

УНИВЕЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Ениса Селимовић

ИСПИТИВАЊЕ КИНЕТИКЕ И МЕХАНИЗМА СУПСТИТУЦИОНИХ РЕАКЦИЈА МОНОНУКЛЕАРНИХ И ДИНУКЛЕАРНИХ КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЕ(II)

Докторска дисертација

Крагујевац, 2015.

I. Аутор

Име и презиме: **Ениса Селимовић**
Датум и место рођења: 05.07.1972. Сјеница
Садашње запослење: **Асистент за ужу научну област Хемија, Државни универзитет у Новом Пазару**

II. Докторска дисертација

Наслов: ***Испитивање кинетике и механизма супституционих реакција мононуклеарних и динуклеарних комплекса платине(II)***

Број страница: 100
Број слика: 36
Број шема: 10
Број табела: 11
Број библиографских јединица: 128
Установа и место где је рад израђен: **Природно-математички факултет, Крагујевац**
Научна област(УКД): **Хемија(54)-Неорганска хемија(546)**
Ментор: **др Живадин Д. Бугарчић**

III. Оцена и одбрана

Датум пријаве теме: 25.09.2013.

Комисија за оцену подобности теме и кандидата:

1. **Др Живадин Д. Бугарчић**, ментор, редовни професор, ПМФ, Крагујевац
   Ужа научна област: Неорганска хемија
2. **Др Милош Ђуран**, редовни професор, ПМФ, Крагујевац
   Ужа научна област: Неорганска хемија
3. **Др Живослав Тешић**, редовни професор, Хемијски факултет, Београд
   Ужа научна област: Аналитичка хемија
4. **Др Биљана Петровић**, ванредни професор, ПМФ, Крагујевац
   Ужа научна област: Неорганска хемија

Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:

1. **Др Живадин Д. Бугарчић**, ментор, редовни професор, ПМФ, Крагујевац
   Ужа научна област: Неорганска хемија
2. **Др Милош Ђуран**, редовни професор, ПМФ, Крагујевац
   Ужа научна област: Неорганска хемија
3. **Др Биљана Петровић**, ванредни професор, ПМФ, Крагујевац
   Ужа научна област: Неорганска хемија
4. **Др Маријана Петковић,** научни саветник, Институт за нуклеарне науке ,,Винча", Београд
   Научна област: Хемија

Датум одбране докторске дисертације:

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

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

Захваљујем професорима др Милошу Ђурану, др Биљани Петровић и др Маријани Петковић на учешћу у комисији за преглед, оцену и одбрану тезе.

Посебно се захваљујем др Јовани Богојески на саветима током израде и писања докторске дисертације, као и пријатељској подршци од самог почетка израде тезе.

Захвалност дугујем др Ратомиру Јелићу и др Тањи Солдатовић на помоћи током израде експеримената и обраде добијених резултата.

Захваљујем се сарадницима из групе проф. Бугарчића.

СПИСАК РАДОВА

1. Радови објављени у међународним научним часописима

1. **E. Selimović**, B. Petrović, D. Čanović, Ž. D. Bugarčić, J. Bogojeski;
Kinetic studies on the reactions of $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ complexes with some thiols and thioethers,
Aust. J. Chem., 2013, **66**, 534–538. **M22 (1.644)**

2. **E. Selimović**, T. Vulović, B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, J. Bogojeski;
Complex formation reactions of two sterically hindered platinum(II) complexes with some N-bonding ligands,
Trans. Met. Chem., 2013, **38**, 635–640. **M23 (1.402)**

3. **E. Selimović,** T. Soldatović, J. Bogojeski, Ž. D. Bugarčić;
Substitution reactions of dinuclear platinum(II) complexes with some nitrogen nucleophiles,
Trans. Met. Chem., 2015, **40,** 137-144. **M23 (1.402)**

4. **E. Selimović**, J. Bogojeski;
The substitution reactions of the small bio-molecules and dinuclear Pt(II) complexes with alkanediamine linker,
Int. J. Chem. Kinet., 2015, accepted for publication **M23 (1.566)**

2. Радови саопштени на међународним научним конференцијама

1. **E. Selimović**, J. Bogojeski, B. Petrović, Ž. D. Bugarčić;
Complex formation reactions of two sterically hindered Pt(II) complexes with some sulfur and nitrogen bonding ligands,
8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, 2013, Belgrde, Serbia.
June 27-29, Abstract, p 64.

ИЗВОД

Комплекси платине, који се као антитуморски агенси већ дуже време користе у медицини, јесу цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина. За антитуморско дејство комплекса платине одговорне су интеракције комплекса са ДНК молекулима. Тачан механизам којим комплекси платине испољавају своју антитуморску активност није потпуно јасан. Сматра се да је то настајање бифункционалног производа у интеракцији са молекулом ДНК. Постоји знатан број других биомолекула (мали молекули, ензими и други протеини) који могу да реагују са поменутим комплексима платине. Појава споредних ефеката приликом терапије, као што су нефротоксичност, гастротоксичност, ототоксичност, кардиотоксичност и неуротоксичност, доводе се у везу са интеракцијом између комплекса платине и биомолекула који садрже атом сумпора. Управо због многобројних споредних ефеката и резистентности, ограничена је употреба антитуморских комплекса платине у медицини.

Последњих деценија синтетисан је знатан број нових комплекса, који су структурно слични цисплатини (класични комплекси платине) и комплекса који структурно нису слични цисплатини (некласични комплекси платине), а све у циљу проналажења комплекса који ће у односу на цисплатину показивати мању токсичност и резистентност, а већу ефикасност и растворљивист у води. Нарочито је значајна синтеза некласичних платинских комплекса, као што су комплекси Pt(IV) који се могу орално употребљавати, затим стерно заштићени комплекси Pt(II), полинуклеарни комплекси Pt(II), као и комплекси платине који садрже сумпор.

Интеракције мононуклеарних и динуклеарних комплекса Pt(II) са различитим S-донорским и N-донорским лигандима врло су значајне са биолошке и медицинске тачке гледишта. У покушају да дефинишемо однос између структуре и функције нове групе цитотоксичних и потенцијално антитуморских једињења, у оквиру ове докторске дисертације, проучаване су супституционе реакције мононуклеарних и динуклеарних комплекса Pt(II) са различитим S-донорским и N-донорским биомолекулима.

Добијени резултати приказани су следећим редоследом:

✓ Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција стерно заштићених мононуклеарних комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са биолошки важним S-донорским лигандима: *S*-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys, као и са биолошки важним N-донорским лигандима: L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP. Реакције су праћене помоћу Uv-Vis спектрофотометрије на три температуре (288, 298 и 308 K). Све реакције су изучаване као реакције *pseudo*-првог реда на pH ≈ 5, у воденом раствору 0,1 M $NaClO_4$ у који је додат 10 mM NaCl, како би се спречила спонтана хидролиза комплекса.

Ред реактивности испитиваних S-донорских лиганада је: *S*-Met-L-Cys > L-Met > GSH > L-Cys. Тиоетри (*S*-Met-L-Cys и L-Met) су реактивнији од тиола (GSH и L-Cys). Већа реактивност комплекса са **tpdm** лигандом у односу на комплекс са $\mathbf{TL^{tBu}}$ лигандом могла би да се припише утицају волуминозности *terc*-бутил група.

Ред реактивности испитиваних N-донорских лиганада је: L-His > Ino > 5'-GMP > 5'-IMP. Добијени ред реактивности последица је њихових структурних и електронских својстава.

Добијена негативна вредност за ентропију активирања потврдила је асоцијативни механизам.

✓ Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних дихлоридо комплекса [{*trans*-$PtCl(NH_3)_2$}$_2$(*μ*-пиразин)]$(ClO_4)_2$ (**Pt1)**, [{*trans*-$PtCl(NH_3)_2$}$_2$(*μ*-4,4'-бипиридин)]$(ClO_4)_2$·DMF (**Pt2)** и [{*trans*-$PtCl(NH_3)_2$}$_2$(*μ*-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)]$(ClO_4)_2$ (**Pt3),** у воденом раствору 25 mM Hepes пуфера на pH = 7,2 и њихових диаква аналога [{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(*μ*-пиразин)]$^{4+}$ (**Pt1a**), [{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(*μ*-4,4'-бипиридин)]$^{4+}$ (**Pt2a**) и [{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(*μ*-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)]$^{4+}$ (**Pt3a**), на pH = 2,5 у воденом раствору 0,01 M $NaClO_4$, са биолошки важним N-донорским лигандима: 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP. Реакције су праћене Uv-Vis спектрофотометријски на три температуре (288, 298 и 310 K). Све реакције су изучаване као реакције *pseudo*-првог реда.

Ред реактивности испитиваних дихлоридо комплекса је: **Pt1** > **Pt2** > **Pt3**, а њихових диаква аналога: **Pt1a** > **Pt2a** > **Pt3a**. Диаква комплекси су реактивнији од својих дихлоридо аналога што се објашњава јачином везе Pt-Cl. Добијени ред реактивности последица је утицаја инертних и мостних лиганада на електрофилност и реактивност два јона Pt(II) у динуклеараном комплексу. Резултати указују да и pH вредност утиче на реактивност комплекса према нуклеофилу.

Ред реактивности испитиваних лиганада је: 1,2,4-триазол > L-His > 5'-IMP.

Добијена негативна вредност за ентропију активирања потврдила је асоцијативни механизам.

✓ Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса [{*trans*-Pt$(NH_3)_2H_2O$}$_2$(μ-1,4-диаминобутан)]$^{4+}$ (**Pt4a**), [{*trans*-Pt$(NH_3)_2H_2O$}$_2$(μ-1,6-диаминохексан)]$^{4+}$ (**Pt6a**) и [{*trans*-Pt$(NH_3)_2$H2O}$_2$(μ-1,8-диаминооктан)]$^{4+}$ (**Pt8a**), са биолошки важним N-донорским лигандима: 5'-GMP, L-His и пиридином, као и са S-донорским лигандима: L-Cys и GSH. Све реакције су изучаване као реакције *pseudo*-првог реда. Испитивања су извођена у воденом раствору 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5. Реакције су праћене Uv-Vis спектрофотометријски на три температуре (288, 298 и 308 K).

Ред реактивности испитиваних комплекса је: **Pt8a** > **Pt6a** ≥ **Pt4a**. Добијени резултати указују да алкандиаминski мостни лиганди у динуклеарним комплексима Pt(II) контролишу процес супституције. Мостни лиганд који садржи алифатични низ са више од 6 угљеникових атома онемогућава електронску комуникацију између јона метала, тако да динуклеарни комплекс поприма карактеристике мононуклеарног.

За сва три испитивана комплекса ред реактивности испитиваних N-донорских лиганада је: 5'-GMP > L-His > пиридин, а S-донорских лиганада: L-Cys > GSH. Испитивани лиганди L-Cys и GSH реагују брже од N-донорских нуклеофила око 3 до 4 пута.

SUMMARY

Platinum complexes, cisplatin, carboplatin and oxaliplatin, like anti-tumor agents, have long been used in medicine. For the antitumor activity of platinum complexes the interactions between complexes and DNA are responsible. The exact mechanism of the way how the platinum complexes exert their antitumor activity is not completely clear, it is considered that the formation of bifunctional product with DNA is responsible for the anti-tumor activity. There are a number of other biomolecules (small molecules, proteins and enzymes) that can react with platinum complexes. The occurrence of side effects during the treatment, such as nephrotoxicity, gastrotoxicity, ototoxicity, cardiotoxicity and neurotoxicity, is also associated with the interactions between platinum complexes and biomolecules containing a sulfur atom. Because of many side effects and resistance, the use of anti-tumor Pt(II) compounds in medicine is limited.

In recent decades a significant number of new complexes, which are structurally similar to cisplatin (classic platinum complexes) and complexes that are not structurally similar to cisplatin (nonclassical platinum complexes) are synthesized with the aim of finding a complex that will exhibit lower toxicity and resistance, higher efficiency and solubility in water compared to cisplatin. Of particular significance is synthesis of the nonclassical platinum complexes, such as Pt(IV) complexes which can be used orally, then, the more sterically protected Pt(II) complexes, polinuclear Pt(II) complexes and platinum complexes that contain sulfur.

Interaction of mononuclear and dinuclear Pt(II) complexes with various S-donor and N-donor ligands are very significant from the biological and medical point of view. In an attempt to define the relationship between structure and function of a new group of cytotoxic and potentially anticancer compounds, this doctoral thesis presents a study of the substitution reactions of mononuclear and dinuclear Pt(II) complexes with various S-donor and N-donor bio-molecules.

The results are presented in the following order:

✓ Results of the kinetics and mechanisms of the substitution reactions of sterically hindered mononuclear complexes $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ with biologically important S-donor ligands: S-Met-L-Cys, L-Met, GSH and L-Cys, and biologically relevant N-donor ligands: L-His, Ino, 5'-GMP and 5'-IMP. The reactions were monitored by Uv-Vis spectrophotometry at three temperatures (288, 298 and 308 K). All reactions were studied under the *pseudo*-first order conditions at pH ≈ 5, in an aqueous solution of 0.1 M $NaClO_4$ to which is added 10 mM NaCI in order to prevent spontaneous hydrolysis of the complexes.

The order of reactivity of the studied S-donor ligands is: S-Met-L-Cys > L-Met > GSH > L-Cys. Thioethers (S-Met-L-Cys and L-Met) were more reactive than thiols (L-GSH and Cys). The larger reactivity of the complex with **tpdm** ligand relative to the **TL^{tBu}** ligand could be attributed to the effect of the bulkiness of the *terc*-butyl groups.

The order of reactivity of studied N-donor ligands is: L-His > Ino > 5'-GMP > 5'-IMP. The obtained order of reactivity is a result of their structural and electronic properties.

The resulting negative value of the entropy of activation is confirmation of an associative mechanism.

✓ Results of the kinetics and mechanisms of the substitution reaction of dinuclear dichlorido complexes $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2Cl\}_2(\mu\text{-pyrazine})]^{2+}$ (**Pt1**), $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2Cl\}_2(\mu\text{-4,4'-bipyridyl})]^{2+}$ (**Pt2**), and $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2Cl\}_2(\mu\text{-1,2-}bis\text{(4-pyridyl)ethane})]^{2+}$ (**Pt3**) in aqueous solution of 25 mM Hepes buffer at pH = 7.2, and their diaqua analogs $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2H_2O\}_2(\mu\text{-pyrazine})]^{2+}$ (**Pt1a**), $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2H_2O\}_2(\mu\text{-4,4'-bipyridyl})]^{2+}$ (**Pt2a**), and $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2H_2O\}_2(\mu\text{-1,2-}bis\text{(4-pyridyl)ethane})]^{2+}$ (**Pt3a**) at pH = 2.5 in an 0.01 M $NaClO_4$ aqueous solution, with biologically important N-donor ligands: 1,2,4-triazole, L-His and 5 '-IMP. Reactions were monitored by UV-Vis spectrophotometry at three temperatures (288, 298 and 310 K). All reactions were studied under *pseudo*-first order conditions.

The order of reactivity of investigated chlorido complexes is: **Pt1> Pt2> Pt3** and for their diaqua analogues: **Pt1a > Pt2a > Pt3a**. Diaqua complexes are more reactive than dichlorido complexes which is explained by the strength of Pt-Cl bonds. The obtained order of reactivity is due to the influence of inert and bridge ligands on the electrophilicity and reactivity of two Pt(II) ions in dinuclear complexes. Results indicate that the pH value of the solution also affects the reactivity of the complexes towards nucleophiles.

Order of reactivity of the studied ligands is: 1,2,4-Triazole > L-His > 5'-IMP.

The resulting negative value of the entropy of activation is confirmation for an associative mechanism.

✓ Results of the kinetics and mechanisms of the substitution reaction of dinuclear diaqua complexes [{*trans*-$Pt(NH_3)_2H_2O\}_2$(μ-1,4-diaminobutane)]$^{4+}$ (**Pt4a**), [{*trans*-$Pt(NH_3)_2H_2O\}_2$(μ-1,6-diaminohexane)]$^{4+}$ (**Pt6a**) and [{*trans*-$Pt(NH_3)_2H2O\}_2$(μ-1,8-diaminooctane)]$^{4+}$ (**Pt8a**), with biologically important N-donor ligands: 5'-GMP, L-His and pyridine, as well as, S-donor ligands: L-Cys and GSH. All reactions were studied as *pseudo*-first order reactions. The tests were performed in an aqueous 0.1 M $NaClO_4$ solution at pH = 2.5. Reactions were monitored by UV-Vis spectrophotometry at three temperatures.

The obtained order of reactivity of the complexes is: **Pt8a** > **Pt6a** ≥ **Pt4a**. These results indicate that alkandiamine bridge ligands in dinuclear Pt(II) complexes influence on the process of substitution. Bridging ligands containing aliphatic chain with more than 6 carbon atoms prevents electronic communication between the metal ions, so than dinuclear complex assume characteristics of mononuclear complexes.

For all three complexes the reactivity of the studied N-donor ligands is: 5'-GMP > L-His > pyridine and for S-donor ligands is: L-Cys > GSH. Studied ligands L-Cys and GSH react faster than N-donor ligands about 3 to 4 times.

