L. Cattalini, *Inorg. Chem.*, 1976, **15**, 246–248.
- 57 A. V. Vujačić, J. Z. Savić, S. P. Sovilj, K. Mészáros Szécsényi, N. Todorović, M. Ž. Petković and V. M. Vasić, *Polyhedron*, 2009, **28**, 593–599.
- 58 G. Annibale, L. Canovese, L. Cattalini and G. Natile, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1980, 1017–1021.
- 59 B. Đ. Glišić, S. Rajković, M. D. Živković and M. I. Djuran, *Bioorg. Chem.*, 2010, **38**, 144–148.
- 60 B. B. Koleva, S. Zareva, Ts. Kolev and M. Spitteller, *J. Coord. Chem.*, 2008, **61**, 3534–3548.
- 61 Ts. Kolev, B. B. Koleva, S. Y. Zareva and M. Spitteller, *Inorg. Chim. Acta*, 2006, **359**, 4367–4376.
- 62 S. L. Best, M. I. Djuran and P. J. Sadler, *Met.-Based Drugs*, 1994, **1**, 509.
- 63 M. Wienken, B. Lippert, E. Zangrando and L. Randaccio, *Inorg. Chem.*, 1992, **31**, 1983–1985.
- 64 S. Carotti, G. Marcon, M. Marussich, T. Mazzei, L. Messori, E. Mini and P. Orioli, *Chem.-Biol. Interact.*, 2000, **125**, 29–38.
- 65 U. Rychlewska, B. Warzajtis, B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković and M. I. Djuran, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 8906–8913.
- 66 M. Wienken, E. Zangrando, L. Randaccio, S. Menzer and B. Lippert, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1993, 3349–3357.
- 67 S. Rajković, C. Kállay, R. Serényi, G. Malandrinos, N. Hadjiliadis, D. Sanna and I. Sóvágó, *Dalton Trans.*, 2008, 5059–5071.
- 68 E. Farkas, I. Sóvágó and A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1983, 1545–1551.
- 69 M. Suzuki, M. Abe, T. Ueno, S. Abe, T. Goto, Y. Toda, T. Akita, Y. Yamada and Y. Watanabe, *Chem. Commun.*, 2009, 4871–4873.
- 70 S. L. Best, T. K. Chattopadhyay, M. I. Djuran, R. A. Palmer, P. J. Sadler, I. Sóvágó and K. Várnagy, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1997, 2587–2596.
- 71 B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran, submitted for publication.
- 72 A. J. Canumalla, N. Al-Zamil, M. Phillips, A. A. Isab and C. F. Shaw III, *J. Inorg. Biochem.*, 2001, **85**, 67–76.
- 73 P. M. Yangyuru, J. W. Webb and C. F. Shaw III, *J. Inorg. Biochem.*, 2008, **102**, 584–593.
- 74 B. Đ. Glišić, S. Rajković, Z. Stanić and M. I. Djuran, *Gold Bull.*, 2011, **44**, 91–98.
- 75 U. Rychlewska, B. Warzajtis, B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 2010, **66**, 51–54.
- 76 B. B. Koleva, Ts. Kolev, S. Y. Zareva and M. Spitteller, *J. Mol. Struct.*, 2007, **831**, 165–173.
- 77 B. B. Ivanova, *J. Coord. Chem.*, 2005, **58**, 587–593.
- 78 B. B. Koleva, Ts. Kolev, M. Lamshöft and M. Spitteller, *Transition Met. Chem.*, 2008, **33**, 911–919.
- 79 B. B. Koleva, Ts. Kolev and M. Spitteller, *Inorg. Chim. Acta*, 2007, **360**, 2224–2230.
- 80 Ts. Kolev, B. B. Ivanova and S. Y. Zareva, *J. Coord. Chem.*, 2007, **60**, 109–115.
- 81 A. Casini, C. Hartinger, C. Gabbiani, E. Mini, P. J. Dyson, B. K. Keppler and L. Messori, *J. Inorg. Biochem.*, 2008, **102**, 564–575.
- 82 E. Ennifar, P. Walter and P. Dumas, *Nucleic Acids Res.*, 2003, **31**, 2671–2682.
- 83 Protein Data Bank (www.rcsb.org), accession codes 2OIJ, 3ES3, 1N8N.
- 84 *Accelrys DS ViewerPro, V. 5.0*, Accelrys, San Diego, CA.
- 85 A. Bindoli, M. P. Rigobello, G. Scutari, C. Gabbiani, A. Casini and L. Messori, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 1692–1707.
- 86 A. Casini and L. Messori, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2011, **11**, 2647–2660.
- 87 A. Chircorian and A. M. Barrios, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, **14**, 5113–5116.
- 88 K. P. Bhabak, B. J. Bhuyan and G. Mugesh, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 2099–2111.
- 89 A. Casini, G. Kelter, C. Gabbiani, M. A. Cinellu, G. Minghetti, D. Fregona, H.-H. Fiebig and L. Messori, *JBIC, J. Biol. Inorg. Chem.*, 2009, **14**, 1139–1149.
- 90 F. Mendes, M. Groessl, A. A. Nazarov, Y. O. Tsybin, G. Sava, I. Santos, P. J. Dyson and A. Casini, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 2196–2206.
- 91 C. A. Butts, J. Swift, S. Kang, L. Di Costanzo, D. W. Christianson, J. G. Saven and I. J. Dmochowski, *Biochemistry*, 2008, **47**, 12729–12739.
- 92 V. Calderone, C. Forleo, M. Benvenuti, M. C. Thaller, G. M. Rossolini and S. Mangani, *J. Mol. Biol.*, 2004, **335**, 761–773.
- 93 G. Marcon, L. Messori, P. Orioli, M. A. Cinellu and G. Minghetti, *Eur. J. Biochem.*, 2003, **270**, 4655–4661.
- 94 L. Messori, A. Balerna, I. Ascone, C. Castellano, C. Gabbiani, A. Casini, C. Marchioni, G. Jaouen and A. Congiu Castellano, *JBIC, J. Biol. Inorg. Chem.*, 2011, **16**, 491–499.
- 95 A. Casini, M. C. Diawara, R. Scopelliti, S. M. Zakeeruddin, M. Grätzel and P. J. Dyson, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 2239–2245.
- 96 C. Gabbiani, A. Casini, G. Kelter, F. Cocco, M. A. Cinellu, H.-H. Fiebig and L. Messori, *Metallomics*, 2011, **3**, 1318–1323.
- 97 L. Maiore, M. A. Cinellu, E. Michelucci, G. Moneti, S. Nobili, I. Landini, E. Mini, A. Guerri, C. Gabbiani and L. Messori, *J. Inorg. Biochem.*, 2011, **105**, 348–355.
- 98 C. Gabbiani, G. Mastrobuoni, F. Sorrentino, B. Dani, M. P. Rigobello, A. Bindoli, M. A. Cinellu, G. Pieraccini, L. Messori and A. Casini, *Med. Chem. Commun.*, 2011, **2**, 50–54.
- 99 K. Fritz-Wolf, S. Urig and K. Becker, *J. Mol. Biol.*, 2007, **370**, 116–127.
- 100 A. Casini, *J. Inorg. Biochem.*, 2012, DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.12.007.
- 101 S. J. Berners-Price and A. Filipovska, *Metallomics*, 2011, **3**, 863–873.

