



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Мр Јована В. Богојески

**ИСПИТИВАЊЕ КИНЕТИКЕ И МЕХАНИЗМА РЕАКЦИЈА
КОМПЛЕКСА Pt(II) И Pd(II) СА БИОЛОШКИ ЗНАЧАЈНИМ
ЛИГАНДИМА**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2011.

Аутор

Име и презиме: **мр Јована В. Богојески**

Датум и место рођења: **10.11.1980., Крагујевац**

Садашње запослење: **Природно-математички факултет, Крагујевац**

Докторска дисертација

Наслов: **Испитивање кинетике и механизма реакција комплекса Pt(II) и Pd(II) са биолошки значајним лигандима**

Број страница: **114+20**

Број слика: **43**

Број библиографских јединица: **211**

Установа и место где је рад израђен: **Природно-математички факултет, Крагујевац**

Научна област(УКД): **Хемија(54)-Неорганска хемија(546)**

Ментор: **др Живадин Д. Бугарчић**

Оцена и одбрана

Датум пријаве теме: **08.09.2010. год.**

Комисија за оцену подобности теме и кандидата:

1. **Др Живадин Д. Бугарчић, редовни професор, Природно-математички факултет, Крагујевац, Научна област: Неорганска хемија**
2. **Др Биљана Петровић, доцент, Природно-математички факултет, Крагујевац, Научна област: Неорганска хемија**
3. **Др Тања Солдатовић, доцент, Универзитет у Новом Пазару, Нови Пазар Научна област: Неорганска хемија**

Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:

1. **Др Живадин Д. Бугарчић, редовни професор, Природно-математички факултет, Крагујевац, Научна област: Неорганска хемија**
2. **Др Милош Ђуран, редовни професор, Природно-математички факултет, Крагујевац, Научна област: Неорганска хемија**
3. **Др Снежана Д. Зарић, редовни професор, Хемијски факултет, Београд, Научна област: Неорганска хемија**
4. **Др Биљана Петровић, доцент, Природно-математички факултет, Крагујевац, Научна област: Неорганска хемија**

Датум одбране докторске дисертације:

МАРКУ

Ова докторска дисертација је рађена у Институту за хемију Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу, под менторским руководством проф. др Живадина Д. Бугарчића.

Професору др Живадину Д. Бугарчићу захваљујем се на сугестијама, саветима и подршци током израде, писања и прегледа ове докторске дисертације.

Захваљујем се професорима др Милошу Ђурану и др Снежани Зарић на учешћу у комисији за преглед, оцену и одбрану тезе.

Др Биљани Петровић такође се захваљујем на учешћу у комисији за преглед, оцену и одбрану тезе. Посебно се захваљујем др. Петровић на саветима током израде и писања докторске дисертације, као и пријатељској подршци од самог почетка израде тезе.

Захвалност дугујем др Ратомиру Јелићу и др Шањи Солдатовић на помоћи током израде експеримената и обраде добијених резултата. Сарадницима из групе проф. Бугарчића захваљујем се на помоћи у завршном кориговању тезе, посебно Мирјани Ђуровић.

Породици дугујем највећу захвалност на пруженој љубави и разумевању. Родитељима захваљујем што су у најтежим тренуцима веровали у нас и пружили све за наше боље сутра, жртвујући свој живот зарад нашег. Мени остаје нада да вам на овај начин делић уложеног враћам.

Списак радова

1. Jovana Rosić , Biljana V. Petrović, Miloš I. Đuran, Živadin D. Bugarčić ;
Thermodynamic and Kinetic Studies on Reactions of Pt(II) Complexes with Pyrazole, Pyridazine and 1,2,4-Triazole
Monat. Chem., 2007, **138**, 1-11.
2. Živadin D. Bugarčić , Jovana Rosić , Biljana V. Petrović , Nadine Summa, Ralph Puchta, Rudi van Eldik ;
Kinetics and mechanism of the substitution reactions of [PtCl(bpma)]⁺, [PtCl(gly-met-S,N,N)] and their aqua analogs with L-methionine, glutathione and 5'-GMP
J. Biol. Inorg. Chem., 2007, **12**, 1141 -1150.
3. Jovana Bogojeski, Živadin D. Bugarčić, Ralph Puchta, van Eldik Rudi;
Kinetic studies on the reactions of different bifunctional platinum(II) complexes with selected nucleophiles
Eur. J. Inorg. Chem., 2010, 5439-5445.
4. Jovana Bogojeski, Živadin D. Bugarčić;
Kinetics and thermodynamic studies on reactions of [PtCl(bpma)]⁺ and [Pt(bpma)H₂O]²⁺ with some azoles and diazines.
Transition Met. Chem., 2011, **36**, 73-78.
5. Jovana Bogojeski, Ratimir Jelić, Dejan Petrović, Eberhardt Herdtweck, Peter G. Jones, Matthias Tamm, Živadin D. Bugarčić;
Equilibrium studies of the reactions of palladium(II) bis(imidazolin-2-imine) complexes with biologically relevant nucleophiles. The crystal structures of [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄ and [(BL^{iPr})PdCl₂]
Dalton Trans., 2011, **40**, 6515-6523.

Радови саопштени на међународним научним конференцијама

1. Biljana Petrović, Jovana Rosić, Živadin D. Bugarčić;
Kinetics and Mechanism of the Reactions between Pt(II) and Pt(II) Complexes with Sulfur-bonding Ligands
4th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, 2004, Belgrade, Serbia and Montenegro, July 18-21, Abstract, p 76.
2. Jovana Rosić, Tanja Soldatović, Biljana Petrović, Živadin D. Bugarčić;
Kinetics and mechanism of the substitution reactions between monofunctional Pt(II) complexes and some Sulfur and Nitrogen donor biomolecules
5th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, 2006, Ohrid, Macedonia, September 10-14, Abstract, p 562.
3. Jovana Rosić, Tanja Soldatović, Biljana Petrović, Živadin D. Bugarčić;
The interaction between Pt(II) complexes and some sulfur and nitrogen donor biomolecules
9th FIGIPAS Meeting in Inorganic Chemistry, 2007, Vienna, Austria, July 4 – 7, Book of Abstracts, PO165.
4. Jovana Rosić, Živadin D. Bugarčić;
Kinetic studies on the reactions of bifunctional platinum(II) complexes
4th EuChemMS Conference on NITROGEN LIGANDS in Coordination Chemistry, metal-organic Chemistry, Bioinorganic Chemistry a Homogenous Catalysis, 2008, Garmish-Partenkirchen, Germany, August 25-28, Abstract, p. 175.
5. Jovana Rosić, Ana Đeković, Biljana Petrović, Živadin D. Bugarčić;
The interaction between Pt(II) complexes and some sulfur and nitrogen donor Biomolecules
6th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, 2008, Sofia, Bulgaria. September 10-14, Abstract, p 174.
6. Ratomir Jelić, Jovana Bogojeski, Živadin Bugarčić;
Equilibrium of the Reactions Between Pd(II) Complexes and Some Bio-relevant Ligands
3th EuChemS Chemistry Congress, 2010, Nurnberg, Germany, August 29 - September 02, Abstract, p 87.
7. Jovana Bogojeski, Mirjana Đurović, Aleksandar Mijatović, Biljana Petrović, Živadin D. Bugarčić;
Kinetics and the mechanism of the substitution reactions of some Pt(II) and Pd(II) complexes

EICC-1, First EuCheMS Inorganic Chemistry Conference, 2011, Manchester, UK,
April 11-14, Abstract RM_P012.

Радови саопштени на националним научним конференцијама

1. Mirjana D. Đurović, Jovana V. Bogojeski, Biljana V. Petrović, Živadin D. Bugarčić;
Kinetika i mehanizam supstitucionih reakcija monofunkcionalnih Pt(II) kompleksa,
 $[(TL^{tBu})PtCl]ClO_4$ i $[PtCl(tpdm)]^+$
XLIX Savetovanje srpskog hemijskog društva, 2011, Kragujevac, Srbija,
Maj 13-14, Abstrakt str. 55.

ИЗВОД

Испитивање комплекса платине значајно је са биолошког и медицинског аспекта. Неки комплекси Pt(II) као што су цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина интензивно се користе у хемотерапији као антитуморски реагенси. Последњих 40 година велики број других платинских једињења синтетисано је са циљем да се постигне боља активност у односу на цисплатину. Недавно, почело се са синтезом неklasичних платинских комплекса, као што су Pt(IV) комплекси, који могу орално да се употребљавају, стерно заштићени Pt(II) комплекси, полинуклеарни Pt(II) комплекси, комплекси платине који садрже сумпор, итд. Мада тачан механизам којим Pt(II) комплекси испољавају своју антитуморску активност није потпуно јасан, сматра се да своју активност комплекси Pt(II) испољавају интеракцијом са молекулом ДНК, формирајући бифункционални производ. Експерименти су показали да је везивање цисплатине за ДНК кинетички а не термодинамички контролисан процес. Међутим, употреба платинских антитуморских једињења ограничена је појавом споредних ефеката и резистентности. Такође, мала растворљивост у воденим растворима је додатни ефекат који умањује клиничку употребу ових једињења.

Постоји велики број биомолекула који могу да реагују са комплексима Pt(II), као што су мали молекули, протеини и ензими. Већ у крви, где антитуморско једињење Pt(II) бива унето путем ињекције или инфузијом, постоји неколико молекула који могу да се вежу са Pt(II) комплексом. Везивање за ДНК води до промене у конформацији протеина и биолошкој активности, нарочито када су у питању ензимске реакције. Сумпор-донорски молекули имају велики афинитет према платини и формирају јако стабилну везу. Управо интеракција комплекса Pt(II) са сумпор-донорским биомолекулима повезана је са споредним ефектима као што су нефротоксичност, гастро-токсичност, ототоксичност, кардиотоксичност и неуротоксичност.

Испитивања конкурентних реакција комплекса Pt(II) у смеси са L-мет и 5'-GMP показала су да постоји трансфер платине од тиоетарског лиганда на N7-гуанин, па према томе Pt-S(тиоетар) производи представљају резервоаре платине за везивање са ДНК. Иако је супституција тиоетра гуанином уобичајена, није примећена ниједна трансформација из Pt-S(тиол) у Pt-N7 координацију.

За испитивање кинетике и механизма супституционих реакција комплексна једињења Pd(II) представљају погодне моделе, јер реагују 10^3 - 10^5 пута брже од аналогних комплекса Pt(II), при чему им је структура и понашање у растворима готово идентично. Због јако великог афинитета према сумпор- и азот-донорским лигандима, као и јако велике реактивности, селективност комплекса Pd(II) према биомолекулима је мала, што ограничава употребу ових једињења као антитуморских реагенаса. Последњих година, утврђено је да неки комплекси Pd(II) имају антитуморску активност.

У оквиру овог рада представљени су резултати добијени супституционим реакцијама различитих Pt(II) и Pd(II) комплекса са сумпор- и азот-донорским нуклеофилима. Добијени резултати представљени су следећим редом:

- Супституционе реакције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ и $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)\text{H}_2\text{O}]^+$ комплексних јона са L-мет, GSH и 5'-GMP испитиване у 0,1 M NaClO₄ као реакције псеудо-првог реда у функцији од концентрације и температуре UV-VIS спектрофотометријски. Реакције хлоридо комплекса испитиване су у присуству 10 mM NaCl и на pH око 5, док су реакције аква комплекса испитиване на pH = 2,5. $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ комплексни јон је реактивнији у односу на $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ комплекс. Такође, аква комплекси јони су реактивнији од одговарајућих хлоридо комплексних јона. Активациони параметри за све испитиване реакције указују на асоцијативни механизам. Реакције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ комплекса са 5'-GMP испитиване су ¹H NMR спектроскопијски на 298 K. pK_a вредност $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)\text{H}_2\text{O}]^+$ комплексног јона износи 5,95. ДФТ израчунавања на B3LYP/LANL2DZp хибридној теорији функционалне густине, показују да је ДФТ енергија за Pt-N7(guo) (guo је гуанозин) знатно мања у односу на Pt-S(тиоетар). Координација гуанина за L₃Pt (L₃: terpy, bpma, dien и gly-met-N,N,S) фрагмент је у свим случајевима фаворизирана. Израчунавањима добијени резултати подржавају експериментално примећену супституцију тиоеара помоћу N7-GMP.
- Испитиване су супституционе реакције комплекса *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, $[\text{Pt}(\text{SMC})\text{Cl}_2]^-$, $[\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_2]$ и $[\text{Pt}(\text{dach})\text{Cl}_2]$, са изабраним биолошки важним лигандима, као што су: 5'-GMP, L-хис и 1,2,4-триазол. Све реакције су испитиване у 25 mM хепес пуферу у присуству 5 mM NaCl на pH = 7,2. Реакције су испитиване као реакције псеудо-

првог реда у функцији од концентрације на 310 К Uv-Vis спектрофотометријски. Два консекутивна корака, при чему оба зависе од концентрације нуклеофила, запажена су у свим случајевима. Константа брзине другог-реда за оба реакциона корака опада следећим редом: $[\text{Pt}(\text{SMC})\text{Cl}_2]^- > \text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2] > [\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_2] > [\text{Pt}(\text{dach})\text{Cl}_2]$. ДФТ израчунавања показала су да је у гасној фази Pt-N7 производ стабилнији за 31 до 33 kcal/mol у односу на Pt-S(тиоетар) производ за испитиване комплексе $\text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, $[\text{Pt}(\text{SMC})\text{Cl}_2]^-$ и $[\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_2]$. Израчунавањима добијени резултати подржавају експериментално примећену супституцију тиоетра везаног за Pt(II) комплекс помоћу N7(5'-GMP). Ови резултати показују да је заиста Pt-N7(Gua) производ стабилнији у односу на Pt-S(тиоетар) производ.

- Синтетисана су два нова комплекса Pd(II) са бис(имидазолин-2-имино) лигандима, $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ и $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{PdCl}_2]$. Кристалне структуре комплекса одређене су дифракцијом X-зрака. Координациона геометрија око паладијум атома је квадратно-планарна са благом дисторзијом Pd-N1 веза, са централним азотом из TL^{tBu} лиганда износи 1.944(2), и краћа је у односу на везе са друга два азота из TL^{tBu} , 2,034(3) и 2,038(3) Å. Комплекс са BL^{iPr} има сличне дужине веза Pd-N, 2,031(2) и 2,047(2) Å. Кинетика и механизам супституционих реакција комплексног јона $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$ са нуклеофилима 5'-GMP, L-мет и L-хис испитивана је stopped-flow техником са променљивом температуром у 0,1 М NaClO₄ у присуству 10 mM NaCl на 298 К. Ред реактивности је: L-мет > 5'-GMP > L-хис. Равнотеже формирања комплекса између $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ и $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона са неким биолошки значајним лигандима (L-мет, 5'-GMP и L-хис) такође су испитиване. Дате су константе стабилности новоформираних комплекса, као и дистрибуциони дијаграми расподеле насталих комплексних честица у функцији од рН. Упоредјујући добијене вредности $\log\beta_{1,1,0}$ за 5'-GMP, L-хис и L-мет комплексе најстабилнији комплекс настаје са 5'-GMP, а затим са L-хис и L-мет у случају оба комплексна јона $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ и $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$.
- Супституционе реакције $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ и $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ комплекса са азот-донорским лигандима 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином испитиване су у 0,1 М NaClO₄ Uv-Vis спектрофотометријски. Реакције аква комплекса испитиване су на рН 2,5, а реакције хлоридо комплекса у присуству 10 mM NaCl, како би се

спречила хидролиза комплекса. Добијене вредности константи другог-реда указују на то да су комплекси са *bpta* лигандом реактивнији у односу на комплексе са диетилентриамином. У оба случаја аква комплекс је реактивнији од хлоридо комплекса. Реактивност улазних лиганата опада следећим редом: 1,2,4-триазол > пиридазин > пиразол. Активациони параметри су одређени за све реакције. Добијена негативна вредност за ентропију активирања (ΔS^\ddagger) подржава А или I_a механизам.

SUMMARY

The chemistry of platinum complexes is important from the biological and medical point of view. Some Pt(II) complexes, viz. cisplatin, carboplatin and oxaplatin, are extensively used in chemotherapy as anticancer drugs. Over the last 40 years many other platinum drugs have been developed in an attempt to improve on cisplatin. More recently, there have been efforts to direct the design of non-classical platinum complexes, such as orally active Pt(IV) complexes, sterically hindered Pt(II) complexes, polynuclear Pt(II) complexes, sulfur-containing platinum complexes, etc. Although the precise mechanism of an anti-tumour action of platinum drugs is not completely understood, the activity has been explained by the interactions between the complex and DNA primarily by forming bifunctional adducts. Experiments have demonstrated that cisplatin binding to DNA is kinetically rather than thermodynamically controlled. However, the application of platinum drugs has been greatly hampered by drug resistance and several side effects. Moreover, poor solubility in aqueous solution is also inconvenient in clinical use.

There are many other potential biomolecules that can also react with these Pt(II) complexes, such as small molecules, proteins and enzymes. In fact, already in blood, where the Pt drug is administered by injection or infusion, several molecules are available for kinetic and thermodynamic competition. The binding to DNA eventually leads to an altered protein conformation and changes in biological activity, especially when enzymatic reactions are affected. Sulfur-containing molecules have a high affinity for platinum and could form very stable bonds. Moreover, the interaction of Pt complexes with sulfur-containing biomolecules has been associated with negative phenomena such as nephrotoxicity, gastrointestinal toxicity, ototoxicity, cardiotoxicity and neurotoxicity.

Competition studies of Pt(II) complexes with L-met and 5'-GMP have demonstrated that a transfer from thioether ligand to N7-guanine site can occur, with the result that such Pt-S(thioether) adducts can presumably serve as a drug reservoir for platination at DNA. Although such substitution of thioether by guanine seems to be common, any measurable transformation from Pt-S(thiol) to Pt-N7 coordination was not observed.

For kinetic and mechanistic studies, Pd(II) complexes are suitable model compounds since they react *ca.* 10^4 - 10^5 times faster than their Pt(II) analogues, whereas their structural and equilibrium behaviour are very similar. Because of their strong affinity towards S and N donor

ligands, as well as their high reactivity, the selectivity of certain Pd(II) complexes towards biomolecules is lower, limiting the possibility of developing compounds with antitumor reactivity. In recent years, however, it has been shown that certain Pd(II) complexes can also show antitumor activity.

Here, we reported the obtained results for substitution of different Pt(II) and Pd(II) complexes with sulfur- and nitrogen-donor nucleophiles. The obtained results are presented in this order:

- The substitution reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ and $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)\text{H}_2\text{O}]^+$ with L-met, GSH and 5'-GMP were studied in aqueous solutions in 0.1 M NaClO_4 under the pseudo-first-order conditions as a function of concentration and temperature using UV-VIS spectrophotometry. The reactions of the chlorido complexes were followed in the presence of 10 mM NaCl and at pH *ca.* 5, whereas the reactions of the aqua complexes were studied at pH = 2.5. The $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ complex is more reactive towards the selected nucleophiles than $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$. Also, the aqua complexes are more reactive than the corresponding chlorido forms. The activation parameters for all studied reactions suggest an associative substitution mechanism. The reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ with 5'-GMP were studied by using ^1H NMR spectroscopy at 298 K. The pK_a values of the $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)\text{H}_2\text{O}]^+$ complex is 5.95. DTF calculations at the B3LYP/LANL2DZp hybrid density functional calculations show that the DFT energy for Pt-N7(guo) (guo is guanosine) is much lower than Pt-S(thioether). In all cases the guanine coordination to the L_3Pt (L_3 : terpy, bpma, dien and gly-met-*N,N,S*) fragment is much more favorable than the thioether coordinated form. The calculations collectively support the experimentally observed substitution thioethers from Pt(II) complexes by N7-GMP. This study could throw more light on the mechanism of the active platinum antitumor complexes.
- Substitution reactions of the complexes *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, $[\text{Pt}(\text{SMC})\text{Cl}_2]^-$, $[\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_2]$ and $[\text{Pt}(\text{dach})\text{Cl}_2]$, with selected biologically important ligands, viz. 5'-GMP, L-his and 1,2,4-triazole, were studied. All reactions were studied in aqueous 25 mM Hepes buffer in the presence of 5 mM NaCl at pH = 7.2 under pseudo-first-order conditions as a function of concentration at 310 K using UV-VIS spectrophotometry. Two consecutive reaction steps, which both depend on the nucleophile concentration, were observed in all cases.

The second-order rate constants for both reaction steps indicate a decrease in the order $[\text{Pt}(\text{SMC})\text{Cl}_2]^- > \text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2] > [\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_2] > [\text{Pt}(\text{dach})\text{Cl}_2]$. DFT calculations (B3LYP/LANL2DZp) showed that the Pt-N7(Guo) adduct in the gas phase is more stable than Pt-S(thioether) by ca. 31–33 kcal/mol for the studied complexes *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, $[\text{Pt}(\text{SMC})\text{Cl}_2]^-$ and $[\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_2]$. The calculations collectively support the experimentally observed substitution of thioethers bound to Pt(II) complexes by N7(5'-GMP). Finally, this result clearly shows how much the Pt-N7(Gua) adduct is more stable than the Pt-S(thioether).

- Two new complexes with *bis*(imidazolin-2-imino) ligands, $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ and $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{PdCl}_2]$, were synthesized. The crystal structures of these complexes were determined by X-ray diffraction. The coordination geometries around the palladium atoms are distorted square-planar, with the Pd-N1 distance to the central nitrogen atom of the TL^{tBu} ligand, 1.944(2), being shorter than those to the other two nitrogen atoms of TL^{tBu} , *viz.* 2.034(3) and 2.038(3) Å. The BL^{iPr} complex displays similar Pd-N distances of 2.031(2) and 2.047(2) Å. The kinetics and the mechanism of the substitution reactions of the $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$ complex, with nucleophiles 5'-GMP, L-met and L-his were studied using variable-temperature stopped-flow techniques in aqueous 0.1 M NaClO_4 with 10 mM NaCl at 298 K. The order of reactivity of ligands is: L-met > 5'-GMP > L-his. The complex formation equilibria of $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ with some biologically relevant ligands (L-met, 5'-GMP and L-his) were also studied. The stoichiometry and stability constants of the newly formed complexes are reported, and the concentration distribution of the various complex species has been evaluated as a function of pH. Comparing the values of $\log\beta_{1,1,0}$ for 5'-GMP, L-his and L-met complexes, the most stable complex is complex with 5'-GMP followed by L-his and L-met for both complexes, $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$.
- Substitution reactions of the complexes $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ and $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, with the nitrogen-donor ligands 1,2,4-triazole, pyrazole and pyridazine were studied in aqueous 0.1 M NaClO_4 using variable-temperature UV-VIS spectrophotometry. The reactions of the aqua complex were studied at pH 2.5 and those of the chlorido complex were studied in the presence of 10 mM NaCl to prevent their hydrolysis. The values obtained for the second-order rate constants indicate that the complexes with bpma are more reactive than

those with diethylenetriamine. In both cases the aqua complexes are more reactive than the corresponding chlorido complexes. The reactivity of the incoming ligands follow the order: 1,2,4-triazole > pyridazine > pyrazole. Activation parameters were determined for all the reactions and the negative entropies of activation (ΔS^\ddagger) support an A or I_a mechanism.

СПИСАК ОЗНАКА:

UV-VIS	спектроскопија у ултраљубичастом и видљивом делу спектра
^1H NMR	нуклеарно магнетна резонантна спектроскопија
HPLC	хроматографија при високом притиску
S_E	електрофилна супституција
S_N	нуклеофилна супституција
D	дисоцијативни механизам
A	асоцијативни механизам
I	механизам измене
E_a	енергија активирања
R	гасна константа ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ M}^{-1}$)
T	температура (K)
ΔH^\ddagger	промена енталпије активирања
ΔS^\ddagger	промена ентропије активирања
ΔG^\ddagger	промена слободне (Гибсове) енергије
ΔV^\ddagger	промена запремине активирања
N	Авогадров број ($6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$)
h	Планкова константа ($6,626 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$)
P	притисак
k_1	константа брзине хемијске реакције која се одиграва по солволитичком механизму
k_2	константа брзине реакције директне нуклеофилне супституције
k	константа брзине хемијске реакције
k_0	фактор учесталости
EtOH	етанол
PEt ₃	триетилфосфин
P _y	пиридин
PR ₃	алкилфосфин
n_{Pt}	нуклеофилна реактивност
MeOH	метанол
Me ₂ S	диметилсулфид
s	фактор нуклеофилне дискриминације
dien	диетилентриамин (1,5-диамино-3-азапентан)
en	етилендиамин
цисплатина	cis-диаминдихлоридоплатина(II)
карбоплатина	cis-диамин(1,1-циклобутандикарбоксилато)платина(II)

оксалиплатина	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-циклохексан-1,2-диамино(оксалато)платина(II)
ДНК	дезоксирибонуклеинска киселина
NAMI-A	[<i>trans</i> -RuCl ₄ L(<i>S</i> -dmsо)рутенијум(III)] (L = Имидазол)
KP1019	<i>trans</i> -[тетрацлоробис(1 <i>H</i> -индазол)рутенијум(III)]имидазол
Azpy	2-фенилазопиридин
pta	1,3,5-триазо-7-фосфотрицикло[3.3.1.1 ^{3,7}]декан
cbdc	1,1-циклобутандикарбоксилат
L-мет	L-метионин
5'-GMP	гуанозин-5'-монофосфат
1,2-(GpG)	1,2-гуанилил(3' - 5')гуанозин
1,2-(ApG)	1,2-аденозил(3' - 5')гуанозин
1,3-(GpG)	1,3-гуанилил(3' - 5')гуанозин
GSH	глутатион (γ-глутамил-цистеинил-глицин)
DDTC	диетилдитиокарбамат
AMP	аденозин-монофосфат
ADP	аденозин-дифосфат
ATP	аденозин-трифосфат
DACH	1,2-циклохександиамин
SMC	S-метил-L-цистеин
bipy	2,2'-бипиридин
amp	2-пиридилметиламин
A9pyp	E-2-[1-(9-антрил)-оксо-3-проп-2-етилпиридин]
A9opy	E-1-(9-антрил)-3-(2-пиридил)-2-пропенон
dmsо	диметилсулфоксид
barpa	N,N'-бис-(антрацен-9-метил)пропан-1,3-диамин
tpdm	трипиридинметан
gly	глицин
ох	оксалато
pip	пиперизин
brpa	бис-(2-пиридилметил)амин
terpy	терпиридин (2,2':6',2''-терпиридин)
TU	тиоуреа
DMTU	1,3-диметил-2-тиоуреа
TMTU	1,1,3,3-тетраметил-2-тиоуреа
phen	1,10-фенантролин
gly-met	глицил-метионин
Gua	гуанин
SMe ₂	тиоетар
TL ^{tBu}	2,6-бис[(1,3-ди- <i>терц</i> -бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин
BL ^{iPr}	1,2-бис[(1,3-ди- <i>терц</i> -бутилимидазолин-2-имино)]етан
COD	цикло-1,5-октадиен

A	абсорбција раствора
t	време (s)
k_{obsd}	константа брзине реакције <i>псеудо</i> -првог реда
L-хис	L-хистидин
TSP	натријум-триметилсилилпропан-3-сулфат
$\beta_{\text{p,q,r}}$	константа стабилности комплекса
THF	тетрахидрофуран
K_a	константа киселости

САДРЖАЈ:

Увод.....	1
1. Општи део	
1.1. Супституционе реакције комплексних једињења.....	4
1.2. Активациони параметри.....	5
1.3. Одређивање механизма нуклеофилних супституционих реакција.....	8
1.4. Супституционе реакције квадратно-планарних комплекса.....	9
1.5. Утицај различитих фактора на реактивност квадратно-планарних комплекса.....	12
1.5.1. Утицај централног јона метала.....	12
1.5.2. Ефекат улазног и одлазећег лиганда.....	13
1.5.3. <i>Trans</i> -ефекат.....	16
1.6. Хидролиза и хидратација јона метала.....	17
1.7. Јони прелазних метала у медицини.....	19
1.7.1. Класична платинска антитуморска једињења.....	23
1.8. Интеракције бифункционалних комплекса Pt(II).....	27
1.9. Интеракције монофункционалних комплекса Pt(II).....	32
1.10. Комплекси Pd(II).....	37
Задатак рада.....	43
2. Експериментални део	
2.1. Реагенси и раствори.....	44
2.1.1. Синтеза лиганда.....	45
2.1.2. Синтеза комплекса.....	48
2.2. Инструменти.....	49
2.3. Кинетичка мерења.....	50
2.3.1. Реакције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]^+$ и њихових аква аналога са L- мет, GSH и 5'- GMP.....	50
2.3.2. Реакције бифункционалних комплекса Pt(II) са 1,2,4- триазолом, L-хис и 5'-GMP.....	51
2.3.3. Реакције $[(\text{TL}^{t\text{Bu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ са L-мет, L-хис и 5'- GMP.....	52
2.3.4. Реакције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином.....	52
2.4. Спектрофотометријска титрација $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$	52
2.5. ^1H NMR мерења.....	53
2.6. Потенциометријска мерења.....	53
2.6.1. Обрада резултата.....	54
2.7. Квантно хемијска метода.....	54
2.8. Рендгенско-структурна анализа.....	55
2.8.1. Кристалографски подаци за $[(\text{TL}^{t\text{Bu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ комплекс.....	55
2.8.2. Кристалографски подаци за $[(\text{BL}^{i\text{Pr}})\text{PdCl}_2]$ комплекс.....	56

3. Резултати и дискусија резултата

3.1.	Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-S,N,N})]$ и њихових аква аналога са L- мет, GSH и 5'-GMP.....	58
3.1.1.	^1H NMR кинетичка мерења са 5'-GMP.....	65
3.1.2.	Одређивање pK_a вредности $[\text{Pt}(\text{gly-met-S,N,N})\text{H}_2\text{O}]^+$ комплексној јона.....	68
3.2.	Резултати добијени испитивањем реакција бифункционалних комплекса Pt(II) са 1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP.....	69
3.2.1.	ДФТ израчунавања за систем размене Gua/SMe ₂	76
3.3.	Резултати добијени испитивањем равнотежа и кинетике супституционих реакци <i>бис</i> (имидазолин-2-имино) комплекса Pd(II). Кристална структура $[(\text{TL}^{\text{iBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ и $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{PdCl}_2]$ комплекса.....	80
3.3.1.	Синтеза 2,6- <i>бис</i> [(1,3-ди- <i>терц</i> -бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина и 1,2- <i>бис</i> [(1,3-ди-изопропилмидазолин-2-имино)]етана.....	80
3.3.2.	Рендгенско-структурна анализа $[(\text{TL}^{\text{iBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ и $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{PdCl}_2]$ комплекса.....	84
3.3.3.	Кинетика супституционих реакција $[(\text{TL}^{\text{iBu}})\text{PdCl}]^+$ комплексног јона са биолошки активним лигандима.....	86
3.3.4.	Потенциометријска испитивања.....	89
3.3.4.1.	Кисело-базна равнотежа $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ и $[(\text{TL}^{\text{iBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексаних јона.....	90
3.3.4.2.	Комплексирање $[(\text{TL}^{\text{iBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ са 5'-GMP или L-мет или L-хис.....	93
3.3.4.3.	Комплексирање $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ са 5'-GMP или L-мет или L-хис.....	95
3.4.	Резултати добијени испитивањем кинетике и механизма супституционих реакција $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином.....	97
Закључак.....		105
Литература.....		107
Биографија		

УВОД

Прелазни метали и њихове реакције имају важну улогу у техничким процесима (катализа, екстракција и пречишћавање металних комплекса) у биологији и медицини (биолошки трансфер електрона, токсикологија и коришћење металних комплекса као лекова). Јони метала налазе све већу примену у биолошким системима за терапеутску примену или као дијагностичка средства. Комплекси метала користе се за лечење многих болести (канцер, артритис, дијабетес, Алцхајмерова болест, итд), али уз слабо разумевање њиховог механизма деловања у биолошким системима.^{1,2} Биохемијска истраживања такође нису установила механизам дејства наведених комплекса метала. Један од главних циљева бионеорганске хемије тренутно је испитивање механизма деловања металних комплекса у биолошким системима.¹⁻³

Открићем антитуморних карактеристика комплекса цисплатине крајем 1960-их година покренута су опсежна истраживања платинских једињења.⁴ Успех цисплатине изазвао је велики интерес за развој нових Pt(II) комплекса, тако да се данас карбоплатина и оксалиплатина интензивно користе као антитуморски лекови. Међутим, уследила је и синтеза многих других платинских комплекса, са циљем добијања једињења које би имало већу биолошку активност а мању токсичност у односу на цисплатину.

Поред интензивног испитивања кинетике и механизма супституционих реакција бифункционалних комплекса Pt(II), који представљају потенцијалне хемотерапеутике, испитивани су и монофункционални комплекси Pt(II). Монофункционални комплекси представљају модел молекуле, који могу да се користе за испитивање првог корака интеракције комплекса Pt(II) и биомолекула.

Комплекси Pd(II) изазивају пажњу услед тога што показују идентично хемијско понашање као и комплекси Pt(II), али реагују 10^3 - 10^5 пута брже. Добијени резултати интеракција комплекса Pd(II) са биомолекулима, могу да се примене на комплексе Pt(II). Комплекси Pd(II) не показују антитуморску активност.

У оквиру ове докторске дисертације приказани су резултати добијени праћењем супституционих реакција комплекса Pt(II) и Pd(II) са различитим сумпор- и азот-донорским биомолекулима. У Општем делу детаљно су описане супституционе реакције комплексних једињења, као и методе за одређивање механизма супституционих реакција.

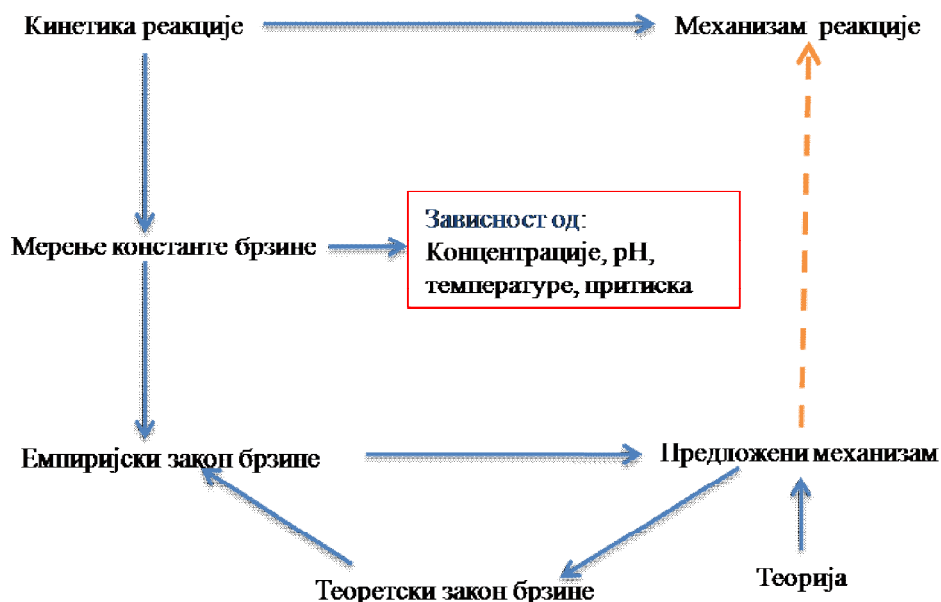
Детаљно су приказане супституционе реакције квадратно-планарних комплекса са посебним освртом на факторе који утичу на процес супституције. Такође, дат је преглед биолошке активности неких од прелазних метала, при чему је највећим делом описан начин антитуморског дејства комплекса Pt(II). Дат је преглед досадашњих истраживања на пољу интеракција бифункционалних и монофункционалних комплекса Pt(II) и Pd(II) са различитим сумпор- и азот-донорским биомолекулима. У Експерименталном делу, су поред припреме коришћених реагенаса и раствора, описане синтезе нових једињења као и методе коришћене приликом испитивања кинетике поменутих супституционих реакција, као и методе за изучавање хидролизе комплекса Pt(II) и Pd(II). У поглављу Резултати и дискусија резултата прво су приказани добијени резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[PtCl(bpma)]^+$ и $[PtCl(gly-met-S,N,N)]^+$ и њихових аква аналога са L-мет, GSH и 5'-GMP у зависности од температуре и концентрације нуклеофила. Затим су приказане супституционе реакције бифункционалних комплекса Pt(II) са азот-донорским лигандима (1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP), испитиване при физиолошкој рН 7,2. Детаљно су описани резултати добијени испитивањем равнотеже и кинетике супституционих реакција бис(имидазолин-2-имино) комплекса Pd(II) са биолошки значајним лигандима. У току израде ове тезе синтетисана су два нова комплекса Pd(II), $[(TL^{tBu})PdCl]ClO_4$ и $[(BL^{iPr})PdCl_2]$, па су у овом делу приказани резултати рендгенско-структурне анализе ових комплекса. Такође, испитивана је и кинетика и механизам супституционих реакција $[PtCl(bpma)]^+$ и $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином, и добијени резултати су сумирани у овом делу. Поред приказа добијених резултата супституционих реакција, дат је осврт и на урађена ДФТ израчунавања за системе измене Gua/SMe₂.

Резултати ове докторске дисертације објављени су у оквиру 5 научних радова у познатим интернационалним часописима.

1. ОПШТИ ДЕО

Изучавање кинетике реакције има за циљ утврђивање брзине којом од реактаната настаје производ реакције, затим утврђивање утицаја различитих параметара (промена концентрације реактаната, рН, промена температуре и притиска, увођење катализатора, итд.) на брзину реакције. Утврђивање елементарних реакционих корака који воде ка настанку производа реакције тј. одређивање механизма реакције је такође један од циљева изучавања кинетике реакције. Механизам реакције подразумева и анализу начина на који се веза раскида, а затим и начина на који се нова веза формира. Мора се узети у обзир да сваки елементарни корак реакције има свој механизам, тако да је комплетно објашњење реакционог механизма тешко достижан циљ.

Са Шеме 1.1. може се видети шта се све мора узети у обзир приликом одређивања механизма хемијске реакције.⁵



Шема 1.1. Кораци у одређивању механизма хемијске реакције.⁵

Проучавање механизма неорганских реакција нагло започиње са развојем органометалне и бионеорганске хемије, односно са развојем нових експерименталних

техника (Uv-Vis спектрофотометрија, NMR спектроскопија, stopped-flow спектрофотометрија, HPLC, итд.).

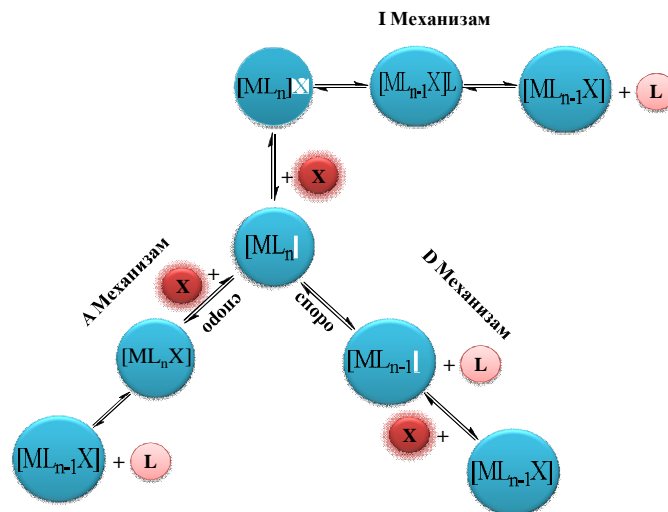
1.1. Супституционе реакције комплексних једињења

Супституционе реакције комплексних једињења могу бити електрофилне (S_E) или нуклеофилне (S_N) у зависности од тога да ли у процесу супституције долази до замене централног јона метала или лиганата. Уколико се у току реакције супституише јон метала тј. електрофил, у питању је реакција електрофилне супституције, једначина (1.1.1), а уколико се врши замена лиганата, комплекс подлеже реакцији нуклеофилне супституције, једначина (1.1.2).



Нуклеофилне супституционе реакције, према Лангфорду и Греју (Langford, Gray),⁶ одвијају се по три различита механизма:

- Дисоцијативном механизму (D)
- Асоцијативном механизму (A)
- Механизму измене (I)



Шема 1.2. Механизми нуклеофилне супституције комплексних једињења.

Код дисоцијативног механизма (D) у првом ступњу реакције долази до дисоцијације једног лиганда L из координационе сфере комплекса, при чему настаје интермедијер са смањеним координационим бројем. У следећем ступњу улазни лиганд X се везује за централни јон метала. С обзиром да је први ступањ реакције спорији, он одређује укупну брзину реакције супституције.

Код асоцијативног механизма (A) у првој фази улазни лиганд X се везује за централни јон метала, градећи интермедијер са повећаним координационим бројем, а затим, у другој фази одлазећи лиганд L напушта координациону сферу комплекса. Реакција грађења интермедијера са повећаним координационим бројем је спорија и она одређује брзину овог процеса супституције.

Механизам измене (I) је процес код кога се, у првој фази, улазни лиганд X везује електростатичким силама за спољашњу координациону сферу комплекса. Потом долази до миграције улазног лиганда из спољашње у унутрашњу координациону сферу уз истовремену миграцију одлазећег лиганда L из унутрашње у спољашњу координациону сферу. Крајни процес је раскидање везе између комплекса и одлазећег лиганда. Овај механизам, за разлику од претходна два нема интермедијера али постоји прелазно стање, тј. процес поседује своју енергију активирања. Механизам измене се може поделити на I_a и I_d механизме. Уколико процес раскидања везе између централног јон метала и одлазећег лиганда L има већи утицај на брзину реакције, механизам се обележава са I_d, а уколико процес формирања нове везе између централног јон метала и улазног лиганда X има већи утицај на брзину хемијске реакције, механизам се обележава са I_a.^{6,7}

1.2. Активациони параметри

Одређивање механизма хемијске реакције заснива се на анализи добијених вредности термодинамичких параметара (E_a , ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger , ΔV^\ddagger), који карактеришу одређени процес. Један од битних података је вредност константе брзине хемијске реакције k, за чије одређивање постоји велики број експерименталних метода. Избор одговарајуће методе зависи како од брзине процеса који се проучава, тако и од особина учесника хемијске реакције.⁸

Познавање вредности константе брзине хемијске реакције на различитим температурама омогућава одређивање осталих термодинамичких параметара. Вредност енергије активирања E_a одређује се помоћу Аренијусове (Arrhenius) једначине (1.2.1).⁸⁻¹⁰

$$k = k_0 \exp(-E_a/RT) \quad (1.2.1)$$

у којој је k константа брзине хемијске реакције, k_0 фактор учестаности, R гасна константа и T температура на којој је одређена вредност константе брзине. Логаритмовањем једначине (1.2.1) добија се израз

$$\ln k = \ln k_0 - E_a/RT \quad (1.2.2)$$

у коме постоји линеарна зависност $\ln k$ од $1/T$. Ова зависност је линеарна у ужем температурном интервалу од 30 - 40°C. То значи да познавањем вредности константе брзине хемијске реакције за најмање три температуре, графичким путем, може се одредити вредност члана $-E_a/R$, односно, вредност енергије активирања за изучавану реакцију.^{8,9}

Промена енталпије активирања ΔH^\ddagger одређује се из једначине (1.2.3).

$$\Delta H^\ddagger = E_a - RT \quad (1.2.3)$$

Промена ентропије активирања ΔS^\ddagger је величина која представља мерило неуређености система, односно, промену слободне (Gibbs-ове) енергије ΔG^\ddagger са променом температуре T и може се изразити помоћу једначине (1.2.4)

$$\left(\frac{d(\Delta G^\ddagger)}{dT} \right) = -\Delta S^\ddagger \quad (1.2.4)$$

Вредност ΔS^\ddagger одређије се на основу Ајрингове (Eyring) једначине (1.2.5)

$$k = \frac{RT}{Nh} \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right) \quad (1.2.5)$$

С обзиром да се промена слободне енергије ΔG^\ddagger може изразити преко промене енталпије активирања и промене ентропије активирања, једначина (1.2.6)

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger + T\Delta S^\ddagger \quad (1.2.6)$$

заменом у изразу (1.2.5) добија се једначина (1.2.7)

$$k = \frac{RT}{Nh} \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right) \exp\left(-\frac{\Delta H^\ddagger}{RT}\right) \quad (1.2.7)$$

Логаритмовањем једначине (1.2.7) добија се израз

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left(\frac{R}{Nh}\right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT} \quad (1.2.8)$$

На основу израза (1.2.8) видимо да постоји линеарна зависност $\ln(k/T)$ од $1/T$, тј. графички на основу ове једначине из нагиба добијене праве одређује се вредност промене енталпије активирања, а из одсечка праве израчунава се вредност промене ентропије активирања. Први члан $\ln(R/Nh)$, је константа и на 25°C износи 23,8.^{10,11}

Повезаност константе брзине хемијске реакције и промене запремине активирања ΔV^\ddagger дата је Вант-Хофовом (Van't Hoff) једначином (1.2.9)

$$\left(\frac{d(\ln k)}{dP}\right)_T = -\frac{\Delta V^\ddagger}{RT} \quad (1.2.9)$$

Вредност за ΔV^\ddagger добија се праћењем промене константе брзине хемијске реакције у зависности од притиска, а на основу једначине (1.2.10)

$$\Delta V^\ddagger = -bRT \quad (1.2.10)$$

у којој b представља нагиб праве $\ln k = f(P)$. Запремина активирања ΔV^\ddagger састоји се из два члана, једначина (1.2.11).

$$\Delta V^\ddagger = \Delta V^\ddagger_{\text{int}} + \Delta V^\ddagger_{\text{sol}} \quad (1.2.11)$$

Први члан $\Delta V^\ddagger_{\text{int}}$ односи се на промене у интернуклеарним растојањима и угловима веза приликом настајања активираниог комплекса, док други члан $\Delta V^\ddagger_{\text{sol}}$ описује промене у наелектрисању, као и диполне интеракције у активираниом комплексу. Зато, уколико реагују наелектрисани јони у процесу супституције допринос другог члана може бити већи од првог, па вредност запремине активирања није поуздан критеријум за одређивање механизма. Међутим, када у току процеса супституције нема промена у наелектрисању, други члан у изразу (1.2.11) може се занемарити, тј. тада запремина активирања зависи само од $\Delta V^\ddagger_{\text{int}}$. У том случају је вредност ΔV^\ddagger најпоузданији критеријум за одређивање механизма супституције.^{12,13}

1.3. Одређивање механизма нуклеофилних супституционих реакција

Одређивање механизма нуклеофилне супституционе реакције врши се на основу вредности термодинамичких параметара,⁹⁻¹³ који карактеришу проучавани процес. Један од параметара помоћу кога се на врло једноставан начин може прелиминарно одредити механизам супституције је константа брзине хемијске реакције. На основу једначина које карактеришу процесе дисоцијативног, асоцијативног и механизма измене (Шема 1.2) види се да је процес супституције по дисоцијативном механизму реакција првог реда, а по асоцијативном механизму реакција другог реда. С тим у вези, уколико се приликом изучавања неке реакције установи да природа улазног лиганда не утиче на брзину реакције, тада се ради о дисоцијативном или I_d механизму супституције. И обрнуто, уколико брзина хемијске реакције зависи од природе улазног лиганда, реакција се дешава по асоцијативном или I_a механизму супституције.^{6,7}

Поузданији критеријум за одређивање механизма је познавање вредности промене ентропије активирања ΔS^\ddagger . Пошто је ентропија активирања мерило неуређености система, а на основу сазнања да се код различитих механизма формира интермедијер са већом или мањом неуређеношћу, овај параметар омогућава одређивање механизма супституције. У случају D механизма настаје интермедијер са смањеним координационим бројем, односно, повећава се неуређеност система и ΔS^\ddagger има позитивну вредност. Код асоцијативног механизма настаје интермедијер са повећаним координационим бројем и смањује се неуређеност система односно ΔS^\ddagger има негативну вредност. У случају I механизма ΔS^\ddagger је приближно једнако нули.

Најпоузданији критеријум за одређивање механизма је вредност промене запремине активирања.^{12,13} Узимајући у обзир врсту интермедијера код различитих механизма, повећање притиска ће убрзавати реакције које се дешавају по A механизму, а успоравати реакције по D механизму. Зато, негативна вредност ΔV^\ddagger указује на A или I_a механизам, а позитивна вредност ΔV^\ddagger указује на D или I_d механизам супституције. У случају механизма измене, притисак не утиче значајније на брзину супституције.

1.4. Супституционе реакције квадратно-планарних комплекса

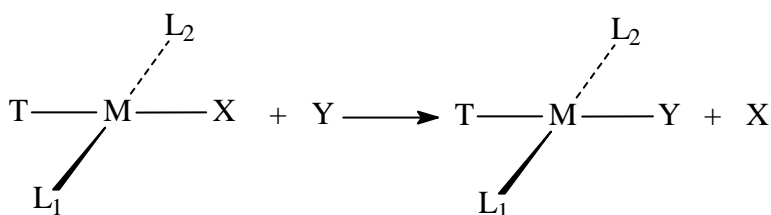
Квадратно-планарне комплексе граде јони метала са 8 електрона у d орбиталама. У ову групу спадају Pt(II), Pd(II), Au(III), Ir(I), Rh(I) и Ni(II) (у појединим случајевима) јони метала. Општа формула ових комплексних једињења је $[ML_1L_2TX]$, односно, они се састоје од централног јона метала и четири лиганда. Ова група комплексних једињења поседује D_{4h} групу симетрије, тако да су везе метал-лиганд усмерене дуж x- и y-осе.¹⁴

Супституционе реакције комплекса Ir(I) и Rh(I), као и Pd(II) и Au(III) одигравају се веома брзо. Међутим, супституционе реакције комплекса Pt(II) одигравају се знатно спорије.¹⁵ У Табели 1.1. дате су константе брзине за супституционе реакције комплекса Ni(II), Pd(II), Pt(II) и Au(III), на основу ових вредности се може видети да комплекс Pt(II) реагује знатно спорије у односу на остале.

Табела 1.1. Константе брзине и термодинамички параметри за реакције супституције цијанидног јона у комплексима типа $[M(CN)_4]^{n-}$.¹⁶

	k_2 $M^{-1} s^{-1}$	ΔH^\ddagger $kJmol^{-1}$	ΔS^\ddagger $JK^{-1}mol^{-1}$	ΔV^\ddagger cm^3mol^{-1}
$[Ni(CN)_4]^{2-}$	$2,3 \times 10^6$	21,6	-51	-19
$[Pd(CN)_4]^{2-}$	$8,2 \times 10$	23,5	-129	-22
$[Pt(CN)_4]^{2-}$	$1,1 \times 10$	25,1	-142	-27
$[Au(CN)_4]^-$	$6,2 \times 10^3$	40,0	-38	+2

Реакција супституције лиганда код квадратно-планарних комплекса^{6,7} приказана је на Шеми 1.3.

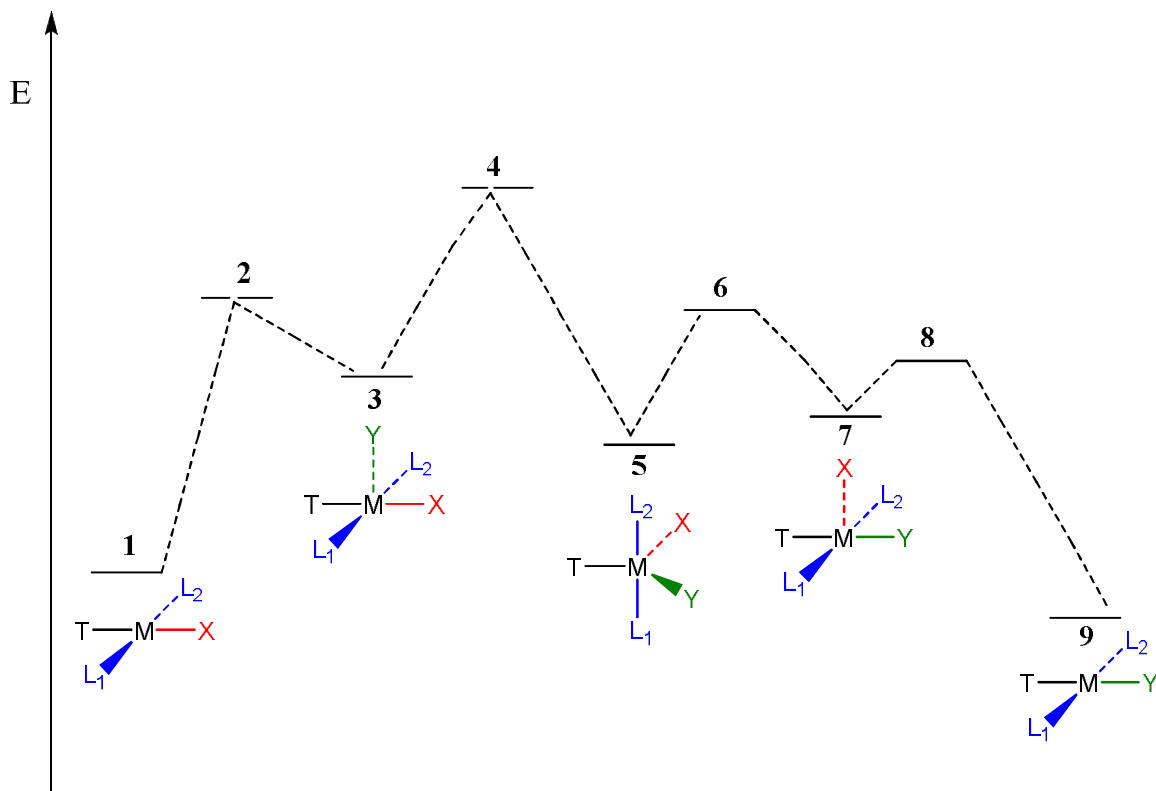


Шема 1.3. Реакција супституције лиганда код квадратно-планарних комплекса.

На основу Шеме 1.3 може се видети да у координационој сфери комплекса долази до супституције лиганда X улазним лигандом Y. Лиганд T се налази у *trans*-положају у односу на одлазећи лиганд X.

Супституционе реакције квадратно-планарних комплекса одвијају се по два кинетичка пута. Један је тзв. директна нуклеофилна супституција окарактерисана константом k_2 , једначина (1.4.1).





Шема 1.4. Механизам супституције лиганда и енергетски профил реакције супституције код квадратно-планарних комплекса.

Други је солволитички пут, окарактерисан константом брзине k_1 , по коме се у првој фази врши супституција лиганда X растварачем S, а потом, у другој фази лиганд Y улази у координациону сферу комплекса, замењујући молекулу растварача.



Израз за брзину супституционе реакције обухвата оба кинетичка пута и приказан је једначином (1.4.4).

$$BRZINA = k_1[ML_1L_2TX] + k_2[ML_1L_2TX][Y] \quad (1.4.4)$$

Односно

$$\text{BRZINA} = (k_1 + k_2[\text{Y}])[\text{ML}_1\text{L}_2\text{TX}] \quad (1.4.5)$$

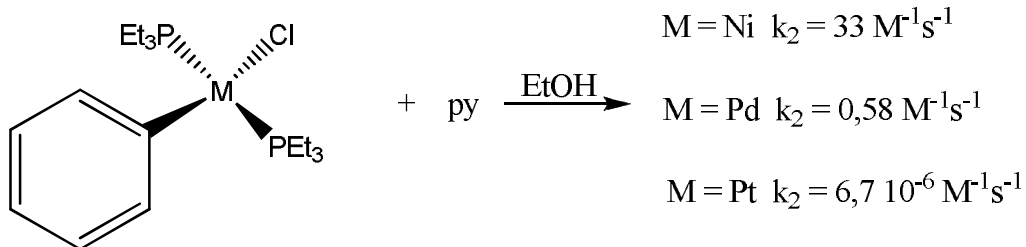
На Шеми 1.4. приказан је механизам супституције лиганда код квадратно-планарних комплекса. Из Шеме 1.4. се може се видети да улазни лиганд Y прилази квадратно-планарном комплексу под нормалним углом, формирајући квадратну пирамиду (3). Настала квадратна пирамида се трансформише у тригоналну бипирамиду (5), а потом поново у квадратну пирамиду (7), али са одлазећим лигандом X на врху пирамиде. На крају процеса супституције раскидањем везе између метала и лиганда X поново се формира квадратно-планарни комплекс (9). Прелазна стања су окарактерисана положајима 2, 4, 6 и 8.

1.5. Утицај различитих фактора на реактивност квадратно-планарних комплекса

На брзину одвијања супституционих реакција квадратно-планарних комплекса утиче већи број фактора, у које спадају: утицај централног јона метала, ефекат одлазећег лиганда, ефекат улазног лиганда, утицај лиганда који се налази у *trans*-положају у односу на одлазећи лиганд (*trans*-ефекат). Експериментални услови под којима се супституциона реакција одвија (растварач, јонска сила раствора, рН вредност, присуство катализатора или инхибитора) такође утичу на брзину реакције.

1.5.1. Утицај централног јона метала

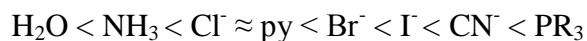
Ефекат централног јона метала на брзину супституције квадратно-планарних комплекса је веома велики. Уочено је да реактивност комплекса у зависности од врсте јона метала опада у низу Ni(II) > Pd(II) > Pt(II).⁹ Велика разлика у реактивности ових комплекса може да се припише порасту величине јона метала од Ni(II) (83 pm) до Pt(II) (94 pm), што доприноси да Ni(II) може много лакше да повећа координациони број тј. да награди интермедијер тригонално-бипирамидалне структуре преко кога се одигравају супституционе реакције квадратно-планарних комплекса (Шема 1.4.).^{9,14}



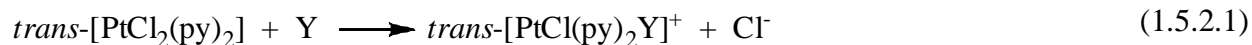
Слика 1.1. Константа брзине за реакције супституције комплекса јона метала.¹¹

1.5.2. Ефекат улазног и одлазећег лиганда

Брзина супституционе реакције квадратно-планарног комплекса зависи од врсте, односно нуклеофилности улазног лиганда. Код великог броја супституционих реакција Pt(II) комплекса константа брзине, k_2 , расте у следећем низу улазних лиганата:



Овај редослед лиганата је дат на основу вредности n_{Pt} ,⁹ тј. нуклеофилне реактивности, која се дефинише на основу једначине (1.5.2.1).



при чему се константа брзине ове реакције обележава са k_2' када је $\text{Y} = \text{MeOH}$, и тада $n_{\text{Pt}} = 0$. Вредност за n_{Pt} у случају других лиганата добија се на основу једначине 1.5.2.2.

$$n_{\text{Pt}} = \log k_2/k_2' \quad (1.5.2.2)$$

Вредности за нуклеофилну реактивност, n_{Pt} , неких лиганата дате су у Табели 1.2.

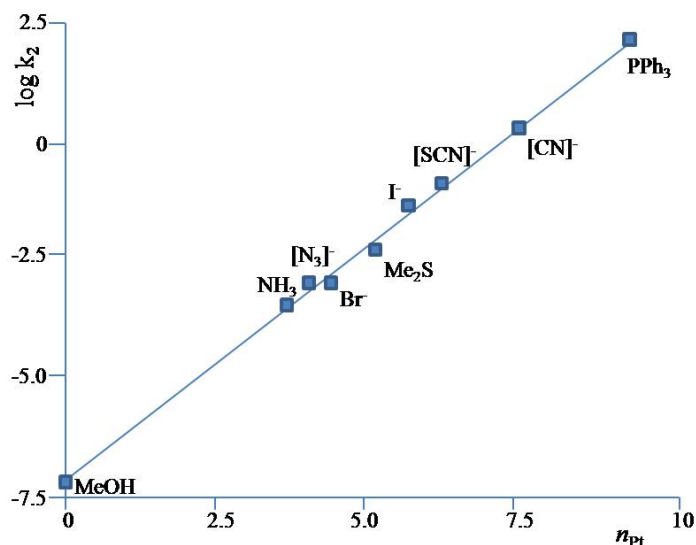
Табела 1.2. Вредности нуклеофилне реактивности, n_{Pt} , за улазне лиганде Y у реакцији (1.5.2.1).

Лиганд	Cl ⁻	NH ₃	py	Br ⁻	I ⁻	CN ⁻	PR ₃
n_{Pt}^a	3,04	3,07	3,19	4,18	5,46	7,14	8,93

^aРеф. 9,14

На основу вредности из Табеле 1.2. види се да уколико је улазни лиганд „мекша” база то је његова нуклеофилна реактивност већа. На пример, нуклеофилна реактивност расте у низу Cl⁻ < Br⁻ < I⁻, а то је уједно и смер у коме расте „мекоћа” ових лиганата. Јасно је да ће већу реактивност према Pt(II), као „мекој” киселини имати „мекша” база.⁹

Код супституционих реакција Pt(II) комплекса уочена је линеарна зависност између пораста константе брзине, log k_2 , и n_{Pt} вредности, као што је приказано на Слици 1.2.

Слика 1.2. Зависност log k_2 од n_{Pt} за реакцију $trans-[PtCl_2(py)_2]$ са различитим нуклеофилима у метанолу на 298 или 303 K.¹⁷

На основу једначине (1.5.2.3), одређује се вредност за s , фактор нуклеофилне дискриминације, који има карактеристичну вредност за одређени Pt(II) комплекс. Његова

вредност се одређује из нагиба праве зависности $\log k_2$ од n_{Pt} . Вредности s за неколико Pt(II) комплекса дате су у Табели 1.3.

$$\log k_2 = s(n_{Pt}) + \log k_2' \quad (1.5.2.3)$$

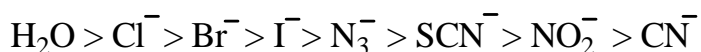
Табела 1.3. Вредности фактора нуклеофилне дискриминације, s , за неколико изабраних комплекса Pt(II).

Комплекс	s^a
<i>trans</i> -[PtCl ₂ (PEt ₃) ₂]	1,43
<i>trans</i> -[PtCl ₂ (AsEt ₃) ₂]	1,25
<i>trans</i> -[PtCl ₂ (py) ₂]	1,00
[PtCl ₂ (en)]	0,64
[PtBr(dien)] ⁺	0,75
[PtCl(dien)] ⁺	0,65
[Pt(dien)(H ₂ O)] ²⁺	0,44

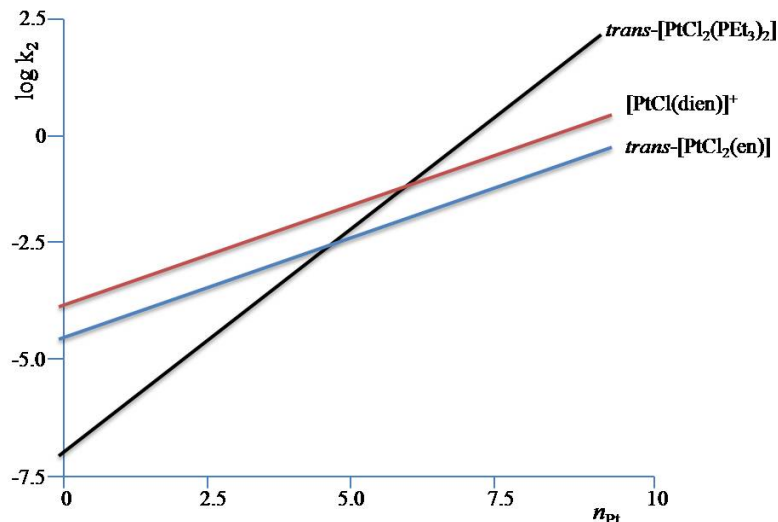
^aРеф. 14

Релативно мала вредност s за комплекс [Pt(dien)(H₂O)]²⁺ у односу на друге комплексе Pt(II) указује на то да је утицај улазног лиганда мали, односно да је поменути комплекс доста реактиван када су у питању супституционе реакције. То је свакако повезано са чињеницом да је H₂O лако одлазећи лиганд. На Слици 1.3. приказана је зависност $\log k_2$ од n_{Pt} за три различита комплекса Pt(II).

Реакције супституције квадратно-планарних комплекса зависе и од природе одлазећег лиганда.^{9,14} У случају комплекса Pt(II) показало се да брзина супституције опада у следећем низу:



Овај ефекат представља мерило лабилности везе метал-одлазећи лиганд, а самим тим указује на брзину којом одлазећи лиганд може да се супституише. Као што се може видети молекул воде као и халогени, се лако супституишу а сумпор-донорски лиганди као и цијанидни јон теже, што је повезано са тврдо-меким карактеристикама градитеља везе метал-лиганд.



Слика 1.3. Зависност $\log k_2$ од n_{Pt} за три комплекса $Pt(II)$.¹⁸

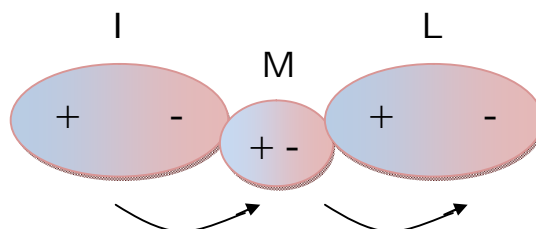
1.5.3. *Trans*-ефекат

Код квадратно-планарних комплекса на брзину супституционе реакције, а такође и на константу брзине, велики утицај има инертни лиганд који се налази у *trans*-положају у односу на одлазећи лиганд. Тај ефекат је познат као *trans*-ефекат.^{6-9,11} Лиганди се могу поделити на следећи начин:

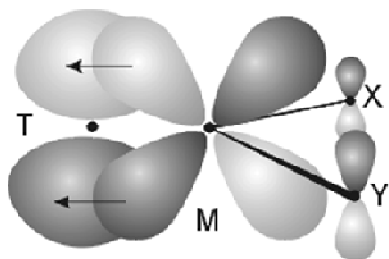
σ -донор: $OH^- < NH_3 < Cl^- < Br^- < CN^-, CO, CH_3^-, < I^- < SCN^- < PR_3 < H^-$

π -акцептор: $Br^- < I^- < NCS^- < NO_2^- < CN^- < CO, C_2H_4$

Поларизабилност лиганда у *trans*-положају доводи до појаве *trans*-ефеката.⁹ Што је поларизабилност лиганда већа *trans*-ефекат је јачи. Ефекат је индуктиван и преноси се са инертног лиганда (I) на метал (M), а са метала на лабилни лиганд (L). На овај начин *trans*-ефекат испољавају лиганди σ -донори.



У случају лиганата π -донора долази до грађења додатне π -везе између лиганда у *trans*-положају и јона метала, при чему се стабилизује прелазно стање, тј. активирани комплекс структуре тригоналне бипирамиде. У активираном комплексу се лиганд у *trans*-положају, одлазећи и улазни лиганд налазе у равни, што им омогућава π -комуникацију.^{9,14,16} Мада грађење додатне π -везе привремено учвршћује везу јона метала са лигандом, осиромашује се електронска густина око метала, тако да лиганд лако улази у координациону сферу и гради везу уз формирање тригоналне бипирамиде.



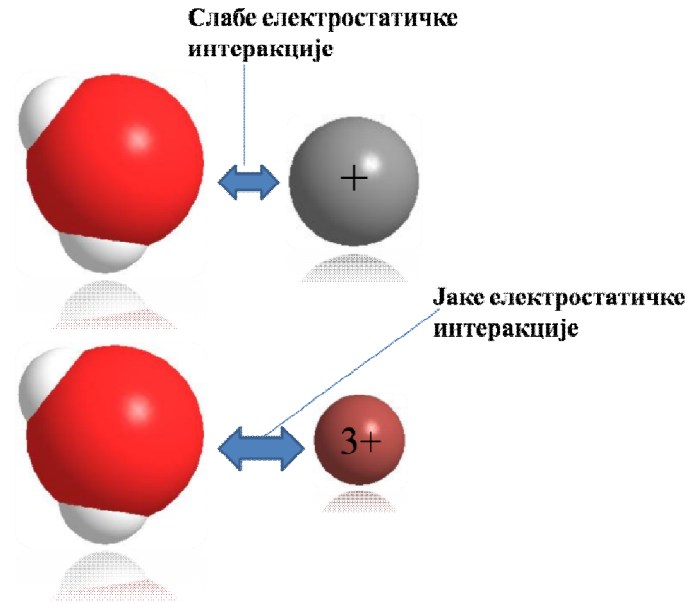
1.6. Хидролиза и хидратација јона метала

Сви јони, без обзира на то да ли су позитивно или негативно наелектрисани, растварањем у води се хидратишу. Енергија хидратације, у случају јона метала, може да се дефинише као количина енергије која се ослободи када слободан јон метала прелази из гасне фазе у водени раствор и при томе се хидратише,¹⁴ једначина (1.6.1).