ОЗНАКЕ И СКРАЋЕНИЦЕ

Uv-Vis	спектроскопија у ултраљубичастом и видљивом делу спектра
^{1}H NMR	протонска нуклеарно магнетна резонантна спектроскопија
IR	инфрацрвена спектроскопија
D	дисоцијативни механизам
A	асоцијативни механизам
I	механизам измене
E_a	енергија активирања
R	гасна константа (8,314 $ЈК^{-1}М^{-1}$)
T	температура у Келвиновим степенима (К)
$\Delta H^{\neq}$	промена енталпије активирања
$\Delta S^{\neq}$	промена ентропије активирања
$\Delta G^{\neq}$	промена слободне Гибсове (Gibbs) енергије
$\Delta V^{\neq}$	промена запремине активирања
N	Авогадров (Avogadro) број ($6,022 \cdot 10^{23}$ mol^{-1})
h	Планкова (Planck) константа ($6,626 \cdot 10^{-34}$ Js)
P	притисак
A	апсорбција раствора
t	време у секундама (s)
k	константа брзине хемијске реакције
k_1	константа брзине хемијске реакције која се одиграва по солволитичком путу
k_2	константа брзине реакције директне супституције
k_{-2}	константа брзине повратне супституционе реакције
k_o	фактор учесталости
k_{obsd}	константа брзине реакције *pseudo*-првог реда
K_a	константа киселости
цисплатина *cis*-$[PtCl_2(NH_3)_2]$	*cis*-диамминдихлоридоплатина(II)
трансплатина *trans*-$[PtCl_2(NH_3)_2]$	*trans*-диамминдихлоридоплатина(II)
карбоплатина	*cis*-диаммин(1,1-циклобутандикарбоксилато)платина(II)
оксалиплатина	(1*R*,2*R*)-диамминциклохексан(оксалато)платина(II)
недаплатина	*cis*-диамминогликоплатина(II)
лобаплатина	*cis*(*trans*-1,2-циклобутан-*bis*(метиламине-N,N')платина(II)-лактат
ипроплатина	дихидроксидодихлоридо-*bis*(изопропиламин)платина(IV)
ДНК	дезоксирибонуклеинска киселина
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
1,4-(GpG)	1,4-гуанилил(3’- 5’)гуанозин
HeLa S_3	ћелијска линија карцинома грлића материце
MCF7	ћелијска линија рака дојке
TL^{tBu}	2,6-*bis*[(1,3-ди-терц-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин
tpdm	терпиридиндиметан
BBR3464	*trans*-[*бис*[*trans*-диамминхлоридоплатина(μ-хексан-1,6-диаммин)]]дамминплатинатетранитрат
Pt1	[{*trans*-$PtCl(NH_3)_2$}$_2$(μ-пиразин)]$(ClO_4)_2$
Pt2	[{*trans*-$PtCl(NH_3)_2$}$_2$(μ-4,4’-бипиридин)]$(ClO_4)_2$·DMF
Pt3	[{*trans*-$PtCl(NH_3)_2$}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)]$(ClO_4)_2$
Pt1a	[{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-пиразин)]$^{4+}$
Pt2a	[{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-4,4’-бипиридин)]$^{4+}$
Pt3a	[{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)]$^{4+}$
Pt4a	[{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-1,4-диаминобутан)]$^{4+}$
Pt6a	[{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-1,6-диаминохексан)]$^{4+}$
Pt8a	[{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-1,8-диаминооктан)]$^{4+}$
DAMP	2-(диметиламинометил)фенил
COD	цикло-1,5- октадиен
DMF	диметилформамид
S-Met-L-Cys	*S*-метил-L-цистеин
L-Met	L-метионин
GSH	глутатион (γ-глутамил-цистеинил-глицин)
L-Cys	L-цистеин
TU	тиоуреа
L-His	L-хистидин
Ino	инозин
5’-GMP	гуанозин-5’-монофосфат динатријумова со
5’-IMP	инозин-5’-монофосфат динатријумова со
Py	пиридин
Gly	глицин
dien	диетилентриамин
terpy	2,2´:6´,2´´-терпиридин
pic	пиколин
Gly-Met	глицил-метионин
bpma	*bis*(2-пиридилметил)амин
Hepes пуфер	N-2-хидроксидоетилпиперазин-N’-2-етансулфидна киселина
Tris пуфер	*tris*(хидроксидометил)аминометан
OTf	трифлуоридометансулфонат
биотин	5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-оксохексахидро-1*H*-тиено[3,4-*d*]имидазол-4-ил]пентаноинска киселина
KP1019	*trans*-[тетрахлоридо-*bis*(1*H*-индазол)рутенијум(III)]имидазол

NAMI-A	[*trans*-$RuCl_4L$(*S*-dmso)рутенијум(III)] (L = Имидазол)
RAPTA-C	([Ru(η^6-arene)Cl_2(pta)], (pta = 1,3,5-триаза-7-фосфатрициклодекан)
RM175	[(бифенил)Ru(en)Cl]PF_6

САДРЖАЈ

УВОД 1

1. ОПШТИ ДЕО..... 4

1.1. Примена комплекса јона метала у антитуморској терапији 4

1.2. Антитуморска активност комплекса Pt(II) 10

1.3. Супституционе реакције комплекса Pt(II) са биолошки важним молекулима 14

1.4. Динуклеарни комплекси Pt(II) 19

1.5. Супституционе реакције квадратно-планарних комплекса 26

1.6. Активациони параметри 30

1.7. Одређивање механизма нуклеофилних супституционих реакција 32

ЗАДАТАК РАДА..... 34

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО..... 35

2.1. Реагенси и раствори 35

2.2. Синтезе 36

2.2.1. Синтеза мононуклеарног комплекса [Pt(tpdm)Cl]Cl 36

2.2.2. Синтеза мононуклеарног комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]ClO_4$ 37

2.2.3. Синтезе динуклеарних дихлоридо комплекса Pt1, Pt2 и Pt3 ……..... 37

А. Синтеза полазног комплекса …….... 37
Б. Синтеза комплекса Pt1 ……..... 38
В. Синтеза комплекса Pt2 ……..... 38
Г. Синтеза комплекса Pt3 ……..... 38

2.2.4. Синтезе динуклеарних диаква комплекса Pt1a, Pt2a и Pt3a ……..... 39

2.2.5. Синтезе динуклеарних дихлоридо комплекса Pt4, Pt6 и Pt8 39

А. Синтеза комплекса Pt4 39
Б. Синтеза комплекса Pt6 ……..... 40
В. Синтеза комплекса Pt8 ……..... 40

2.2.6. Синтезе динуклеарних диаква комплекса Pt4a, Pt6a и Pt8a ……..... 41

2.3. Инструменти ……..... 41

2.4. Uv-Vis спектрофотометријска мерења ……..... 42

2.4.1. Реакције супституције мононуклеарних комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ ……..... 43

2.4.2. Реакције супституције динуклеарних дихлоридо комплекса Pt1, Pt2 и Pt3 и њихових диаква аналога Pt1a, Pt2a и Pt3a ……..... 44

2.4.3. Реакције супституције динуклеарних диаква комплекса Pt4a, Pt6a и Pt8a 45

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА……..... 47

3.1. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ комплекса са S-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys ……....……. 47

3.2. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ комплекса са L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP ……..... 56

3.3. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних комплекса Pt(II), диаква Pt1a, Pt2a и Pt3a и дихлоридо Pt1, Pt2 и Pt3, са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP ……..... 63

3.3.1. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса Pt1a, Pt2a и Pt3a са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP ……..... 67

3.3.2. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних дихлоридо комплекса Pt1, Pt2 и Pt3 са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP ……..... 73

3.4. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса Pt4a, Pt6a и Pt8a са S-донорским лигандима L-Cys и GSH и N-донорским лигандима 5'-GMP, L-His и пиридином ……..... 79

ЗАКЉУЧАК ……... 90

ЛИТЕРАТУРА ……..... 93

БИОГРАФИЈА ……..... 100

ПРИЛОГ

УВОД

Јони прелазних метала, као и комплексна једињења јона прелазних метала, имају веома важну улогу у различитим биохемијским и метаболичким процесима. Открићем антитуморских карактеристика цисплатине, пре 40 година, започиње примена комплекса метала у медицинске сврхе.[1-4] Данас се цисплатина и њени аналози сврставају у једне од најефикаснијих хемотерапеутика за лечење различитих врста канцера (бешике, грлића материце, тестиса и јајника). Међутим, употребу антиканцерогених лекова на бази платине прате различити проблеми. Велика токсичност и резистентност су главни проблеми који се сусрећу у клиничкој примени цисплатине.[5,6] До сада је тестирано више од 4000 једињења платине као потенцијалних антитуморских лекова, са циљем добијања цитостатика са мањом токсичношћу и мањом резистентношћу. Еволуција лекова против канцера на бази платине леп је пример како неочекивано откриће може да доведе до проналаска лека против једне од најсмртоноснијих болести данас.[5,6]

Поред мононуклеарних комплекса Pt(II), последњих година велика пажња усмерена је према комплексима који у својој структури имају више јона метала. Разлог за интересовањем у овој области јесте способност ових комплекса да са молекулом ДНК граде производе који се структурно разликују од оних које граде цисплатина и слични комплекси, што истовремено подразумева потпуно другачије антитуморско понашање.[5-8]

Разумевање циљева и механизама деловања, такође, од суштинског је значаја при дизајнирању лекова и њиховој клиничкој употреби. Сходно томе, за тему ове докторске дисертације изабрали смо да проучавамо кинетику и механизам супституционих реакција неких мононуклеарних и динуклеарних комплекса Pt(II) са биомолекулима, а с циљем проналаска нових једињења Pt(II) са потенцијалном антитуморском активношћу.

У оквиру ове докторске дисертације приказани су резултати добијени проучавањем супституционих реакција мононуклеарних и динуклеарних комплекса Pt(II) са различитим S-донорским и N-донорским биомолекулима.

На почетку дисертације, у *Општем делу*, описана је досадашња употреба комплекса јона метала у медицинске сврхе. Такође, дат је преглед комплекса Pt(II) који

показују антитуморске карактеристике. Детаљно су описани динуклеарни комплекси Pt(II), који спадају у нову генерацију антитуморских комплекса, при чему је направљена паралела између мононуклеарних и динуклеарних комплекса Pt(II). Дат је осврт на досадашња истраживања, која укључују интеракције како монофункционалних, тако и бифункционалних комплекса Pt(II) са различитим S-донорским и N-донорским биомолекулима. На крају *Општег дела* приказан је начин испитивања супституционих реакције квадратно-планарних комплекса.

У *Експерименталном делу*, поред припреме коришћених реагенаса и раствора, описане су синтезе нових комплекса, као и методе коришћене приликом испитивања кинетике супституционих реакција.

У *Резултатима и дискусији резултата* приказани су резултати изучаваних реакција следећим редоследом:

- Прво су приказани резултати добијени испитивањем кинетике и механизма супституционих реакција комплекса $[Pt(tpdm)Cl]^+$ и $[(TL^{tBu})PtCl]^+$, хлоридо(терпиридинметан)платина(II)-хлорид и хлоридо-2,6-*bis*[(1,3-ди-*terc*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридинплатина(II)-перхлорат, са биолошки важним S-донорским лигандима: S-метил-L-цистеином (S-Met-L-Cys), L-метионином (L-Met), глутатионом (GSH) и L-цистеином (L-Cys).

- Након тога приказани су резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција комплекса $[Pt(tpdm)Cl]^+$ и $[(TL^{tBu})PtCl]^+$, хлоридо(терпиридинметан)платина(II)-хлорид и хлоридо-2,6-*bis*[(1,3-ди-*terc*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридинплатина(II)-перхлорат, са биолошки важним N-донорским лигандима: L-хистидином (L-His), инозином (Ino), гуанозин-5'-монофосфатом (5'-GMP) и инозин-5'-монофосфатом (5'-IMP).

- Затим су приказани резултати испитивања супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса Pt(II), $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2(H_2O)\}_2(\mu\text{-пиразин})]^{4+}$ (**Pt1a**), $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2(H_2O)\}_2(\mu\text{-4,4'-бипиридин})]^{4+}$ (**Pt2a**) и $[\{trans\text{-}Pt(NH_3)_2(H_2O)\}_2(\mu\text{-1,2-}bis\text{(4-пиридил)етан})]^{4+}$ (**Pt3a**), као и дихлоридо комплекса $[\{trans\text{-}PtCl(NH_3)_2\}_2(\mu\text{-пиразин})](ClO_4)_2$ (**Pt1**), $[\{trans\text{-}PtCl(NH_3)_2\}_2(\mu\text{-4,4'-бипиридин})](ClO_4)_2\cdot DMF$ (**Pt2**) и $[\{trans\text{-}PtCl(NH_3)_2\}_2(\mu\text{-1,2-}bis\text{(4-пиридил)етан})](ClO_4)_2$ (**Pt3**), са биолошки важним

N-донорским лигандима: 1,2,4-триазолом, L-хистидином (L-His) и инозин-5'-монофосфатом (5'-IMP).

- На крају поглавља дат је детаљан опис резултата добијених испитивањем кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса [{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)\}_2$(μ-1,4-диаминобутан)]$^{4+}$ (**Pt4a),** [{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)\}_2$(μ-1,6-диаминохексан)]$^{4+}$ (**Pt6a**) и [{*trans*-$Pt(NH_3)_2(H_2O)\}_2$(μ-1,8-диаминооктан)]$^{4+}$ (**Pt8a**) са биолошки важним N-донорским лигандима: гуанозин-5'-монофосфатом (5'-GMP), L-хистидином (L-His) и пиридином (Py), као и са биолошки важним S-донорским лигандима: L-цистеином (L-Cys) и глутатионом (GSH).

Резултати ове докторске дисертације публиковани су у оквиру 4 научна рада у међународним часописима.

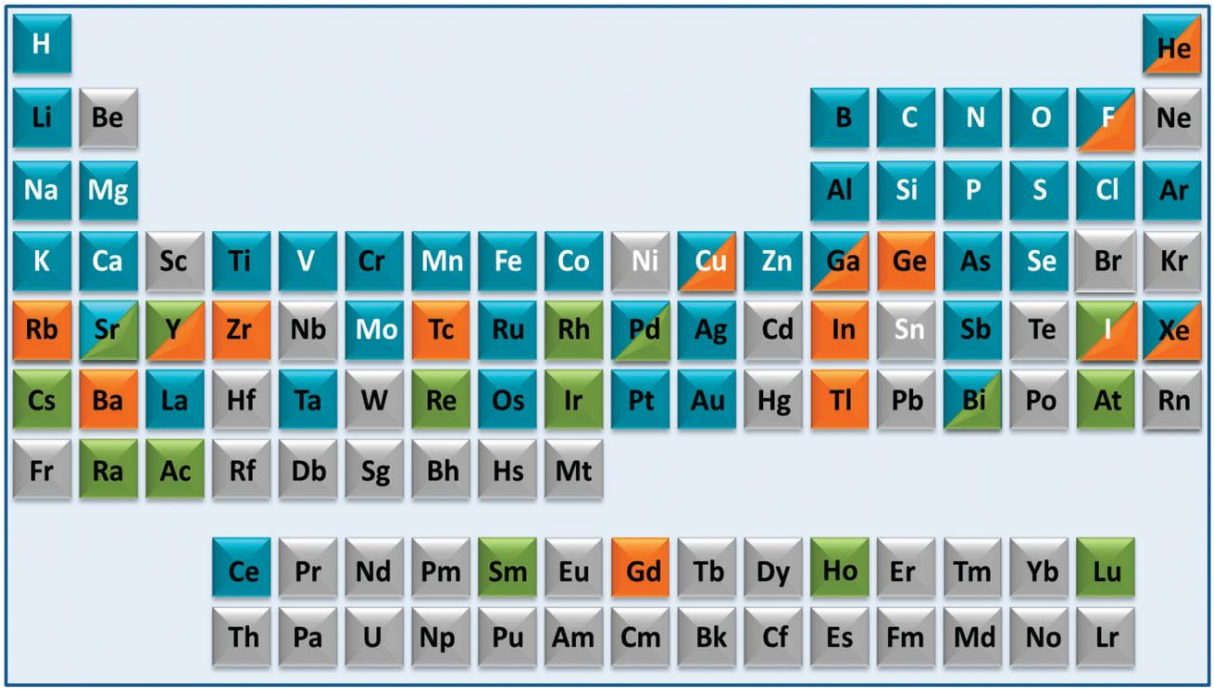
1.ОПШТИ ДЕО

1.1. Примена комплекса јона метала у антитуморској терапији

Розенберговим (Rosenberg) открићем антитуморских карактеристика комплекса цисплатине, *cis*-$[PtCl_2(NH_3)_2]$, (*cis*-диамминдихлоридоплатина(II)), 1965. године, започиње употреба једињења на бази јона платине у терапеутске сврхе,[1-4] тако да се данас неколико комплекса платине користи у лечењу различитих врста тумора.

Поред комплекса платине, у медицини се последњих година интензивно користе и комплекси гадолинијума. Наиме, током једне године употреби се око 20 милиона доза комплекса гадолинијума, као контрастних агенаса. Такође, значајно место заузима и технецијум, који се користи у радиотерапији (око 20 милиона доза овог метала искористи се током године). Поред ова три неесенцијална метала сваке године се синтетише на хиљаде једињења других, како есенцијалних, тако и неесенцијалних метала, при чему се само нека од њих налазе у различитим фазама медицинских испитивања.[6,9-12]

На Слици 1.1. приказан је такозвани медицински периодни систем елемената. Различитим бојама означено је у које сврхе се користе једињења појединих елемената.[6]



Слика 1.1. *Медицински периодни систем елемената.*[6]

Елементи означени:

белом бојом – **елементи есенцијални за човека**

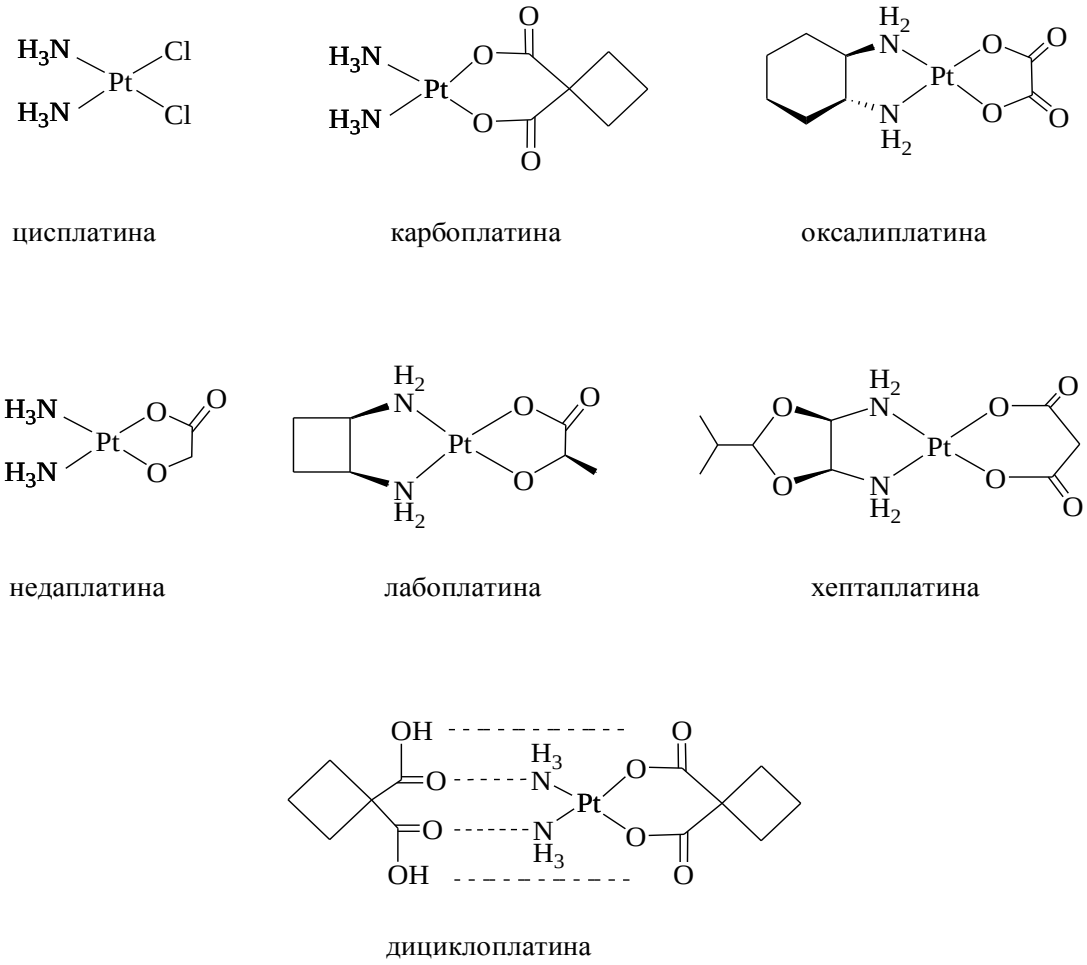
зеленом бојом – **радиоизотопи**

плавом бојом – **елементи који се тренутно користе у терапији**

наранџастом бојом – **елементи који се користе у дијагностици**

Иако је прошло више од 30 година од почетка употребе цисплатине у терапији различитих врста тумора, она се и данас највише користи у ове сврхе.[5] Поред цисплатине, тестирано је око 4000 других комплекса Pt(II), као потенцијалних антитуморских лекова, док се само неколико њих примењује у терапији тумора, Слика 1.2. Карбоплатина је одобрена за употребу 1989. године, оксалиплатина 2002. године, док се недаплатина, лобаплатина и хептаплатина користе само у Јапану, Кини и Јужној Кореји.