The reactions of the monofunctional $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex with L-histidine-containing dipeptides: dependence of complex formation on the dipeptide structure

BILJANA Đ. GLIŠIĆ, SNEŽANA RAJKOVIĆ and MILOŠ I. DJURAN*

Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P. O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

The course of the reactions between the monofunctional $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex with L-histidine-containing dipeptides, L-histidyl-glycine (L-His-Gly) and glycyl-L-histidine (Gly-L-His), was studied by application of ^1H NMR spectroscopy. All reactions were performed in aqueous solution at $3.50 \leq \text{pD} \leq 5.50$ and at ambient temperature. In the reaction of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ with L-His-Gly only complex **1** with the N3-monodentate coordinated dipeptide was formed. The reaction was completed within 3 min and this complex was very stable during several days with no release of the dien ligand from Au(III). However, in the reaction of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ with Gly-L-His, depending from the pD, different Au(III)-dipeptide complexes were observed. When this reaction was carried out at $3.50 \leq \text{pD} \leq 4.50$ only complex **4** with tridentate coordination of the dipeptide *via* the amino, deprotonated amide and N3 imidazole nitrogen atoms was observed after 4 days. However, during this time at $4.50 < \text{pD} \leq 5.50$ two Au(III)-dipeptide products, complex **5** which represents an imidazole-bridged species along with the already described complex **4**, were observed. The formation of these complexes proceeds through the two intermediate products, complexes **2** and **3** with the N3-monodentate and $\text{N}_\text{P},\text{N}_3$ -bidentate coordinated dipeptide, respectively, and with complete detachment of the dien ligand.

Keywords: Gold(III)-dien complex; L-histidyl-glycine; glycyl-L-histidine; proton NMR spectroscopy

*Corresponding author: Tel.: +381 34 300 251; fax: +381 34 335 040.

E-mail address: djuran@kg.ac.rs (M. I. Djuran)

1. Introduction

Following the discovery of the anticancer properties of cisplatin [1-3], special attention was devoted to gold(III) complexes [4-10] as possible alternatives to antitumor-active platinum(II) complexes due to the fact that both Pt(II) and Au(III) ions possess the same d^8 electronic configuration and form preferentially square-planar complexes. The possible involvement of gold(III) complexes in cancer treatment initiated an interest in the area of the interactions of Au(III) with different bioligands, such as peptides and proteins [11-21]. The most important amino acid in the study of interactions of metal ions with peptides and proteins is L-histidine, since it is found in the active sites of several metalloenzymes [22-24] and of metal transport proteins [25]. It is worthwhile mentioning that only a few gold(III) complexes with L-histidine-containing peptides have been previously described: those of the dipeptide glycyl-L-histidine (Gly-L-His), $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_{\text{A}},N_{\text{P}},N_3)\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [15], $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_{\text{A}},N_{\text{P}},N_3)\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ [16], $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_{\text{A}},N_{\text{P}},N_3)\text{Cl}]\text{NO}_3$ [16] and $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_{\text{A}},N_{\text{P}},N_1,N_3)]_4\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ [15], that of the dipeptide L-alanyl-L-histidine (L-Ala-L-His), $[\text{Au}(\text{L-Ala-L-His-}N_{\text{A}},N_{\text{P}},N_3)\text{Cl}]\text{NO}_3\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ [16] and of the tripeptide glycyl-glycyl-L-histidine (Gly-Gly-L-His), $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N_{\text{A}},N_{\text{P}1},N_{\text{P}2},N_3)]\text{Cl}\cdot \text{H}_2\text{O}$ [17]. These complexes crystallized from a 1:1 reaction mixture of $[\text{AuCl}_4]^-$ and corresponding peptide at low pH values (1.50 – 2.00) and their square-planar geometries were determined by X-ray analyses [15-17]. From these investigations, it was concluded that the N3-anchored Au(III) ion is very effective in displacing of the amide

proton at $\text{pH} < 2.00$ and next step of this reaction was the very fast coordination of this metal ion to the deprotonated nitrogen atom of the amide bond(s) and to the terminal amino group, leading to the chelation of the L-histidine-containing peptide [15-17]. This chelation reaction contributes to the stabilization of the +3 oxidation state of gold and to its protection from reduction processes [13,14].

The present paper reports a ^1H NMR investigation of the reactions of the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex (dien is diethylenetriamine tridentate coordinated to Au(III) ion) with the L-histidine-containing dipeptides L-His-Gly and Gly-L-His in aqueous solution at $3.50 \leq \text{pD} \leq 5.50$ and at $25\text{ }^\circ\text{C}$. The data obtained from this study were compared with those for the reactions of $[\text{AuCl}_4]^-$ and $[\text{M}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complexes ($\text{M} = \text{Pt}(\text{II})$ and $\text{Pd}(\text{II})$) with different L-histidine-containing peptides [15,16, 26-29].

2. Experimental

2.1. Materials

Distilled water was demineralized and purified to a resistance of greater than $10\text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$. The compounds D_2O , DCl , KOD , $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, diethylenetriamine (dien), the amino acid glycine (Gly) and glycineamide (GlyNH_2) were purchased from the Sigma-Aldrich Chemical Co. Hydrochloric acid, sodium hydroxide and sodium chloride were obtained from Zorka Pharma, Šabac. The dipeptides L-histidyl-glycine (L-His-Gly) and glycy-L-histidine (Gly-L-His) were obtained from Bachem A.G. All the employed chemicals were of analytical reagent grade. The amino group in the glycine was acetylated by a standard method [30].