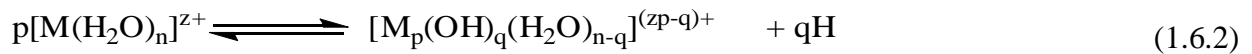
Енергија хидратације, последица је интеракција између јона метала и воде. Када се јон метала, нађе у воденом раствору, он се окружује молекулима воде, при чему се формирају три хидратационе сфере.

Јони метала великог радијуса а малог наелектрисања подлежу хидратацији. У групу метала који хидратишу спадају јони алкалних и земноалкалних метала (изузев берилијума). Јони метала малог радијуса а великог наелектрисања подлежу хидролизи (Al^{3+} , Fe^{3+} , ...).

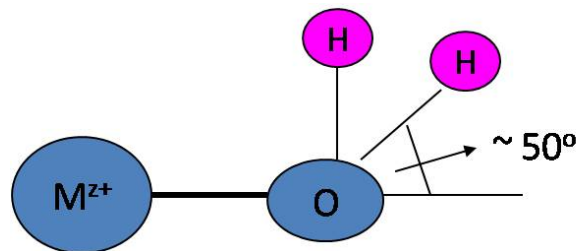


Слика 1.4. Приказ електростатичких интеракција између молекула воде и јона метала.

Електростатичке интеракције између јона метала великог наелектисања и воде довољно су јаке да доведу до ослобађања H^+ јона из молекула воде (Слика 1.4.), што се може приказати једначином (1.6.2).



На основу једначине (1.6.2) види се да се ови јони метала понашају као киселине.^{14,19} Новија истраживања су показала да уколико је угао који заклапа оса која пролази кроз везу метал-кисеоник и веза кисеоник-водоник већи од 50° , тај јон метала хидролизује, а уколико је угао мањи од 50° , јон метала хидратише,²⁰ Слика 1.5.



Слика 1.5.

У процесу хидролизе јона метала, у почетку прво настају мононуклеарни хидролитички комплекси типа $[M(H_2O)_{(n-1)}(OH)]^{z-1}$, који се затим у даљем току реакције полимеризују дајући полинуклеарне комплексе типа $[M_p(OH)_q]^{(z-p-q)+}$. OH^- јони су мостни лиганди, који имају велику способност да везују више од једног јона метала, па су самим тим одговорни за формирање полинуклеарних хидролитичких комплекса.

Хидролиза јона метала зависи од природе и концентрације јона метала. Поред тога, она зависи од температуре, јонске силе раствора, природе растварача као и присуства одређених супстанци које могу да граде комплексна једињења.

1.7. Јони прелазних метала у медицини

Јони прелазних метала имају значајну примену у техничким процесима, биологији и медицини. У групи прелазних метала налазе се како есенцијални тако и неесенцијални јони метала. Данас је познато да се велики број комплекса прелазних метала користи у лечењу различитих болести (канцера, артритиса, дијабетеса, Алтцхајмерове болести, итд.). Међутим, мало се зна о самом механизму деловања ових комплексних једињења у биолошким системима.^{1,2}

Главни циљ при дизајнирању активних једињења је постизање контроле токсичних (споредних) ефеката и усмеравање дејства метала на одређено ткиво, орган или ћелију где метал треба да испољи своје дејство. Јони метала уводе се у биолошке системе како би испољили терапеутско дејство, а понекад се користе и у дијагностичке сврхе. Постоје начини за одстрањивање вишка јона метала из биолошких система увођењем молекула (лиганда) који имају велики афинитет према јонима метала.²¹ Биомедицинска неорганска хемија има за циљ синтетисање нових терапеутских и дијагностичких агенаса који ће омогућити лечење и превенцију или дијагностику болести које су данас неизлечиве.²²

На Слици 1.6. представљени су јони метала чија једињења су нашла значајну примену у медицинске сврхе, пре свега у лечењу канцера.

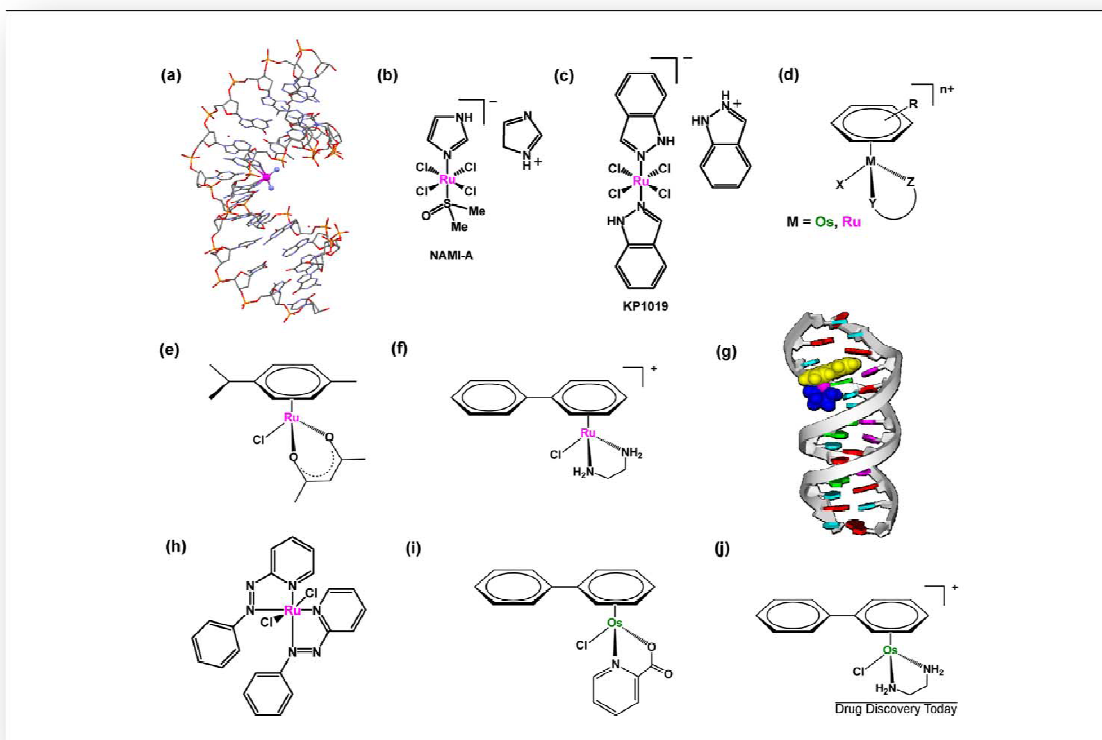
1																	18					
H																	He					
2																	13	14	15	16	17	18
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne					
3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18							
Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	Ar															
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr					
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe					
55	56	57	72																			
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn					
87	88	89	104																			
Fr	Ra	Ac																				
58	59	60	64	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71									
Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu									
Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr									

Слика 1.6. Периодни систем елемената на коме су бојом означени елементи чија једињења показују антитуморску активност.

Открићем антитуморских карактеристика цисплатине, пре око 40 година, практично започиње развој медицинске неорганске хемије.^{23,24} Међутим, и после 30 година активног коришћења цисплатине у лечењу канцера (врата, јајника, итд.), она остаје најпримењенији антитуморски лек и данас. Током година синтетисано је и одобрено за употребу широм света неколико аналога цисплатине, као што су карбоплатина и оксалиплатина. Упркос великом успеху платинских једињења у лечењу канцера, суочавало се и са великим недостацима ових медикамената. Пре свега ограничен број канцера на који делују, као и велики број споредних ефеката при коришћењу платинских антитуморских једињења (повраћање, нефротоксичност, кардиотоксичност,...). Око десетак платинских једињења одобрено је за медицинску употребу. Међутим, ни са једним од њих није се превазишла употреба цисплатине, а такође још увек нису решени проблеми са којима се суочавало током употребе цисплатине.

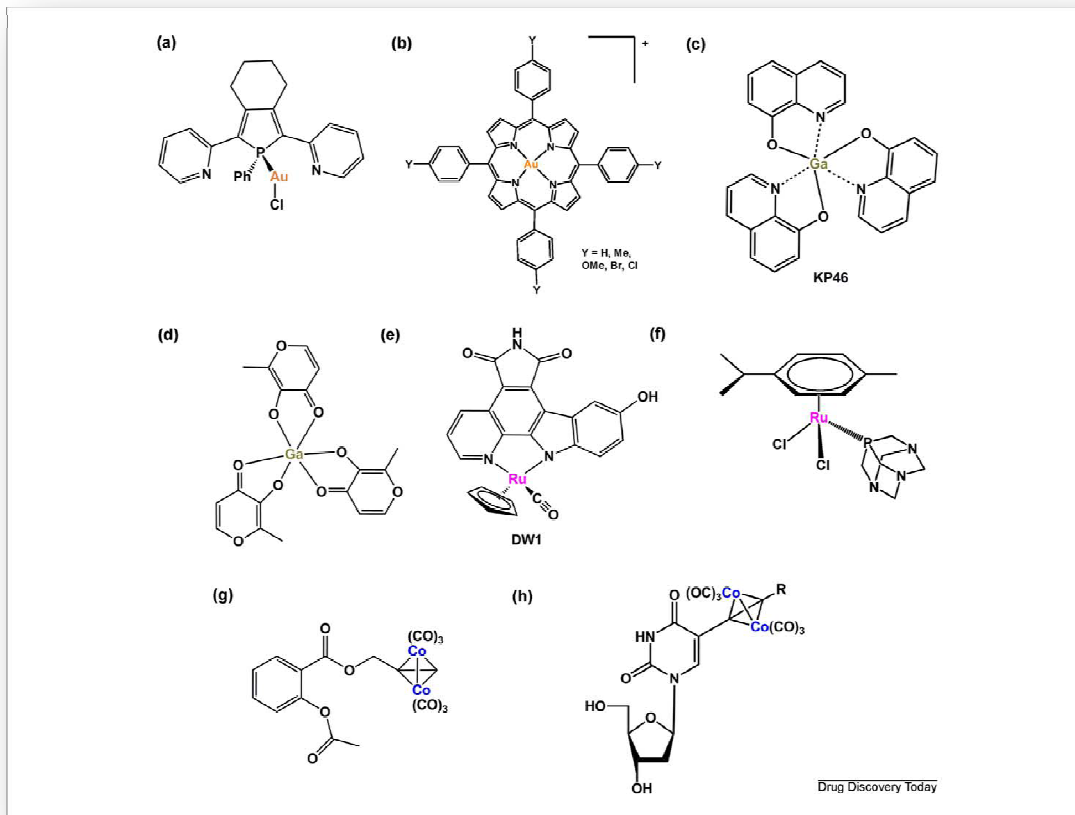
Данас се антитуморска једињења могу поделити у две групе: класични и не класични хемотерапеутици.^{2,25,26} Цисплатина делује на тај начин што доводи до дисторзије ДНК, па се термин „класични хемотерапеутици” користи за она једињења која имају за мету ДНК и њену дисторзију. Уводе се други метали у синтези класичних антитуморских агенаса, како би се превазишли негативни ефекти које са собом носе

платинска антитуморска једињења. На Слици 1.7. приказана су једињења различитих метала, а која спадају у групу класичних хемотерапеутика и која се налазе у различитим фазама медицинских испитивања при чему дају обећавајуће резултате.



Слика 1.7. Класични хемотерапеутици: (a) кристална структура, на којој се види веза цисплатине и ДНК; (b) NAMI-A; (c) KP1019; (d) општа формула рутенијум(II) и осмијум(II) арена комплекса; (e,f) примери цитотоксичних рутенијум(II) арена комплекса; (g) модел који показује интеракцију рутенијум(II) арена комплекса и ДНК; (h) $[g\text{-Ru}(\text{azpy})_2\text{Cl}_2]$. (i,j) примери цитотоксичних осмијум(II) арена комплекса;²

Дизајнирање „некласичних хемотерапеутика“ уследило је након открића рецептора и фактора раста у ћелијама канцера. Ово откриће омогућило је развој нове стратегије у дизајнирању антитуморских једињења, тј. указало је на то да управо рецептори и фактори раста у канцерогеним ћелијама могу бити нова места за везивање. Сходно томе уследила је синтеза једињења која би била погодна за везивање на поменута места у ћелији, тј. „некласичних хемотерапеутика“ са протеинима и ензимима као циљним групама за везивање. На Слици 1.8. приказани су неки од њих.²



Слика 1.8. Примери антиканцерогених једињења са протеинима и ензимима као циљним групама: (a) злато(II) комплекс; (b) злато(III) мезо-тетраарилпорфирински комплекс; (c) KP46; (d) галијум трис-малтолат; (e) DW1; (f) Ru^{II} арене комплекси са (pta) лигандом; (g) комплекс кобалта аналог аспирину; (h) хексакарбонил дикобалт комплекс са нуклеозидом као лигандом.²

У циљу проналажења једињења са што бољим антитуморским карактеристикама, али такође и са што мањим споредним ефектима велика пажња поклања се развоју једињења који ће у организму да имају улогу прекурсора, тзв. про-лека, ове супстанце у току метаболизма ослобађају једињења која показују антитуморску активност. Ова врста једињења најчешће се активира фотохемијским процесима,²⁷ оксидацијом или редукцијом, као и супституционим реакцијама. Дизајнирање ових једињења захтева познавање константи супституционих реакција, редокс потенцијала, фотохемије, особина метала, као и познавање ефекта координованих лиганата у комплексу на активност тог комплекса.¹⁻³ У ову групу једињења спадају фотоактивна једињења $Pt(IV)$,²⁸⁻³¹ као и једињења $Pt(IV)$

која редукцијом прелазе у Pt(II)³²⁻³⁴. Такође ту спадају и једињења гвожђа, кобалта, родијума и рутенијума.^{2,35}

Фарел (Farell) са сарадницима је први пут дошао на идеју да синтетише комплексно једињење са два атома Pt која су повезана флексибилним мостним лигандом, и које ће имати потенцијалну антитуморску активност.³⁶ Након синтезе испитивањима је установљено да долази до везивања динуклеарног комплекса за ДНК.^{37,38} Затим је уследила синтеза и антитуморско испитивање већег броја динуклеарних комплекса Pt(II), при чему су се као мостни лиганди користила најчешће хетероциклична азотова једињења³ или молекули са азотовим донорским атомима и дугим алифатичним низом.³⁹

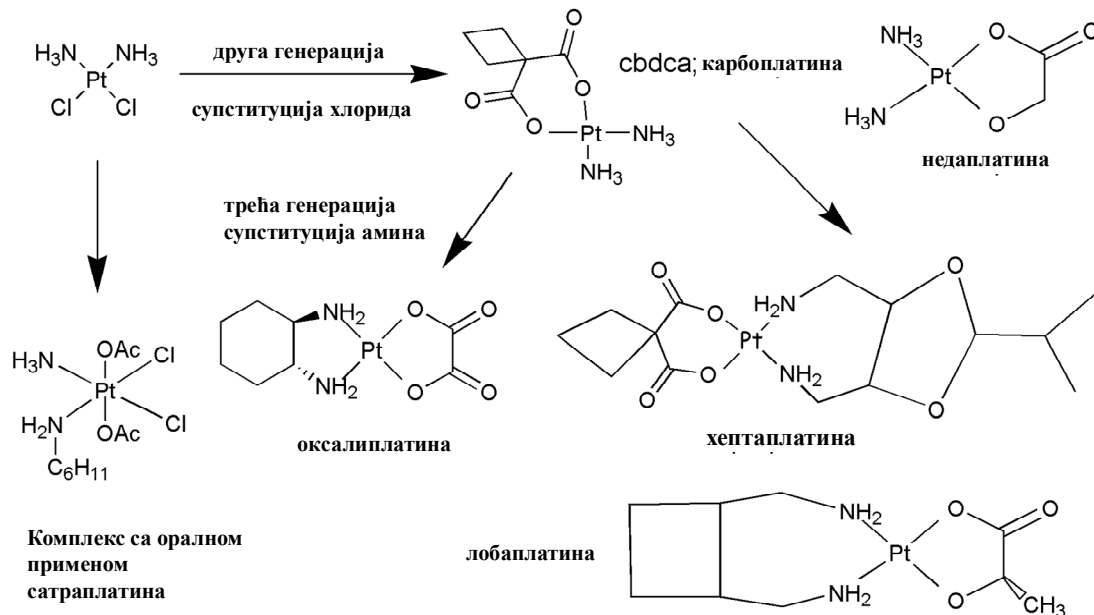
Поред динуклеарних синтетисани су и тринуклеарни комплекси Pt(II), који се могу бифункционално везати за ДНК.^{40,41} Такође, синтетисани су и динуклеарни комплекси са различитим јонима метала. Најчешће су то Pt, Cu или Ru комплекси.⁴²⁻⁴⁴ Синтеза овог типа молекула има за циљ, као и у свим претходним случајевима, постизање бољих антитуморских карактеристика комплекса у односу на цисплатину.

1.7.1. Класична платинска антитуморска једињења

Истраживања у области примене комплексних једињења у медицини започиње са открићем антитуморских карактеристика цисплатине.⁴ Данас је цисплатина у рутинској употреби као хемотерапеутик широм света. Након успеха цисплатине синтетисан је велики број аналогних једињења, при чему су сва једињења имала неколико заједничких карактеристика:

- ✓ Бифункционална комплексна једињења са *cis*-геометријом
- ✓ Опште формуле PtX₂(amin)₂, где X₂ представља два лабилна монодентантна или један лабилан бидентатни лиганд, а (amin)₂ су инертни азот-донорски лиганди
- ✓ Азот-донорски лиганди садрже најмање једну N-H везу.

Поред великог броја синтетисаних једињења свега неколико њих је ушло у медицинску употребу а већина се још увек налази у претклиничким испитивањима.^{45,46} На Слици 1.9. представљена су комплексна једињења платине која се налазе у медицинској употреби.

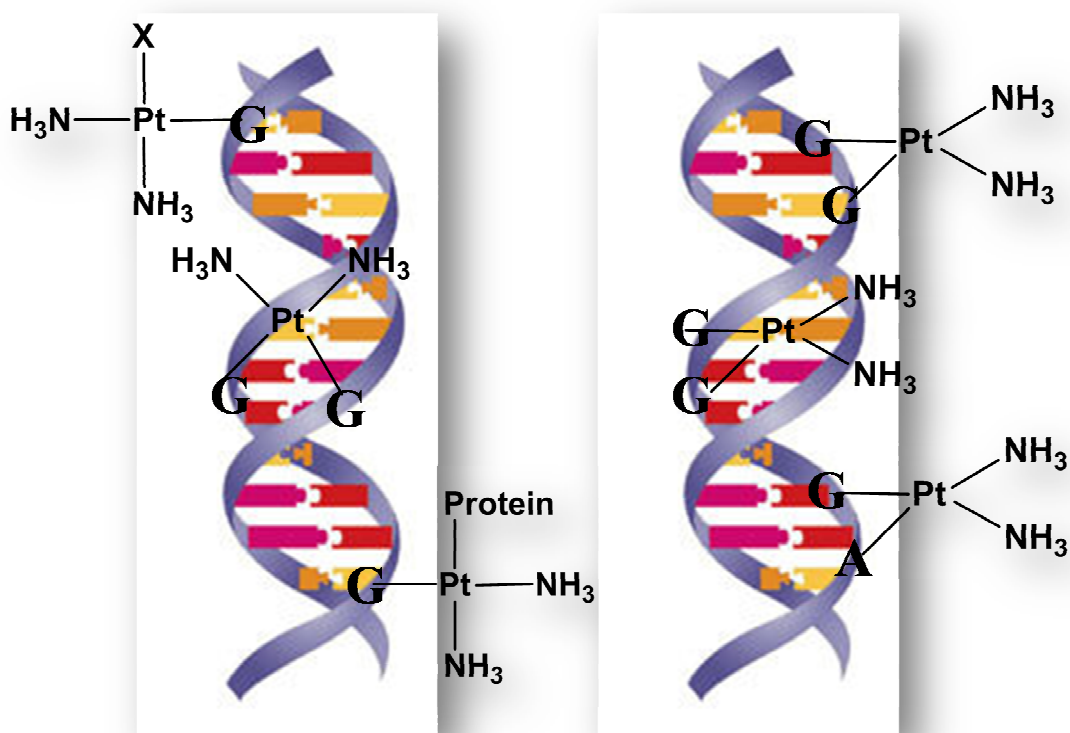


Слика 1.9. Структуре комплексних једињења платине која се налазе у клиничкој употреби широм света; структура комплекса платине који се орално употребљава (сатраплатина).⁴⁶

Платина има велики афинитет према сумпору, па након уношења комплекса платине у организам постоји велика могућност за везивање са сумпор-донорским биомолекулима, којих има у великим количинама у облику пептида, протеина и ензима са аминокиселинама: L-цистеин и L-мет. Везивање комплекса платине са сумпор-донорским биомолекулима одговорно је за појаву токсичних ефеката.^{47,48} Међутим, одређени део комплекса платине бива везан са азот-донорским биомолекулима (амино-киселинама или ДНК). Антитуморска активност комплекса платине је последица њиховог везивања за молекуле ДНК, и то првенствено за генетску ДНК која се налази у нуклеусу, док је веза са митохондријалном ДНК мање одговорна за антитуморску активност.⁴⁹ Када комплекс платине доспе до молекула ДНК, могућности за координацију су различите. Везивање комплекса за ДНК се првенствено дешава преко N7 атома гуанина, док је мање заступљено везивање за N7 и N1 атоме аденина и N3 атом цитозина.^{47,48} С обзиром да молекуле ДНК у својим комплементарним спиралним структурама садржи различиту секвенцу пуринских и пиримидинских база, установљено је да је са 65% заступљена координација комплекса типа 1,2-(GpG), односно, веза преко два молекула 5'-GMP који

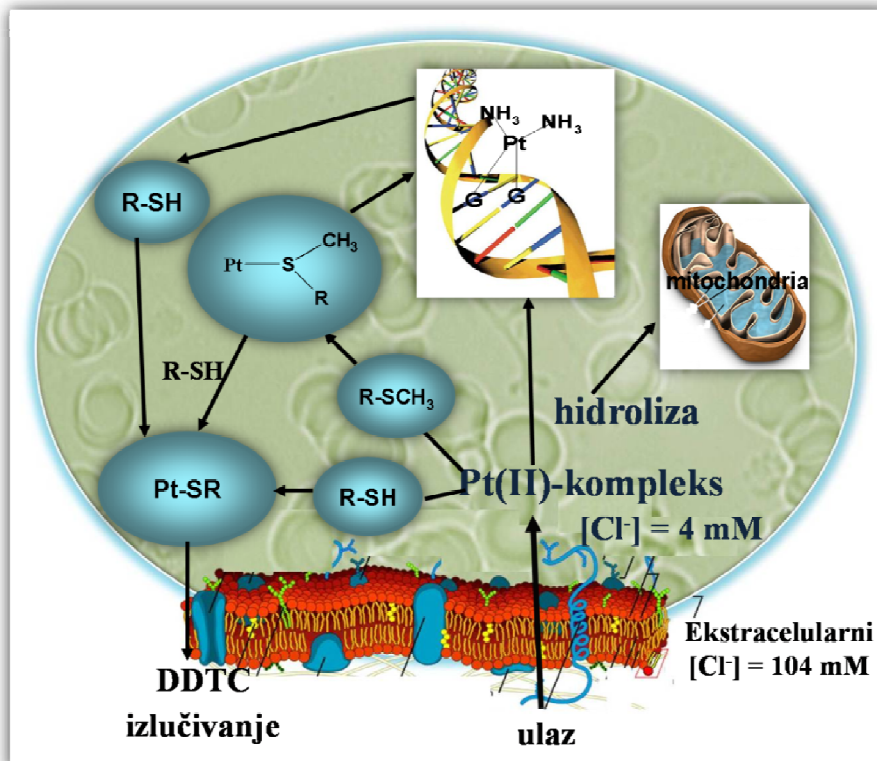
се налазе на супротним ланцима ДНК. Око 25% је заступљена веза типа 1,2-(ApG), тј. веза са аденозин-5'-монофосфатом и 5'-GMP смештеним на супротним ДНК ланцима. Остали начини везивања (монофункционално везивање комплекса, везе типа 1,3-(GpG), везе преко гуанозина смештених на истом ланцу молекула ДНК, итд.) су мање заступљени. На Слици 1.10. приказани су различити начини везивања цисплатине за молекула ДНК.^{45,50}

Међутим, као што је већ напоменуто, у ћелији се налазе и други биомолекули, који такође могу да реагују са комплексима платине. Посебно велики афинитет комплекси платине показују према биомолекулима који садрже сумпор, како у тиолном тако и у тиоетарском облику. Наиме, Pt(II) као „мека” киселина гради јако стабилна једињења са сумпор донорима („меким” базама). Настала једињења су одговорна за појаву токсичних ефеката (нефротоксичност, неуротоксичност, резистентност итд.). Пошто је концентрација тиола, укључујући GSH и L-цистеин, у интрацелуларној течности око 10 mM, претпоставља се да већи део комплекса Pt(II) бива везан за сумпор из биомолекула, пре него што дође до молекула ДНК.⁴⁵⁻⁴⁸



Слика 1.10. Начини координовања цисплатине за ДНК.

Везивање комплекса Pt(II) за сумпор из тиоетра је кинетички фаворизован процес. Настала Pt-S(тиоетар) веза може се раскинути у присуству молекула ДНК, тј. N7 атом 5'-GMP може да супституише молекул тиоетра из насталог једињења.⁵¹ Из тих разлога се једињења типа Pt-S(тиоетар) сматрају „резервоаром” комплекса Pt(II) у организму, тј. погодним интермедијером у реакцији комплекса Pt(II) и ДНК. Pt-S (тиоетар) веза може се раскинути и у присуству молекула тиола, тј. сумпор из тиола супституише сумпор из тиоетра, при чему је настала Pt-S (тиол) веза термодинамички стабилнија. Такође, може доћи и до директног везивања Pt(II) за сумпор из молекула тиола, а настала Pt-S веза је јако стабилна и тешко раскидива. Сматра се да је грађење једињења типа Pt-S (тиол) одговорно за појаву токсичних ефеката током коришћења комплекса платине као антитуморских реагенаса. За раскидање Pt-S (тиол) везе данас се користе једињења позната као „заштитни агенси”, а то су једињења која садрже сумпор и која су врло јаки нуклеофили (диетилдитиокарбамат, тиоуреа, тиосулфат, глутатион, L-цистеин, биотин итд.).^{45,49,51}



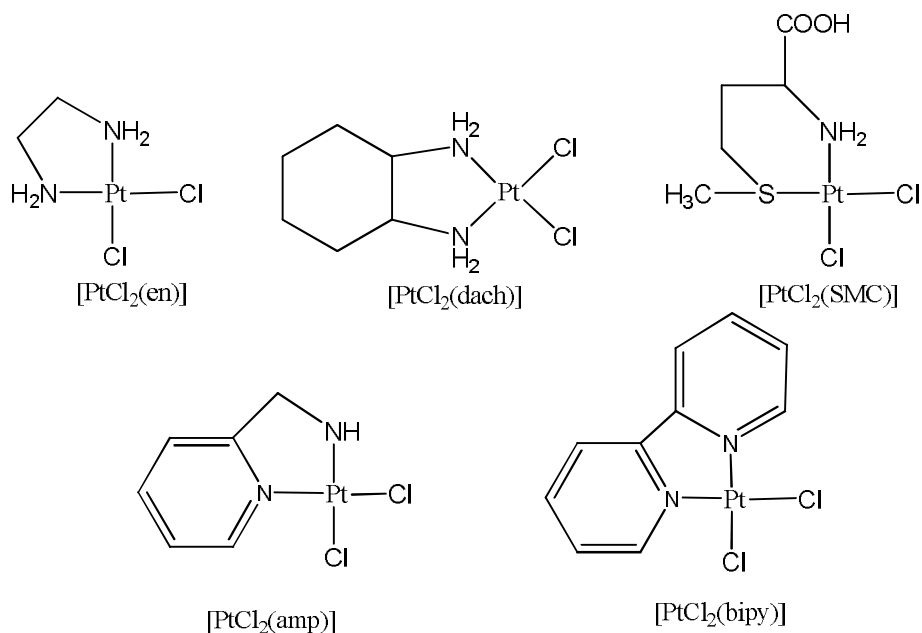
Слика 1.11. Унутарћелијски процеси приликом примене антитуморских агенаса на бази платине.

1.8. Интеракције бифункционалних комплекса платине(II)

Да би се постигла што боља стратегија у процесу дизајнирања антитуморских комплекса платине, а тим и боља ефикасност ових једињења, неопходно је познавати начин на који поменути једињења реагују са различитим сумпор- и азот-донорским биомолекулима. Значајне информације о поменутим интеракцијама добијене су из великог броја студија спроведених у *in vitro* условима, међу којима се налази испитивање супституционих реакција комплекса платине са различитим биомолекулима при различитим експерименталним условима.

Цисплатина је најиспитиванији бифункционални комплекс платине.⁴⁶⁻⁴⁹ Детаљно је описан начин координовања цисплатине за молекул ДНК.^{46,47,52} Поред интеракције са класичним нуклеозидима,⁵³⁻⁵⁵ проучаване су интеракције са молекулима AMP, ADP и АТР, од којих највећу реактивност показује трифосфат.⁵⁶ Проучаване су и интеракције са сумпор-донорским биомолекулима, L-цистеином, GSH, L-мет. Досадашњи публиковани резултати показују да је тиол GSH реактивнији од L-цистеина.⁵⁷ У реакцијама са L-мет, молекул аминокиселине се бидентатно координује за Pt(II) градећи S,N-хелат. Уколико је аминокиселина присутна у вишку може доћи и до бидентатног координовања два молекула аминокиселине за Pt(II)-јон.⁵⁸ Испитиване су такође и конкурентне реакције између цисплатине, L-мет и 5'-GMP у смеси, при чему као производ реакције преовладава комплекс $[Pt(NH_3)_2(N7-GMP)_2]$, док се једињења $[Pt(N,S-Met)(N7-GMP)(NH_3)]$ и $[Pt(N,S-Met)_2]$ налазе у врло малим концентрацијама.⁵⁹ Уколико се у реакционој смеси поред фрагмента ДНК нађе молекул тиола, очекује се да нема конкурентних реакција, тј. Pt(II) се координује само за тиол.^{60,61} Међутим новија истраживања су показала се извесна количина Pt(II) координује са 5'-GMP (< 16 %), док је у највећем проценту (> 80 %) остварена координација са тиолом.⁶² Иначе је познато да Pt(II) лако реагује са GSH, тако да око 67% унете цисплатине у организам бива везано са GSH. Управо из тих разлога GSH се користи као „заштитни реагенс”, при чему се уноси у организам пре и након употребе цисплатине.⁴⁶ Улога GSH је двострука, јер има могућност да активира и деактивира цисплатину.⁶¹ Наиме примећено је да се реактивност цисплатине повећава уколико се у организам уноси заједно са GSH. Међутим, још је нејасно на који начин GSH повећава ефикасност, иако се зна да (Pt-GSH) производ бива транспортован из ћелије након 12 сати преко транспортног механизма везаног са АТР-ом.⁶³

Поред цисплатине интензивно су изучавани структурно слични комплекси у којима су најчеште један или оба молекула амонијака замењени различитим лигандима, као што је приказано на Слици 1.12.



Слика 1.12. Комплекси структурно слични цисплатини

Комплекс [PtCl₂(en)], који у својој структури уместо амонијака има бидентатно везан етилендиамин, интензивно је испитиван. У реакцијама са сумпор-донорским лигандом GSH настају динуклеарни комплекси са два мостна лиганда који потичу од молекула GSH.⁶⁴ У реакцијама са L-мет, два хлоридо лиганда се супституишу дајући S,N-хелат, док у реакцији са 5'-GMP долази до супституције оба молекула хлорида молекулом 5'-GMP.⁶⁵ Испитиване су супституционе реакције [PtCl₂(en)] са различитим аминокиселинама или пептидима који садрже азот-донорске групе, као што је хистидин.⁶⁶ Међутим, ако се у структури молекула инертан етилендиамински прстен замени молекулом *Mezen*, због стерних сметњи L-мет се координује само монодентатно преко атома сумпора.⁶⁷

Оксалиплатина, чија је антитуморска активност потврђена 1978. год,⁶⁸ у својој структури садржи координован диаминоциклохексан као лиганд. Након открића антитуморске активности оксалиплатине уследило је велико интересовање за комплексе који у својој структури садрже поменути инертни лиганд. Dach лиганд је специфичан по томе што садржи два асиметрична угљеникова атома. Он може да постоји у облику три

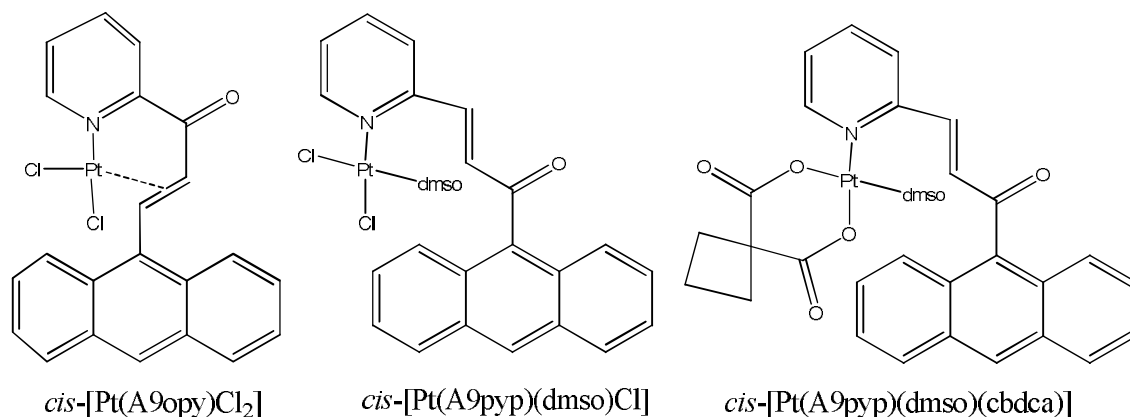
изомера: *cis-R,S-dach*, *trans-R,R-dach* и *trans-S,S-dach*, од којих је први најмање антитуморски активан, а последњи највише. Комплекс $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$ у супституционим реакцијама са сумпор- и азот-донорским лигандима се понаша готово идентично као и претходно поменути комплекси цисплатина и $[\text{PtCl}_2(\text{en})]$.^{68,69} Међутим, примећено је да при реакцији оксалиплатине са смешом L-мет и 5'-GMP долази до формирања производа у коме је у једном случају координован 5'-GMP, а у другом L-метионин, а да при томе не долази до конкурентних реакција.⁵⁹ Поред супституционих реакција $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$ комплекса испитиване су и реакције аналогних комплекса у којима су хлоридо лиганди супституисани различитим бидентатним лигандима, тј. комплекси типа: $\text{Pt}(\text{dach})(\text{CBDCA})$, $\text{Pt}(\text{dach})(\text{gly})$ и $\text{Pt}(\text{dach})(\text{L-met})$. Код ових комплекса примећено је да у реакцијама са L-метионином долази до грађења S,N-хелата, док се у реакцијама са 5'-GMP и GSH долази до ослобађања координованог молекула лабилног лиганда CBDCA, gly или L-met и координовања два молекула 5'-GMP или GSH.⁷⁰ Карактеристично је да природа одлазећег лиганда, тј. CBDCA, gly или L-met у великој мери утиче на брзину којом ће се одвијати процес супституције, при чему већу реактивност у односу на сва три комплекса показује $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$.⁷⁰

За разлику од претходно описаних комплекса, који у својој структури имају координован амински лиганд, комплекс $[\text{PtCl}_2(\text{SMC})]$ има координован S-метил-L-цистеин. У реакцијама са азот донорским молекулима као што су 5'-GMP, INO и 5'-IMP аква аналог овог комплекса показује веома слично понашање као и претходно наведени амински комплекси. Наиме он гради производ типа $[\text{Pt}(\text{SMC})\text{X}_2]^+$, где X представља 5'-GMP, INO и 5'-IMP.⁶² Међутим, примећено је да се супституција првог молекула воде одвија доста брже у односу на супституцију другог молекула воде. Ова појава је последица јаког *trans*-ефекта координованог сумпора из аминокиселине S-метил-L-цистеина. Супституционе реакције $[\text{PtCl}_2(\text{SMC})]$ комплекса са лигандима 5'-GMP, INO, GSH и L-мет испитиване су у функцији различитих концентрација хлорида у раствору, где је уочено да при високим концентрација хлорида (већим од 10 mM) константа брзине реакције хидролизе комплекса је једнака нули, тј. да је хидролиза комплекса потпуно спречена.⁷¹

Увођењем пиридинског прстена у координациону сферу комплекса, као код $[\text{PtCl}_2(\text{amp})]$ и $[\text{PtCl}_2(\text{bipy})]$, постиже се знатно већа реактивност комплекса у

супституционим реакцијама како са сумпор- тако и са азот-донорским лигандима. Већа реактивност $[\text{PtCl}_2(\text{amp})]$ и $[\text{PtCl}_2(\text{bipy})]$ комплекса последица је електронске комуникације између пиридинских прстенова и јона метала.^{72,73} На основу резултата испитивања супституционих реакција $[\text{PtCl}_2(\text{amp})]$ и $[\text{PtCl}_2(\text{bipy})]$ комплекса са тиоуреом, L-мет и 5'-GMP може се приметити да ови комплекси реагују на потпуно идентичан начин као и горе описани комплекси. Они са L-мет граде *S,N*-хелат, док са тиоуреом и 5'-GMP долази до супституције оба молекула хлорида (или воде) са 5'-GMP и тиоуреом.⁶⁵ Константа брзине супституције за комплекс $[\text{PtCl}_2(\text{amp})]$ је око два пута већа у односу на вредности константи брзине супституције код $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$ и $[\text{PtCl}_2(\text{en})]$, док је комплекс $[\text{PtCl}_2(\text{bipy})]$ око 10 пута реактивнији. Међутим, код комплекса $[\text{PtCl}_2(\text{bipy})]$ није било могуће разграничити први и други корак реакције, што је последица чињенице да се и једном и другом хлоридном јону у *trans*-положају налазе пиридински прстенови, тако да се оба супституишу готово истом брзином.⁶⁵

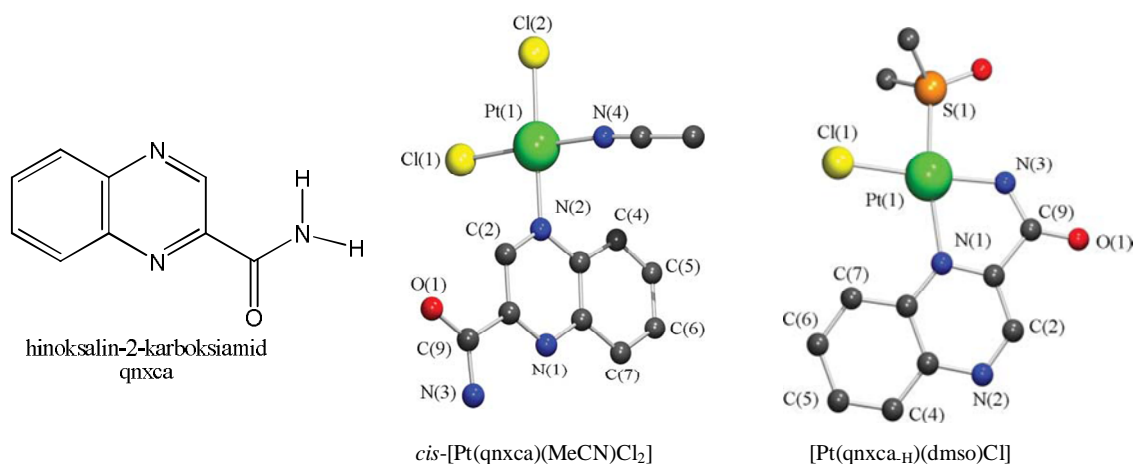
Данас постоји интересовање за синтезу бифункционалних комплекса Pt(II), који нису структурни аналози цисплатини. Синтеза ових једињења има за циљ превазилажење недостатака цисплатинских једињења, тј. повећана активност на већем броју различитих тумора, као и смањење токсичних ефеката. Комплекси Pt(II) углавном нису флуоросцентна једињења. Међутим развојем флуоросцентне микроскопије, која може да омогући праћење неке супстанце кроз организам, дошло се на идеју да се синтезом флуоросцентних комплекса Pt(II) са антитуморским карактеристикама може пратити његов пут од уношења у организам до координовања за ДНК. При синтези комплекса Pt(II) уводе се лиганди који имају флуоросцентне карактеристике,⁷⁴⁻⁷⁷ као што су на пр. лиганди A9ору и A9орур.^{78,79} На Слици 1.13. приказане су структуре неколико комплекса платине(II) са флуоросцентним лигандима.⁸⁰⁻⁸²



Слика 1.13. Неки од комплекса платине(II) који показују флуоросцентну активност.

Новосинтетисани комплекси са Сликe 1.13. испитивани су у *in vitro* условима у интеракцији са ДНК. Нови комплекси Pt(II) показали су бољу активност на већини туморских ћелија у односу на цисплатину.⁸⁰⁻⁸² Карактеристично је да комплекс $cis-[Pt(barpa)Cl_2]$, са два молекула антрацена, није осетљив на инактивацију са GSH.⁸²

Неколико студија је показало да је код стерно заштићених комплекса Pt(II) интеракција са интрацелуларним тиолима смањена.⁸³ Сходно томе синтетисани су комплекси Pt(II) са хетероцикличним аминима који су показали биолошку активност. На Слици 1.14. приказана су два новосинтетисана комплекса са хиноксалином.⁸⁴

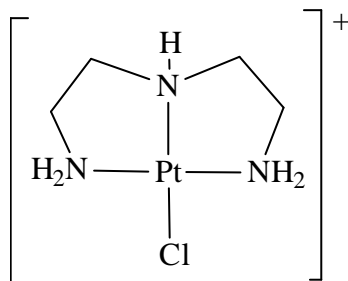


Слика 1.14. Структура qnxca лиганда; кристалне структуре два платинска комплекса са qnxca лигандом.

1.9. Интеракције монофункционалних комплекса Pt(II)

Монофункционални комплекси Pt(II) су комплекси који у својој структури садрже један инертан тридентатни лиганд, док четврто координационо место заузима лабилан најчешће хлоридо лиганд. Управо због овакве структуре и немогућности бифункционалног везивања за молекулу ДНК, монофункционални комплекси Pt(II) не испољавају антитуморске карактеристике. Међутим, једно место за координацију у многа поједностављује испитивање супституционих реакција ових комплекса, па су из тих разлога интензивно испитиване реакције ових комплекса са сумпор- и азот-донорским лигандима. Монофункционални комплекси представљају модел молекуле за испитивање интеракција комплекса платине и биомолекула.

Вероватно највеће интересовање за испитивање супституционих реакција изазвали су монофункционални комплекси опште формуле $[Pt(NNN)X]$, где NNN представља тридентатни лиганд који је повезан за Pt(II) преко три азот-донорска атома, а X је лабилан лиганд, при чему је то најчешће хлоридо јон. Свакако, најинтензивније испитиван комплекс из ове групе је $[PtCl(dien)]^+$ комплексног јона, приказан на Слици 1.15., који у квадратно-планарној равни садржи тридентатно-координован *диен*-ски систем (*dien* = диетилентриамин или 1,5-диамино-3-азапентан), док четврто координационо место заузима хлоридо лиганд.



Слика 1.15. Структурна формула $[PtCl(dien)]^+$ комплексног јона.

Постоји велики број резултата проучавања супституционих реакција $[PtCl(dien)]^+$ комплексног јона са различитим лигандима и при различитим експерименталним

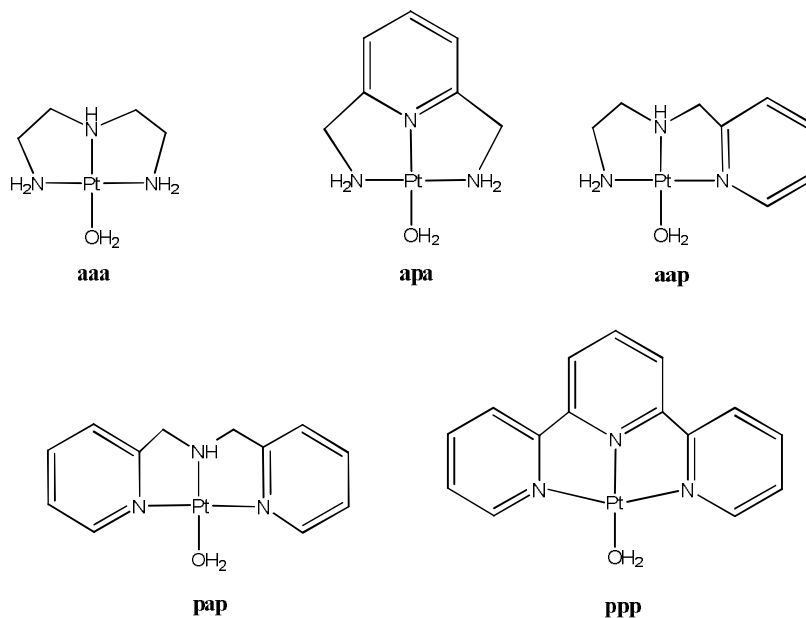
условима. У реакцијама комплексног јона $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ са GSH процес супституције зависи од рН вредности при којој се реакција проучава.⁸⁵⁻⁹⁰ На рН > 7 као једини производ реакције добија се мононуклеарни комплекс $[\text{Pt}(\text{dien})\text{GS}]^+$, док се на рН < 7 формира динуклеарни комплекс $[\{\text{Pt}(\text{dien})\}_2\text{GS}]^{3+}$ са GSH као мостним лигандом. Такође, у процесу супституције долази до депротонације GSH, што је примећено и у реакцијама других комплекса Pt(II) са тиолима.⁹¹ Уколико се као лиганд користи тиоетар S-метил-глутатион, реакције су знатно брже, али је производ са тиолом термодинамички стабилнији.⁸⁸ Упоређивањем вредности константи брзина реакција супституције $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ комплексног јона са различитим тиолима и тиотерима⁸⁸⁻⁹² примећено је велико одступање за GSH у односу на друге тиоле. С обзиром да је GSH трипептид са молекулом цистеина у средини, претпостављало се да би процес супституције био знатно спорији у односу на L-цистеин. Међутим, експериментално добијене вредности указују на много већу реактивност GSH. То се објашњава погодном геометријском структуром молекула, која проузрокује стварање интрамолекуларске водоничне везе у којој учествује протон тиол групе, услед чега је знатно повећана нуклеофилност атома сумпора, а самим тим и реактивност.^{57,90,91}

Приликом реакције супституције $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ комплексног јона са L-мет,^{86,90,93,94} као производ реакције првенствено настаје комплексни јон $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{S-Met})]^{2+}$. Примећено је да само у јако киселим растворима (рН < 1) постоји могућност за протоновање терминалне аминок групе *dien*-ског система, што доводи до отварања једног хелатног прстена и могућности за стварање *S,N*-helata.⁹⁵ Процес супституције $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ комплексног јона и L-мет проучаван је и у присуству 5'-GMP, уз претпоставку за постојање конкурентних реакција.⁸⁶ У том случају, комплекс Pt(II) прво реагује са L-мет формирајући $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{S-Met})]^{2+}$ производ, а потом молекул 5'-GMP супституише координовани L-метионин градећи термодинамички стабилнији $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{N7-GMP})]^{2+}$ комплексни јон. Поред тога, Pt-S(метионин) веза може да се раскине у присуству неких пептида или протеина који у свом саставу садрже хистидин, уз настанак производа где је Pt(II) координована за N1 атом имидазолског прстена.⁹⁶ У реакцији са нуклеотидом 5'-IMP, координација се такође остварује само преко N7 атома.⁹⁷ Међутим, уколико се реакције изводе са нуклеотидима у којима се на N7 атому азота налазе метил-групе веза се остварује преко N1 атома.⁹⁸ У реакцијама са 5'-AMP комплексни јон $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$

координује се за N7 или N1 атом азота, али је веза са N7 атомом заступљенија, док се са повећањем температуре повећава концентрација Pt-N1 производа.⁹⁹

У реакцијама $[PtCl(dien)]^+$ комплексног јона са тиоетрима или нуклеотидима у присуству GSH настају врло стабилни комплексни јон типа $[Pt(dien)SG]^+$, што још једном потврђује чињеницу да је Pt-S(тиол) веза најстабилнија и тешко раскидива.⁸⁷ Она се може раскинути само у присуству одређених нуклеофила са сумпором, као што су: диетидитиокарбамат, тиосулфат, тиоуреа.⁵⁷ Интересантни су покушаји хидролизе Pt-S(GSH) везе у присуству јона прелазних метала Cu(II) или Zn(II).¹⁰⁰

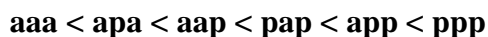
Посебно интересовање последњих година постоји за испитивање реактивности комплекса Pt(II) у чијој координационој сфери се налази један или више пиридинских прстенова. Комплекси који у свом саставу садрже пиридин приказани су на Слици 1.16.



Слика 1.16. Комплекси платине(II) са пиридином у координационој сфери; *a* = амин, *p* = пиридин.

Присуство пиридинског прстена у комплексу Pt(II) повећава електрофилност јона метала. Наиме пиридин има способност преузимања дела наелектрисања са метала чинећи га још позитивнијим.^{72,73} Поред тога уочена је и π -повратна донација електронске густине са улазног лиганда на хелатни лиганд, што доводи до стабилизације прелазног стања

квадратне-бипирамиде у односу на основно стање.^{72,73} Реактивност комплекса приказаних на Слици 1.16. расте следећим редоследом:



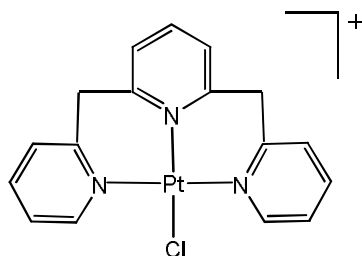
Испитивања су показала да увођењем пиридинских молекула у координациону сферу комплекса не само да се повећава лабилност комплекса у супституционим реакцијама, већ долази и до промене рКа вредности аква комплекса. Комплекс ааа има највећу вредност рКа, док рrr има најмању. То значи да се увођењем пиридинских молекула може подешавати рКа вредност комплекса.⁷² Туморске ћелије разликују се од нормалних ћелија управо по специфичној вредности рН. То је врло значајно у дизајну нових антитуморских комплекса у којима се модификацијом π-акцептора може постићи рКа која би одговарала рН вредности туморске ћелије.⁷²

Иако су за велику реактивност овог комплекса одговорне електронске интеракције између terpy лиганда и Pt(II),⁷² волуминозност terpy лиганда има велики утицај на карактеристике овог комплекса. У реакцијама супституције [PtCl(terpy)]⁺ комплексног јона са различитим тиоетрима и тиолима више пута је потврђена његова нереактивност према тиоетрима,¹⁰¹⁻¹⁰³ која се, управо, објашњава утицајем стерног ефекта. Мада, у реакцијама [PtCl(terpy)]⁺ комплексног јона са неким S-метил-тиоетрима и тионима могу настати динуклерани комплекси платине у којима је мостни лиганд S-метил-група.¹⁰⁴ Велика реактивност [PtCl(terpy)]⁺ комплекса према тиолима објашњава се настанком интрамолекуларске водоничне везе између протона са тиолне-групе и одлазећег хлоридо лиганда, чиме се додатно стабилизује прелазно стање.^{101,103,105}

Неколико производа реакције између [PtCl(terpy)]⁺ комплекса и ДНК фрагмената је синтетисано и окарактерисано ренгденско-структурном анализом, у којима је утврђено присуство јаким интрамолекуларских водоничних веза које додатно утичу на стабилизацију производа реакције.^{106,107} Комплексни јон [PtCl(terpy)]⁺ у растворима има тенденцију да гради димере већ при концентрацијама од 10⁻³ М.¹⁰⁸ Да би се то спречило, за изучавање реакција супституције овог комплексног јона користе се разблажени раствори концентрације око 10⁻⁵ М.¹⁰⁹

Комплексни јон [Pt(tpdm)Cl]⁺ структурно сличан [Pt(terpy)Cl]⁺ комплексном јону. У његовој структури између пиридинских прстенова уведене су метиленске групе, Слика

1.17. Он реагује са сумпор- и азот-донорским молекулима на идентичан начин као и $[\text{Pt}(\text{terpy})\text{Cl}]^+$ али значајно спорије. Реактивност комплексног јона $[\text{Pt}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ је готово истог реда величине као и $[\text{Pt}(\text{dien})\text{Cl}]^+$. Карактеристично за $[\text{Pt}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ комплексни јон је да реагује са L-мет, за разлику од $[\text{Pt}(\text{terpy})\text{Cl}]^+$.¹¹⁰



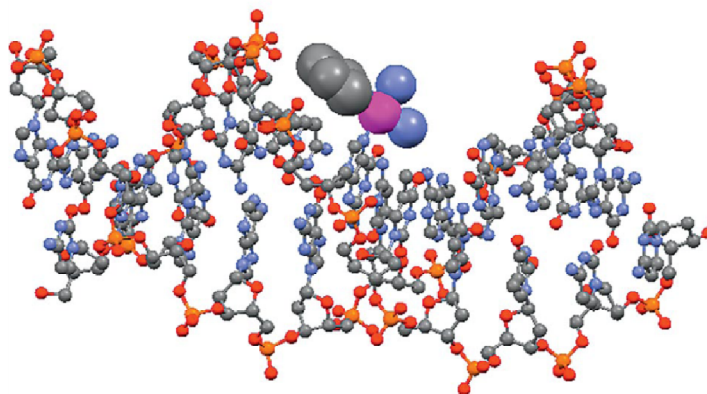
$[\text{Pt}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$

Слика 1.17. Структурна формула $[\text{Pt}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ комплексног јона.

Без обзира што у својој структури садржи пиридинске молекуле, $[\text{Pt}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ не показује велику реактивност. Сматра се да је смањена реактивност овог комплекса последица структурних модификација. Комплексни јон $[\text{Pt}(\text{terpy})\text{Cl}]^+$ је планаран, док увођењем две метиленске групе у комплексни јон $[\text{Pt}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ нарушава се планарност, што узрокује смањену реактивност.¹¹⁰

Поред комплекса са тридентатним лигандом NNN типа, интересантни су комплекси са NCN (где је C = -CH или -C₆H₅) и NNC лигандима (где је C = -C₆H₅),¹¹¹ као и SNS (S = метилтиометил)¹¹² и NSN лигандима,¹¹³ помоћу којих је испитиван утицај тридентатних лиганата са различитим донорским атомима на брзину супституционих реакција комплекса Pt(II).

Показало се да неки монофункционални комплекси Pt(II) показују извесну антитуморску активност.¹¹⁴ Један такав комплекс је $[\text{PtCl}(\text{NH}_3)_2(\text{пиридин})]\text{Cl}$, при чему је примећено да се он координује за ДНК монофункционално преко N7 из гуанина,¹¹⁴ као што је приказано на Слици 1.18.



Слика 1.18. Пројекција структуре ДНК за коју је везан монофункционални комплекс Pt(II) преко N7 из гуанина.¹¹⁴

Јонски растварачи постају популарни управо због велике потенцијалне индустријске примене. Истраживачка група van Eldik-а је дошла на идеју да испитује супституционе реакције већ познатих монофункционалних комплекса Pt(II) у јонским течностима.¹¹⁵ Ова истраживања имају за циљ да открију брзину и механизам одигравања супституционих реакција у јонским течностима. Неке од коришћених јонских течности, у овим испитивањима, су:

Катјон	Анјон		
<p>[emim]⁺</p>	<p>[dca]⁻</p>	<p>[OTf]⁻</p>	<p>[EtOSO₃]⁻</p>

Уочено је да механизам супституције платинских комплекса у јонским течностима остаје исти, али да брзина у великој мери зависи од врсте јонске течности. Углавном се реакције одигравају знатно спорије у односу на исте реакције у метанолу и води.¹¹⁵

1.10. Комплекси Pd(II)

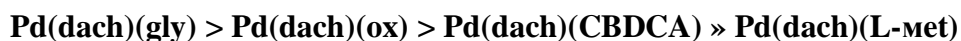
Метали Ni, Pt и Pd налазе се у истој групи перидоног система, међутим, само комплексна једињења Pt показује антитуморску активност.⁴⁷ Главни разлог биолошке

активности комплекса Pt лежи у брзини супституционих реакција, које се одигравају споро.^{116,117} Комплексна једињења Pd(II) често се користе као модел молекули за испитивање кинетике и механизма супституционих реакција јер реагују 10^3 - 10^5 пута брже од аналогних комплекса Pt(II). Хемијско понашање у растворима структурно сличних комплексних једињења Pt(II) и Pd(II) је идентично.¹¹⁸ Због јако великог афинитета према сумпор и азот донорским лигандима, као и јако велике реактивности, селективност комплекса Pd(II) према биомолекулима је мала, што ограничава употребу ових једињења као антитуморских реагенаса.

Велики број структурно аналогних комплекса Pd(II) комплексима Pt(II) синтетисано је и испитивана је кинетика и механизам супституционих реакција са различитим биомолекулима. Испитиване су супституционе реакције комплекса $[PdCl_2(en)]$ са различитим сумпор и азот-донорским биомолекулима, при различитим експерименталним условима. Тако, у реакцијама са L-метионином настаје *S,N*-хелат. Међутим, у реакцији са S-метил-L-цистеином не долази до формирања *S,N*-хелата, већ се два молекула тиоетра координују за Pd(II). Такође је испитивана реактивност етилендиаминских комплекса Pd(II) код којих су у структури етилендиамина неки од аминских водоникових атома замењени метил- или етил-групама. Због присутних стерних сметњи реактивност ових једињења је умањена.¹¹⁹ У реакцијама са N-донорским нуклеозидима и нуклеотидима, $[PdCl_2(en)]$ комплекс, реагује идентично одговарајућем комплексу Pt(II), координује се првенствено преко N7 атома азота, док је веза преко N1 заступљена у мањој мери. Реактивност нуклеотида израженија је у односу на реактивност нуклеозида, због настајања производа који су додатно стабилизовани интрамолекулским водоничним везама.¹²⁰⁻¹²³ Неки од производа ових хемијских реакција су изоловани и окарактерисани, као што је случај са $[Pd(en)(N7-IMP)_2]$ комплексом.¹²⁴

Такође су испитиване интеракције и других бифункционалних комплекса Pd(II), аналогних комплексима платине. Један од таквих комплекса је $[PdCl_2(SMC)]$. У реакцијама $[PdCl_2(SMC)]$ комплекса са фрагментима ДНК (INO, 5'-IMP и 5'-GMP) утврђено је да је молекул 5'-GMP најбољи нуклеофил.¹²⁵ Комплекс са 1,2-диаминциклохексаном испитиван је у реакцијама са GSH и оксидованим GSH при чему долази до формирања *S,N*-хелата,¹²⁶ док се у реакцијама са нуклеотидима и фрагментима ДНК понаша на уобичајен начин.

Поред супституционих реакција $[PdCl_2(dach)]$ комплекса испитиване су и реакције аналогних комплекса у којима су хлоридо лиганди супституисани различитим бидентатним лигандима, тј. комплекси типа: $Pd(dach)(CBDCA)$, $Pd(dach)(gly)$, $Pd(dach)(L\text{-met})$ и $Pd(dach)(ox)$. Наведени комплекси испитивани су у реакцијама са INO , $5'\text{-IMP}$ и $5'\text{-GMP}$.¹²⁷ Карактеристично је да природа одлазећег лиганда тј. $CBDCA$, gly , $L\text{-met}$ или ox у великој мери утиче на брзину којом ће се одвијати процес супституције, при чему је ред реактивности следећи:¹²⁷



од изабраних нуклеофила $5'\text{-GMP}$ је реаговао најбрже.

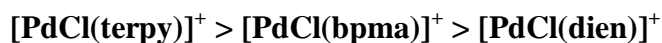
Као и у случају $Pt(II)$ комплекса, синтетисани су и испитивани монофункционални комплекси $Pd(II)$. Један од изучаваних комплекса је $[PdCl(N,N,S\text{-Gly-Met})]$ у коме улогу тридентатно-координованог лиганда има дипептид $Gly\text{-Met}$ координован за $Pd(II)$ преко атома сумпора из молекула $L\text{-мет}$, азота из пептидне везе и азота из терминалне аминок групе. Понашање овог комплекса у реакцијама са тиолима ($L\text{-цистеином}$, GSH , $DL\text{-пенициламином}$) је идентично понашању осталих монофункционалних комплекса $Pd(II)$ и $Pt(II)$.¹²⁸

Изучавања $[PdCl(dien)]^+$ комплексног јона у реакцијама са сумпор и азот доносним биомолекулима су врло интересантна ради упоређивања добијених резултата са резултатима добијеним у случају комплекса $Pt(II)$. Тако, у реакцијама са тиолима ($L\text{-цистеином}$, GSH , $DL\text{-пенициламином}$) долази до супституције хлоридо лиганда молекулом тиола. Молекул GSH је најреактивнији, док је реакција са $DL\text{-пенициламином}$ најспорија. Са порастом pH вредности, поред настајања комплекса 1:1, примећено је присуство динуклеарних комплекса са сумпором као мостним лигандом.¹²⁹ Пошто експериментални услови јако утичу на одређене процесе супституције, управо је у случају реакције супституције $[PdCl(dien)]^+$ комплекса са $L\text{-цистеином}$ и GSH испитиван утицај промене растварача, јонске силе раствора, pH вредности и присуства анјонских тензида.¹³⁰ У реакцијама са фрагментима ДНК молекула, $[PdCl(dien)]^+$ комплексни јон реагује формирајући производе преко $N7$ атома азота.¹³¹

Присуство пиридинског прстена у комплексу $Pd(II)$ повећава електрофилност јона метала на исти начин као и код комплекса $Pt(II)$. Тако су испитивања показала да је

комплекс $[\text{PdCl}_2(\text{bipy})]$ знатно реактивнији у односу на $[\text{PdCl}_2(\text{en})]$ и то у реакцији са тиоуреом, тетраметилтиоуреом и 5'-IMP, што је свакако последица присутних пиридинских молекула.¹³² Међутим, комплекс Pd(II) са пиперизином, $[\text{Pd}(\text{Pip})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, који такође има способност електронске комуникације са јоном метала, у реакцији са 5'-GMP показује мању реактивност него аналоган комплекс са етиледиамином, што се сматра да је последица стерних сметњи.¹³³ pKa вредност $[\text{Pd}(\text{Pip})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ комплексног јона је мања тј. комплекс је киселији у односу на комплекс са етилендиамином, што је свакако последица π -електронске комуникације између пиперизина и Pd(II)-јона.¹³³

Код монофункционалних комплекса Pd(II) уочено је да као и код комплекса Pt(II) број и распоред пиридинских јединица у тридентатно координованом NNN доносном лиганду у великој мери утичу на реактивност комплекса. Упоредивањем реактивности поменутих комплекса испоставило се да реактивност опада у следећем низу:



што је свакако у сагласности са бројем пиридинских јединица у комплексу што је и у сагласности са резултатима добијеним за Pt(II) комплексе.^{90,104} Комплексни јон $[\text{Pd}(\text{terpy})\text{Cl}]^+$ не реагује са тиоетрима,¹³⁴ а у реакцијама са тиолима (GSH, L-цистеин и DL-пенициламин)¹³⁵ он се понаша идентично *terpy* комплексу Pt(II). Упоредивањем односа константи брзина реакција супституције одговарајућих монофункционалних комплекса Pd(II) и Pt(II) са тиолима најмања разлика у реактивности је у случају *terpy* комплекса.¹³⁶

У реакцијама са другим аминокиселинама или фрагментима ДНК молекула, $[\text{PdCl}(\text{terpy})]^+$ комплексног јона реагује знатно брже.¹³⁷ Такође се већа реактивност овог комплексног јона у односу на остале монофункционалне комплексе Pd(II) примећује и у реакцијама супституције са пиридином и *para*-дериватима пиридина.¹³⁸

Комплексни јон $[\text{Pd}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ испитиван је у реакцијама са серијом лиганата: Cl^- , I^- , Br^- , SCN^- , TU, DMTU и TMTU.¹³⁹ Ред реактивности посматраних лиганата је: $\text{I}^- > \text{DMTU} > \text{TU} > \text{SCN}^- > \text{TMTU} > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$, што је у сагласности са електронским и стерним ефектима. Наведени комплекс реагује око 10^3 пута брже од одговарајућег Pt(II) аналога.¹³⁹ Ови резултати још једном показују колико присуство пиридинских молекула увећава брзину супституционих реакција. Такође, испитивана је и реактивност пиридина и

деривата пиридина према $[\text{PdCl}(\text{bpma})]^+$ комплексном јону,¹³⁹ а утврђено је да реактивност деривата пиридина зависи од карактеристика присутних супституената.¹³⁹

$[\text{PdCl}(\text{bpma})]^+$ комплексни јон испитиван је у реакцијама са азолима и диазинима, специфичном групом шесточланих и петочланих азот-донорских хетероцикла.¹⁴⁰ Азоли су јако значајни са бионеорганског становишта, с обзиром да имидазол из хистидина улази у састав хемопротеина.¹⁴¹ Такође азоли могу да инхибирају везивање СО за неке цитохроме, док неки деривати триазола показују антибактеријско дејство на патогене бактерије биљака.¹⁴² Једињења која у свом саставу садрже пиридазин, пиридин као и друга хетероциклична једињења користе се у терапијске сврхе за лечење реуматског артритиса, остеоартритиса, остеопорозе, псоријазе и др.¹⁴³ Поред триазола, и деривати на бази пиридазина и пиразола показују антибактеријско и антигљивично дејство.¹⁴⁴ Азоли, као и диазини се често користе као мостни лиганди при грађењу динуклеарних комплекса Pt(II).^{29,49} Од испитиваних азола и диазина највећу реактивност према $[\text{PdCl}(\text{bpma})]^+$ комплексном јону има триазол, петочлани прстен.¹⁴¹

Као и у случају комплекса Pt(II) и комплексни јон структурно сличан $[\text{PdCl}(\text{terpy})]^+$ комплексном јону, при чему су између пиридинских прстенова уведене метиленске групе, чија је формула $[\text{Pd}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ реагује са сумпор- и азот-донорским молекулима на идентичан начин као и $[\text{PdCl}(\text{terpy})]^+$ али много пута спорије. Реактивност комплексног јона $[\text{Pd}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ је готово истог реда величине као и $[\text{PdCl}(\text{dien})]^+$. Карактеристично за $[\text{Pd}(\text{tpdm})\text{Cl}]^+$ је да реагује са L-мет, за разлику од $[\text{PdCl}(\text{terpy})]^+$.¹¹⁰

Последњих пар година чине се напори да се увођењем различитих врста лиганата у координациону сферу комплекса Pd(II) добије комплекс који ће да испољава цитотоксичну активност. Синтетисано је осам комплекса Pd(II) у комбинацији са 4-толуенсулфонил-L-амино киселином и диимином (bipy или phen), при чему су свих осам комплекса показали активност на ћелијама карцинома. Највећу активност показао је $[\text{Pd}(\text{phen})(\text{TsleuNO})] \text{H}_2\text{O}$.¹⁴⁵ Синтетисан је комплекс Pd(II) са лигандом који у својој структури садржи пиридин и амид, N-(4-хлорофенил)-3-пиридинкарбоксиамид. Добијени комплекс има *trans* геометрију. Утврђено је да се везује за ДНК и да испољава цитотоксичност за неке ћелије канцера. Међутим, активност наведеног комплекса мања је у односу на комплекс Pt(II) са истоименим лигандом.¹⁴⁶ Поред антитуморске активности, неки комплекси Pd(II) показују активност против туберкулозе, као што је комплекс

trans-[PdX₂(isn)₂] (X= Cl, N₃, SCN, или NCO; isn = изоникотинамид), при чему је најактивнији комплекс са N₃. Ови комплекси показују и антитуморску активност али знатно мању у односу на цисплатину.¹⁴⁷ Аминоалкохоли као што су (-)-ефедрин, (-)-норепедрин, L-пролинол, L-валинол и L-изолеуцинол коришћени су у синтези комплекса Pd(II), при чему настали комплекси показују извесну антитуморску активност.¹⁴⁸

Хелатни лиганди заузимају важно место у модерној органометалној хемији, хомогеној катализи,¹⁴⁹ као у бионеорганској хемији.¹⁵⁰ Велики број различитих *Schiff*-база, користи се као помоћни лиганди у реакцијама катализованим прелазним металима.^{151,152} Захваљујући великом успеху дииминских лиганада, аналогни лиганди са етиленом или пиридином као мостним лигандом који повезује *бис*(имидазолин-2-имино) лиганде су синтетисани. Наведени лиганди са *бис*(имидазолин-2-имином) садрже имин као донор, који је јако базан и самим тим изузетно јак нуклеофил, што је последица способности имидазоловог прстена да стабилизује позитивно наелектрисање.¹⁵³ Велика електрон-донорска способност ових лиганада, као и велика реактивност према прелазним металима, потврђена је синтезом веома реактивног бакар(I) комплекса и синтезом молибденских и рутенијумских сендвич комплекса, који садрже још и циклохептатриенил, циклопентадиенил и арена лиганде.^{154,155} Такође, ови лиганди имају способност да граде комплексе са металима из прве групе прелазних метала тј. Mn – Zn.¹⁵⁶ У оквиру овог рада синтетисана су два комплекса Pd(II) са лигандима овог типа.