Међутим, и поред великог успеха, цисплатина има и неколико недостатака, тј. њена употреба изазива велики број нежељених дејстава. Такође, употребом цисплатине долази до појаве резистентности.

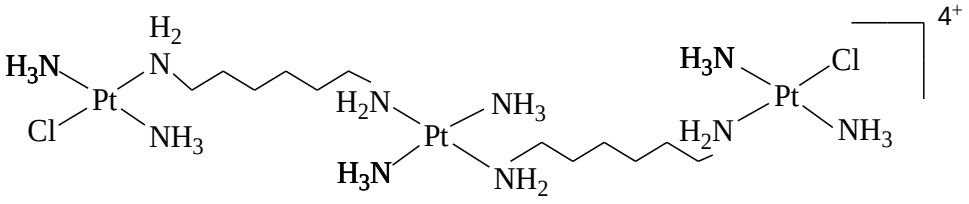


Слика 1.2. *Структурне формуле неких комплекса Pt(II) који се користе као антитуморски лекови.*

Даља истраживања у овој области усмерена су ка синтези нових комплекса који ће показивати активност на већем броју тумора, изазивати мањи број нежељених дејстава и мању резистентност.[5,6]

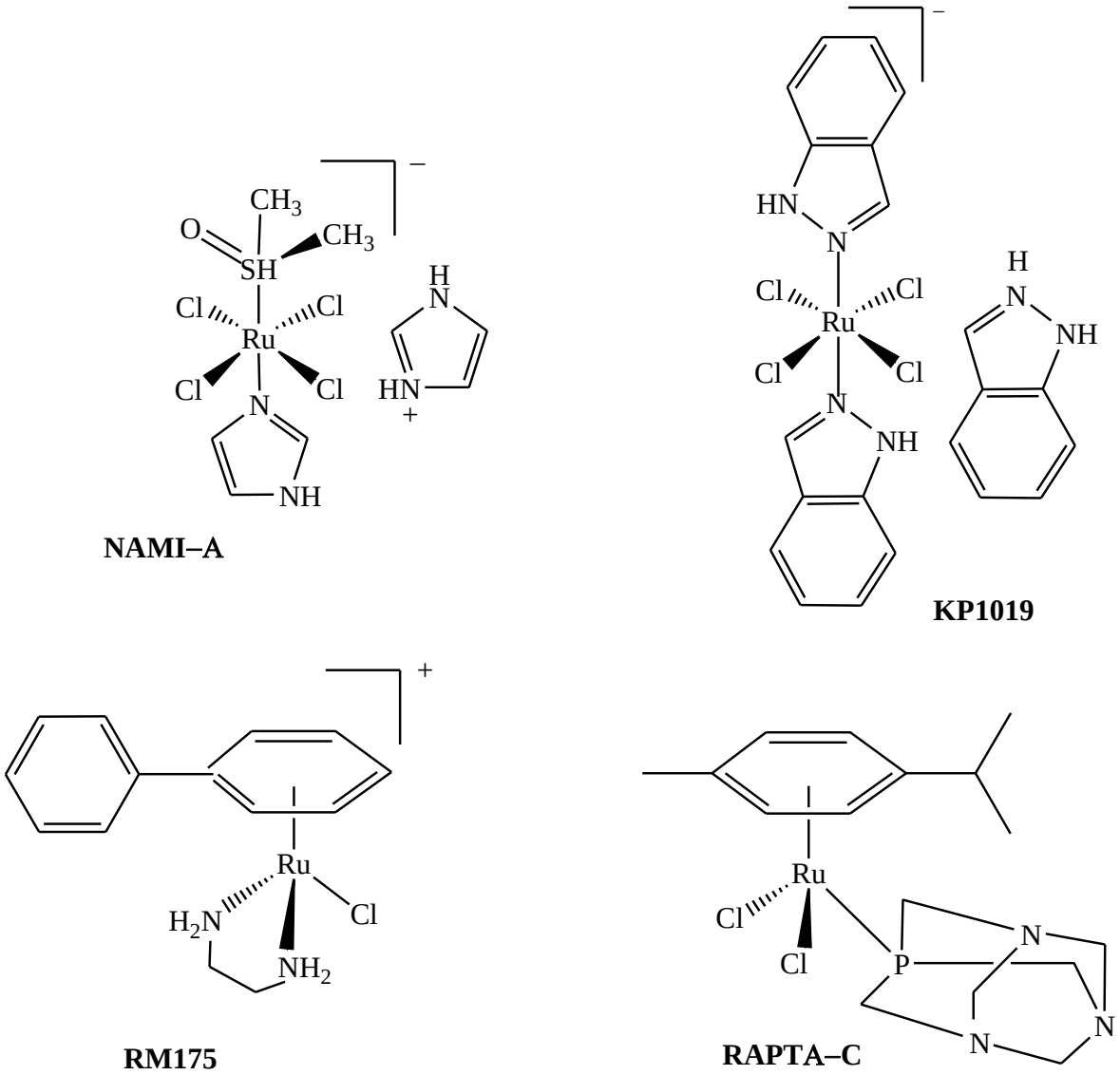
Крајем 80-тих година прошлог века, Фарел (Farell) са сарадницима долази на идеју да би недостаци цисплатине могли да се превазиђу синтезом полинуклеарних комплекса Pt(II). Они синтетишу неколико комплекса у којима су два молекула трансплатине или цисплатине повезана алифатичним ланцем различите дужине.[8,13,14]

Добијени динуклеарни комплекси Pt(II) имају веће позитивно наелектрисање у односу на мононуклеарне комплексе Pt(II), што доводи до јачих електростатичких интеракција између молекула ДНК и комплекса, чиме је олакшано везивање. Флексибилност алифатичног ланца у динуклеарном комплексу, такође, омогућава боље везивање са ДНК. Међутим, само један од до сада синтетисаних полинуклеарних комплекса Pt(II), комплекс BBR3464, Слика 1.3., прошао је прву фазу клиничких испитивања,[15,16] али због показане нестабилности у крви није прошао другу фазу испитивања.[17,18]



Слика 1.3. *Структурна формула комплеса* ***BBR3464.***

Како би се добио цитостатик са бољим карактеристикама од цисплатине, уследили су синтеза и испитивање комплекса других јона метала. Комплекси који су, до сада, показали најбоље резултате су комплекси Ru(II/III).[19] Алесио (Alessio) са својим сарадницима синтетише комплекс означен као NAMI-A, Слика 1.4., који је прошао прву и другу фазу клиничких испитивања.



Слика 1.4. *Структурне формуле Ru(II/III) комплекса који су показали значајну антитуморску активност.*

Комплекс Ru(III), са ознаком KP1019, синтетисан у групи Кеплера (Keppler), такође је прошао прву фазу клиничких испитивања.[5,20,21] Поред тога, органометални арена комплекси Ru(II) показали су обећавајуће цитотоксичне карактеристике.

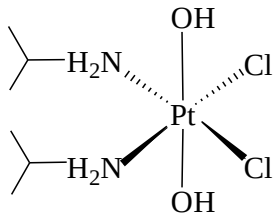
Цисплатина, други комплекси Pt(II), полинуклеарни комплекси Pt(II), као и већина комплекса Ru(II/III), цитотоксичност испољавају везивањем за молекул ДНК.[5,6,9] Последњих година развијена је нова група комплекса јона метала који цитотоксичност испољавају везујући се за одређене протеине, укључујући и ензиме, а не за ДНК.[5,22] Ови комплекси су показали неколико бољих карактеристика у поређењу са цисплатином и њој сличним комплексима. У ову групу комплекса спадају комплекси Au(III).

Јон Au(III) је изоелектронски са јоном Pt(II) и гради комплексе са квадратно-планарном геометријом,[23] па представља доброг кандидата за синтезу комплекса који би могли да покажу боље антитуморске особине од комплекса Pt(II). Међутим, за разлику од комплекса Pt(II), аналогни комплекси Au(III) показали су се као релативно нестабилни, нарочито на светлости. За комплексна једињења Au(III) карактеристично је да при физиолошким условима лако подлежу редукцији до елементарног злата. Управо из наведених разлога, испитивање комплекса Au(III) као антитуморских једињења било је запостављено дужи низ година. Почетком деведесетих година синтетисано је неколико нових комплекса Au(III) који су показивали већу стабилност, као и добре фармаколошке особине. Међу првим, нашао се комплекс $[Au(DAMP)X_2]$, (DAMP = 2-(диметиламинометил)фенил), који је показао значајну антитуморску активност.[24,25]

Последњих пар година интензивно се испитују комплекси Os(II), Ir(III) и Rh(III), који испољавају активност тако што се везују за специфичне протеине. Неки од ових комплекса показали су обећавајуће резултате као цитостатици.[6]

Посебну групу антитуморских лекова на бази комплекса јона метала представљају комплекси Pt(IV). Добра карактеристика комплекса Pt(IV) је да су они инертнији од комплекса Pt(II), тј. теже подлежу супституционим реакцијама, што омогућава лакши транспорт кроз организам до оболелог ткива. Ипроплатина, *cis,trans,cis*-$[PtCl_2(OH)_2((NH_2CH(CH_3)_2)_2]$, Слика 1.5., прошла је све три фазе клиничких испитивања, али се на крају показало да је мање активина од цисплатине и није регистрована за клиничку употребу.

Комплекси Pt(IV) након уношења у организам лако се редукују у комплекс Pt(II), а надаље своју активност испољавају као и комплекси Pt(II).[26-29]



Слика 1.5. *Ипроплатина.*

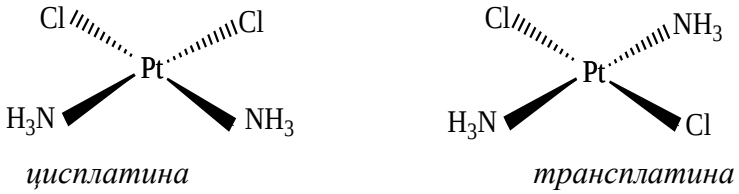
Пошто је канцер водећа болест у свету по броју смртних исхода, проналажење ефикасне терапије је од кључног интереса. Постоји велика вероватноћа да лек за канцер може да буде једињење неког јона метала, тако да су истраживања у овој области сврсисходна и од великог значаја.

1.2. Антитуморска активност комплекса Pt(II)

Цисплатина, *cis*-$[PtCl_2(NH_3)_2]$, позната је од 1845. године. Њену биолошку активност открили су Розенберг (Rosenberg) и сарадници 1965. године.[1-4] Открићем антитуморских карактеристика цисплатине практично започиње развој медицинске неорганске хемије.[30,31] У прву фазу клиничких испитивања цисплатина је ушла 1971. године, а њена клиничка употреба одобрена је од 1978. године.[32]

Цисплатина је најефикаснија у лечењу карцинома тестиса, јајника, бешике, грлића материце, плућа, главе и врата, тако да се годишње употреби око 500 милиона доза цисплатине.[6,32,33]

За разлику од цисплатине, њен изомер трансплатина, *trans*-$[PtCl_2(NH_3)_2]$, не показује антитуморску активност. На Слици 1.6. приказане су структурне формуле два геометријска изомера овог комплекса.

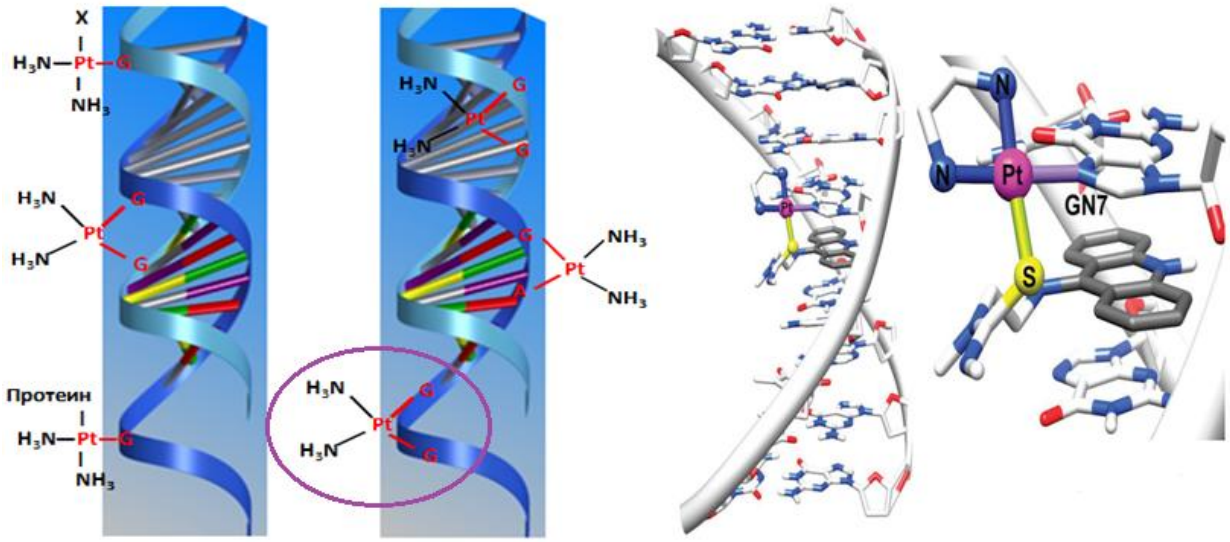


цисплатина *трансплатина*

Слика 1.6. *Структурне формуле цисплатине и трансплатине.*

Антитуморску активност комплекси платине остварују везивањем за молекул ДНК, и то првенствено за генетску ДНК која се налази у нуклеусу, док је веза са митохондријалном ДНК мање одговорна за антитуморску активност.[34] Када комплекс платине доспе до молекула ДНК, могућности за координовањем су различите. Везивање комплекса за ДНК првенствено се дешава преко N7 атома гуанина, док је мање заступљено везивање за N7 и N1 атоме аденина и N3 атом цитозина.[33,35]

С обзиром на то да молекул ДНК у својим комплементарним спиралним структурама садржи различиту секвенцу пуринских и пиримидинских база, установљено је да је са 65% заступљено координовање комплекса типа 1,2-(GpG), односно, веза преко два молекула 5'-GMP који се налазе на истом ланцу 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) преко гуанозина смештених на супротном ланцу молекула ДНК, итд.) су мање заступљени. На Слици 1.7. приказани су различити начини везивања цисплатине за молекул ДНК.[36,37]



Слика 1.7. *Начини координовања цисплатине за ДНК (лево) и кристална структура*[6] *на којој се види координовање комплекса Pt(II) за гуанин из ДНК (десно).*

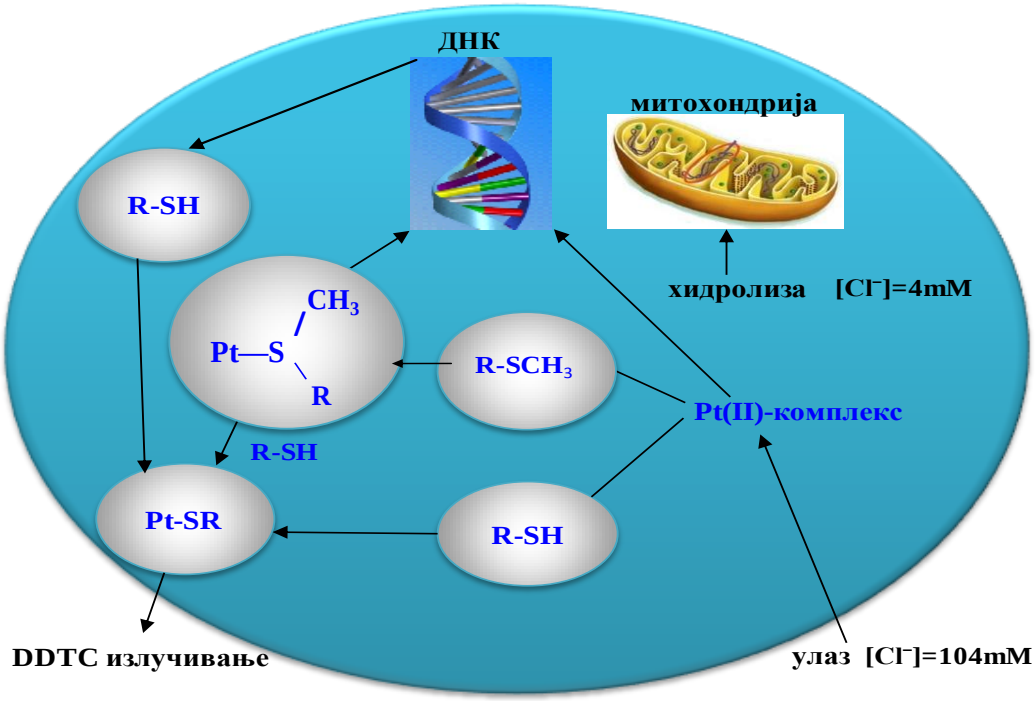
У ћелији се налазе и други биомолекули, који такође могу да реагују са комплексима платине. Посебно велики афинитет комплекси платине показују према биомолекулима који садрже сумпор, како у тиолном, тако и у тиоетарском облику.