2.2. Synthesis of the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ complex

The complex $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ was prepared by a modification of a procedure published in the literature [31, 32]. To a solution of $\text{H}[\text{AuCl}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (354 mg, 0.9 mmol) in water (2 cm^3) was added slowly under stirring a solution containing dien (0.26 cm^3 , 2.35 mmol) and 6 M HCl (1.20 cm^3 , 7.05 mmol) in a 1:3 molar ratio, respectively. The yellow precipitate, which formed immediately, redissolved after addition of a solution of NaOH (160 mg, 4 mmol) to the reaction mixture. The resulting yellow solution was stirred for 2 h at $0\text{ }^\circ\text{C}$, and then left standing in the dark at ambient temperature to evaporate slowly. Yellow crystals of the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ complex that formed after 2 days were removed by filtration and washed with a small amount of ethanol. The yield was 227 mg (62 %). The purity of the complex was checked by elemental microanalyses, ^1H NMR spectroscopy and UV-Vis spectrophotometry. The obtained data were in accordance with those reported previously for the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ complex [33,34].

2.3. NMR measurements

All the ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Varian Gemini 2000 spectrometer at 200 and 50.3 MHz, respectively, using 5 mm NMR tubes kept at $25\text{ }^\circ\text{C}$. Sodium 3-(trimethylsilyl)propionate (TSP) was used as an internal reference. Both the ^1H and ^{13}C chemical shifts are reported in ppm.

Fresh solutions of the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex and the corresponding dipeptide (L-His-Gly and Gly-L-His) were prepared separately in D_2O as solvent at an initial concentration of 60 mM and then mixed in an NMR tube in 1:1, 2:1 and 1:2 molar ratios, respectively. In order to investigate the effect of the chloride concentration on the formation of the Au(III)-dipeptide complex, the reaction between equimolar amounts of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and L-His-Gly was performed at pD 5.00 and at $25\text{ }^\circ\text{C}$ in the presence of sodium chloride, with the Cl^- concentration varying from 0.01 to 1.00 M.

2.4. pH measurements

All pH measurements were performed at ambient temperature. The pH meter (Iskra MA 5704) was calibrated with Fischer certified buffer solutions of pH 4.00. The reported pD values were

corrected for the deuterium isotopic effect by adding 0.45 units to the pH meter reading [35]. However, in conceptual references to acidity and basicity, the common symbol pH was used.

3. Results and Discussion

3.1. Reaction of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ with L-His-Gly

When the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex was incubated with an equimolar amount of L-His-Gly dipeptide at $3.50 \leq \text{pD} \leq 5.50$ and at 25 °C, the complex **1** with N3-monodentate coordinated dipeptide was the only NMR detectable species in solution (figure 1). The formation of complex **1** was very fast and the investigated reaction was completed within 3 min. This complex was very stable during several days and no release of the dien ligand from Au(III) was observed. The formation of complex **1** was evidenced by the appearance of new resonances in the ^1H NMR spectrum at 8.22 and 7.22 ppm, corresponding to the C2H and C5H imidazole protons, respectively (figure 1 and table 1). These chemical shifts are slightly shifted upfield with increasing pD ($\Delta\delta = 0.16$ for C2H and 0.12 ppm for C5H). The chemical shifts of these protons are consistent with those previously reported for the N3-bound isomers obtained in the reactions of $[\text{M}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ ($\text{M} = \text{Pt}(\text{II})$ and $\text{Pd}(\text{II})$) with L-histidine-containing peptides (Gly-His, His-Ala, His-Gly-Ala, Pro-Gly-Ala-His and His-Pro-Gly-Ala-His) [26-29]. However, the presently investigated selective binding of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ to the N3 imidazole nitrogen atom of the L-His-Gly dipeptide is in contrast with the reactions of $[\text{M}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ with the above mentioned peptides, in which both N3- and N1-imidazole bound isomers are formed [26-29].

The pD dependence of the dipeptide consumption and complex **1** formation are shown in figure 2a. The concentrations of complex **1** and free L-His-Gly present in solution after 3 min were calculated from the integrated resonances of the C2H and C5H protons for the free and those for N3-bound dipeptide (see figure 1 and table 1). The observed chemical shifts for complex **1** are an average of those of the two species, at each pD value. The percentage of the N3-bound L-His-Gly dipeptide increased with increasing pD, which can be attributed to the deprotonation of the secondary nitrogen atom of the dien ligand, resulting in the formation of more reactive $[\text{Au}(\text{dien-H})\text{Cl}]^+$ complex (dien-H means that the secondary nitrogen atom of this tridentate coordinated ligand is deprotonated) [32, 33]. The $\text{p}K_a$ value of this deprotonation reaction is 4.00 in 0.5 M ClO_4^- or 4.70 in 0.5 M Cl^- [32, 33]. Deprotonation of the secondary amine group affected that the multiplets for the methylene dien protons at 2.93 - 3.16 and 3.52 - 3.65 ppm (pD 4.50) were shifted upfield to 2.32 - 2.65 and 3.34 - 3.52 ppm, respectively (pD 5.50). These chemical shifts are in accordance with those previously observed in the study of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ in solution by ^1H NMR spectroscopy [34]. It was shown that difference in the reactivity between $[\text{Au}(\text{dien-H})\text{Cl}]^+$ and $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ can be attributed to the greater *trans* influence of N⁻ than of NH [32]. This statement was supported from the crystallographic results of these two complexes confirming that the Au-Cl bond is longer in the $[\text{Au}(\text{dien-H})\text{Cl}]^+$ [2.330(10)] than in the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ [2.273(8) Å] complex [32]. On the basis of this structural information we could have expected an increase in the rate of chloride substitution for $[\text{Au}(\text{dien-H})\text{Cl}]^+$ in respect to $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$.

The $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and the corresponding dipeptide were mixed in 2:1 and 1:2 molar ratios, respectively. The ^1H NMR spectrum run in the first 3 min of reaction was almost identical with that obtained during the reaction between equimolar amounts of these reactants, confirming that binding of the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex proceeds only through monodentate coordination of the dipeptide *via* the N3 imidazole nitrogen atom of the L-histidine residue.

In the present study, the influence of chloride concentration on the amount of complex **1** formed in the reaction between equimolar amounts of the gold(III) complex and the L-His-Gly dipeptide at pD 5.00 was investigated (figure 3). It was shown that the amount of complex **1** markedly decreased with increasing chloride concentration. Moreover, no formation of the complex **1** was observed in the ^1H NMR spectrum after this reaction was performed in the

presence of 1.00 M NaCl. This undoubtedly confirms that competitive chloride coordination to the $[\text{Au}(\text{dien})]^{3+}$ moiety significantly reduces the amount of complex **1**.