ЗАДАТАК РАДА

Предмет ове докторске дисертације био је испитивање супституционих реакција комплекса Pt(II) и Pd(II) са биолошки значајним лигандима. Наведена испитивања могу се поделити на следећи начин:

- Испитивање кинетике и механизма супституционих реакција $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]^+$ комплексних јона и аква аналога са L- мет, GSH и 5'-GMP у 0,1 М NaClO₄, на три температуре (288, 298 и 308 К).
- Праћење реакција бифункционалних комплекса Pt(II) са 1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP у 25 mM хепес пуферу, на 310 К, pH 7,2.
- Синтеза и карактеризација 2,6-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина и 1,2-бис[(1,3-ди-изопропилмидазолин-2-имино)]етана.
- Рендгенско-структурна анализа $[(\text{TL}^{t\text{Bu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ и $[(\text{BL}^{i\text{Pr}})\text{PdCl}_2]$ комплекса.
- Равнотежа и кинетика супституционих реакција бис(имидазолин-2-имино) комплекса Pd(II) са биолошки значајним лигандима.
- Кинетика и механизам супституционих реакција $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином у 0,1 М NaClO₄, на три температуре (288, 298 и 308 К).
- ДФТ израчунавања за систем размене Gua/SMe₂.

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

2.1. Реагенси и раствори

Комплекси $[\text{PtCl}(\text{bpma})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,H,H)]\cdot\text{H}_2\text{O}$, $[\text{PtCl}_2(\text{en})]$, $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$, $[\text{PtCl}_2(\text{SMC})]$ и $[\text{PdCl}_2(\text{COD})]$ су синтетисани по раније публикованим поступцима.^{157,128, 158-161} Чистоћа добијених једињења потврђена је елементарном анализом, IR, Uv-Vis спектрофотометријом и ^1H NMR спектроскопијом.

1,2,4-триазол, L-метионин, L-хистидин, глутатион, динатријумова со гуанозин-5'-монофосфата, бис-(2-пиридилметил)амин, S-метил-L-цистеин, етилендиамин, 1,2-диаминоциклохексан, пиридазин, пиразол, метанол, n-хексан, тетрахидрофуран, толуен и KO^tBu набављени су од Fluka, Acros Organics или Aldrich и коришћени су без предходног пречишћавања.

K_2PtCl_4 (Strem Chemicals), PdCl_2 (Strem Chemicals), *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ (Aldrich), D_2O (Deutero GmbH 99 %), $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{D}$ (Aldrich, 98%) $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ (Aldrich), хепес пуфер {N-2-хидроксиетилпиперазин-N'-2-етансулфидна киселина} (Aldrich) су такође припремани без предходног пречишћавања.

Супституционе реакције комплекса $[\text{PtCl}_2(\text{en})]$, $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$, $[\text{PtCl}_2(\text{SMC})]$ и *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ су изучаване у 25 mM хепес пуферу. Хепес и трис (трис(хидроксиметил)аминометан) пуфери су најчешће коришћени пуфери у ћелијским тестовима, тј. приликом испитивања интеракције комплекса Pt(II) и молекула ДНК у ћелији. Хепес пуфер је изабран из разлога што је волуминознији молекул у односу на трис пуфер, па је везивање хепес пуфера за Pt(II) јон услед стерних сметњи скоро потпуно искључено.¹⁶² Супституционе реакције преосталих комплекса испитиване су у 0,1 M NaClO_4 , јер је познато да се перхлоратни јон не координује за Pt(II) и Pd(II).¹⁶³

Превођење хлоридо комплекса $[\text{PtCl}(\text{bpma})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,H,H)]\cdot\text{H}_2\text{O}$, $[(\text{TL}^{t\text{Bu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ и $[(\text{BL}^{i\text{Pr}})\text{Pd}(\text{Cl})_2]$ у аква честице постигнуто је додатком еквивалентне количине AgClO_4 у раствору хлоридо честица. Добијени раствори су загревани 3 - 4 сата на 40-50 $^\circ\text{C}$ уз непрестано мешање у мраку. Настали талог AgCl процеђен је кроз Millipore филтре, при чему се нарочито водило рачуна да у насталом раствору нема Ag^+ јона, тј. да је хлоридо комплекс потпуно преведен у аква честицу.

За потенциометријске титрације коришћен је 0,1 М NaOH, који је припремљен полазећи од концентрованог раствора *p.a.* чистоте (Merck), растварањем у свеже прокуваној бидестилованој води. Концентрација припремљеног раствора одређена је титрацијом са калијум-хидрогенфталатом. За припремање перхлорне киселине коришћена је HClO₄ *p.a.* (Merck, „Suprapure“). Концентрација раствора киселине одређена је потенциометријском титрацијом са 0,1000 М NaOH уз метил црвено као индикатор. Концентрација коришћене перхлорне киселине била је 0,1028 М, а концентрација раствора хидроксида, коришћеног за даље потенциометријске титрације била је 0,1012 М.

Раствор 0,1 М NaClO₄ припремљен је растварањем NaClO₄, *p.a.* (Merck) у бидестилованој води. Концентрација овог раствора одређена је упаравањем познате запремине раствора до сува.

Сви водени раствори припремани су у бидестилованој води.

2.1.1. Синтеза лиганата:

1,2-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)]етан и 2,6-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин, су припремани по публикованој процедури.¹⁵⁴

Синтеза 2,6-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина:

1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-илиден, 1

У раствор 1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-соли (5 g, 22 mmol) у тетрахидрофурану (40 ml) додаје се NaN (0,66 g, 27 mmol). Добијена реакциона смеша мешана је се на собној температури 10 минута, након чега се додаје KO^tBu (0,25 g, 1,4 mmol) и настави са мешањем реакционе смеше 5 до 6 h на собној температури. Цеђењем и сушењем под вакуумом се добија светло-жути прах (2,9 g, 69 %).

1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-триметилсилилимин, 2

У раствор 1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-илиден (**1**) (1,242 g, 10 mmol) у толуену (20 ml), додат је у капима триметилсилил азид (14 mmol) на собној температури, настала реакциона смеша рефлуктована је 24 h у кључајућем толуену. Цеђењем и сушењем под вакуумом се добија светло-жути прах, који може да се прекристалише сублимацијом (1,33 g, 73 %).

1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имин, 3

Раствор 1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-триметилсилилимина (**2**) (1 еквивалент) третиран је са вишком CH_3OH (15 еквивалената) на собној температури 30 минута. Растварач је испарен под вакуумом и производ екстрахован *n*-хексаном. Цеђењем и сушењем под вакуумом се добија светло-жути прах (0,95 g, 98 %). Елементарна анализа: Нађено: С, 67,39; Н, 11,01; Н, 21,27. Израчунато за $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_3$: С, 67,65; Н, 10,84; Н, 21,51. δ_{H} (270 MHz, C_6D_6 , 25°C): 5,94 (2 H, s, НСН), 1,39 (18 H, s, CCH_3) ppm. δ_{C} (100,52 MHz, C_6D_6): δ = 153,1 (НСН), 107,0 (НСН), 53,8 (НСМе), 27,7 (CCH_3) ppm.

[($\text{TL}^{\text{tBu}}\text{H}_2$)(OTs)₂]

У раствор 2,6-бис[(тозилокси)метил]пиридина (4,47 g, 10 mmol) у тетраhydroфурану (70 ml), додат је у капима раствор 1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имина, (**3**) (3,965 g, 20,3 mmol) у тетраhydroфурану (30 ml) на собној температури. Добијена реакциона смеша рефлуктована је у кључајућем тетраhydroфурану 24 h. Добијени талог је процеђен, испран са тетраhydroфураном (2 × 20 ml) и сушен под вакуумом. Изолован је ружичасти прах (6,30 g, 71%). Елементарна анализа: Нађено: С, 61,45; Н, 7,23; Н, 11,63; S, 7,48. Израчунато за $\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{N}_7\text{O}_6\text{S}_2$: С, 61,62; Н, 7,58; Н, 11,70; S, 7,65. δ_{H} (400 MHz, D_2O): 7,91 (1 H, t, *p*-Py), 7,64 (4 H, d), 7,49 (2 H, d, *m*-Py), 7,40 (4 H, s, НСН), 7,31 (4 H, d), 4,05 (4 H, s, Py- CH_2), 2,35 (6 H, s), 1,63 (36 H, s, CCH_3) ppm. δ_{C} (100,53 MHz, D_2O): 156,1, 143,4, 142,5, 139,9, 139,1, 129,6, 125,8, 121,3, 117,4, 61,5, 53,7, 29,1, 20,4 ppm. *m/z* (FAB+) 665 (M^+ – OTs , 54%), 494 (M^+ – $\text{H}(\text{OTs})_2$, 100).

2,6-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин, TL^{tBu}

Суспензија [($\text{TL}^{\text{tBu}}\text{H}_2$)(OTs)₂] (7,25 g, 8,65 mmol) у тетраhydroфурану (120 ml) охлађена је на 0 °C, и затим је KO^{tBu} (2,329 g, 20,76 mmol) додат у суспензију. Реакциона смеша мешана је на собној температури 2 h. Добијени талог процеђен је и сушен под вакуумом, затим је производ екстрахован мешом толуена (50 ml) и *n*-хексана (50 ml), а потом процеђен. Добијен је бели прах (4,1 g, 95%). Елементарна анализа: Нађено: С, 70,56; Н, 9,55; Н, 19,83. Израчунато за $\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{N}_7$: С, 70,55; Н, 9,59; Н, 19,86. δ_{H} (400 MHz, C_6D_6): 8,02 (2 H, d, *m*-Py), 7,72 (1 H, t, *p*-Py), 6,02 (4 H, s, НСН), 5,38 (4 H, s, Py- CH_2), 1,43 (36 H, s, CCH_3) ppm. δ_{C} (100,53 MHz; C_6D_6): 164,1 (*o*-C), 146,5 (НСН), 136,2 (*p*-C), 118,7 (*m*-C), 108,4 (НСН), 58,1 (C-Py), 54,4 (НСМе), 29,5 (CCH_3) ppm. δ_{H} (400 MHz, acetone-*d*₆): 7,69 (1 H, t, *p*-Py), 7,55 (2 H, d, *m*-Py), 6,35 (4 H, s, НСН), 4,85 (4 H, s, Py- CH_2), 1,56 (36 H, s, CCH_3)

ppm. δ_{H} (400 MHz; CD_3CH): 7,67 (1 H, t, *p*-Py), 7,48 (2 H, d, *m*-Py), 6,33 (4 H, s, HCH), 4,79 (4 H, s, Py- CH_2), 1,53 (36 H, s, CCH_3) ppm. m/z (CI) 493 (M^+ , 36%), 437 ($\text{M}^+ - t\text{Bu}$, 100), 380 ($\text{M}^+ - 2t\text{Bu}$, 58) *itd.*

Синтеза 1,2-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)]етана

1,3-диизопропил-4,5-диметилимидазолин-2-имин, 1

Раствор 1,3-диизопропил-4,5-диметилимидазолин-2-триметилсилилимина (1 еквивалент) третиран је вишком CH_3OH (15 еквивалената) на собној температури 30 минута. Растварач је испарен под вакуумом и производ екстрахован *n*-хексаном. Цеђењем и сушењем под вакуумом се добија светло-жути прах. Елементарна анализа: Нађено: C, 67,29; H, 11,15; N, 21,45. Израчунато за $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_3$: C, 67,65; H, 10,84; N, 21,51. δ_{H} (270 MHz, C_6D_6): 4,31 (1 H, s, NH), 4,17 (2 H, sept, $^3J_{\text{H,H}} = 6,8$ Hz, CHMe), 1,63 (6 H, s, CH_3), 1,37 (12 H, d, $^3J_{\text{H,H}} = 7,2$ Hz, CH_3) ppm. δ_{C} (100,52 MHz, C_6D_6): 153,4 (HCH), 113,3 (HСMe), 44,8 (CHMe), 20,4 (CHMe), 9,6 (HСMe) ppm.

[(BL^{iPr}H₂)(OTs)₂]

У раствор 1,2-бис(тозилокси)етана (1,67 g, 4,5 mmol) у толуену (60 mL), додат је у капима раствор 1,3-диизопропил-4,5-диметилимидазолин-2-имин (1,76 g, 9 mmol) у толуену (20 mL) на собној температури. Затим је реакциона смеша загрејана на 90 °C и мешана 15 h, а потом загрејана на 105 °C и мешана 7 h. Добијени талог је процеђен, испран толуеном (5 × 20 ml) и сушен под вакуумом. Изолован је бели прах (2,70 g, 79%). Нађено: C, 59,80; H, 8,20; N, 11,01; S, 8,16. Израчунато за $\text{C}_{38}\text{H}_{60}\text{H}_6\text{O}_6\text{S}_2$: C, 59,97; H, 7,95; N, 11,04; S, 8,43%. δ_{H} (400 MHz, D_2O): 7,64 (4 H, mult, *o*-H), 7,32 (4 H, mult, *m*-H), 4,78 (4 H, sept, HCH), 3,27 (4 H, s, CH_2), 2,36 (6 H, s, *p*- CH_3), 2,25 (12 H, s, CCH_3), 1,47 (24 H, d, CHCH_3) ppm. δ_{C} (100,52 MHz, D_2O): 142,5 (*p*-C), 142,1 (HCH), 139,8 (*i*-C), 129,6 (*m*-C), 125,5 (*o*-C), 123,9 (H CCH_3), 49,8 (CH_2), 48,7 (HCH), 20,7 (*p*- CH_3), 20,6 (CHCH_3), 9,2 (CCH_3) ppm.

1,2-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)]етана

Суспензија [(BL^{iPr}H₂)(OTs)₂] (9,00 g, 11,83 mmol) у тетраhydroфурану (200 ml) охлађена је на 0 °C, и затим је KO^tBu (3,18 g, 28,4 mmol) додат у суспензију. Реакциона смеша мешана је на собној температури 12 h. Добијени талог процеђен је и сушен под вакуумом, затим је производ екстрахован мешом толуена (60 ml) и *n*-хексана (40 ml), а потом процеђен. Добијен је бели прах (4,66 g, 95%).. Елементарна анализа: Нађено: C, 68,85; H, 10,82; N,

19,88. Израчунато за $C_{24}H_{44}N_6$: C, 69,19; H, 10,64; N, 20,17. δ_H (400 MHz, acetone- d_6): 4,45 (4 H, sept, NCH), 3,47 (4 H, s, CH_2), 1,96 (12 H, s, CCH_3), 1,30 (24 H, d, $CHCH_3$) ppm. δ_H (400 MHz; C_6D_6): 4,77 (4 H, sept, NCH), 4,24 (4 H, s, CH_2), 1,70 (12 H, s, CCH_3), 1,25 (24 H, d, $CHCH_3$) ppm. δ_H (270 MHz, THF- d_8): 4,43 (4 H, sept, NCH), 3,45 (4 H, s, CH_2), 1,93 (12 H, s, CCH_3), 1,29 (24 H, d, $CHCH_3$) ppm. δ_C (100,52 MHz, C_6D_6): 149,8 (NCH), 115,3 ($NCCCH_3$), 55,0 (CH_2), 45,9 (NCH), 21,0 ($CHCH_3$), 10,4 (CCH_3) ppm

2.1.2. Синтеза комплекса:

Хоридо-2,6-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридинпаладијум(II)-перхлорат, [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄:

Раствор лиганда 2,6-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина (TL^{tBu}) (200 mg, 0,405 mmol) у води (10 cm³) додат је у капима у еквимоларну суспензију PdCl₂ у води (10 cm³) на собној температури, рН је подешена на 5 додатком 0,1 М НClO₄. Добијени раствор је рефлуктован 24 h на 50⁰ С. Након тога, запремина раствора је смањена на 5 cm³ упаравањем, а производ је таложен додатком засићеног раствора NaClO₄ (20 cm³). Након филтрације производ је испран ацетоном (2 × 10 cm³), а тамно црвени прах је сушен под вакуумом. Производ је кристалисан у смеси ацетон/етанол. Тамно црвени кристали су изоловани, испрани ацетоном (2 × 10 cm³) и сушени под вакуумом. Принос: 250 mg (94%). Нађено: C, 47,8; H, 6,2; N, 13,5. Израчунато за C₃₀H₅₂Cl₂H₇O₄Pd: C, 47,9; H, 6,97; N, 13,0; δ_H (200 MHz, D₂O) 7,56 (2 H, d, *m*-Py), 7,45 (1 H, t, *p*-Py), 4,57 (4 H, s, Py-CH₂) и 1,68 (36 H, s, CCH₃).

Хоридо-1,2-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)]етанпаладијум(II), [(BL^{iPr})PdCl₂]:

Раствор лиганда 1,2-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)]етана (BL^{iPr}) (103 mg, 0,247 mmol) у тетраhydroфурану (10 cm³) додат је у капима у раствор [Pd(COD)Cl₂] (70 mg, 0,245 mmol) у тетраhydroфурану (10 cm³) на собној температури. Добијени раствор мешан је 12 h. Након тога запремина раствора је смањена на 10 cm³ упаравањем, а производ је таложен додатком н-хексана (40 cm³). Након филтрације производ је испран н-хексаном (2 × 10 cm³), а тамно црвени прах је сушен под вакуумом. Производ је кристалисан н-хексаном/тетраhydroфураном. Наранцасто-црвени кристали су изоловани,

испрани *n*-хексаном ($2 \times 10 \text{ cm}^3$) и сушени под вакуумом. Принос: (120 mg, 82%) Нађено: С, 49,6; Н, 7,7; Н, 13,6 Израчунато за $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{H}_6\text{PdCl}_2$: С, 48,5; Н, 7,4; Н, 14,15); δ_{H} (270 MHz, THF- d_8) 5,70 (4 H, sept, NCH), 2,74 (4 H, s, CH_2), 2,18 (12 H, s, CCH_3), 1,68 (12 H, d, CHCH_3) и 1,51 (12 H, d, CHCH_3); δ_{C} (67,93 MHz, THF- d_8) 155,1 (NCH), 119,5 (N CCH_3), 58,6 (CH_2), 48,2 (NCH), 21,2 (CHCH_3), 20,5 (CHCH_3) и 9,1 (CCH_3).

Синтезе лиганата 1,2-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)]етана и 2,6-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина, као и комплекса [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄ и [(BL^{iPr})Pd(Cl)₂] урађене су у инертној атмосфери на Schlenk линији пуњеној аргоном под високим притиском у вакууму (1×10^{-4} Torr), која је хлађена течним азотом или у „glovebox” (MBraun 200B) пуњеном аргоном. У свим синтезама коришћени су апсолутни растварачи, пречишћени помоћу MBraun система за пречишћавање. Пречишћени растварачи држани су преко молекулских сита (4Å) пре коришћења. Све ове синтезе урађене су на Институту за аналитичку и неорганску хемију, Универзитета у Брауншвајгу, Немачка.

2.2. Инструменти

За мерење рН раствора коришћен је HI 9107 Microprocessor Hanna Instrument рН-метар са комбинованом стакленом електродом стандардизованом помоћу Fischer-стандардних пуфера (рН = 4,00; 7,00; 11,00).

Елементарне анализе (С, Н, Н) урађене су на Carlo Erba Elemental Analyser 1106.

Uv-Vis спектри снимани су на Perkin Elmer Lambda 35 Uv-Vis спектофотометру са термостатираном 1,00 cm кварцном Suprasil киветом. Stopped-flow мерења вршена су на Applied Photophysics SX.18MV stopped-flow инструменту.

¹H NMR спектри снимани су на Varian Gemini-200, Bruker DPX 200, 300 и 400 спектрометру. рD мерења су вршена помоћу inoLab Sen Tix[®] Mic рН микроелектроде.

Потенциометријска испитивања извођена су помоћу аутоматске бирете Dosimat (Methrom 686) модел 665.

Рендгенско-структурне анализе урађене су на Oxford Diffraction Xcalibur S дифрактометру.

Синтеза лиганда (1,2-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)]етан и 2,6-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин) урађене су на Schlenk линији или у „glovebox” (MBraun 200B).

2.3. Кинетичка мерења

2.3.1. Реакције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,H,H)]^+$ и њихових аква аналога са L-мет, GSH и 5'-GMP.

Кинетика реакције супституције координованог хлорида или молекула воде из комплексних јона $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,H,H)]^+$, $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ и $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,H,H)(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ одређивана је Uv-Vis спектрофотометријски. Ове супституционе реакције су проучаване као реакције *псеудо*-првог реда. Супституционе реакције комплекса праћене су на три температуре (288, 298 и 308 K). Реакције хлоридо комплекса изучаване су у 0,1 M NaClO₄ у који је додат 10 mM NaCl како би се спречила хидролиза комплекса. Реакције аква комплекса изучаване су на pH 2,5 ова pH вредност је подешена помоћу 0,1 M HClO₄.

Радна таласна дужина одређена је снимањем спектра реакционе смеше у одређеним временским интервалима у опсегу таласних дужина између 220 и 450 nm. Као радна таласна дужина узима се она таласна дужина на којој је највећа промена у апсорбцији са временом. Супституционе реакције су започете мешањем 0,5 cm³ раствора комплекса са 2,5 cm³ раствора лиганда. Концентрација лиганда била је у великом вишку (најмање 20 пута) у односу на концентрацију комплекса, како би се обезбедили услови реакције *псеудо*-првог реда. Спектрофотометријско одређивање константе брзине реакције *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , врши се праћењем промене апсорбције раствора A_t са временом t на одређеној таласној дужини,⁷ на основу једначине (2.3.1.1).

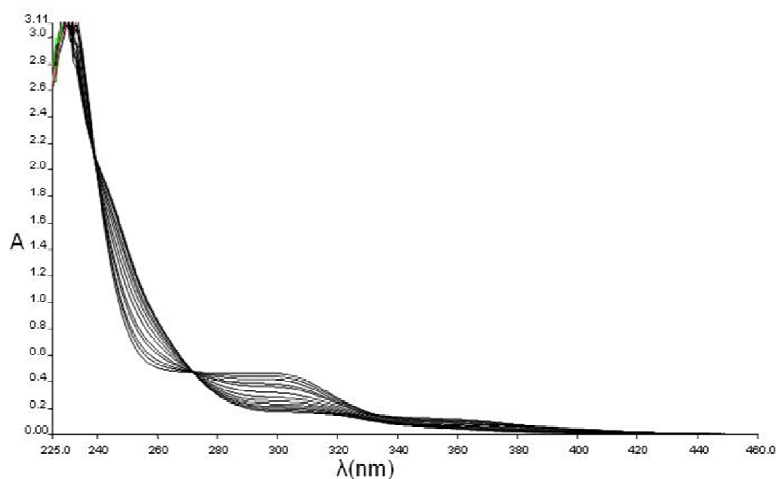
$$\ln(A_t - A_\infty) = \ln(A_0 - A_\infty) - k_{\text{obsd}} t \quad (2.3.1.1)$$

Зависност $\ln(A_t - A_\infty)$ од времена t је линеарна, тако да се из нагиба праве добија вредност за k_{obsd} . Величина A_∞ представља апсорбцију раствора након „бесконечно” дугог времена (обично после 8-10 полувремена реакције).⁷ Добијена вредност за константу брзине

реакције *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , представља средњу вредност најмање 4 до 5 независних кинетичких мерења.

2.3.2. Реакције бифункционалних комплекса Pt(II) са 1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP.

Кинетика и механизам супституционих реакција *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], [PtCl₂(ен)], [PtCl₂(dach)] и [PtCl₂(SMC)] комплекса са са 1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP изучаване су Uv-Vis спектрофотометријски. Радна таласна дужина одређена је снимањем спектра реакционе смеше у одређеним временским интервалима и у опсегу таласних дужина између 220 и 450 nm као што је приказано на Слици 2.1.



Слика 2.1. Промена Uv-Vis спектра са временом ($\Delta t = 60s$) за реакцију супституције [PtCl₂(SMC)] ($2 \cdot 10^{-4} M$) комплекса и 1,2,4-триазола ($1.6 \cdot 10^{-2} M$) у хепес пуферу (25 mM), pH = 7,2, 5mM NaCl, T = 310 K.

Концентрација лиганда била је у великом вишку (најмање 20 пута) у односу на концентрацију комплекса, да би се обезбедили услови реакције *псеудо*-првог реда. Све реакције су извођене у 25 mM хепес пуферу pH \approx 7,2, на 310 K уз присуство 5 mM NaCl.

2.3.3. Реакције $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ са L-мет, L-хис и 5'-GMP.

Супституционе реакције $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ комплексног јона са L-мет, L-хис и 5'-GMP изучаване су спектрофотометријски праћењем промене апсорбције са временом на радној таласној дужини. Радна таласна дужина одређена је на већ описан начин. Реакције су отпочињале мешањем еквимоларних раствора комплекса и лиганда директно у Stopped-flow инструменту. Ове супституционе реакције су такође проучаване као реакције *псеудо*-првог реда, на 298 К у 0,1 М NaClO₄, у који је додат 10 mM NaCl, како би се спречила хидролиза комплекса.

2.3.4. Реакције $[PtCl(bpma)]^+$ и $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$ са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином

Кинетика и механизам супституционих реакција $[PtCl(bpma)]^+$ и $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином изучаване су Uv-Vis спектрофотометријском методом. Концентрација лиганда била је у великом вишку (најмање 20 пута) у односу на концентрацију комплекса, како би се обезбедили услови реакције *псеудо*-првог реда. Супституционе реакције оба комплексна јона праћене су на три температуре (288, 298 и 308 К). Реакције $[PtCl(bpma)]^+$ изучаване су у 0,1 М NaClO₄ у који је додат 10 mM NaCl. Реакције $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$ комплексног јона изучаване су на рН 2,5, која је подешена помоћу 0,1 М HClO₄.

2.4. Спектрофотометријска титрација $[Pt(gly-met-S,H,H)(H_2O)]^{2+}$ јона

Комплексни јони $[Pt(gly-met-S,H,H)(H_2O)]^{2+}$ титрован је спектрофотометријски стандардним раствором NaOH на 298 К. Да би се избегла корекција услед разблаживања, за титрацију је коришћена велика запремина (300 cm³) раствора комплекса. Промена рН из 2 у 3 постигнута је додатком тачно одређене количине чврстог NaOH. Затим је раствор титрован 0,1000 или 1,0000 М стандардним раствором NaOH помоћу микропипете. Да би се избегла контаминација раствора комплекса услед урањања стаклене електроде у раствор комплекса, од раствора комплекса узимани су аликвоти (2 cm³) којима је рН

вредност мерена. Реверзибилност титрације било је могуће постићи у сваком тренутку додатком раствора HClO_4 .

2.5. ^1H NMR мерења

Кинетика реакција комплексних јона $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}i>S,H,H)]^+$ са 5'-GMP изучавана је ^1H NMR спектроскопијски. Раствори комплекса и лиганда су припремани непосредно пре снимања. Мерења су вршена у кивети ширине 5-mm термостатираној са Bruker B-VT 3300 (DPX)/3000 (DRX) variable-temperature јединицом. Сва хемијска померања су дата у односу на TSP. 10 или 12 mM раствор комплекса припреман је растварањем комплекса у 300 μM D_2O непосредно пре почетка извођења експеримента. Да би се постигла боља растворљивост комплекса, коришћена је ултразвучна када. Раствор 5'-GMP припреман је такође растварањем 10 или 12 mM у 300 μM D_2O , након чега је pD овог раствора ($\text{pD} = \text{pH} + 0,4$)¹⁶⁴ подешен на 7,0 додатком раствора $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{D}$. Сви спектри су снимани на 298 K.

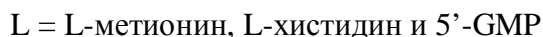
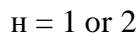
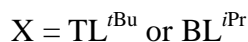
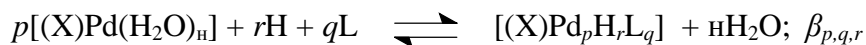
2.6. Потенциометријска мерења

Све потенциометријске титрације извођене су у балону са двоструким зидом. Током свих титрација одржавана је константна температура ($298 \pm 0,1$ K), кружењем термостатираних воде кроз зидове балона. Кроз раствор током титрације се проводио гасовити азот како би се обезбедила инертна атмосфера и мешање. Раствор је додатно мешан уз помоћ магнетне мешалице. Раствор алкалије је постепено додаван у малим аликвотима (0,005-0,01 cm^3) помоћу аутоматске бирете. Промена потенцијала бележена је после сваког додатка титранта. Протокол титрације изабран је на такав начин да реакције хидролизе и комплексирања протичу у условима готово идентичним са стварном равнотежом. Просечно време успостављања константног потенцијала за сваку тачку на почетку титрације било је 5 min, а касније знатно више.

Константе стабилности комплекса одређиване су титрацијом 1,0 и 2,0 mM раствора комплекса стандардним раствором NaOH. Константе формирања комплекса одређиване су титрацијом раствора у коме је однос концентрација комплекса и лиганда 1:1 и 1:2 (комплекс : лиганд). Раствор који се титрује имао је запремину од 20,0 cm^3 . Као јонска средина коришћен је 0,1 M NaClO_4 .

2.6.1. Обрада резултата

Честице које су се формирале у проучаваним системима могу да се представе следећом општом једначином:



$$\beta_{p,q,r} = \frac{[(X)Pt]_p [H]_r [L]_q}{[(X)Pt(H_2O)_n]_n^p [H]^r [L]^q}$$

Три различите врсте равнотеже су узете у обзир: а) протоновање лиганда б) хидролиза $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ и $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона и в) општа равнотежа са три компоненте, која укључује случај када је $r = 0$, тј. формирање чистих $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ и $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона. Негативне вредности за r указују на формирање хидроксо комплекса. Константе протолизе лиганда и константе хидролизе $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ и $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона одређене су у посебним експериментима. У процесу испитивања тро-компонентне равнотеже (в) бинарни модели (а) и (б) су сматрани познатим. Константе стабилности комплекса $\beta_{p,q,r}$ израчунате су помоћу компјутерског програма HYPERQUAD2006.¹⁶⁵

Константе стабилности формирања комплекса одређене су тестирањем различитих могућих модела. Модел који даје најбоље статистичко слагање и који је у складу са подацима титрације узет је у обзир.¹⁶⁶ Дистрибуциони дијаграми расподеле честица у функцији од рН, цртани су помоћу програма HYSS.¹⁶⁷

2.7. Квантно хемијска метода

B3LYP/LANL2DZp, хибридна теорија функционала густине, са псеудо-потенцијалом примењена је на метале.^{168,169} Током оптимизације структура само се симетрија узимала као константа. За израчунавања коришћен је GAUSSIAN програм.¹⁷⁰ Утицај растварача коригован је коришћењем „single-point calculations” метода а уз помоћ CPCM¹⁷¹ формализма тј. B3LYP(CPCM)/LANL2DZp//B3LYP/LANL2DZp.

2.8. Рендгенско-структурна анализа

2.8.1. Кристалографски подаци за [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄ комплекс

Табела 2.1. Кристалографски подаци за комплекс [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄

Молекулска формула	C ₂₉ H ₄₇ Cl ₂ H ₇ O ₄ Pd	
М	735,04	
Температура	100 К	
Кристал	Моноклиничан	
Просторна група	P2 ₁ /н	
Димензије ћелије	a = 9,0962 (2) Å b = 13,0994 (3) Å c = 29,6124 (6) Å	α = 90° β = 96,852(2)° γ = 90°
Запремина	3503,26 (13) Å ³	
Z	4	
Густина(израчуната)	1,394 Mg/m ³	
Абсорпциони коефицијент	0,725 mm ⁻¹	
F(000)	1528	
Величина кристала	0,22 × 0,11 × 0,07 mm ³	
Θ опсег	2,74 to 28,28°	
Индекс опсег	-12 ≤ h ≤ 12, -17 ≤ k ≤ 17, -39 ≤ l ≤ 39	
Број сакупљених рефлексија	60498	
Независне рефлексије	8571 [R(int) = 0,0637]	
Слагање са Θ = 28,00°	98,5%	
Корекција апсорпције	Semi-empirical from equivalents	
Мах и min трансмисија	1,00000 and 0,95131	
Реф. метода	Full-matrix least-squares on F ²	
Data/ restraints / parameters	8571 / 0 / 400	
F ²	1,017	
R	R ₁ = 0,0444, wR ₂ = 0,0974	
R (сви подаци)	R ₁ = 0,0879, wR ₂ = 0,1070	
Највећи дифракциони пик	0,739 /-1,132 e.Å ⁻³	

Рендгенско-структурна анализа кристала [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄ комплекса урађена је на Oxford Diffraction Xcalibur S дифрактометру коришћењем Мо Kα радијације (λ = 0.71073 Å). Корекција апсорпције извршена је на основу мултисканова. Структура је дефинисана коришћењем методе најмањих квадрата, F², помоћу програма SHELXL-97 (G.M. Sheldrick, Универзитет у Göttingen, Немачка). Један молекул етанола, који није могао да буде

задовољавајуће рафинисан уклоњен је помоћу програма SQUEEZE (A.L. Spek, Универзитет у Utrecht, Холандија). Наведена формула и изведени партаметри базирани су на томе да се један молекул етанола налази у свакој асиметричној јединици. CCDC број референце је 808222. Анализа поменутог комплекса урађена је на Институту за Неорганску и Аналитичку хемију, Универзитета у Брауншвајгу, Немачка. Кристалографски подаци дати су у Табели 2.1.

2.8.2. Кристалографски подаци за $[(BL^{iPr})PdCl_2]$ комплекс

Табела 2.2. Кристалографски подаци за комплекс $[(BL^{iPr})PdCl_2]$

Молекулска формула	$C_{24}H_{44}Cl_2H_6Pd$	
M	593,95	
Температура	143 K	
Кристал	Триклиничан	
Просторна група	P-1	
Димензије ћелије	$a = 8.9184(1)$	$\alpha = 102.2305(7)^\circ$
	$b = 10.6686(1)$	$\beta = 95.6647(8)^\circ$
	$c = 15.6865(2)$	$\gamma = 104.1218(7)^\circ$
Запремина	$1396.64(3) \text{ \AA}^3$	
Z	2	
Густина(израчуната)	1.412 Mg/m^3	
Абсорпциони коефицијент	$0,88 \text{ mm}^{-1}$	
Величина кристала	$0.25 \times 0.30 \times 1.02 \text{ mm}^3$	
Θ опсег	$2.9 \text{ to } 25.3^\circ$	
Број сакупљених рефлексија	18974	
Независне рефлексије	4786	
Реф. метода	Full-matrix least-squares on F^2	
F^2	1,08	
R	$R_1 = 0.0308, wR_2 = 0.0806$	
Највећи дифракциони пик	$0.39/-0.87 e. \text{ \AA}^{-3}$	

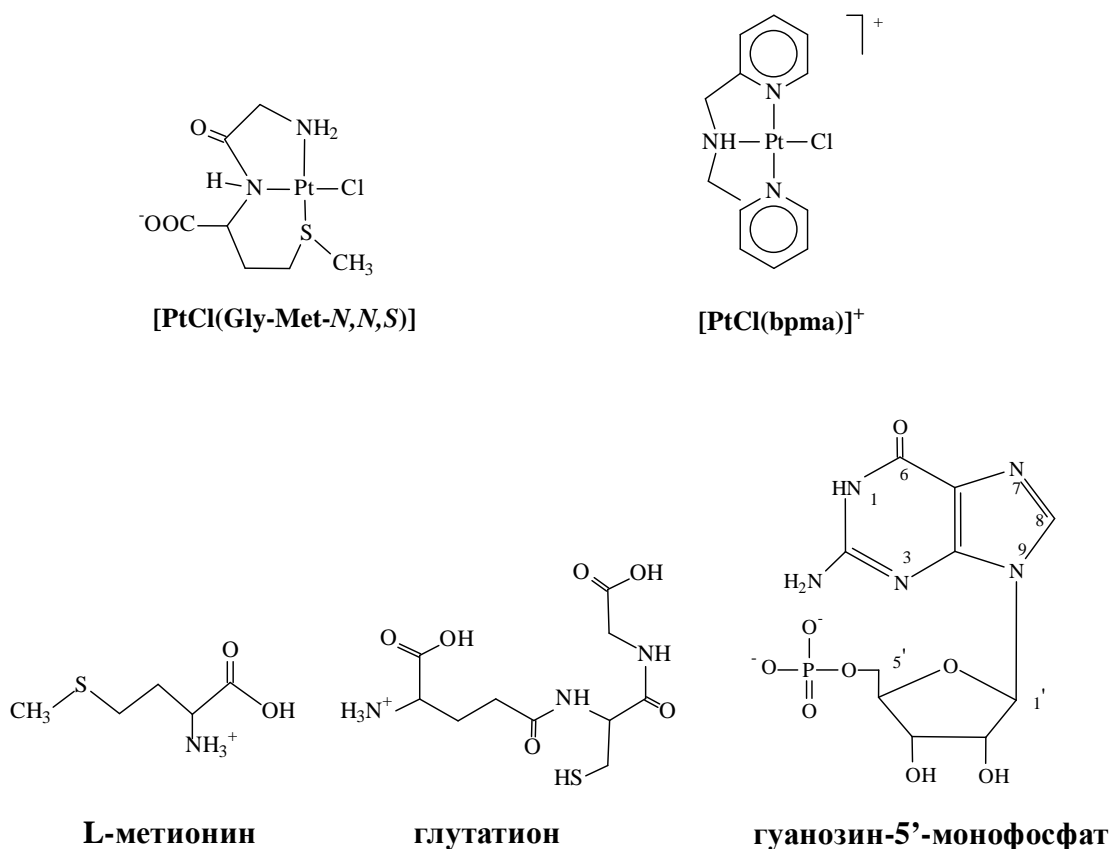
Рендгенско-структурна анализа кристала $[(BL^{iPr})PdCl_2]$ комплекса урађена је на Oxford Diffraction Xcalibur S дифрактометру коришћењем Мо $K\alpha$ радијације ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Корекција апсорпције извршена је на основу мултисканова. Структура је рефинисана коришћењем методе најмањих квадрата, F^2 , помоћу програма SHELXL-97 (G.M. Sheldrick, Универзитет у Göttingen, Немачка). CCDC број референце је 808223. Анализа поменутог

комплекса урађена је на Институту за Неорганску и Аналитичку хемију, Универзитета у Брауншвајгу, Немачка. Кристалографски подаци дати су у Табели 2.2.

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА

3.1. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ и њихових аква аналога са L- мет, GSH и 5'-GMP.

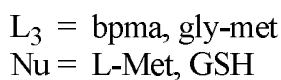
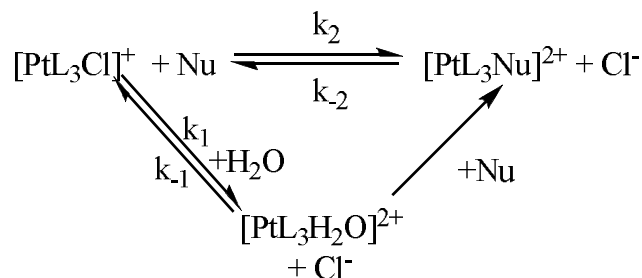
Супституционе реакције монофункционалних Pt(II) комплекса са L-мет и GSH проучаване су Uv-Vis спектрофотометријски. Реакције аква комплексних јона, $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ и $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)\text{H}_2\text{O}]^+$, испитиване су у 0,1 M NaClO₄ на pH 2,5, док су супституционе реакције хлоридо комплексних јона, $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, испитиване у 0,1 M NaClO₄ на pH ≈ 5. 10 mM NaCl додат је у раствор хлоридо комплекса како би се спречила хидролиза комплекса. На Слици 3.1. приказане су структурне формуле испитиваних комплекса и лиганата.



Слика 3.1. Структурне формуле проучаваних комплекса и лиганата.

На Сликама 3.2. и 3.3. приказане су експериментално добијене вредности зависности константе брзине *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , у функцији од концентрације лиганда, на три температуре (288, 298, 308 K).

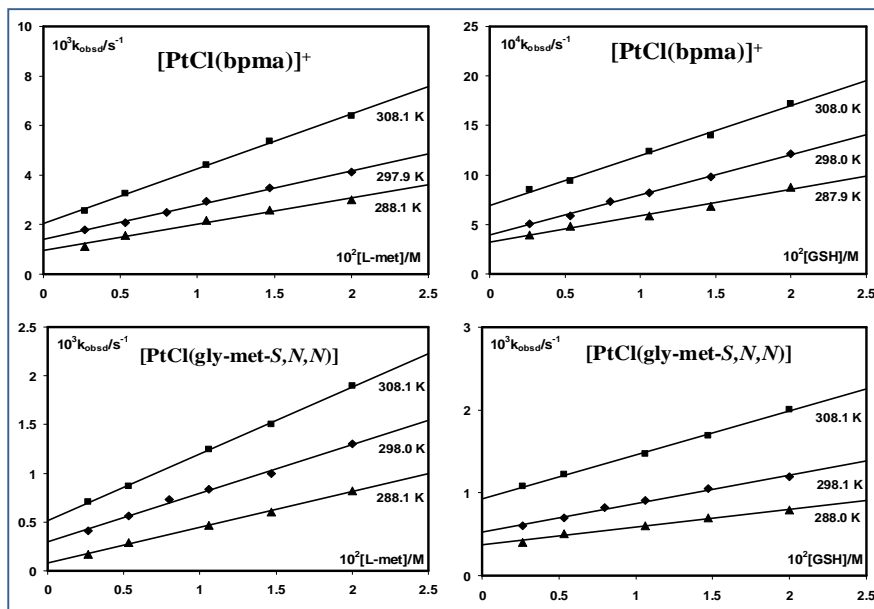
Супституционе реакције хлоридо комплексних јона, $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, са лигандима L-мет и GSH могу се представити Шемом 3.1.



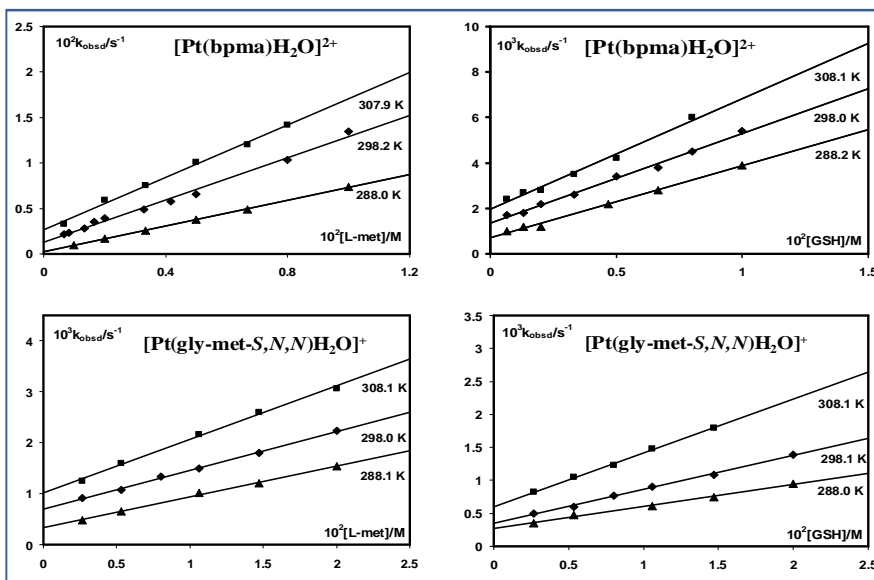
Шема 3.1.

Као што је већ напоменуто, познато је да се супституционе реакције квадратно-планарних комплекса одвијају по два кинетичка пута.⁷ Пуг директне нуклеофилне супституције на Шеми 3.1. окарактерисан је константом k_2 , док је солволитички пут окарактерисан константом k_1 . Повезаност константи брзине за оба пута са константом брзине *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , дата је једначином (3.1.1):

$$k_{\text{obsd}} = k_1 + k_2[\text{Nu}] \quad (3.1.1)$$



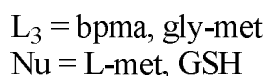
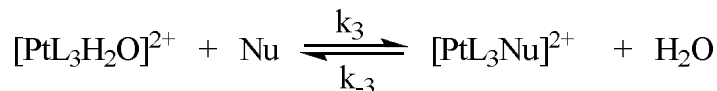
Слика 3.2. Зависност константе брзине реакције псеудо-првог реда, k_{obsd} од концентрације лиганда и температуре за реакцију супституције $[PtCl(bpma)]^+$ и $[PtCl(gly-met-S,N,N)]$ са лигандима L- мет и GSH у 0,1 M $NaClO_4$, $[Cl^-] = 10\text{ mM}$ и pH око 5.



Слика 3.3. Зависност константе брзине реакције псеудо-првог реда, k_{obsd} од концентрације лиганда и температуре за реакцију супституције $[Pt(bpma)H_2O]^{2+}$ и $[Pt(gly-met-S,N,N)H_2O]^+$ са лигандима L- мет и GSH у 0,1 M $NaClO_4$, pH = 2,5.

Све супституционе реакције хлоридо комплекса одвијале су се у присуству 10 mM NaCl, чиме је постигнуто спречавање хидролизе комплекса тј. корак окарактерисан константом k_{-1} је сузбијен.

Супституционе реакције аква комплексних јона $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ и $[\text{Pt}(\text{gly-met-S,N,N})\text{H}_2\text{O}]^+$ се одвијају на начин као што је приказано на Шеми 3.2.:



Шема 3.2.

Константа k_3 , представља константу брзине директне нуклеофилне супституције, док константа k_{-3} представља константу брзине повратне реакције. Веза између k_3 , k_{-3} и константе брзине *псеудо*-првог реда k_{obsd} дата је једначином (3.1.2):

$$k_{\text{obsd}} = k_{-3} + k_3[\text{Nu}] \quad (3.1.2)$$

Добијене вредности константи брзине, као и вредности термодинамичких параметара ΔH^\ddagger и ΔS^\ddagger за супституционе реакције изучаваних комплекса Pt(II) са лигандима L-мет и GSH, дате су у Табели 3.1.

Табела 3.1. Константе брзине и активациони параметри за проучаване супституционе реакције

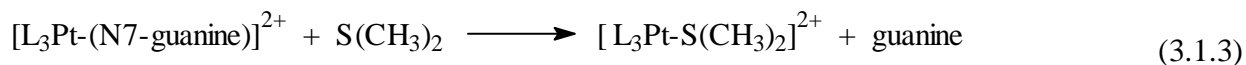
	[PtCl(gly-met-S,N,N)]^a					[PtCl(bpma)]^{+a}				
	λ nm	T K	$10^2 k_2$ $M^{-1} s^{-1}$	ΔH^\ddagger kJ mol ⁻¹	ΔS^\ddagger J K ⁻¹ mol ⁻¹	λ nm	T K	$10^2 k_2$ $M^{-1} s^{-1}$	ΔH^\ddagger kJ mol ⁻¹	ΔS^\ddagger J K ⁻¹ mol ⁻¹
L-мет	247	288,1 298,0 308,1	3,7 ± 0,1 5,0 ± 0,2 6,8 ± 0,1	20 ± 1	-201 ± 2	275	288,1 297,9 308,1	10,6 ± 0,9 14 ± 1 22 ± 1	24 ± 4	-179 ± 13
GSH	247	288,0 298,1 308,1	2,2 ± 0,2 3,4 ± 0,2 5,3 ± 0,2	30 ± 1	-171 ± 3	280	287,9 298,0 308,0	2,7 ± 0,2 4,1 ± 0,1 5,0 ± 0,2	20 ± 3	-203 ± 12
5'-GMP ^c	NMR	298,0	(4,49 ± 0,04) × 10 ⁻²			NMR	298,0	5,48 ± 0,06		
	[Pt(gly-met-S,N,N)H₂O]^{+b}					[Pt(bpma)H₂O]^{2+b}				
	λ nm	T K	$10^2 k_1$ $M^{-1} s^{-1}$	ΔH^\ddagger kJ mol ⁻¹	ΔS^\ddagger J K ⁻¹ mol ⁻¹	λ nm	T K	$10^2 k_1$ $M^{-1} s^{-1}$	ΔH^\ddagger kJ mol ⁻¹	ΔS^\ddagger J K ⁻¹ mol ⁻¹
L-мет	280	288,1 298,0 308,1	6,1 ± 0,2 7,6 ± 0,1 10,5 ± 0,4	18 ± 2	-206 ± 8	260	288,0 298,2 307,9	71 ± 1 104 ± 4 144 ± 4	24 ± 4	-160 ± 12
GSH	260	288,0 298,1 308,1	3,3 ± 0,1 5,1 ± 0,2 8,1 ± 0,2	30 ± 1	-168 ± 4	260	288,2 298,0 308,1	32 ± 1 39 ± 1 49 ± 2	17 ± 2	-209 ± 8

Јонска јачина 0,1 M NaClO₄; ^apH око 5, 10 mM NaCl

^bpH = 2,5; ^cpH = 7; 298 K

На основу података из Табеле 3.1. може се видети да се L-мет показао као бољи нуклеофил у односу на GSH. Боља реактивност L-мет може се објаснити чињеницом да метил група, која се налази везана за атом сумпора у молекулу L-мет, показује позитивни индуктивни ефекат, чиме повећава нуклеофилност сумпора из тиоетарске групе. Добијени резултати, су веома занимљиви из разлога што Pt-S(тиоетар) једињења представљају „резервоаре” Pt(II) у организму, односно ова једињења су погодни интермедијери у реакцијама Pt(II) јона и ДНК.^{48,172-174}

Познато је да Pt-S(тиоетар) једињење може да се трансформише у Pt(II)-N7(GMP) једињење. Да би се добило што више квантитативних података о разлици у стабилности између Pt(II)-ДНК и Pt-S(тиоетар) једињења, вршена су ДФТ израчунавања на моделу реакције (једначина 3.1.3), где L₃ представља: *terpy*, *bpma*, *dien*, *gly-met-S,N,N*.



Примећено је да у свим посматраним случајевима координација гуанина за L₃Pt је фаворизована у односу на координацију тиоетра. Како комплекси са *terpy* и *bpma* лигандом имају у свом саставу пиридинске прстенове, приликом координовања гуанина неће доћи до додатне стабилизације услед грађења водоничне везе: NH(L₃Pt)···O. За разлику од њих код комплекса са *dien* и *gly-met-S,N,N* лигандом долази до стабилизације приликом координације гуанина, грађењем поменуте водоничне везе, која код комплекса са *dien*-ом износи 1,79 Å, а код комплекса са *gly-met-S,N,N* 1,90 Å. Испоставило се да код [Pt(guanine)(*gly-met-N,N,S*)]⁺ долази до благе ротације око Pt(II)-N7 везе (угао ротације је S-Pt-N7-O_{C6}: 67,5 уместо раније коришћеног N-Pt-N7-O_{C6}: 47,3). Због ротације не долази до грађења водоничне везе, што повећава минималну енергију [Pt(guanine)(*gly-met-N,N,S*)]⁺ производа за 4 kcal/mol. Међутим, без обзира што не долази до грађења водоничне везе, и даље је координација гуанина фаворизована.

Да би се одредио утицај растварача, вршене су CPCM израчунавања (B3LYP(CPCM)/LANL2DZp//B3LYP/LANL2DZp). На основу вредности из Табеле 3.2. види се да када се узме у обзир утицај растварача енергија се у свим случајевима смањи за 50%, али и даље је координација гуанина фаворизована.

Табела 3.2. ДФТ израчунавања за модел реакцију (3.1.3)

L ₃	B3LYP/LANL2DZp (kcal/mol)	B3LYP(CPCM)/LANL2DZp// B3LYP/LANL2DZp (kcal/mol)
terpy	27,7	13,0
bpma	28,7	12,8
dien	34,1	11,0
Gly-Met-N,N,S	21,5	9,5
Gly-Met-N,N,S (без водоничне везе)	17,5	8,5

[PtCl(bpma)]⁺ и [Pt(bpma)H₂O]²⁺ комплексни јони су реактивнији у односу на [PtCl(gly-met-S,N,N)] и [Pt(gly-met-S,N,N)H₂O]⁺ комплексне јоне. Мања реактивност комплекса са gly-met-S,N,N лигандом може се објаснити стерним утицајем метил групе, која се налази координована на сумпору gly-met-S,N,N-а, и која отежава прилазак нуклеофила Pt(II) јону приликом супституције. Са друге стране, већа реактивност комплекса са bpma лигандом последица је присуства два пиридинска прстена у координационој сфери комплекса. Утицај пиридинског прстена, на брзину супституционих реакција проучаван је за серију монофункционалних комплекса Pt(II) у којима су положај и број пиридинских прстенова мењани.⁷² Присуство π-акцептора у координационој сфери комплекса повећава електрофилност централног јона метала, чиме се поспешује везивање нуклеофила.^{72,73} Управо описани ефекат пиридинског прстена сврстава ове комплексе Pt(II) у групу комплекса различитих од класичних антитуморски активних Pt(II) комплекса, где овакав ефекат није примећен.

Испитивани аква комплекси показују већу реактивност у односу на хлоридо комплексе. Координовани молекули воде за Pt(II) јон може се лако супституисати, у односу на хлорид, који спада у јаче нуклеофиле. Самим тим хлорид је и теже одлазећа група. Супституција хлорида L-мет је 3 пута бржа код [PtCl(bpma)]⁺ комплексног јона него код [PtCl(gly-met-S,N,N)] комплекса, док се супституција хлорида са GSH одвија готово истом брзином. Супституција молекула воде L-мет код [Pt(bpma)H₂O]²⁺ комплексног јона је 14 пута бржа него код [Pt(gly-met-S,N,N)H₂O]⁺, и 8 пута бржа у случају када је GSH супституент. Добијене вредности константи брзине за супституционе реакције [PtCl(bpma)]⁺ комплексног јона са GSH добро се слажу са подацима из литературе.¹⁷⁵ На

основу вредности константи брзине (Табела 3.1.), може се видети да је однос константи брзине (k_2 и k_3) хлоридо и аква комплекса са gly-met-*S,N,N* лигандом између 1,5 и 2, док је исти однос код комплекса са bpma лигандом између 7 и 10. Мала разлика у реактивности аква и хлоридо комплекса са gly-met-*S,N,N* лигандом, може се очекивати услед стерног ефекта инертног gly-met-*S,N,N* лиганда.

На основу Слика 3.2. и 3.3. може се видети да код свих супституционих реакција постоји одсечак (од 6×10^{-4} до $2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) на графику зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила, без обзира што су коришћени нуклеофили сумпор-донорски нуклеофили. Постојање одсечка може се објаснити постојањем реверзибилне реакције (Шема 3.1.), која се јавља услед повећане електрофилности централног јона метала. Код хлоридо комплекса у раствор ових комплекса додаван је 10 mM NaCl, како би се спречила хидролиза комплекса тј. формирање аква честице и како би се спречила паралелна реакција. Повратна реакција је уочена и код аква комплекса. То се такође може објаснити стерним ефектима комплекса и лиганда. [PtCl(gly-met-*S,N,N*)] комплекс има волуминозну метил групу у *cis* положају, док [PtCl(bpma)]⁺ комплексни јон има два пиридинска прстена такође у *cis* положају (Слика 3.1.).

Активациони параметри одређени су на основу Ајрингове (Eyring) једначине и приказани са у Табели 3.1. Негативне вредности ΔS^\ddagger указују на асоцијативни механизам, који представља опште прихваћен механизам за супституционе реакције квадратно-планарних комплекса.^{7,8,176}

3.1.1. ¹H NMR кинетичка мерења са 5'-GMP

Кинетика супституционих реакција хлоридо комплекса [PtCl(bpma)]⁺ и [PtCl(gly-met-*S,N,N*)] са 5'-GMP лигандом испитивана је ¹H NMR спектроскопијом. Супституционе реакције су извођене у D₂O на 298 K. pD (pD = pH + 0.4)¹⁷⁷ вредност раствора подешена је на 7,0 додатком CF₃SO₃D.

Познато је да се 5'-GMP првенствено координује преко N7 атома,⁴⁷ али у принципу и N7 и N1 атоми могу да буду погодна места за координацију у зависности од pH раствора. Потврђено је више пута да се у неутралној и слабо киселој средини координација остварује преко N7 из 5'-GMP.^{57,178-180} Реакција координације 5'-GMP за Pt(II) јон испитиваних комплекса праћена је померањем H1' и H8 протона из молекула

5'-GMP, зато што ови протони најбоље рефлектују промене. H1' и H8 протони слободног 5'-GMP налазе се на знатно нижим хемијским померањима у односу на исте протоне координованог 5'-GMP. Интензитет сигнала H8 протона слободног 5'-GMP ($\delta = 8,16$ ppm) у реакцији са [PtCl(gly-met-S,N,N)] опада са временом, а уједно се појављује нови сигнал координованог 5'-GMP на хемијском померању $\delta = 8,71$ ppm, који такође потиче од H8 протона. При реакцији [PtCl(bpm)]⁺ комплексног јона сигнал координованог 5'-GMP појављује се на хемијском померању од $\delta = 8,62$ ppm, што одговара H8 протону.

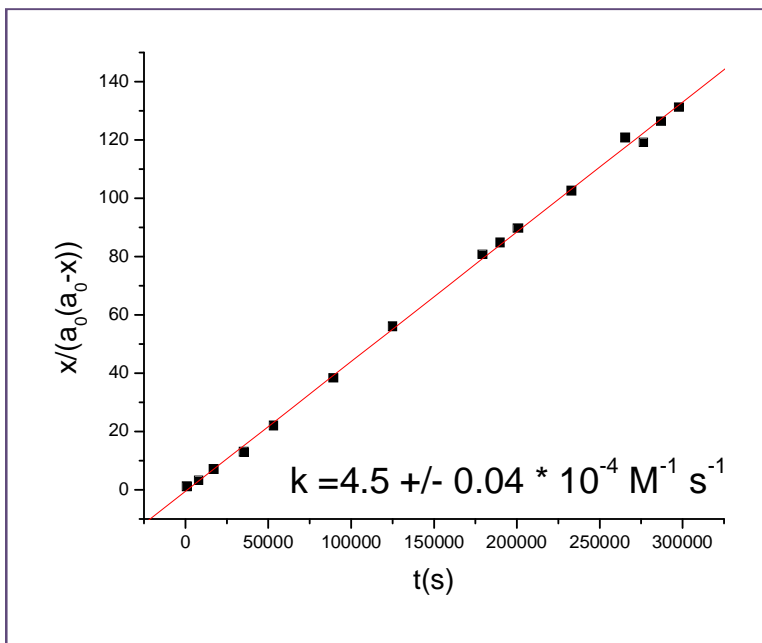
Константа брзине другог реда, k_2 , одређена је на основу једначине (3.1.1.1):

$$k_2 t = \frac{x}{a_0(a_0 - x)} \quad (3.1.1.1)$$

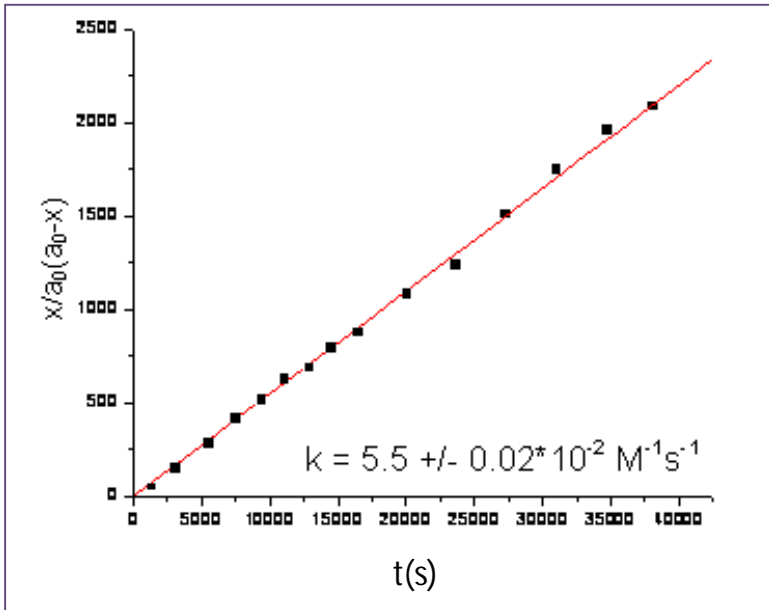
где a_0 представља почетну концентрацију реактанта, а x представља концентрацију производа.

Гугенхемова (Guggenheim) зависност¹⁰ $x/a_0(a_0-x)$ у функцији од времена за супституционе реакције [PtCl(bpm)]⁺ и [PtCl(gly-met-S,N,N)] комплекса са 5'-GMP је линеарна, као што се може видети са Сликe 3.4. и 3.5. Вредност константе брзине реакције другог реда, k_2 , израчуната је из нагиба правих зависности $x/a_0(a_0-x)$ у функцији од времена, а на основу једначине (3.1.1.1).

Супституциона реакција [PtCl(gly-met-S,N,N)] комплекса са 5'-GMP одвија се око 50 пута спорије у односу на исту реакцију са L-мет и GSH (Табела 3.1.). Знатно мања реактивност 5'-GMP може се приписати стерном утицају волуминозног молекула 5'-GMP и комплекса, који садржи волуминозну метил групу. Међутим, супституционе реакције [PtCl(bpm)]⁺ комплекса одвијају се готово истом брзином као и у случају GSH и L-мет (Табела 3.1.).



Слика 3.4. Guggenheim-ова зависност $x/a_0(a_0-x)$ у функцији од времен, за супституциону реакцију $[PtCl(gly-met-S,N,N)]$ (6 mM) са 5'-GMP (6 mM), pH = 7,0, 298 K.



Слика 3.5. Guggenheim-ова зависност $x/a_0(a_0-x)$ у функцији од времена за супституциону реакцију $[PtCl(bpta)]^+$ (6 mM) са 5'-GMP (6 mM), pH = 7,0, 298 K.

Ако упоредимо константе брзине, k_2 , добијене за супституционе реакције $[\text{PtCl}(\text{bpm})]^+$ и $[\text{PtCl}(\text{gly-met-S,N,N})]$ комплекса са 5'-GMP (Табела 3.1.) можемо приметити да је $[\text{PtCl}(\text{bpm})]^+$ комплекс знатно реактивнији, што се опет може приписати стерном ефекту волуминозне метил групе у $[\text{PtCl}(\text{gly-met-S,N,N})]$ комплексу, а такође и електронским ефектима пиридинских прстенова из $[\text{PtCl}(\text{bpm})]^+$ комплексног јона. Из свега до сада реченог може се закључити да на рН вредностима око 7,0 азот-донорски нуклеофили не могу да се такмиче са сумпор-донорским (тиолима или тиоетрима) аминокиселинама и пептидима, што је у сагласности са већ публикованим резултатима.^{61,87}

3.1.2. Одређивање рКа вредности $[\text{Pt}(\text{gly-met-S,N,N})\text{H}_2\text{O}]^+$ комплексног јона

рКа вредност $[\text{Pt}(\text{gly-met-S,N,N})\text{H}_2\text{O}]^+$ комплексног јона подразумева киселост координованог молекула воде, која зависи од структуре комплекса и електронских ефеката у комплексу. Уколико у комплексу постоји више π -акцептора, комплекс ће имати нижу рКа вредност.⁷² На Слици 3.6. приказане су промене у Uv-Vis спектру током титрације $[\text{Pt}(\text{gly-met-S,N,N})\text{H}_2\text{O}]^+$ комплекса. Сам процес хидролизе комплекса може се представити једначином (3.1.2.1):

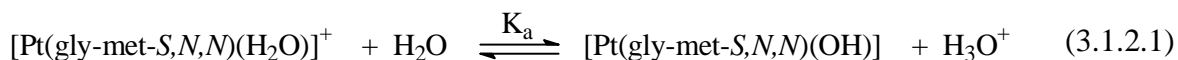
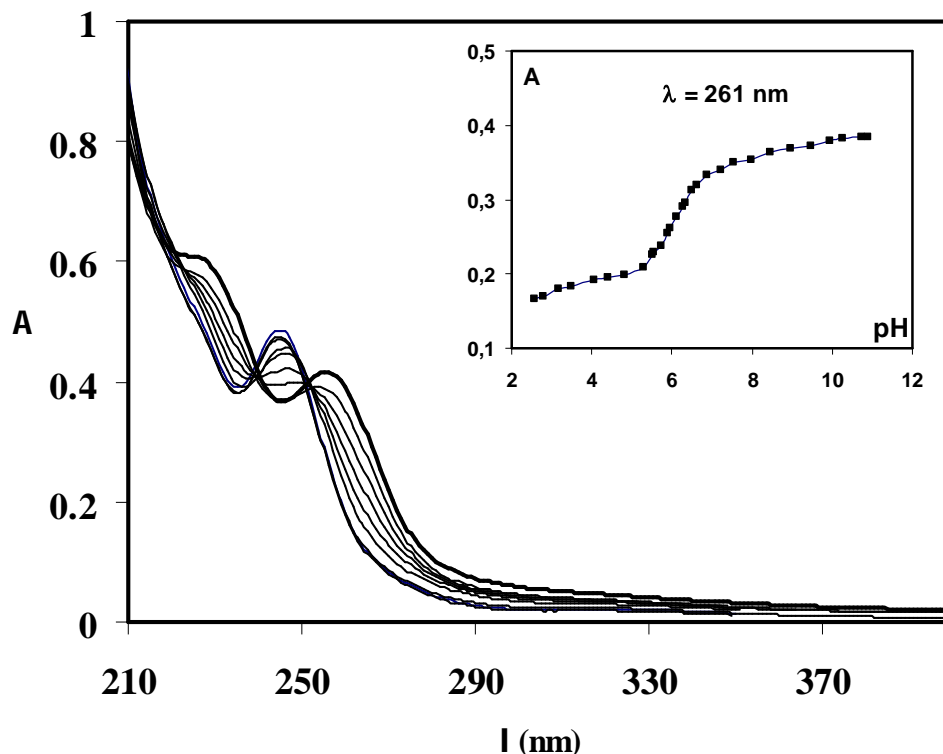


График зависности рН од апсорбанце, на одређеној таласној дужини, коришћен је за одређивање рКа вредности координованог молекула воде. Добијена зависност приказана је на Слици 3.6. израчуната рКа вредност комплекса износи $5,95 \pm 0,04$ и налази се приказана у Табели 3.3., где су приказане и рКа вредности за структурно сличне комплексе.