Наиме, Pt(II) као „мека" киселина гради јако стабилна једињења са S-донорима као „меким" базама. Настала једињења су одговорна за појаву токсичних ефеката (нефротоксичност, неуротоксичност, кардиотоксичност, ототоксичност итд.) и резистентности. Пошто је концентрација тиола, укључујући GSH и L-Cys, у интрацелуларној течности око 10 mM, претпоставља се да ће већи део комплекса Pt(II) бити везан за сумпор из биомолекула, пре него што дође до молекула ДНК.[36-39]

Координовање комплекса Pt(II) за сумпор из тиоетра је кинетички фаворизован процес. Настала веза Pt-S(тиоетар) може да се раскине у присуству молекула ДНК, тј. N7 атом 5'-GMP може да супституише молекул тиоетра из насталог једињења.[40] 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. Веза

Pt-S(тиоетар) може да се раскине и у присуству молекула тиола, односно, сумпор из тиола супституише сумпор из тиоетра, при чему је настала веза Pt-S(тиол) термодинамички стабилнија. Такође, може доћи и до директног везивања Pt(II) за сумпор из молекула тиола, а настала веза Pt-S је јако стабилна и тешко раскидива. Сматра се да је настајање једињења типа Pt-S(тиол) одговорно за појаву токсичних ефеката током коришћења комплекса платине као антитуморских агенаса. За раскидање везе Pt-S(тиол) данас се користе једињења позната као „заштитни агенси", а то су једињења која садрже сумпор и која су врло јаки нуклеофили (TU, GSH, L-Cys, диетилдитиокарбамат, тиосулфат, биотин итд.).[34,36,40]

Процеси који се одигравају у ћелији у току примене антитуморских агенаса на бази комплекса Pt(II) приказани су на Шеми 1.1.



Шема 1.1. *Унутарћелијски процеси приликом примене антитуморских агенаса на бази платине.*

На основу напред реченог, проучавање супституционих реакција између комплекса Pt(II) и S-донорских и N-донорских биолошки важних молекула, значајно је јер помаже у проналажењу комплекса који ће испољавати већу реактивност према фрагментима ДНК, а мању реактивност према S-донорским молекулима. Уједно, проучавање супституционих реакција овог типа представља први корак ка проналажењу комплекса који ће показивати задовољавајуће антитуморске карактеристике.

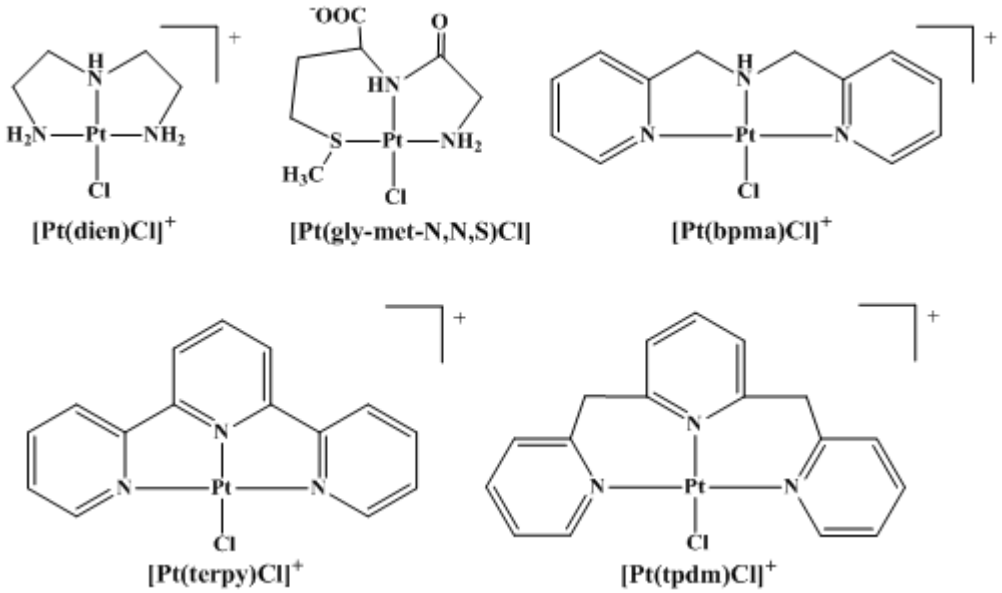
1.3. Супституционе реакције комплекса Pt(II) са биолошки важним молекулима

У покушају да дефинишемо однос између структуре и реактивности комплекса Pt(II), као потенцијалних антитуморских једињења, у оквиру ове докторске тезе проучаване су супституционе реакције мононуклеарних и динуклеарних комплекса Pt(II) са S-донорским и N-донорским биолошки важним молекулима. Главни циљ испитивања овог типа реакција јесте одређивање услова под којима ће нови комплекси селективно реаговати са биомолекулима и давати стабилне производе реакција. Разултати ових испитивања, такође, могу да помогну при избору одговарајућих комплекса који ће бити вредни тестирања.

Монофункционални комплекси Pt(II) су комплекси чија се координациона сфера састоји од инертног тридентатног лиганда, а четврто координационо место заузима лабилан лиганд, најчешће хлорид или вода. Пошто поменути лабилан лиганд може лако да се супституише, проучавање супституционих реакција ових комплекса је поједностављено. Зато су монофункционални комплекси погодни модел молекули за изучавање супституционих реакција са S-донорским и N-донорским биолошки важним молекулима. Такође, због своје структуре монофункционални комплекси не могу да се координују за два N7 атома из молекула ДНК и зато не показују антитуморску активност.

Највише су изучаване супституционе реакције монофункционалних комплекса опште формуле [Pt(NNN)X], где **NNN** представља тридентатни лиганд координован преко три азотова атома за Pt(II), док је са **X** означен лабилан лиганд. Комплекси $[Pt(dien)Cl]^+$, (dien = диетилентриамин), $[Pt(bpma)Cl]^+$, (bpma = *bis*(2-пиридилметил)амин), $[Pt(terpy)Cl]^+$,

(terpy = 2,2′:6′,2″-терпиридин) и $[Pt(tpdm)Cl]^+$, (tpdm = терпиридинметан), најчешће су проучавани комплекси из ове групе. Такође је испитиван комплекс [Pt(gly-met-*N*,*N*,*S*)Cl], (gly-met-*N*,*N*,*S* = глицил-метионин), у коме је дипептид координован за Pt(II) јон преко атома S и два атома N. На Слици 1.8. представљене су структурне формуле наведених комплекса.



Слика 1.8. *Структурне формуле монофункционалних комплекса Pt(II).*

Комплекси $[Pt(bpma)Cl]^+$, $[Pt(terpy)Cl]^+$и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ карактеристични су по томе што им се у структури инертног лиганда налази пиридин. Присуство пиридинског прстена у комплексу Pt(II) повећава електрофилност јона метала. Наиме, пиридин има способност преузимања дела наелектрисања са јона метала чинећи га још позитивнијим.[41,42] 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.[41] Овај ефекат је најизраженији када се пиридин налази у *trans* положају у односу на лиганд који се супституише. Сходно томе, очекивано је да реактивност

$[Pt(terpy)Cl]^+$ комплекса буде највећа. Међутим, иако су за велику реактивност овог комплекса одговорне електронске интеракције између **terpy** лиганда и Pt(II),[41] на карактеристике овог комплекса велики утицај има волуминозност **terpy** лиганда. У реакцијама супституције комплекса $[Pt(terpy)Cl]^+$ са различитим тиоетрима и тиолима више пута је потврђена његова нереактивност према тиоетрима,[43-45] која се управо објашњава утицајем стерног ефекта. Велика реактивност комплекса $[Pt(terpy)Cl]^+$ према тиолима објашњава се настанком интрамолекулске водоничне везе између протона са тиолне групе и одлазећег хлоридо лиганда, чиме се додатно стабилизује прелазно стање.[43,44,46]

На основу вредности за константе брзине које су приказане у Табели 1.1., може да се уочи да комплекс $[Pt(terpy)Cl]^+$ реагује знатно брже (око 10^4 пута) у односу на друга два приказана комплекса.[47,48]

Табела 1.1. Константе брзине супституционих реакција комплекса Pt(II) са S-донорским биомолекулима на 298 K.

комплекси	**[Pt(gly-met-*S*,*N*,*N*)Cl]**	**$[Pt(bpma)Cl]^+$**	**$[Pt(terpy)Cl]^+$**
лиганди		$10^2 k_2$ $[M^{-1}\ s^{-1}]$	
L-Met[47]	5,0 ± 0,2	14 ± 1	-
GSH[47]	3,4 ± 0,2	4,1 ± 0,1	$(5,8 \pm 0,1) \cdot 10^4$
TU[42]	-	-	$(1,72 \pm 0,02) \cdot 10^7$
L-Cys[48]	-	-	$(37,8 \pm 0,1) \cdot 10^2$

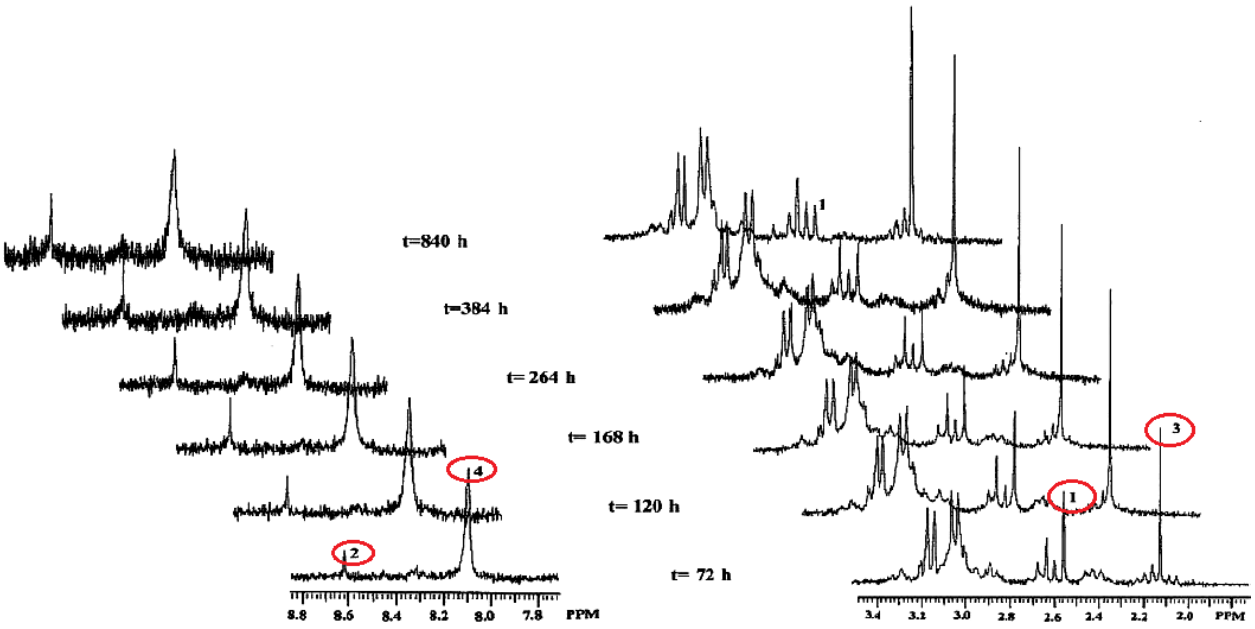
Велика реактивност комплекса $[Pt(terpy)]Cl^+$ последица је претходно објашњеног утицаја пиридинских јединица.[41,42] Мања реактивност комплекса са дипептидом Gly-Met као лигандом, може да се објасни стерним утицајем метил групе која се налази координована на атому сумпора и која отежава прилазак нуклеофила јону метала приликом супституције.[47] Са друге стране, већа реактивност комплекса са **bpma** лигандом последица је присуства два пиридинска прстена у координационој сфери

комплекса. Управо описани ефекат пиридинских јединица сврстава ове комплексе Pt(II) у групу комплекса различитих од класичних антитуморски активних комплекса Pt(II), где овакав ефекат није примећен.[41,42]

Комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$, који у својој структури садржи трипиридинметан и који је структурно сличан $[Pt(terpy)Cl]^+$ комплексу, такође је кориштен за изучавање супституционих реакција са неколико различитих биомолекула.[49] Иако је комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ структурно сличан комплексу $[Pt(terpy)Cl]^+$, они показују потпуно различите карактеристике у супституционим реакцијама. Са Слике 1.8. може да се види да комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ у својој структури има три пиридинска прстена раздвојена метиленском групом. Ова, наизглед мала разлика у структури комплекса много утиче на брзину одигравања супституционих реакција. Константа брзине реакције супституције комплекса $[Pt(terpy)Cl]^+$ са тиоуреом износи k_2^{298} = (1,72 ± 0,02) x 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, и 10^8 пута је већа од константе брзине реакције супституције комплекса $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са тиоуреом, чија константа брзине реакције износи k_2^{298} = (12,1 ± 0,1) x 10^{-2} $M^{-1}s^{-1}$.[49] Сматра се да је смањена реактивност $[Pt(tpdm)Cl]^+$ комплекса последица структурних модификација. Комплекс $[Pt(terpy)Cl]^+$ је планаран, док се увођењем две метиленске групе у комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ нарушава планарност. Такође, за комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ карактеристично је да реагује са L-Met, док је познато да комплекс $[Pt(terpy)Cl]^+$ не реагује са тиоетрима.[49]

Супституционе реакције комплекса $[Pt(dien)Cl]^+$ одигравају се најспорије у поређењу са супституционим реакцијама комплекса приказаних на Слици 1.8.[50-62]

Поред изучавања супституционих реакција са различитим S-донорским и N-донорским биомолекулима, комплекс $[Pt(dien)Cl]^+$ испитиван је у реакцији са L-Met и 5'-GMP истовремено, ^{1}H NMR спектроскопски.[40] Ова конкурентна реакција одиграва се тако што се за комплекс Pt(II) прво везује L-Met, а након тога следи супституција координованог L-Met молекулом 5'-GMP. Након неког времена примећено је да у реакционој смеши доминира комплекс $[Pt(dien)(N7\text{-}GMP)]^{2+}$, Слика 1.9. Овом супституционом реакцијом показано је да N7 атом гуанина из 5'-GMP може да супституише S-донора из комплекса. Добијени резултат представља још једну потврду чињенице да се једињења типа Pt-S(тиоетар) сматрају „резервоаром" комплекса Pt(II) у организму, тј. погодним интермедијером у реакцији комплекса Pt(II) и ДНК, Слика 1.9.



Слика 1.9. *^{1}H NMR спектар супституционе реакције комплекса $[Pt(dien)Cl]^+$ (10 mM) са смешом L-Met и 5'-GMP, у односу 1 : 1 : 3; где је* ***1*** *сигнал за $[Pt(dien)(L\text{-}Met)]^{2+}$,* ***2*** *сигнал за $[Pt(dien)(N7\text{-}GMP)]^{2+}$,* ***3*** *сигнал за слободни L-Met и* ***4*** *сигнал за слободни 5'-GMP.*[40]

Познато је да 5'-GMP не може да супституише тиол који је везан за јон Pt(II), тј. веза Pt–S(тиол) не може да се раскине у присуству 5'-GMP.[63,64] Међутим, изучавањем конкурентне супституционе реакције између комплекса $[Pt(dien)Cl]^+$ са смешом GSH и 5'-GMP, показало се да pH утиче на ток одигравања ове реакције. На pH = 2,5 тиолна група у молекулу GSH је протонована, тако да је једини добијени производ $[Pt(dien)(N7\text{-}GMP)]^{2+}$.[65] Међутим, на неутралној pH, на којој се одвија везивање антитуморских комплекса за ДНК, тиолна група је скоро потпуно депротонована и лако се везује за Pt(II). Према томе, на неутралној pH молекул 5'-GMP не може да се такмичи са GSH и једини добијени производ је $[Pt(dien)(GS)]^+$.[66] Добијени резултат се у потпуности слаже са чињеницом да је веза Pt-S јако стабилна и тешко раскидива, што, такође, потврђује претпоставку да је грађење једињења типа Pt-S(тиол) одговорно за појаву токсичних ефеката током коришћења комплекса платине као антитуморских реагенаса.

1.4. Динуклеарни комплекси Pt(II)

Фарел (Farell) је поставио темеље у развоју полинуклеарних некласичних комплекса Pt(II). Наиме, он је први синтетисао и испитивао антитуморску активност полинуклеарних комплекса Pt(II), као што су тринуклеарни комплекс BBR3464 и динуклеарни комплекс (2,2/c,c-bn).[67-70]

Полинуклеарни комплекси граде значајно различите ДНК производе од цисплатине и карбоплатине. Ови комплекси углавном се везују за оба ланца ДНК и сходно томе дају стабилније производе који су отпорнији на регенерацију од цисплатине.[71,72] Дужина мостног лиганда, као и укупна величина ових комплекса, утичу на повећање флексибилности насталог ДНК производа.

Полинуклеарни комплекси су од хемијског и биолошког интереса, јер на линијама тумора показују већу активност од цисплатине.[73-76] С обзиром на то, могли би да се користе као антитуморски агенси за ћелије које су резистентне на цисплатину, што их чини интересантним за проучавање, како генерално, тако и у оквиру ове докторске тезе.