The possible coordination of deprotonated carboxylate oxygen ($\text{p}K_{\text{a}1} = 2.32 \pm 0.02$) [36] to the $[\text{Au}(\text{dien})]^{3+}$ moiety was investigated by ^{13}C NMR measurements. No change of the chemical shift for the carboxylate carbon atom of the free dipeptide at 177.03 ppm was observed, even after prolonging the reaction time to 10 days. In addition, the absence of coordination of the carboxylate oxygen to the Au(III) center was supported by the ^1H NMR measurements for the reaction of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ with *N*-acetylated glycine (Ac-Gly). No change of the chemical shift of GlyCH_2 protons was observed during several days of the reaction. Complexes in which L-histidine-containing peptides (Gly-His, His-Ala, His-Gly-Ala, Pro-Gly-Ala-His and His-Pro-Gly-Ala-His) are coordinated through the carboxylate oxygen have never been formed during their reactions with $[\text{Pd}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ [26-29]. However, the formation of considerably stable complexes in which these peptides are coordinated *via* carboxylate oxygen to Pt(II), was previously reported only for the reactions with $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ in strongly acidic solutions [26-29].

For confirmation that the binding of the terminal amino group to the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex did not occur, a separate ^1H NMR experiment for the reaction between this complex and glycineamide (GlyNH_2) was performed in the investigated pD range. No change in the chemical shift for the GlyCH_2 protons were observed even after prolongation of the reaction to several days. This finding is in agreement with that previously reported for the reaction of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ with the tripeptide glycyl-glycyl-glycine (Gly-Gly-Gly), when it was stated that the NH_2 group of tripeptide was the only Au(III) binding site at $\text{pH} > 5.00$ [18].

3.2. Reaction of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ with Gly-L-His

When an equimolar amount of the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex was mixed with Gly-L-His dipeptide at $3.50 \leq \text{pD} \leq 5.50$ and at 25°C , two ^1H NMR detectable Au(III)-dipeptide complexes, **2** and **3**, were observed in the first 60 min (figure 4). These reaction products were distinguished by observation of the differences in the chemical shifts of the C2H and C5H imidazole protons between complex **2** or **3** and free dipeptide under the same experimental conditions (figure 5 and table 1). The chemical shifts for the imidazole protons of complex **2** are similar with those for complex **1** indicating that the same monodentate coordination mode of Gly-L-His and L-His-Gly dipeptides, respectively, occurred in these two complexes. The bidentate coordination of Gly-L-His in the complex **3** caused the opening of one Au(III)-dien ring that could be detected in the ^1H NMR spectrum by the appearance of new multiplet at 3.14 – 3.26 ppm. This multiplet is positioned between two multiplets at 2.80-3.04 and 3.43-3.59 ppm due to the methylene protons of tridentate coordinated dien ligand and its chemical shifts are almost identical with those for the free dien (see table 1). When the reaction between $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and Gly-L-His was prolonged for a further 48 h new complexes **4** and **5** were observed in the ^1H NMR spectrum. However, during this time, the previously detected resonances for complexes **2** and **3** decreased in intensity and had completely disappeared after 4 days. The formation of complexes **4** and **5** is strongly dependent from the pD value of reaction (figures 4 and 5). When the reaction was carried out at $3.50 \leq \text{pD} \leq 4.50$ only complex **4** was observed after 4 days. In this complex Gly-L-His dipeptide acts as a tridentate ligand binding to the Au(III) through the terminal amino group of glycine, N_A , the deprotonated amide nitrogen, N_P and the N3 nitrogen atom of the imidazole ring. The same complex was previously obtained in the reaction between this dipeptide and $[\text{AuCl}_4]^-$ at pH 1.50 and square-planar geometry of $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-N}_\text{A}, \text{N}_\text{P}, \text{N}3)\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ was determined by the application of ^1H NMR spectroscopy and X-ray crystallography [16]. The proton NMR chemical shifts of this complex are identical with those presently reported for the complex **4** (table 1). The tridentate coordination of Gly-L-His caused the release of dien ligand from the $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$

what can be easily detected in the ^1H NMR spectrum. The intensities of two multiplets of the methylene dien protons due to the coordinated ligand were decreased and new multiplet at 3.22-3.29 ppm appeared (table 1). Upon addition of dien ligand to the reaction mixture, the resonances of this multiplet were enhanced. The amount of complex **4** was determined from the known initial concentration of Gly-L-His and from the integrated resonance of the C2H proton of complex **4**. It was found that 10% of this complex was formed after 2 days, and 26% when the reaction was carried out at pD 4.50 during 4 days (figure 2b). However, when the reaction between $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and Gly-L-His was performed at $4.50 < \text{pD} \leq 5.50$, a new complex **5** along with the already described complex **4** appeared in solution after 4 days (figure 4). By comparison of the chemical shifts of the C2H and C5H imidazole protons of complex **5** with those previously reported for the cyclic tetramer $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_A, N_P, N_I, N_3)]_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ [15] we assume that the presently investigated complex **5** is also an imidazole-bridged oligomeric species (table 1). This assumption is supported by the fact that chloride ligand in the fourth coordination site of complex **4** can be easily replaced by the deprotonated N1 imidazole nitrogen atom of the second monomeric $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_A, N_P, N_3)]^+$ unit [15]. Moreover, the tetramer structures have been described for the Gly-L-His complexes of Ni(II) and Pd(II) formed between pH 9.00 and 10.00 [37]. Also, it was found that $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex can coordinate to the imidazole N1 atom of $[\text{Au}(\text{Gly-Gly-L-His-}N_A, N_{P1}, N_{P2}, N_3)]^+$ at pH values as low as 3.50 [38]. The total amount of complex **5** was calculated by applying the method already explained for complex **4** and it was found that about 20% of this complex had been formed at pD 5.50 after 4 days (figure 2b). In order to confirm that compound **5** represents an Au(III)-imidazole bridged species we performed an additional experiment. The solution containing $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and Gly-L-His dipeptide at pD 7.00 was left at room temperature for several days in the dark. The reddish-brown precipitate formed under these conditions was dissolved in D_2O and ^1H NMR spectrum of this precipitate was almost identical with that for the cyclic tetramer $[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_A, N_P, N_I, N_3)]_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ [15]. No influence of an excess of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ or Gly-L-His on the coordination mode of this dipeptide was observed. However, the rate of this reaction was increased by increasing the amount of the reactants.

4. Conclusions

From the present investigation, it can be stated that at $3.50 \leq \text{pD} \leq 5.50$ and at $25\text{ }^\circ\text{C}$ the monofunctional $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex selectively binds to the N3 imidazole nitrogen atom of the dipeptide containing an N-terminal histidine, L-His-Gly. This reaction was completed within 3 min and the resulted complex was very stable during several days with no release of the dien ligand from Au(III). On the other hand, in the reaction of this gold(III) complex with the dipeptide containing a C-terminal histidine, Gly-L-His, depending from the pD value, different Au(III)-dipeptide complexes were observed. This study can contribute to the better understanding of quite complicated mechanism of the reactions between antitumor-active gold(III) complexes and biomolecules, such as histidine-containing peptides.