Добијена рКа вредност за $[\text{Pt}(\text{gly-met-S,N,N})\text{H}_2\text{O}]^+$ комплексни јон нижа је од рКа вредности за $[\text{Pt}(\text{dien})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$, али је виша у односу на рКа вредности комплекса који садрже пиридински прстен, $[\text{Pt}(\text{bpm})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ и $[\text{Pt}(\text{terpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$. Познато је да комплекси који у свом саставу имају два пиридинска прстена (bpm) или три пиридинска прстена (terpy) показују већу реактивност због смањене електронске густине на Pt(II) центру.⁷²



Слика 3.6. Промене спектра током тирације $[Pt(gly-met-S,N,N)H_2O]^+$ комплексног јона базом у рН области од 1 до 11. $C_{[Pt(gly-met-S,N,N)H_2O]^+} = 1,2 \times 10^{-4} M$ у $0,1 M NaClO_4$ на $298 K$. Уметнути график: Зависност апсорбанце од рН на $\lambda = 261 nm$.

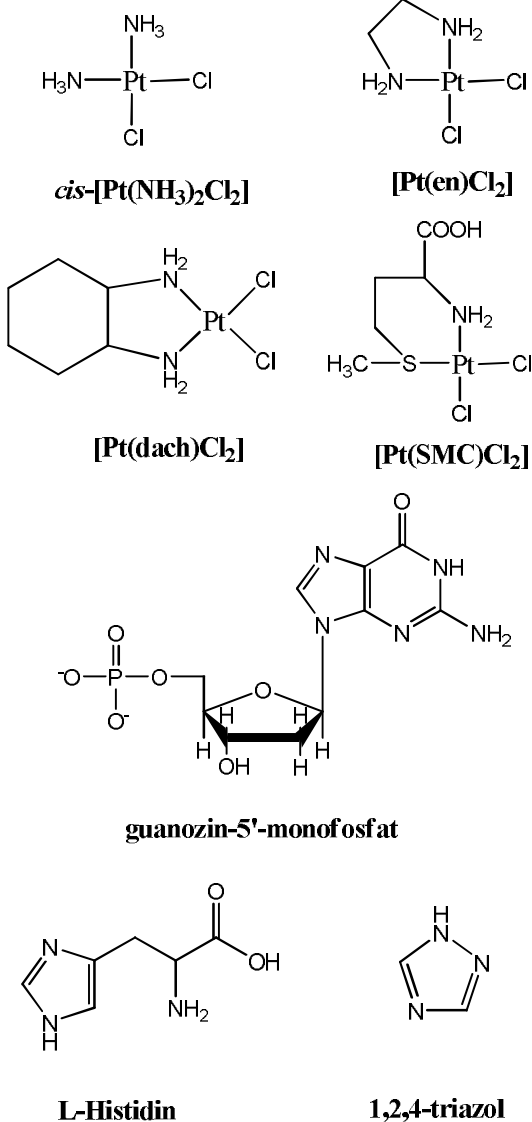
Табела 3.3. рКа вредности Pt(II) аква комплекса.^a

$[Pt(dien)H_2O]^{2+}$	$[Pt(Gly-Met)(H_2O)]^+$	$[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$	$[Pt(terpy)(H_2O)]^{2+}$	Референца
$6,26 \pm 0,10$		$5,53 \pm 0,07$	$4,62 \pm 0,04$	72
	$5,95 \pm 0,04$			Овај рад
		$5,49 \pm 0,08$		139

^a Јонска јачина = $0,10 M (NaClO_4)$, $298 K$

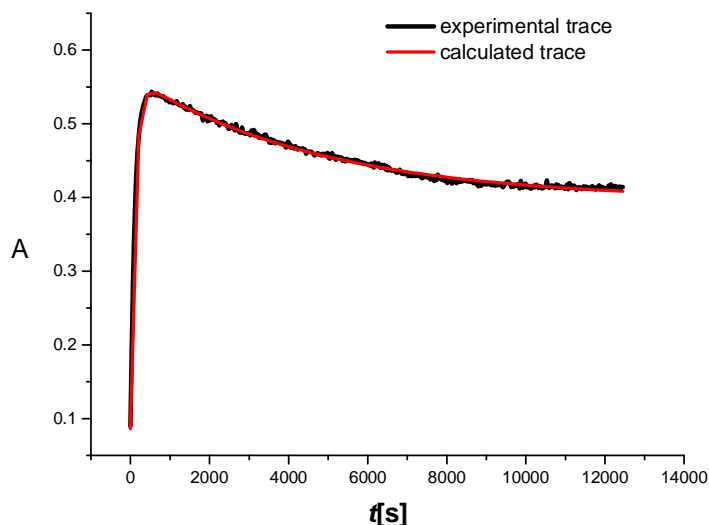
3.2. Резултати добијени испитивањем реакција бифункционалних комплекса Pt(II) са 1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP.

Кинетика супституционих реакција четири различита комплекса Pt(II) *cis*- $[PtCl_2(NH_3)_2]$, $[PtCl_2(en)]$, $[PtCl_2(dach)]$ и $[PtCl_2(SMC)]$ са 1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP испитивана је при физиолошким условима, рН = 7,2, на 310 K у хелес пуферу. Структурне формуле испитиваних комплекса и лиганата дате су на Слици 3.7.



Слика 3.7. Структурне формуле испитиваних комплекса и лиганата.

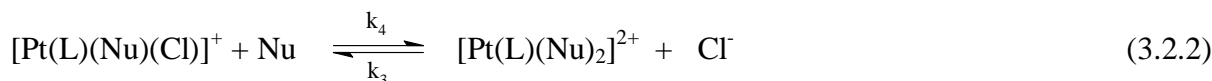
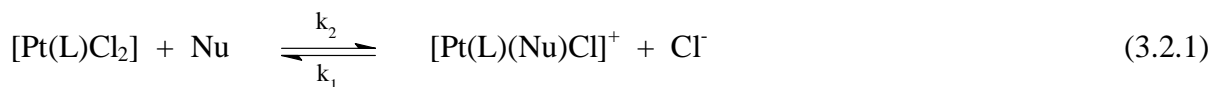
Добијена зависност апсорбанце од времена на одговарајућој таласној дужини фитована је као експоненцијална функција другог реда, и приказана је на Слици 3.8.



Слика 3.8. График зависности апсорбанце од времена за реакцију супституције $[Pt(en)Cl_2]$ комплекса са 1,2,4-триазолом ($1.6 \times 10^{-2} M$) на 222 nm, $T = 310 K$, 25 mM хепес пуфер, $pH = 7,2$ и 5 mM NaCl.

Све супституционе реакције изучаване су у присуству 5 mM NaCl. Ова концентрација NaCl изабрана је како би се обезбедили услови слични условима у ћелији, где је концентрација хлорида приближна 4 mM.

Супституционе реакције изучаваног комплекса са изабраним нуклеофилима одигравају се у два узастопна корака. Сваки корак је реверзибилна реакција која се одвија како је приказано једначинама (3.2.1 и 3.2.2).



$L = \text{dach, en, SMC, } (NH_3)_2$

$Nu = 5'-GMP, L\text{-хис, } 1,2,4\text{-триазол}$

Константа реакције *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , за проучавани процес супституције дата је једначином (3.2.3) и (3.2.4):

$$k_{\text{obsd1}} = k_1 + k_2[\text{Nu}] \quad (3.2.3)$$

$$k_{\text{obsd2}} = k_3 + k_4[\text{Nu}] \quad (3.2.4)$$

Реакција директне нуклеофилне супституције окарактерисана је константама k_2 и k_4 , док је реверзибилни процес окарактерисан константама k_1 и k_3 .

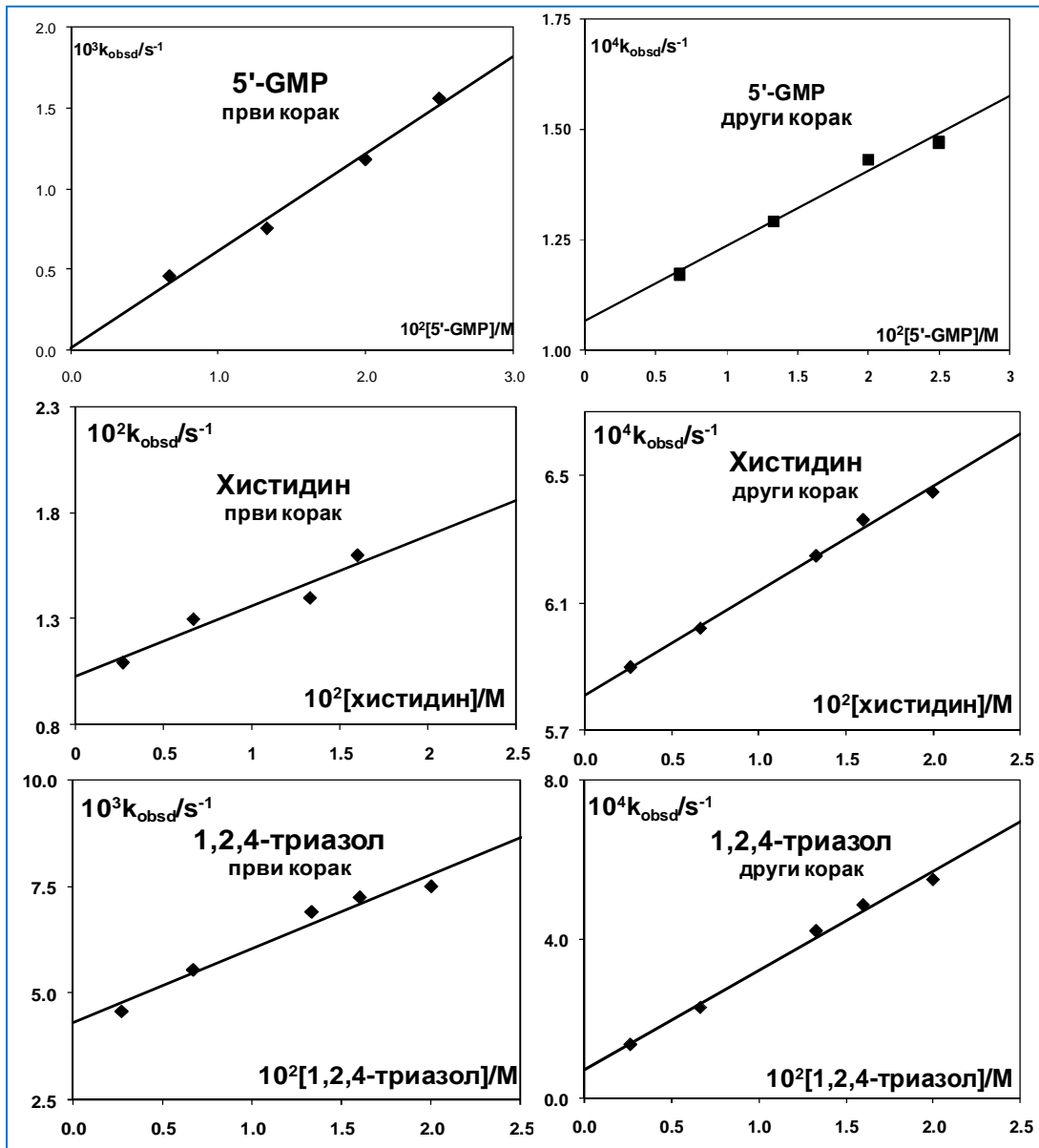
На Слици 3.9. приказане су експериментално добијене зависности константе брзине реакције *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , за један изабран комплекс.

Са Слике 3.9. може се видети да је у свим проучаваним супституционим реакцијама добијена линеарна зависност константе брзине реакције *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , од концентрације нуклеофила. Такође може се уочити да у свим посматраним случајевима постоји значајан одсечак.

Познато је, да се 5'-GMP координује за металне јоне преко N1 и N7 атома, али у неутралној и слабо киселој средини фаворизовано је везивање преко N7.^{57,178-180} рКа вредност за 1,2,4-триазол износи 2,30,¹⁸¹ тако да је на рН вредности 7,2 1,2,4-триазол потпуно депротонан и јако је добар нуклеофил. 1,2,4-триазол може да се координује за Pt(II) јон преко N1, N2 и N4 атома.¹⁸² Хетероциклични систем L-хис може да се координује као бидентатни лиганд преко N1 и N3 атома. У биолошким системима постоји велики број металопротеина у којима је метални јон координан за имидазол из хистидина и то преко N1 или N3.^{183,184}

Добијене вредности константи брзине, за први и други корак, проучаваних супституционих реакција, дате су у Табели 3.4.

Највећу реактивност од проучаваних лиганата показује 1,2,4-триазол (Табела 3.4.), док L-хис показује исти ред реактивности као и 5'-GMP. Константа брзине директне реакције у случају L-хис је нешто већа у односу на исту константу код 5'-GMP. Разлика у реактивности ова два нуклеофила последица је електронских и стерних ефеката. 5'-GMP је волуминознији молекул у односу на L-хис, што може да буде разлог зашто су реакције са 5'-GMP спорије.



Слика 3.9. Зависност константе брзине реакције псеудо-првог реда, k_{obsd} од концентрације лиганда за први и други корак реакције супституције $[Pt(SMC)Cl_2]$ на $T = 310\text{ K}$ у 25 mM хепес пуферу, $pH = 7,2$ и 5 mM NaCl .

Табела 3.4. Константе брзине за проучаване супституционе реакције на $T = 310 \text{ K}$, у 25 mM хелес пуфер, pH = 7,2 и 5 mM NaCl.

Први корак						
	5'-GMP		L-хис		1.2.4-триазол	
	$10^3 k_2$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^4 k_1$ s^{-1}	$10^3 k_2$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^4 k_1$ s^{-1}	$10^2 k_2$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^3 k_1$ s^{-1}
[Pt(dach)Cl ₂]	2,2 ± 0,1	3,3 ± 1	6,4 ± 0,2	2,6 ± 0,1	5,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1
[Pt(en)Cl ₂]	4,4 ± 0,3	0,30 ± 0,04	7,9 ± 0,7	1,8 ± 0,1	9,9 ± 0,1	7,3 ± 0,1
[Pt(SMC)Cl ₂] ⁻	593 ± 4	0,70 ± 0,08	352 ± 6	99 ± 1	454 ± 2	3,0 ± 0,2
<i>cis</i> -[Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂]	/	/	8,0 ± 0,3	4,5 ± 0,4	12,0 ± 0,4	7,4 ± 0,5
Други корак						
	5'-GMP		L-хис		1,2,4-триазол	
	$10^4 k_4$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^6 k_3$ s^{-1}	$10^4 k_4$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^6 k_3$ s^{-1}	$10^3 k_4$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^4 k_3$ s^{-1}
[Pt(dach)Cl ₂]	2,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1	4,8 ± 0,4	2,2 ± 0,6	6,4 ± 0,5	1,0 ± 0,6
[Pt(en)Cl ₂]	3,0 ± 0,2	35 ± 3	11 ± 1	76 ± 1	11 ± 1	1,1 ± 0,1
[Pt(SMC)Cl ₂] ⁻	17 ± 2	11 ± 3	33 ± 1	58 ± 2	24 ± 1	0,7 ± 0,01
<i>cis</i> -[Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂]	/	/	11 ± 1	20 ± 1	12,8 ± 0,2	8,1 ± 0,2

На основу вредности константи брзине, Табела 3.4., може се уочити да су изучавани азот-донорски лиганди добри нуклеофили у процесу супституције Pt(II) комплекса. Упоредјујући вредности константе брзине, k_2 , реакције другог реда за први корак супституције изучавани комплекси показују следећи ред реактивности: [Pt(SMC)Cl₂]⁻ > *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] > [Pt(en)Cl₂] > [Pt(dach)Cl₂]. Велика реактивност [Pt(SMC)Cl₂]⁻ комплекса у односу на друге проучаване комплексе последица је јаког *trans*-ефекта координованог атома сумпора из S-метил-L-цистеина. *Trans*-ефекат овог типа уочен је и при ранијим радовима са истим комплексом.⁶² Реактивност комплекса

cis-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(en)Cl₂] и [Pt(dach)Cl₂] зависи од волуминозности инертног лиганда. [Pt(dach)Cl₂] комплекс је најволуминознији и самим тим супституционе реакције овог комплекса су спорије у односу на *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] и [Pt(en)Cl₂]. Са друге стране супституционе реакције [Pt(dach)Cl₂] комплекса су спорије у односу на реакције [Pt(en)Cl₂], јер Pt(II) постаје мање електронегативан услед позитивног индуктивног ефекта циклохексановог прстена.⁶⁵

Константе брзине супституционих реакција за други корак су спорије у односу на исте константе за први корак (Табела 3.4.). Редослед реактивности комплекса за други корак супституције је: [Pt(SMC)Cl₂]⁻ > *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] > [Pt(en)Cl₂] > [Pt(dach)Cl₂]. Оно што се прво може уочити је да је разлика у реактивности [Pt(SMC)Cl₂]⁻ комплексног јона и преостала три комплекса мања него у случају првог корака. Мања реактивност [Pt(SMC)Cl₂]⁻ комплексног јона код другог реакционог корака је последица супституције Cl⁻ у *trans* у односу на азотов атом из координованог S-метил-L-цистеина и *cis* у односу на сумпоров атом из S-метил-L-цистеина.

У ранијим радовима¹⁸⁵ испитивана је кинетика и механизам супституционих реакција [Pt(SMC)Cl₂]⁻ комплексног јона са биолошки значајним лигандима у функцији од концентрације хлорида, на рН = 2,5 и 7,2. Примећено је да и нагиб и одсечак, који су добијени из графика линеарне зависности константе брзине реакције *псеудо*-првог реда и концентрације нуклеофила, зависе од концентрације хлоридног јона у раствору за сваку проучавану супституциону реакцију. При великој концентрацији хлоридних јона константа брзине директне реакције има вредност готово једнаку нули, што указује да вишак хлоридних јона скоро потпуно спречава замену хлоридног јона из комплекса улазним лигандом. Константе брзине добијена за супституционе реакције [Pt(SMC)Cl₂]⁻ комплексног јона са 5'-GMP у оквиру овог рада добро се слажу са литературним подацима.¹⁸⁵ У недавним радовима¹⁸⁶ проучаване су супституционе реакције [Pt(en)Cl₂] и [Pt(dach)Cl₂] комплекса са 5'-GMP и L-хис у присуству 10 mM NaCl. Добијене вредности константи брзине другог реда за реакцију са L-хис готово су идентичне као и у Табели 3.4. ($10,5 \pm 0,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ за [Pt(en)Cl₂] и $6,4 \pm 0,4 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ за [Pt(dach)Cl₂]), а у случају 5'-GMP-а константе су мање у односу на вредности из Табеле 3.4. На основу изложеног може се закључити да је коришћени 5 mM NaCl довољан да сузбије солволитички корак.

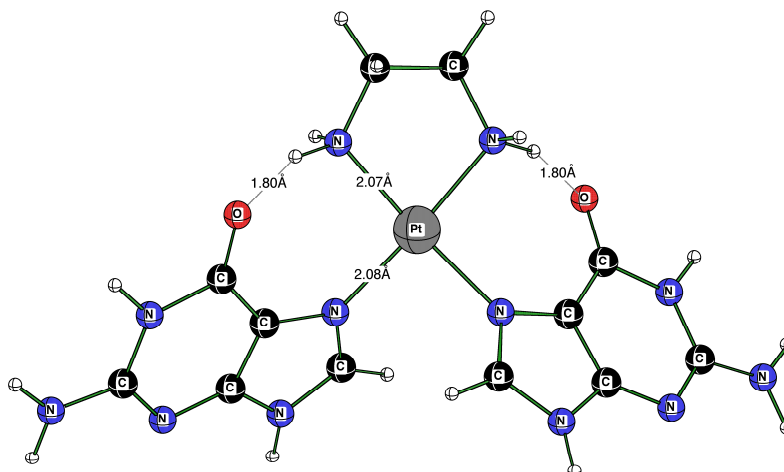
Аква комплексни јон $[\text{Pt}(\text{SMC})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ такође реагује са 5'-GMP у два узастопна реакциона корака. Константа брзине другог реда за први реакциони корак износи $22,44 \pm 0,82 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, док за други корак износи $0,24 \pm 0,02 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.⁶² Проучаване су и супституционе реакције $[\text{Pt}(\text{en})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ и $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ такође са 5'-GMP. Константа брзине другог реда за први реакциони корак за $[\text{Pt}(\text{en})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ комплексни јон износи $3,9 \pm 0,1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ а за $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ износи $5,8 \pm 0,2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.⁶⁵ Оно што се може приметити је у свим случајевима аква комплекс реактивнији од хлоридо комплекса.

Утицај одлазеће групе на процес супституције $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{CBDCA})]$, $[\text{Pt}(\text{dach})(N,S\text{-метионин})]$ и $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{gly})]$ комплекса испитиван је за већи број нуклеофила укључујући и 5'-GMP.⁷⁰ Упоредивањем вредности константи брзине другог реда за супституциону реакцију са 5'-GMP, јасно се види да је $[\text{Pt}(\text{dach})\text{Cl}_2]$ комплекс реактивнији ($2,2 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) у поређењу са $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{CBDCA})]$ ($0,352 \pm 0,002 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) и $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{gly})]$ ($1,77 \pm 0,001 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Очигледно је да природа хелата, тј. O-O (CBDCA), N-O (глицин) или S-N (L-мет) игра важну улогу у кинетичком понашању Pt(II) комплекса.

3.2.1. ДФТ израчунавања за систем размене Gua/SMe₂

Прелазак Pt-S(тиоетар) у Pt-N7(GMP) координацију показао се као уобичајен у биолошким процесима.^{48,87,174,187,188} Како би се сазнало нешто више о самом процесу преласка Pt-S(тиоетар) у Pt-N7(GMP) координацију вршена су квантно-хемијска израчунавања. Применом (B3LYP/LANL2DZp) израчунавања, показало се као што је и очекивано добро слагање између израчунавањем предвиђене геометријске структуре и експериментално одређене и публиковане геометријске структуре, што је приказано на Слици 3.9. за $[\text{Pt}(\text{en})(\text{Gua})_2]^{2+}$.

У Табели 3.5. приказане су вредности дужине Pt-N веза и одговарајућих углова, добијене рендгенском анализом и израчунавањем (B3LYP/LANL2DZp).



Слика 3.9. Израчунавањем (B3LYP/LANL2DZp) предвиђена структура $[Pt(en)(Gua)_2]^{2+}$, C_2 -симетрије са антипаралелним Gua.

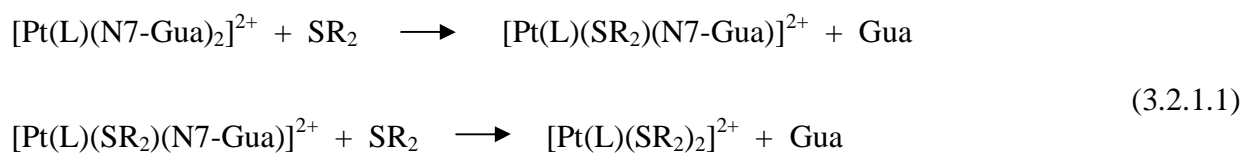
Табела 3.5. Изабрани кристалографски подаци и израчунати (B3LYP/LANL2DZp) подаци за геометријску структуру комплекса.

	Pt-N _L [Å]	Pt-N _{GMP-like} [Å]	N _L -Pt-N _{GMP-like} [°]	N _L -Pt-N _L [°]	N _{GMP-like} -Pt-N _{GMP-like} [°]
$[Pt(dach)(N7-Gua)_2]^{2+}$	2,07; 2,07	2,08; 2,08	93,9; 93,4	82,7	90,7
$[Pt(en)(N7-Gua)_2]^{2+}$	2,07; 2,07	2,08; 2,08	93,3; 93,3	82,8	90,8
$[Pt(en)(N7-Gua)_2]^{2+},^{189}$	2,04; 2,04	1,97; 1,97	94,6; 94,6	83,9	87,0
$[Pt(en)(5'GMP-N7)_2]^{190}$	2,04; 2,04	2,05; 2,05	94,4; 94,4	82,3	89,1
$[Pt(en)(1,3,9-TMX)]^{2+},^{191}$	2,03; 2,03	2,02; 2,02	95,5; 91,7	83,8	89,1
$[Pt(en)(acv)_2]^{2+},^{192}$	2,05; 2,00	2,01; 2,03	94,8; 92,6	82,7	90,1
$[Pt(en)(N7-acv)_2]^{2+},^{193}$	2,03; 2,02	2,04; 2,02	95,4	83,4	89,4

Експериментално добијена дужина везе Pt-N(GMP) је за 0,1 Å мања у односу на израчунату вредност (Табела 3.5.). Међутим, свакако треба узети у обзир да је наведени експериментални податак добијен пре 35 година и да техника у то време није била на садашњем нивоу.

Молекули Gua у $[\text{Pt}(\text{L})(\text{Gua})_2]^{2+}$ могу да буду смештени паралелно или антипаралелно са C_2 -симетријом. Паралелни положај Gua је установљен код $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Gua})_2]^{2+}$ нешто је мало стабилнији у гасној фази (2,7 kcal/mol) и у CPCM (0,6 kcal/mol) и означен је као термонеутрални. Међутим, сви кристалографски подаци указују да су Gua молекули распоређени антипаралелно, што је последица стерних сметњи. То је последица волуминозних бочних ланаца у молекулу Gua. Подаци који се налазе у Табели 3.5. дати су за антипаралелне конформере.

Како би се добили што поузданији, пре свега квантитативни подаци о разлици у стабилности између Pt-S(тиоетар) и Pt-DNK координације, вршене су ДФТ израчунавања на реакцији моделу (3.2.1.1.)



У датој једначини (3.2.1.1.) апроксимација гуанину је гуанозин, а $\text{S}(\text{CH}_3)_2$ представља генерички тиоетар. Израчунавања су вршена за оба супституциона корака.

У свим посматраним случајевима фаворизованије је везивање гуанина за $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2$, $\text{Pt}(\text{en})$ и $\text{Pt}(\text{dach})$ фрагмент у односу на везивање тиоетра за наведене фрагменте. Први реакциони корак у гасној фази $\text{Pt-N7}(\text{Gua})$ је стабилнији за 31 до 33 kcal/mol, док други реакциони корак $\text{Pt-N7}(\text{Gua})$ стабилнији за 32 до 34 kcal/mol (Табела 3.6.). Комплекс $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Gua})_2]^{2+}$ има две водоничне везе између Gua и $\text{C}=\text{O}$ и NH_3 од 1,87 Å, $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{Gua})_2]^{2+}$ има две водоничне везе између Gua и $\text{C}=\text{O}$ и dach од 1,83 Å, док $[\text{Pt}(\text{dach})(\text{Gua})(\text{SMe}_2)]^{2+}$ има једну водоничну везу између Gua и $\text{C}=\text{O}$ и dach од 1,90 Å $[\text{Pt}(\text{en})(\text{Gua})_2]^{2+}$ има две водоничне везе између Gua и $\text{C}=\text{O}$ и en од 1,80 Å.

Како би се избегло да се при израчунавању узима у обзир ефекат растварача, извршена су CPCM израчунавања (B3LYP(CPCM)/LANL2DZp//B3LYP/LANL2DZp). Међутим, енергија (Табела 3.6.) добијена овим израчунавањима мања је за 50%, али је координација преко гуанина фаворизована.

Резултати добијени ДФТ калкулацијом, приказани у Табели 3.6., су први резултати који јасно показују колико је $\text{Pt-N7}(\text{GMP})$ координација стабилнија од Pt-S(тиоетар) координације. Добијени резултати су јако важни с обзиром да је установљено да

Pt-S(тиоетар) једињења представљају „резервоаре” Pt-једињења у организму, која у сваком тренутку могу да се супституишу са ДНК, тј. Pt-S(тиоетари) су интермедијери у процесу везивања Pt-једињења за ДНК и грађење Pt-N7(Gua) једињења.^{47,48,174,187,194}

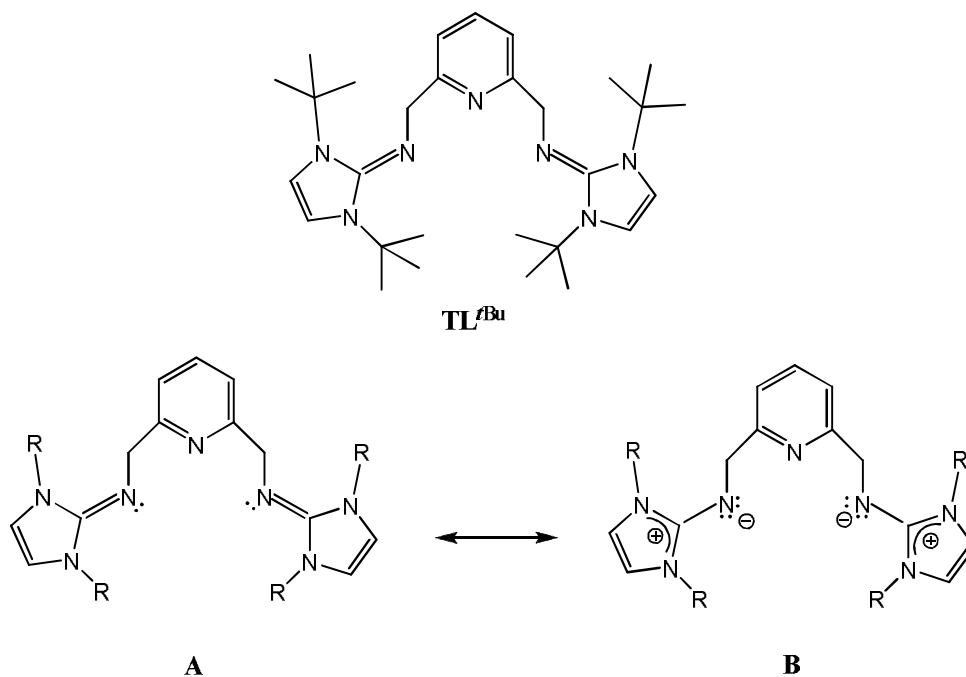
Табела 3.6. Израчуната енергија у kcal/mol за измену Gua/SMe₂ у [Pt(NH₃)₂(Gua)₂]²⁺, [Pt(en)(Gua)₂]²⁺ и [Pt(dach)(Gua)₂]²⁺.

Метода	[Pt(NH ₃) ₂ (Gua) ₂] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(NH ₃) ₂ (Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + Gua
Гас. фаза	0,0		+31,6
СРСМ	0,0		+10,5
	[Pt(NH ₃) ₂ (Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(NH ₃) ₂ (SMe ₂) ₂] ²⁺ + Gua
Гас. фаза	0,0		+33,5
СРСМ	0,0		+13,9
	[Pt(dach)(Gua) ₂] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(dach)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + Gua
Гас. фаза	0,0		+31,2
СРСМ	0,0		+12,2
	[Pt(dach)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(dach)(SMe ₂) ₂] ²⁺ + Gua
Гас. фаза	0,0		+32,2
СРСМ	0,0		+11,9
	[Pt(en)(Gua) ₂] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(en)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + Gua
Гас. фаза	0,0		+32,8
СРСМ	0,0		+13,0
	[Pt(en)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(en)(SMe ₂) ₂] ²⁺ + Gua
Гас. фаза	0,0		+34,0
СРСМ	0,0		+12,5

3.3. Резултати добијени испитивањем равнотеже и кинетике супституционих реакција бис(имидазолин-2-имино) комплекса Pd(II). Кристална структура [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄ и [(BL^{iPr})PdCl₂] комплекса.

3.3.1. Синтеза 2,6-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина и 1,2-бис[(1,3-ди-изопропилмидазолин-2-имино)]етана

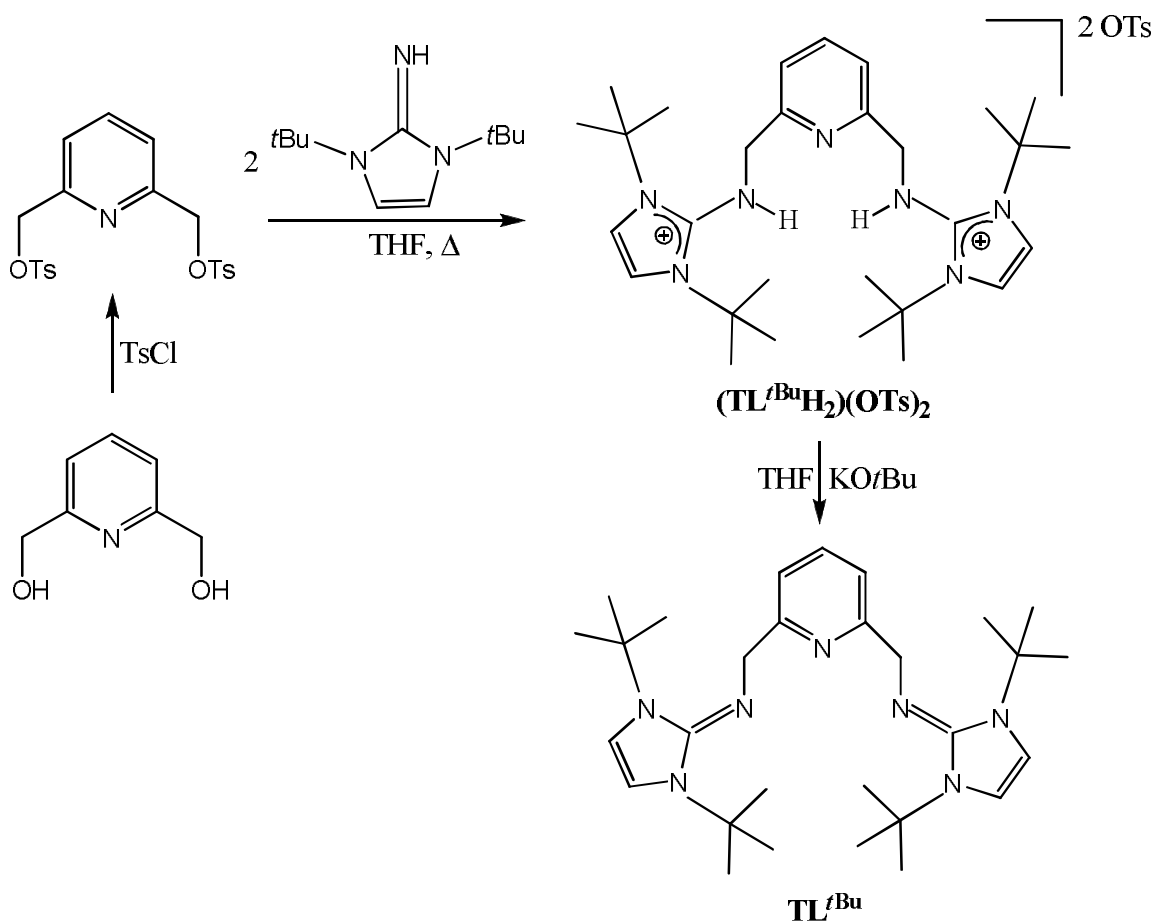
Након Брукхартовог (Brookhart) и Гибсовог (Gibson) открића, крајем 1990 године, да комплекси прелазних метала са *Schiff*-овом базом 2,6-бис(имино)пиридином представљају веома активне катализаторе при полимеризацији олефина¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ такозвани пинцер лиганди привукли су велику пажњу.¹⁹⁸ Лиганд који се састоји из пиридина, као моста између два имидазолин-2-имина, представља аналог *Schiff*-овим пинцер лигандима, али са израженијим базним карактеристикама. На Слици 3.10. приказана је структура синтетисаног лиганда. Са слике се могу видети резонантне структуре лиганда.



Слика 3.10. Структурна формула и резонантна структура синтетисаног лиганда.

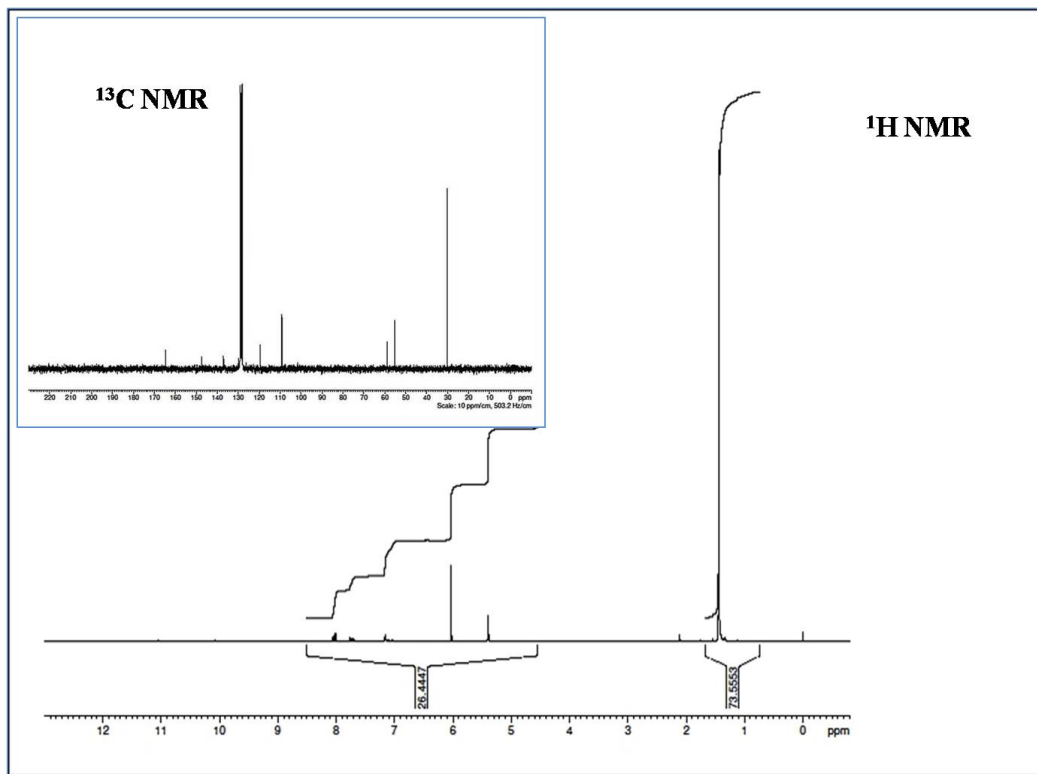
Лиганд 2,6-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин, (TL^{tBu}) синтетисан је полазећи од 2,6-бис(хидроксиетил)пиридина, који је преведен у диестар реакцијом са *n*-толуенсулфонил хлоридом,¹⁹⁹ као што је приказано на Слици 3.11.

Реакцијом добијеног естра са два еквивалента 1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имина добија се $[(\text{TL}^{\text{tBu}}\text{H}_2)(\text{OTs})_2]$ у јако великом приносу. Из $[(\text{TL}^{\text{tBu}}\text{H}_2)(\text{OTs})_2]$ једињена лиганд, (TL^{tBu}) ослобађа се депротонацијом са вишком KO^tBu (Слика 3.11.). Добијени лиганд (TL^{tBu}) је бели прах, на ваздуху стабилан. Лиганд је анализиран ^1H и ^{13}C NMR спектроскопијом и масеном спектрометријом. Урађена је елементарна анализа како добијеног лиганда тако и међу производа и у свим случајевима примећена су добра слагања између израчунатих и добијених вредности. Постигнуто је и добро слагање са литературним подацима.¹⁵⁴



Слика 3.11. Синтеза 2,6-бис[(1,3-ди-*терц*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина, (TL^{tBu}) лиганда.

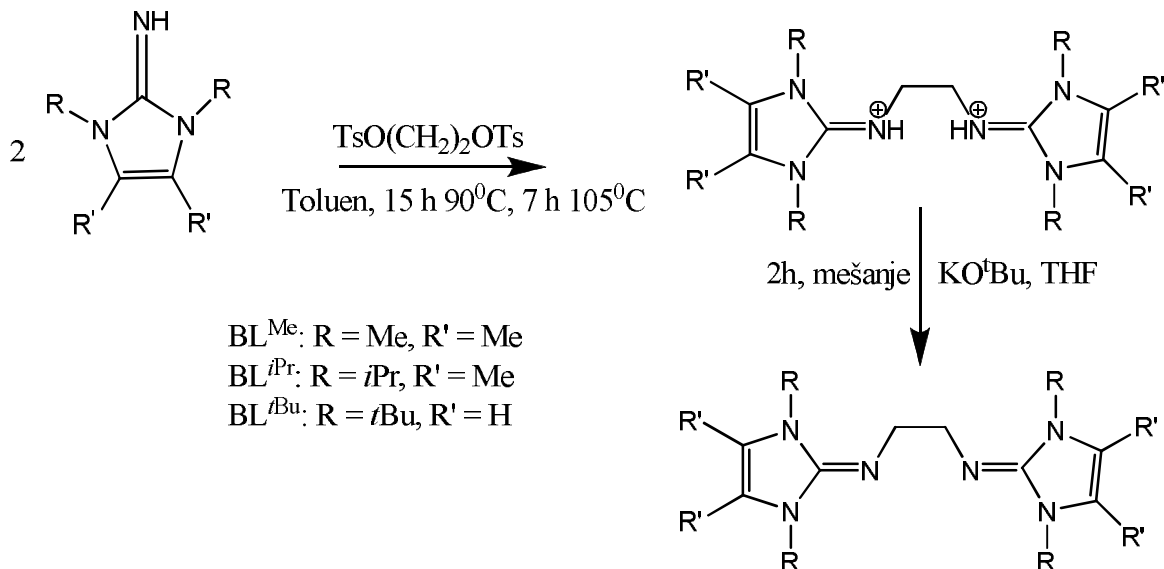
Добијена померања у ^1H и ^{13}C NMR спектрима (снимани у C_6D_6) за синтетисани лиганд добро се слажу са подацима из литературе.¹⁵⁴



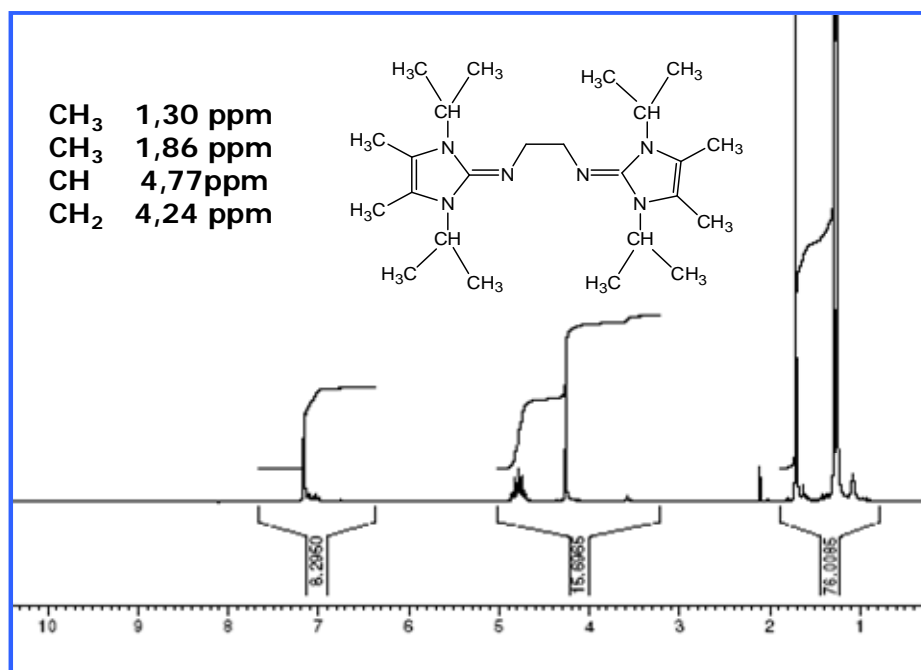
Слика 3.12. ^1H и ^{13}C NMR спектар синтетисаног 2,6-бис[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридина.

1,2-бис[(1,3-ди-изопропилимидазолин-2-имино)]етан је бидентатни лиганд који припада групи бис(имидазолин-2-имино) лиганада. Лиганади 1,2-бис(1,3,4,5-тетраметилимидазолин-2-имино)етана (BL^{Me}), 1,2-бис(1,3-диизопропил-4,5-диметилимидазолин-2-имино)етан (BL^{iPr}) и 1,2-бис(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)етан (BL^{tBu}) синтетишу се полазећи од 1,2-етандиола који се преводи у 1,2-етилендитиосулфонат реакцијом са *p*-толуенсулфонил хлоридом. Реакцијом 1,2-етилендитиосулфоната са два еквивалента 1,3-диизопропил-4,5-диметилимидазолин-2-имина добија се једињење опште формуле $[\text{BL}^{\text{R}}\text{H}_2](\text{OTs})_2$ у великом приносу. Добијена со јако је растворна у поларним растварачима као што су вода, DMSO или ацетонитрил, а самим тим нерастворна у неполарним растварачима као што су *n*-хексан, толуен или тетраhydroфуран. Из $[\text{BL}^{\text{R}}\text{H}_2](\text{OTs})_2$ слободан лиганд добија се у скоро квантитативном приносу депротонацијом са вишком KOtBu . Добијени лиганд је бели прах стабилан на ваздуху. Синтетисани лиганд окарактерисан је ^1H и ^{13}C NMR спектроскопијом и урађена

је елементарна анализа. Добијени резултати су се добро слагали са литературним подацима.¹⁵⁴ На Слици 3.13., шематски је приказан начин добијања 1,2-бис(имидазолин-2-имино)етан лиганата.



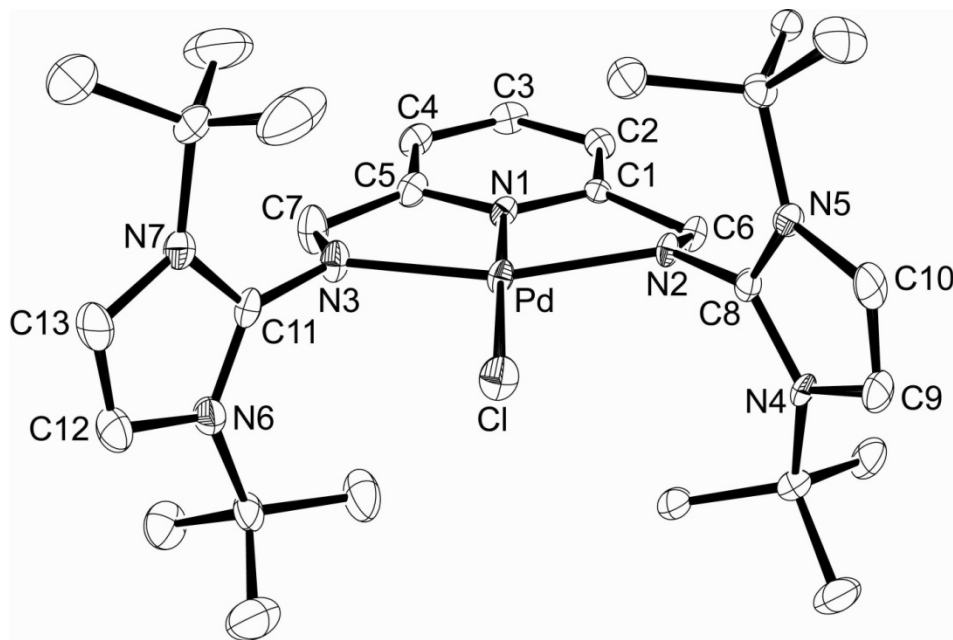
Слика 3.13. Синтеза бидентаних лиганата BL^{R}



Слика 3.14. ^1H и ^{13}C NMR спектар синтетисаног 1,2-бис(1,3-диизопропил-4,5-диметилимидазолин-2-имино)етан.

3.3.2. Рендгенско-структурна анализа $[(TL^{tBu})PdCl]ClO_4$ и $[(BL^{iPr})PdCl_2]$ комплекса.

Комплекс $[(TL^{tBu})PdCl]ClO_4$ синтетисан је реакцијом TL^{tBu} лиганда са $PdCl_2$ у воденој средини на рН 5 и таложен додатком засићеног раствора $NaClO_4$. Моноклиничан кристал $[(TL^{tBu})PdCl]ClO_4$ комплекса добијен је из ацетон/етанол раствора. Молекулска структура одређена је дифракцијом X-зрака. Добијена структура комплекса приказана је на Слици 3.15.

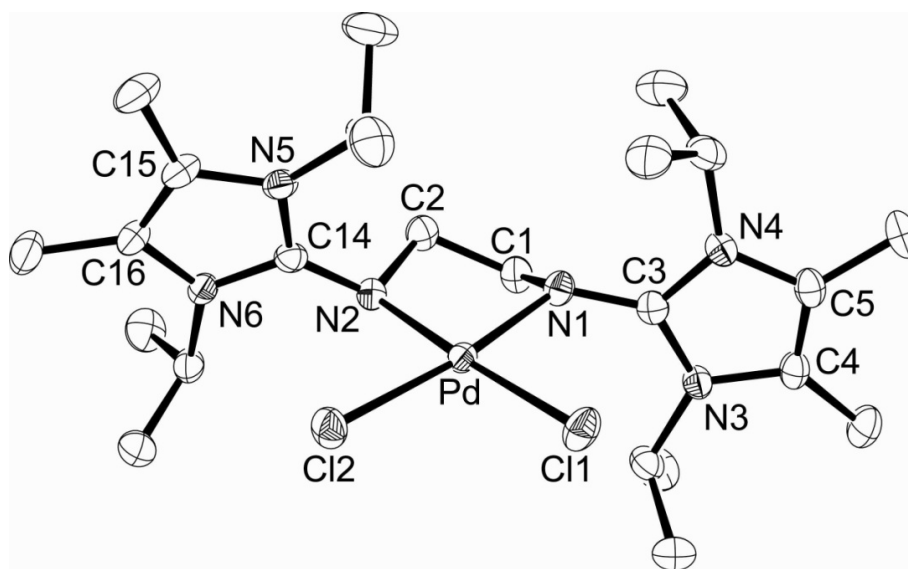


Слика 3.15. Структура $[(TL^{tBu})PdCl]ClO_4$ комплекса.

Јединична ћелија састоји се из $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ катјона и ClO_4^- анјона, при чему нема директне везе између метала и перхлората. У катјону TL^{tBu} лиганд координован је тридентатно за $Pd(II)$, док четврто координационо место заузима хлорид. Структура комплекса благо одступа од копланарности, тако да сума четири *cis* угла износи $360,6^\circ$. Углови веза $N-Pd-N$ ($80,90(10)^\circ$ и $81,05(10)^\circ$) значајно су мањи у односу на угао везе $N-Pd-Cl$ ($99,86(7)^\circ$ и $98,74(7)^\circ$). $Pd-N1$ веза износи $1,944(2) \text{ \AA}$, и краћа је у односу на везе друга два азотова атома и $Pd(II)$ -јона, које износе $2,034(3)$ и $2,038(3) \text{ \AA}$. Дужина везе $Pd-Cl$

износи 2,3258(8) Å. Сличан начин координовања уочен је код комплекса Cu(II) типа [(TL^{tBu})CuCl]⁺.¹⁵⁴ Имидазолов прстен је заузео перпендикуларну оријентацију у односу на раван која је дефинисана металом и везама које је метал остварио, на шта указују интерпланарни углови који износе 86,2° и 88,1°.

Реакцијом BL^{iPr} лиганда са [Pd(COD)Cl₂] у тетраhydroфурану добијен је [(BL^{iPr})PdCl₂] комплекса као наранџасто-црвени прах. ¹H NMR у THF-*d*₈ показује да је ротација имидазоловог прстена око N-C везе успорена већ на собној температури, на шта указују два дублета која потичу од дијастереотопских изопропил метил група. Црвени кристали погодни за анализу дифракцијом X-зрака. Добијени су из THF/н-хексан раствора, а молекулска структура [(BL^{iPr})PdCl₂] комплекса приказана је на Слици 3.16.



Слика 3.16. Структура [(BL^{iPr})PdCl₂] комплекса.

Диимински лиганд координован је бидентатно за Pd(II)-јона са углом везе N1-Pd-N2 од 81,84(8)°. Комплекс одступа од копланарности иако су лиганди око паладијумовог атома распоређени потпуно планарно, на шта указује сума углова која износи 360,0°. Добијене вредности за дужине Pd-N веза су 2,031(2) и 2,047(2) Å и сличне су вредностима добијеним код [(TL^{tBu})PdCl]ClO₄ комплекса. Изражена је пирамидализација азотових атома N1 и N2, што се уочава на основу суме углова који окружују поменуте атоме, а износе 347,5° и 341,2°. Имидазолов прстен оријентисан је перпендикуларно у односу на координациону сферу. Такође, уочен је интерпланарни угао између два прстена који

износи 18,2°. Сличне структурне карактеристике уочене су код Pd(II) комплекса који садржи лиганд 1,2-бис(1,3-диметилимидазолин-2-имино)етан.²⁰⁰

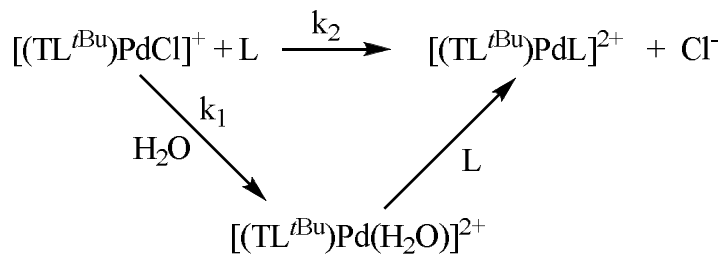
3.3.3. Кинетика супституционих реакција $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ комплексног јона са биолошки активним лигандима

Кинетика супституције хлоридног јона из $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ комплекса са лигандима 5'-GMP, L-мет и L-хис испитивана је у 0,1 М NaClO₄ у који је додат 10 mM NaCl на 298 К. За праћење супституционих реакција коришћен је stopped-flow уређај са променљивом температуром, при чему је праћена промена апсорбанце на одређеној таласној дужини у функцији времена. Све супституционе реакције изучаване су као реакције *псеудо*-првог реда, тако да је концентрација нуклеофила била најмање 10 пута већа. NaCl је додат у раствор хлоридо комплекса како би се спречила спонтана хидролиза. Структурне формуле проучаваног комплекса и лиганда дате су на Слици 3.17. Лиганди су одабрани на основу разлика у нуклеофилности, стерном ефекту и биолошкој активности.

Константа брзине *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , директно је пропорционална концентрацији нуклеофила, што се може видети из једначине (3.3.3.1.).

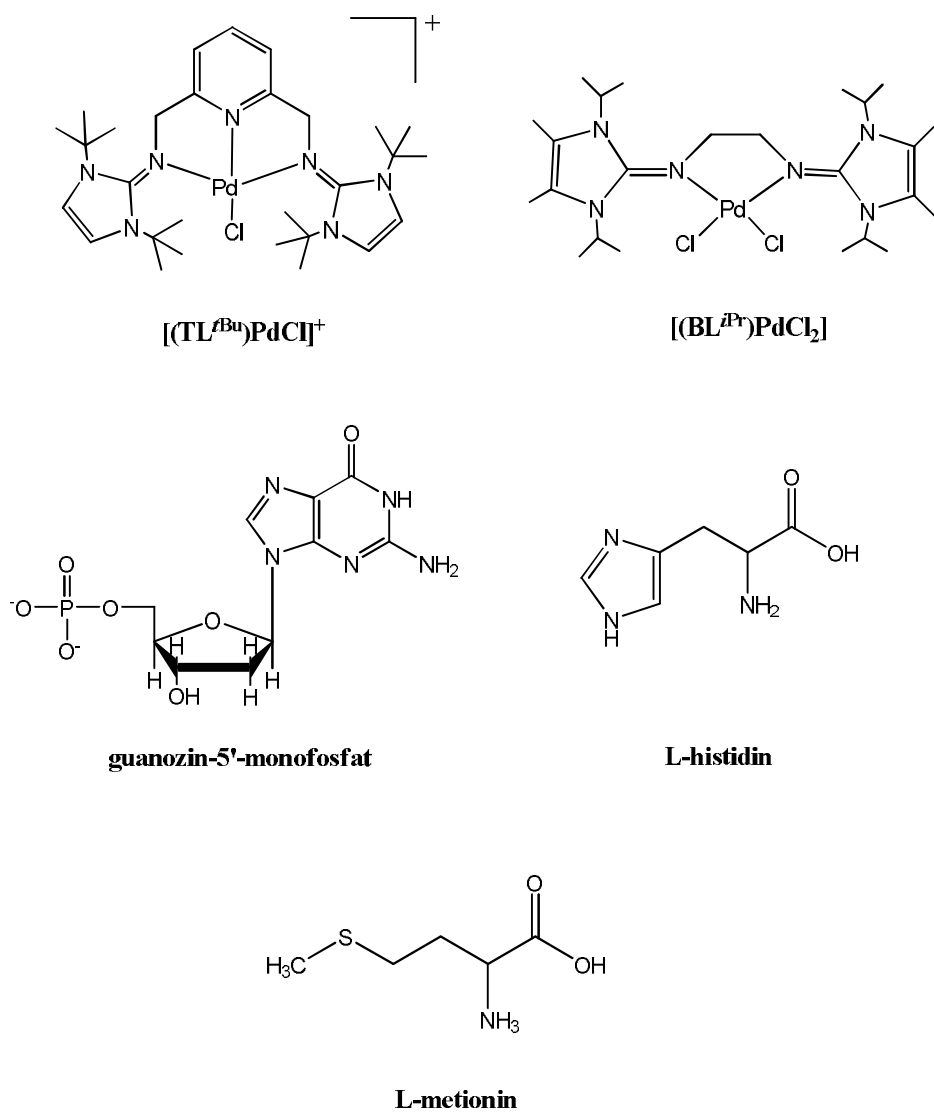
$$k_{obsd} = k_2[Nu] + k_1 \quad (3.3.3.1.)$$

Супституционе реакције $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ комплекса одвијају се по два кинетичка пута, што је карактеристично за већину квадратно-планарних комплекса.⁷ Пут директне нуклеофилне супституције на Шеми 3.2. окарактерисан је константом k_2 , док је солволитички пут окарактерисан константом k_1 . Повезаност константи брзине за оба пута са константом брзине *псеудо*-првог реда, k_{obsd} , дата је једначином (3.3.3.1):



L = 5'-GMP, L-Met and L-His

Шема 3.2.

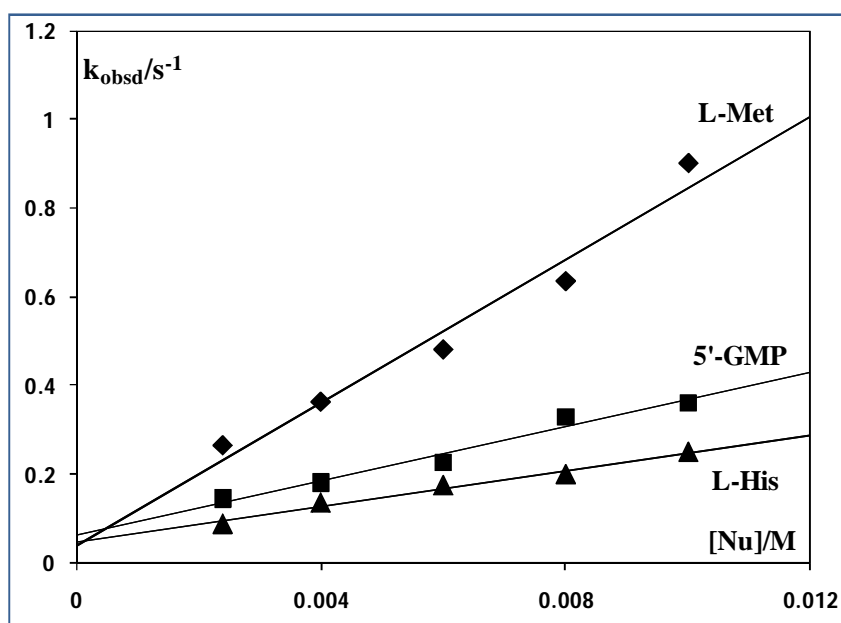


Слика 3.17. Структурне формуле испитиваних комплекса и лигананда.

Константа k_1 не зависи од концентрације нуклеофила, мала је и мало доприноси вредности k_{obsd} . Константа брзине другог реда k_2 , која представља константу брзине стварања производа-комплекса, добија се из нагиба праве зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила (L). Добијени експериментални резултати за процес супституције хлоридо јона из $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ комплекса представљени су у Табели 3.7. и на Слици 3.18.

Табела 3.7. Константа брзине реакције другог реда за процес супституције $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ комплекса са 5'-GMP, L-мет, L-хис у 0,1 М NaClO₄ и 10 mM NaCl.

	$k_2^{298}/M^{-1} s^{-1}$	k_1/s^{-1}
5'-GMP	$30,30 \pm 0,47$	$0,064 \pm 0,001$
L-мет	$80,76 \pm 1,55$	$0,037 \pm 0,001$
L-хис	$20,07 \pm 0,38$	$0,048 \pm 0,001$



Слика 3.18. Константа брзине реакције псеудо-првог реда у функцији од концентрације нуклеофила за супституционе реакције $[(TL^{tBu})PdCl]^+$ комплекса у 0,1 М NaClO₄ и 10 mM NaCl на 298 К.

На основу резултата приказаних у Табели 3.7. и на Слици 3.18. може се приметити да је редослед реактивности лиганда следећи: L-мет > 5'-GMP > L-хис. Највећа реактивност L-мет у односу на друга два коришћена лиганда очекивана је с обзиром да L-мет спада у групу сумпор-везивних нуклеофила и има велики афинитет према Pd(II) комплексима. Наиме, познато је да Pt(II) и Pd(II) поседују велики афинитет према сумпор-везивним нуклеофилима, што је и показано у многим ранијим истраживањима.^{139,201} L-мет

реагује 4 пута брже у односу на 5'-GMP и L-хис. 5'-GMP и L-хис имају готово идентичан ред реактивности (Табела 3.7.) са нешто мало већом реактивношћу 5'-GMP-а. Они су азот-донорски нуклеофили и према томе имају мањи афинитет за везивање са Pt(II) и Pd(II) комплексима.

На основу вредности констати брзине супституционих реакција комплексних јона $[\text{Pd}(\text{dien})\text{Cl}]^+$ и $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$ са 5'-GMP, може се приметити да је константа брзине у случају супституционих реакција $[\text{Pd}(\text{dien})\text{Cl}]^+$ око 100 пута већа него у случају $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$.²⁰² Мала реактивност испитиваног комплекса, $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$ последица је стерне заклоњености услед присуства две *терц*-бутил групе у комплексу.

3.3.4. Потенциометријска испитивања

Кисело-базне равнотеже $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ и $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ комплексних јона као и комплексирање у три компонентном системима: комплексни јон $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ или $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ / H^+ или OH^- лиганд (5'-GMP, L-мет или L-хис), карактерисани су фитовањем потенциометријских титрационих кривих за различите кисело-базне моделе. На почетку је било неопходно да се прво испита хидролиза комплексних јона под потпуно идентичним експерименталним условима, како би се након тога испитивало комплексирање са лигандима. Вредности константи дисоцијације лиганата узете су из литературе.^{62,203,204}

За потенциометријске титрације коришћена је стаклена електрода. Као јонска средина коришћен је 0,1 М NaClO_4 на 298,0 К. Како би се нашао модел који даје најбоље слагање са експерименталним подацима коришћени су следећи модели комплекса: мономери, (1, 1, 0); (1, 2, 0); (1, 1, 1); (1, 1, 2); (1, 2, 1); (1, 2, 2); (1,1,-1), (1,1,-2) и полимери, (2, 1, 0); (2, 2, 2); (2, 2, 1); (2,1,-1); (2,1,-1). Они су укључени у компјутерски програм Hyperquad2006. Током рачуна аналитички параметри (M_0 , N_0 and L_0) били су константни. Коришћене су различите стратегије: 1) фиксирани су одабране константе како би се поједноставила оптимизација процедуре 2) редукован број експериментално добијених тачака укључених у рачун 3) фитовани су експериментални подаци. Свака титрација третирана је појединачно. Сваки комплекс пронађен током рачуна укључиван је као полазни модел за даљи рачун. Најбољи модел одабран је на основу следећих критеријума:

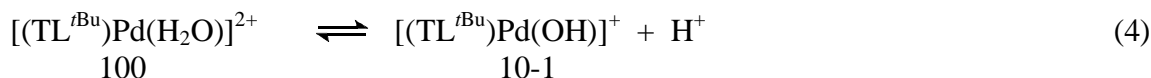
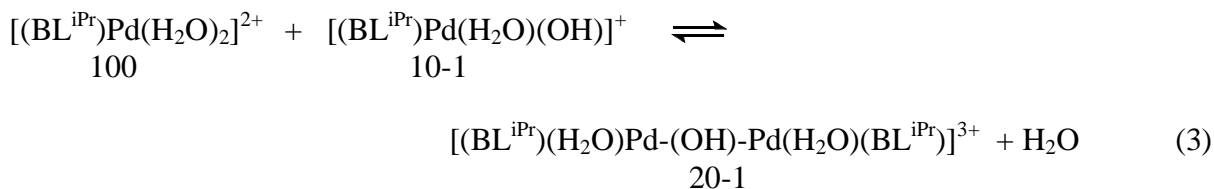
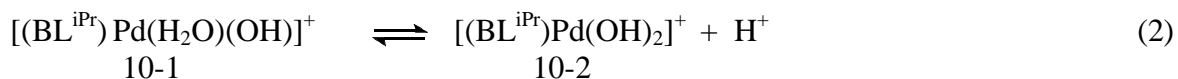
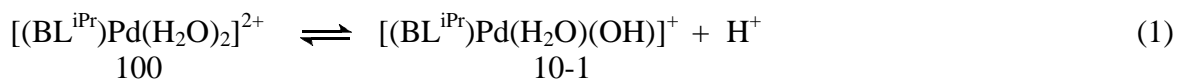
1) најмања вредност U, 2) стандардна девијација за константе стабилности мања од 0,15 log јединица 3) стандардна девијација резидуала потенцијала дефинисана је као:

$$s = \{ewet / (N - k)\}^{1/2}$$

где је e вектор резидуала потенцијала ($E_{\text{obs}} - E_{\text{calc}}$), w је „тежински матрикс”, N је број посматрања и k је број променљивих параметара, при чему је стандардна девијација у читавању запремине била 0,0005 cm³ а у читавању потенцијала 0,1 mV. χ^2 (Пирсоно тест) нам указује колико је добро фитовање потенциометријске титрационе криве, са 95% поузданости са шест степена слободe, а износи мање од 12,6. Изабрани сет комплекса, као и одговарајуће константе стабилности приказани су у Табели 3.8. Ту су такође дати и статистички параметри који дефинишу квалитет фита.

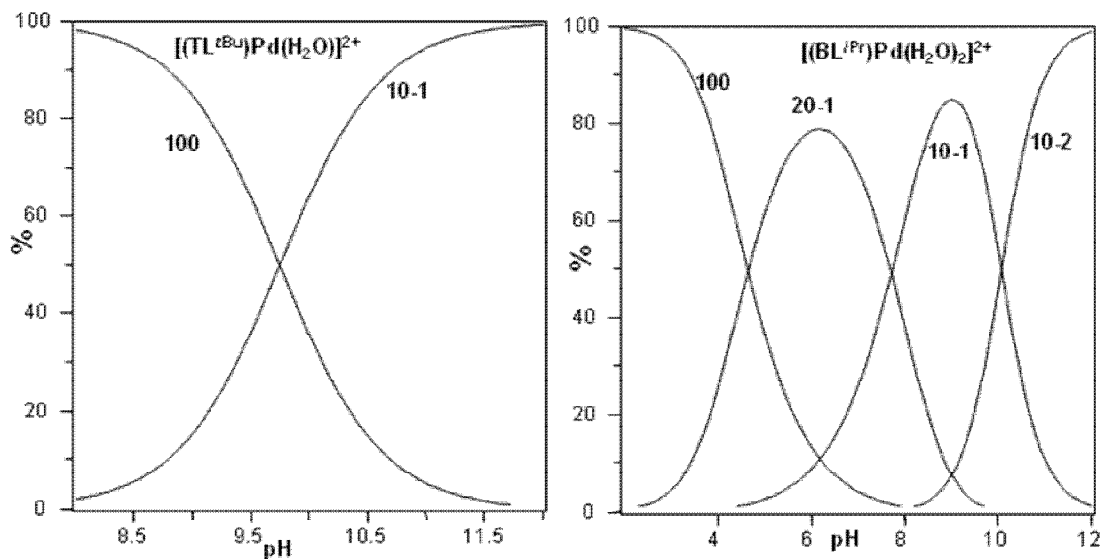
3.3.4.1. Кисело-базна равнотежа $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ и $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона.