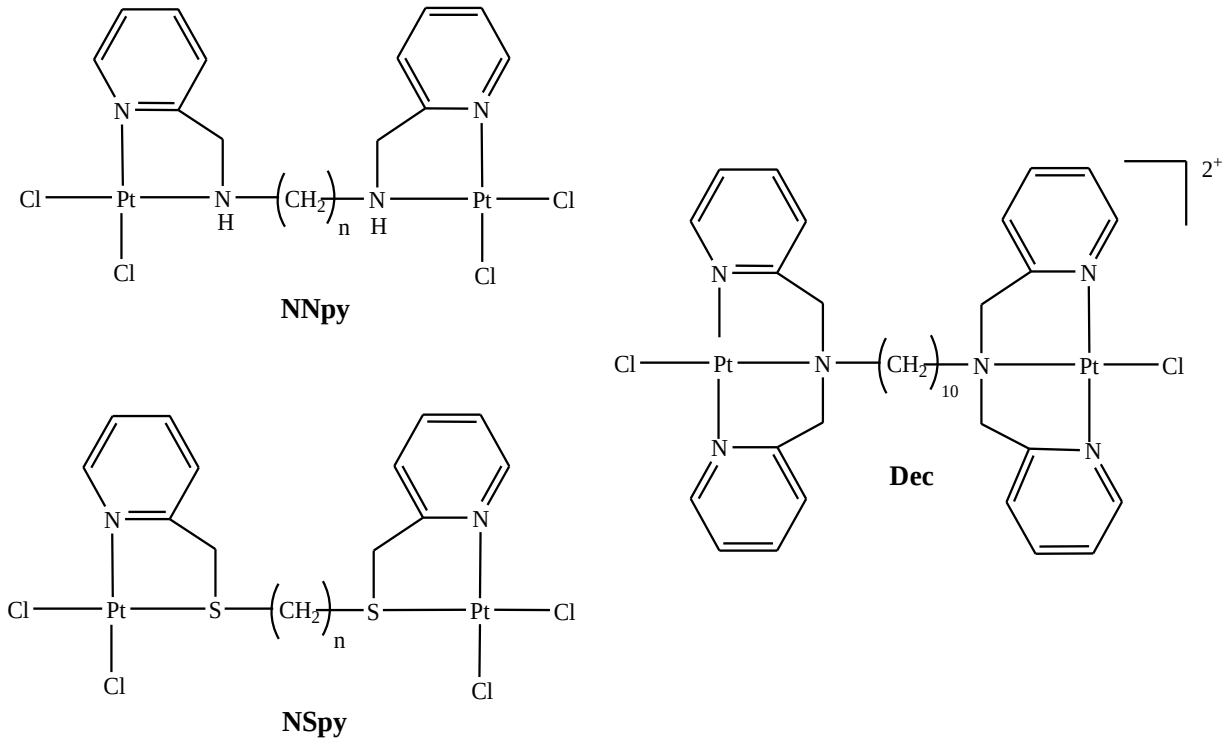
Полинуклеарни комплекси Pt(II) приказани на Сликама 1.3. и 1.10. садрже или монофункционалне (BBR3464, Dec) или бифункционалне (NNpy и NSpy систем) координационе сфере, при чему су у оба случаја Pt(II) центри повезани преко флексибилног алифатичног ланца.

Структуру BBR3464 можемо описати као две *trans*-$[PtCl(NH_3)_2]^+$ јединице повезане са нековалентном тетрааминском $[Pt(NH_3)_2\{H_2N(CH_2)_6NH_2\}_2]^{2+}$ јединицом. Овај комплекс је један од првих платинских лекова другачије структуре у односу на класичну цисплатинску структуру, који је ушао у другу фазу клиничких испитивања.

Комплекс Dec има два јона Pt(II) која су координована тридентатним *bis*(пиридилметил)аминским лигандом, у коме су две *bis*(пиридилметил)аминске јединице повезане преко алифатичног ланца са десет метиленских група.[77] Овај комплекс је динуклеарни аналог комплексу $[Pt(bpma)Cl]^+$.

У прошлости су скоро сви антитуморски лекови на бази платине садржали искључиво N-донорске лиганде. Међутим, у последњих 10 година све више се синтетишу комплекси који садрже S-донорске лиганде.

Садлер (Sadler) и сарадници први су синтетисали S-аналог добро изученом комплексу $[Pt(en)Cl_2]$, комплекс $[Pt(CH_3SCH_2CH_2SCH_3)Cl_2]$, који је показао активност на MCF7 ћелијској линији рака дојке.[78] Такође, испитивани су и динуклеарни комплекси Pt(II) са инертним лигандима S,N-типа, Слика 1.10.



Слика 1.10. *Структурне формуле неких динуклеарних комплекса Pt(II), n = 4, 6, 8, 10.*

Предност BBR3464 и сличних комплекса јесте у већем наелектрисању (4+) у односу на неутралне мононуклеарне комплексе, што узрокује добру растворљивост и ефикасне електростатичке интеракције са молекулом ДНК.[75-79]

Кинетичка истраживања комплекса BBR3464 са биорелевантним нуклеофилима као што су TU, L-Met и 5'-GMP извођена су на 310,5 K и pH = 7,4 (0,1 M NaCl) у 25 mM Hepes пуферу.[80]

Велика концентрација хлорида кориштена је за спречавање реакције хидролизе и настајање хидроксидо врста. Реакције са TU, као и са L-Met, одигравају се у два узастопна

супституциона корака, где у првом кораку долази до супституције оба хлоридо лиганда, а затим се у другом кораку супституише диаминski мостни лиганд. Упоређивање добијених вредности константи брзина реакција другог реда, Табела 1.2., за супституционе реакције са TU и L-Met јасно показује да је TU бољи нуклеофил од L-Met. Затим, примећен је јасан допринос паралелне реакције комплекса BBR3464 са хлоридом уместо са другим молекулом L-Met. Супституција хлорида нуклеофилима TU и L-Met узрокује лабилизацију везе Pt-N у *trans* положају,[80] што доводи до деградације комплекса BBR3464 након координовања нуклеофила. Овакво понашање комплекса BBR3464 примећено је и раније од стране Фарелове (Farell) и ван Елдикове (van Eldik) групе.[80-82] У односу на S-донорске нуклеофиле TU и L-Met, везивање 5'-GMP не доводи до лабилизације Pt-N везе у *trans* положају, што узрокује да диаминski мостни лиганд остаје везан, а тринуклеарни систем остаје нетакнут у дугом временском периоду.[80]

Динуклеарни комплекс Dec садржи монофункционалну координациону сферу и диаминski мост између Pt(II) јона. Основна разлика између BBR3464 и Dec је што су Pt(II) јони у комплексу Dec координовани хелатним аминским лигандом са пиридином (Слике 1.3. и 1.10.).

Кинетичка испитивања диаква комплекса Dec-$(H_2O)_2$ на pH = 2 (0,01 M CF_3SO_3H) са TU и L-Met показала су да се супституционе реакције одигравају у два узастопна корака. Наиме, супституција координованог молекула воде праћена је раскидањем једне везе јона метала и пиридинске јединице.[83]

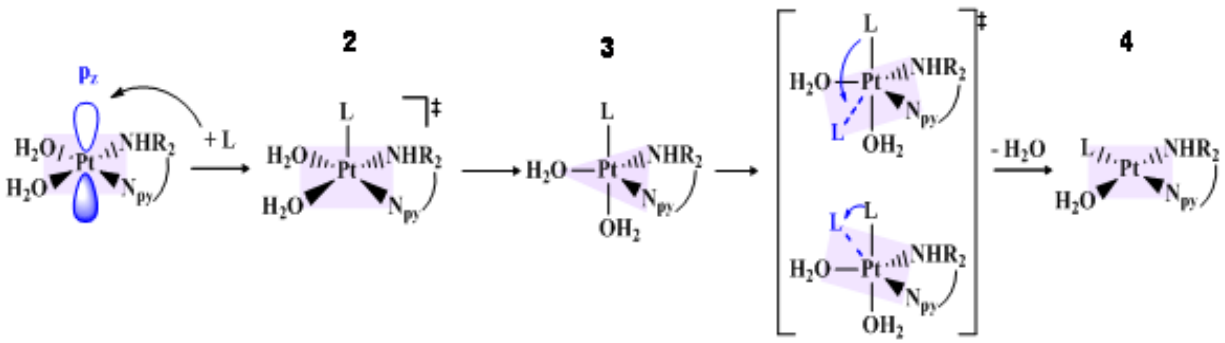
Дихлоридо комплекс Dec испитиван је у реакцији са TU, L-Met и 5'-GMP, као нуклеофилима, при физиолошким условима на 310,5 K и pH = 7,4 (0,1 M NaCl) у 25 mM Hepes пуферу. Супституционе реакције постају спорије у низу: TU > L-Met > 5'-GMP, што може да се види на основу података из Табеле 1.2. За све нуклеофиле примећена је само једна реакција, тј. супституција оба хлоридо лиганада. То значи да се супституција диаминског мостног лиганда или дехелатизација пиридина не дешава.[83] Ове супституционе реакције указују да употреба хелатног лиганда доводи до стабилизације комплекса према даљем нуклеофилном нападу и инхибира отпуштање алифатичног мостног лиганда, као и разградњу динуклеарног система.[83]

Обично, комплекси са бидентатном координационом сфером показују већу цитотоксичну активност у односу на комплексе са само једним упражњеним местом за

координовање.[84] На основу карактеристика комплекса Dec, синтетисан је још један динуклеарни комплексни систем Pt(II), NNpy, код кога један пиридин и један секундарни амин (пиколиламин остатак) граде бифункционални Pt(II) комплекс (Слика 1.10.).

Супституционе реакције између комплекса NNpy и TU на pH = 2 (0,01 M CF_3SO_3H) и 298 K праћене су како би се утврдио утицај дужине мостног лиганда на супституцију.[85,86] Примећена су два узастопна супституцина корака. Први корак не зависи од дужине ланца, док други корак зависи од дужине ланца. Пиридин са π-повратном донацијом доминира у првом кораку супституције и приморава улазак TU у *trans* положај у односу на њега. Овај процес детаљније је описан на Шеми 1.2. Након координовања првог молекула TU, утицај пиридина се компензује јаким σ-донорским мостним лигандима, и реакција постаје спорија са повећањем дужине ланца тј. редослед реактивности комплекса опада: 4NNpy > 6NNpy > 8NNpy > 10NNpy.[85,86]

Испитана је и цитотоксичност NNpy комплекса коришћењем „Alamar Blue" теста на ћелијским линијама HeLa S3 карцинома грлића материце. Од свих тестираних комплекса цитостатичку активност је показао само комплекс 10NNpy, са најдужим метиленским ланцем.[87]



Шема 1.2. *Визуелизација различитих координационих сфера током супституције првог молекула воде са TU (L).*[85,86]

Испитивани су комплекси 10NNpy са: TU, L-Met, GSH и 5'-GMP на 298 K и pH = 2 (0,01 M CF_3SO_3H), где комплекс постоји као тетрааква врста. При томе, примећена су два узастопна реакциона корака која могу да се припишу узастопној супституцији координованих молекула воде. Координациона сфера комплекса остаје нетакнута током дугог временског периода, што опет може да се припише хелатном ефекту, који штити комплекс од разградње. Реактивност испитиваних лиганада опада у низу: TU >> 5'-GMP > L-Met > GSH, Табела 1.2. Ова снажна интеракција између комплекса Pt(II) и S-донорских нуклеофила од интереса је у смислу њихове способности да штите од појаве нежељених дејстава, посебно против нефротоксичности. Зато се за сузбијање координовања комплекса Pt(II) за S-донорске протеине могу користити TU или L-Met.[88] Штавише, на pH = 2, N-донорски нуклеофил 5'-GMP може да се такмичи са S-донорским нуклеофилима L-Met и GSH. Ова запажања од посебног су интереса јер су, при физиолошким условима, унутар ћелије присутни S-донорски биомолекули у релативно великим концентрацијама.[80,81]

Овакво понашање комплекса 10NNpy потврђује претпоставку да се увођењем хелатног лиганда у координациону сферу комплекса повећава његова стабилност и смањује могућност деградације, као што је примећено у случају BBR3464 комплекса.[80]

Активна врста комплекса 10NNpy-$(H_2O)_4$ на pH = 7,4 је моноакватрихидроксидо комплекс, где је један лабилан молекул воде остао везан за Pt(II) јон. У складу са тим, на овој pH вредности имамо једну супституциону реакцију, при чему реактивност нуклеофила опада у следећем низу: GSH > TU > L-Met.[87] Међутим, у случају реакције са TU и GSH, примећена је и веома спора реакција декомпозиције динуклеарног система, али тек после 24 сата.

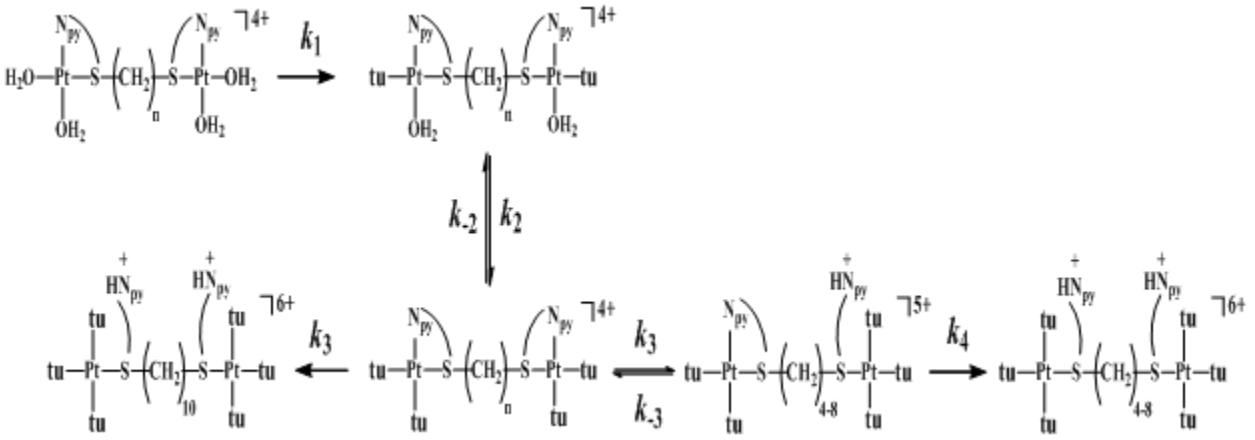
Табела 1.2. Преглед константи брзина супституционих реакција координованог хлорида или молекула воде са различитим нуклеофилима, при различитим температурама и pH вредностима.

лиганди	**TU**	**L-Met**	**5'-GMP**	Реф.
комплекси		k_1 $[M^{-1} s^{-1}]$		
BBR3464[a]	0,20± 0,01	0,041 ± 0,001	0,0193 ± 0,0003	[80]
BBR3464-$(H_2O)_2$[b]	5,2 ± 0,2	-	-	[80]
Dec[a]	9,80 ± 0,02	0,060 ± 0,003	11,8 ± 0,2	[83]
Dec-$(H_2O)_2$[b]	611 ± 3	7,3 ± 0,0	-	[83]
10NNpy-$(OH)_3(H_2O)$[c]	0,424 ± 0,007	0,030 ± 0,001	-	[87]
10NNpy-$(H_2O)_4$[b]	52,2 ± 0,3	1,86 ± 0,00	3,75 ± 0,07	[87]
10NSpy-$(H_2O)_4$[b]	203 ± 3	-	-	[85,86]

[a]308,5 K, pH = 7,4, 0,1 M NaCl; [b]298 K, pH = 2, 0,01M OTf; [c]308 K, pH = 7,4, 0,1 M Hepes

Уколико се уместо мостног лиганда аминског типа употреби лиганд тиоетарског типа добија се комплекс 10NSpy, који има сасвим другачије понашање у супституционим реакцијама од аналогног 10NNpy комплекса. Код ових комплекса атом сумпора, са својим јаким σ-донорским ефектом, доводи до лабилизације координованог молекула воде у *trans* положају и повећава реактивност 10NSpy комплекса, као што је приказано у Табели 1.2.

Проучаване су реакције супституције тетрааква комплекса NSpy са TU на pH = 2 и 298 K.[85,86] Први корак супституционе реакције је супституција молекула воде у *trans* положају у односу на атом сумпора из мостног лиганда. Такође, примећено је да брзина првог корака супституције зависи од дужине алифатичног ланца, Шема 1.3.



Шема 1.3. *Предложени механизам супституционих реакција* ***NSpy*** *комплекса на pH = 2 са TU као нуклеофилом.*[85,86]

Шема 1.3. илуструје реакције супституције за NSpy комплексе на pH = 2 укључујући и различито понашање 10NSpy-$(H_2O)_4$ комплекса. Хлоридо комплекс 10NSpy показује цитостатичку активност са IC_{50} вредношћу од 21 ± 9 μM.[89]

Увид у супституционе реакције полинуклеарних комплекса Pt(II) са TU као нуклеофилом јасно показује неке нове трендове. Увођење пиридинских прстенова повећава електрофилност на јону Pt(II) због π-акцепторског ефекта пиридинског прстена. Зато је брзина супституционе реакције код комплекса BBR3464, без π-акцепторских лиганада, мања (k_1 = 5,2 $M^{-1}s^{-1}$) од брзине супституционе реакције комплекса Dec-$(H_2O)_2$, са два π-акцепторска лиганда на сваком Pt(II) центру (k_1 = 611 $M^{-1}s^{-1}$). Ова тенденција сусреће се и код мононуклеарних комплекса.[42] Увођењем S-донора, комплекс 10NSpy показује знатно бржу супституцију у односу на NNpy комплекс.

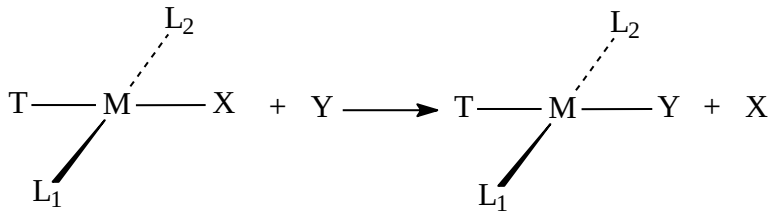
И код ових комплекса аква аналози су лабилнији па су и реакције супституције брже у поређењу са хлоридо комплексима.

1.5. Супституционе реакције квадратно-планарних комплекса

Квадратно-планарне комплексе граде јони метала са d^8 електронском конфигурацијом. У ову групу спадају јони метала Pt(II), Pd(II), Au(III), Ir(I), Rh(I) и Ni(II) (у појединим случајевима). 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-осе и y-осе.[23]

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.[90]

Супституциона реакција лиганда код квадратно-планарних комплекса[91,92] приказана је на Шеми 1.4.