Acknowledgements

This work was funded in part by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project No. 172036).

References

- [1] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas. *Nature*, **205**, 698 (1965).
- [2] B. Rosenberg, L. Van Camp, J.E. Trosko, V.H. Mansour. *Nature*, **222**, 385 (1969).
- [3] B. Lippert. *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, John Wiley & Sons Inc., New York (1999).

- [4] L. Messori, F. Abbate, G. Marcon, P. Orioli, M. Fontani, E. Mini, T. Mazzei, S. Carotti, T. O'Connell, P. Zanello. *J. Med. Chem.*, **43**, 3541 (2000).
- [5] G. Marcon, S. Carotti, M. Coronello, L. Messori, E. Mini, P. Orioli, T. Mazzei, M.A. Cinellu, G. Minghetti. *J. Med. Chem.*, **45**, 1672 (2002).
- [6] M. Coronello, E. Mini, B. Caciagli, M.A. Cinellu, A. Bindoli, C. Gabbiani, L. Messori. *J. Med. Chem.*, **48**, 6761 (2005).
- [7] L. Ronconi, C. Marzano, P. Zanello, M. Corsini, G. Miolo, C. Maccà, A. Trevisan, D. Fregona. *J. Med. Chem.*, **49**, 1648 (2006).
- [8] A. Casini, M.A. Cinellu, G. Minghetti, C. Gabbiani, M. Coronello, E. Mini, L. Messori. *J. Med. Chem.*, **49**, 5524 (2006).
- [9] S. Nobili, E. Mini, I. Landini, C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori. *Med. Res. Rev.*, **30**, 550 (2010).
- [10] A.N. Wein, A.T. Stockhausen, K.I. Hardcastle, M.R. Saadein, S. Peng, D. Wang, D.M. Shin, Z. Chen, J.F. Eichler. *J. Inorg. Biochem.*, **105**, 663 (2011).
- [11] B.Đ. Glišić, S. Rajković, M.D. Živković, M.I. Djuran. *Bioorg. Chem.*, **38**, 144 (2010).
- [12] P.M. Yangyuru, J.W. Webb, C.F. Shaw III. *J. Inorg. Biochem.*, **102**, 584 (2008).
- [13] B.Đ. Glišić, S. Rajković, Z. Stanić, M.I. Djuran. *Gold Bull.*, **44**, 91 (2011).
- [14] U. Rychlewska, B. Warżajtis, B.Đ. Glišić, S. Rajković, M.I. Djuran. *Acta Crystallogr. Sect. C*, **66**, 51 (2010).
- [15] M. Wienken, B. Lippert, E. Zangrando, L. Randaccio. *Inorg. Chem.*, **31**, 1983 (1992).
- [16] U. Rychlewska, B. Warżajtis, B.Đ. Glišić, M.D. Živković, S. Rajković, M.I. Djuran. *Dalton Trans.*, **39**, 8906 (2010).
- [17] S.L. Best, T.K. Chattopadhyay, M.I. Djuran, R.A. Palmer, P.J. Sadler, I. Sóvágó, K. Várnagy. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2587 (1997).
- [18] S.L. Best, M.I. Djuran, P.J. Sadler. *Metal-Based Drugs*, **1**, 509 (1994).
- [19] A. Casini, C. Hartinger, C. Gabbiani, E. Mini, P.J. Dyson, B.K. Keppler, L. Messori. *J. Inorg. Biochem.*, **102**, 564 (2008).
- [20] C. Gabbiani, G. Mastrobuoni, F. Sorrentino, B. Dani, M.P. Rigobello, A. Bindoli, M.A. Cinellu, G. Pieraccini, L. Messori, A. Casini. *Med. Chem. Commun.*, **2**, 50 (2011).
- [21] B.Đ. Glišić, U. Rychlewska, M.I. Djuran. *Dalton Trans.*, **41**, 6887 (2012).
- [22] J.A. Tainer, E.D. Getzoff, J.S. Richardson, D.C. Richardson. *Nature*, **306**, 284 (1983).
- [23] K. Ósz, Z. Nagy, G. Pappalardo, G. Di Natale, D. Sanna, G. Micera, E. Rizzarelli, I. Sóvágó. *Chem. Eur. J.*, **13**, 7129 (2007).
- [24] S. Timári, C. Kállay, K. Ósz, I. Sóvágó, K. Várnagy. *Dalton Trans.*, 1962 (2009).
- [25] S.J. Lau, B. Sarkar. *J. Biol. Chem.*, **246**, 5938 (1971).
- [26] T.G. Appleton, F.J. Pesch, M. Wienken, S. Menzer, B. Lippert. *Inorg. Chem.*, **31**, 4410 (1992).
- [27] P. Tsiveriotis, N. Hadjiliadis, G. Stavropoulos. *Inorg. Chim. Acta*, **261**, 83 (1997).
- [28] P. Tsiveriotis, N. Hadjiliadis. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 459 (1999).
- [29] P. Tsiveriotis, N. Hadjiliadis. *Coord. Chem. Rev.*, **190-192**, 171 (1999).
- [30] L. Zhu, N.M. Kostić. *Inorg. Chem.*, **31**, 3994 (1992).
- [31] G. Annibale, G. Natile, L. Cattalini. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1547 (1976).
- [32] G. Nardin, L. Randaccio, G. Annibale, G. Natile, B. Pitteri. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 220 (1980).
- [33] W.H. Baddley, F. Basolo, H.B. Gray, C. Nölting, A.J. Poë. *Inorg. Chem.*, **2**, 921 (1963).
- [34] S.L. Best, Z. Guo, M.I. Djuran, P.J. Sadler. *Metal-Based Drugs*, **6**, 261 (1999).
- [35] A. Krężel, W. Bal. *J. Inorg. Biochem.*, **98**, 161 (2004).
- [36] R.P. Agarwal, D.D. Perrin. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 268 (1975).
- [37] P.J. Morris, R.B. Martin. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **33**, 2913 (1971).
- [38] S.L. Best. *Ph.D. Thesis*, University of London (1996).

Table 1. Characteristic ^1H NMR chemical shifts observed in the reactions of L-His-Gly and Gly-L-His dipeptides with $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ complex. All spectra were recorded in D_2O solutions containing TSP as the internal reference.