Константе хидролизе $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ комплекса одређене су титрацијом 1,0 и 2,0 mM раствора комплекса са NaOH. Потенциометријски подаци фитовани су коришћењем различитих кисело-базних модела. Показало се да је најбољи модел, онај који узима у обзир следеће комплексе: (1,0,-1), (1,0,-2) и (2,0,-1), што је приказано једначинама 1- 4.



Добијене pK_a вредности дате су Табели 3.8. pK_a вредности за $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплекс износи 9,74, а за комплекс $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ pK_{a1} и pK_{a2} износе 6,18 и 10,07. Константа равнотеже димеризације $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ комплекса износи $\log K = 4,24$ ($=\log \beta_{20-1} - \log \beta_{10-1}$). За сличан комплекс, $[Pd(bprma)H_2O]^{2+}$, pK_a износи 6,67,¹³⁹ док за $[Pd(dien)(H_2O)]^{2+}$ износи 7,16.²⁰⁵ За $[Pd(dien)(H_2O)]^{2+}$ комплекс добијена је и вредност за pK_a од 7,74.²⁰⁶ Добијене различите pK_a вредности последица су различитих експерименталних услова, пре свега температуре и јонске силе.^{205,206} Испитивани $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплексни јон у својој структури садржи пиридин, али такође садржи и стерно заклоњене две имидазоли-2-имино јединице са јаком електрон-донорском способношћу. На основу тога, може се рећи да добијена вредност за pK_a је последица електронских и структурних карактеристика овог једињења. Добијена различита вредност за pK_{a1} за комплексни јон $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ у односу на вредности за pK_{a1} за комплексни јон $[Pd(en)(H_2O)_2]^{2+}$ ($pK_{a1} = 5.15$) и $[Pd(AEP)(H_2O)_2]^{2+}$ ($pK_{a1} = 4,59$),^{207,208} је последица јаке електрон-донорске способности имидазолин-2-имина.

Дистрибуциони дијаграм за процес хидролизе комплексних јона $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ и $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ приказан је на Слици 3.19. Концентрација монохидрокси комплекса (1,0,-1) који потиче од комплекса $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$, расте са порастом рН. Код комплексног јона $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ у рН области између 2 и 10 постоје два комплекса, μ -хидрокси (2,0,-1) и монохидрокси (1,0,-1). Концентрација μ -хидрокси, (2,0,-1), комплекса расте до рН 6 и претпоставља се да настаје димеризацијом $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ и $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)(OH)]^+$ комплексних јона, као што је приказано једначином 4.



Слика 3.19. Дистрибуција различитих комплексних честица у функцији од pH за $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ (2 mM) и $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ (2 mM) на 298 K.

Табела 3.8. Константе стабилности комплекса насталих у реакцији између $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ и $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ са 5'-GMP, L-хис и L-мет у 0,1 M NaClO₄ на 298 K.

		$\log \beta_{p,q,r} \pm \sigma$						
Компл. (p,q,r)		$[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$			$[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$			
		5'-GMP	L-хис	L-мет	5'-GMP	L-хис	L-мет	
(1,0,-1)	- 6,18(5)			-9,74(2)				
(1,0,-2)	- 16,25(7)							
(2,0,-1)	- 1,94(5)							
(1,1,0)		8,61(6)	7,23(5)	6,18(7)	6,35(7)	4,83(7)	4,33(2)	
(1,1,1)		15,94(9)	14,12(7)	13,89(8)	14,61(5)			
(1,1,2)		20,54(9)	18,94(9)	19,85(9)			14,23(9)	
Статист.	$\chi^2 = 13,33$ $s = 1,03$	$\chi^2 = 12,70$ $s = 1,23$	$\chi^2 = 12,65$ $s = 2,24$	$\chi^2 = 12,44$ $s = 1,70$	$\chi^2 = 13,59$ $s = 1,63$	$\chi^2 = 11,04$ $s = 1,24$	$\chi^2 = 12,71$ $s = 1,96$	$\chi^2 = 12,84$ $s = 2,07$

Табела 3.9. Добијене pK_a вредности за изучаване комплексне јоне $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ и $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$.

	pK_{a1}	pK_{a2}
$[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$	9,74	/
$[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$	6,18	10,07

3.3.4.2. Комплексирање $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ са 5'-GMP или L-мет или L-хис.

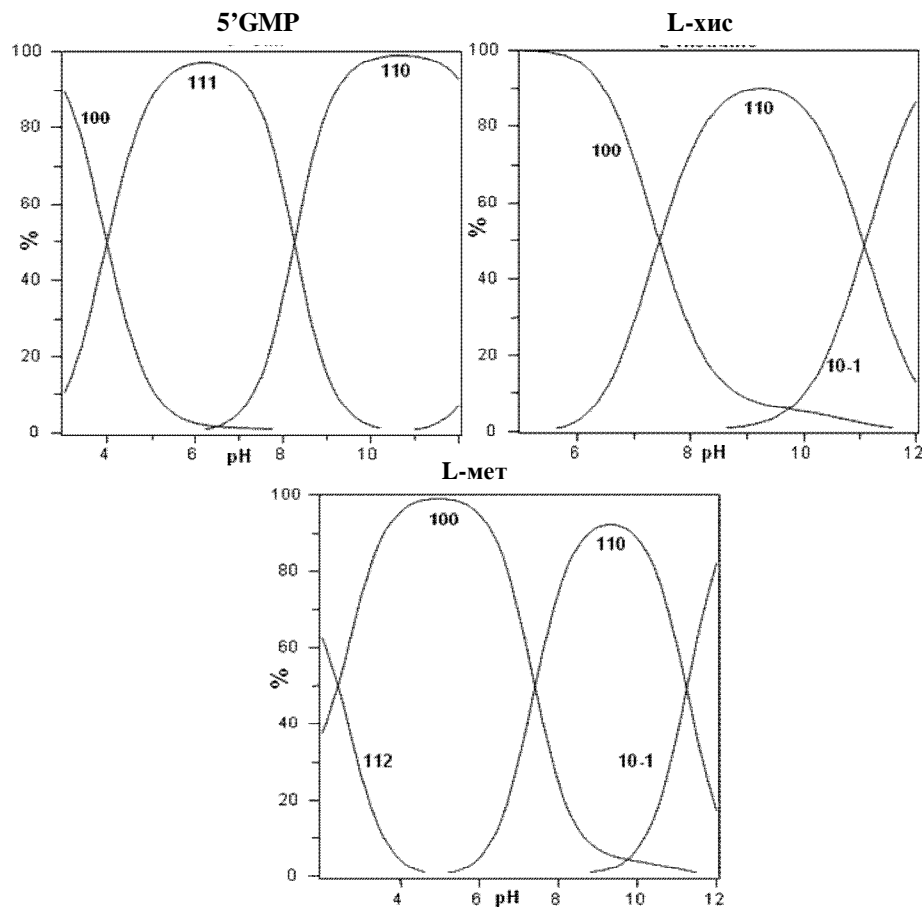
Константе стабилности комплекса одређиване су титрацијом смеше $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ (1,0 mM) комплексног јона са лигандима (5'-GMP, L-мет или L-хис) у односу 1:1 или 1:2 (метал : лиганд). Равнотеже за комплексе опште формуле $M_pL_qH_r$ ($M = [(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$, $L = 5'-GMP$, L-мет или L-хис) одређиване су коришћењем програма HYPERQUAD2006.

Добијене вредности константи стабилности за испитивани $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплексни јон дате су у Табели 3.8. Резултати за $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ -L систем указују на то да је дошло до формирања 1:1 комплекса, као и протонованих и непротонованих облика. Дистрибуциони дијаграм формирања комплексних честица у реакцији између $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ и 5'-GMP, L-хис и L-мет дати су на Слици 3.20.

Познато је да се 5'-GMP координује за јоне метала преко N_1 и N_7 атома, али такође да је координовање преко N_7 атома у неутралној или благо киселој средини фаворизовано.^{206,209} L-хис је тридентатни лиганд који има амино групу, имидазол и карбоксилну групу као могућа места за координовање. L-хис се координује најчешће као глицин или као хистидин. У биолошким системима постоји велики број метало-протеина, у којима су јони метала везани за имидазол из хистидина преко N_1 или N_3 .^{183,184}

На Слици 3.20. може се уочити да комплексирање са 5'-GMP почиње готово на самом почетку титрације када настаје комплекс (1,1,1), који максимум концентрације достиже на рН 6. Комплекс (1,1,0) почиње да се формира на рН 6 и максимум концентрације достиже на рН око 11. 5'-GMP формира у раствору протоновани комплекс (1,1,1), при чему је pK_a вредност насталог протонованог комплекса 8,25 ($\log\beta_{111} - \log\beta_{110}$).

Код реакција комплексирања са L-хис, комплекс (1,1,0) настаје на рН 5 и максимум достиже на рН 9,5. Хидрокси комплекс присутан је на рН већем од 9.



Слика 3.20. Дистрибуција различитих комплексних честица у функцији од рН за $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+} - L, 1 : 2$ систем: $L = 5'-GMP, L-хис$ и $L-мет$ на 298 К. $C_{[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}} = 1,0 \text{ mM}$ $C_L = 2,0 \text{ mM}$.

L-мет формира комплекс (1,1,0) почевши од рН 5, да би максимум концентрације достигао на рН 9. Хидрокси комплекс присутан је на рН већем од 9. Комплекс (1,1,2) присутан је од самог почетка титрације, са максимумом концентрације на почетку титрације, да би након тога концентрација комплекса у раствору опада до рН 5.

Упоредивањем добијених вредности $\log\beta_{1,1,0}$ (Табела 3.8.) за реакције комплексирања са 5'-GMP, L-хис и L-мет види се да најстабилнији комплекс настаје у реакцији са 5'-GMP, а затим са L-хис и L-мет. Pd(II) и Pt(II) имају изражен афинитет за

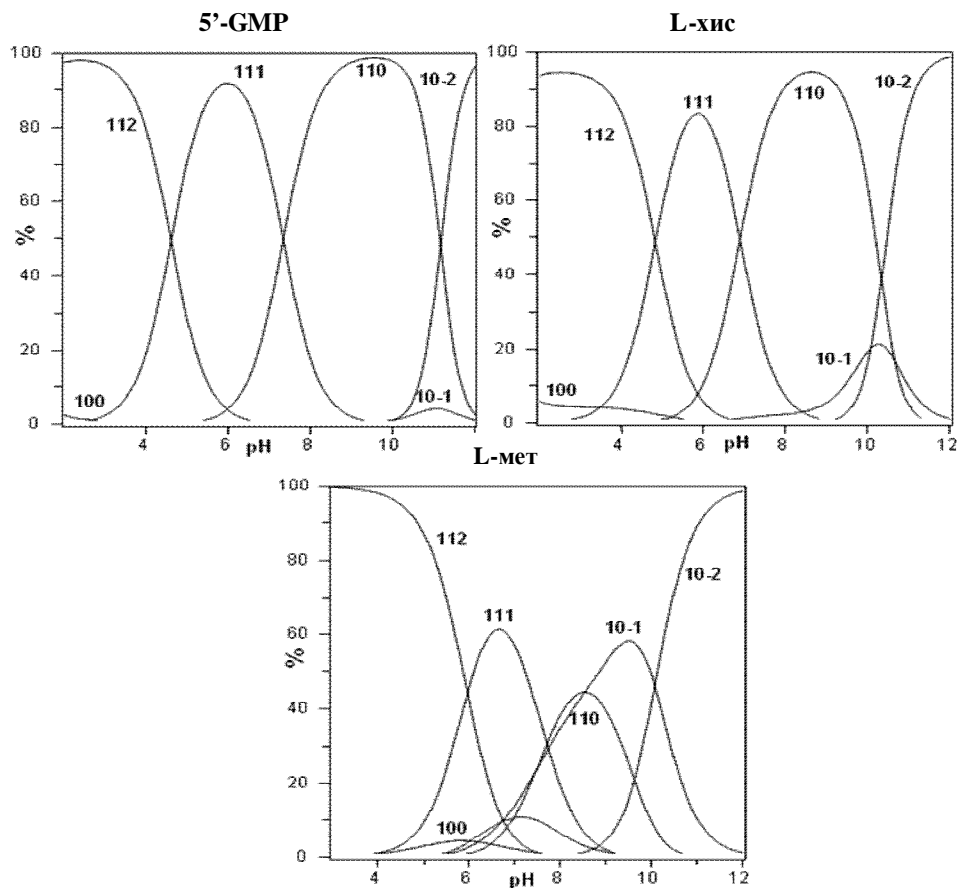
везивање са сумпор-донорима и азот-донорима.⁴⁸ Устаљено је мишљење да се прво формира веза између Pt(II) јона и сумпор-донорског нуклеофила, а да затим долази до раскидања поменуте везе и стварања термодинамички стабилнијег производа у коме је остварена веза Pt(II)-ДНК.¹⁸⁷ ДФТ израчунавања показала су колико је Pt-N₇(Gua) производ стабилнији у односу на Pt-S(тиоетар) производ. (B3LYP/LANL2DZp) израчунавања за комплексе *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(en)Cl₂] и [Pt(dach)Cl₂] показало се да је за први корак супституционе реакције у гасној фази утврђено је да је Pt-N₇(Gua) стабилнији у односу на Pt-S(тиоетар) за 31 до 33 kcal/mol, а за други корак супституционе реакције стабилнији за 32 до 34 kcal/mol.²¹⁰ Израчунавања заиста потврђују експериментима примећену супституцију Pt-S(тиоетар) производа са N₇(5'-GMP).²¹⁰

3.3.4.3. Комплексирање [(BL^{iPr})Pd(H₂O)₂]²⁺ са 5'-GMP или L-мет или L-хис.

Константе стабилности комплекса одређиване су титрацијом смеше [(BL^{iPr})Pd(H₂O)₂]²⁺ (1,0 mM) комплексног јона са лигандима (5'-GMP или L-мет или L-хис) у односу 1:1 или 1:2 (метал : лиганд). Равнотеже за комплексе опште формуле M_pL_qH_r (M = [(BL^{iPr})Pd(H₂O)₂]²⁺, L = 5'-GMP, L-мет или L-хис) одређиване су коришћењем програма HYPERQUAD2006.

За систем [(BL^{iPr})Pd(H₂O)₂]²⁺-L експериментални подаци добијени потенциометријском титрацијом фитовани су узимајући у обзир различите моделе. Модели који су дали најбоље слагање дати су у Табели 3.8. Најприхватљивији модели су комплекси са следећим коефицијентима: (1,1,2), (1,1,1) и (1,1,0). Дистрибуциони дијаграм формирања комплексних честица у реакцији између [(BL^{iPr})Pd(H₂O)₂]²⁺ и 5'-GMP, L-хис и L-мет дат је на Слици 3.21.

Са дистрибуционог дијаграма формирања комплекса између [(BL^{iPr})Pd(H₂O)₂]²⁺ и 5'-GMP, види се да су у киселој средини доминантне врсте су (1,1,2) и (1,1,1) са протонаним молекулом 5'-GMP. Максималну концентрацију (1,1,1) комплекс достиже око рН 6. На рН вредности изнад 6, почиње да се формира комплекс (1,1,0), да би максимум концентрације достигао на рН 9.5. Хидроксо комплекси (1,0,-1) и (1,0,-2) присутни су у раствору на рН изнад 10.



Слика 3.21. Дистрибуција различитих комплексних честица у функцији од рН за $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ - L, систем: L = 5'-GMP или L-мет или L-хис на 298 K. $C_{[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}} = 1,0 \text{ mM}$ $C_L = 2,0 \text{ mM}$.

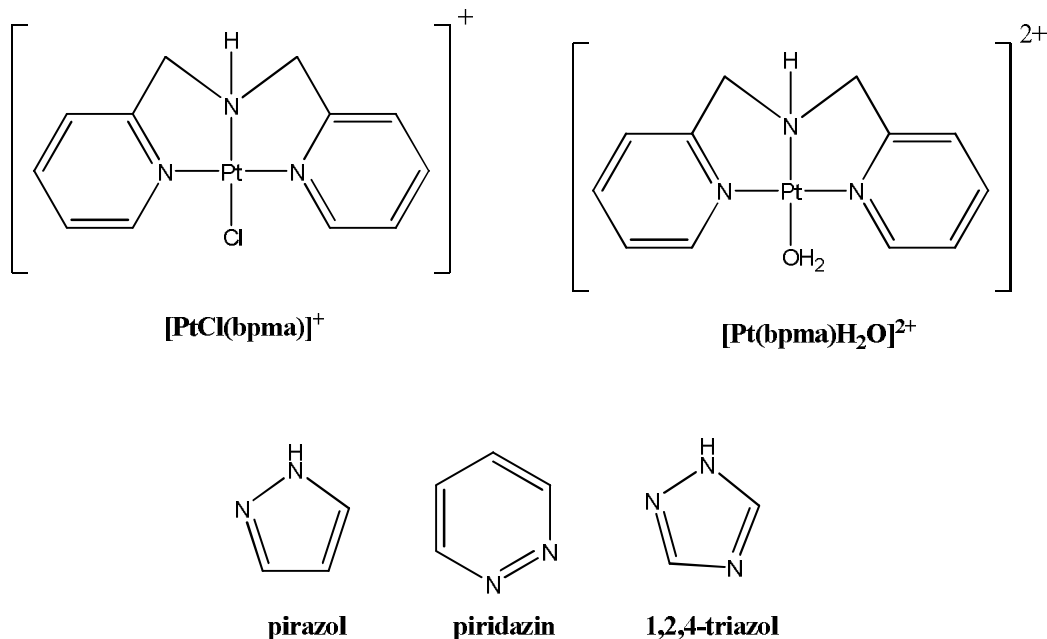
L-хис, такође формира два комплекса у киселој средини и то (1,1,2) и (1,1,1). Формирање комплекса са депротониваним лигандом (1,1,0) почиње од рН 5, да би од рН 7 у раствору почели да настају хидроксо комплекси (1,0,-1) и (1,0,-2). L-мет у киселој средини такође формира два комплекса (1,1,2) и (1,1,1). Од рН 6 присутан је комплекс (1,1,0) а максимум концентрације доштиже на рН 8.5. Хидроксо комплекси појављују се на рН изнад 6.

Комплекс који настаје реакцијом са 5'-GMP је стабилнији у односу на комплексе који настају са L-хис и L-мет ($\log\beta_{p,q,r}$, Табела 3.8.). Упоредивши вредности $\log\beta_{1,1,0}$ (Табела 3.8.) може се уочити су комплекси који настају са $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ стабилнији у

односу на комплексе који настају са $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)]^{2+}$ у случају сва три испитивана лиганда (5'-GMP, L-мет или L-хис).

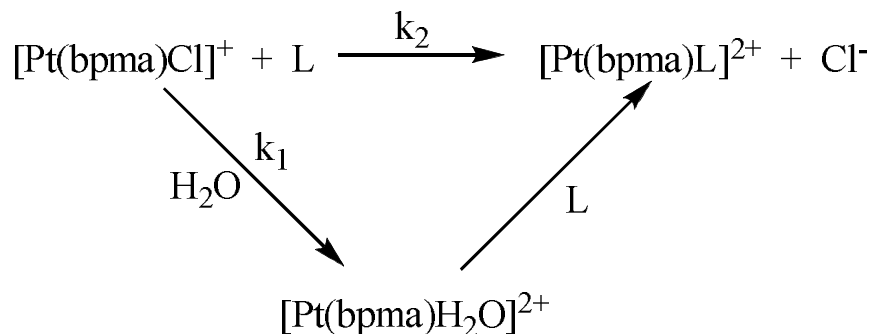
3.4. Резултати добијени испитивањем кинетике и механизма супституционих реакција $[PtCl(bpma)]^+$ и $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином

Супституционе реакције $[PtCl(bpma)]^+$ и $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином проучаване су спектрофотометријски у 0,1 М $NaClO_4$ на три температуре (288, 298 и 308 К). Реакције аква комплексног јона, $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$, су изучаване на $pH = 2,5$. Ова pH вредност је подешена додатком 0,1 М $HClO_4$, у раствор хлоридо комплекса. У раствор $[PtCl(bpma)]^+$ комплексног јона додат је 10 mM $NaCl$, како би се спречила хидролиза комплекса. На Слици 3.22. приказане су структурне формуле проучаваних комплекса и лиганата.



Слика 3.22. Структурне формуле комплекса $[PtCl(bpma)]^+$ и $[Pt(bpma)H_2O]^{2+}$ и лиганата 1,2,4-триазола, пиридазина и пиразола.

Шемом 3.3. приказан је процес супституције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ комплекса са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином.



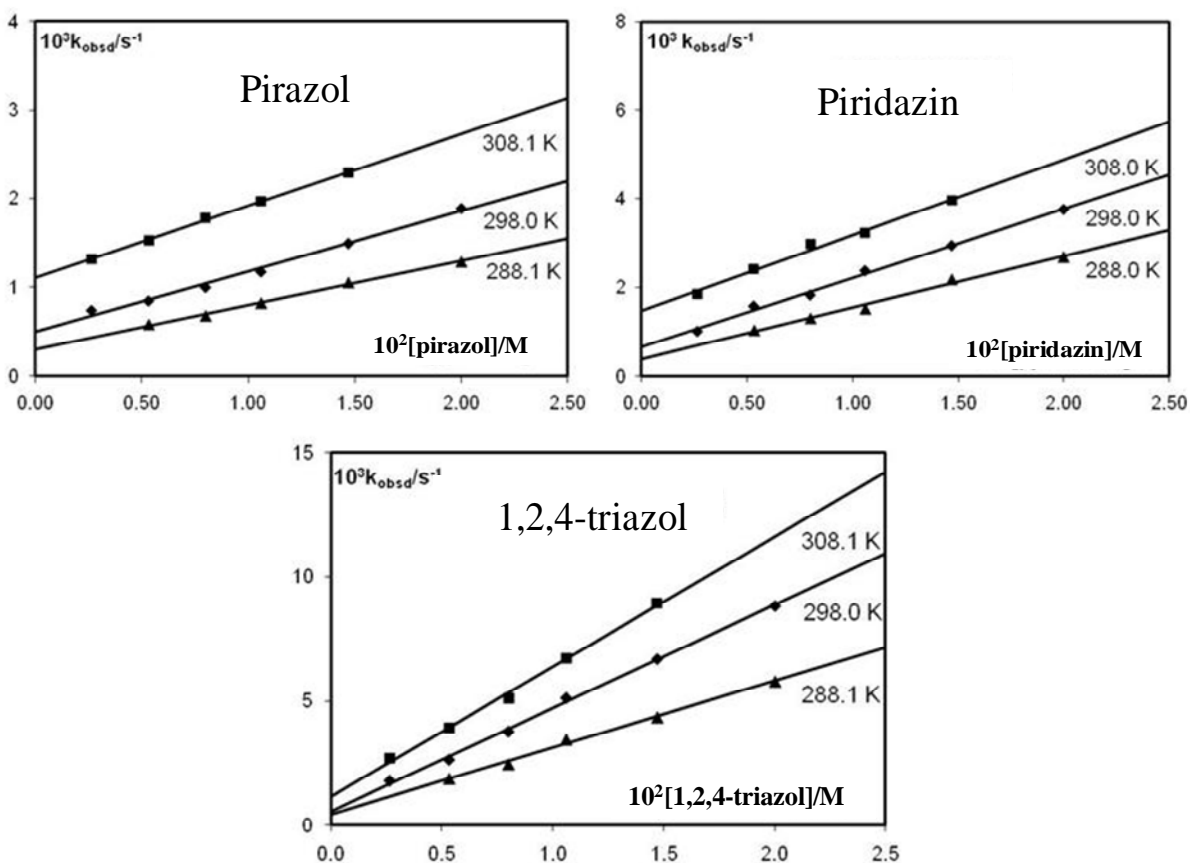
Шема 3.3. $L = 1,2,4$ -триазол, пиразол и пиридазин

На основу Шеме 3.3. може се видети да се процес супституције одвија по два кинетичка пута, што је карактеристично за квадратно-планарне комплексе.⁷ Сваки кинетички пут је окарактерисан константама брзине, k_2 која представља константу брзине директне реакције и k_1 која представља константу брзине реакције која се одиграва по солволитичком путу.

Константа брзине *псеудо*-првог реда повезана је са константама k_2 и k_1 следећом једначином:

$$k_{\text{obsd}} = k_1 + k_2 [\text{L}] \quad (3.4.1)$$

На Слици 3.23. приказани су експериментално добијени резултати зависности константе k_{obsd} од концентрације нуклеофила за реакције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ са лигандима 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином на три температуре.



Слика 3.23. Зависност константе брзине реакције псеудо-првог реда, k_{obsd} од концентрације лиганда за реакцију супституције $[PtCl(bvta)]^+$ са лигандима 1,2,4-триазолом, пиридазином и пиразолом у 0,1 M $NaClO_4$ и 10 mM $NaCl$.

За све проучаване супституционе реакције зависност константе k_{obsd} од концентрације нуклеофила је линеарна на све три температуре, Слика 3.23. Константа брзине другог реда, k_2 , која карактерише брзину настајања производа, добија се из нагиба праве зависности константе k_{obsd} од концентрације нуклеофила. Праћењем реакција на три температуре омогућило је одређивање активационих параметара ΔH^\ddagger и ΔS^\ddagger . Добијене вредности константи брзине, као и активационих параметара за проучавани процес супституције, дате су Табели 3.10.

Табела 3.10. Константе брзине и активациони параметри за реакције супституције $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином у 0,1 М NaClO_4 .

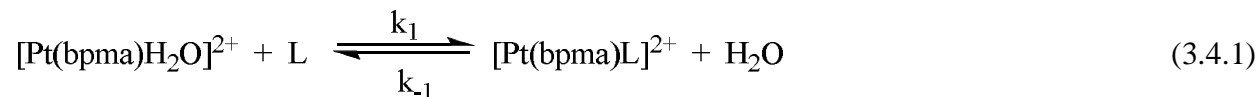
$[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$						
	λ nm	T K	k_2 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	$10^3 k_1$ s^{-1}	ΔH^\ddagger kJmol^{-1}	ΔS^\ddagger $\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$
пиразол	268	288,1	$0,05 \pm 0,002$	$0,29 \pm 0,02$	15 ± 2	-217 ± 7
		298,0	$0,07 \pm 0,003$	$0,50 \pm 0,04$		
		308,1	$0,08 \pm 0,002$	$1,10 \pm 0,02$		
пиридазин	267	288,0	$0,11 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,07$	12 ± 3	-221 ± 13
		298,0	$0,15 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,06$		
		308,0	$0,17 \pm 0,01$	$1,47 \pm 0,09$		
1,2,4-триазол	253	288,1	$0,27 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01$	22 ± 4	-179 ± 14
		298,0	$0,42 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,01$		
		308,1	$0,52 \pm 0,01$	$1,15 \pm 0,01$		

$[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$							
	λ nm	T K	k_1 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	$10^2 k_{-1}$ s^{-1}	ΔH^\ddagger kJmol^{-1}	ΔS^\ddagger $\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$	K_1
пиразол	330	288,0	$0,59 \pm 0,06$	$0,72 \pm 0,08$	10 ± 1	-212 ± 4	62,72
		298,1	$0,69 \pm 0,03$	$1,10 \pm 0,04$			
		308,0	$0,84 \pm 0,03$	$1,59 \pm 0,02$			
пиридазин	431	288,0	$0,61 \pm 0,03$	$0,01 \pm 0,003$	41 ± 8	-129 ± 26	368,18
		298,0	$0,81 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,02$			
		308,1	$0,96 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02$			
1,2,4-триазол	360	288,1	$1,31 \pm 0,04$	$0,17 \pm 0,06$	29 ± 3	-142 ± 11	850
		298,0	$2,21 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,04$			
		308,1	$3,07 \pm 0,10$	$0,42 \pm 0,10$			

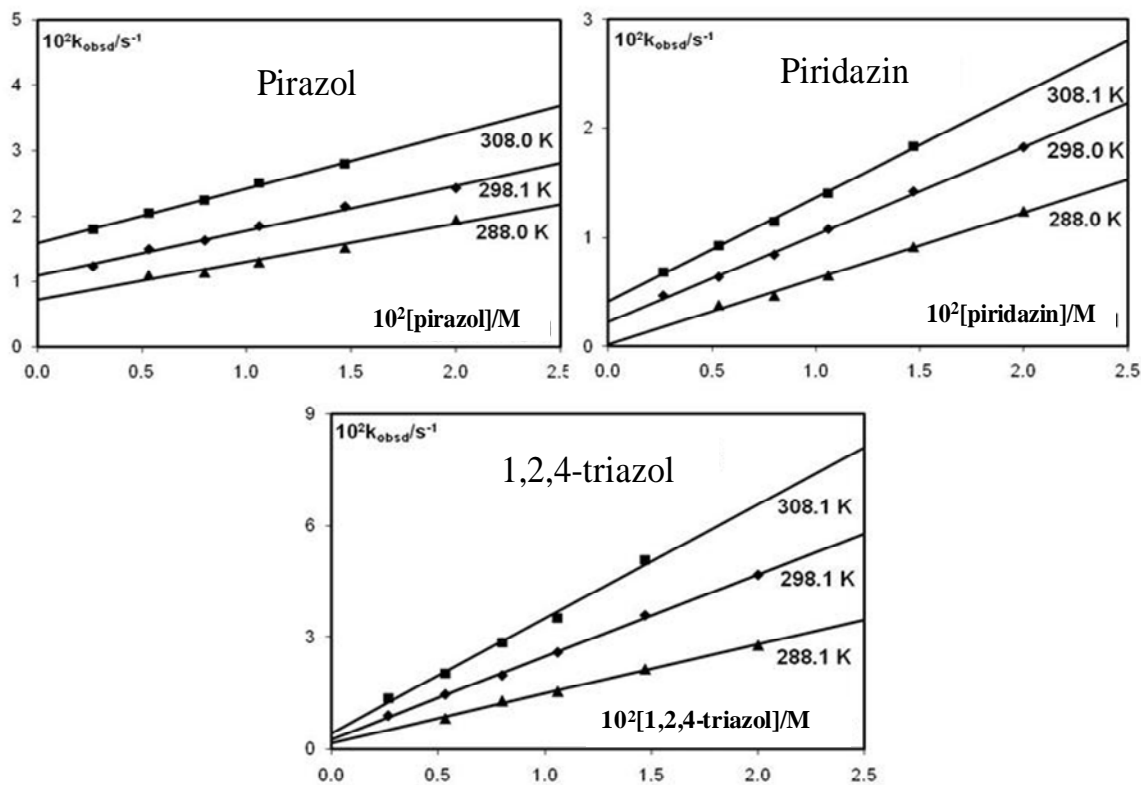
На основу вредности приказаних у Табели 3.10. може се видети да су коришћени лиганди добри улазни лиганди у процесу супституције Pt(II). Највећу реактивност од проучаваних лиганада показује 1,2,4-триазол, затим пиридазин па пиразол. Добијени ред реактивности је у складу са киселошћу и структуром проучаваних лиганада,²¹¹ pKa

вредост за 1,2,4-триазол износи 2,30, за пиридазин 2,33 и за пиразол 2,52.¹⁸¹ Такође 1,2,4-триазол је петочлани прстен, док су пиридазин и пиразол шесточлани прстенови.

Супституционе реакције аква комплексних јона $[Pt(bpma)(H_2O)]^{2+}$ са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином одигравају се према датој једначини:



у којој k_1 представља константу брзине директне реакције, док k_{-1} представља константу брзине повратне реакције. Константа брзине реакције другог реда k_1 , одређује се из нагиба праве зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила. Експериментално добијене вредности зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила представљене су на Слици 3.24.



Слика 3.24. Зависност константе брзине реакције псеудо-првог реда, k_{obsd} од концентрације лиганда за реакцију супституције $[Pt(bpma)H_2O]^{2+}$ са лигандима 1,2,4- триазолом, пиридазином, пиразолом на $pH=2,5$ у $0,1 M NaClO_4$.

Повезаност константе брзине реакције другог реда k_1 са константом *псеудо*-првог реда k_{obsd} дата је једначином (3.4.2):

$$k_{\text{obs}} = k_{-1} + k_1 [L] \quad (3.4.2)$$

Добијене вредности константи брзине, као и активационих параметара за супституционе реакције $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином, дате су у Табели 3.10.

Ред реактивности коришћених лиганата при супституционим реакцијама $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона исти је као у случају $[\text{PtCl}(\text{bprma})]^+$ комплексног јона. Коришћени азоли и диазини су киселине, па је самим тим њихова нуклеофилност повезана са способношћу да дају протон. Реакције $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексног јона изучаване су на рН 2,5. На овој рН вредности сва три лиганда су депротонувана, што их чини добрим улазним лигандима. Супституционе реакције $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона нису могле да се проучавају на рН вредности нижој од 2,5, јер би се у том случају и полазни $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексни јон понашао као киселина.²⁰⁵ Примећено је добро слагање добијених резултата за супституционе реакције $[\text{PtCl}(\text{bprma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона са подацима из литературе за сличне комплексе.^{140,182} Молекул воде координован за Pt(II) и Pd(II) јоне је лабилан лиганд и лако подложен супституцији јачим нуклеофилом,¹² што је и уочљиво на основу података датих у Табели 3.9. $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексни јон реагује брже у односу на изучавани хлоридо комплекс.

Реактивност комплекса који садрже инертни трудентатини NNN-донорски лиганд са пиридинским прстеном у великој мери зависи од броја и дистрибуције пиридинских прстенова.⁷² $[\text{PtCl}(\text{bprma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bprma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ садрже два пиридинска прстена у *cis* положају у односу на одлазећу групу. Насупрот овим комплексима $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ комплексног јона, као и његов аква аналог, не садрже пиридински прстен и реагују знатно спорије у односу на проучавани *bprma* комплекс, Табела 3.11.

Табела 3.11. Константе брзине за супституционе реакције *bpma* и *dien* комплекса у 0,1 М NaClO₄.

	[Pt(dien)H ₂ O] ^{2+,a}	[PtCl(dien)] ^{+,a}
	10 ² k ₁ /M ⁻¹ s ⁻¹ (298 K)	10 ² /M ⁻¹ s ⁻¹ k ₂ (298 K)
1,2,4-триазол	21,80 ± 0,5	7,12 ± 0,03
пиридазин	10,30 ± 0,11	1,29 ± 0,07
пиразол	3,88 ± 0,02	1,29 ± 0,07
	[Pt(bpma)H ₂ O] ²⁺	[PtCl(bpma)] ⁺
	k ₁ /M ⁻¹ s ⁻¹ (298 K)	k ₂ /M ⁻¹ s ⁻¹ (298 K)
1,2,4-триазол	2,21 ± 0,04	0,42 ± 0,01
пиридазин	0,80 ± 0,02	0,15 ± 0,01
пиразол	0,69 ± 0,03	0,07 ± 0,002

^aРеф. 182

Присуство пиридинског прстена у комплексу Pt(II) и Pd(II) јона повећава електрофилност јона метала, што настаје као последица позитивног индуктивног ефекта пиридина, тј. пиридин има способност преузимања дела наелектрисања са метала, чинећи јон метала још позитивнијим. Комплекси са *bpma* лигандом показују велику реактивност и због π-повратне донације електронске густине са улазног лиганда, што доводи до стабилизације прелазног стања квадратне-бипирамиде у односу на основно стање. Реактивност комплекса Pt(II) са инертним тридентатним NNN-донорским лигандом расте следећим редом: aaa < ара < аар < пар < арр < ррр (а представља аминску групу, р представља пиридин).⁷² Проучавани *bpma* комплекси показали су око 10 пута већу реактивност у поређењу са *dien* комплексима, што се добро слаже са подацима из литературе.⁷²

На основу раније публикованих резултата за супституционе реакције Pd(II) комплекса¹⁴⁰, примећује се да је ред реактивности лиганда исти као и код Pt(II), као и да је *bpma* комплекс такође реактивнији од *dien* комплекса. Pd(II) комплексна једињења показују велику сличност у хемијском понашању са Pt(II) комплексним једињењима, па се због тога комплексна једињења Pd(II) често користе као модели за проучавање интеракција са различитим нуклеофилима јер реагују 10^3 - 10^5 пута брже у односу на Pt(II) комплексе.^{70,127} Упоредјујући особине јона метала, видљиво је да Pt(II) јон спада у групу мекших киселина у односу на Pd(II). Самим тим Pt(II)-Cl веза у $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ стабилнија је у односу на исту везу у $[\text{PdCl}(\text{bpma})]^+$. Сходно томе и супституционе реакције Pt(II) комплекса су 10^3 пута спорије. Однос реактивности $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ и $[\text{Pd}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ је 10^4 .

Добијене вредности активационих параметара ΔH^\ddagger и ΔS^\ddagger приказани су у Табели 3.10. Значајно негативне вредности ΔS^\ddagger указују на асоцијативни механизам. Добијени резултати добро се слажу са подацима из литературе.^{140,182}

Закључак

На основу добијених резултата у оквиру ове докторске дисертације могу се извести следећи закључци:

Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[PtCl(bpm)]^+$ и $[PtCl(gly-met-S,N,N)]$ и њихових аква аналога са L-мет, GSH и 5'-GMP указују да:

- изучавани сумпор-донорски лиганди (L-мет и GSH) имају велики афинитет за комплексе $[PtCl(bpm)]^+$ и $[PtCl(gly-met-S,N,N)]$ и њихове аква аналоге.
- L-мет је бољи нуклеофил у односу на GSH.
- Комплексни јон $[PtCl(bpm)]^+$ је реактивнији у односу на $[PtCl(gly-met-S,N,N)]$ комплекс. Такође, аква комплекси су реактивнији у односу на хлоридо комплексе.
- Активациони параметри за све посматране реакције указују на асоцијативни механизам супституције.
- ДФТ израчунавања су показала да је гуанин координација за L_3Pt (L_3 : *terpy*, *bpm*, *dien*, *gly-met-N,N,S*) фаворизованија у односу на координацију тиеоетра у свим случајевима. Овим је потврђено да је трансформација из Pt-S (тиоетар) у Pt-N7 координацију уобичајен процес.

Резултати добијени испитивањем реакција бифункционалних комплекса Pt(II) са 1,2,4-триазолом, L-хис и 5'-GMP указују да:

- Испитивани бифункционални комплекси Pt(II) имају велики афинитет према изучаваним N-донорским лигандима (1,2,4-триазол, L-хис и 5'-GMP).
- Најреактивнији од испитиваних лиганата је 1,2,4-триазол, а затим 5'-GMP па L-хис.
- Испитивани комплекси имају следећи ред реактивности у случају оба корака супституције: $[Pt(SMC)Cl_2] > cis-[Pt(NH_3)_2Cl_2] > [Pt(en)Cl_2] > [Pt(dach)Cl_2]$.
- ДФТ израчунавањима на комплексима *cis*- $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, $[Pt(en)Cl_2]$ и $[Pt(dach)Cl_2]$ потврђена је трансформација из Pt-S(тиоетар) у Pt-N7 координацију. Први пут је утврђено колико је Pt-N7 производ стабилнији од Pt-S(тиоетар) производа. За први супституциони корак у гасној фази Pt-N7 производ стабилнији за 31 до 33

kcal/mol у односу на Pt-S(тиоетар) производ, док за други реакциони корак Pt-N7 производ стабилнији за 32 до 34 kcal/mol у односу на Pt-S(тиоетар) производ. Како би се избегло да се при израчунавању узима у обзир ефекат растварача, извршена су CPCM израчунавања (B3LYP(CPCM)/LANL2DZp //B3LYP/LANL2DZp). Енергија добијена овим израчунавањима мања је за 50%, али је координација преко гуанина фаворизована.

Резултати добијени испитивањем равнотеже и кинетике супституционих реакција бис(имидазолин-2-имино) комплекса Pd(II) указују да:

- Константе стабилности комплекса између $[(\text{TL}^{\text{tBu}}\text{PdCl})\text{ClO}_4]$ и $[(\text{BL}^{\text{iPr}}\text{PdCl}_2)]$ и биолошки активних лиганата (L-мет, 5'-GMP и L-хис) показују да оба комплекса формирају стабилне производе са изабраним лигандима. У оба случаја најстабилнији комплекс настаје са 5'-GMP.
- Ред реактивности испитиваних нуклеофила у супституционим реакцијама са $[(\text{TL}^{\text{tBu}}\text{PdCl})]^+$ комплексом је: L-мет > 5'-GMP > L-хис, што је у складу са електронским и стерним ефектима.
- Структура ново синтетисаних комплекса $[(\text{TL}^{\text{tBu}}\text{PdCl})\text{ClO}_4]$ и $[(\text{BL}^{\text{iPr}}\text{PdCl}_2)]$ одређена је дифракцијом X-зрака. Оба комплекса су квадратно-планарне геометрије са благом дисторзијом.

Резултати добијени испитивањем кинетике и механизма супституционих реакција $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ комплексних јона са 1,2,4-триазолом, пиразолом и пиридазином указују да:

- Супституционе реакције комплексних јона $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ и $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ одвијају се по асоцијативном механизму, што поврђује негативна вредност за ентропију активирања.
- Испитивани N-донорски лиганди су добри нуклеофили при чему је њихов ред реактивности следећи: 1,2,4-триазол > пиридазин > пиразол.
- Комплексни јон $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ је реактивнији у односу на $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ комплексни јон.
- Комплексни јон $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ је реактивнији у односу на $[\text{Pt}(\text{dien})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ комплексни јон.

Литература:

1. L. Ronconi and P. J. Sadler, *Coord. Chem. Rev.*, 2007, **251**, 1633.
2. P. C. A. Bruijninx and P. J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.*, 2009, **61**, 1.
3. M. A. Jakupec, M. Galanski, V. B. Arion, C. G. Hartinger and B. K. Keppler, *Dalton Trans.*, 2008, 183-194.
4. a) B. Rosenberg and L. V. Camp, *Nature*, 1965, **205**, 698; b) B. Rosenberg, L. V. Camp, J. E. Trosko and V. H. Mansour, *Nature*, 1969, **222**, 385; c) B. Rosenberg and L. V. Camp, *Canc. Res.*, 1970, **30**, 1799; d) B. Rosenberg, L. V. Camp, E. B. Grimley and A. J. Thomson, *J. Biol. Chem.*, 1967, **242**, 1347.
5. R. van Eldik, *Coord. Chem. Rev.*, 2007, **251**, 1649.
6. C. H. Langford and H. B. Gray, in *Ligand Substitution Processes*, Benjamin, New York, 1974, ch. 2.
7. M. L. Tobe and J. Burgess, in *Inorganic Reaction Mechanism*, Longman, England, 1999, p. 70; p. 364.
8. Ž. D. Bugarčić, in *Kinetika i Mehanizam Supstitucionih Reakcija*, PMF Kragujevac, 1996, pp. 12-32.
9. I. Gal, in *Mehanizmi Neorganskih Reakcija*, Naučna knjiga, 1979, ch. 2 and 3.
10. K. J. Laidler, in *Chemical Kinetics*, Harper and Row, New York, 1987, ch. 4 and 6.
11. J. H. Espenson, in *Chemical Kinetics and Reaction Mechanism*, 2nd Ed, McGraw Hill, New York, 1995, ch. 2 and 6.
12. M. Kotowski and R. van Eldik, in *Inorganic High Pressure Chemistry, Kinetics and Mechanism*, Ed., R. van Eldik, Elsevier, Amsterdam, 1986, ch. 1, 3 and 4.
13. R. van Eldik, T. Asano and W. J. Le Noble, *Chem. Rev.*, 1989, **59**, 93.
14. Z. E. Housecroft and A. G. Sharp, in *Inorganic Chemistry*, Essex, England, 2001, ch. 6, 19, 20, 25.
15. S. Ašperger, in *Chemical Kinetics and Inorganic Reaction Mechanisms*, 2nd Ed., Plenum Publishers, New York, 2003, ch. 2.
16. J. Burgess and C. D. Hubbard, in *Advances in Inorganic Chemistry*, Eds., R. van Eldik and C. D. Hubbard, Elsevier, Amsterdam, 2003, ch. 2.
17. R. G. Pearson, H. Sobel and G. Songsted, *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, **90**, 319.
18. U. Belluco, L. Catalini, F. Basolo, R. G. Pearson and A. Luico, *J. Am. Chem. Soc.*, 1965, **87**, 241.
19. D. T. Richens, in *The Chemistry of Aqua Ions*, John Wiley & Sons, New York, 1997, ch 1.
20. C. F. Baes and R. E. Mesmer, in *The Hydrolysis of Cations*, Wiley, New York, 1976, ch. 3.
21. T. Storr, K. H. Thompson and C. Orvig, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, **35**, 534.
22. K. H. Thompson, C. Orvig, in: *Concepts and Model Systems in Bioinorganic Chemistry*, Eds. H.B. Kraatz and N. Metzler-Nolte, Wiley-VCH, Weinheim, 2006, p. 25
23. P. J. Sadler in: *Metals in medicine.*, University Science Books, 2007, pp. 95–135.
24. T.W. Hambley, *Science*, 2007, **318**, 1392.
25. A. Bergamo and G. Sava, *Dalton Trans.*, 2007, **13**, 1267.
26. S.P. Fricker, *Dalton Trans.*, 2007, **43**, 4903.
27. N. J. Farrer and P. J. Sadler, *Aust. J. Chem.*, 2008, **61**, 669.

28. P. J. Bednarski, R. Grunert, M. Zielzki, A. Wellner, F. S. Mackay and P. J. Sadler, *Chem Biol* 2006, **13**, 61.
29. F. S. Mackay, J. A. Woods, H. Moseley, J. Ferguson, A. Dawson, S. Parsons and P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* 2006, **12**, 3155-3161.
30. M. D. Hall, H. R. Mellor, R. Callaghan and T. W. Hambley, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 3403.
31. L. Ronconi and P. J. Sadler, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 262.
32. M. Campone, J. M. Rademaker-Lakhai, J. Bennouna, S. B. Howell, D. P. Nowotnik, J. H. Beijnen and J. H. M. Schellens, *Cancer Chemoth Pharm*, 2007, **60**, 523.
33. R. P. Feazell, N. Nakayama-Ratchford, H. Dai and S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, **27**, 8438.
34. I. H. L. Hamelers, R. W. H. M. Staffhorst, J. Voortman, B. de Kruijff, J. Reedijk, P. M. P. V. Henegouwen and A. I. P. M. de Kroon, *Clin. Cancer Res.*, 2009, **4**, 1259.
35. A. M. Pizarro, A. Habtemariam and P. J. Sadler, *Topics in Organometallic Chemistry* 2010, **32**, 21.
36. N. Farrell and Y. Qu, *Inorg. Chem.* 1989, **28**, 3416.
37. M. J. Bloemink, J. Reedijk, N. Farrell, Y. Qu and A. I. Stetsenko, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1992, 1002.
38. D. Z. Yang, S. van Boom, J. Reedijk, J. H. van Boom, N. Farrell and A. H. J. Wang, *Nat. Struct. Biol.* 1995, **2**, 577.
39. A. Mambanda, D. Jaganyi, S. Hochreuther and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 3595.
40. P. Kabolizadeh, J. Ryan and N. Farrell, *Biochem. Pharmacol.* 2007, **73**, 1270.
41. V. Brabec, J. Kasparkova, O. Vrana, O. Novakova, J. W. Cox, Y. Qu and N. Farrell, *Biochemistry* 1999, **38**, 6781.
42. P. de Hoog, M. J. Louwse, P. Gamez, M. Pitié, E. J. Baerends, B. Meunier and J. Reedijk, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2008, 612.
43. P. de Hoog, M. Pitié, G. Amadei, P. Gamez, B. Meunier, R. Kiss and J. Reedijk, *J. Biol. Inorg. Chem.* 2008, **13**, 575.
44. K. van der Schilden, F. Garcia, H. Kooijman, A. L. Spek, J. G. Haasnoot and J. Reedijk, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, **43**, 5668.
45. M. A. Jakupec, M. Galanski and B. K. Keppler, *Rev. Phys. Biochem. Pharm.*, 2003, **146**, 1.
46. J. Reedijk, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 1303.
47. B. Lippert in *Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of Leading Antitumor Drugs*, Wiley-VCH, Zurich, 1999, pp. 183-221.
48. J. Reedijk, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2499.
49. M. A. Fuertes, C. Alonso and J. M. Perez, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 3.
50. J. Kozelka, F. Legendre, F. Reeder and J. C. Chottard, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **190-192**, 61.
51. T. Soldatović and Ž. D. Bugarčić, *J. Inorg. Biochem.*, 2005, **99**, 1472.
52. R. Gupta, J. L. Beck, M. M. Sheil and S. F. Ralph, *J. Inorg. Biochem.*, 2005, **99**, 2, 552.
53. C. G. Barry, C. S. Day and U. Bierbach, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 1160.
54. A. I. Anzellotti, E. S. Ma and N. Farrell, *Inorg. Chem. Comm.*, 2005, **44**, 483.
55. A. Robertozzi and J. A. Platts, *Inorg. Chem.*, 2005, **44**, 267.
56. R. N. Bose, R. D. Cornelius and R. E. Viola, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 4403.

57. Ž. D. Bugarčić, F. W. Heinemann and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2004, 279.
58. R. E. Norman, J. D. Ranford and P. J. Sadler, *Inorg. Chem.*, 1992, **31**, 877.
59. A. Kung, D. B. Strickman, M. Galanski and B. K. Keppler, *J. Inorg. Biochem.*, 2001, **86**, 691.
60. V. Marchan, V. Moreno, E. Pedroso and A. Grandas, *Chem. Eur. J.*, 2001, **7**, 808.
61. E. Volckova, L. P. Dudones and R. N. Bose, *Pharm. Res.*, 2002, **19**, 124.
62. Ž. D. Bugarčić, T. Soldatović, R. Jelić, B. Alguero and A. Grandas, *Dalton Trans.*, 2004, 3869.
63. A. K. Godwin, A. Meister, P. J. O'Dwyer, C. S. Huang, T. C. Hamilton and M. E. Anderson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1992, **89**, 3070.
64. P. S. Murdoch, N. A. Kratochwil, J. A. Parkinson, M. Patriarca and P. J. Sadler, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, **38**, 2949.
65. N. Summa, W. Schiessl, R. Puchta, N. van Eikema Hommes and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 2006, **45**, 2948.
66. C. D. W. Frohling and W. S. Sheldrick, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1997, 4411.
67. K. M. Williams, C. Rowan and J. Mitchell, *Inorg. Chem.*, 2004, **43**, 1190.
68. Y. Kidani and K. Inakagi, *J. Med. Chem.*, 1978, **21**, 1315.
69. M. Yang, R. Pang, X. Jia, Q. Li and K. Wang, *J. Inorg. Biochem.*, 2005, **99**, 376.
70. N. Summa, T. Soldatović, L. Dahlenburg, Ž. D. Bugarčić and R. Van Eldik, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2007, **12**, 461-475.
71. T. Soldatović, Ž. D. Bugarčić and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2009, 4526.
72. A. Hofmann, D. Jaganyi, O. Q. Munro, G. Lierh and R. Van Eldik, *Inorg. Chem.* 2003, **42**, 1688.
73. D. Jaganyi, A. Hofmann and R. van Eldik, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2001, **40**, 1680.
74. B. A. J. Jansen, P. Wielaard, G. V. Kalayda, M. Ferrari, C. Molenaar, H. J. Tanke, J. Brouwer and J. Reedijk, *J. Biol. Inorg. Chem.* 2004, **9**, 403.
75. G. V. Kalayda, B. A. J. Jansen, C. Molenaar, P. Wielaard, H. J. Tanke and J. Reedijk, *J. Biol. Inorg. Chem.* 2004, **9**, 414-422.
76. G. V. Kalayda, B. A. J. Jansen, P. Wielaard, H. J. Tanke and J. Reedijk, *J. Biol. Inorg. Chem.* 2005, **10**, 305.
77. K. Katano, R. Safaei, G. Samimi, A. Holzer, M. Tomioka, M. Goodman and S.B. Howell, *Clin. Cancer Res.* 2004, **10**, 4578.
78. E. C. Constable and D. R. Smith, *Supramol. Chem.* 1994, **4**, 5.
79. E. C. Constable and D. R. Smith, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 935.
80. P. Marque's-Gallego, H. den Dulk, J. Brouwer, H. Kooijman, A. L. Spek, O. Roubeau, S. J. Teat and J. Reedijk, *Inorg. Chem.* 2008, **47**, 11171.
81. P. Marqués-Gallego, S. Contaldi, H. den Dulk, M. Monari, J. Brouwer, U. Jaehde, G. V. Kalayda and J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.*, 2003, **103**, 1602.
82. P. Marque's-Gallego, H. den Dulk, J. Brouwer, S. Tanase, I. Mutikainen, U-Turpeinen and J. Reedijk, *Biochem. Pharm.*, 2009, **78**, 365.
83. C. A. Rabik and M. E. Dolan, *Cancer Treat. Rev.*, 2007, **33**, 9.
84. P. Marqués-Gallego, M. Amparo Gamiz-Gonzalez, F. R. Fortea-Pérez, M. Lutz, A. L. Spek, A. Pevec, B. Kozlevcar and J. Reedijk, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 5152.
85. E. L. M. Lampers, K. Inakagi and J. Reedijk, *Inorg. Chim. Acta*, 1988, **152**, 201.
86. M. I. Đuran, E. L. M. Lampers and J. Reedijk, *Inorg. Chem.*, 1991, **30**, 2648.
87. N. Bose, S. Moghaddas, E. L. Weaver and E. H. Cox, *Inorg. Chem.*, 1995, **34**, 5878.

88. J. M. Tauben, M. Rodruez, I. Zubiri and J. Reedijk, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2000, 369.
89. K. Lemma, S. K. C. Elmroth and L. I. Elding, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2002, 1281.
90. B. Petrović and Ž. D. Bugarčić, *J. Coord. Chem.*, 2001, **53**, 35.
91. Ž. D. Bugarčić and B. V. Đorđević, *Monatsh. Chem.*, 1998, **129**, 1267.
92. A. K. Fazlur-Rahman and J. G. Verkade, *Inorg. Chem.*, 1992, **31**, 2064.
93. L. M. Lampers and J. Reedijk, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 217.
94. K. J. Barnham, M. I. Đuran, P. S. Murdoch and P. J. Sadler, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 1994, 721.
95. Y. Chen, Z. Guo, P. S. Murdoch, E. Zang and P. J. Sadler, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1998, 1503.
96. M. I. Đuran and S. U. Milinković, *Aust. J. Chem.*, 2000, **53**, 645.
97. J. Arpalhti and P. Lehtonen, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 2564.
98. M. Ritala and J. Arpalhti, *Inorg. Chem.*, 1991, **30**, 2826.
99. J. Arpalhti, K. D. Klika, R. Sillanpaa and R. Kivekes, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1998, 1397.
100. C. C. Cheng and C. H. Pai, *J. Inorg. Biochem.*, 1998, **71**, 109.
101. B. V. Petrović, M. I. Đuran and Ž. D. Bugarčić, *Met-Based Drugs*, 1999, **6**, 355.
102. N. M. Kostić, *Inorg. Chem. Comm.*, 1988, **8**, 137.
103. Ž. D. Bugarčić, B. V. Đorđević and M. I. Đuran, *J. Serb. Chem. Soc.*, 1997, **62**, 1031.
104. G. Annibale, P. Bergamini, V. Bertolasi, M. Cattabriga, A. Lazzaro, A. Marchi and G. Vertuani, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1999, 3877.
105. M. Casumano, M. L. Di Pietro, A. Giannetto and P. A. Vainiglia, *J. Inorg. Biochem.*, 2005, **99**, 560.
106. Y. S. Wong and S. J. Lippard, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 1977, 824.
107. H. K. Yip, C. M. Che, Z. Y. Zhou and T. C. W. Mak, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1992, 1369.
108. K. W. Jenette, J. T. Gill, J. A. Sadowick and S. J. Lippard, *Am. Chem. Soc.*, 1996, **98**, 6159.
109. G. Annibale, L. Cattalini, A. Cornia, A. Fabretti and F. Guidi, *Inorg. React. Mech.*, 2000, **2**, 185.
110. B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, A. Dees, I. Ivanović-Burmazović, F. Heinemann, R. Puchta and R. van Eldik, 2011, submitted in *Inorg. Chem.*
111. D. Jaganyi, D. Reddy, J. A. Gertenbach, A. Hofmann and R. van Eldik, *Dalton. Trans.*, 2004, 299.
112. B. Pitteri, G. Marangoni and L. Cattalini, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1994, 3539.
113. B. Pitteri, G. Marangoni and L. Cattalini, *Polyhedron*, 1995, **14**, 2331.
114. K. S. Lovejoy, R. C. Todd, S. Z. Zhang, M. S. McCormick, J. A. D'Aquino, J. T. Reardon, A. Sancar, K. M. Giacomini and S. J. Lippard, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008, **105**, 8902.
115. C. D. Hubbard, P. Illner and R. van Eldik, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 272.
116. J. Reedijk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, **100**, 3611.
117. J. Reedijk, *Platinum Met. Rev.* 2008, **52**, 2.
118. M.T. Rau and R. van Eldik, in *Metal Ions in Biological Systems*, ed. A. Sigel and H. Sigel, Marcel Dekker, New York, 1996, vol. 32, p. 339.
119. S. Suvachittanont and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1995, 2027.

120. M. Shoukry and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996, 2673.
121. M. Shoukry, H. Hohnmann and R. van Eldik, *Inorg. Chim. Acta*, 1992, **198-200**, 187.
122. S. Suvachittanont, H. Hohnmann, R. van Eldik and J. Reedijk, *Inorg. Chem.*, 1993, **32**, 4544.
123. S. Suvachittanont and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 1994, **33**, 895.
124. T. Rau and R. van Eldik, *Chem. Ber. Recueil*, 1997, **130**, 1551.
125. Ž. D. Bugarčić, M. M. Shourky and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2002, 3945.
126. V. P. Munk and P. J. Sadler, *Chem. Comm.*, 2004, 1788.
127. B. Petrović, Ž. D. Bugarčić and R. Van Eldik R, *Dalton Trans*, 2008, 807-813.
128. Ž. D. Bugarčić, D. Ilić and M. I. Đuran, *Aust. J. Chem.*, 2001, **54**, 237.
129. Ž. D. Bugarčić, D. M. Jančić, A. A. Shoukry and M. M. Shoukry, *Monatsh. Chem.*, 2004, **135**, 151.
130. V. Vasić, M. Čakar, J. Savić, B. Petrović, J. Nadeljković and Ž. Bugarčić, *Polyhedron*, 2003, **22**, 279.
131. E. L. J. Breet and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 1987, **26**, 2517.
132. A. Shoukry, T. Rau, M. Shoukry and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1998, 3105.
133. A. Shoukry, M. Brindell and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2007, 4169.
134. R. Karkalić and Ž. D. Bugarčić, *Monatsh. Chem.*, 2000, **131**, 819.
135. E. L. J. Breet and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 1987, 408.
136. Ž. D. Bugarčić, G. Liehr and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2002, 951.
137. A. Kiss, E. Farkas, I. Savago, B. Thormann and B. Lippert, *J. Inorg. Biochem.*, 1997, 85.
138. Ž. D. Bugarčić, B. Petrović and E. Zangrando, *Inorg. Chim. Acta*, 2004, **357**, 2650.
139. D. Jaganyi, F. Tiba, O. Q. Munro, B. Petrović and Ž. D. Bugarčić, *Dalton Trans.*, 2006, 2943.
140. Ž. D. Bugarčić, S. T. Nandibewoor, M. S. A. Hamza, F. Heinemann and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2006, 2984.
141. R. J. Sundberg and R. B. Martin, *Chem. Rev.*, 1974, **74**, 471.
142. B. E. Choi, G. J. Choi, and C. S. Park, *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongo*, 2004.
143. T. Kimura, N. Okawa, A. Nakao, T. Nagasaki and R. Shimozato, *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, 2006, 279.
144. E. Akbas and I. Berber, *Europ. J. Medic. Chem.*, 2006, **41**, 904.
145. J. Zhang, L. Li, L. Wang, F. Zhang and X. Li, *E. J. Medic. Chem.*, 2010, **45**, 5337.
146. C.Y. Shi, E. J. Gao, S. Ma, M. L. Wang, Q. T. Liu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20** 7250.
147. R. A. de Souza, A. Stevanato, O. Treu-Filho, A. V.G. Netto, A. E. Mauro, E. E. Castellano, I. Z. Carlos, F. R. Pavan and C. Q.F. Leite, *E. J. Medic. Chem.*, 2010, **45**, 4863.
148. F. Accadbled, B. Tinant, E. H'ennon, D. Carrez, A. Croisy and S. Bouquillon, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 8982.
149. B. Rieger, L. S. Baugh, S. Kacker and S. Striegler in *Late Transition Metal Polymerization Catalysis*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2003.
150. S. J. Lippard and J. M. Berg in *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books, Mill Valley, 1994.
151. G. J. P. Britovsek, V. C. Gibson and D. F. Wass, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999, **38**, 428.

152. S. D. Ittel, L. K. Johnson and M. Brookhart, *Chem. Rev.* 2000, **100**, 1169.
153. M. Tamm, D. Petrović, S. Randoll, S. Beer, T. Bannenberg, P. G. Jones and J. Grunenberg, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, **5**, 523.
154. D. Petrović, T. Bannenberg, S. Randoll, P. G. Jones and M. Tamm, *Dalton Trans.*, 2007, 2812; D. Petrović, L. M. R. Hill, P. G. Jones, W. B. Tolman and M. Tamm, *Dalton Trans.*, 2008, 887.
155. D. Petrović, T. Glöge, T. Bannenberg, C. G. Hrib, S. Randoll, P. G. Jones and M. Tamm, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2007, 3472; D. Petrović, C. G. Hrib, S. Randoll, P. G. Jones and M. Tamm, *Organometallics*, 2008, **27**, 778; T. Glöge, D. Petrović, C. Hrib, P. G. Jones and M. Tamm, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 4538.
156. T. Glöge, D. Petrović, C. G. Hrib, C. Daniliuc, E. Herdtweck, P. G. Jones and M. Tamm, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 2010, **636**, 2303.
157. B. Pitteri, G. Marangoni, L. Cattalini, F. Visentin, V. Bertolasi, P. Gilli, *Polyhedron*, 20, 2001, 869-880.
158. L. P. Battaglia, A. B. Corradi, C. G. Calmieri, M. Nardelli, M. E. V. Tani, *Acta Crystallogr. Sect. B*, 1973, **29**, 762.
159. B. A. Howell, R. Rashidianfar, J. R. Glass, B. J. Hutchinson, D. A. Johnson, *Inorg. Chim. Acta*, 1988, **142**, 181.
160. V. Theodorou, I. Photaki, N. Hadjiliadis, R. W. Gellet, R. Bau, *Inorg. Chim. Acta*, 1982, **60**, 1.
161. D. Drew, J. R. Doyle and Alan G. Shaver, *Inorg. Synth.*, 1972, **13**, 52.
162. A. R. Khokhar, Q. Xu, S. Al-Baker and J. L. Bear, *Inorg. Chim. Acta*, 1992, **194**, 243.
163. T. G. Appleton, J. R. Hall, S. F. Ralph and C. S. M. Thompson, *Inorg. Chem.*, 1984, **23**, 3521.
164. K. Mikkelsen and S. O. Nielsen, *J. Phys. Chem.* 1960, **64**, 632.
165. P. Gans, A. Sabatini and A. Vacca, *Talanta*, 1996, **43**, 1739.
166. P. Gans, A. Sabatini and A. Vacca, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1985, **6**, 1195.
167. L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, and A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **184**, 311.
168. a) A. D. Becke, *J. Phys. Chem.* 1993, **97**, 5648. (b) C. Lee, W. Yang and R.G. Parr, *Phys. Rev. B* 1988, **37**, 785. (c) P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski and M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* 1994, **98**, 11623. (d) T.H. Dunning Jr. and P. J. Hay, *Mod. Theor. Chem.* 1976, **3**, 1. (e) P. J. Hay and W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* 1985, **82**, 270. (f) P. J. Hay and W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* 1985, **82**, 284. (g) P. J. Hay and W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* 1985, **82**, 299. (h) S. Huzinaga in *Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations*, Elsevier, Amsterdam, 1984.
169. The performance of the computational level employed in this study is well documented, see for example: (a) R. Puchta, R. Meier, N. J. R. van Eikema Hommes and R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2006, 4063. (b) A. Scheurer, H. Maid, F. Hampel, R. W. Saalfrank, L. Toupet, P. Mosset, R. Puchta and N. J. R. Van Eikema Hommes, *Eur. J. Org. Chem.* 2005, 2566. (c) P. Illner, A. Zahl, R. Puchta, N. van Eikema Hommes, P. Wasserscheid and R. van Eldik, *J. Organomet. Chem.* 2005, **690**, 3567. (d) Ch. F. Weber, R. Puchta, N. van Eikema Hommes, P. Wasserscheid and R. van Eldik, *Angew. Chem.* 2005, **117**, 6187; Ch. F. Weber, R. Puchta, N. van Eikema Hommes, P. Wasserscheid and R. van Eldik, *Angew. Chem Int. Ed.* 2005, **44**, 6033.

170. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez and J. A. Pople, *Gaussian 03, Revision B.03*, Gaussian Inc., Wallingford, CT, 2004.
171. a) V. Barone and M. Cossi, *J. Phys. Chem. A* 1998, **102**, 1995. b) M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega and V. J. Barone, *Comp. Chem.* 2003, **24**, 669.
172. U. Frey, J. D. Ranford and P. J. Sadler, *Inorg. Chem.*, 1993, **32**, 1333.
173. E. L. M. Lempers and J. Reedijk, *Adv. Inorg. Chem.*, 1991, **37**, 175.
174. S. S. G. E. van Boom, B. W. Chen, J. M. Tauben and J. Reedijk, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 1450.
175. D. Jaganyi and F. Tiba, *Trans. Met. Chem.*, 2001, **28**, 803.
176. C. D. Hubabard and R. van Eldik, *J. Coord. Chem.*, 2007, **60**, 1.
177. K. Mikkelsen and S. O. Nielsen, *J. Phys. Chem.*, 1960, **64**, 632.
178. J. Arpalahiti and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 104.
179. J. P. Caradonna and S. J. Lippard, *Inorg. Chem.*, 1988, **27**, 1454.
180. M. Mikola, K. D. Kilika and J. Arpalahiti, *Chem. Eur. J.*, 2000, 3404.
181. J. A. Joule and G. F. Smith in *Heterocyclic Chemistry*, Chapman and Hall, London, 1972.
182. J. Rosić, B. Petrović, M. I. Djuran and Ž. D. Bugarčić, *Monatsh Chem*, 2007, **138**, 1.
183. M. Perutz, *Nature*, 1970, **228**, 726.
184. J. A. Tainer, E. D. Getzoff, K. M. Beem, J. S. Richardson and D. C. Richardson, *J. Mol. Biol.*, 1982, **160**, 181.
185. T. Soldatović, Ž. D. Bugarčić and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2009, 4526.
186. S. Jovanović, B. Petrović, D. Čanović and Ž. D. Bugarčić, *Int. J. Chem. Kinet.*, 2011, **43**, 99.
187. A. J. Jansen, J. Brouwer and J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **89**, 197.
188. K. J. Barnham, M. I. Djuran, P. d. S. Murdoch, J. D. Ranford and P. J. Sadler, *Inorg. Chem.*, 1996, **35**, 1065..
189. R. W. Gellert and R. Bau, *J. Am. Chem. Soc.* 1975, **97**, 7379.
190. K. J. Barnham, C. J. Bauer, M. I. Djuran, M. A. Mazid, T. Rau and P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* 1995, **34**, 2826.
191. 1,3,9-TMX = 1,3,9-trimethylxanthine J.D.Orbell, K.Wilkowski, B. de Castro, L.G.Marzilli and T.J.Kistenmacher, *Inorg. Chem.* 1982, **21**, 813.
192. acv = acyclovir = 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine S. Grabner, J. Plavec, N. Bukovec, D. Di Leo, R. Cini and G. Natile, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1998, 1447.