Шема 1.4*. Супституциона реакција лиганда код квадратно-планарних комплекса.*

На основу Шеме 1.4. може да се види 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 (1.5.1).

$$[ML_1L_2TX] + Y \underset{}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} [ML_1L_2TY] + X \qquad (1.5.1)$$

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 молекул растварача.

$$[ML_1L_2TX] + S \underset{}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} [ML_1L_2TS] + X \qquad (1.5.2)$$

$$[ML_1L_2TS] + Y \rightleftharpoons [ML_1L_2TY] + S \qquad (1.5.3)$$

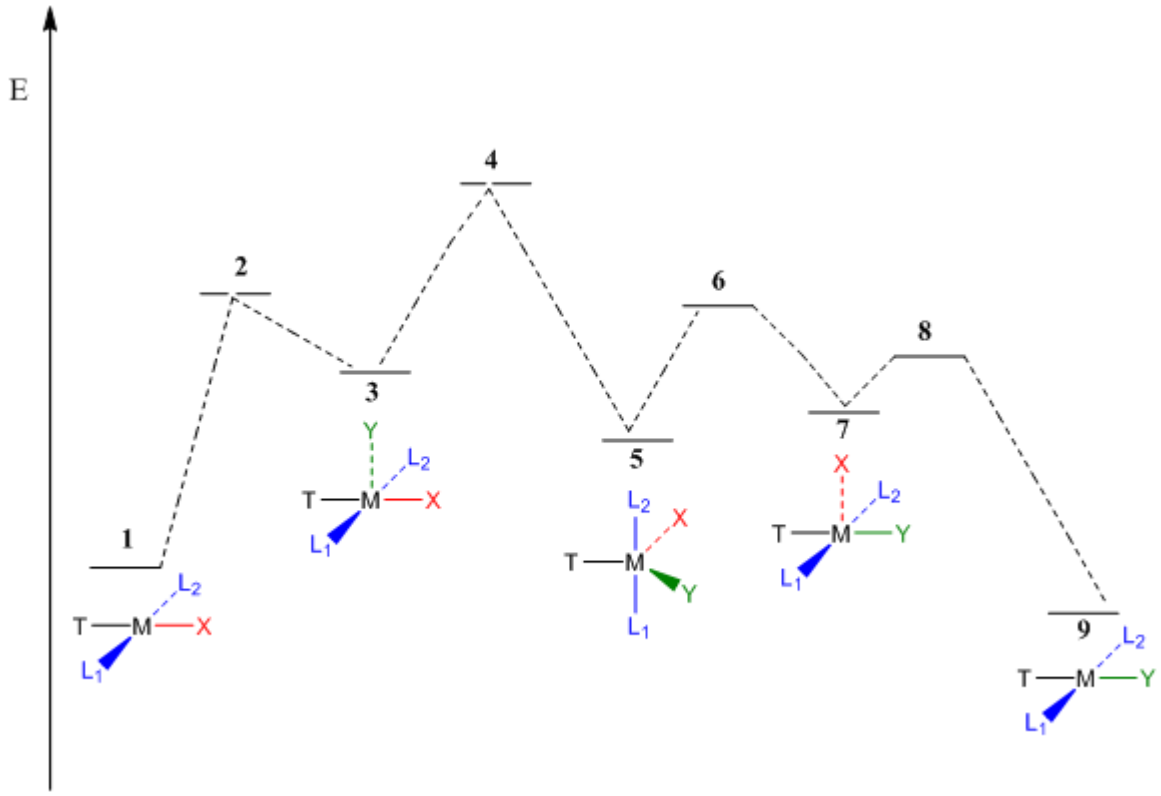
Израз за брзину супституционе реакције, који обухвата оба кинетичка пута, приказан је једначином (1.5.4).

$$BRZINA = k_1[ML_1L_2TX] + k_2[ML_1L_2TX][Y] \qquad (1.5.4)$$

Односно,

$$BRZINA = (k_1 + k_2[Y])[ML_1L_2TX] \qquad (1.5.5)$$

На Шеми 1.5. приказан је механизам супституције лиганда код квадратно-планарних комплекса. Из Шеме 1.5. може да се види да улазни лиганд Y прилази квадратно-планарном комплексу под правим углом, градећи квадратну пирамиду (3). Настала квадратна пирамида трансформише се 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 гради квадратно-планарни комплекс (9). Прелазна стања су окаркатерисана положајима 2, 4, 6 и 8.

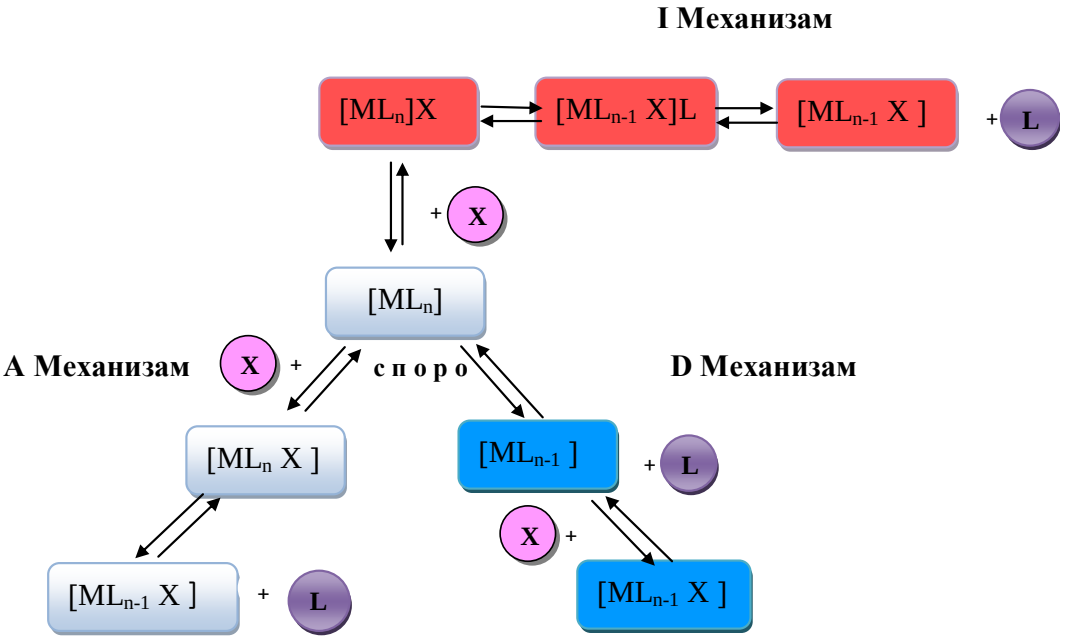


Шема 1.5. *Механизам супституције лиганда и енергетски профил супституционе реакције код квадратно-планарних комплекса.*

Нуклеофилне супституционе реакције према Лангфорду (Langford) и Грају (Gray)[91] одвијају се по три различита механизма:

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

Механизми одвијања приказани су на Шеми 1.6.



Шема 1.6. *Механизми нуклеофилне супституције комплексних једињења.*

Код дисоцијативног механизма (D), у првој фази реакције, долази до дисоцијације једног лиганда L из координационе сфере комплекса, при чему настаје интермедијер са смањеним координационим бројем. У следећој фази улазни лиганд X везује се за централни јон метала. С обзиром на то да је прва фаза реакције спорија, она одређује укупну брзину супституционе реакције.

Код асоцијативног механизма (A), у првој фази, улазни лиганд X везује се 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. Крајњи 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 може да се подели на механизме I_a и I_d. Уколико процес раскидања везе између централног јона метала и одлазећег лиганда L има већи утицај на брзину реакције, механизам се обележава са I_d, а уколико процес настајања нове везе између централног јона метала и улазног лиганда X има већи утицај на брзину хемијске реакције, механизам се обележава са I_a.[91,92]

1.6. Активациони параметри

Одређивање механизма хемијске реакције заснива се на анализи добијених вредности термодинамичких параметара ($\Delta H^{\neq}$, $\Delta S^{\neq}$, $\Delta V^{\neq}$), који карактеришу одређени процес. Један од битних података јесте познавање вредности 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.[93]

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 (1.6.1).[93-95]

$$k = k_0 \exp(-E_a/RT) \qquad (1.6.1)$$

у којој је *k* константа брзине хемијске реакције, k_0 фактор учесталости, R универзална гасна константа и T температура на којој је одређена вредност константе брзине. Логаритмовањем једначине (1.6.1) добија се израз:

$$\ln k = \ln k_0 - E_a/RT \tag{1.6.2}$$

у коме постоји линеарна зависност lnk у функцији од 1/T. Ова зависност је линеарна у ужем температурном интервалу. То значи да познавањем вредности константе брзине хемијске реакције за најмање три температуре, графичким путем, може да се одреди вредност члана $-E_a/R$, односно, вредност енергије активирања за изучавану реакцију.[93,94]

Промена енталпије активирања, $\Delta H^{\neq}$, одређује се из једначине (1.6.3).

$$\Delta H^{\neq} = E_a - RT \tag{1.6.3}$$

Промена ентропије активирања, $\Delta S^{\neq}$, је величина која представља мерило неуређености система, односно, промену слободне Гибсове (Gibbs) енергије, $\Delta G^{\neq}$, са променом температуре T и може да се изрази помоћу једначине (1.6.4).

$$\left(\frac{d\left(\Delta G^{\neq}\right)}{dT}\right) = -\Delta S^{\neq} \tag{1.6.4}$$

Вредност $\Delta S^{\neq}$ одређује се на основу Ајрингове (Eyring) једначине (1.6.5).

$$k = \frac{RT}{Nh}\exp\left(-\frac{\Delta G^{\neq}}{RT}\right) \tag{1.6.5}$$

Промена слободне енергије $\Delta G^{\neq}$ може да се изрази преко промене енталпије активирања и промене ентропије активирања, једначина (1.6.6).

$$\Delta G^{\neq} = \Delta H^{\neq} + T\Delta S^{\neq} \tag{1.6.6}$$

Заменом у изразу (1.6.5) добија се једначина (1.6.7).

$$k = \frac{RT}{Nh}\exp\left(\frac{\Delta S^{\neq}}{R}\right)\exp\left(-\frac{\Delta H^{\neq}}{RT}\right) \quad (1.6.7)$$

Логаритмовањем једначине (1.6.7) добија се израз:

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left(\frac{R}{Nh}\right) + \frac{\Delta S^{\neq}}{R} - \frac{\Delta H^{\neq}}{RT} \quad (1.6.8)$$

Из израза (1.6.8) видимо да постоји линеарна зависност ln(k/T) од 1/T. На основу ове једначине графички се из нагиба добијене праве одређује вредност промене енталпије активирања, а из одсечка праве израчунава се вредност промене ентропије активирања. Први члан, ln(R/Nh), је константа која на 273 K износи 23,8.[95,96]

1.7. Одређивање механизма нуклеофилних супституционих реакција

Одређивање механизма нуклеофилне супституционе реакције врши се на основу вредности термодинамичких параметара,[94-98] који карактеришу проучавани процес. Један од параметара помоћу кога, на врло једноставан начин може прелиминарно да се одреди механизам супституције је константа брзине хемијске реакције. На основу једначина реакција које карактеришу процесе D, A и I механизма (Шема 1.6.) види се да је процес супституције по D механизму реакција првог реда, а по A 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 D или I_d механизму супституције. И обрнуто, уколико брзина хемијске реакције зависи од природе улазног лиганда, реакција се дешава по A или I_a механизму супституције.[91,92]

Поузданији критеријум за одређивање механизма је познавање вредности промене ентропије активирања $\Delta S^{\neq}$. Пошто је ентропија активирања мерило неуређености система, а на основу сазнања да се код различитих механизама гради 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 $\Delta S^{\neq}$ има позитивну вредност. Код A механизма настаје интермедијер са повећаним координационим бројем и смањује се неуређеност система, односно, $\Delta S^{\neq}$ има негативну вредност. У случају I механизма $\Delta S^{\neq}$ је приближно једнако нули.

Најпоузданији критеријум за одређивање механизма је вредност промене запремине активирања.[97,98] Узимајући у обзир врсту интермедијера код различитих механизама, повећање притиска ће да убрзава реакције које се дешавају по A механизму, а да успорава реакције по D механизму. Зато, негативна вредност $\Delta V^{\neq}$ указује на A или I_a механизам, а позитивна вредност $\Delta V^{\neq}$ указује на D или I_d механизам супституције. У случају механизма измене, притисак не утиче значајније на брзину супституције.

ЗАДАТАК РАДА

Предмет ове докторске дисертације био је испитивање супституционих реакција стерно заштићених мононуклеарних комплекса Pt(II) и динуклеарних комплекса Pt(II), са биолошки важним лигандима. Наведена испитивања могу да се поделе на следећи начин:

✓ Испитивање кинетике и механизма супституционих реакција стерно заштићених мононуклеарних комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са биолошки важним S-донорским лигандима: *S*-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys, као и са биолошки важним N-донорским лигандима: L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP, у воденом раствору 0,1 M $NaClO_4$ на pH ≈ 5. Реакције су праћене Uv-Vis спектрофотометријски на три температуре (288, 298 и 308 K).

✓ Испитивање кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних дихлоридо комплекса **Pt1**, **Pt2** и **Pt3** (у воденом раствору 25 mM Hepes пуфера на pH = 7,2) и њихових диаква аналога **Pt1a**, **Pt2a** и **Pt3a** (на pH = 2,5 у воденом раствору 0,01 M $NaClO_4$) са биолошки важним N-донорским лигандима: 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP. Реакције су праћене Uv-Vis спектрофотометријски на три температуре (288, 298 и 310 K).

✓ Испитивање кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса **Pt4a**, **Pt6a** и **Pt8a** са биолошки важним N-донорским лигандима: 5'-GMP, L-His и пиридином, као и са биолошки важним S-донорским лигандима: L-Cys и GSH, у воденом раствору 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5. Реакције су праћене Uv-Vis спектрофотометријски на три температуре (288, 298 и 308 K).

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

2.1. Реагенси и раствори

Испитивани мононуклеарни комплекси [Pt(tpdm)Cl]Cl и [(TL$^{t\mathrm{Bu}}$)PtCl]ClO_4, хлоридо(терпиридинметан)платина(II)-хлорид и хлоридо-2,6-*bis*[(1,3-ди-*terc*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридинплатина(II)-перхлорат, синтетисани су по већ раније публикованим процедурама.[49,99] Синтеза лиганада **TL$^{t\mathrm{Bu}}$** (2,6-*bis*[(1,3-ди-*terc*-бутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин) и **tpdm** (терпиридиндиметан) такође је раније публикована.[100,101] Чистоћа добијених једињења потврђена је елементалном анализом, Uv-Vis спектрофотометријом, IR и ^{1}H NMR спектроскопијом.

Испитивани динуклеарни комплекси [{*trans*-PtCl$(NH_3)_2$}$_2$(μ-пиразин)]$(ClO_4)_2$ (**Pt1**), [{*trans*-PtCl$(NH_3)_2$}$_2$(μ-4,4'-бипиридин)]$(ClO_4)_2$·DMF (**Pt2**) и [{*trans*-PtCl$(NH_3)_2$}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)]$(ClO_4)_2$ (**Pt3**), синтетисани су према раније публикованој процедури.[102] Као полазни комплекс за синтезу ових динуклеарних комплекса Pt(II) кориштен је *trans*-[PtCl$(NH_3)_2$(DMF)](ClO_4), а као мостни лиганди кориштени су пиразин, 4,4'-бипиридин и 1,2-*bis*(4-пиридил)етан. Чистоћа добијених једињења потврђена је елементалном анализом, Uv-Vis спектрофотометријом, IR и ^{1}H NMR спектроскопијом.

Испитивани динуклеарни комплекси [{*trans*-PtCl$(NH_3)_2$}$_2$(μ-1,4-диаминобутан)]Cl_2 **(Pt4),** [{*trans*–PtCl$(NH_3)_2$}$_2$(μ-1,6-диаминохексан)]Cl_2 (**Pt6)** и [{*trans*-PtCl$(NH_3)_2$}$_2$(μ-1,8-диаминооктан)]Cl_2 (**Pt8)** синтетисани су према раније публикованој процедури.[103] Као полазни комплекс за синтезу ових динуклеарних комплекса Pt(II) кориштена је *trans*-[PtCl$_2$$(NH_3)_2$], а као мостни лиганди кориштени су 1,4-диаминобутан, 1,6-диаминохексан и 1,8-диаминооктан. Чистоћа добијених једињења потврђена је елементалном анализом, Uv-Vis спектрофотометријом, IR и ^{1}H NMR спектроскопијом.

Сумпор-донорски нуклеофили *S*-метил-L-цистеин (*S*-Met-L-Cys) (Sigma), L-цистеин (L-Cys) (Acros), глутатион (GSH) (Sigma), и L-метионин (L-Met) (Sigma), **азот-донорски нуклеофили** гуанозин-5'-монофосфат динатријумова со (5'-GMP) (Acros), L-хистидин (L-His) (Sigma), инозин (Ino) (Acros), пиридин (Acros) и инозин-5'-монофосфат динатријумова со (5'-IMP) (Sigma), 1,2,4-триазол (Acros), као и **мостни лиганди** пиразин (Aldrich), 4,4'-бипиридин (Acros) и 1,2-*bis*(4-пиридил)етан (Acros), 1,4-диаминобутан (Aldrich), 1,6-диаминохексан (Aldrich) и 1,8-диаминооктан (Aldrich), кориштени су без претходног пречишћавања.

Остали реагенси, као што су NaOH (Acros), NaCl (Acros), $NaClO_4$ (Merck), NaOD (Acros), $AgClO_4$ (Aldrich), $HClO_4$ (Merck), CH_3OH (Merck), C_2H_5-O-C_2H_5 (Merck), DMF (Acros), D_2O (Deutero GmbH 99 %) (Acros), DCl (Acros), COD (Aldrich), [Pt(COD)Cl_2] (Aldrich), *trans*-[$PtCl_2(NH_3)_2$] (Aldrich), K_2PtCl_4 (Aldrich), Hepes пуфер (N-2-хидроксиетилпиперазин-N'-2-етансулфидна киселина) (Acros) такође су кориштени без претходног пречишћавања.

Сви водени раствори припремани су у бидестилованој води.

2.2. Синтезе

2.2.1. Синтеза мононуклеарног комплекса [Pt(tpdm)Cl]Cl

Комплекс је синтетисан по публикованој процедури.[49] Полазна супстанца за синтезу комплекса је K_2PtCl_4. Еквивалентна количина раствора циклооктадиена (COD) у води (10 cm^3) додавана је кап по кап раствору K_2PtCl_4 (1 mmol) у води (10 cm^3), уз мешање у току једног сата. Слабо растворљиви комплекс [Pt(COD)Cl_2] профилтриран је, осушен и помешан са еквимоларном количином лиганда **tpmd,** који је растворен у смеши метанол/вода (50/50, v/v). Суспензија је мешана неколико сати на температури од 323 K. Након хлађења до собне температуре раствор је остављен преко ноћи на хладном. Добијени жути талог одвојен је од раствора, прекристалисан у води и окарактерисан

рендгенско-структурном анализом, елементалном анализом, Uv-Vis и IR спектроскопијом. Израчунато: $PtN_3C_{17}H_{15}Cl_2$: H: 2,87; C: 38,2; N: 7,97. Нађено: H: 2,66; C: 38,3; N: 7,13. λ_{max} 267,0 nm; ν_{max}/cm^{-1} 764 (Pt−N), 1469 (C−N), 1607 (C═N), 3400 (O−H).