Dipeptide/Au(III)-dipeptide complex	Characteristic ^1H NMR chemical shifts (δ , ppm; J_{AB} , Hz)				
	pD	Imidazole protons		Gly	dien(m) ^a
		C2H(s)	C5H(s)		
L-His-Gly	4.50	8.67	7.47	3.88 (q , $J_{\text{AB}} = 17.40$)	
$[\text{Au}(\text{dien})(\text{L-His-Gly-}N3)]^{3+}$ (1) ^b	4.50	8.22	7.22	3.88 (q , $J_{\text{AB}} = 17.40$)	2.93-3.16; 3.52-3.65
Gly-L-His	4.50	8.60	7.27	3.83 (q , $J_{\text{AB}} = 18.90$)	
$[\text{Au}(\text{dien})(\text{Gly-L-His-}N3)]^{3+}$ (2)	4.50	8.17	7.05	3.83 (q , $J_{\text{AB}} = 18.90$)	2.80-3.04; 3.43-3.59
$[\text{Au}(\text{dien-}N,N')(\text{Gly-L-His-}N_P,N3)]^{3+}$ (3)	4.50	8.24	7.33	3.83 (q , $J_{\text{AB}} = 18.90$)	2.80-3.04; 3.14-3.26; 3.43-3.59
$[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_A,N_P,N3)\text{Cl}]$ (4)	4.50	8.54	7.24	4.00 (q , $J_{\text{AB}} = 20.14$)	
$[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_A,N_P,N3)\text{Cl}]\text{NO}_3 \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ [16]	2.40	8.56	7.31	4.01 (q , $J_{\text{AB}} = 20.00$)	
Au(III)-imidazole bridged oligomer (5)	5.50	7.39; 7.21	7.14; 6.78	3.96-4.06 (m)	
$[\text{Au}(\text{Gly-L-His-}N_A,N_P,N3)]_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ [15]	5.50	7.38; 7.20	7.14; 6.79		

^aThe multiplet of the methylene protons of free dien ligand is at 3.22-3.29 ppm (pD 4.50).

^bThe chemical shifts for complex **1** are an average of those of the two species, at each pD value.

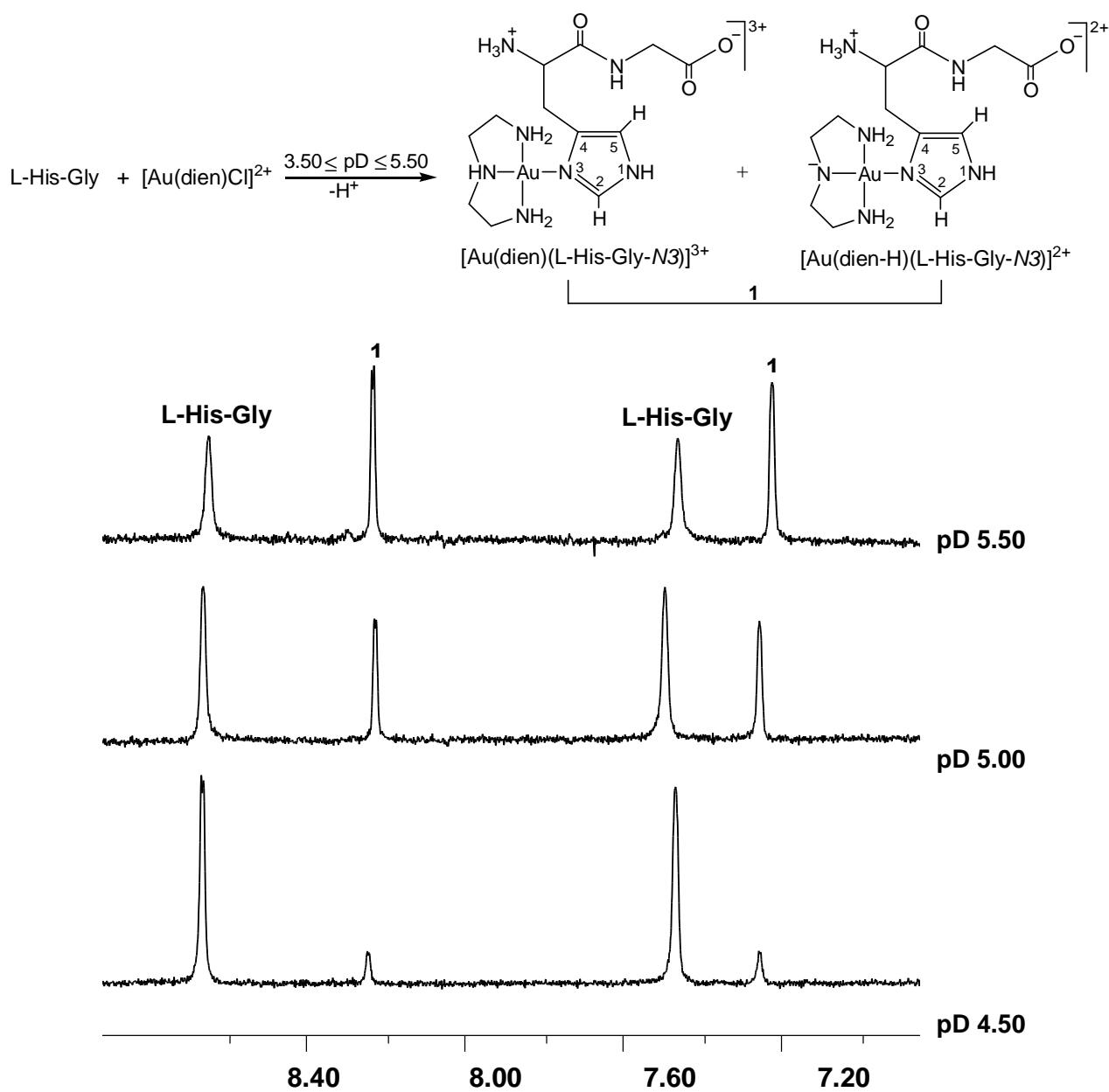


Figure 1. Schematic presentation of the reaction between $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and L-His-Gly and proton NMR spectra in the imidazole region (C2H and C5H protons) recorded after 3 min. The observed chemical shifts for complex **1** are an average of those of the two species, at each pD value.