193. acv = acyclovir = 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine R. Cini, S. Grabner, N. Bukovek, L. Cerasino and G. Natile, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2000, 1601.
194. Y. Jung and S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 1387.
195. S. Park, Y. Han, S. K. Kim, J. Lee, H. K. Kim and Y. Do, *J. Organomet. Chem.* 2004, **689**, 4263.
196. C. Bianchini, G. Giambastiani, I. G. Rios, G. Mantovani, A. Meli and A. M. Segarra, *Coord. Chem. Rev.* 2006, **250**, 1391.
197. V. C. Gibson, C. Redshaw and G. A. Solan, *Chem. Rev.* 2007, **107**, 1745.
198. M. Albrecht and G. van Koten, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, **40**, 3750.
199. B. Cabezon, J. Cao, F. M. Raymo, J. F. Stoddart, A. J. P. White and D. J. Williams, *Chem. Eur. J.* 2000, **6**, 2262.
200. N. Kuhn, M. Grathwohl, M. Steimann and G. Henkel, *Z. Naturforsch. B*, 2004, **59**, 1497.
201. Ž. Bugarčić, J. Rosić, B. Petrović, N. Summa, R. Puchta and R. van Eldik, *J. Biolog. Inorg. Chem.*, 2007, **12**, 1141.
202. E. L. J. Breett and R. van Eldik, *Inorg. Chem.* 1987, **26**, 2517.
203. S. U. Rajković, M. D. Živković, C. Kallay, I. Sovago and M. I. Djuran, *Dalton Trans.*, 2009, **39**, 8370.
204. T. Soldatović, P. Čanović, R. Nikolić, R. Jelić and Ž. D. Bugarčić. *J. Solution Chem.*, 2009, **38**, 57.
205. Ž. D. Bugarčić, B. V. Petrović and R. Jelić, *Trans. Metal Chem.*, 2001, **26**, 668.
206. K. H. Scheller, V. Scheller-Krattiger and R. B. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 6833.
207. M. R. Shehata, M. M. Shourky, F. H. Abdel-Shakour and R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 3912.
208. S. Zhu, A. Matilla, J. M. Tercero, V. Vijayaragavan and J. A. Walmsley, *Inorg. Chim. Acta*, 2004, **357**, 411.
209. J. Arpalahti and P. Lehtikoinen, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 2564; J. Arpalahti and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 104; J. P. Caradonna and S. J. Lippard, *Inorg. Chem.*, 1988, **27**, 1454; R. N. Bose, R. D. Cornelius and R. E. Viola, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 4403; R. B. Martin in *Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of Leading Antitumor Drugs*, ed. B. Lippert, Wiley-VCH, Zurich, 1999, p. 193-200.
210. J. Bogojeski, Ž. D. Bugarčić, R. Puchta and R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2010, 5439.
211. B. Pitteri and M. Bortoluzzi, *Polyhedron*, 2006, **25**, 2698.

Биографија

Јована Богојески (рођ. Росић) је рођена 10.11.1980. год. у Крагујевцу. Основну школу је завршила у Гружи, а средњу, Прву Крагујевачку гимназију у Крагујевцу. На Природно-математички факултет, одсек хемија уписала се школске 1999/2000. год., где је дипломирала 2004 са просечном оценом 9.41. Као најбољи дипломирани студент хемије у школској 2003/04 добила је награду Српског хемијског друштва. Магистарску тезу под насловом: *Механизам реакција биолошки значајних лиганда и комплекса платине(II)*, одбранила је 2006. год. Докторске студије, смер Неорганска хемија уписала је школске 2006/2007. 01.01.2005 год. примљена је у радни однос на Природно-математичком факултету у Крагујевцу као истраживач-приправник, а од 08.05.2008. год. изабрана је за асистента на Неорганској хемији. Тренутно води вежбе из предмета Виша неорганска хемија, Неорганска хемија 2, Индустијска хемија I и Механизми неорганских реакција. Такође је ангажована на пројекту 172011 који се финансира од стране Министарства просвете и науке. Од 01.10.2007. до 31.12.2007. год. као и од 01.03.2008. до 31.04.2008. год. боравила је на Институту за Неорганску и Аналитичку хемију, Универзитета у Braunschweig-у, Немачка, у групи професора Mathias-а Tamm-а.

Thermodynamic and Kinetic Studies on Reactions of Pt(II) Complexes with Pyrazole, Pyridazine, and 1,2,4-Triazole

Jovana Rosić, Biljana Petrović, Miloš I. Djuran,
and Živadin D. Bugarčić*

Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

Received April 6, 2006; accepted (revised) June 19, 2006
Published online December 14, 2006 © Springer-Verlag 2006

Summary. Substitution reactions of the complexes $[\text{Pt}(\text{dien})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ and $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$, where *dien* = diethylenetriamine or 1,5-diamino-3-azapentane, with some nitrogen-donor ligands such as 1,2,4-triazole, pyrazole, and pyridazine, were studied in an aqueous 0.10 M NaClO_4 at $\text{pH} = 2.5$ using variable-temperature spectrophotometry and ^1H NMR spectroscopy. The second-order rate constants indicate that the aqua complex, $[\text{Pt}(\text{dien})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$, is more reactive than the corresponding chloro complex, $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$. The reactivity of the used ligands follows the order: 1,2,4-triazole > pyridazine > pyrazole. Activation parameters were determined for all reactions and the negative entropies of activation (ΔS^\ddagger) support an associative ligand substitution mechanism.

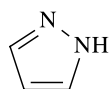
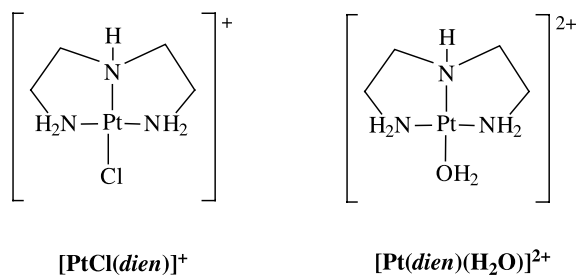
Keywords. Platinum(II); Kinetics; Mechanism; Azoles; Diazines.

Introduction

In the last a few years our work has been concentrated on the study of reactions of different Pd(II) and Pt(II) complexes with sulphur- and nitrogen-bonding nucleophiles including some biomolecules [1–6]. These interactions could be very important not only from the fundamental point of view. Since some Pt(II) complexes have been used as anticancer drugs [7], these interactions are also very important in biology and medicine. Coordination compounds of Pd(II) and Pt(II) with tridentate ligands such as diethylenetriamine (*dien*), bis(2-pyridylmethyl)amine (*bpma*) or 2,2':6',2''-terpyridine (*terpy*) provide very useful substrates for studies on ligand substitution reactions of square-planar complexes. However, these tridentate ligands form very stable mononuclear complexes with Pd(II) and Pt(II) even in very acidic pH [8, 9].

The five-membered ring containing two or three nitrogen atoms (azoles) were found to be of great interest from a bioinorganic chemistry point of view, since the

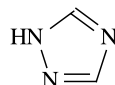
* Corresponding author. E-mail: bugarcic@kg.ac.yu



pyrazole



pyridazine

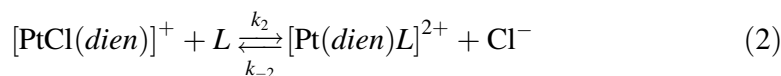
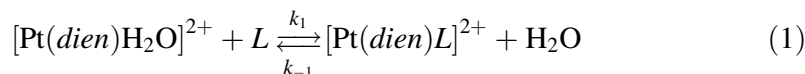


1,2,4-triazole

Formulae 1

imidazole group of histidine acts as a ligand in most of the known haemoproteins [10]. Moreover, azoles were found to inhibit the binding of CO to the sodium dithionite-reduced ferrous cytochrome and the activity of reconstituted P-450 by binding to cytochrome in a one-to-one stoichiometry. Imidazole derivatives and 1,2,4-triazole [11] are considered to be of potential interest to coordination chemists because they can be used to link studies on the metal binding properties of nitrogenous bases with information on the proton affinities in the gas phase [12, 13], in aqueous solutions and aprotic solvents [14], and on their H-bonding capacities [15].

Recently we published the results of complex-formations between Pd(II) complexes with azoles and diazines [16]. As an extension of that work we studied and report here the kinetics of the complex-formation between monofunctional $[\text{Pt}(\text{dien})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ and $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complexes with nitrogen-donor ligands, such as 1,2,4-triazole, pyrazole, and pyridazine, in an aqueous 0.10 M NaClO₄. All reactions were studied as a function of nucleophile concentration and temperature. The reactions on $[\text{Pt}(\text{dien})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ were studied at $pH = 2.5$, while the substitution on the chloro complex was studied in the presence of 5 mM NaCl. The studied reactions can be presented by Eqs. (1) and (2).



The structures of the complexes and ligands are shown as Formulae 1.

Results and Discussion

The observed pseudo-first-order rate constants, k_{obsd} , as a function of the total concentration of nucleophile are described by Eq. (3) for reaction (1).

$$k_{\text{obsd}} = k_{-1} + k_1[\text{nucleophile}] \quad (3)$$

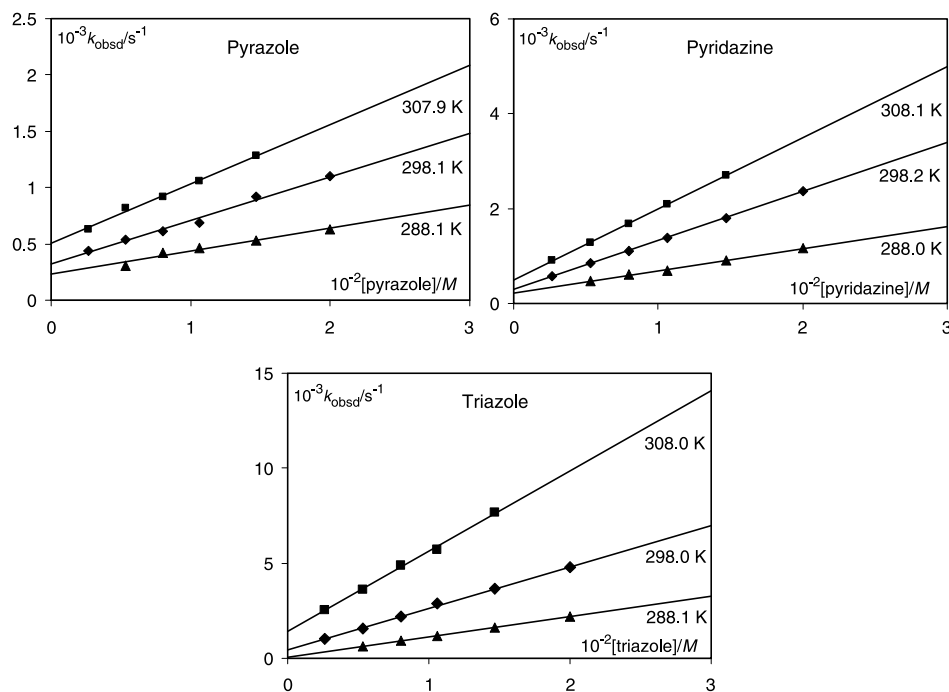


Fig. 1. Observed *pseudo*-first order rate constants, k_{obsd} , as a function of ligand concentration and temperature for the substitution reactions on $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complex in 0.10 M NaClO_4 at $\text{pH} = 2.5$

A least-squares fit of the data according to Eq. (3), resulted in values for the forward anation rate constants (k_1) and the reverse aquation rate constant (k_{-1}) according to reaction (1). The second-order rate constants (k_1) were obtained directly from the slope from plot of k_{obsd} vs. entering nucleophile concentration [17]. The experimental results are summarized in Fig. 1, and rate constants and activation parameters for reaction (1) are given in Table 1.

In the case of the chloro complex $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$, reaction (2) proceeds according to two parallel associative reaction paths [17]. One involves the rate-determining formation of a solvento-complex (k_3 -path in Scheme 1) followed by rapid substitution of the coordinated solvent molecule (S). The other reaction involves direct nucleophilic attack by the entering ligand (k_2 -path in Scheme 1).

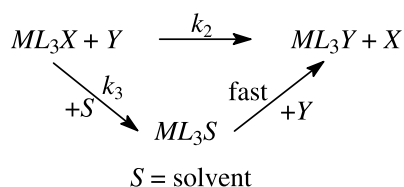
The observed *pseudo*-first order rate constant (k_{obsd}) as a function of the total concentration of entering nucleophile is given by Eq. (4).

$$k_{\text{obsd}} = k_3 + k_2[\text{nucleophile}] \quad (4)$$

The solvolysis rate constant (k_3) independent of the concentration of L , is usually small and contributes little to the observed rate. It can be determined from the intercept of the graph of k_{obsd} vs. $[L]$. The second-order rate constants (k_2) characterizing the formation of the product complex, can be evaluated from the slope of a plot k_{obsd} vs. $[L]$. All reactions of the chloro complex were studied in the presence of a slight excess of chloride ions (5 mM) to suppress spontaneous solvolysis reactions. The experimental results for the displacement of chloride from

Table 1. Rate constants and activation parameters for the substitution reactions of monofunctional Pt(II) complexes in 0.10 M NaClO₄

	[PtCl(<i>dien</i>)] ⁺					
	$\frac{\lambda}{\text{nm}}$	$\frac{T}{\text{K}}$	$\frac{10^2 k_2}{\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}}$	$\frac{10^4 k_3}{\text{s}^{-1}}$	$\frac{\Delta H^\ddagger}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta S^\ddagger}{\text{JK}^{-1} \text{mol}^{-1}}$
Pyrazole	290	288.0	0.45 ± 0.05	1.61 ± 0.06	22 ± 2	−215 ± 6
		298.0	0.67 ± 0.04	2.15 ± 0.05		
		308.0	0.88 ± 0.08	2.91 ± 0.08		
Pyridazine	440	288.0	0.73 ± 0.06	1.38 ± 0.07	28 ± 6	−190 ± 20
		298.2	1.29 ± 0.07	2.31 ± 0.08		
		308.1	1.71 ± 0.07	3.27 ± 0.07		
1,2,4-Triazole	330	288.0	4.15 ± 0.04	4.14 ± 0.05	30 ± 4	−165 ± 11
		298.1	7.12 ± 0.03	5.39 ± 0.04		
		308.0	10.10 ± 0.20	7.07 ± 0.03		
	[Pt(<i>dien</i>)(H ₂ O)] ²⁺					
	$\frac{\lambda}{\text{nm}}$	$\frac{T}{\text{K}}$	$\frac{10^2 k_1}{\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}}$	$\frac{10^4 k_{-1}}{\text{s}^{-1}}$	$\frac{\Delta H^\ddagger}{\text{kJ mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta S^\ddagger}{\text{JK}^{-1} \text{mol}^{-1}}$
Pyrazole	280	288.1	2.04 ± 0.02	2.31 ± 0.03	33 ± 7	−163 ± 22
		298.1	3.88 ± 0.02	3.20 ± 0.03		
		307.9	5.25 ± 0.03	5.09 ± 0.03		
Pyridazine	285	288.0	4.68 ± 0.02	2.22 ± 0.02	41 ± 8	−129 ± 26
		298.2	10.30 ± 0.11	2.87 ± 0.01		
		308.1	15.01 ± 0.20	4.90 ± 0.02		
1,2,4-Triazole	260	288.1	10.6 ± 0.1	0.68 ± 0.02	49 ± 1	−94 ± 3
		298.0	21.8 ± 0.5	4.56 ± 0.06		
		308.0	42.2 ± 0.2	14.1 ± 0.1		

**Scheme 1**

[PtCl(*dien*)]⁺ are also summarized in Table 1, and presented in Fig. 2. As can be seen, in all cases k_{obsd} depends linearly on the entering ligand concentration.

The coordinated water molecule on Pd(II) and Pt(II) centres has been shown to be very labile and can easily be substituted by stronger nucleophiles [18]. Indeed, the aqua complex, [Pt(*dien*)H₂O]²⁺, is much more reactive than the corresponding chloro complex, [PtCl(*dien*)]⁺ (see Table 1).

The kinetic data clearly show that these nitrogen-containing nucleophiles are very good entering ligands for Pt(II) complexes. From a comparison of the reactivity (Table 1) it can be concluded that 1,2,4-triazole (five-membered ring) is the most

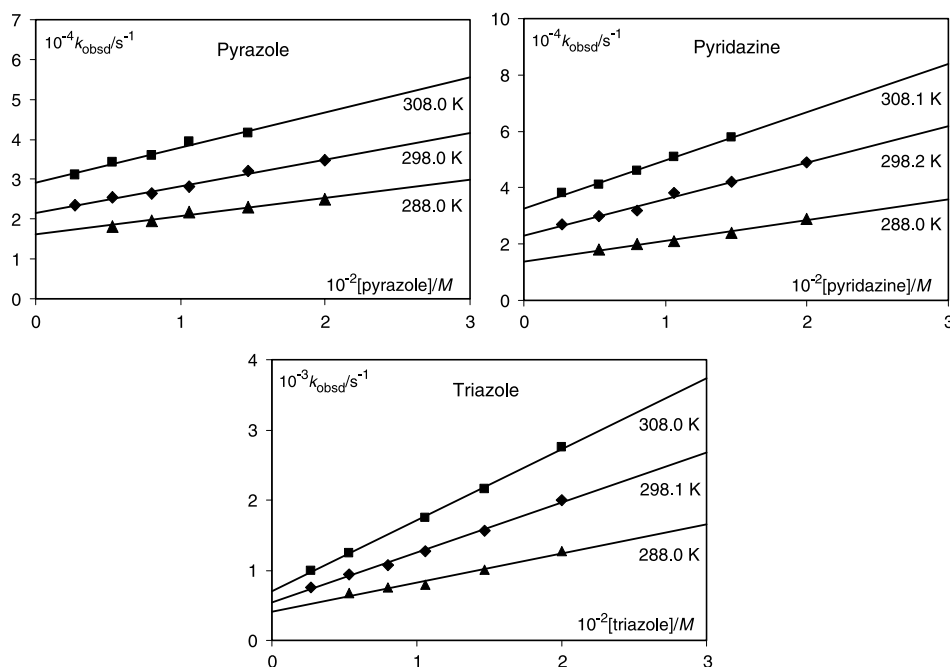


Fig. 2. Observed *pseudo*-first order rate constants, k_{obsd} , as a function of ligand concentration and temperature for the substitution reactions on $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complex in 0.10 M NaClO_4 , $[\text{Cl}^-] = 5\text{ mM}$

reactive ligand. Pyridazine (six-membered ring) is more reactive than pyrazole. This order of reactivity is in relation with their acidity. The pK_a values for the used ligands are: 2.30 for 1,2,4-triazole, 2.33 for pyridazine, and 2.52 for pyrazole [19].

These results are in agreement with the already published results with Pd(II) complexes [16]. Of course, Pd(II) complexes are much more reactive than Pt(II) complexes. The difference in the reactivity of the nucleophiles used can be explained in terms of electronic effects. However, the sensitivity of the reaction rate on the entering ligands is in line with that expected for an associative mode of activation.

The second order rate constants were studied as a function of temperature. The obtained activation parameters, ΔH^\ddagger and ΔS^\ddagger , are summarized in Table 1. All available activation parameters support the operation of an associative mechanism [17]. The significantly negative activation entropies for the forward reactions (1) and (2) suggest that the activation process in the studied systems seems to be strongly dominated by formation [17]. The results are in an excellent agreement with similar data reported for related systems [16].

NMR Results

The substitution reaction of the $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complex with 1,2,4-triazole was also studied by ^1H NMR spectroscopy as *pseudo*-first order reaction with large excess of the nucleophile. The chemical shifts from the *dien*-system of unreacted $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complex are between 2.9–3.2 ppm. On the other hand, the chemical shifts of the *dien*-system from the substituted product are between 3.2–3.4 ppm. The downfield moving of these signals is the result of changed chemical environ-

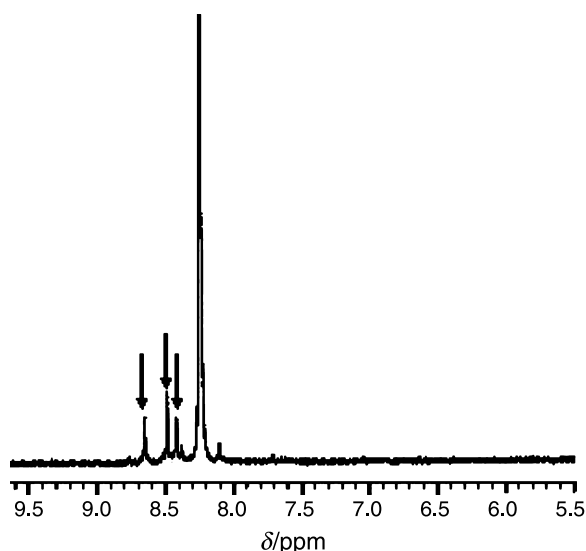


Fig. 3. ^1H NMR spectra of the reaction of $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ and 1,2,4-triazole

ment of the tridentate ligands caused by substitution of the chloro ligand. The ^1H NMR spectra of the substitution reaction of the $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ with studied nucleophile is presented in the Fig. 3.

The NMR spectra of five-membered 1,2,4-triazole consists of one singlet at 8.37 ppm, what is evidence of the presence of two CH-groups shaped with nitrogen atoms. In the process of substitution of the $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complex with 1,2,4-triazole theoretically two types of products can be obtained. One when the platinum is coordinated through the N(1) or N(2) atoms, and the other with the coordination *via* N(4). First product of coordination will give two different signals in ^1H NMR spectra because the influence of metal ion is not equal for both protons. The other way of reaction will give only one signal. The obtained signals of products are at 8.55, 8.61, and 8.80 ppm. Taking into account the chemical shifts, and the intensity of these signals it can be concluded that the signal at 8.61 ppm corresponded to product where the platinum is coordinated to N(4). Other two equal-intensity singlets, at 8.55 and 8.80 ppm, present the chemical shifts of protons when the platinum is coordinated *via* N(1) or N(2) atoms.

Materials and Methods

Chemicals and Solutions

The complex $[\text{PtCl}(\text{dien})]\text{Cl}$ was prepared as described in the literature [20]. The chemical analysis, UV-VIS spectra, and ^1H NMR spectral data were in good agreement with those obtained in earlier preparations [1–3]. The chloro complex was converted into the aqua analogues in solution by addition of an equivalent of AgClO_4 , heating to 40°C for 1 h, and removing the AgCl precipitate by filtration through a $0.1\ \mu\text{m}$ pore membrane filter. Great care was taken to ensure that the resulting solution was free of Ag^+ ions. Since perchlorate ions do not coordinate to

Pt(II) [21], the kinetics of the complex formation reactions were studied in perchlorate medium. The ionic strength of the solutions was adjusted to 0.10 M with NaClO₄ (Merck, pa). The complex, [Pt(*dien*)H₂O]²⁺ was stable under selected experimental conditions (*pH* = 2.5), and the hydrolysis of the complex was negligible [22]. The reactions of the chloro complex were also studied at *pH* = 2.5, adjusted in a similar way as for the aqua complex, only to the solutions of the chloro complex 5 mM NaCl was added to prevent solvolysis. Ligand stock solutions were prepared without further purification shortly before use by dissolving the chemicals: 1,2,4-triazole (Fluka), pyrazole and pyridazine (Acros). Highly purified, deionised water was used in the preparation of all solutions.

Kinetic Measurements

Spectral changes resulting from mixing Pt(II) complex and ligand solutions were recorded over the wavelength range 220–550 nm to establish a suitable wavelength at which kinetic measurements could be performed. The kinetics of the substitution of coordinated water or chloro were followed spectrophotometrically by monitoring the change in absorbance at suitable wavelengths. Reactions were initiated by adding 0.5 cm³ of Pt(II) complex solution to 2.5 cm³ of thermostated ligand solution in the UV-VIS spectrophotometric cell, and they were followed for at least 8 half-lives. Complex formation was monitored as an increase in absorbance for pyrazole at 290 nm, for pyridazine at 285 nm, and as a decrease in absorbance at 260 nm for 1,2,4-triazole. The reactions were studied under *pseudo*-first order conditions with ligand at least in a 10-fold excess. The ionic strength of the reaction mixtures was kept constant at 0.10 M with NaClO₄ and *pH* was 2.5. The temperature was controlled throughout all kinetic experiments to ±0.1°C.

The observed *pseudo*-first order rate constants, k_{obsd} , were calculated as the average value from two to three independent kinetic runs. Observed experimental data are reported in Tables A1–A6 (Appendix) and are summarized in Figs. 1 and 2.

NMR Measurements

NMR measurements were performed by a Varian Gemini 200 MHz spectrometer. Reactions were carried out in a NMR tube. D₂O (Aldrich Chemical Company, Inc) was used as a solvent. The chemical shifts were reported in ppm relative to TSP (sodium trimethylsilylpropane-3-sulphonate, $\delta = 0$). The reactions were studied at 298 K.

pD measurements were also performed at 298 K. The *pH* meter was calibrated with Fischer-certified buffer solutions of *pH* = 4.00, 7.00, and 11.00. Meter readings were corrected for the deuterium isotope effect by adding 0.4 units to the display readout. The *pD* was adjusted with 0.01–0.05 M solutions of NaOD and DCl.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge financial support from the Ministry of Science of Republic of Serbia (Project No: 142008B). Also, the authors sincerely thank Mrs. B. Mojsilović for the NMR experiments.

Appendix

Table A1. Observed *pseudo*-first order rate constants as a function of ligand concentration and temperature for the reaction between $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complex and pyridazine in 0.1 M NaClO_4 , $\text{pH} = 2.5$

T/K	$10^{-2} c_{\text{pyrazole}}/M$	$10^{-3} k_{\text{obsd}}/\text{s}^{-1}$
288.1	0.53	0.31(6)
	0.80	0.42(6)
	1.06	0.46(6)
	1.47	0.53(5)
	2.00	0.63(6)
298.1	0.27	0.44(6)
	0.53	0.54(6)
	0.80	0.61(5)
	1.06	0.69(5)
	1.47	0.92(6)
307.9	2.00	1.10(5)
	0.27	0.63(6)
	0.53	0.82(5)
	0.80	0.92(5)
	1.06	1.06(6)
	1.47	1.28(5)

Table A2. Observed *pseudo*-first order rate constants as a function of ligand concentration and temperature for the reaction between $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complex and pyridazine in 0.1 M NaClO_4 , $\text{pH} = 2.5$

T/K	$10^{-2} c_{\text{pyridazine}}/M$	$10^{-3} k_{\text{obsd}}/\text{s}^{-1}$
288.0	0.53	0.48(6)
	0.80	0.61(5)
	1.06	0.69(5)
	1.47	0.90(5)
	2.00	1.17(4)
298.2	0.27	0.57(6)
	0.53	0.84(5)
	0.80	1.11(5)
	1.06	1.38(4)
	1.47	1.79(5)
308.1	2.00	2.37(4)
	0.27	0.91(5)
	0.53	1.28(4)
	0.80	1.67(5)
	1.06	2.09(4)
	1.47	2.71(4)

Table A3. Observed *pseudo*-first order rate constants as a function of ligand concentration and temperature for the reaction between $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complex and 1,2,4-triazole in 0.1 M NaClO_4 , $\text{pH} = 2.5$

T/K	$10^{-2} c_{\text{triazole}}/M$	$10^{-3} k_{\text{obsd}}/\text{s}^{-1}$
288.1	0.53	0.65(5)
	0.80	0.91(5)
	1.06	1.18(6)
	1.47	1.62(5)
	2.00	2.20(6)
298.0	0.27	1.03(6)
	0.53	1.56(5)
	0.80	2.19(5)
	1.06	2.87(4)
	1.47	3.67(5)
308.0	2.00	4.77(5)
	0.27	2.53(6)
	0.53	3.63(5)
	0.80	4.90(4)
	1.06	5.74(4)
	1.47	7.66(5)

Table A4. Observed *pseudo*-first order rate constants as a function of ligand concentration and temperature for the reaction between $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complex and pyrazole in 0.1 M NaClO_4 $[\text{Cl}^-] = 5 \text{ mM}$

T/K	$10^{-2} c_{\text{pyrazole}}/M$	$10^{-4} k_{\text{obsd}}/\text{s}^{-1}$
288.0	0.53	1.82(6)
	0.80	1.97(6)
	1.06	2.17(5)
	1.47	2.31(6)
	2.00	2.50(5)
298.0	0.27	2.34(6)
	0.53	2.54(5)
	0.80	2.65(5)
	1.06	2.81(5)
	1.47	3.21(6)
308.0	2.00	3.47(4)
	0.27	3.10(5)
	0.53	3.42(5)
	0.80	3.61(6)
	1.06	3.94(5)
	1.47	4.15(4)

Table A5. Observed *pseudo*-first order rate constants as a function of ligand concentration and temperature for the reaction between $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complex and pyridazine in 0.1 M NaClO_4 , $[\text{Cl}^-] = 5\text{ mM}$

T/K	$10^{-2} c_{\text{pyridazine}}/\text{M}$	$10^{-4} k_{\text{obsd}}/\text{s}^{-1}$
288.0	0.53	1.8(6)
	0.80	2.0(6)
	1.06	2.1(5)
	1.47	2.4(5)
	2.00	2.9(6)
298.2	0.27	2.7(6)
	0.53	3.0(5)
	0.80	3.2(5)
	1.06	3.8(6)
	1.47	4.2(5)
308.1	2.00	4.9(5)
	0.27	3.8(6)
	0.53	4.1(6)
	0.80	4.6(5)
	1.06	5.1(5)
	1.47	5.8(4)

Table A6. Observed *pseudo*-first order rate constants as a function of ligand concentration and temperature for the reaction between $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ complex and 1,2,4-triazole in 0.1 M NaClO_4 , $[\text{Cl}^-] = 5\text{ mM}$

T/K	$10^{-2} c_{\text{triazole}}/\text{M}$	$10^{-3} k_{\text{obsd}}/\text{s}^{-1}$
288.0	0.53	0.67(6)
	0.80	0.75(6)
	1.06	0.80(6)
	1.47	1.01(5)
	2.00	1.27(5)
298.1	0.27	0.76(6)
	0.53	0.94(5)
	0.80	1.07(5)
	1.06	1.27(6)
	1.47	1.56(5)
308.0	2.00	2.00(4)
	0.27	1.00(5)
	0.53	1.25(5)
	1.06	1.75(4)
	1.47	2.16(5)
	2.00	2.76(4)

References

- [1] Soldatović T, Bugarčić ŽD (2005) J Inorg Biochem **99**: 1472
- [2] Petrović BV, Bugarčić ŽD (2005) Aust J Chem **58**: 544

- [3] Vasić V, Živanović M, Čakar M, Savić J, Nedeljković J, Bugarčić ŽD (2005) *J Phys Org Chem* **1**: 441
- [4] Bugarčić ŽD, Heinemann FW, van Eldik R (2004) *Dalton Trans* 279
- [5] Bugarčić ŽD, Soldatović T, Jelić R, Alguero B, Grandas A (2004) *Dalton Trans* 3869
- [6] Bugarčić ŽD, Jančić D, Shoukry AA, Shoukry MM (2004) *Monatsh Chem* **135**: 151
- [7] (a) Reedijk J, Teuben MJ (1999) In: Lippert B (ed) *Cisplatin Chemistry and Biochemistry of Leading Anticancer Drugs*, Wiley-VCH, Zürich, pp 339–362 (b) Reedijk J (1999) *Chem Rev* **99**: 2467 (c) Jamieson ER, Lippard SJ (1999) *Chem Rev* **99**: 2467 (d) Jakupec MA, Galanski M, Keppler BK (2003) *Rev Physiol Biochem Pharmacol* **146**: 1 (e) Wong E, Grandomenico CM (1999) *Chem Rev* **99**: 2451
- [8] Bugarčić ŽD, Liehr G, van Eldik R (2002) *J Chem Soc Dalton Trans* 951
- [9] Bugarčić ŽD, Liehr G, van Eldik R (2002) *J Chem Soc Dalton Trans* 2825
- [10] Sundberg RJ, Martin RB (1974) *Chem Rev* **74**: 471
- [11] Hitchcock CA (1991) *Biochem Soc Trans* **19**: 782
- [12] Taft RW, Anvia F, Taagepera M, Catalan J, Elguero J (1986) *J Am Chem Soc* **108**: 3237
- [13] Meot-Ner M (1988) *J Am Chem Soc* **110**: 3071
- [14] Catalan J, Elguero J (1983) *J Chem Soc Perkin Trans* **2**:1869
- [15] Ibrahim MH, Duce PP, Prior DV, Barratt DG, Morris JJ, Taylor PJ (1989) *J Chem Soc Perkin Trans* **2**: 1355
- [16] Bugarčić ŽD, Nandibewoor ST, Hamza MSA, Heinemann F, van Eldik R (2006) *Dalton Trans* 2984
- [17] Tobe ML, Burgess J (1999) *Inorganic Reaction Mechanisms*, Addison Wesley Longman Inc., Essex, p 74
- [18] Kotowski M, van Eldik R (1986) In: van Eldik R (ed) *Inorganic High-Pressure Chemistry: Kinetics and Mechanisms*, Ch 4. Elsevier, Amsterdam
- [19] Joule JA, Smith GF (1972) *Heterocyclic Chemistry*. Chapman and Hall, London
- [20] Annibale G, Brandolisio M, Pitteri B (1995) *Polyhedron* **14**: 451
- [21] Appleton TGA, Hall RJ, Ralph SF, Thompson CSM (1984) *Inorg Chem* **23**: 3521
- [22] Bugarčić ŽD, Petrović BV, Jelić R (2001) *Trans Met Chem* **26**: 668

Kinetics and mechanism of the substitution reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ and their aqua analogues with L-methionine, glutathione and 5'-GMP

Živadin D. Bugarčić · Jovana Rosić ·
Biljana Petrović · Nadine Summa ·
Raph Puchta · Rudi van Eldik

Received: 7 June 2007 / Accepted: 23 July 2007
© SBIC 2007

Abstract The substitution reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ and $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$ [where bpma is bis(2-pyridylmethyl)amine and gly-met-*S,N,N* is glycylmethionine] with L-methionine, glutathione and guanosine 5'-monophosphate (5'-GMP) were studied in aqueous solutions in 0.10 M NaClO_4 under pseudo-first-order conditions as a function of concentration and temperature using UV-vis spectrophotometry. The reactions of the chloro complexes were followed in the presence of 10 mM NaCl and at pH \sim 5, whereas the reactions of the aqua complexes were studied at pH 2.5. The $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ complex is more reactive towards the chosen nucleophiles than $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$. Also, the aqua complexes are more reactive than the corresponding chloro complexes. The activation parameters for all the reactions studied suggest an associative substitution mechanism. The reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ with 5'-GMP were studied by using ^1H NMR spectroscopy at 298 K. The $\text{p}K_a$ value of the $[\text{Pt}(\text{gly-met-}$

S,N,N)(H_2O)] $^+$ complex is 5.95. Density functional theory calculations (B3LYP/LANL2DZp) show that in all cases guanine coordination to the L_3Pt fragment (L_3 is terpyridine, bpma, diethylenetriamine, gly-met-*S,N,N*) is much more favorable than the thioether-coordinated form. The calculations collectively support the experimentally observed substitution of thioethers from Pt(II) complexes by N7-GMP. This study throws more light on the mechanistic behavior of platinum antitumor complexes.

Keywords Platinum(II) complexes · Thioethers · Guanosine 5'-monophosphate · Kinetics · Mechanism

Introduction

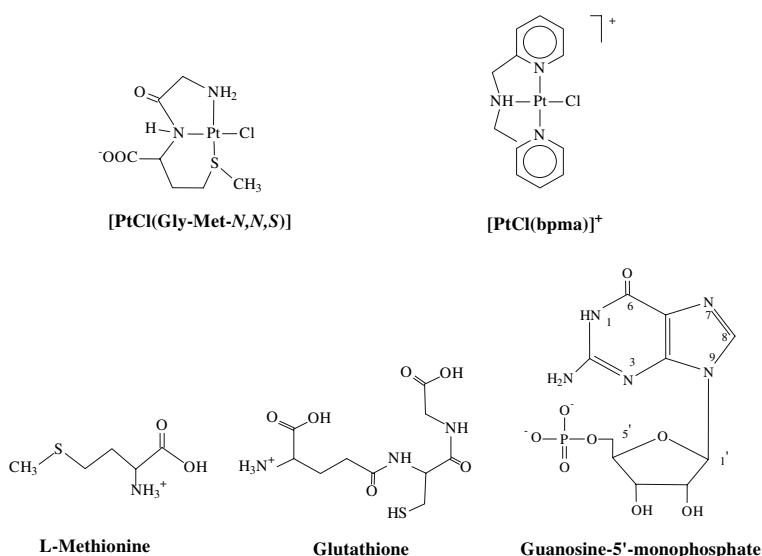
The chemistry of platinum complexes is important from a biological and medicinal point of view. Some Pt(II) complexes, viz., cisplatin, carboplatin and oxaliplatin, are extensively used as anticancer drugs in chemotherapy. Over the last 30 years many other platinum drugs have been developed in an attempt to improve on cisplatin [1–4]. More recently, there have been efforts to direct the design of nonclassic platinum complexes, such as orally active Pt(IV) complexes, sterically hindered Pt(II) complexes, polynuclear Pt(II) complexes and sulfur-containing platinum complexes [5, 6]. Although the precise mechanism underlying the antitumor action of platinum drugs is not fully understood, the activity has been accounted for in terms of the interaction between the metal complex and DNA primarily by forming bifunctional adducts [1, 2]. Experiments have demonstrated that cisplatin binding to DNA is kinetically rather than thermodynamically controlled [7]. However, the application of platinum drugs has been greatly hampered by drug

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00775-007-0283-1) contains supplementary material, which is available to authorized users.

Ž. D. Bugarčić (✉) · J. Rosić · B. Petrović
Department of Chemistry,
Faculty of Science,
University of Kragujevac,
R. Domanovića 12,
P.O. Box 60,
34000 Kragujevac, Serbia

Ž. D. Bugarčić · N. Summa · R. Puchta · R. van Eldik (✉)
Institute for Inorganic Chemistry,
University of Erlangen-Nürnberg,
Egerlandstrasse 1,
91058 Erlangen, Germany
e-mail: vaneldik@chemie.uni-erlangen.de

Fig. 1 Structures of the complexes and ligands studied



resistance and several side effects [8–12]. Moreover, poor solubility in aqueous solution is also inconvenient in clinical application.

There are many other potential biomolecules that can also react with these Pt(II) complexes, such as small molecules, proteins and enzymes. In fact, already in blood where the Pt drug is administered by injection or infusion, several molecules are available for kinetic and thermodynamic competition [8–10]. Binding to DNA eventually leads to an altered protein conformation and changes in biological activity, especially when enzymatic reactions are affected. Sulfur-containing molecules have a high affinity for platinum and could form very stable bonds. Moreover, the interaction of platinum complexes with sulfur-containing biomolecules has been associated with negative phenomena such as nephrotoxicity, gastrointestinal toxicity, ototoxicity, cardiotoxicity and neurotoxicity [7–12].

Competition studies of Pt(II) complexes with *L*-methionine (S-met) and guanosine 5'-monophosphate (5'-GMP) have demonstrated that a transfer from the thioether ligand to the N7-guanine site can occur [13–18], with the result that such Pt–S(thioether) adducts can presumably serve as a drug reservoir for platination at DNA [9]. Although such substitution of thioether by guanine seems to be common, any measurable transformation from Pt–S(thiol) to Pt–N7 coordination was not observed [19, 20]. The Pt–S(cysteine) bond is considered to be kinetically more inert.

Monofunctional Pt(II) complexes such as $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ or $[\text{PtCl}(\text{terpy})]^+$ (dien is diethylenetriamine and terpy is terpyridine) are very useful models for studying the ligand-substitution reactions of square-planar complexes. We have reported the kinetics of the complex-formation reactions of $[\text{Pt}(\text{terpy})\text{X}]^{2+}$, where X is H_2O , Cl^- , *L*-cysteine and guanosine, with some nitrogen-donor and

sulfur-donor biologically relevant nucleophiles [21, 23]. It has recently been shown that some monofunctional complexes of Pt(II) also have antitumor activity [24, 25]. With the aim to extend our recent work [26, 27], we report here kinetic studies on complex-formation reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, $[\text{PtCl}(\text{gly-met-S,N,N})]$ and their aqua analogues with 5'-GMP, glutathione (GSH) and S-met [bpma is bis(2-pyridylmethyl)amine, gly-met-S,N,N is glycylmethionine]. These nucleophiles were investigated because of their different nucleophilicity, steric hindrance, binding properties and biological relevance. The structures of the complexes and nucleophiles studied are shown in Fig. 1.

Materials and methods

Chemicals and ligands

The ligands S-met, GSH, 5'-GMP sodium salt, bpma and gly-met-S,N,N were obtained from Fluka and Acros Organics, and were used without further purification. Potassium tetrachloroplatinate (K_2PtCl_4) was purchased from Strem Chemicals. D_2O (Deutero, 99.9%), $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{D}$ (Aldrich, 98%) and $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ (Aldrich) are commercially available and were used as received. All the other chemicals were of the highest purity commercially available. Ultrapure water was used for the kinetic as well as spectrophotometric measurements. Nucleophile stock solutions were prepared shortly before use by dissolving the chemicals. The ionic strength of all solutions was 0.10 M, adjusted with NaClO_4 . NaCl (10 mM) was added to the solutions of chloro complexes to prevent their spontaneous hydrolysis.

Synthesis of complexes

The complexes [PtCl(bpma)]Cl and [PtCl(gly-met-*S,N,N*)]·H₂O, chloro(glycyl-*L*-methioninato)platinum(II) monohydrate, were prepared according to published procedures [23, 28, 29]. Chemical analysis, ¹H NMR and UV–vis spectroscopic data were in good agreement with the previously obtained data. The two aqua complexes were prepared from their corresponding chloro complexes by addition of the corresponding amount of AgClO₄ to a solution of the chloro complex and stirring at 323 K for 8 h. The white precipitate that formed (AgCl) was filtered off using a Millipore filtration unit, and the solutions were diluted. Great care was taken to ensure that the resulting solutions were free of Ag⁺ ions and that the chloro complexes had been converted completely into the aqua species. Since it is known that perchlorate ions do not coordinate to Pt(II) and Pd(II) in aqueous solution [30], the kinetics of the complex-formation reactions were studied in perchlorate medium. The ionic strength of the solutions was adjusted to 0.10 M with NaClO₄ (Merck, pro analysi). The pH of the solutions was adjusted to 2.5 with HClO₄ and NaOH.

Instrumentation and measurements

A 300-MHz NMR spectrometer (Bruker Avance DPX 300) and a Carlo Erba Analyzer 1106 were used for complex characterization and chemical analysis, respectively. All chemical shifts were referenced to trimethylsilylpropionic acid in D₂O (TSP). UV–vis spectra for the determination of the p*K*_a value and for kinetic studies were recorded using a PerkinElmer Lambda 35 double-beam spectrophotometer equipped with thermostated 1.00-cm quartz Suprasil cells. Temperature was controlled to ±0.1 K. The pH of the solution was measured using a Mettler Delta 350 digital pH meter with a combination glass electrode. This electrode was calibrated using standard buffer solutions of pH 4, 7 and 9 obtained from Sigma. In D₂O solutions, pD was measured with an inoLab SenTix[®] Mic pH microelectrode. All pD measurements were performed at 298 K.

Kinetic measurements

The kinetics of the substitution of coordinated chloride or water was followed spectrophotometrically by following the change in absorption at suitable wavelengths as a function of time. The working wavelengths were determined by recording the spectra of the reaction mixture over the wavelength range between 220 and 450 nm and are given in Table 1. All kinetic experiments were performed under pseudo-first-order conditions. The reactions were

initiated by mixing equal volumes of complex and ligand solutions (1.5 mL) in the quartz cuvette. The concentration of ligand solution was always large enough (at least a tenfold excess) to provide pseudo-first-order conditions. The kinetic traces gave an excellent fit to a single exponential. All reported pseudo-first-order rate constants, *k*_{obsd}, represent an average value of two to four independent kinetic runs for each experimental condition. All reactions were studied at three different temperatures.

Determination of the p*K*_a value of the [Pt(gly-met-*S,N,N*)(H₂O)]⁺ complex

Spectrophotometric pH titrations of complex solutions were performed with NaOH as a base at 298 K. To avoid absorbance corrections due to dilution, a large volume (300 mL) of the complex solution was used in the titration. The change in pH from 2 to approximately 3 was achieved by addition of known amounts of crushed pellets of NaOH. The consecutive pH changes were obtained by adding drops of saturated solutions of NaOH, 1 or 0.1 M, using a micropipette. To avoid contamination released by the pH electrode, it was necessary to take 2-mL aliquots from the solution into narrow vials for the pH measurements. The aliquots were discarded after the measurements. The total reversibility of the titration could be achieved by subsequent addition of HClO₄.

¹H NMR measurements

¹H NMR kinetic experiments on the chloro complexes, [PtCl(bpma)]⁺ and [PtCl(gly-met-*S,N,N*)], with 5'-GMP as an entering nucleophile were studied on freshly prepared samples of the reactants in D₂O. The measurements were performed with a commercial 5-mm Bruker broadband probe thermostated with a Bruker B-VT 3300 (DPX)/3000 (DRX) variable-temperature unit. All chemical shifts are referenced to TSP. A 10 or 12 mM solution of the complex was prepared in 300 μL D₂O approximately 10 min prior to the start of the kinetic experiment and put in an ultrasonic bath until complete dissolution (2 min). A total of 300 μL of a solution of 10 or 12 mM 5'-GMP in D₂O, whose pD (pD = pH + 0.4) [31] was adjusted with CF₃SO₃D to 7.0, was added to initiate the reaction and the spectra were recorded immediately as a function of time at 298 K.

Quantum chemical methods

We performed B3LYP/LANL2DZp hybrid density functional theory (DFT) calculations, i.e., with pseudopotentials on the heavy elements and the valence basis set augmented

Table 1 Rate constants and activation parameters for the reactions studied

	[PtCl(gly-met- <i>S,N,N</i>)] ^a					[PtCl(bpma)] ⁺ ^a				
	λ (nm)	T (K)	$10^2 k_2$ (M ⁻¹ s ⁻¹)	ΔH^\ddagger (kJ mol ⁻¹)	ΔS^\ddagger (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	λ (nm)	T (K)	$10^2 k_2$ (M ⁻¹ s ⁻¹)	ΔH^\ddagger (kJ mol ⁻¹)	ΔS^\ddagger (J K ⁻¹ mol ⁻¹)
S-met	247	288.1	3.7 ± 0.1	20 ± 1	-201 ± 2	275	288.1	10.6 ± 0.9	24 ± 4	-179 ± 13
		298.0	5.0 ± 0.2				297.9	14 ± 1		
		308.1	6.8 ± 0.1				308.1	22 ± 1		
GSH	247	288.0	2.2 ± 0.2	30 ± 1	-171 ± 3	280	287.9	2.7 ± 0.2	20 ± 3	-203 ± 12
		298.1	3.4 ± 0.2				298.0	4.1 ± 0.1		
		308.1	5.3 ± 0.2				308.0	5.0 ± 0.2		
5'-GMP ^c	NMR	298.0	(4.49 ± 0.04) × 10 ⁻²			NMR	298.0	5.48 ± 0.06		

	[Pt(gly-met- <i>S,N,N</i>)(H ₂ O)] ⁺ ^b					[Pt(bpma)(H ₂ O)] ²⁺ ^b				
	λ (nm)	T (K)	$10^2 k_3$ (M ⁻¹ s ⁻¹)	ΔH^\ddagger (kJ mol ⁻¹)	ΔS^\ddagger (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	λ (nm)	T (K)	$10^2 k_3$ (M ⁻¹ s ⁻¹)	ΔH^\ddagger (kJ mol ⁻¹)	ΔS^\ddagger (J K ⁻¹ mol ⁻¹)
S-met	280	288.1	6.1 ± 0.2	18 ± 2	-206 ± 8	260	288.0	71 ± 1	24 ± 4	-160 ± 12
		298.0	7.6 ± 0.1				298.2	104 ± 4		
		308.1	10.5 ± 0.4				307.9	144 ± 4		
GSH	260	288.0	3.3 ± 0.1	30 ± 1	-168 ± 4	260	288.2	32 ± 1	17 ± 2	-209 ± 8
		298.1	5.1 ± 0.2				298.0	39 ± 1		
		308.1	8.1 ± 0.2				308.1	49 ± 2		

Ionic strength 0.10 M (NaClO₄)

S-met-methionine, *GSH* glutathione, *5'-GMP* guanosine 5'-monophosphate, gly-met-*S,N,N* glycylmethionine, *bpma* bis(2-pyridylmethyl)amine

^a pH ~ 5, 10 mM NaCl

^b pH 2.5

^c pH 7; 298 K

with polarization functions [32–39].¹ While optimizing the structures, we applied no constraints other than symmetry. In addition, the resulting structures were characterized as minima by computation of vibrational frequencies. The relative energies were corrected for zero point vibrational energies throughout. The Gaussian 03 suite of programs was used [47]. The influence of the bulk solvent was evaluated via single-point calculations using the CPCM [48, 49] formalism, i.e., B3LYP(CPCM)/LANL2DZp/-/B3LYP/LANL2DZp and water as a solvent.

Results and discussion

Reactions with S-met and GSH

The substitution reactions of monofunctional complexes of Pt(II) with S-met and GSH were studied under pseudo-first-order conditions using UV–vis spectrophotometry. The substitution reactions of the aqua complexes, [Pt(gly-met-*S,N,N*)(H₂O)]⁺ and [Pt(bpma)(H₂O)]²⁺, were studied in

0.10 M NaClO₄ at pH 2.5, whereas the substitution reactions of the corresponding chloro complexes, [PtCl(gly-met-*S,N,N*)] and [PtCl(bpma)]⁺, were studied in 0.10 M NaClO₄ at pH ~ 5. A total of 10 mM NaCl was added to the solutions of the chloro complexes to prevent the spontaneous hydrolysis reaction.

The plots in Figs. 2, 3, 4, and 5 indicate that k_{obsd} for these substitution reactions (the data are given in Tables S1–S8) increases with increasing nucleophile concentration and that significant intercepts are observed in all cases.

Substitution reactions of square-planar complexes can in general proceed according to two parallel pathways [50], viz., direct nucleophile attack characterized by rate constant k_2 , and an aquation pathway in which a highly labile aqua complex is formed in the rate-determining step given by k_1 in Scheme 1.

Under pseudo-first-order conditions, these rate constants can be determined from the slopes and intercepts of the plots given in Figs. 2 and 3 according to Eq. 1:

$$k_{\text{obsd}} = k_1 + k_2[\text{nucleophile}]. \quad (1)$$

However, under our selected experimental conditions (viz., 10 mM NaCl added to the chloro complexes), the

¹ The performance of the computational level employed in this study is well documented; for example, see [40–46].

Fig. 2 Observed pseudo-first-order rate constants, k_{obsd} , as a function of nucleophile concentration and temperature for substitution reactions of $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ in 0.10 M NaClO_4 , 10 mM Cl^- at pH ~ 5

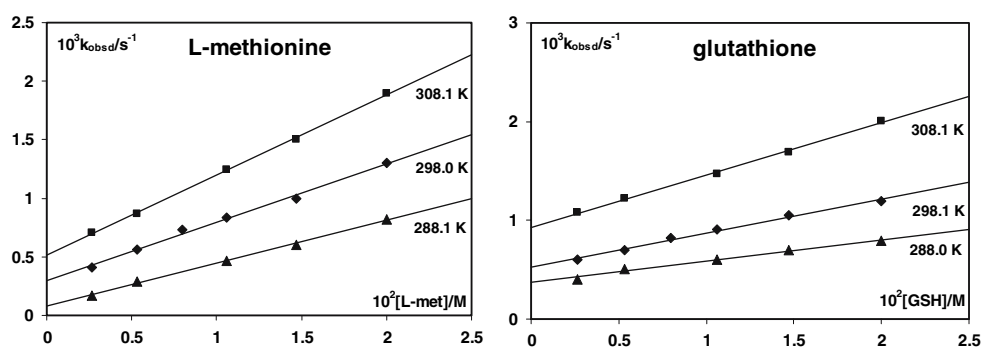


Fig. 3 Observed pseudo-first-order rate constants, k_{obsd} , as a function of nucleophile concentration and temperature for substitution reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ in 0.10 M NaClO_4 , 10 mM Cl^- at pH ~ 5

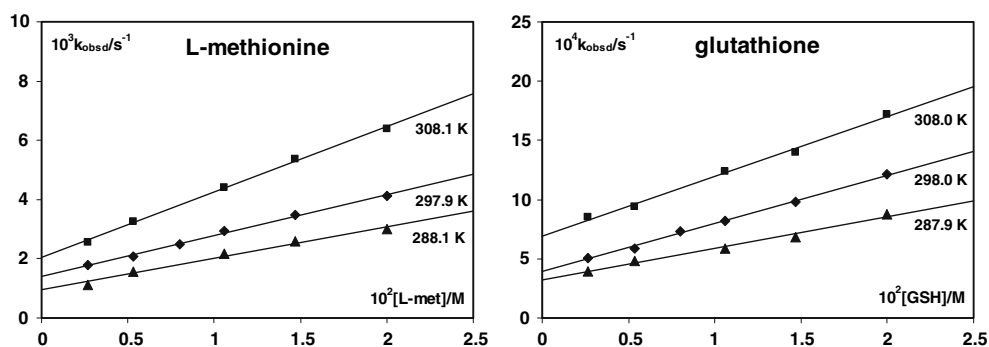


Fig. 4 Observed pseudo-first-order rate constants, k_{obsd} , as a function of nucleophile concentration and temperature for substitution reactions of $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$ in 0.10 M NaClO_4 at pH 2.5

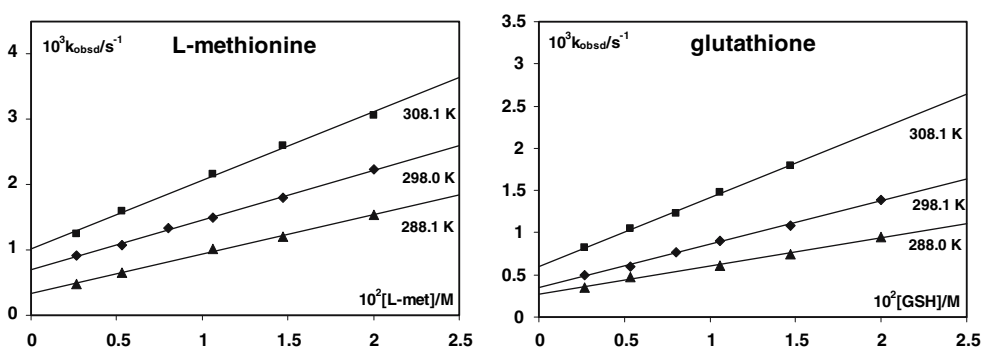
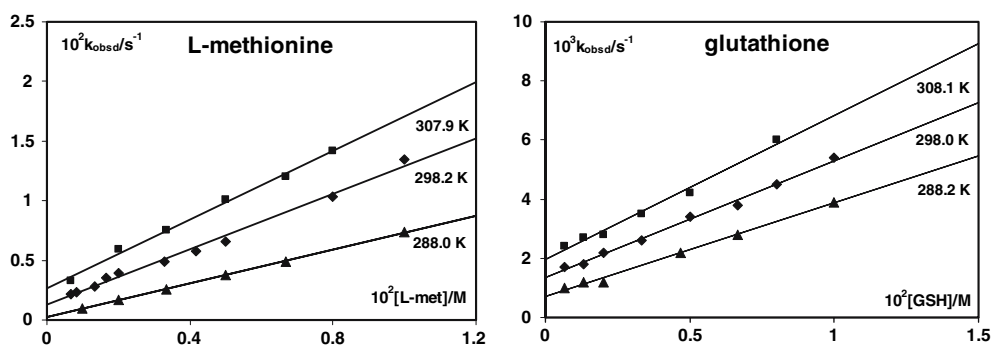
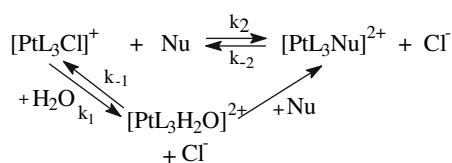


Fig. 5 Observed pseudo-first-order rate constants, k_{obsd} , as a function of nucleophile concentration and temperature for substitution reactions of $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ in 0.10 M NaClO_4 at pH 2.5



parallel aquation reaction can be suppressed since the addition of chloride accelerates the k_{-1} step, and the observed kinetic data can be ascribed to a reversible substitution process. The same is true in the case of the aqua complexes for which no parallel aquation reaction can

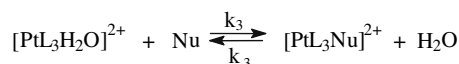
occur. The kinetic data in Figs. 4 and 5 suggest that the substitution reactions involve a reversible process characterized by the rate constants k_3 for direct substitution of coordinated water by the nucleophile and k_{-3} for the reverse aquation reaction shown in Scheme 2.



$L_3 = \text{bpma}$ or gly-met

$\text{Nu} = \text{S-met, GSH}$ or $5'\text{-GMP}$

Scheme 1 Substitution reactions of square-planar complexes. *Nu* nucleophile, *bpma* bis(2-pyridylmethyl)amine, *gly-met* glycyilmethionine, *S-met*-methionine, *GSH* glutathione, *5'-GMP* guanosine 5'-monophosphate



$L_3 = \text{bpma}$ or gly-met

$\text{Nu} = \text{S-met, GSH}$ or $5'\text{-GMP}$

Scheme 2 The substitution reactions involve a reversible process

These rate constants were obtained from the linear dependence of k_{obsd} on the nucleophile concentration according to Eq. 2:

$$k_{\text{obsd}} = k_{-3} + k_3[\text{nucleophile}]. \quad (2)$$

The dependence of the observed rate constants on the nucleophile concentrations and temperature resulted in rate constants and activation parameters (ΔH^\ddagger and ΔS^\ddagger) for the displacement of coordinated water or chloride, which are summarized in Table 1.

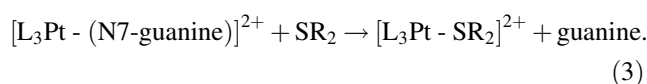
The nucleophilic attack of these ligands occurs via the sulfur donor of the thioether group in the case of S-met, and of the thiol group in the case of GSH. S-met appears to be a better nucleophile than GSH under these experimental conditions (Table 1). This could be explained by the positive inductive effect of the methyl group on the sulfur donor. Moreover, these results are very interesting because Pt-S(thioether) adducts have been postulated to be a drug reservoir for platinum at DNA and may act as intermediate platinum compounds to transform them into Pt-DNA adducts [9, 51–53]. Pt-DNA adducts are bound to platinum ions via the guanosine moieties at N7.

Transformation from Pt-S(thioether) to Pt-N7(GMP) coordination seems to be common. To obtain more quantitative data for the stability differences between Pt-DNA and Pt-S(thioether) adducts, we performed DFT calculations applying the model reaction (Eq. 3) (L_3 is terpy, bpma, dien, gly-met-*S,N,N*), where guanine approximates the guanosine-based interactions and SR_2 represents a generic thioether:

Table 2 Density functional theory calculations for the model reaction given in Eq. 3

L_3	B3LYP/LANL2DZp (kcal mol ⁻¹)	B3LYP(CPCM)/ LANL2DZp// B3LYP/LANL2DZp (kcal mol ⁻¹)
terpy	27.7	13.0
bpma	28.7	12.8
dien	34.1	11.0
gly-met- <i>S,N,N</i>	21.5	9.5
gly-met- <i>S,N,N</i> (without hydrogen bonding)	17.5	8.5

terpy terpyridine, *dien* diethylenetriamine



In all cases guanine coordination to the $L_3\text{Pt}$ fragment is much more favored than thioether coordination. Since terpy and bpma have pyridines as external coordinating moieties, the guanine-coordinated species will not gain extra stabilization by $\text{NH}(\text{L}_3\text{Pt}) \cdots \text{O}$ hydrogen bonds as in the case of dien (1.79 Å) and gly-met-*S,N,N* (1.90 Å). For $[\text{Pt}(\text{guanine})(\text{gly-met-}S,N,N)]^+$ we turned off the hydrogen-bonding-based additional stabilization by a slight rotation around the Pt–N7 bond (twist angle S–Pt–N7–O_{C6} of 67.5° vs. N–Pt–N7–O_{C6} of 47.3° used before), which leads to a 4 kcal mol⁻¹ less stable local minimum. Without this hydrogen bonding, guanine coordination is still clearly favored.

To evaluate the bulk solvent effects, we performed single-point CPCM calculations [B3LYP(CPCM)/LANL2DZp//B3LYP/LANL2DZp]. As shown in Table 2, the DFT calculated energy is lowered to less than 50% although guanine coordination is still clearly favored.

The $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complexes are more reactive than $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ and $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$. This can be explained by the steric effect of the coordinated S–CH₃ group in the *cis* position in $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$ and $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$. Moreover, another reason for the higher reactivity of the $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ and $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ complexes is the presence of two pyridine rings in the coordination sphere. This has been studied in detail for a set of monofunctional Pt(II) complexes with tridentate ligands in which the number and position of the amine and pyridine groups were systematically varied [23]. The presence of π -acceptor ligands promotes the electrophilicity of the metal center and thereby the nucleophilic attack [23, 54]. This behavior distinguishes these complexes from classic platinum drugs where such effects are not present, and the higher

electrophilicity of the metal center further leads to the occurrence of the k_{-2} step, i.e., aquation of the adducts formed.

The aqua complexes studied are more reactive than the corresponding chloro complexes. The coordinated water molecule on Pt(II) centers has been shown to be very labile and can more easily be substituted than a stronger nucleophilic leaving group such as chloride. The substitution of chloride by S-met in the $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ complex is 3 times faster than in $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, whereas the substitution of chloride in these complexes by GSH is approximately the same. It is a little faster in the case of the $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ complex. Substitution of water in the $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complex by S-met is 14 times faster than in the case of $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)\text{H}_2\text{O}]^+$ and 8 times faster for the reactions with GSH. Furthermore, the results obtained for the reaction of $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ with GSH are in good agreement with earlier published results [55]. The smaller difference in the reactivity between aqua and chloro complexes could also be explained by the steric effects of the complex and the bulkiness of the ligands as well. The difference in the reactivity in the complexes with gly-met- S,N,N is between 1.5 and 2, whereas in the case of the bpma complexes it is between a factor of 7 and 10.

An intercept is observed for all the reactions studied (from 6×10^{-4} to $2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) in spite of sulfur-bonding nucleophiles being investigated. This is ascribed to a reverse reaction induced by the higher electrophilicity of the metal center in these complexes compared with classic platinum drugs. In the case of the chloro complexes, extra chloride was added (10 mM) to suppress the spontaneous hydrolysis of the complexes, i.e., formation of the aqua species, and to prevent parallel reactions. Reverse reactions were also observed in the case of the aqua complexes, which could be explained by steric effects of the complexes and nucleophiles. The $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ complex has a voluminous methyl group in the *cis* position, and $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ has two pyridines also in the *cis* position (Fig. 1).

The thermal activation parameters were determined from the variable-temperature data using the Eyring equation, and are summarized in Table 1. The negative ΔS^\ddagger values for all reactions are indicative of an associative substitution mechanism, which is well accepted in the literature for square-planar complexes [26, 56].

^1H NMR kinetics with 5'-GMP

^1H NMR spectroscopy was used to investigate the substitution reactions of the chloro complexes $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ with 5'-GMP. The substitution reactions were studied in D_2O at 298 K. The pD (i.e.,

pH + 0.4) [31] of the reaction mixture was adjusted with $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{D}$ to 7.0. It is known that the N7 site of 5'-GMP is strongly favored to bind to metal ions [57], but in principle both N1 and N7 of 5'-GMP can coordinate depending on the pH of the solution. Binding through the N7 position in a neutral or weakly acidic medium has been verified [22, 58–60]. The region of the H1' and H8 protons of 5'-GMP is most suitable to reflect the changes from coordination at N7, so these signals were used to follow the reaction. The signals for the H1' and H8 protons of free 5'-GMP are shifted downfield following coordination to the Pt(II) center. The ^1H NMR peak intensity of the H8 proton of free 5'-GMP ($\delta = 8.16 \text{ ppm}$) decreases in intensity, and a new peak for coordinated 5'-GMP appeared in the spectrum at $\delta = 8.71 \text{ ppm}$ in the reaction with $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, and at $\delta = 8.62 \text{ ppm}$ in the reaction with $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$. Second-order rate constants, k_2 , were obtained from Eq. 4:

$$k_2 t = \frac{x}{a_0(a_0 - x)}, \quad (4)$$

where a_0 is the initial concentration of reactants and x is the concentration of the product.

The Guggenheim plots [61], in which $x/a_0(a_0 - x)$ is plotted against time for the reactions of $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ and $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ with 5'-GMP, show straight lines that pass through the origin as shown in Figs. 6 and 7 (Tables S9, S10). The values of the second-order rate constant, k_2 , was calculated from the slopes of these lines according to Eq. 4, and are included in Table 1.

The reaction of $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ with 5'-GMP is approximately 50 times slower than the reactions of this complex with S-met or GSH. This could be accounted for in terms of steric effects of the incoming 5'-GMP and the

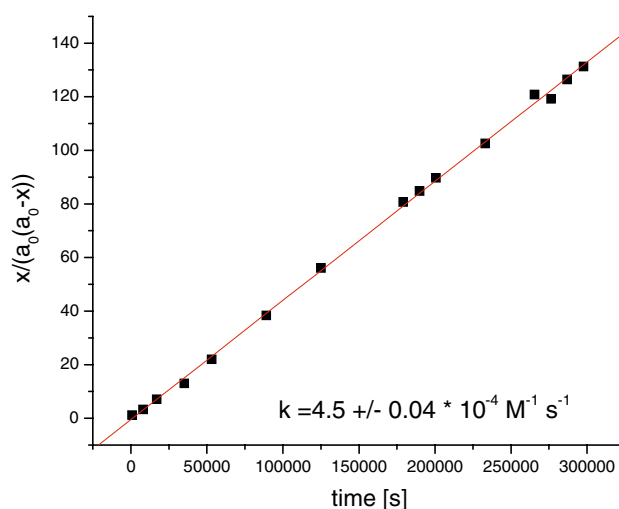


Fig. 6 Second-order Guggenheim plots of $x/a_0(a_0 - x)$ versus time for the reaction of $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$ (6 mM) with 5'-GMP (6 mM), pH 7.0 and 298 K. The slope equals k_2 ($\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)

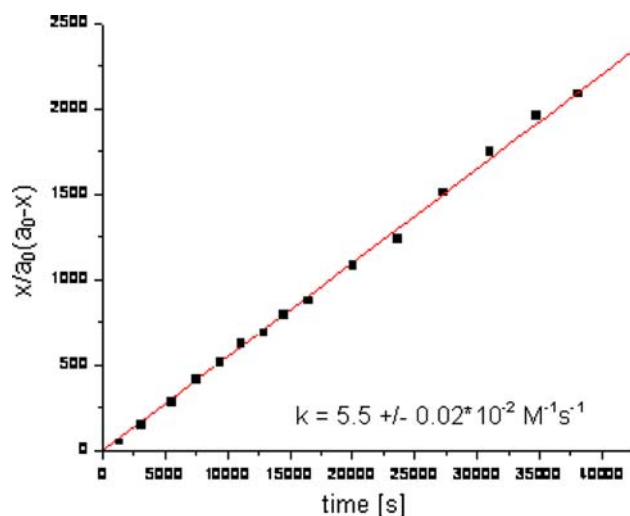
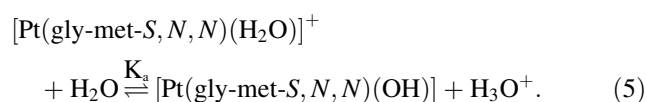


Fig. 7 Second-order Guggenheim plots of $x/a_0(a_0 - x)$ versus time for the reaction between $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ (4.72 mM) and 5'-GMP (4.72 mM), pH 7.0 and 298 K. The slope equals k_2 ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)

complex as well. On the other hand, for the reactions with $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ the rate constants are of the same order of magnitude, but S-met is the best nucleophile and 5'-GMP is the poorest one. However, the $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ complex is much more reactive towards 5'-GMP than $[\text{PtCl}(\text{gly-met-}S,N,N)]$, which could be accounted for in terms of steric crowding of the complex. This means that at or near neutral pH, the nitrogen-bonding bases cannot compete with sulfur-containing (thiol or thioethers) amino acids and peptides. This is in agreement with earlier published findings [14, 62].