2.2.2. Синтеза мононуклеарног комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]ClO_4$

Комплекс је синтетисан по публикованој процедури.[99] Раствор $\mathbf{TL^{tBu}}$ (200 mg; 0,405 mmol) у води (10 cm^3) додаван је кап по кап у еквивалентну количину суспензије $[Pt(COD)Cl_2]$ у води (10 cm^3), на собној температури. Вредност pH подешена је на 5 додавањем раствора 0,1 M $HClO_4$. Смеша је загревана 48 сати на температури од 323 K, након чега је запремина раствора смањена на 5 cm^3. Таложење производа је постигнуто додатком засићеног воденог раствора $NaClO_4$ (20 cm^3). Добијени талог жуте боје профилтриран је, испран ацетоном (2 × 10 cm^3) и осушен под вакуумом. Добијени талог је окарактерисан елементалном анализом и ^1H NMR. Принос: 0,210 g (72%). Израчунато: $C_{29}H_{47}Cl_2N_7O_4Pt$: H: 6,54; C: 48,09; N: 13,54. Нађено: H: 6,40; C: 47,74; N: 13,47. d_H(200 MHz, D_2O) 7,64 (2H, d, *m*-Py), 7,72 (1H, t, *p*-Py), 4,60 (4H, s, Py-CH_2) и 1,47 (36H, s, CCH_3).

2.2.3. Синтезе динуклеарних дихлоридо комплекса Pt1, Pt2 и Pt3

A. Синтеза полазног комплекса

trans-$[PtCl(NH_3)_2(DMF)](ClO_4)$

У 5 cm^3 раствора комплекса *trans*-$[PtCl_2(NH_3)_2]$ (0,1 g; 0,33 mmol) у DMF додат је један еквивалент $AgClO_4$ (0,069 g; 0,33 mmol), такође растворен у DMF. Тако добијени раствор мешан је преко ноћи у мраку, а настали бели талог AgCl одвојен је цеђењем кроз Millipore филтер са величином пора од 0,20 μm. Раствор *trans*-$[PtCl(NH_3)_2(DMF)](ClO_4)$ жуте боје кориштен је као полазни комплекс за синтезу динуклеарних комплекса Pt(II).

Б. Синтеза комплекса Pt1

[{*trans*-PtCl(NH_3)$_2$}$_2$(*μ*-пиразин)](ClO_4)$_2$

Раствору комплекса *trans*-[PtCl(NH_3)$_2$(DMF)](ClO_4) (0,145 g; 0,33 mmol) у капима је додат раствор мостног лиганда пиразина (0,013 g; 0,165 mmol) у DMF, у односу 2 : 1 (комплекс : мостни лиганд). Тако добијени раствор мешан је на собној температури 3 сата у мраку. После упаравања настали талог светло жуте боје испран је диетилетром, а потом остављен да се суши на ваздуху. Принос: 0,141 g (52,80%). Израчунато за $C_4H_{16}N_6Pt_2Cl_4O_8$: C: 5,94; H: 2,00; N: 10,40; Нађено: C: 6,38; H: 2,10; N: 9,95; ^{1}H NMR (D_2O, 25 ^oC) δ (ppm) 2,0 (m, 2H, NH_2); 8,63 (m, 1H, CH, пиразин).

В. Синтеза комплекса Pt2

[{*trans*-PtCl(NH_3)$_2$}$_2$(*μ*-4,4'-бипиридин)](ClO_4)$_2$·DMF

Раствору комплекса *trans*-[PtCl(NH_3)$_2$(DMF)](ClO_4) (0,145 g; 0,33 mmol) у капима је додат раствор мостног лиганда 4,4'-бипиридина (0,025 g; 0,165 mmol) у DMF, у односу 2 : 1 (комплекс : мостни лиганд). Тако добијени раствор мешан је на собној температури 3 сата у мраку. После упаравања на вакуум упаривачу настали талог светло жуте боје испран је диетилетром и остављен да се суши на ваздуху. Принос: 0,220 g (69,64%). Израчунато за $C_{13}H_{27}N_7Pt_2Cl_4O_9$: C: 16,31; H: 2,84; N: 10,24; Нађено: C: 16,79; H: 2,80; N: 10,08; ^{1}H NMR (D_2O, 25 ^oC) δ (ppm) 2,0 (m, 2H, NH_2); 2,93 (s, 1H, CH_3, DMF); 7,28 (m, 1H, CH, 4-пиридин); 8,02 (s, 1H, CHO, DMF); 8,59 (m, 1H, CH, 4- пиридин).

Г. Синтеза комплекса Pt3

[{*trans*-PtCl(NH_3)$_2$}$_2$(*μ*-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)](ClO_4)$_2$

Раствору комплекса *trans*-[PtCl(NH_3)$_2$(DMF)](ClO_4) (0,145 g; 0,33 mmol) у капима је додат раствор мостног лиганда 1,2-*bis*(4-пиридил)етана (0,030 g; 0,165 mmol) у DMF, у односу 2 : 1 (комплекс : мостни лиганд). Тако добијени раствор мешан је на собној

температури 3 сата у мраку. После упаравања настали талог светло жуте боје испран је диетилетром, а затим остављен да се суши на ваздуху. Принос: 0,195 g (64,78%). Израчунато за $C_{12}H_{24}N_6Pt_2Cl_4O_8$: C: 15,80; H: 2,65; N: 9,21; Нађено: C: 15,16; H: 2,71; N: 9,06; ^{1}H NMR (D_2O, 25 ^oC) δ (ppm) 2,0 (m, 2H, NH_2); 2,88 (m, 2H, CH_2, етан); 7,28 (m, 1H, CH, 4-пиридин); 8,59 (m, 1H, CH, 4-пиридин).

2.2.4. Синтезе динуклеарних диаква комплекса Pt1a, Pt2a и Pt3a

Превођење динуклеарних дихлоридо комплекса **Pt1**, **Pt2** и **Pt3** у диаква јоне [{*trans*-Pt$(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-пиразин)]$^{4+}$ (**Pt1a**), [{*trans*-Pt$(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-4,4'-бипиридин)]$^{4+}$ (**Pt2a**) и [{*trans*-Pt$(NH_3)_2(H_2O)$}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)]$^{4+}$ (**Pt3a**) постигнуто је додатком по два еквивалента $AgClO_4$ у растворе дихлоридо комплекса и загревањем смеше 8 сати на температури од 323 K уз непрестано мешање. Настали бели талог AgCl процеђен је кроз Millipore филтер са величином пора од 0,20 μm, при чему се нарочито водило рачуна да у филтрату нема трагова јона Ag^+, тј. да су дихлоридо комплекси потпуно преведени у диаква честице.

2.2.5. Синтезе динуклеарних дихлоридо комплекса Pt4, Pt6 и Pt8

A. Синтеза комплекса Pt4

[{*trans*-PtCl$(NH_3)_2$}$_2$(μ-1,4-диаминобутан)]Cl_2

У 3 cm^3 раствора *trans*-[$PtCl_2(NH_3)_2$] (0,1 g; 0,333 mmol) у DMF у капима је додато 2 cm^3 раствора мостног лиганда 1,4-диаминобутана (0,0147 g; 0,166 mmol), такође раствореног у DMF, у односу 2 : 1 (комплекс : мостни лиганд). Тако добијени раствор мешан је 24 сата у мраку на температури од 323 K. Добијени талог беле боје одвојен је од раствора цеђењем, испран диетилетром и остављен да се суши на ваздуху. Принос:

0,080 g (69,87 %). Израчунато за $C_4H_{24}Cl_4N_6Pt_2$: C: 6,98; H: 3,51; N: 12,21. Нађено: C: 7,05; H: 3,60; N: 12,25. ^{1}H NMR (200 MHz; DMSO-d_6): δ = 2,50 (bs, 4H, CH_2); 3,35 (bs, 4H, CH_2).

Б. Синтеза комплекса Pt6

[{*trans*-PtCl(NH$_3$)$_2$}$_2$(*μ*-1,6-диаминохексан)]Cl$_2$

У 3 cm^3 раствора *trans*-[$PtCl_2(NH_3)_2$] (0,1 g; 0,333 mmol) у DMF у капима је додато 2 cm^3 раствора мостног лиганда 1,6-диаминохексана (38,4 μL 60% раствора са ρ= 0,84 g/cm3; 0,0194 g; 0,166 mmol), такође раствореног у DMF, у односу 2:1 (комплекс : мостни лиганд). Тако добијени раствор мешан је 24 сата на температури од 323 K. Добијени талог беле боје одвојен је од раствора цеђењем, испран диетилетром и остављен да се суши на ваздуху. Принос: 0,1032 g (86,43 %). Израчунато за $C_6H_{28}Cl_4N_6Pt_2$: C: 10,6; H: 3,94; N: 11,73. Нађено: C: 10,51; H: 3,83; N: 11,71. ^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 1,28 – 1,47 (m, 4H, CH_2), 1,57 – 1,78 (m, 4H, CH_2); 2,63 – 2,73 (m, 4H, CH_2).

В. Синтеза комплекса Pt8

[{*trans*-PtCl(NH$_3$)$_2$}$_2$(*μ*-1,8-диаминооктан)]Cl$_2$

У 3 cm^3 раствора *trans*-[$PtCl_2(NH_3)_2$] (0,1 g; 0,333 mmol) у DMF у капима је додато 2 cm^3 раствора мостног лиганда 1,8-диаминооктана (0,0240 g; 0,166 mmol), такође раствореног у DMF, у односу 2 : 1 (комплекс : мостни лиганд). Тако добијени раствор мешан је 24 сата на температури од 323 K. Добијени талог беле боје одвојен је од раствора цеђењем, испран диетилетром и остављен да се суши на ваздуху. Принос: 0,098 g (79,03 %). Израчунато за $C_8H_{32}Cl_4N_6Pt_2$: C: 12,91; H: 4,33; N: 11,29. Нађено: C: 13,01; H: 4,50; N: 11,43. ^{1}H NMR (200 MHz; DMSO-d_6): δ = 1,27 (bs, 6H, CH_2); 2,50 (bs, 4H, CH_2); 4,02 (bs, 4H, CH_2).

2.2.6. Синтезе динуклеарних диаква комплекса Pt4a, Pt6a и Pt8a

Превођење динуклеарних дихлоридо комплекса **Pt4**, **Pt6** и **Pt8** у диаква јоне [{*trans*-Pt$(NH_3)_2(H_2O)\}_2$(μ-1,4-диаминобутан)]$^{4+}$ **(Pt4a),** [{*trans*-Pt$(NH_3)_2(H_2O)\}_2$(μ-1,6-диаминохексан)]$^{4+}$ **(Pt6a)** и [{*trans*-Pt$(NH_3)_2(H_2O)\}_2$(μ-1,8-диаминооктан)]$^{4+}$ **(Pt8a)** постигнуто је додатком по два еквивалента $AgClO_4$ у растворе дихлоридо комплекса и загревањем смеше 24 сата у мраку на температури од 313 K уз непрестано мешање. Настали талог AgCl процеђен је кроз Millipore филтер са величином пора од 0,20 μm, при чему се нарочито водило рачуна да у филтрату нема трагова јона Ag^+, тј. да су дихлоридо комплекси потпуно преведени у диаква честице.

2.3. Инструменти

Uv-Vis спектри и кинетички подаци снимани су на Perkin Elmer Lambda 25 (9 ћелија) и 35 (једна ћелија) Uv-Vis двозрачним спектрофотометрима са термостатираном 1,00 cm кварцном Suprasil киветом.

pH вредности раствора мерене су помоћу Mettler Delta 350 дигиталног pH-метра са комбинованом стакленом електродом. Електроде су калибрисане растворима стандардних пуфера pH 4, 7 и 9 добијеним од Sigma-e.

Елементалне анализе (C, N, H) урађене су на Carlo Erba Elemental Analyser 1106.

^{1}H HMR спектри снимани су на Varian Gemini 2000, 200 MHz NMR спектрометру.

2.4. Uv-Vis спектрофотометријска мерења

Супституционе реакције су проучаване Uv-Vis спектрофотометријски на три температуре (288, 298 и 308 (или 310) K). Како би се постигли услови реакције *pseudo*-првог реда у свим испитиваним системима концентрација лиганда била је у великом вишку, најмање 10 пута, у односу на концентрацију полазног комплекса.

Радна таласна дужина одређена је снимањем спектара реакционе смеше у одређеним временским интервалима у опсегу таласних дужина између 220 и 600 nm. Као радна таласна дужина узима се она таласна дужина на којој је највећа промена апсорбанце са временом.

Спектрофотометријско одређивање константе брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd}, врши се праћењем промене апсорпције раствора A_t са временом t на одређеној таласној дужини,[92] на основу једначине (2.4.1).

$$\ln(A_t - A_\infty) = \ln(A_0 - A_\infty) - k_{obsd}t \qquad (2.4.1)$$

Зависност $\ln(A_t - A_\infty)$ од времена t је линеарна, тако да се из нагиба праве добија вредност за k_{obsd}. Величина A_0 представља апсорпцију раствора при нултом времену, док величина A_∞ представља апсорпцију раствора након „бесконачно" дугог времена (обично после 8-10 полувремена реакције).[92] Добијена вредност за константу брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd}, представља средњу вредност 4 до 5 независних кинетичких мерења.

2.4.1. Реакције супституције мононуклеарних комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$

Кинетика и механизам супституционих реакција стерно заштићених мононуклеарних комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са билошки важним S-донорским лигандима: L-Met, *S*-Met-L-Cys, GSH и L-Cys, као и са биолошки важним N-донорским лигандима: L-His, Ino, 5'-IMP и 5'-GMP, испитивани су Uv-Vis спектрофотометријском методом на одговарајућим таласним дужинама, праћењем промене апсорпције раствора са временом. У Табели 2.1. дат је преглед таласних дужина на којима су праћене реакције испитиваних комплекса са одабраним лигандима.

Табела 2.1. Таласне дужине λ(nm) на којима су праћене супституционе реакције испитиваних комплекса са одабраним лигандима.

	$[Pt(tpdm)Cl]^+$	$[(TL^{tBu})PtCl]^+$		$[Pt(tpdm)Cl]^+$	$[(TL^{tBu})PtCl]^+$
S-Met-L-Cys	264 nm	266 nm	L-His	325 nm	260 nm
L-Met		263 nm	Ino	312 nm	315 nm
GSH		267 nm	5'-GMP		350 nm
L-Cys	245 nm	260 nm	5'-IMP	315 nm	320 nm

У свим испитиваним системима концентрација лиганда била је у великом вишку, најмање 20 пута, у односу на концентрацију полазног комплекса, како би се постигли услови реакције *pseudo*-првог реда. Супституционе реакције започеле су мешањем 0,5 cm^3 раствора комплекса Pt(II) са 2,5 cm^3 раствора лиганда.

Све реакције изучаване су на pH ≈ 5 у воденом раствору 0,1 M $NaClO_4$, у који је додат 10 mM NaCl како би се спречила спонтана хидролиза комплекса.

Перхлоратна средина одабрана је за изучавање реакција, јер је познато да се перхлоратни јон не координује за Pt(II) јон.[104]

Супституционе реакције комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ са *S*-Met-L-Cys, L-Cys и L-His праћене су на три температуре (288, 298 и 308 K), као и супституционе реакције комплекса

$[Pt(tpdm)Cl]^+$ са L-Cys и L-His. Са осталим лигандима реакције су праћене само на температури од 298 K.

2.4.2. Реакције супституције динуклеарних дихлоридо комплекса Pt1, Pt2 и Pt3 и њихових диаква аналога Pt1a, Pt2a и Pt3a

Кинетика и механизам супституционих реакција динуклеарних дихлоридо комплекса **Pt1**, **Pt2** и **Pt3** и њихових диаква аналога **Pt1a**, **Pt2a** и **Pt3a** са биолошки важним N-донорским лигандима: L-His, 1,2,4-триазолом и 5'-IMP испитивани су Uv-Vis спектрофотометријском методом на одговарајућим таласним дужинама, праћењем промене апсорпције раствора са временом.

У свим испитиваним системима концентрација лиганда је била у великом вишку, најмање 10 пута, у односу на концентрацију полазног комплекса, како би се постигли услови реакције *pseudo* -првог реда. Супституционе реакције започеле су мешањем 1,5 cm^3 раствора комплекса са 1,5 cm^3 раствора лиганда.

Реакције дихлоридо динуклеарних комплекса **Pt1**, **Pt2** и **Pt3** изучаване су на pH = 7,2 у воденом раствору 25 mM Hepes пуфера, у који је додат 20 mM NaCl, како би се спречила спонтана хидролиза комплекса. Вредност pH подешена је помоћу 0,01 M $HClO_4$ и 0,01M NaOH.

Hepes и Tris пуфери су најчешће кориштени пуфери у ћелијским тестовима, тј. приликом испитивања интеракције комплекса Pt(II) и молекула ДНК у ћелији. Hepes пуфер изабран је из разлога што је волуминознији молекул у односу на Tris пуфер, па је везивање Hepes пуфера за јон Pt(II) услед стерних сметњи скоро потпуно искључено.[105]

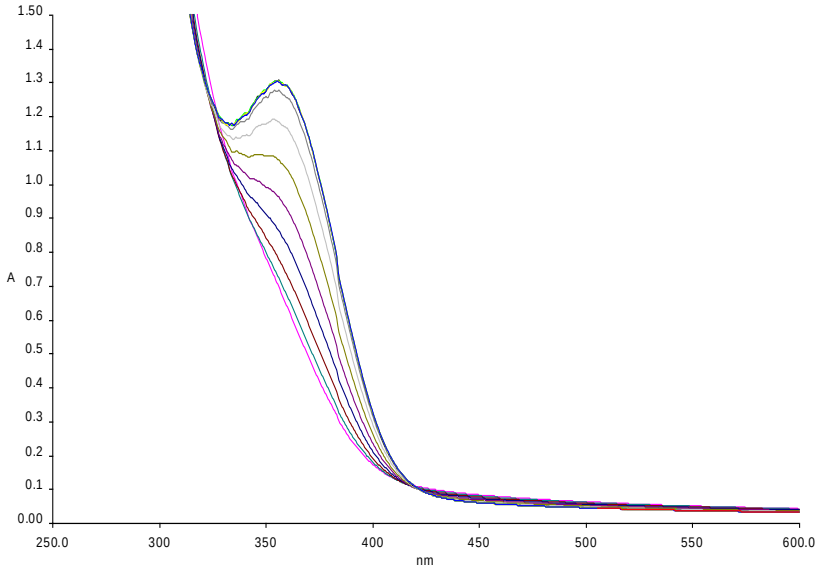
Реакције диаква аналога ових комплекса изучаване су на pH = 2,5 у воденом раствору 0,01 M $NaClO_4$. Код ових реакција pH вредност подешена је помоћу 0,1 M $HClO_4$.

Све реакције су праћене на 310 K, с тим што су реакције **Pt1** и **Pt1a** комплекса са 1,2,4-триазолом праћене и на температурама од 288 K и 298 K.