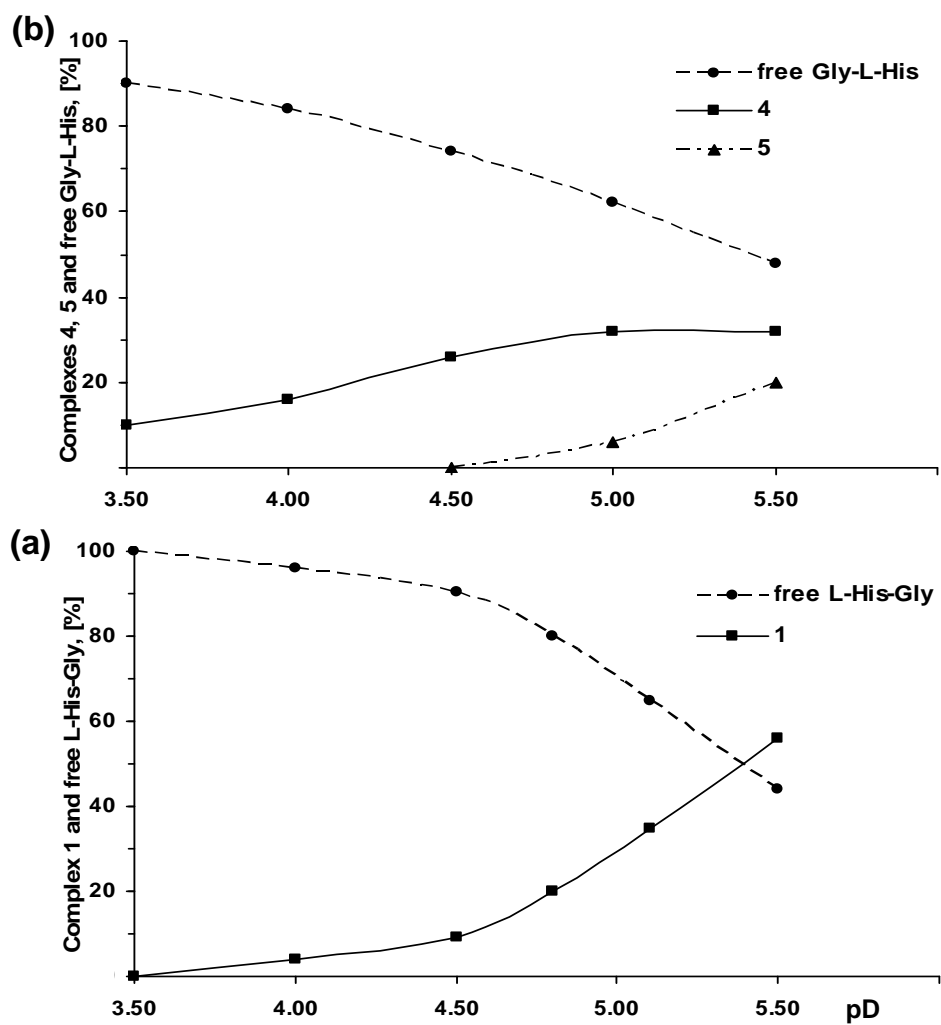


Figure 2. pD dependence of the Au(III)-dipeptide complex formation [%] for the reactions of [Au(dien)Cl]²⁺ with an equimolar amount of L-His-Gly (a) and Gly-L-His (b) dipeptides. The concentrations of complexes were determined after 3 min for 1, and after 4 days for 4 and 5.

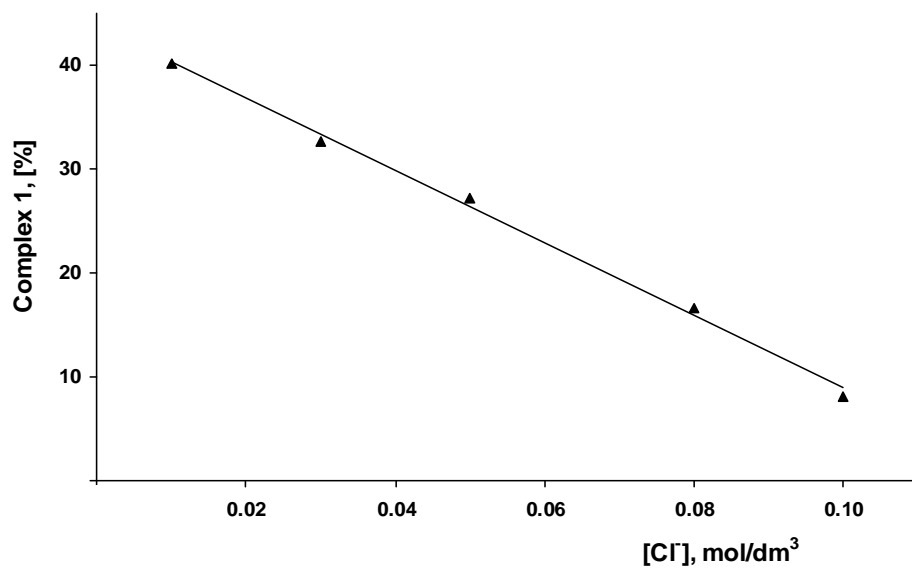


Figure 3. The influence of chloride concentration on the complex **1** formation in the reaction between equimolar amounts of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and L-His-Gly at the pD 5.00 and at 25 °C.