Acidity of the $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$ complex

In general there is a correlation between the $\text{p}K_a$ values of coordinated water molecules and the electronic structure of the complexes. The more π -acceptors in the complex, the lower the $\text{p}K_a$ values [23]. Figure 8 shows an example of the spectral changes observed during the pH titration of $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$. In the pH range from 2 to 11, the spectra exhibit three different absorbance maxima, and two isosbestic points. This suggests that there are only two species present in solution as a function of pH, viz., aqua and hydroxo complexes. The overall process can therefore be represented by the reaction in Eq. 5:



Plots of absorbance versus pH at specific wavelengths were used to determine the $\text{p}K_a$ value of the coordinated water molecule. The data were fitted using a nonlinear

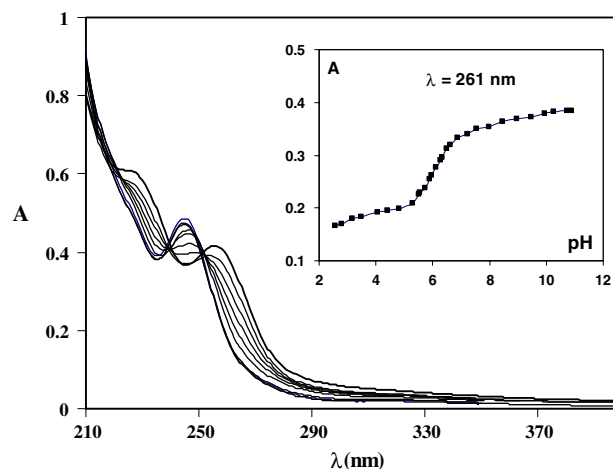


Fig. 8 Spectra recorded for the titration of $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$ with base in the pH range 1–11. The concentration of the complex was $1.2 \times 10^{-4} \text{ M}$ in 0.10 M NaClO_4 at 298 K. *Inset*: Absorbance versus pH at the specified wavelength

least-squares procedure, as shown in the inset in Fig. 8. The $\text{p}K_a$ value for this complex is 5.95 ± 0.04 and is summarized along with data for related complexes in Table 3.

The reported $\text{p}K_a$ value is lower than the corresponding value for the $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ complex, but higher than for the complexes with pyridine rings, viz., $[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ and $[\text{Pt}(\text{terpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$. It has also been shown that complexes with two (bpma) or three (terpy) pyridine rings are more reactive as a result of a decrease in electron density on the Pt(II) center [23]. As a consequence, a lower $\text{p}K_a$ value for the $[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$ complex than for $[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ could be accounted for by the strong *cis* effect of the coordinated S-CH₃ group of the gly-met-*S,N,N* ligand as compared with the effect of NH₂ group of the dien ligand.

Conclusions

In conclusion, this study demonstrated that sulfur-bonding nucleophiles have a high affinity for Pt(II) complexes. S-met is a better nucleophile than GSH under the selected experimental conditions. The $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ complex is more

Table 3 $\text{p}K_a$ values for Pt(II) aqua complexes

$[\text{Pt}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$	$[\text{Pt}(\text{gly-met-}S,N,N)(\text{H}_2\text{O})]^+$	$[\text{Pt}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$	$[\text{Pt}(\text{terpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$	References
6.26 ± 0.10		5.53 ± 0.07	4.62 ± 0.04	[23]
	5.95 ± 0.04			This work
		5.49 ± 0.08		[28]

Ionic strength 0.10 M (NaClO_4), 298 K

reactive than [PtCl(gly-met-*S,N,N*)]. Also, the aqua complexes are as expected more labile than the corresponding chloro forms. The activation parameters for all the reactions studied suggest an associative substitution mechanism. The pK_a value of the [Pt(gly-met-*S,N,N*)(H₂O)]⁺ complex is 5.95. Transformation from the Pt–S(thioether) to nitrogen coordination, e.g., Pt–N7(GMP), seems to be common, and here DFT calculations (B3LYP/LANL2DZp) showed that in all cases guanine coordination to the L₃Pt fragments (L₃ is terpy, bpma, dien, gly-met-*S,N,N*) is much more favorable than coordination of thioether. The calculations collectively support the experimentally observed substitution of thioethers bound to Pt(II) complexes by N7-GMP.

Acknowledgements The authors gratefully acknowledge financial support from the Ministry of Science and Technology, Republic of Serbia (project no. 142008) and the Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 583 “Redox-active metal complexes”). We thank Tim Clark for hosting this work at the CCC and the Regionales Rechenzentrum Erlangen (RZSE) for a generous allotment of computer time.

References

- Wang D, Lippard SJ (2005) *Nat Rev Drug Discov* 4:307–320
- Lippert B (1999) *Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug*. Wiley, Zurich
- Furtes MA, Alonso C, Pérez JM (2003) *Chem Rev* 103:645–662
- Jakubec MA, Galanski M, Keppler BK (2003) *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 146:1–53
- Esposito BP, Najjar R (2002) *Coord Chem Rev* 232:137–149
- Wong E, Giandomenico CM (1999) *Chem Rev* 99:2451–2466
- Jamieson ER, Lippard SJ (1999) *Chem Rev* 99:2467–2498
- van Zutphen S, Reedijk J (2005) *Coord Chem Rev* 249:2845–2853
- Reedijk J (1999) *Chem Rev* 99:2499–2510
- Reedijk J (2003) *Proc Natl Acad Sci USA* 100:3611–3616
- Zorbas H, Keppler BK (2005) *ChemBiochem* 6:1157–1166
- Dor RT (1996) *Platinum and other metal coordination compounds in cancer chemotherapy*. Plenum, New York, pp 131–154
- Soldatović T, Bugarčić ŽD (2005) *J Inorg Biochem* 99:1472–1479
- Bose RN, Moghaddas S, Weaver EL, Cox EH (1995) *Inorg Chem* 34:5878–5883
- Barnham KJ, Djuran MI, Murdoch PDS, Sadler PJ (1994) *J Chem Soc Chem Commun* 6:721–722
- Teuben JM, van Boom SSGE, Reedijk J (1977) *J Chem Soc Dalton Trans* 3979–3980
- Barnham KJ, Guo Z, Sadler PJ (1996) *J Chem Soc Dalton Trans* 2867–2876
- Barnham KJ, Djuran MI, Murdoch PDS, Ranford JD, Sadler PJ (1995) *J Chem Soc Dalton Trans* 3721–3726
- Teuben JM, Zubiri MRI, Reedijk J (2000) *Chem Soc Dalton Trans* 369–372
- Bugarčić ŽD, Soldatović T, Jelić R, Alguero B, Grandas A (2004) *Dalton Trans* 22:3869–3877
- Bugarčić ŽD, Liehr G, van Eldik R (2002) *J Chem Soc Dalton Trans* 14:2825–2830
- Bugarčić ŽD, Heinemann FW, van Eldik R (2004) *Dalton Trans* 2:279–286
- Hofmann A, Jaganyi D, Munro QO, Liehr G, van Eldik R (2003) *Inorg Chem* 42:1688–1700
- Guo X, Wang X, Ding J, Lin L, Li Y, Guo Z (2006) *Inorg Chem Commun* 9:722–726
- Zhang J, Wang X, Tu C, Lin J, Ding J, Lin L, Wang Z, He C, Yan C, You X, Guo Z (2003) *J Med Chem* 46:3502–3507
- Summa N, Schiessl W, Puchta P, van Eikema Hommes N, van Eldik R (2006) *Inorg Chem* 45:2948–2959
- Summa N, Soldatović T, Dahlenburg L, Bugarčić ŽD, van Eldik R (2007) *J Biol Inorg Chem* 12:461–475
- Jaganui D, Tiba F, Munro OQ, Petrović B, Bugarčić ŽD (2006) *Dalton Trans* 2943–2949
- Bugarčić ŽD, Ilić D, Djuran M (2001) *Aust J Chem* 54:237–240
- Appleton TG, Hall JR, Ralph SF, Thompson CSM (1984) *Inorg Chem* 23:3521–3525
- Mikkelsen K, Nielsen SO (1960) *J Phys Chem* 64:632–637
- Becke AD (1993) *J Phys Chem* 97:5648–5652
- Lee C, Yang W, Parr RG (1988) *Phys Rev B* 37:785–789
- Stephens PJ, Devlin FJ, Chabalowski CF, Frisch MJ (1994) *J Phys Chem* 98:11623–11627
- Dunning TH Jr, Hay PJ (1976) *Mod Theor Chem* 3:1–28
- Hay PJ, Wadt WR (1985) *J Chem Phys* 82:270–283
- Hay PJ, Wadt WR (1985) *J Chem Phys* 82:284–298
- Hay PJ, Wadt WR (1985) *J Chem Phys* 82:299–310
- Huzinaga S (ed) (1984) *Gaussian basis sets for molecular calculations*. Elsevier, Amsterdam
- Schiessl W, Puchta R, Bugarčić ŽD, Heinemann FW, van Eldik R (2007) *Eur J Inorg Chem*:1390–1404
- Galle M, Puchta R, van Eikema Hommes NJR, van Eldik R (2006) *Z Phys Chem* 220:511–523
- Puchta R, Meier R, van Eikema Hommes NJR, van Eldik R (2006) *Eur J Inorg Chem* 4063–4067
- Scheurer A, Maid H, Hampel F, Saalfrank RW, Toupet L, Mosset P, Puchta R, van Eikema Hommes NJR (2005) *Eur J Org Chem* 2566–2574
- Illner P, Zahl A, Puchta R, van Eikema Hommes N, Wasserscheid P, van Eldik R (2005) *J Organomet Chem* 690:3567–3576
- Weber ChF, Puchta R, van Eikema Hommes N, Wasserscheid P, van Eldik R (2005) *Angew Chem* 117:6187–6192
- Weber ChF, Puchta R, van Eikema Hommes N, Wasserscheid P, van Eldik R (2005) *Angew Chem Int Ed Engl* 44:6033–6038
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Montgomery JA Jr, Vreven T, Kudin KN, Burant JC, Millam JM, Iyengar SS, Tomasi J, Barone V, Mennucci B, Cossi M, Scalmani G, Rega N, Petersson GA, Nakatsuji H, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Klene M, Li X, Knox JE, Hratchian HP, Cross JB, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Ayala PY, Morokuma K, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Zakrzewski VG, Dapprich S, Daniels AD, Strain MC, Farkas O, Malick DK, Rabuck AD, Raghavachari K, Foresman JB, Ortiz JV, Cui Q, Baboul AG, Clifford S, Cioslowski J, Stefanov BB, Liu G, Liashenko A, Piskorz P, Komaromi I, Martin RL, Fox DJ, Keith T, Al-Laham MA, Peng CY, Nanayakkara A, Challacombe M, Gill PMW, Johnson B, Chen W, Wong MW, Gonzalez C, Pople JA (2004) *Gaussian 03, revision C.02*. Gaussian, Wallingford
- Barone V, Cossi M (1998) *J Phys Chem A* 102:1995–2001
- Cossi M, Rega N, Scalmani G, Barone V (2003) *J Comput Chem* 24:669–681
- Tobe ML, Burgess J (1999) *Inorganic reaction mechanisms*, Addison Wesley Longman, Harlow, chap 3
- Frey U, Ranford JD, Sadler PJ (1993) *Inorg Chem* 32:1333–1340
- Lempers ELM, Reedijk J (1991) *Adv Inorg Chem* 37:175–217
- van Boom SSGE, Chen BW, Tauben JM, Reedijk J (1999) *Inorg Chem* 38:1450–1455

-
54. Jaganyi D, Hofmann A, van Eldik R (2001) *Angew Chem Int Ed Engl* 40:1680–1683
 55. Jaganyi D, Tiba F (2003) *Trans Met Chem* 28:803–807
 56. Hubbard CD, van Eldik R (2007) *J Coord Chem* 60:1–51
 57. Lippert B (1999) *Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug*. Wiley, Zurich, pp 183–221
 58. Arpalahti J, Lippert B (1990) *Inorg Chem* 29:104–110
 59. Caradonna JP, Lippard SJ (1988) *Inorg Chem* 27:1454–1466
 60. Mikola M, Kilika KD, Arpalahti J (2000) *Chem Eur J* 3404–3413
 61. Laidler KJ (1987) *Chemical kinetics*, 3rd edn. Harper and Row, New York, p 22
 62. Volckova E, Dudones LP, Bose RN (2002) *Pharm Res* 19:124–131

Kinetic Studies on the Reactions of Different Bifunctional Platinum(II) Complexes with Selected Nucleophiles

Jovana Bogojeski,^[a] Živadin D. Bugarčić,^{*[a]} Ralph Puchta,^[b] and Rudi van Eldik^{*[b]}

Keywords: Platinum / Kinetics / Reaction mechanisms / Ligand effects / Computational chemistry

Substitution reactions of the complexes *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(SMC)Cl₂]⁻, [Pt(en)Cl₂], and [Pt(dach)Cl₂], where SMC = *S*-methyl-L-cysteine, en = ethylenediamine and dach = 1,2-diaminocyclohexane, with selected biologically important ligands, viz. guanosine-5'-monophosphate (5'-GMP), L-histidine and 1,2,4-triazole, were studied. All reactions were studied in aqueous 25 mM Hepes buffer in the presence of 5 mM NaCl at pH = 7.2 under pseudo-first-order conditions as a function of concentration at 310 K by using UV/Vis spectrophotometry. Two consecutive reaction steps, which both depend on the nucleophile concentration, were observed in

all cases. The second-order rate constants for both reaction steps indicate a decrease in the order [Pt(SMC)Cl₂]⁻ > *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] > [Pt(en)Cl₂] > [Pt(dach)Cl₂]. DFT calculations (B3LYP/LANL2DZp) showed that the Pt–N7(Guo) adduct is more stable than the Pt–S(thioether) adduct for the studied complexes *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(SMC)Cl₂]⁻, and [Pt(en)Cl₂]. The calculations collectively support the experimentally observed substitution of thioethers bound to Pt^{II} complexes by N7(5'-GMP). Finally, this result could be the first to clearly show how much the Pt–N7(Gua) adduct is more stable than the Pt–S(thioether).

Introduction

Transition metals and their reactions are in general important in the environment, in technical processes (catalysis, extraction and purification of metal complexes) and in biology and medicine (biological electron transfer, toxicology and use of metal complexes as drugs). Moreover, nonessential metal ions are very often used in biological systems either for therapeutic application or as diagnostic aids. For instance, metal complexes have been used for the treatment of many diseases (cancer, arthritis, diabetes, Alzheimer's, etc.), but with little understanding of their mechanism of action in biological systems.^[1,2] Biochemical studies have not clearly established the molecular basis for the activity and mechanism of action. The growing field of bioinorganic chemistry is presently dealing with the clarification of the mechanisms of action of metal complexes in biological systems.^[1–3]

The discovery of the antitumor complex cisplatin in the late 1960s initiated extensive investigations of platinum compounds.^[4] The success of cisplatin has aroused much

interest in the development of new Pt^{II} complexes, such that today carboplatin and oxaliplatin are extensively used as anticancer drugs. However, many other platinum drugs have been developed to improve on cisplatin.^[5–7]

Today it is generally accepted that the antitumor activity of platinum drugs can be ascribed to interactions between the metal complex and DNA.^[5–9] There are many other potential biomolecules that can also react with the Pt^{II} complexes, such as small molecules, proteins and enzymes.^[9] Sulfur-containing biomolecules have a high affinity for platinum. However, these interactions have been associated with negative phenomena such as nephrotoxicity, gastrointestinal toxicity and neurotoxicity.^[5–9]

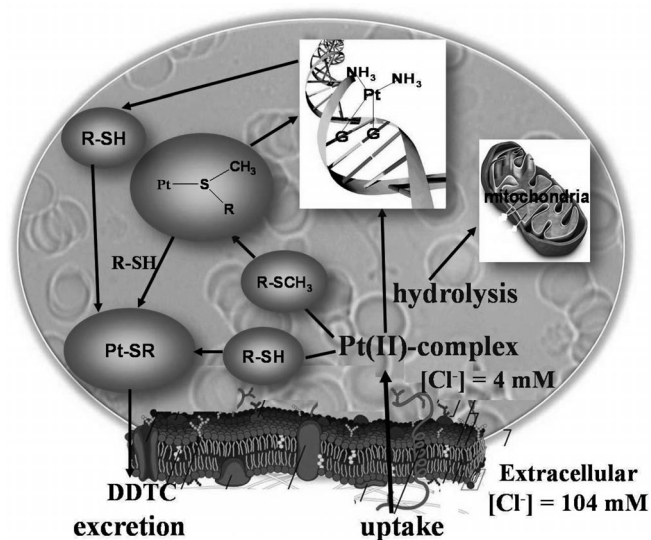
At present it is not clear how the Pt^{II} species reach the DNA, because Pt^{II} has a high affinity for binding to sulfur donors that compete with nitrogen donor ligands such as DNA bases.^[5,10] Intracellular concentrations of mercapto groups could be as high as 10 mM. A conventional hypothesis is that sulfur-containing nucleophiles initially bind to the platinum center and then convert to platinum–DNA complexes, thermodynamically more stable products. Model studies under physiologically relevant conditions have conclusively shown that the kinetic preference of Pt^{II} is for biorelevant thiols (cysteine, glutathione) rather than for 5'-GMP.^[10,15] Methionine bound to platinum may be replaced by thiols or nucleobases,^[14–18] whereas the Pt–cysteine bond is considered to be kinetically more inert.^[10,16] Pt–sulfur adducts have been postulated to be a drug reservoir for platinum at DNA and may act as intermediates of platinum compounds and transform them into Pt–DNA adducts.^[11,12] However, platinum drugs could be deactivated

[a] Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P. O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia
Fax: +381-34335040
E-mail: bugarcic@kg.ac.rs

[b] Inorganic Chemistry, Department of Chemistry and Pharmacy, University of Erlangen-Nürnberg, Egerlandstrasse 1, 91058 Erlangen, Germany
Fax: +49-9131-8527387
E-mail: vaneldik@chemie.uni-erlangen.de

Supporting information for this article is available on the WWW under <http://dx.doi.org/10.1002/ejic.201000654>.

in reactions with cysteine-rich proteins like glutathione.^[12] Moreover, these proteins could substitute coordinated bases of DNA from Pt–N7(DNA) adducts and also thioethers from Pt–S(thioether) products to form very stable Pt–S(thiolate) bonds.^[11–14] Therefore, several sulfur-containing compounds, such as diethyldithiocarbamate (ddtc), sodium thiosulfate (sts), thiourea (tu), and glutathione (GSH), considered as so-called rescue or protective agents, have been



Scheme 1. Schematic presentation of the levels of action of cisplatin and possible biological consequences.

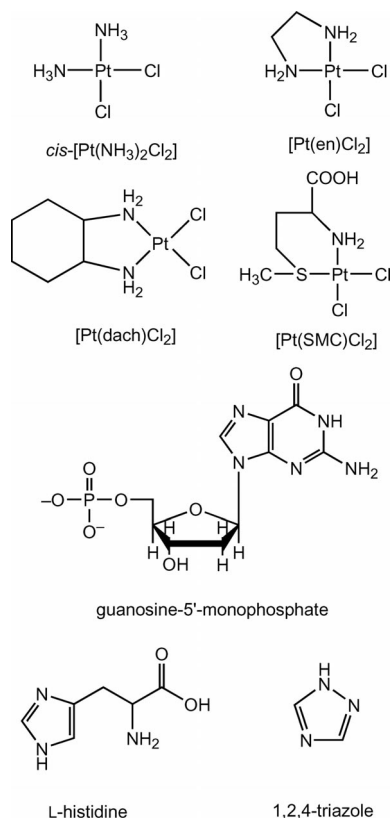


Figure 1. Structures of the studied complexes and ligands.

developed for use in co-administration with the aim to modulate the formation of very stable Pt–S(thiolate) bonds (see Scheme 1).^[10]

With the aim to extend our earlier work of the interactions of Pt^{II} complexes with N-bonding ligands,^[16,18,19] we investigated the complex-formation kinetics of *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(SMC)Cl₂][–], [Pt(en)Cl₂], and [Pt(dach)Cl₂] with selected biologically important ligands such as guanosine-5'-monophosphate (5'-GMP), L-histidine and 1,2,4-triazole. This set of nucleophiles was selected because of their difference in nucleophilicity, steric hindrance, binding properties and biological relevance (structures are shown in Figure 1).

Results and Discussion

Reactions with Nitrogen Donor Nucleophiles

The kinetics of the substitution reactions of four different mononuclear Pt^{II} complexes, viz. *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(SMC)Cl₂][–] (in the deprotonated form), [Pt(en)Cl₂], and [Pt(dach)Cl₂], were investigated under physiological conditions at 310 K and pH = 7.2 in HEPES buffer. HEPES and Tris, tris(hydroxymethyl)aminomethane, buffers are usually used in cell tests and DNA binding studies of Pt^{II} drugs. HEPES buffer was selected because it is sterically more crowded than Tris and does not coordinate to Pt^{II} as Tris does.^[20] The observed time trace at suitable wavelengths was fitted to a two-exponential function in which the amplitudes have opposite signs as shown in Figures 2 and S1 (Supporting Information). The substitution reactions we studied in the presence of 5 mM chloride to be close to the conditions in the cell where the concentration is ca. 4 mM.

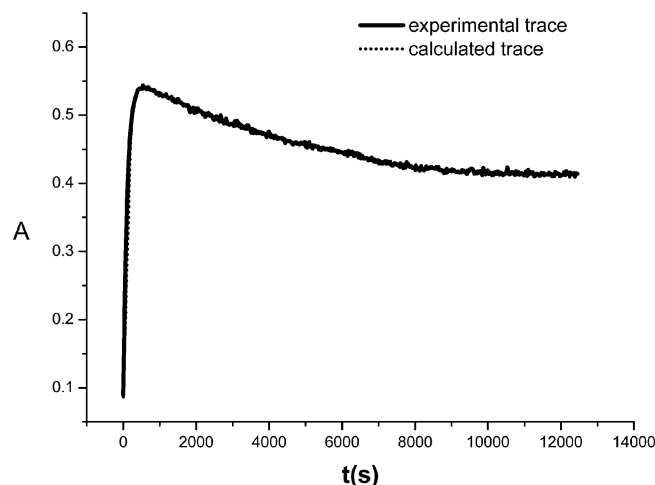
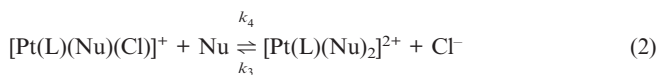
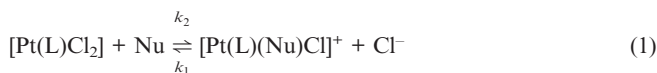


Figure 2. Absorbance-time trace recorded for the reaction of [Pt(en)Cl₂] with 1,2,4-triazole (1.6 × 10^{–2} M) at 222 nm, T = 310 K, 25 mM HEPES buffer, pH = 7.2 and 5 mM NaCl.

The reactions of the studied complexes with the selected nucleophiles occur in two subsequent steps. Both substitution reactions are reversible and proceed according to the reactions given in Equations (1) and (2). The observed rate

constants for two reactions can be expressed as given in Equation (3). Direct nucleophilic attack is characterized by the rate constants k_2 and k_4 , and the reverse reactions are presented by the rate constants k_1 and k_3 .



$$k_{\text{obsd1}} = k_1 + k_2[\text{Nu}]; k_{\text{obsd2}} = k_3 + k_4[\text{Nu}] \quad (3)$$

L = dach, en, SMC, (NH₃)₂; Nu = 5'-GMP, L-histidine, 1,2,4-triazole

The plots in Figures 3 and S2–S4 (Supporting Information) indicate that both reaction steps exhibit a linear dependence of k_{obsd} on the nucleophile concentration and that meaningful intercepts are observed in all cases.

Nitrogen donor ligands such as 5'-GMP, L-histidine, and 1,2,4-triazole were used in this investigation. The reactions with all nucleophiles revealed two substitution steps. In the first step the nucleophile substitutes one chloride ion, and in the second step the other chloride ion is substituted as shown in Equations (1) and (2). It is known that 5'-GMP can coordinate to metal ions through the N1 and N7 positions, but binding through the N7 position in a neutral or weakly acidic medium has been verified.^[21] The $\text{p}K_{\text{a}}$ value for 1,2,4-triazole is 2.30,^[22] so at a pH of 7.2 it is deprotonated and can act as a good nucleophile. 1,2,4-Triazole can coordinate to the Pt^{II} ion through N1, N2 or N4.^[23] The heterocyclic imidazole system in L-histidine forms a bidentate ligand with two competitive donor atoms N1 and N3. In biological systems there are numerous metallo-proteins in which a metal ion is bound to a histidine imidazole through N1 or N3.^[24,25]

On the basis of the data reported in Table 1, the most reactive N-donor nucleophile is 1,2,4-triazole. L-Histidine has the same order of reactivity as 5'-GMP and is only slightly faster than 5'-GMP. The difference in the reactivity

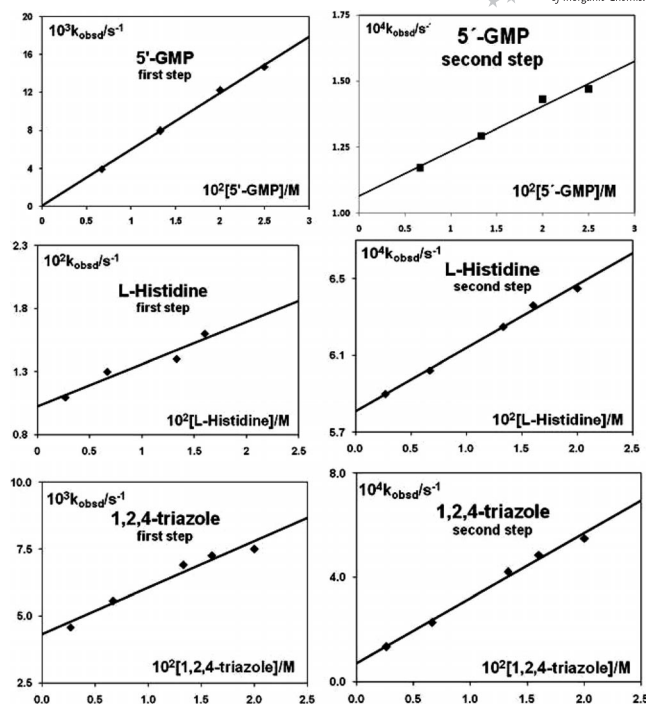


Figure 3. Pseudo-first-order rate constants as a function of nucleophile concentration for the first and second steps of the substitution reactions of [Pt(SMC)Cl₂]⁻ at $T = 310$ K, 25 mM Hepes buffer, pH = 7.2 and 5 mM NaCl.

of these nucleophiles can be accounted for in terms of electronic and steric effects. 5'-GMP is sterically more crowded than L-histidine, and that can be the reason why the reactions with 5'-GMP are a bit slower.

The kinetic data in Table 1 clearly show that these nitrogen donor nucleophiles are very good entering ligands for Pt^{II} complexes. From a comparison of the values of the second-order rate constants for the first reaction step, k_2 , it can be concluded that the order of reactivity is [Pt(SMC)Cl₂]⁻ > *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] > [Pt(en)Cl₂] > [Pt(dach)Cl₂]. The high reactivity of [Pt(SMC)Cl₂]⁻ can be attributed to the strong *trans*-labilization effect of the coordinated sulfur

Table 1. Rate constants for the studied substitution reactions at $T = 310$ K, 25 mM Hepes buffer, pH = 7.2 and 5 mM NaCl.

	First step		L-Histidine		1,2,4-Triazole	
	5'-GMP $10^3 k_2$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^4 k_1$ s^{-1}	$10^3 k_2$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^4 k_1$ s^{-1}	$10^2 k_2$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^3 k_1$ s^{-1}
[Pt(dach)Cl ₂]	2.2 ± 0.1	3.3 ± 1	6.4 ± 0.2	2.6 ± 0.1	5.9 ± 0.1	1.2 ± 0.1
[Pt(en)Cl ₂]	4.4 ± 0.3	0.30 ± 0.04	7.9 ± 0.7	1.8 ± 0.1	9.9 ± 0.1	7.3 ± 0.1
[Pt(SMC)Cl ₂] ⁻	593 ± 4	0.70 ± 0.08	352 ± 6	99 ± 1	454 ± 2	3.0 ± 0.2
<i>cis</i> -[Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂]	/	/	8.0 ± 0.3	4.5 ± 0.4	12.0 ± 0.4	7.4 ± 0.5
	Second step		L-Histidine		1,2,4-Triazole	
	5'-GMP $10^4 k_4$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^6 k_3$ s^{-1}	$10^4 k_4$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^6 k_3$ s^{-1}	$10^3 k_4$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	$10^4 k_3$ s^{-1}
[Pt(dach)Cl ₂]	2.0 ± 0.1	0.8 ± 0.1	4.8 ± 0.4	2.2 ± 0.6	6.4 ± 0.5	1.0 ± 0.6
[Pt(en)Cl ₂]	3.0 ± 0.2	35 ± 3	11 ± 1	76 ± 1	11 ± 1	1.1 ± 0.1
[Pt(SMC)Cl ₂] ⁻	17 ± 2	11 ± 3	33 ± 1	58 ± 2	24 ± 1	0.7 ± 0.01
<i>cis</i> -[Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂]	/	/	11 ± 1	20 ± 1	12.8 ± 0.2	8.1 ± 0.2

atom from the *S*-methyl-L-cysteine chelate. Such labilization has clearly been illustrated by an earlier study.^[26] The reactivity of the complexes *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(en)Cl₂] and [Pt(dach)Cl₂], depends on steric effects. The [Pt(dach)Cl₂] complex is the sterically most crowded one, and the reactions are found to be slower than those with [Pt(en)Cl₂] and *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]. The reactions with [Pt(dach)Cl₂] were expected to be slower than those with [Pt(en)Cl₂], as the Pt^{II} center should be less electrophilic because of the positive inductive effect of the cyclohexane ring.^[27]

The reactions for the second step are significantly slower than for the first step in all cases (see Table 1). The order of reactivity for the second step is: [Pt(SMC)Cl₂]⁻ > *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] > [Pt(en)Cl₂] > [Pt(dach)Cl₂]. The difference in reactivity between [Pt(SMC)Cl₂]⁻ and the other complexes is less than in the case of the first reaction step. The slower reactions of [Pt(SMC)Cl₂]⁻ are assigned to the displacement of the second Cl⁻ ion *trans* to the nitrogen donor of coordinated *S*-methyl-L-cysteine and *cis* to the sulfur atom.

In an earlier study,^[18] the kinetics and mechanism of ligand-substitution reactions of [PtCl₂(SMC)] with biologically relevant ligands were studied as a function of chloride and nucleophile concentration at pH = 2.5 and 7.2. It was observed that the slope and intercept obtained from the linear dependence of the observed rate constant on the nucleophile concentration strongly depended on [Cl⁻] for all studied substitution reactions. At higher [Cl⁻], the rate constant for the forward reaction is almost zero, indicating that addition of excess chloride almost completely suppresses the displacement of chloride by the entering nucleophile. The obtained rate constant for the reaction with 5'-GMP agreed well with the previously published value.^[18] In a recent study^[28] of the substitution reactions of [Pt(dach)Cl₂] and [Pt(en)Cl₂] with 5'-GMP and L-His in the presence of 10 mM NaCl, the obtained values of the second-order rate constants for the reaction with L-His are almost identical {10.5 × 10⁻³ M⁻¹ s⁻¹ for [Pt(en)Cl₂] and 6.4 × 10⁻³ M⁻¹ s⁻¹ for [Pt(dach)Cl₂]}, and for 5'-GMP the constants are even less

than in the present study. From these trends we conclude that a concentration of 5 mM NaCl should be sufficient to prevent the solvolysis step.

The aqua complex, [Pt(SMC)(H₂O)₂]⁺, also reacts with 5'-GMP in two reactions steps. The second-order rate constant for the first reaction step 22.44 M⁻¹ s⁻¹, and for the second step 0.24 M⁻¹ s⁻¹.^[26] Also the complex-formation reactions of the aqua complexes, [Pt(en)(H₂O)₂]²⁺ and [Pt(dach)(H₂O)₂]²⁺, were studied for 5'-GMP. The second-order rate constant for the first reaction step for [Pt(en)(H₂O)₂]²⁺ is 3.9 M⁻¹ s⁻¹ and for [Pt(dach)(H₂O)₂]²⁺ is 5.8 M⁻¹ s⁻¹.^[27] In all cases the aqua complexes were found to be more reactive than the chlorido complexes.

The effect of the leaving group on the reactivity of [Pt(dach)(CBDCA)], [Pt(dach)(*N,S*-methionine)], and [Pt(dach)(gly)] was studied for different nucleophiles including 5'-GMP.^[19] On comparing the values for the second-order rate constants for the first reaction step for the reaction with 5'-GMP it is clear that [Pt(dach)Cl₂] is the most reactive (2.2 × 10⁻³ M⁻¹ s⁻¹) compared to [Pt(dach)(CBDCA)] (0.352 × 10⁻³ M⁻¹ s⁻¹) and [Pt(dach)(gly)] (1.77 × 10⁻³ M⁻¹ s⁻¹). It follows that the nature of the chelate, viz. O–O (CBDCA), N–O (glycine) or S–N (l-Met) plays an important role in tuning the kinetic behavior of the Pt^{II} complexes.

DFT Calculations for Gua/SMe₂ Exchange

Transformation from Pt–S(thioether) to Pt–N7(GMP) coordination seems to be common in biological processes.^[10–15] We performed quantum chemical calculations to gain more insight into this process. The applied level (B3LYP/LANL2DZp) shows, as expected, a good geometrical correlation between calculated and published experimental structures, as exemplarily shown for the calculated [Pt(dach)(N7-Gua)₂]²⁺ structure (Figure 4) and related published X-ray data. Whereas the Pt–N bonds and angles show only small deviations throughout Table 2, the experi-

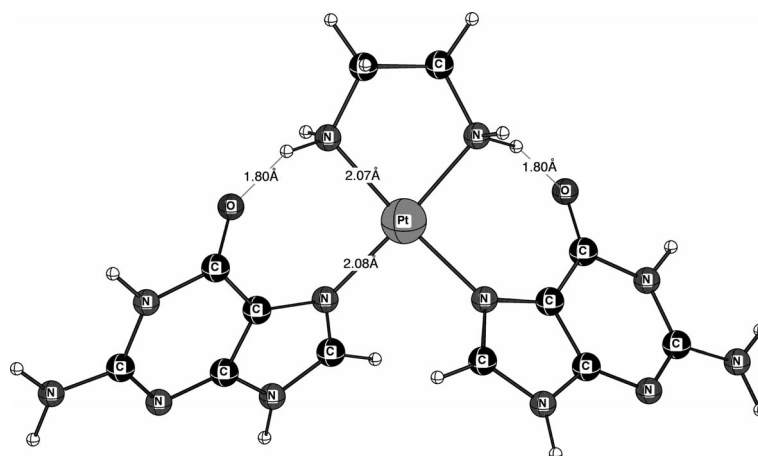


Figure 4. Calculated (B3LYP/LANL2DZp) C₂-symmetrical structure of [Pt(en)(Gua)₂]²⁺ with antiparallel Gua moieties.

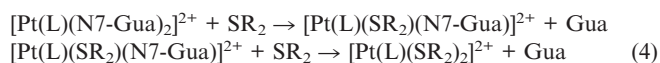
Table 2. Selected structural data from calculated (B3LYP/LANL2DZp) geometries and X-ray data for Pt(en) complexes.

	Pt–N _L [Å]	Pt–N _{GMP-like} [Å]	N _L –Pt–N _{GMP-like} [°]	N _L –Pt–N _L [°]	N _{GMP-like} –Pt–N _{GMP-like} [°]
[Pt(dach)(N7-Gua) ₂] ²⁺	2.07, 2.07	2.08, 2.08	93.9, 93.4	82.7	90.7
[Pt(en)(N7-Gua) ₂] ²⁺	2.07, 2.07	2.08, 2.08	93.3, 93.3	82.8	90.8
[Pt(en)(N7-Gua) ₂] ²⁺ [29]	2.04, 2.04	1.97, 1.97	94.6, 94.6	83.9	87.0
[Pt(en)(5'-GMP-N7) ₂] ^[30]	2.04, 2.04	2.05, 2.05	94.4, 94.4	82.3	89.1
[Pt(en)(1,3,9-TMX)] ²⁺ [31]	2.03, 2.03	2.02, 2.02	95.5, 91.7	83.8	89.1
[Pt(en)(acv) ₂] ²⁺ [32]	2.05, 2.00	2.01, 2.03	94.8, 92.6	82.7	90.1
[Pt(en)(N7-acv) ₂] ²⁺ [33]	2.03, 2.02	2.04, 2.02	95.4	83.4	89.4

mental Pt–N(GMP) bond is 0.1 Å too short compared to the other X-ray data and the calculations. We therefore suggest that this difference could be due to methodic difficulties in X-ray structure determinations 35 years ago.

The Gua moiety in [Pt(L)(Gua)₂]²⁺ can be arranged either parallel or antiparallel with C₂ symmetry. The parallel arrangement in [Pt(NH₃)₂(Gua)₂]²⁺ is only a bit more stable in the gas phase (2.7 kcal/mol) and in CPCM (0.6 kcal/mol) and is best addressed as thermoneutral. In contrast, all the X-ray structures show the Gua moieties throughout to be arranged antiparallel, which can be clearly attributed to the bulky side chains of the GMP-like ligands. The data in Table 2 are for the antiparallel arranged conformer, to be congruent with the experimental values.

To obtain more quantitative data for the difference in stability between Pt–DNA and Pt–S(thioether) adducts, DFT calculations were performed on a model reaction [Equation (4)] [L: (NH₃)₂, ethylenediamine, (1*R*,2*R*)-*trans*-1,2-diaminocyclohexane], where guanine approximates the guanosine base interactions and S(CH₃)₂ represents a generic thioether. The calculations were performed for both substitution steps. Coordinates of the calculated structures are reported in Table S23 (Supporting Information).



In all cases guanine coordination to the fragments Pt(NH₃)₂, Pt(en) and Pt(dach) is much more favored than thioether coordination. For the first step in the gas phase Pt–N7(Gua) is more stable than Pt–S(thioether) by ca. 31–33 kcal/mol, and for the second step by 32–34 kcal/mol. The complex [Pt(NH₃)₂(Gua)₂]²⁺ has two H-bonds between Gua C=O and NH₃ of 1.87 Å, [Pt(dach)(Gua)₂]²⁺ has two H-bonds between Gua C=O and dach of 1.83 Å, [Pt(dach)(Gua)(SMe₂)]²⁺ has one H-bond between Gua C=O and dach of 1.90 Å, and [Pt(en)(Gua)₂]²⁺ has two H-bonds between Gua C=O and dach of 1.80 Å.

To evaluate the bulk solvent effects, single-point CPCM calculations [B3LYP(CPCM)/LANL2DZp//B3LYP/LANL2DZp] were performed. As shown in Table 3, the DFT-calculated energy is lowered to less than 50% although guanine coordination is still clearly favored. Finally, this result could be the first to clearly show how much the Pt–N7(Gua) adduct is more stable than the Pt–S(thioether) adduct. This is important since Pt–S(thioether) adducts have been postulated to be a drug reservoir for the binding

Table 3. Energy calculations in kcal/mol for Gua/SMe₂ exchange on [Pt(NH₃)₂(Gua)₂]²⁺, [Pt(en)(Gua)₂]²⁺ and [Pt(dach)(Gua)₂]²⁺ according to Equation (4).

Method	[Pt(NH ₃) ₂ (Gua) ₂] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(NH ₃) ₂ (Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + Gua
Gas phase	0.0		+31.6
CPCM	0.0		+10.5
Method	[Pt(NH ₃) ₂ (Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(NH ₃) ₂ (SMe ₂) ₂] ²⁺ + Gua
Gas phase	0.0		+33.5
CPCM	0.0		+13.9
Method	[Pt(dach)(Gua) ₂] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(dach)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + Gua
Gas phase	0.0		+31.2
CPCM	0.0		+12.2
Method	[Pt(dach)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(dach)(SMe ₂) ₂] ²⁺ + Gua
Gas phase	0.0		+32.2
CPCM	0.0		+11.9
Method	[Pt(en)(Gua) ₂] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(en)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + Gua
Gas phase	0.0		+32.8
CPCM	0.0		+13.0
Method	[Pt(en)(Gua)(SMe ₂)] ²⁺ + SMe ₂	→	[Pt(en)(SMe ₂) ₂] ²⁺ + Gua
Gas phase	0.0		+34.0
CPCM	0.0		+12.5

of platinum to DNA, which may act as intermediates and then be transformed into Pt–N7(Gua) adduct.^[8–12]

Conclusions

On the basis of the data presented in this report, we conclude that the studied Pt^{II} complexes have a high affinity for the studied N-bonding nucleophiles of which 1,2,4-triazole is a better nucleophile than 5'-GMP and L-histidine. The reactivity of the complexes is in the order: [Pt(SMC)Cl₂]⁻ > *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] > [Pt(en)Cl₂] > [Pt(dach)Cl₂]. DFT calculations (B3LYP/LANL2DZp) for the complexes *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(en)Cl₂] and [Pt(dach)Cl₂] showed that the Pt–N7(Gua) adduct is more stable than the Pt–S(thioether) adduct. For the first step in the gas phase Pt–N7(Gua) is more stable than Pt–S(thioether) by ca. 31–33 kcal/mol, and for the second step by 32–34 kcal/mol. The calculations collectively support the experimentally observed substitution of thioethers bound to Pt^{II} complexes by N7(5'-GMP).

Experimental Section

Chemicals and Solutions: The ligands, guanosine-5'-monophosphate sodium salt, L-histidine, 1,2,4-triazole, S-methyl-L-cysteine, ethylenediamine and 1,2-diaminocyclohexane were obtained from Fluka, Acros Organics or Sigma and were used without further purification. Potassium tetrachloridoplatinate (K₂PtCl₄) was purchased from Strem Chemicals. Hepes buffer {2-[4-(2-hydroxyethyl)-piperazin-1-yl]ethanesulfonic acid} was obtained from Aldrich, D₂O (Deutero GmbH, 99.9%) is commercially available, and both were used as received. All the other chemicals were of the highest purity commercially available and were used without further purification. Ultrapure water was used in all experiments. Nucleophile stock solutions were prepared shortly before use by dissolving the chemicals. The complexes [Pt(SMC)Cl₂] (isolated in the protonated form from 0.1 M HCl), [Pt(en)Cl₂] and [Pt(dach)Cl₂] were prepared according to published procedures.^[34–36] Elemental analysis, ¹H NMR and UV/Vis spectra of these complexes were in good agreement with the previously obtained data. Cisplatin, *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], was purchased from Aldrich.

Instrumentation and Measurements: ¹H NMR measurements were performed with a Varian Gemini 200 MHz NMR spectrometer. UV/Vis spectra and kinetic traces were recorded with a Perkin-Elmer Lambda 35 double-beam spectrophotometer in thermostatted 1.00 cm quartz Suprasil cells. The temperature was controlled to ± 0.1 °C. The pH of the solution was measured by using a Mettler Delta 350 digital pH meter with a combined glass electrode. This electrode was calibrated by using standard buffer solutions of pH = 4, 7 and 9 obtained from Sigma.

Kinetics Measurements: The kinetics of the substitution of coordinated chloride or water was followed spectrophotometrically by monitoring the change in absorbance at suitable wavelengths as a function of time. The working wavelengths were determined by recording spectra of the reaction mixture over the wavelength range 220 to 450 nm. All kinetic experiments were performed under pseudo-first-order conditions, for which the concentration of the nucleophile was always in at least a 20-fold excess. The reactions were initiated by mixing 0.5 mL of Pt^{II} complex solution with

2.5 mL of thermostatted nucleophile solution in the UV/Vis cuvette, and reactions were monitored for at least 8 half-lives. The observed pseudo-first-order rate constants, *k*_{obsd}, represent an average value of two to four independent kinetic runs for each experimental condition. All reactions were studied at 310 K and pH = 7.2 in the presence of 5 mM NaCl. The experimental data are summarized and reported in the Supporting Information (Tables S1–S22).

Quantum Chemical Methods: B3LYP/LANL2DZp hybrid density functional calculations, i.e., with pseudo-potentials on the heavy elements and the valence basis set augmented with polarization functions, were performed.^[37,38] During the optimization of the structures no other constraints than symmetry were applied. In addition, the resulting structures were characterized as minima by computation of vibrational frequencies. The relative energies were corrected for zero-point vibrational energies (ZPE) throughout. The GAUSSIAN suite of programs was used.^[39] The influence of the bulk solvent was evaluated by single-point calculations using the CPCM formalism,^[40] i.e., B3LYP(CPCM)/LANL2DZp//B3LYP/LANL2DZp and water as solvent.

Supporting Information (see footnote on the first page of this article): Tables S1–S22 report the observed pseudo-first-order rate constants for the first and the second reaction steps as a function of nucleophile concentration for the reactions between the studied complexes and 5'-GMP, L-histidine and 1,2,4-triazole in 25 mM Hepes buffer, pH = 7.2 and [Cl⁻] = 5 mM. Table S23 contains the coordinates of the calculated structures. Figure S1 presents the absorbance-time trace recorded for the reaction of cisplatin with 1,2,4-triazole (1.6 × 10⁻² M) at 224 nm, T = 310 K, 25 mM Hepes buffer and pH = 7.2. Figures S2–S4 report plots of the pseudo-first-order rate constants as a function of nucleophile concentration for the first and the second steps of the substitution reactions of *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(en)Cl₂] and [Pt(dach)Cl₂], at T = 310 K, 25 mM Hepes buffer, pH = 7.2 and 5 mM NaCl.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge financial support from the Deutsche Forschungsgemeinschaft, the Deutscher Akademischer Austauschdienst (DAAD) and the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project No. 142008).

- [1] L. Ronconi, P. J. Sadler, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 1633–1648.
- [2] P. C. A. Bruijninx, P. J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.* **2009**, *61*, 1–62.
- [3] M. A. Jakupec, M. Galanski, V. B. Arion, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, *Dalton Trans.* **2008**, 183–194.
- [4] B. Rosenberg, L. V. Camp, *Nature* **1965**, *205*, 698–699; B. Rosenberg, L. V. Camp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **1969**, *222*, 385–386; B. Rosenberg, L. V. Camp, *Cancer Res.* **1970**, *30*, 1799–1802; B. Rosenberg, L. V. Camp, E. B. Grimley, A. J. Thomson, *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 1347–1352.
- [5] M. A. Jakupec, M. Galanski, B. K. Keppler, *Rev. Physiol., Biochem., Pharmacol.* **2003**, *146*, 1–54.
- [6] S. H. van Rijt, P. J. Sadler, *Drug Discovery Today* **2009**, *14*, 1089–1097.
- [7] K. S. Lovejoy, S. J. Lippard, *Dalton Trans.* **2009**, *48*, 1065–1069.
- [8] *Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of Leading Antitumor Drugs* (Ed.: B. Lippert), Wiley-VCH, Zurich, **1999**.
- [9] Y. Jung, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1387–1407.
- [10] J. Reedijk, *J. Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2499–2510.

- [11] S. S. G. E. van Boom, B. W. Chen, J. M. Tauben, J. Reedijk, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 1450–1455.
- [12] A. J. Jansen, J. Brouwer, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *89*, 197–201.
- [13] K. J. Barnham, M. I. Djuran, P. d. S. Murdoch, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1065–1072.
- [14] R. N. Bose, S. Moghaddas, E. L. Weaver, E. H. Cox, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 5878–5881.
- [15] T. Soldatović, Ž. D. Bugarčić, *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 1472–1479.
- [16] D. Petrović, B. Stojimirović, B. Petrović, Z. M. Bugarčić, Ž. D. Bugarčić, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4203–4211.
- [17] Ž. Bugarčić, J. Rosić, B. Petrović, N. Summa, R. Puchta, R. van Eldik, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, *12*, 1141–1145.
- [18] T. Soldatović, Ž. D. Bugarčić, R. van Eldik, *Dalton Trans.* **2009**, 4526–4531.
- [19] N. Summa, T. Soldatović, L. Dahlenburg, Ž. D. Bugarčić, R. van Eldik, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, *12*, 461–475.
- [20] A. R. Khokhar, Q. Xu, S. Al-Baker, J. L. Bear, *Inorg. Chim. Acta* **1992**, *194*, 243–246.
- [21] J. Arpalahti, P. Lehtikoinen, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 2564–2567; J. Arpalahti, B. Lippert, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 104–110; J. P. Caradonna, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 1454–1466; R. N. Bose, R. D. Cornelius, R. E. Viola, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4403–4408.
- [22] J. A. Joule, G. F. Smith in *Heterocyclic Chemistry*, Chapman and Hall, London, **1972**.
- [23] J. Rosić, B. Petrović, M. I. Djuran, Ž. D. Bugarčić, *Monatsh. Chem.* **2007**, *138*, 1–11.
- [24] M. Perutz, *Nature* **1970**, *228*, 726–734.
- [25] J. A. Tainer, E. D. Getzoff, K. M. Beem, J. S. Richardson, D. C. Richardson, *J. Mol. Biol.* **1982**, *160*, 181–217.
- [26] Ž. D. Bugarčić, T. Soldatović, R. Jelić, B. Alguero, A. Grandas, *Dalton Trans.* **2004**, *22*, 3869–3877.
- [27] N. Summa, W. Schiessl, R. Puchta, N. van Eikema Hommes, R. van Eldik, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 2948–2959.
- [28] S. Jovanović, B. Petrović, D. Čanović, Ž. D. Bugarčić, *Polyhedron*, submitted for publication.
- [29] R. W. Gellert, R. Bau, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 7379.
- [30] K. J. Barnham, C. J. Bauer, M. I. Djuran, M. A. Mazid, T. Rau, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 2826.
- [31] 1,3,9-TMX = 1,3,9-trimethylxanthine: J. D. Orbell, K. Wilkowski, B. de Castro, L. G. Marzilli, T. J. Kistenmacher, *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 813.
- [32] acv = acyclovir = 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine: S. Grabner, J. Plavec, N. Bukovec, D. Di Leo, R. Cini, G. Natile, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1998**, 1447.
- [33] acv = acyclovir = 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine: R. Cini, S. Grabner, N. Bukovec, L. Cerasino, G. Natile, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 1601.
- [34] V. Theodorou, I. Photaki, N. Hadjiliadis, R. W. Gellert, R. Bau, *Inorg. Chim. Acta* **1982**, *60*, 1–8.
- [35] L. P. Battaglia, A. B. Corradi, C. G. Calmieri, M. Nardelli, M. E. V. Tani, *Acta Crystallogr., Sect. B* **1973**, *29*, 762.
- [36] B. A. Howell, R. Rashidianfar, J. R. Glass, B. J. Hutchinson, D. A. Johnson, *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *142*, 181–183.
- [37] a) A. D. Becke, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 5648–5652; b) C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785–789; c) P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623–11627; d) T. H. Dunning Jr, P. J. Hay, *Mod. Theor. Chem.* **1976**, *3*, 1–28; e) P. J. Hay, W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 270–283; f) P. J. Hay, W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 284–298; g) P. J. Hay, W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 299–310; h) *Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations* (Ed.: S. Huzinaga), Elsevier, Amsterdam **1984**.
- [38] The performance of the computational level employed in this study is well documented, see for example: a) R. Puchta, R. Meier, N. J. R. van Eikema Hommes, R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 4063–4067; b) A. Scheurer, H. Maid, F. Hampel, R. W. Saalfrank, L. Toupet, P. Mosset, R. Puchta, N. J. R. Van Eikema Hommes, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2566–2574; c) P. Illner, A. Zahl, R. Puchta, N. van Eikema Hommes, P. Wasserscheid, R. van Eldik, *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 3567–3576; d) Ch. F. Weber, R. Puchta, N. van Eikema Hommes, P. Wasserscheid, R. van Eldik, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 6187–6192; Ch. F. Weber, R. Puchta, N. van Eikema Hommes, P. Wasserscheid, R. van Eldik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6033–6038.
- [39] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery Jr, T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, *Gaussian 03*, Revision B.03, Gaussian Inc., Wallingford, CT, **2004**.
- [40] a) V. Barone, M. Cossi, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1995–2001; b) M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, V. J. Barone, *Comput. Chem.* **2003**, *24*, 669–681.

Received: June 15, 2010

Published Online: October 26, 2010

Kinetic and thermodynamic studies on reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ (bpma = *bis*-(2-pyridylmethyl)amine) with some azoles and diazines

Jovana Bogojeski · Živadin D. Bugarčić

Received: 16 August 2010 / Accepted: 4 October 2010 / Published online: 20 October 2010
© Springer Science+Business Media B.V. 2010

Abstract Substitution reactions of the complexes $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ and $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$, where bpma is *bis*-(2-pyridylmethyl)amine, with the nitrogen-donor ligands 1,2,4-triazole, pyrazole and pyridazine were studied in aqueous 0.1 M NaClO_4 using variable-temperature UV–VIS spectrophotometry. The reactions of the aqua complex were studied at pH 2.5, and those of the chloro complex were studied in the presence of 10 mM NaCl to prevent their hydrolysis. The values obtained for the second-order rate constants indicate that the complexes with bpma are more reactive than those with diethylenetriamine. In both cases, the aqua complexes are more reactive than the corresponding chloro complexes. The reactivity of the incoming ligands follows the order: 1,2,4-triazole > pyridazine > pyrazole. Activation parameters were determined for all the reactions, and the negative entropies of activation (ΔS^\ddagger) support an A or Ia mechanism.

Introduction

Cancer is one of the leading diseases in the world, so the development of new Pt(II) compounds as potential antitumor drugs is a major interest [1, 2]. As well as the standard Pt(II) compounds (cisplatin, carboplatin and oxaliplatin), dinuclear Pt(II) complexes have also been developed [3, 4],

and the exploration of Pt(IV) complexes is a growing field of research [5]. All this research has one major goal, to develop more potent and less toxic drugs. Compounds of Pt(II) with inert tridentate nitrogen-donor ligands, such as diethylenetriamine (dien), *bis*-(2-pyridylmethyl)amine (bpma) and 2,2':6',2''-terpyridine (terpy), are of interest, because they are a very suitable models for mechanistic and kinetic studies of the reactions of platinum(II) anti-cancer drugs with sulphur- and nitrogen-donor ligands. These complexes do not show antitumor activity.

Azoles and diazines are very important from a bioinorganic point of view, since the imidazole group of histidine is a constituent of most of the known hemoproteins [6]. Compounds that contain pyridazine or pyridine are used as therapeutic agents for rheumatoid arthritis, osteoporosis and other conditions. Derivatives based on triazole, pyridazine and pyrazole can also show antibacterial effects [7]. Some antitumor active complexes of Pt(II) have azoles or diazines in their structures [8], also azoles and diazines are often used as bridging ligands in the synthesis of dinuclear Pt(II) complexes [3, 4].

As an extension of our earlier work [9], we here report the kinetics of complexation between the monofunctional complexes $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ and $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and nitrogen-donor ligands, namely 1,2,4-triazole, pyrazole and pyridazine (Fig. 1). All these reactions were studied in aqueous 0.1 M NaClO_4 ; those of the aqua complex were studied at pH 2.5, and those of the chloro complexes were studied in the presence of 10 mM NaCl to prevent their hydrolysis.

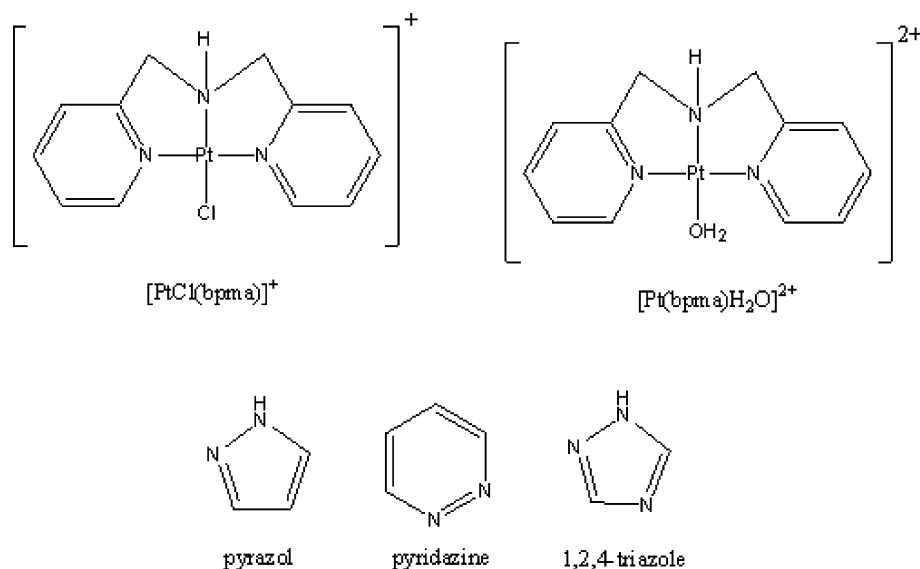
Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11243-010-9436-0) contains supplementary material, which is available to authorized users.

J. Bogojeski · Ž. D. Bugarčić (✉)
Department of Chemistry, Faculty of Science, University
of Kragujevac, R. Domanovića 12, P O Box 60,
34000 Kragujevac, Serbia
e-mail: bugarcic@kg.ac.rs

Experimental

1,2,4-triazole (Fluka), pyridazine and pyrazole (Acros) were used without further purification. $[\text{PtCl}(\text{bpma})]\text{Cl}$

Fig. 1 Structures of studied complexes and ligands



H_2O was prepared according to a published procedure [10]. All the other chemicals were of the highest purity commercially available and were used without further purification. Elemental analysis, 1H NMR and UV–VIS spectra of this complex were in good agreement with the previously obtained data [10]. Ultra-pure water was used in all experiments. Nucleophile stock solutions were prepared shortly before use.

The aqua complex $[Pt(bpma)H_2O]^{2+}$ was prepared starting from the corresponding chloro complex. The conversion was performed by addition of the corresponding amount of $AgClO_4$ to a solution of the chloro complex in water and stirring for 3 h at 50 °C. The white precipitate of $AgCl$ was filtered off using a Millipore filtration unit, and the solutions were diluted. Great care was taken to ensure that the resulting solution was free of Ag^+ ions and that the chloro complex had been converted completely into the aqua form. It is well known that perchlorate ions do not coordinate to Pt(II) or Pd(II) in aqueous solution [11].

The products of the reactions were characterized by 1H NMR spectroscopy and elemental analysis. Found for: $C_{16}H_{17}Cl_2N_5Pt$ ($[Pt(bpma)(pyridazine)]Cl_2$): H, 3.5; C 35.6; N 12.6 Anal. Calcd: H, 3.1; C, 35.2; N 12.8. 1H NMR (200 MHz, D_2O): 4.14 (4 H, s, Py- CH_2), 7.49, 8.64, 9.2, (1 H, d, *m*-Py; 1H, d, *o*-Py; 1 H, d, pyridazine), 7.73, 7.31, 7.5 (1 H, t, *p*-Py; 1 H, t, *m*-Py; 2 H, t, pyridazine), 2.0 (s, N–H) ppm. Found for: $C_{15}H_{16}C_2IN_5Pt$ ($[Pt(bpma)(pyrazole)]Cl_2$) H, 3.2; C 33.2; N 13.1 Anal. Calcd: H, 3.0; C, 33.8; N 13.1. 1H NMR (200 MHz, D_2O): 4.14 (4 H, s, Py- CH_2), 7.49, 8.64, 7.34, 8.11 (1 H, d, *m*-Py; 1H, d, *o*-Py; 1H, d, pyrazole; 1H, d, pyrazole), 7.73, 7.31, 6.56 (1 H, t, *p*-Py; 1 H, t, *m*-Py; 1 H, t, pyrazole), 2.0 (s, N–H) ppm. Found for: $C_{14}H_{15}C_2IN_6Pt$ ($[Pt(bpma)(1,2,4-triazole)]Cl_2$) H, 2.9; C 31.8; N 15.8 Anal. Calcd: H, 2.8; C, 31.5; N 15.7. 1H NMR

(200 MHz, D_2O): 4.14, 8.78, 8.29 (4 H, s, Py- CH_2 ; 1 H, s, 1,2,4-triazole; 1H, s, 1,2,4-triazole), 7.49, 8.64 (1 H, d, *m*-Py; 1H, d, *o*-Py), 7.73, 7.31 (1 H, t, *p*-Py; 1 H, t, *m*-Py), 2.0 (s, N–H) ppm.

Instrumentation and measurements

UV–VIS spectra and kinetic traces were recorded on a Perkin-Elmer Lambda 35 double-beam spectrophotometer in thermostated 1.00-cm quartz Suprasil cells. Temperature was controlled to ± 0.1 °C. The pH of the solution was measured using a Mettler Delta 350 digital pH meter with a combined glass electrode. This electrode was calibrated using standard buffer solutions of pH 4, 7 and 9 obtained from Sigma. Chemical analyses were performed on a Carlo Erba Elemental Analyser 1106. 1H NMR measurements were performed on a Varian Gemini 2000, 200 MHz NMR spectrometer.

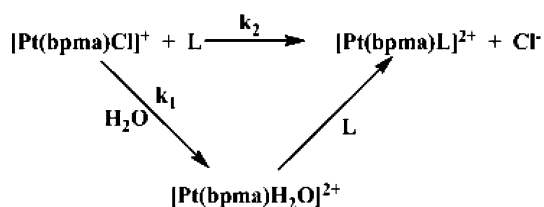
Kinetics measurements

The kinetics of the substitution of coordinated chloride or water was followed spectrophotometrically by following the change in absorbance at suitable wavelengths as a function of time. The working wavelengths were determined by recording spectra of the reaction mixture over the wavelength range 220–450 nm. All kinetic experiments were performed under *pseudo*-first-order conditions, for which the concentration of the nucleophile was always in at least a 20-fold excess. The reactions were initiated by mixing 0.5 ml of Pt(II) complex solution with 2.5 ml of thermally equilibrated nucleophile solution in the UV–VIS cuvette, and reactions were followed for at least 8 half-lives. The observed pseudo-first-order rate constants, k_{obs} , represent an average value of two to four independent

kinetic runs for each experimental condition. All reactions were studied at three temperatures (288, 298 and 308 K) in 0.1 M NaClO₄. Substitution reactions of the aqua complex [Pt(bpma)H₂O]²⁺ were studied at pH 2.5, adjusted by adding a solution of 0.1 M HClO₄. The experimental data are summarized in the Supporting Information (Tables S1–S6). The values of constants and other thermodynamic parameters were determined using the computer programs Microsoft Excel 2007 and OriginPro 8.

Results and discussion

The substitution reactions of the complex [PtCl(bpma)]⁺ with 1,2,4-triazole, pyridazine and pyrazole can be represented by Scheme 1.



Scheme 1 L = Pyrazole, pyridazine or 1,2,4-triazole

From Scheme 1 can be seen that the substitution reactions proceed according to two parallel associative reaction paths; this has been reported to be the case for most square-planar d⁸ metal complexes [12]. One path involves the rate-determining formation of the solvento complex (k₁) followed by rapid substitution of the coordinated solvent. The other reaction involves direct nucleophilic attack by the entering ligand (k₂).

The observed *pseudo*-first-order rate constants, k_{obs}, as a function of the total concentration of nucleophile are described by Eq. 1.

$$k_{\text{obs}} = k_1 + k_2[\text{L}] \quad (1)$$

Figure 2 shows the dependence of k_{obs} on nucleophile concentration at three temperatures.

For all the studied substitution reactions, the dependences of k_{obs} of nucleophile concentration are linear at all three temperatures. The second-order rate constants k₂, characterizing the formation of the product complex, were evaluated from the slopes of plots of k_{obs} versus [nucleophile] (Fig. 2). The use of three temperatures allowed determination of the activation parameters ΔH[‡] and ΔS[‡]. The results are summarized in Table 1.

The kinetic data clearly show that these nitrogen-containing nucleophiles are very good entering ligands for

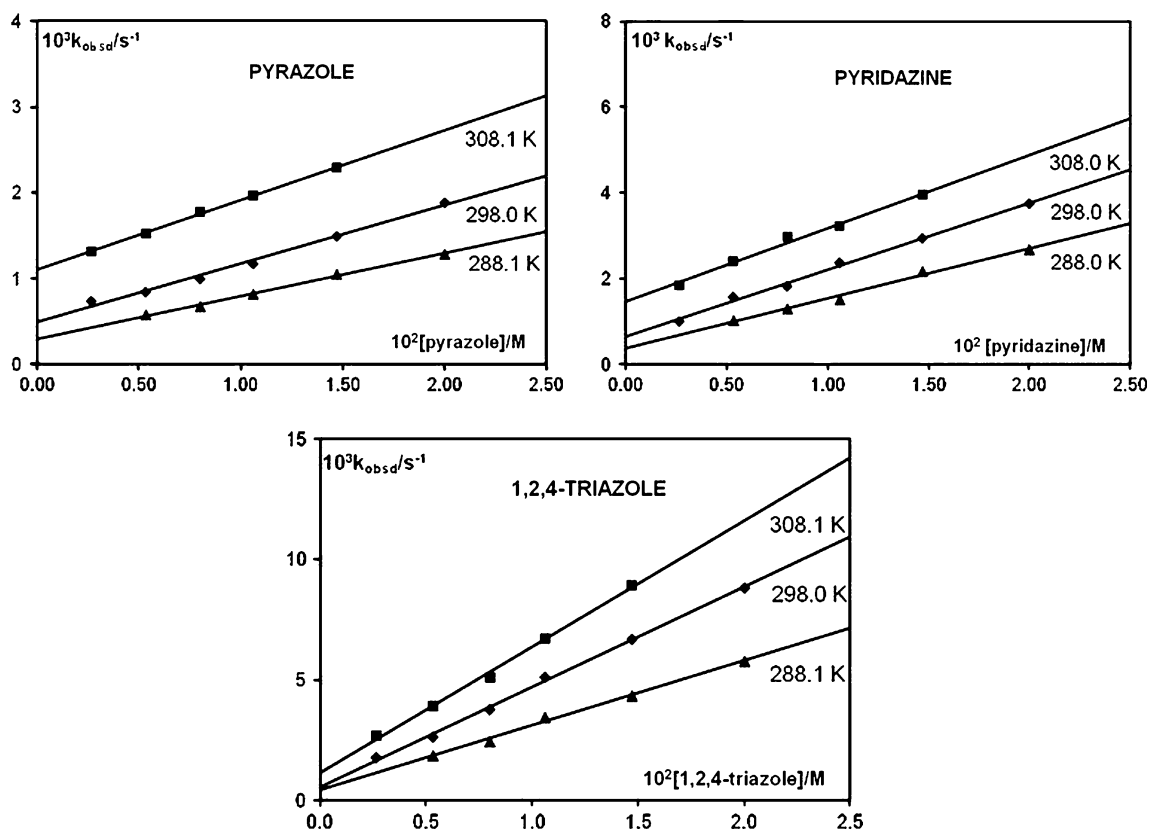


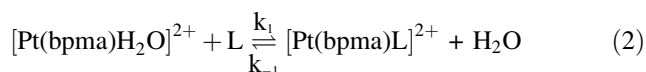
Fig. 2 *Pseudo*-first-order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of [PtCl(bpma)]⁺ with pyrazole, pyridazine and 1,2,4-triazole in 0.1 M NaClO₄ and 10 mM NaCl

Table 1 Rate constants and activation parameters for the substitution reactions of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ complex in 0.1 M NaClO_4

	$[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$						
	λ nm	T K	k_2 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	$10^3 k_1$ s^{-1}	ΔH^\ddagger kJmol^{-1}	ΔS^\ddagger $\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$	
Pyrazole	268	288.1	0.05 ± 0.002	0.29 ± 0.02	15 ± 2	-217 ± 7	
		298	0.07 ± 0.003	0.50 ± 0.04			
		308.1	0.08 ± 0.002	1.10 ± 0.02			
Pyridazine	267	288	0.11 ± 0.01	0.38 ± 0.07	12 ± 3	-221 ± 13	
		298	0.15 ± 0.01	0.66 ± 0.06			
		308	0.17 ± 0.01	1.47 ± 0.09			
1,2,4-triazole	253	288.1	0.27 ± 0.01	0.42 ± 0.01	22 ± 4	-179 ± 14	
		298	0.42 ± 0.01	0.52 ± 0.01			
		308.1	0.52 ± 0.01	1.15 ± 0.01			
	$[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$						
	λ Nm	T K	k_1 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	$10^2 k_{-1}$ s^{-1}	ΔH^\ddagger kJmol^{-1}	ΔS^\ddagger $\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$	K_1
Pyrazole	330	288	0.59 ± 0.06	0.72 ± 0.08	10 ± 1	-212 ± 4	62.72
		298.1	0.69 ± 0.03	1.10 ± 0.04			
		308	0.84 ± 0.03	1.59 ± 0.02			
Pyridazine	431	288	0.61 ± 0.03	0.01 ± 0.003	41 ± 8	-129 ± 26	368.18
		298	0.81 ± 0.02	0.22 ± 0.02			
		308.1	0.96 ± 0.02	0.41 ± 0.02			
1,2,4-triazole	360	288.1	1.31 ± 0.04	0.17 ± 0.06	29 ± 3	-142 ± 11	850
		298	2.21 ± 0.03	0.26 ± 0.04			
		308.1	3.07 ± 0.10	0.42 ± 0.10			

Pt(II) complexes (Table 1), in good agreement with the literature [13, 14]. The most reactive nucleophile is 1,2,4-triazole followed by pyridazine and then pyrazole. This order of reactivity is in relation with their acidities and structures [15]; the pKa values for the ligands are 2.30 for 1,2,4-triazole, 2.33 for pyridazine and 2.52 for pyrazole. Also 1,2,4-triazole is a five-membered ring, but pyridazine and pyrazole are six-membered rings [16].

The substitution reactions of the aqua complex $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ with 1,2,4-triazole, pyridazine and pyrazole can be represented by Eq. 2.



Here, k_1 is the second-order rate constant for the forward aquation reaction, and k_{-1} is the rate constant for the reverse aquation reaction. The second-order rate constants k_1 were obtained directly from the slopes of plots of k_{obs} versus entering nucleophile concentration. The observed *pseudo*-first-order rate constants, k_{obs} , as a function of the total concentration of nucleophile are described by Eq. 3.

$$k_{\text{obs}} = k_{-1} + k_1[\text{L}] \quad (3)$$

The experimental results are shown in Fig. 3, and the rate constants and activation parameters are given in Table 1.

The orders of reactivity of the three incoming ligands are the same as in the case of $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$. These azoles and diazines are acids, so their nucleophilicities are associated with their ability to give a proton, which is in agreement with the results given in Table 1. The reactions of $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ were studied at pH 2.5; at this pH, all three ligands are partially deprotonated, which makes them better nucleophiles. The pH could not be reduced below 2.5, since the starting Pt(II) complex can also act as an acid [17]. The results obtained for $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ are in good agreement with those reported for other complexes [18]. The coordinated water ligand on the Pt(II) and Pd(II) centers is evidently very labile and can easily be substituted by stronger nucleophiles [19]. $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ reacts faster than the chloro complex.

The reactivity of the complexes that contain inert tridentate NNN-donor ligands, with pyridine rings, largely

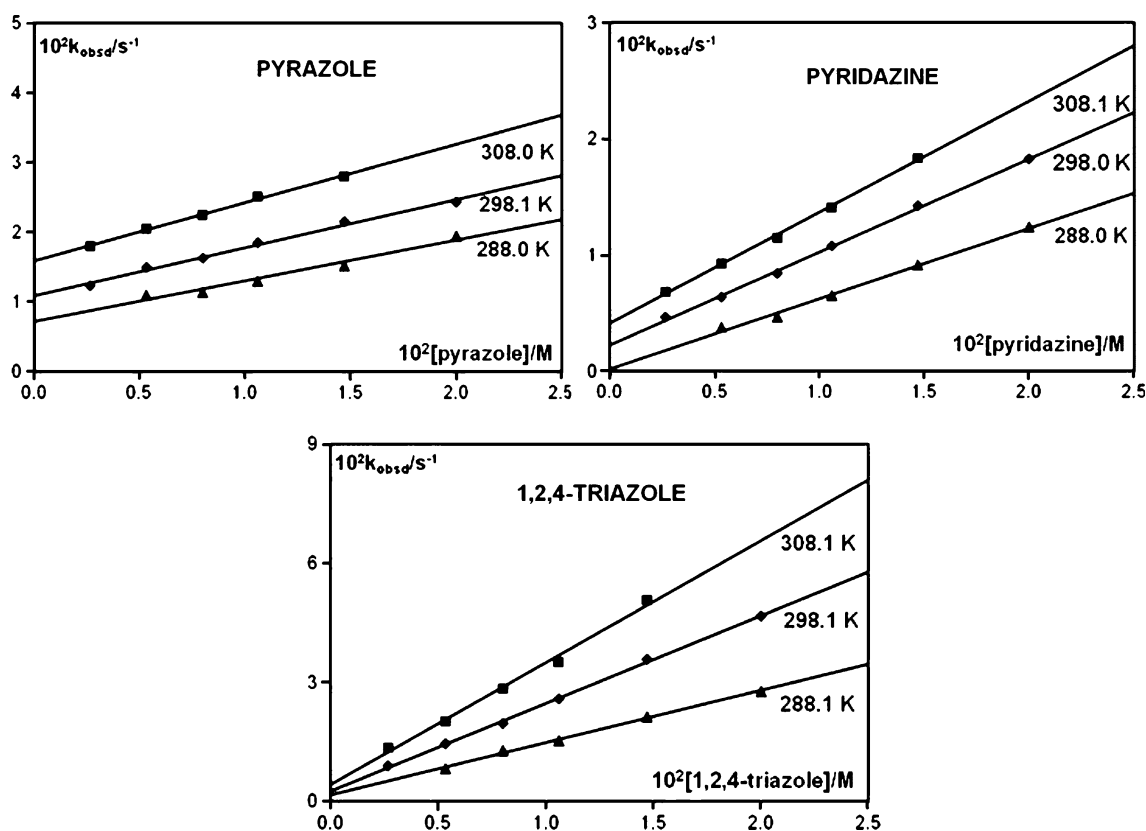


Fig. 3 Pseudo-first-order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ with pyrazole, pyridazine and 1,2,4-triazole at $\text{pH} = 2.5$ in 0.1 M NaClO_4

depends on the number and distribution of the pyridine rings [20]. $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ and $[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ contain two pyridine rings in *cis* position, so relative to the leaving ligand. In contrast to these complexes, $[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$ and its aqua analog do not contain pyridine rings and react much more slowly than the bpma-complexes (Table 2). The presence of the pyridine group increases the electrophilicity of the metal center by accepting back-donation of electron density from the metal center, making it more positive. The other reason for this high reactivity of the bpma complex is π -back-donation of the additional electron density from the entering nucleophile to the chelating ligand, which stabilizes the five-coordinate transition state in comparison with the ground state. The observed reactivities for the Pt(II) complexes containing inert tridentate NNN-donor ligands follow the order: $\text{aaa} < \text{apa} < \text{aap} < \text{pap} < \text{app} < \text{ppp}$ (where a is an amine group and p is pyridine) [20]. In our study, the bpma complex showed ca. tenfold greater reactivity compared to the dien complex, which agrees well with the literature [20].

In our earlier work [18], we studied substitution reactions of the corresponding Pd(II) complexes. Because of the similarities in chemical behavior of Pd(II) and Pt(II) complexes, Pd(II) complexes are often used as models for

Table 2 Rate constants for the substitution reactions of *bpma* and *dien* complexes in 0.1 M NaClO_4

	$[\text{Pt}(\text{dien})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$, ^a $10^2 k_1 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} (298 \text{ K})$	$[\text{PtCl}(\text{dien})]^+$, ^a $10^2 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} k_2 (298 \text{ K})$
1,2,4-triazole	21.80 ± 0.5	7.12 ± 0.03
Pyridazine	10.30 ± 0.11	1.29 ± 0.07
Pyrazole	3.88 ± 0.02	1.29 ± 0.07
	$[\text{Pt}(\text{bpma})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $k_1 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} (298 \text{ K})$	$[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ $k_2 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} (298 \text{ K})$
1,2,4-triazole	2.21 ± 0.04	0.42 ± 0.01
Pyridazine	0.80 ± 0.02	0.15 ± 0.01
Pyrazole	0.69 ± 0.03	0.07 ± 0.002

^a Ref. [9]

the study of interactions with different nucleophiles, although they react much faster (10^3 – 10^5 times faster) [21, 22]. The results of these studies confirm that the Pd(II) complexes react faster (Table 3). Comparing the properties of the metals, it is clear that Pt(II) is a softer acid than Pd(II). Therefore, the Pt(II)-Cl bond in $[\text{PtCl}(\text{bpma})]^+$ is more stable than the same bond in $[\text{PdCl}(\text{bpma})]^+$, so substitution reactions of the Pt(II) complex are 10^3 times

Table 3 Rate constants for the substitution reactions of corresponding Pt(II) and Pd(II) complexes in 0.1 M NaClO₄

	[PtCl(bpma)] ⁺ k ₂ /M ⁻¹ s ⁻¹ (288 K)	[PdCl(bpma)] ⁺ , ^a 10 ⁻³ /M ⁻¹ s ⁻¹ k ₂ (288 K)
1,2,4-triazole	0.27 ± 0.01	1.04 ± 0.04
Pyridazine	0.11 ± 0.01	Very fast
Pyrazole	0.05 ± 0.002	0.73 ± 0.007
	[Pt(bpma)H ₂ O] ²⁺ k ₂ /M ⁻¹ s ⁻¹ (288 K)	[Pd(bpma)H ₂ O] ²⁺ , ^a 10 ⁻⁴ /M ⁻¹ s ⁻¹ k ₂ (288 K)
1,2,4-triazole	1.31 ± 0.04	2.51 ± 0.11
Pyridazine	0.61 ± 0.03	Very fast
Pyrazole	0.59 ± 0.03	1.17 ± 0.08

^a Ref. [18]

slower. The reactivity ratio between [Pt(bpma)H₂O]²⁺ and [Pd(bpma)H₂O]²⁺ is 10⁴.

The obtained activation parameters, ΔH[‡] and ΔS[‡] are summarized in Table 1. The significantly negative ΔS[‡] supports the assignment of an associative mechanism. However, the activation process in the studied systems seems to be strongly dominated by bond formation. The results are in excellent agreement with data reported for similar systems [9, 18].

Conclusion

In conclusion, this study shows that the substitution reactions of the [PtCl(bpma)]⁺ and [Pt(bpma)H₂O]²⁺ proceed via an associative mechanism, as supported by negative values of the entropy of activation. The studied N-bonding ligands are very good nucleophiles for these complexes, and the order of reactivity is as follows: 1,2,4-triazole > pyridazine > pyrazole. The complex [Pt(bpma)H₂O]²⁺ is more reactive than [PtCl(bpma)]⁺. The Pt(II) complex with bpma is more reactive than the corresponding complex with dien ligand.

Acknowledgments The authors gratefully acknowledge financial support from the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia, project No. 142008.

References

1. Bruijninx PCA, Sadler PJ (2009) *Adv Inorg Chem* 61:1–62
2. Jakupec MA, Galanski M, Arion VB, Hartinger CG, Keppler BK (2008) *Dalton Trans* 183–194
3. Lakomska I, Kooijman H, Spek AL, Shen WZ, Reedijk J (2009) *Dalton Trans* 48:10736–10741
4. Mambanda A, Jaganyi D, Hochreuther S, van Eldik R (2010) *Dalton Trans* 39:3595–3608
5. Ronconi L, Sadler PJ (2007) *Coord Chem Rev* 251:1633–1648
6. Sundberg RJ, Martin RB (1974) *Chem Rev* 74:471–517
7. Kimura T, Okawa N, Nakao A, Nagasaki T, Shimozato R (2006) *Jpn Kokai Tokkyo Koho* 279
8. Van Zutphen V, Pantoja E, Soriano R, Soro C, Tooke DM, Spek AL, van Dulk H, Brouwer J, Reedijk J (2006) *Dalton Trans* 8:1020–1023
9. Rosić J, Petrović B, Djuran MI, Bugarčić ŽD (2007) *Monatsh Chem* 138:1–11
10. Pitteri B, Marangoni G, Cattalini L, Visentin F, Bertolasi V, Gilli P (2001) *Polyhedron* 20:869–880
11. Appleton TG, Hall JR, Ralph SF, Thompson CSM (1984) *Inorg Chem* 23:3521–3525
12. Tobe ML, Burgess J (1991) In: *Inorganic reaction mechanisms*, Addison Wesley Longman Inc, Essex, Chapter 3
13. Bugarčić ŽD, Rosić Jovana, Petrović BV, Summa N, Puchta R, van Eldik R (2007) *J Biolog Inorg Chem* 12:1141–1150
14. Soldatović T, Bugarčić ŽD (2005) *J Inorg Chem* 99:1472–1479
15. Pitteri B, Bortoluzzi M (2006) *Polyhedron* 25:2698
16. Joule JA, Smith GF (1972) *Heterocyclic chemistry*. Chapman and Hall, London
17. Bugarčić ŽD, Petrović BV, Jelić R (2001) *Trans Met Chem* 26:668–671
18. Bugarčić ŽD, Nandibewoor ST, Hamza MSA, Heinemann F, Van Eldik R (2006) *Dalton Trans* 2984–2990
19. Kotowski M, Van Eldik R (1986) In: Van Eldik R (ed) *Inorganic high pressure chemistry, kinetics and mechanism*, Elsevier, Amsterdam, Chapters 1, 3 and 4
20. Hofmann A, Jaganyi D, Munro OQ, Liiher G, Van Eldik R (2003) *Inorg Chem* 42:1688
21. Petrović B, Bugarčić ŽD, Van Eldik R (2008) *Dalton Trans* 807–813
22. Summa N, Soldatović T, Dahlenburg L, Bugarčić ŽD, Van Eldik R (2007) *J Biolog Inorg Chem* 12:461–475

Cite this: *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 6515

www.rsc.org/dalton

PAPER

Equilibrium studies of the reactions of palladium(II) bis(imidazolin-2-imine) complexes with biologically relevant nucleophiles. The crystal structures of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ and $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{PdCl}_2]^\dagger$

Jovana Bogojeski,^a Ratomir Jelić,^b Dejan Petrović,^c Eberhardt Herdtweck,^d Peter G. Jones,^c Matthias Tamm^{*c} and Živadin D. Bugarić^{*a}

Received 21st February 2011, Accepted 4th April 2011

DOI: 10.1039/c1dt10289c

The kinetics and the mechanism of the substitution reactions of the complex $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$, where TL^{tBu} is 2,6-bis[(1,3-di-*tert*-butylimidazolin-2-imino)methyl]pyridine, with nucleophiles (guanosine-5'-monophosphate (5'-GMP), L-Methionine (L-Met) and L-Histidine (L-His)) were studied using variable-temperature stopped-flow techniques in aqueous 0.1 M NaClO_4 with 10 mM NaCl at 298 K. The order of reactivity is: L-Met > 5'-GMP > L-His. The formation equilibria of $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, where BL^{iPr} is 1,2-bis(1,3-diisopropyl-4,5-dimethylimidazolin-2-imino)ethane, and $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ with some biologically relevant ligands (L-Met, 5'-GMP and L-His) were also studied. The stoichiometry and stability constants of the newly formed complexes are reported, and the concentration distribution of the various complex species has been evaluated as a function of pH. Comparing the values of $\log\beta_{1,1,0}$ for 5'-GMP, L-His and L-Met complexes, the most stable complex is with 5'-GMP followed by L-His and L-Met for both complexes, $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$. The crystal structures of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ and $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{PdCl}_2]$ were determined by X-ray diffraction. The coordination geometries around the palladium atoms are distorted square-planar, with the Pd–N1 distance to the central nitrogen atom of the TL^{tBu} ligand, 1.944(2) Å, being shorter than those to the other two nitrogen atoms of TL^{tBu} , viz. 2.034(3) and 2.038(2) Å. The BL^{iPr} complex displays similar Pd–N distances of 2.031(2) and 2.047(2) Å.

Introduction

For kinetic and mechanistic studies, Pd(II) complexes are suitable model compounds since they react *ca.* 10^4 – 10^5 times faster than their Pt(II) analogues, whereas their structural and equilibrium behaviour are very similar.¹ Because of their strong affinity towards S and N donor ligands, as well as their high reactivity, the selectivity of certain Pd(II) complexes towards biomolecules is lower, limiting the possibility of developing compounds with antitumor reactivity. In recent years, however, it has been shown that certain Pd(II) complexes can also show antitumor activity.²

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P O Box 60, 34000, Kragujevac, Serbia. E-mail: bugaric@kg.ac.rs; Fax: +381(0)34335040; Tel: +381(0)34300262

^bFaculty of Medicine, University of Kragujevac, S. Markovića 69, 34000, Kragujevac, Serbia

^cInstitut für Anorganische und Analytische Chemie, Technische Universität Braunschweig, Hagenring 30, 38106 Braunschweig, Germany. E-mail: m.tamm@tu-bs.de; Fax: +49-531-391-5387; Tel: +49-531-391-5309

^dDepartment of Chemistry, Technische Universität München, Lichtenbergstraße 4, 85748, Garching, Germany

† Electronic supplementary information (ESI) available. CCDC reference numbers 808222 and 808223. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c1dt10289c

Chelation plays an important role in modern organometallic chemistry and homogeneous catalysis,³ and also in bioinorganic chemistry.⁴ Numerous variations of Schiff base ligands have been prepared and extensively investigated as ancillary ligands in transition metal-catalyzed reactions.^{5,6} Inspired by the great success of these diimine ligands, analogous ethylene- and pyridine-bridged bis(imidazolin-2-imine) ligands such as TL^{tBu} and BL^{iPr} were introduced (Fig. 1), in which the imine donor sites are highly basic and exhibit strong nucleophilic properties as a result of the ability of the imidazole ring to effectively stabilize a positive charge.⁷ The strong electron-donating capacity of these ligands towards transition metals was documented by the preparation of highly reactive copper(I) complexes and by the isolation of coordinatively unsaturated 16-electron molybdenum and ruthenium half-sandwich complexes containing ancillary cycloheptatrienyl, cyclopentadienyl and arene ligands.^{8,9} In addition, these ligands proved capable of forming stable complexes with the first row transition metals Mn–Zn.¹⁰

In this contribution, we report kinetic studies for the ligand substitution of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ with 5'-GMP, L-Met and L-His using stopped-flow techniques. We have also studied complex formation of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ with 5'-GMP, L-Met and L-His by potentiometric measurements. This

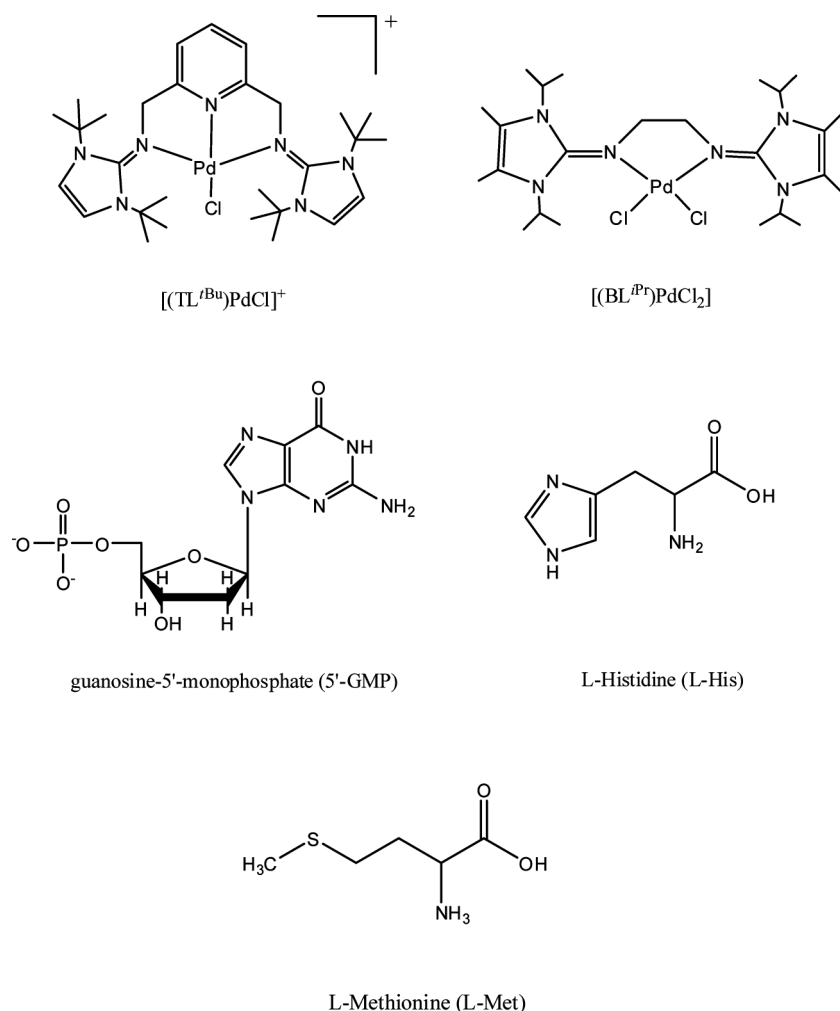


Fig. 1 Structures of the studied complexes and ligands.

set of nucleophiles was selected because of their difference in nucleophilicity, steric hindrance, binding properties and biological relevance; their structures are shown in Fig. 1.

Results and discussion

Preparation and structure of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$

The complex $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ was prepared by the reaction of TL^{tBu} with PdCl_2 in aqueous solution at pH 5, followed by addition of a saturated aqueous solution of NaClO_4 . Single crystals of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ were obtained from acetone/ethanol solution, and the molecular structure was determined by X-ray diffraction analysis (Fig. 2). The unit cell is composed of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$ cations and ClO_4^- anions with no direct metal–perchlorate interaction. In the cation, the TL^{tBu} ligand coordinates to palladium in a tridentate fashion, and the fourth coordination site is occupied by a chloride ion. The palladium atom resides in a slightly distorted square-planar environment, and the sum of the four *cis* angles is 360.6° , with the N–Pd–N angles of $80.90(10)^\circ$ and $81.05(10)^\circ$ being significantly smaller than the N–Pd–Cl angles of $99.86(7)^\circ$ and $98.74(7)^\circ$. The Pd–N1 distance to the central nitrogen atom of the TL^{tBu} ligand, $1.944(2) \text{ \AA}$, is shorter than those to the other two

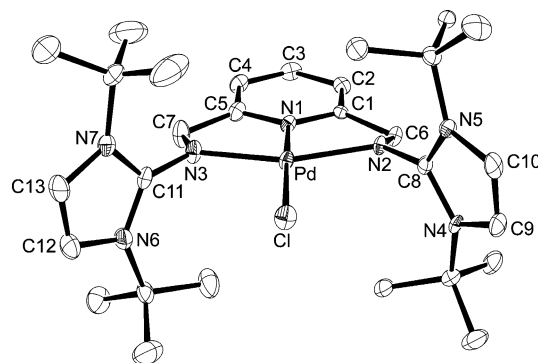


Fig. 2 ORTEP drawing of the $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]^+$ cation in $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ with thermal displacement parameters at 50% probability. Selected bond distances [\AA] and angles [$^\circ$]: Pd–N1 $1.944(2)$, Pd–N2 $2.038(2)$, Pd–N3 $2.034(3)$, Pd–Cl $2.3256(8)$; N1–Pd–N3 $80.90(10)$, N1–Pd–N2 $81.05(10)$, N3–Pd–N2 $160.51(9)$, N1–Pd–Cl $175.08(7)$, N3–Pd–Cl $99.86(7)$, N2–Pd–Cl $98.74(7)$.

nitrogen atoms, *viz.* $2.034(3)$ and $2.038(2) \text{ \AA}$. The Pd–Cl distance is $2.3256(8) \text{ \AA}$. In a similar fashion to that observed for related cationic copper(II) complexes of the type $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{CuCl}]^+$,^{8a} the imidazole rings adopt perpendicular orientations with respect to

the plane defined by the metal and the metal-bound atoms as indicated by interplanar angles of 86.2° and 88.1°.

Preparation and structure of [(BL)^{Pr}PdCl₂]

The reaction of BL^{Pr} with [Pd(COD)Cl₂] (COD = 1,5-cyclooctadiene) in THF solution afforded the complex [(BL)^{Pr}PdCl₂] as an orange-red solid. The ¹H NMR in THF-*d*₈ indicates that rotation of the imidazole rings around the N–C bonds is already slow at room temperature, resulting in the observation of two well-resolved doublet resonances for the diastereotopic isopropyl methyl groups. Red crystals suitable for X-ray diffraction analysis were isolated from the THF/*n*-hexane solution, and the molecular structure [(BL)^{Pr}PdCl₂] is shown in Fig. 3. The diimine ligand is coordinated to the palladium atom in a chelating, bidentate fashion with an N1–Pd–N2 bite angle of 81.84(8)°. Accordingly, the palladium atom resides in a distorted square-planar environment, although the ligand geometry around the Pd atom is perfectly planar as indicated by an angle sum of 360.0°. The Pd–N bond lengths of 2.031(2) and 2.047(2) Å are similar to those observed for [(TL)^{Bu}PdCl]ClO₄ (*vide supra*). A pronounced pyramidalization of the nitrogen donor atoms N1 and N2 is observed as the sums of the surrounding angles are 347.5° and 341.2°, respectively. The imidazole rings are perpendicularly oriented relative to the palladium coordination sphere, and the interplanar angle between the two rings is 18.2°. Similar structural features have been described for a PdCl₂ complex containing the related ligand 1,2-bis(1,3-dimethylimidazolin-2-imino)ethane.¹¹

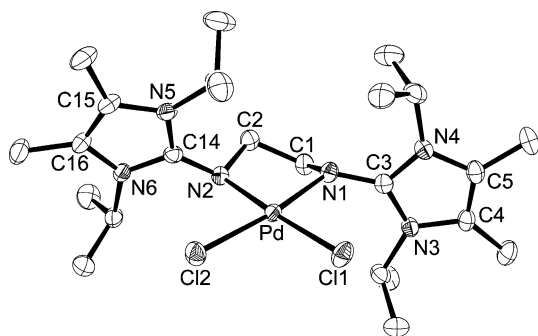


Fig. 3 ORTEP drawing of the [(BL)^{Pr}PdCl₂] with thermal displacement parameters at 50% probability. Selected bond distances [Å] and angles [°]: Pd–N1 2.031(2), Pd–N2 2.047(2), Pd–Cl1 2.3348(6), Pd–Cl2 2.3360(6), N1–C3 1.356(3), N2–C14 1.359(3); N1–Pd–N2 81.84(8), Cl1–Pd–Cl2 93.39(2), N1–Pd–Cl1 94.12(6), N2–Pd–Cl2 90.65(5).

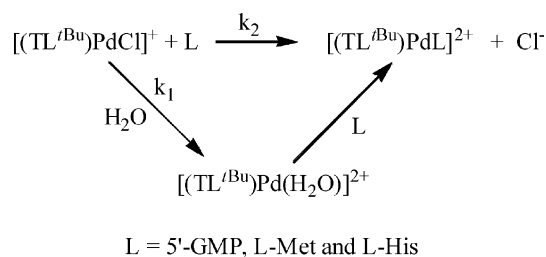
Kinetic studies of the complex formation of [(TL)^{Bu}PdCl]ClO₄

The kinetics of the substitution reactions of coordinated chloride from the complex [(TL)^{Bu}PdCl]ClO₄ with the ligands 5'-GMP, L-Met and L-His (Fig. 1) was investigated in aqueous 0.1 M NaClO₄ with 10 mM NaCl at 298 K, using a variable-temperature stopped-flow spectrophotometer, by monitoring the change in absorbance at suitable wavelengths as a function of time. All kinetic experiments were performed under pseudo-first-order conditions, for which the concentration of the nucleophile was always in at least a 10-fold excess. NaCl was added to the solutions of the chloro complexes to prevent their spontaneous hydrolysis.

The pseudo-first-order rate constants were found to be linearly dependent upon the concentration of Nu, as presented in eqn (1).

$$k_{\text{obsd}} = k_2[\text{Nu}] + k_1 \quad (1)$$

In the case of complex [(TL)^{Bu}PdCl]ClO₄, the substitution reactions proceed according to two parallel associative reaction paths, which was reported to be the case for most square-planar d⁸ metal complexes.¹² One path involves the rate-determining formation of a solvent complex (*k*₁) followed by rapid substitution of the coordinated solvent. The other reaction involves direct nucleophilic attack by the entering ligand (*k*₂) as presented in Scheme 1.



Scheme 1

The solvolysis rate constant *k*₁, independent of the concentration of L, is very small and contributes little to the *k*_{obsd}. The second-order rate constant *k*₂, characterizing the formation of the product complex, can be evaluated from the slope of a plot *k*_{obsd} vs. [L]. The experimental results for the displacement of chloride from [(TL)^{Bu}PdCl]ClO₄ are summarized in Table 1 and presented in Fig. 4.

Comparing the results shown in Table 1 and in Fig. 4, we notice the following order of reactivity of the nucleophiles: L-Met > 5'-GMP > L-His. The higher reactivity of L-Met relative to 5'-GMP and L-His is in line with expectation, since L-Met is a sulfur-bonding nucleophile and has a high affinity for Pd(II) complexes. It is well known that Pt(II) and Pd(II) have a strong affinity towards sulfur, and this has been shown in many previous studies.^{13,14} 5'-GMP and L-His have almost the same order of reactivity, with 5'-GMP being slightly faster. L-Met reacts about 4 times faster than 5'-GMP and L-His; these are N-bonding nucleophiles and accordingly have lower affinities for the Pd(II) and Pt(II) complexes.

From the values of the second-order rate constant for the substitution reactions of [Pd(dien)Cl]⁺ (dien = diethylenetriamine) and [(TL)^{Bu}PdCl]⁺ with 5'-GMP, it can be concluded that the complex [Pd(dien)Cl]⁺ is 100 times more reactive¹⁵ than the [(TL)^{Bu}PdCl]⁺ complex. The low reactivity of the studied complex, [(TL)^{Bu}PdCl]⁺, could be explained by the bulkiness of the *tert*-butyl groups.

Table 1 Second-order rate constants for the reactions of [(TL)^{Bu}PdCl]⁺ with 5'-GMP, L-Met, L-His in 0.1 M NaClO₄ and 10 mM NaCl

	<i>k</i> ₂ ²⁹⁸ /M ⁻¹ s ⁻¹	<i>k</i> ₁ /s ⁻¹
5'-GMP	30.30 ± 0.47	0.064 ± 0.001
L-Met	80.76 ± 1.55	0.037 ± 0.001
L-His	20.07 ± 0.38	0.048 ± 0.001

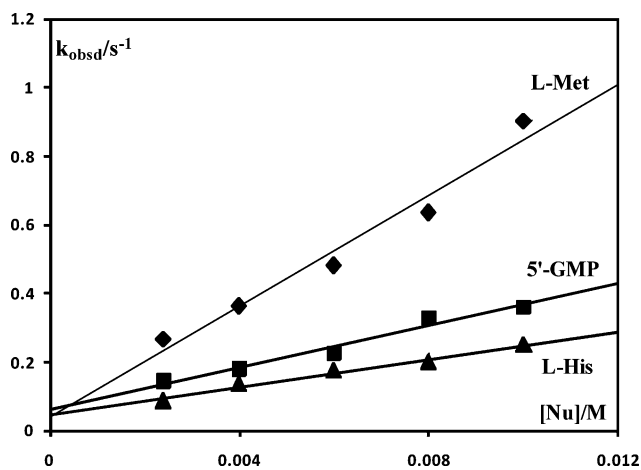


Fig. 4 Pseudo-first-order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ in 0.1 M NaClO_4 and 10 mM NaCl at 298 K.

Potentiometric studies

The acid–base equilibrium of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$, $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and also complex formation in the three-component system, $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ or $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}/\text{H}^+$ or $\text{OH}^-/5\text{'-GMP}$ or L-methionine or L-histidine, were characterized by fitting the potentiometric titration data to various acid–base models. First it was necessary to characterize the hydrolysis of the complex ions under exactly the same experimental conditions as for the complexation study. The values of the acid dissociation constants of the ligands are taken from the literature.^{16–18}

The experimental data were obtained by glass electrode Emf measurements in 0.1 M NaClO_4 medium at 298.0 K. To find the model that gives the best fit to the experimental data, the following complexes and various combinations thereof were included in Hyperquad2006 calculations: monomers (1,1,0); (1,2,0); (1,1,1); (1,1,2); (1,2,1); (1,2,2); (1,1,–1), (1,1,–2) and polymers (2,1,0); (2,2,2); (2,2,1); (2,1,–1); (2,1,–1). During the calculations the analytical parameters (M_0 , H_0 and L_0) were held constant. The pure hydrolytic complexes and the protonated ligand species were not refined during the calculations. Different strategies were employed in the refinement operations: (i) fixing selected constants to simplify the optimization procedure, (ii) reducing the number of experimental points included in calculations, (iii) “piecewise” fitting of the experimental data. Initially, each titration was treated separately. All complexes found in this way were included as the starting model for subsequent calculations. The best model was chosen using these criteria: (a) the lowest value of U , (b) standard deviation in the calculated stability constants less than 0.15 log units, (c) standard deviations in potential residuals, defined as:

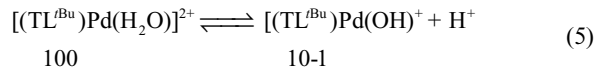
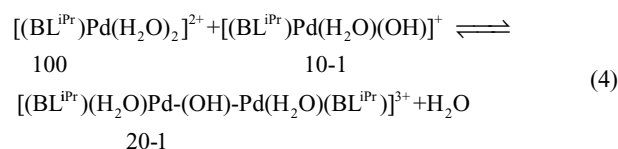
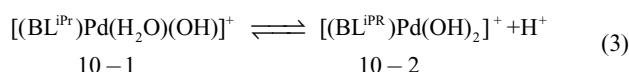
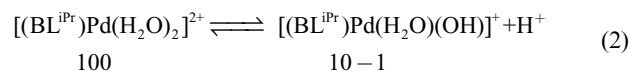
$$s = \{ewT/(N - k)\}^{1/2}$$

where e is a vector in potential residuals ($E_{\text{obs}} - E_{\text{calc}}$), w is a weighting matrix, N is the number of observations and k is the number of variable parameters, with standard deviations in volume readings of 0.0005 cm^3 and standard deviations in the potential readings of 0.1 mV, that should be less than 3.0. (d) goodness-of-fit statistics, χ^2 (Pearson’s test) at 95% confidence level

with six degrees of freedom, less than 12.6, and (e) reasonably random scatter of potential residuals without any significant systematic trends. The final accepted set of complexes is given in Table 2. Statistical parameters, which determine the quality of the fit, are also given.

Acid–base equilibria of $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$

The hydrolysis constants of the complexes were determined by titrating 1.0 and 2.0 mM solutions with NaOH . Their acid–base chemistry was characterized by fitting the potentiometric data to various acid–base models. The best fit model was found to be consistent with species of the compositions (1,0,–1), (1,0,–2) and (2,0,–1), as given in eqn (2) to (5). The calculated values of the hydrolysis constants are given in Table 2.



The $\text{p}K_{\text{a}}$ of coordinated water in $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ is 9.74, and for $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ the $\text{p}K_{\text{a}1}$ and $\text{p}K_{\text{a}2}$ are 6.18 and 10.07. The equilibrium constant (K) for the dimerization reaction was determined to be $\log K = 4.24$ ($= \log \beta_{20-1} - \log \beta_{10-1}$). The similar complex $[\text{Pd}(\text{bpma})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ has a $\text{p}K_{\text{a}}$ of 6.67,¹³ the $\text{p}K_{\text{a}}$ of coordinated water in $[\text{Pd}(\text{dien})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ is 7.16.¹⁹ For the same complex, the $\text{p}K_{\text{a}}$ was reported as 7.74. The difference in the values could be explained by different experimental conditions, ionic strength and temperature.²⁰ The complex $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ has a pyridine group and, in addition, it contains bulky imidazolin-2-imine moieties with a strong electron-donating capacity, and thus, the low $\text{p}K_{\text{a}}$ value can be attributed to the electronic and structural properties of this compound. Comparing $\text{p}K_{\text{a}1}$ of the $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ with $[\text{Pd}(\text{en})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ ($\text{p}K_{\text{a}1} = 5.15$) and $[\text{Pd}(\text{AEP})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ ($\text{p}K_{\text{a}1} = 4.59$),^{21,22} shows that the $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ has a minimum value that can be attributed to the strong electron-donating capacity of imidazolin-2-imine.

The distribution diagrams for the hydrolyzed complexes of $[(\text{TL}^{\text{tBu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ and $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ are shown in Fig. 5. The concentration of the monohydroxo species (1,0,–1) increases with increasing pH. In the case of $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ in the pH range from 2 to 10, there are two species, the μ -hydroxo (2,0,–1) and monohydroxo (1,0,–1). The μ -hydroxo species increases until the pH reaches around 6; this species is assumed to form through dimerization of the $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and $[(\text{BL}^{\text{iPr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^+$ complexes *via* a hydroxo group as shown in eqn (4).

Table 2 Stability constants of $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ and $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ with 5'-GMP, L-His and L-Met formed in a 0.1 M NaClO₄ ionic medium, at 298 K

log $\beta_{p,q,r} \pm \sigma$		$[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$			$[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$			
Species (p,q,r)		5'-GMP	L-His	L-Met		5'-GMP	L-His	L-Met
(1,0,-1)	-6.18(5)				-9.74(2)			
(1,0,-2)	-16.25(7)							
(2,0,-1)	-1.94(5)							
(1,1,0)		8.61(6)	7.23(5)	6.18(7)		6.35(7)	4.83(7)	4.33(2)
(1,1,1)		15.94(9)	14.12(7)	13.89(8)		14.61(5)		
(1,1,2)		20.54(9)	18.94(9)	19.85(9)				14.23(9)
Statistics	$\chi^2 = 13.33$ $s = 1.03$	$\chi^2 = 12.70$ $s = 1.23$	$\chi^2 = 12.65$ $s = 2.24$	$\chi^2 = 12.44$ $s = 1.70$	$\chi^2 = 13.59$ $s = 1.63$	$\chi^2 = 11.04$ $s = 1.24$	$\chi^2 = 12.71$ $s = 1.96$	$\chi^2 = 12.84$ $s = 2.07$

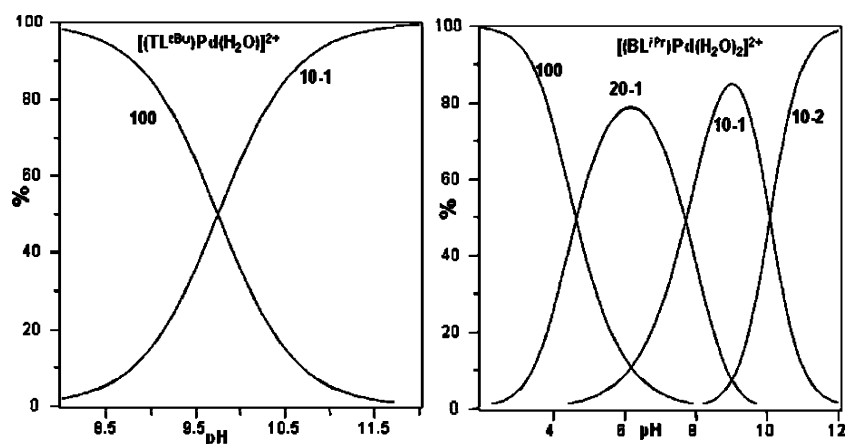


Fig. 5 Distribution of various species as a function of pH in $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ (2 mM) and in $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ (2 mM) at 298 K.

Complex formation of $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ with 5'-GMP, L-methionine and L-histidine

The formation constants of the complexes were determined by titrating solution mixtures of $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ (1.0 mM) and the ligand (5'-GMP, L-methionine or L-histidine) in concentration ratios of 1 : 1 and 1 : 2 (metal : ligand). The equilibria for the species of general formula $M_pL_qH_r$ ($M = [(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$, $L = 5'$ -GMP, L-methionine or L-histidine) were calculated using the computer program HYPERQUAD2006.

The global formation constants calculated for the studied $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ complexes are given in Table 2. The results for the $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ -L system showed the formation of the 1 : 1 species and its deprotonated and protonated form. The distribution diagrams for complex formation of the $[(TL^{tBu})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ with 5'-GMP, L-methionine and L-histidine are given in Fig. 6.

It is known that 5'-GMP can coordinate to metal ions *via* the N_1 and N_7 positions, but binding through the N_7 position in a neutral or weakly acidic medium has been verified.^{20,23} The pH-dependent binding of 5'-GMP has been reported before.²⁴ L-histidine is a tridentate ligand having amino, imidazole and carboxylate groups as binding sites, but only two binding sites are involved in complex formation. L-histidine coordinates in either a glycine-like or a histidine-like mode. In biological systems, there are numerous metalloproteins in which a metal ion is bound to a histidine imidazole through N_1 or N_3 .^{25,26}

From Fig. 6, it can be seen that complex formation in the case of 5'-GMP starts almost at the beginning of the potentiometric titration by formation of the (1,1,1) complex, and the maximum concentration is reached at about pH 6. The complex (1,1,0) starts to form at pH 6, and the maximum concentration is reached at about pH 11. For the complex formation with L-histidine, formation of the complex (1,1,0) starts at pH 5, and the maximum concentration is observed at about pH 9.5; the hydroxo species is present at pH 9 and above. For L-methionine, formation of the complex (1,1,0) starts from pH 5, and the maximum concentration is reached at about pH 9; the hydroxo species (1,0,-1) is present at pH 9 and above. From the beginning of the titration, the complex (1,1,2) is present, and the concentration of this complex decreases until pH 5. 5'-GMP forms the protonated complex (1,1,1), and the pK_a of this protonated complex is 8.25 ($\log\beta_{1,1,1} - \log\beta_{1,1,0}$).

Comparing the values of $\log\beta_{1,1,0}$ for 5'-GMP, L-histidine and L-methionine complexes (Table 2) the most stable complex is with 5'-GMP, followed by L-histidine and L-methionine. Pd(II) and Pt(II) have a high affinity for sulfur donors that compete with nitrogen donor ligands such as DNA bases.^{27,28} A conventional hypothesis is that sulfur-containing nucleophiles initially bind to the platinum center and then convert to platinum-DNA complexes as the thermodynamically more stable products.²⁹ DFT calculations show by how much the Pt- N_7 (Gua) adduct is more stable than the Pt-S(thioether) adduct, these calculations (B3LYP/LANL2DZp) for the complexes *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], [Pt(en)Cl₂] and [Pt(dach)Cl₂]

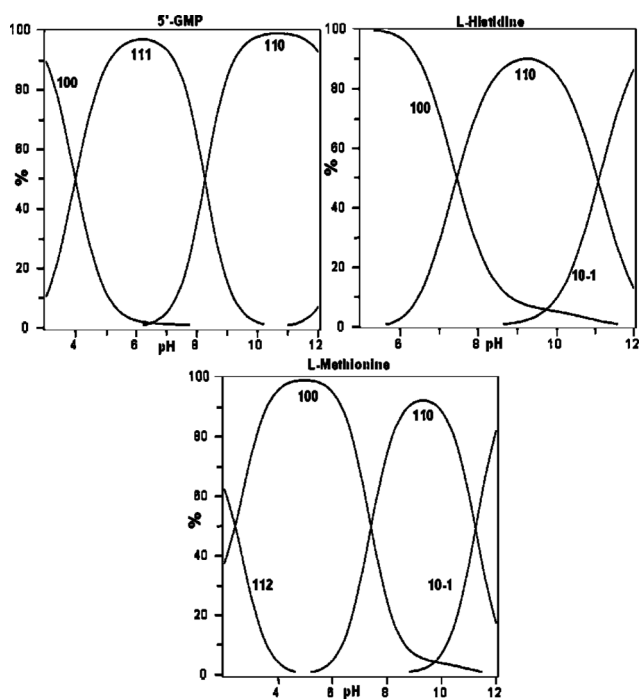


Fig. 6 Species distribution diagrams for the $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ -L, 1:2 systems: L = 5'-GMP, His and L-Met at 298 K. $C_{[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}} = 1.0 \text{ mM}$, $C_{\text{L}} = 2.0 \text{ mM}$.

showed that the Pt–N₇(Gua) adduct is more stable than the Pt–S(thioether) adduct. For the first step in the gas phase Pt–N₇(Gua) is more stable than Pt–S(thioether) by *ca.* 31 to 33 kcal mol⁻¹, and for the second step by 32 to 34 kcal/mol.³⁰ The calculations collectively support the experimentally observed substitution of thioethers bound to Pt(II) complexes by N₇(5'-GMP).³⁰ However, Pt–S(thioether) adducts have been postulated to be a drug reservoir for platinum at DNA and may act as intermediates of platinum compounds and transform them into Pt–DNA(N₇) adducts.²⁹ Our results from the equilibrium measurements support the observation that Pd(II)–N₇ adducts are more stable than Pd(II)–S(thioether) adducts.

Comparing the values of the $\log\beta_{1,1,0}$ (Table 2) for $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and for $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ it can be deduced that $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ forms more stable complexes with all three ligands (5'-GMP, L-histidine and L-methionine).

Complex formation of $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ with 5'-GMP, L-methionine and L-histidine

The formation constants of the complexes were determined by titrating solution mixtures of $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ (1.0 mM) and the ligand (5'-GMP, L-methionine or L-histidine) in concentrations of 1:1 and 1:2 (metal:ligand). The equilibrium for the species of the general formula $\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r$ ($\text{M} = [(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, L = 5'-GMP, L-methionine or L-histidine), were calculated using the computer program HYPERQUAD2006.

For the $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ -L system, the potentiometric data were fitted to various models. The best model for each ligand to metal concentration ratio is shown in Table 2. The most acceptable model was found to be consistent with the formation of complexes with stoichiometric coefficients (1,1,2), (1,1,1) and

(1,1,0). The distribution diagrams for complex formation of the $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ with 5'-GMP, L-methionine and L-histidine are given in Fig. 7.

From the distribution diagram of the $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ complex and 5'-GMP species (Fig. 7), it can be seen that in acidic medium the predominant species are (1,1,2) and (1,1,1) with protonated 5'-GMP. The maximum concentration for the (1,1,1) species occurs at about pH 6.

At pH 6 and above, the species (1,1,0) starts to form, and the maximum concentration is reached at pH 9.5. The hydroxo species (1,0,-1) and (1,0,-2) are present at pH 10 and above. L-histidine also formed two complexes in acidic medium, (1,1,2) and (1,1,1). The formation of a complex with deprotonated ligand (1,1,0) started from pH 5, and from pH 7 hydroxo complexes, (1,0,-1) and (1,0,-2), began to form. L-methionine in acidic medium also formed two species (1,1,2) and (1,1,1). From pH 6, complex (1,1,0) is present with a maximum concentration at pH 8.5. Hydroxo species (1,0,-1) and (1,0,-2) appear from pH 6.

The most stable complex is with 5'-GMP, rather than with L-histidine or with L-methionine ($\log\beta_{p,q,r}$, Table 2). Comparing the values of the $\log\beta_{1,1,0}$ (Table 2) it can be concluded that the complexes with $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ are more stable than $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ with all ligands (5'-GMP, L-histidine and L-methionine).

Conclusions

The molecular structures of the complexes $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$ and $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{PdCl}_2]$ were determined by X-ray diffraction analysis. The coordination geometries around the palladium atoms are distorted square-planar.

The stability constants obtained from the equilibrium measurements of the $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ and $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ with some biologically relevant ligands (L-methionine, guanosine-5'-monophosphate and L-histidine) show that both complexes form very stable complexes with selected ligands. In both cases, the most stable complexes are formed with 5'-GMP. The order of the reactivity of the studied nucleophiles towards $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{PdCl}]^+$ is: L-Met > 5'-GMP > L-His.

Experimental

Chemicals and solutions

The ligands L-methionine, guanosine-5'-monophosphate sodium salt and L-histidine were obtained from Fluka, Merck and Acros Organics respectively, and were used without further purification. PdCl₂ and [Pd(COD)Cl₂] were purchased from Strem Chemicals. The preparation of the ligands BL^{Pr} and TL^{Bu} had been previously published.⁸ All other chemicals were of the highest purity commercially available.

The sodium hydroxide solution was prepared from concentrated volumetric solutions p.a. (Merck) by diluting with freshly boiled doubly distilled water, cooled under a constant flow of purified nitrogen. The alkali concentration was checked by titration against potassium hydrogen phthalate. For the preparation of perchloric acid solution, HClO₄ p.a. (Merck, "Suprapure") was used. The concentration of the resulting solution was determined by potentiometric titration with 0.1000 M NaOH with methyl red

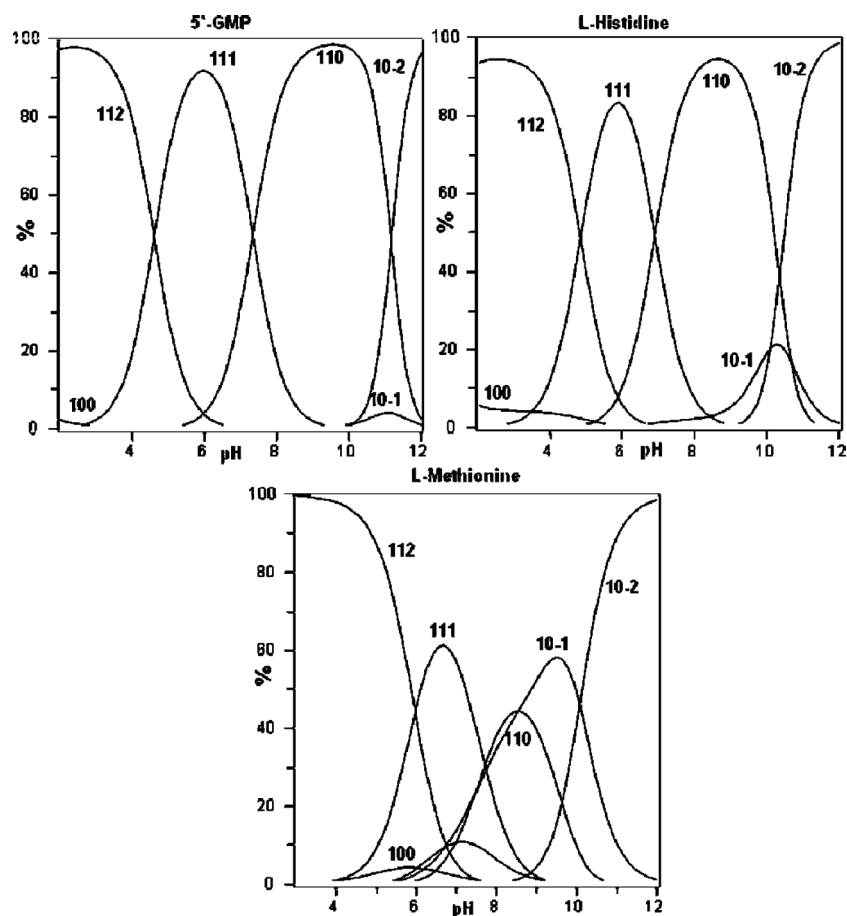


Fig. 7 Species distribution diagrams for the $[(BL^{Pr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ -L, 1 : 2 systems: L = 5'-GMP, L-His and L-Met. at 298 K. $C_{[(BL^{Pr})Pd(H_2O)_2]^{2+}} = 1.0$ mM $C_L = 2.0$ mM.

indicator. Concentration of perchloric acid solution was 0.1028 M and concentration of the sodium hydroxide solution was 0.1012 M.

An initial solution of $NaClO_4$ was prepared by dissolving $NaClO_4$, p.a., (Merck) in doubly distilled water. The concentration is determined by steaming a known volume of solution to dryness. The concentration of the $NaClO_4$ solution was 0.1 M. Chemical analysis, UV-VIS and 1H NMR spectral data were in good agreement with those obtained in previous preparations.

All manipulations of air-sensitive materials were performed with the rigorous exclusion of oxygen and moisture in flame-dried Schlenk-type glassware either on a dual manifold Schlenk line, interfaced to a high vacuum (1×10^{-4} Torr) line, or in an argon-filled glovebox (MBraun 200B). All solvents were purified by a solvent purification system from MBraun, and stored over molecular sieves (4 Å) prior to use.

Preparation of the complexes

$[(TL^{tBu})PdCl]ClO_4$. A solution of TL^{tBu} (200 mg, 0.405 mmol) in water (10 cm^3) was added dropwise to a suspension of $PdCl_2$ (equimolar) in water (10 cm^3) at ambient temperature. pH was adjusted to 5 by adding a solution of 0.1 M HCl. The mixture was heated at 50 °C for 24 h, after which the solvent volume was reduced to 5 cm^3 and the product was precipitated by addition

of a saturated aqueous solution of $NaClO_4$ (20 cm^3). Filtration, washing with acetone (2×10 cm^3) and drying *in vacuo* afforded the product as a deep-red solid. The product crystallized from an acetone/ethanol mixture. Deep red crystals were isolated, washed with acetone (2×10 cm^3) and dried *in vacuo* (250 mg, 94%). (Found: C, 47.8; H, 6.2; N, 13.5 Calc. for $C_{30}H_{52}Cl_2N_7O_4Pd$: C, 47.9; H, 6.9; N, 13.0); δ_H (200 MHz, D_2O) 7.56 (2 H, d, *m*-Py), 7.45 (1 H, t, *p*-Py), 4.57 (4 H, s, Py- CH_2) and 1.68 (36 H, s, CCH_3).

$[(BL^{Pr})PdCl_2]$. A solution of BL^{Pr} (103 mg, 0.247 mmol) in THF (10 cm^3) was added dropwise to a solution of $[Pd(COD)Cl_2]$ (70 mg, 0.245 mmol) in THF (10 cm^3) at room temperature. During the addition of the ligand, the reaction mixture turned orange, and the solution was stirred for 12 h, after which the solvent volume was reduced to 10 cm^3 . The product precipitated upon addition of *n*-hexane (40 cm^3). Filtration, washing with *n*-hexane (2×10 cm^3) and drying *in vacuo* afforded the product as an orange-red solid (120 mg, 82%). (Found: C, 49.6; H, 7.7; N, 13.6 Calc. for $C_{24}H_{44}N_6PdCl_2$: C, 48.5; H, 7.4; N, 14.15); δ_H (270 MHz, THF- d_6) 5.70 (4 H, sept, NCH), 2.74 (4 H, s, CH_2), 2.18 (12 H, s, CCH_3), 1.68 (12 H, d, $CHCH_3$) and 1.51 (12 H, d, $CHCH_3$); δ_C (67.93 MHz, THF- d_8) 155.1 (NCN), 119.5 (NCCH $_3$), 58.6 (CH_2), 48.2 (NCH), 21.2 ($CHCH_3$), 20.5 ($CHCH_3$) and 9.1 (CCH_3).

Preparation of aqua complexes

The aqua complexes $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ and $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ were prepared starting from the corresponding chloro complexes. The conversion was performed by addition of the corresponding amount of AgClO_4 to a solution of the chlorido complex and stirring for 3 h at 50 °C. The white precipitate that formed (AgCl) was filtered off using a Millipore filtration unit, and the solutions were diluted. Great care was taken to ensure that the resulting solution was free of Ag^+ ions and that the chloro complexes had been completely converted into the aqua form. Since it is well known that perchlorate ions do not coordinate to $\text{Pd}(\text{II})$ and $\text{Pt}(\text{II})$ in aqueous solution,³¹ potentiometric titrations were studied in perchlorate medium.

Instrumentation and measurements

Potentiometric measurements were carried out using a Mettler Delta 350 digital pH meter with a resolution of ± 0.01 mV, with a combination glass electrode. This electrode was calibrated using standard buffer solutions of pH 4, 7 and 9 obtained from Sigma. Titrant was delivered from a Metrohm (Donau, Swiss) Dosimat model 665 autoburette. The constant temperature was maintained with a VEB Prüfgeräte model E3E circulating ultrathermostat. Kinetic measurements on the $\text{Pd}(\text{II})$ complex were carried out on an Applied Photophysics SX.18MV stopped-flow instrument coupled to an on-line data acquisition system. The temperature was controlled throughout all kinetic experiments to ± 0.1 °C. All kinetic measurements were performed under pseudo-first-order conditions, *i.e.*, at least a 10-fold excess of the nucleophile was used. ^1H NMR measurements were performed on a Varian Gemini 2000, 200 MHz NMR spectrometer.

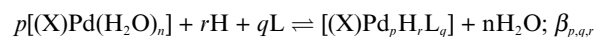
Potentiometric measurements

All titrations were performed in a double mantled, thermostated glass vessel closed with a Teflon stopper. A constant temperature of (298 ± 0.1) K was maintained by circulating thermostated water through the jacket. Purified and oxygen-free nitrogen gas was bubbled through the solution to provide an inert atmosphere and for stirring. Additional stirring was achieved with a magnetic stirrer. To reduce the concentration of the hydrogen ion, the alkali was added stepwise from an autoburette in small aliquots (0.005–0.01 ml). The potential was monitored after each addition of titrant. The titration protocol was chosen in such a way that the hydrolysis and complexation reactions would proceed in the conditions as close to true equilibrium as possible. To achieve this, the potential readings were taken every 2 min until steady values to ± 0.1 mV min^{-1} were obtained. The average equilibration time for each point was 5 min at the beginning of the titration and 10 min when complexation occurred.

The stability constants of the complexes were determined by titrating 1.0 and 2.0 mM solutions of each complex with the standard NaOH solution. The formation constants of the complexes were determined by titrating solution mixtures of complexes and the ligands in concentration ratios of 1:1 and 1:2 (complex:ligand). The titration solution mixtures had a volume of 20.0 mL. The ionic strength was adjusted by 0.1 M NaClO_4 .

Data treatment

The species formed in the studied systems were characterized by the general equilibrium:



$$\text{X} = \text{TL}^{\text{Bu}} \text{ or } \text{BL}^{\text{Pr}}$$

$$n = 1 \text{ or } 2$$

L = L-methionine, guanosine-5'-monophosphate and histidine

$$\beta_{p,q,r} = \frac{[(\text{X})\text{Pt}]_p [\text{H}_r\text{L}_q]}{[(\text{X})\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_n]^p [\text{H}]^r [\text{L}]^q}$$

where L is the deprotonated molecule of the ligand and the charges have been omitted for convenience.

Three kinds of equilibria were to be considered in the present study: (a) protonation of ligand anion; (b) hydrolysis of the $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ or $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ ion and (c) general three component equilibria, which include the case $r = 0$, *i.e.*, the formation of pure binary complexes of $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ or $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$. Negative values of r denote hydroxo complexes. The overall protonation constants of the ligand anions, and stability constants of hydrolytic complexes of $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ or $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ ions, were determined in separate experiments. Thus, in evaluation of the three-component equilibria (c), the binary models (a) and (b) were considered as known. The concentration stability constants of complexes, $\beta_{p,q,r}$ were calculated with the aid of the suite of computer programs HYPERQUAD2006.³²

The stoichiometry and stability constants of the complexes formed were determined by testing various possible composition models. The selected model gave the best statistical fit and was chemically consistent with the titration data without giving any systematic drifts in the magnitude of various residuals, as described elsewhere.³³ The species distribution diagrams were obtained using the program HYSS.³⁴

Kinetic measurements

The substitution reactions of the $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{PdCl}]^+$ complex with the nucleophiles 5'-GMP, L-Met and L-His were studied spectrophotometrically by following the change in absorbance at suitable wavelengths as a function of time.

Spectral changes resulting from the mixing of the complex and nucleophile solutions were recorded over the wavelength range 200 to 400 nm to establish a suitable wavelength at which kinetic measurements could be performed.

Substitution reactions of $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{PdCl}]^+$ were initiated by mixing equal volumes of complex and ligand solutions directly in the stopped-flow instrument and followed for at least eight half-lives. The substitution process was monitored as change in absorbance with time under pseudo-first-order conditions.

The observed pseudo-first-order rate constants, k_{obsd} , were calculated as the average value from four to six independent kinetic runs using the program OriginPro 8. Experimental data are reported in Tables S1–S3, ESI.†

X-ray structure determination of $[(\text{TL}^{\text{Bu}})\text{PdCl}]\text{ClO}_4$

Crystal data: $\text{C}_{31}\text{H}_{53}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_5\text{Pd}$, $M = 781.10$, monoclinic, $P2_1/n$, $a = 9.0962(2)$, $b = 13.0994(3)$, $c = 29.6124(6)$ Å, $\beta = 96.852(2)^\circ$,

$Z = 4$, $V = 3503.26(13) \text{ \AA}^3$, $D_c = 1.481 \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu = 0.73 \text{ mm}^{-1}$, $T = 100(2) \text{ K}$. Data collection: A crystal $0.22 \times 0.11 \times 0.07 \text{ mm}$ was used to record 60455 intensities to $2\theta 57^\circ$ on an Oxford Diffraction Xcalibur S diffractometer using monochromated Mo-K α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). An absorption correction was performed on the basis of multi-scans. Structure refinement: The structure was refined anisotropically on F^2 using the program SHELXL-97 (G. M. Sheldrick, University of Göttingen, Germany). Hydrogen atoms were included using rigid methyl groups or a riding model. The final $wR2$ was 0.1055 for 400 parameters and all 8568 unique reflections, with conventional $R1$ ($F > 4\sigma(F)$) 0.0443; max. $\Delta\rho$ 0.73 e \AA^{-3} ; S 1.01. One distorted molecule of ethanol, which could not be refined satisfactorily, was removed using the program SQUEEZE (A. L. Spek, University of Utrecht, Netherlands). The quoted formula and derived parameters are based on one molecule of ethanol per asymmetric unit. CCDC reference number 808222.

X-ray structure determination of $[(\text{BL}^{\text{Pr}})\text{PdCl}_2]$

Crystal data: $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{Pd}$, $M = 593.95$, triclinic, $P\bar{1}$, $a = 8.9184(1)$, $b = 10.6686(1)$, $c = 15.6865(2) \text{ \AA}$, $\alpha = 102.230(7)$, $\beta = 95.665(8)$, $\gamma = 104.122(7)^\circ$, $Z = 2$, $V = 1396.64(3) \text{ \AA}^3$, $D_c = 1.412 \text{ Mg m}^{-3}$, $\mu = 0.88 \text{ mm}^{-1}$, $T = 143(1) \text{ K}$. Data collection: Suitable single crystals for the X-ray diffraction study were grown from THF/benzonitrile/hexane. A clear red prism was stored under perfluorinated ether, transferred into a Lindemann capillary, fixed, and sealed. Preliminary examination and data collection were carried out on an imaging plate device (Nonius DIP2020) with a Nonius cooling device at the window of a sealed tube with graphite monochromated Mo-K α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). A total of 18974 reflections to $2\theta 57^\circ$ were recorded, and an absorption correction was performed on the basis of multi-scans. Structure refinement: The structure was refined as above. The final $wR2$ was 0.0806 for 310 parameters and all 4786 unique reflections, with conventional $R1$ ($F > 4\sigma(F)$) 0.0308; max. $\Delta\rho$ 0.38 e \AA^{-3} ; S 1.08. CCDC reference number 808223.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge financial support from the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), project Ta 189/6 and the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia, project No. 172011.

References

- 1 M. T. Rau and R. van Eldik, in *Metal Ions in Biological Systems*, ed. A. Sigel and H. Sigel, Marcel Dekker, New York, 1996, vol. 32, p. 339.
- 2 K. Akdi, R. A. Vilaplan, S. Kamah, J. A. R. Navarro, J. M. Salas and F. Gonzales-Vilchez, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **90**, 51.
- 3 *Late Transition Metal Polymerization Catalysis*, ed. B. Rieger, L. S. Baugh, S. Kacker, S. Striegler, Wiley-VCH, Weinheim, Germany 2003.

- 4 *Principles of Bioinorganic Chemistry*, ed. S. J. Lippard, J. M. Berg, University Science Books, Mill Valley, 1994.
- 5 G. J. P. Britovsek, V. C. Gibson and D. F. Wass, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 1999, **38**, 428.
- 6 S. D. Ittel, L. K. Johnson and M. Brookhart, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 1169.
- 7 M. Tamm, D. Petrović, S. Randoll, S. Beer, T. Bannenberg, P. G. Jones and J. Grunenberg, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, **5**, 523.
- 8 D. Petrović, T. Bannenberg, S. Randoll, P. G. Jones and M. Tamm, *Dalton Trans.*, 2007, 2812; D. Petrović, L. M. R. Hill, P. G. Jones, W. B. Tolman and M. Tamm, *Dalton Trans.*, 2008, 887.
- 9 D. Petrović, T. Glöge, T. Bannenberg, C. G. Hrib, S. Randoll, P. G. Jones and M. Tamm, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2007, 3472; D. Petrović, C. G. Hrib, S. Randoll, P. G. Jones and M. Tamm, *Organometallics*, 2008, **27**, 778; T. Glöge, D. Petrović, C. Hrib, P. G. Jones and M. Tamm, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 4538.
- 10 T. Glöge, D. Petrović, C. G. Hrib, C. Daniliuc, E. Herdtweck, P. G. Jones and M. Tamm, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 2010, **636**, 2303.
- 11 N. Kuhn, M. Grathwohl, M. Steimann and G. Henkel, *Z. Naturforsch. B*, 2004, **59**, 1497.
- 12 *Inorganic Reaction Mechanisms*, ed. M. L. Tobe and J. Burgess, Addison Wesley Longman Inc., Essex, 1999, ch. 3.
- 13 D. Jaganyi, F. Tiba, O. Q. Munro, B. Petrović and Ž. D. Bugarčić, *Dalton Trans.*, 2006, 2943.
- 14 Ž. Bugarčić, J. Rosić, B. Petrović, N. Summa, R. Puchta and R. van Eldik, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2007, **12**, 1141.
- 15 E. L. J. Brecht and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 1987, **26**, 2517–2524.
- 16 Ž. D. Bugarčić, T. Soldatović, R. Jelić, B. Alguero and A. Grandas, *Dalton Trans.*, 2004, 3869.
- 17 S. U. Rajković, M. D. Živković, C. Kallay, I. Sovago and M. I. Djuran, *Dalton Trans.*, 2009, 8370.
- 18 T. Soldatović, P. Čanović, R. Nikolić, R. Jelić and Ž. D. Bugarčić, *J. Solution Chem.*, 2009, **38**, 57.
- 19 Ž. D. Bugarčić, B. V. Petrović and R. Jelić, *Transition Met. Chem.*, 2001, **26**, 668.
- 20 K. H. Scheller, V. Scheller-Krattiger and R. B. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 6833.
- 21 M. R. Shehata, M. M. Shourky, F. H. Abdel-Shakour and R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 3912.
- 22 S. Zhu, A. Matilla, J. M. Tercero, V. Vijayaragavan and J. A. Walmsley, *Inorg. Chim. Acta*, 2004, **357**, 411.
- 23 J. Arpalahti and P. Lehtikoinen, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 2564; J. Arpalahti and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 104; J. P. Caradonna and S. J. Lippard, *Inorg. Chem.*, 1988, **27**, 1454; R. N. Bose, R. D. Cornelius and R. E. Viola, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 4403; R. B. Martin, in *Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of Leading Antitumor Drugs*, ed. B. Lippert, Wiley-VCH, Zurich, 1999, p. 193–200.
- 24 M. Shourky and R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996, 2673.
- 25 M. Perutz, *Nature*, 1970, **228**, 726.
- 26 J. A. Tainer, E. D. Getzoff, K. M. Beem, J. S. Richardson and D. C. Richardson, *J. Mol. Biol.*, 1982, **160**, 181.
- 27 M. A. Jakupec, M. Galanski and B. K. Keppler, *Rev. Physiol., Biochem., Pharmacol.*, 2003, **146**, 1.
- 28 J. Reedijk, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2499.
- 29 A. J. Jansen, J. Brouwer and J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **89**, 197.
- 30 J. Bogojeski, Ž. D. Bugarčić, R. Puchta and R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2010, 5439.
- 31 T. G. Appleton, J. R. Hall, S. F. Ralph and C. S. M. Thompson, *Inorg. Chem.*, 1984, **23**, 3521.
- 32 P. Gans, A. Sabatini and A. Vacca, *Talanta*, 1996, **43**, 1739.
- 33 P. Gans, A. Sabatini and A. Vacca, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1985, 1195.
- 34 L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini and A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **184**, 311.