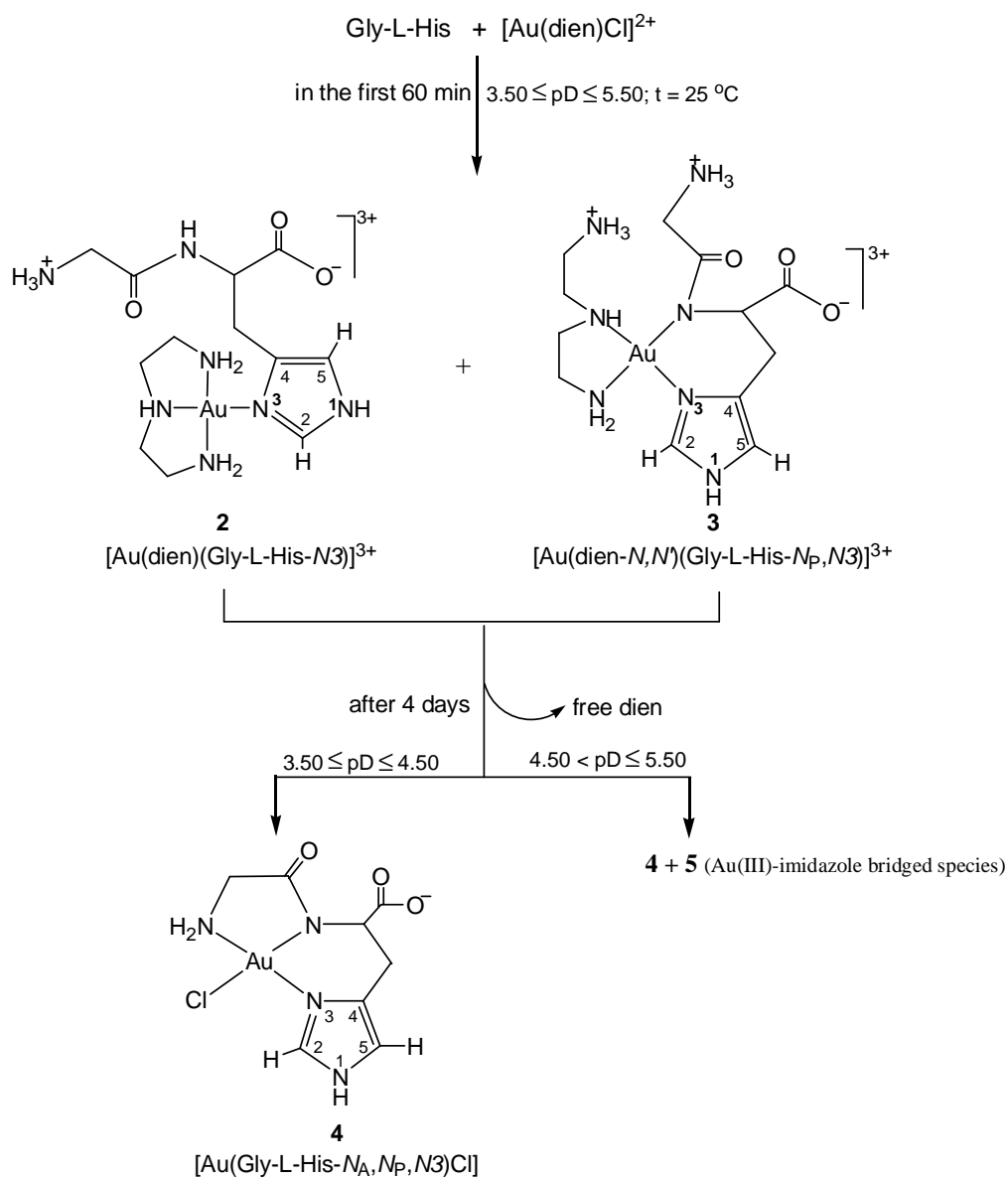


Figure 4. Schematic presentation of the reaction between [Au(dien)Cl]²⁺ and Gly-L-His. The coordination of Au(III) through the terminal amino, the deprotonated amide and the imidazole nitrogen atoms are designated as N_A, N_P and N₃, respectively.

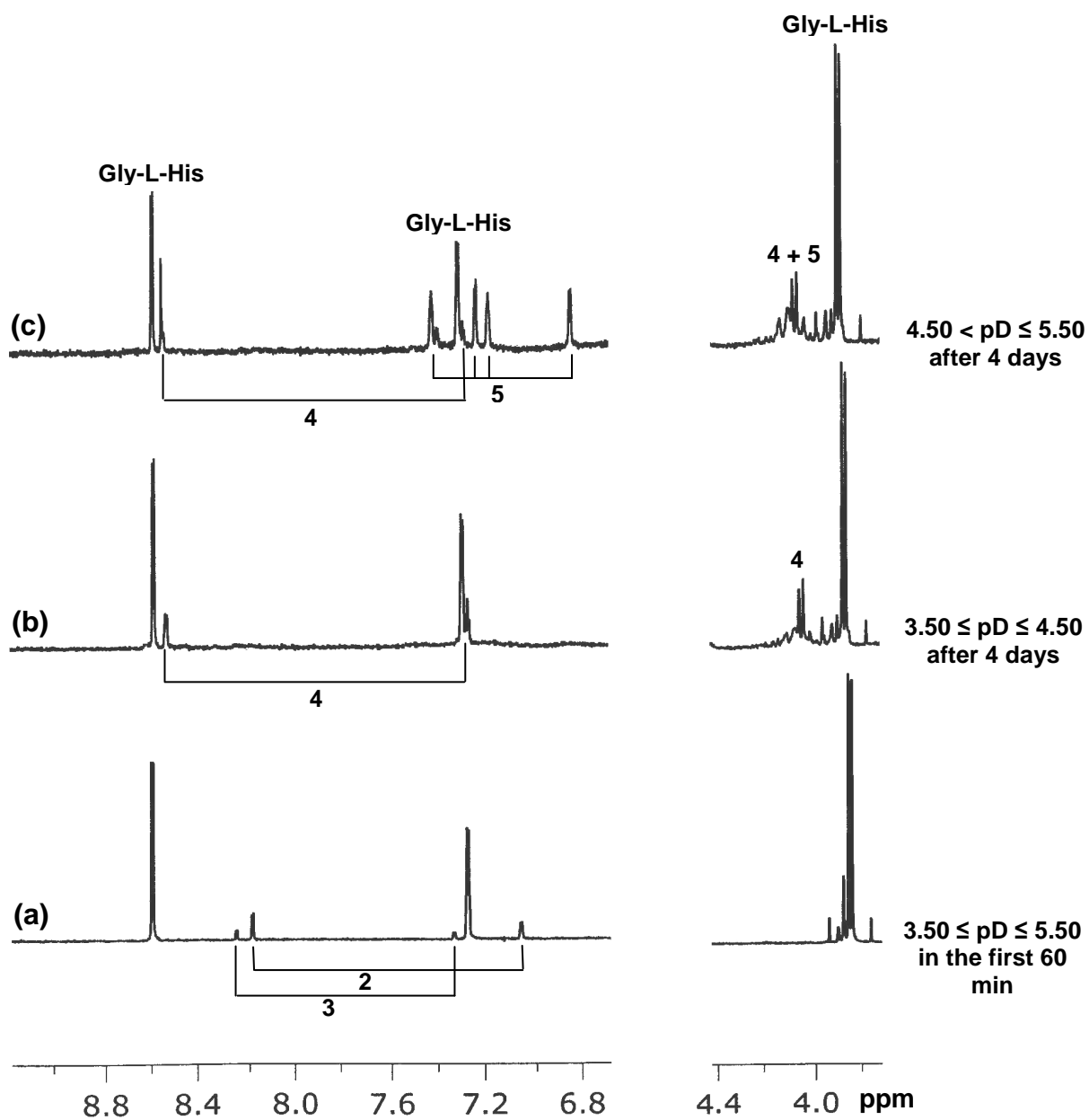


Figure 5. Parts of proton NMR spectra for the reaction between equimolar amounts of $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ and Gly-L-His recorded at pD 4.50 (a and b) and 5.50 (c).