2.4.3. Реакције супституције динуклеарних диаква комплекса Pt4a, Pt6a и Pt8a

Кинетика и механизам супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса **Pt4a**, **Pt6a** и **Pt8a** са биолошки важним N-донорским лигандима: 5'-GMP, L-His и пиридином, као и са биолошки важним S-донорским лигандима: L-Cys и GSH, испитивани су Uv-Vis спектрофотометријском методом на одговарајућим таласним дужинама, праћењем промене апсорпције раствора са временом.

Радна таласна дужина одређена је снимањем спектара реакционе смеше у одређеним временским интервалима у опсегу таласних дужина између 220 и 450 nm, као што је приказано на Слици 2.1.



Слика 2.1. *Промена таласне дужине, λ, са временом (Δt = 60s), за супституциону реакцију комплекса Pt4a (10^{-4}M) са лигандом L-Cys (10^{-3}M) у 0,1 M $NaClO_4$, 10mM NaCl, на pH =2,5 и T = 298 K.*

Супституционе реакције започеле су мешањем 0,5 cm^3 раствора комплекса са 2,5 cm^3 раствора лиганда. Концентрација лиганда била је у великом вишку, најмање

10 пута, у односу на концентрацију полазног комплекса, како би се постигли услови реакције *pseudo*-првог реда.

Све супституционе реакције динуклеарних диаква комплекса **Pt4a**, **Pt6a** и **Pt8a** изучаване су у воденом раствору 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5. Код ових реакција pH вредност подешена је помоћу 0,1 M $HClO_4$.

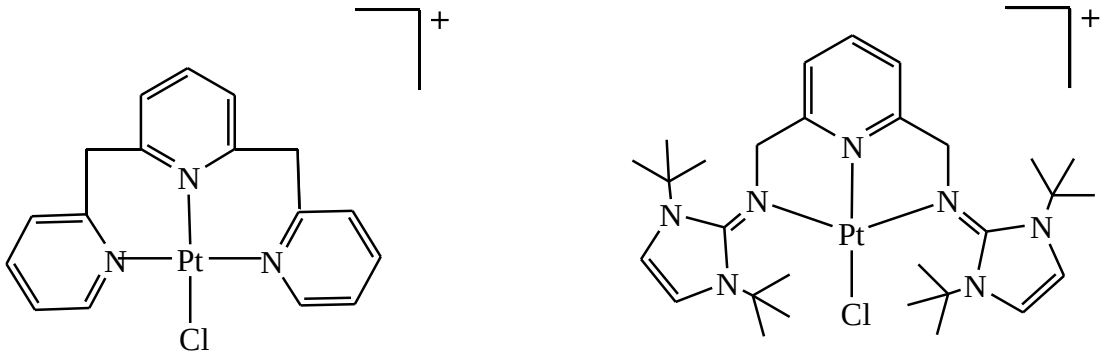
Супституционе реакције ових комплекса са N-донорским лигандом 5'-GMP праћене су на на три температуре (288, 298 и 308 K). Остале реакције праћене су само на температури од 298 K.

Добијени резултати анализирани су помоћу компјутерских програма OriginPro 8 и Microsoft Excel 2007.

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА

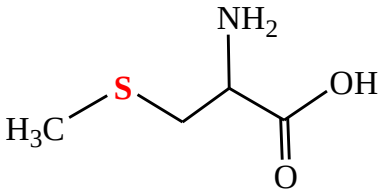
3.1. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ комплекса са *S*-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys

Структурне формуле испитиваних комплекса приказане су на Слици 3.1., а структурне формуле испитиваних лиганада на Слици 3.2.

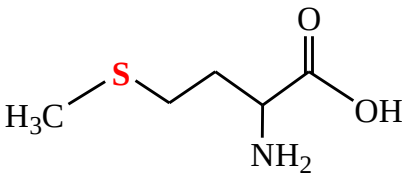


$[Pt(tpdm)Cl]^+$ $[(TL^{tBu})PtCl]^+$

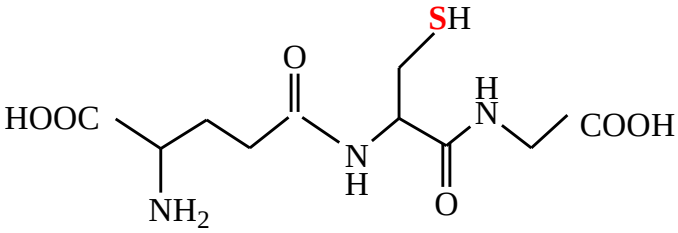
Слика 3.1. *Структурне формуле испитиваних комплекса.*



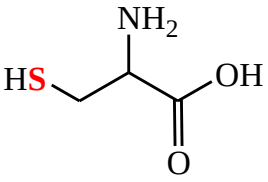
S-Met-L-Cys



L-Met



GSH



L-Cys

Слика 3.2. *Структурне формуле испитиваних лиганада.*

Изучаване реакције $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ комплекса са биолошки важним S-донорским лигандима: *S*-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys могу да се прикажу једначином (3.1.1).

$$[(X)PtCl]^+ + Nu \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} [(X)PtNu]^{2+} + Cl^- \qquad (3.1.1)$$

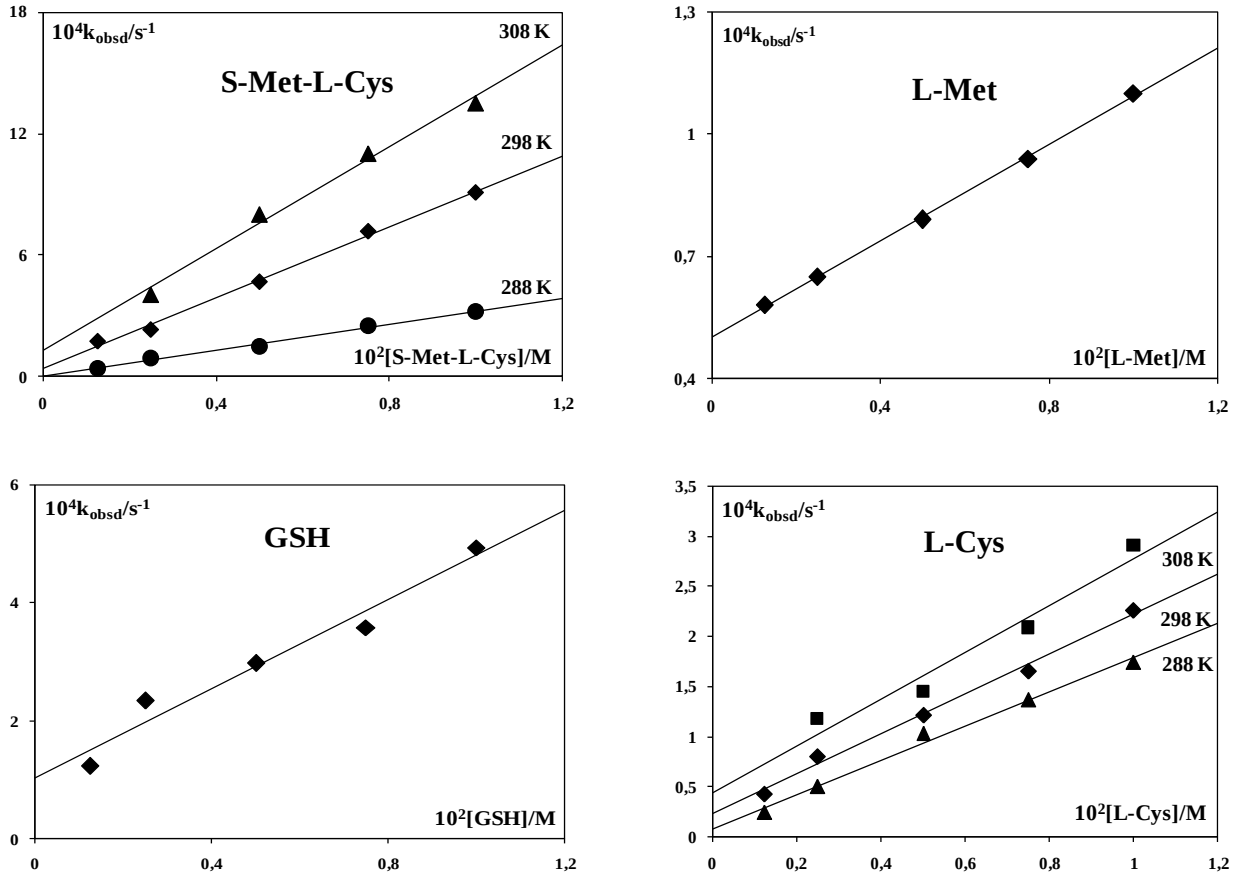
X= TL^{tBu}, tpdm

Nu= *S*-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys

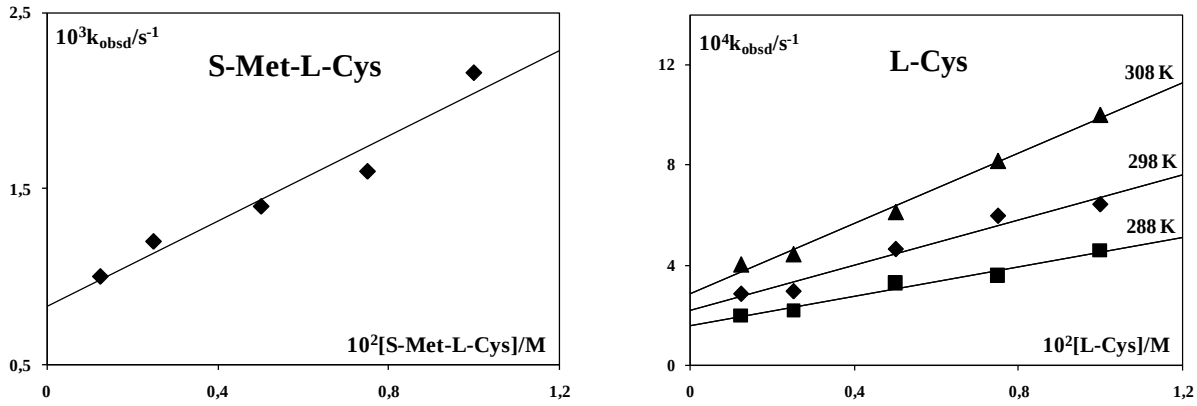
Познато је да се супституционе реакције квадратно-планарних комплекса одвијају по два кинетичка пута.[92] Један је *солволитички пут*, у току кога молекул растварача улази у координациону сферу комплекса и координује се за јон метала, након чега долази до брзе супституције координованог молекула растварача улазним нуклеофилом. Други пут је *пут директне нуклеофилне супституције,* у току кога долази до директне супституције одлазећег лиганда нуклеофилом. У изучаваним реакцијама солволитички пут је сузбијен додатком 10 mM NaCl у раствор комплекса, тако да се пут директне нуклеофилне супституције одиграва реверзибилно, као што је приказано једначином (3.1.1). При условима реакције *pseudo*-првог реда, константе брзине које карактеришу процес супституције могу да се одреде из линеарне зависности константе брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd}, од концентрације нуклеофила, према једначини (3.1.2). Из нагиба добијене праве одређује се константа k_2, која карактерише пут директне нуклеофилне супституције, док се из одсечка одређује константа k_{-2}, која карактерише повратну реакцију.

$$k_{obsd} = k_{-2}\,[Cl^-] + k_2\,[Nu] \qquad (3.1.2)$$

Експериментално добијени резултати зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила приказани су на Сликама 3.3. и 3.4.



Слика 3.3. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, k_{obsd}, у функцији од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ са S-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys у 0,1 M $NaClO_4$, 10 mM NaCl и pH ≈ 5.*



***Слика 3.4**. Константе брзине реакције pseudo-првог реда, k_{obsd}, у функцији од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са L-Cys и S-Met-L-Cys у 0,1 M $NaClO_4$, 10 mM NaCl и pH ≈ 5.*

Код свих изучаваних супституционих реакција зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила су линеарне, као што може да се види са Слика 3.3. и 3.4. Константа брзине реакције другог реда, k_2, која карактерише настајање производа, одређена је из нагиба праве зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила. Одсечак указује на повратну реакцију, која је окарактерисана константом k_{-2}. Вредности добијених константи брзине, k_2 и k_{-2}, дате су у Табели 3.1. Праћењем супституционих реакција на три различите температуре одређени су активациони параметри $\Delta H_2^{\neq}$ и $\Delta S_2^{\neq}$ на основу Ајрингове (Eyring) једначине (1.6.5, односно 1.6.8), Табела 3.1.

Табела 3.1. Константе брзине другог реда и активациони параметри супституционих реакција комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са S-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys у 0,1 M $NaClO_4$, 10 mM NaCl и pH ≈ 5.

$[(TL^{tBu})PtCl]^+$						
лиганди	λ [nm]	T [K]	$10^2 k_2$ [$M^{-1}s^{-1}$]	$k_{-2}[Cl^-]$ [$M^{-1}s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [$kJmol^{-1}$]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
S-Met-L-Cys	266	288 298 308	3,2 ± 0,1 8,7 ± 0,3 12,5 ± 0,1	$(3,4 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$ $(4,1 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$ $(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^{-2}$	9 ± 1	-263 ± 3
L-Met	263	298	5,9 ± 0,1	$(5,0 \pm 0,1) \cdot 10^{-2}$	-	-
GSH	267	298	3,8 ± 0,4	$(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-2}$	-	-
L-Cys	260	288 298 308	1,7 ± 0,1 2,0 ± 0,1 2,3 ± 0,3	$(8,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$ $(2,2 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$ $(4,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-2}$	50 ± 10	-120 ± 40
$[Pt(tpdm)Cl]^+$						
лиганди	λ [nm]	T [K]	$10^2 k_2$ [$M^{-1}s^{-1}$]	$k_{-2}[Cl^-]$ [$M^{-1}s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [$kJmol^{-1}$]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
S-Met-L-Cys	264	298	12,1 ± 0,2	$(8,4 \pm 0,1) \cdot 10^{-2}$	-	-
L-Met[a]		298	6,21 ± 0,05	$(9,9 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	31 ± 3	-164 ± 9
GSH[a]		298	1,79 ± 0,01	$(5,2 \pm 0,8) \cdot 10^{-3}$	48 ± 4	-120 ± 10
L-Cys	245	288 298 308	2,9 ± 0,1 4,5 ± 0,3 7,0 ± 0,3	$(1,6 \pm 0,8) \cdot 10^{-2}$ $(2,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-2}$ $(2,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-2}$	30 ± 1	-185 ± 3

[a][49]

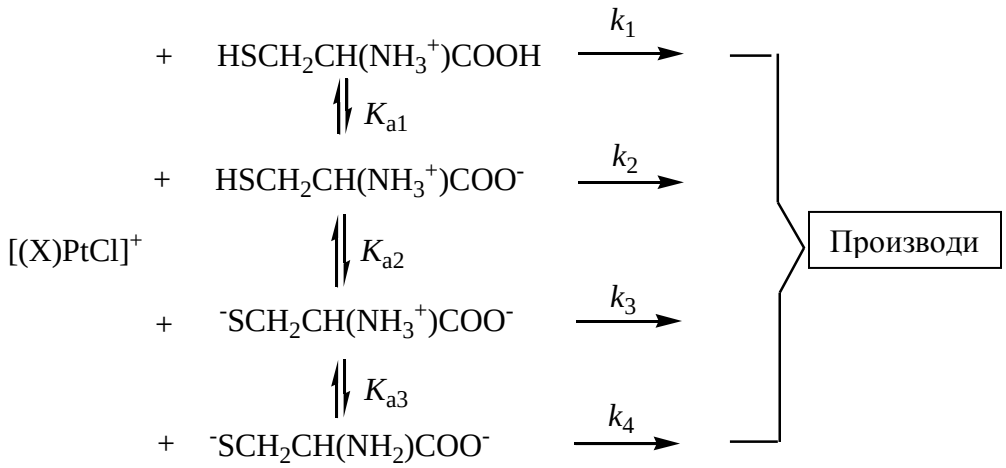
Кинетички подаци јасно показују да су нуклеофили који садрже сумпор веома добри улазни лиганди у супституционим реакцијама комплекса Pt(II).

Ред реактивности испитиваних лиганада је: *S*-Met-L-Cys > L-Met > GSH > L-Cys. Овај ред реактивности у складу је са њиховом структуром и електронским својствима. Из добијеног реда реактивности може да се закључи да су тиоетри (*S*-Met-L-Cys и L-Met) реактивнији од тиола (GSH и L-Cys). Разлика у нуклеофилности одабраних тиоетара и тиола објашњава се позитивним индуктивним ефектом CH_3- групе на атому сумпора у молекулу тиоетра. Овакво објашњење у складу је са литературним подацима.[47,49,55,106, 107]

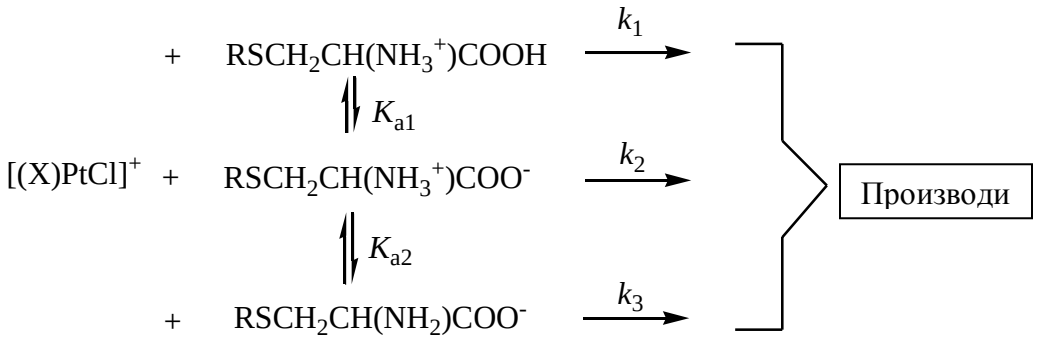
Боља реактивност нуклеофила *S*-Met-L-Cys у поређењу са L-Met могла би да се припише стерном ефекту. Наиме, L-Met поседује једну $-CH_2-$ групу више од *S*-Met-L-Cys. С обзиром на то да се изучаване супституционе реакције одигравају по асоцијативном механизму, очекивано је да брзина реакције јако зависи од карактеристика S-донорских улазних лиганада.

Упоређивањем вредности константи брзина супституционих реакција испитиваних комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са нуклеофилима L-Cys и GSH може да се закључи да је GSH реактивнији у односу на L-Cys, Табела 3.1. GSH је трипептид са нормалном пептидном везом између L-Cys и Gly и неуобичајеном пептидном везом између амино групе L-Cys и карбоксилне групе бочног ланца L-Glu (глутаминске киселине). Пошто је молекул L-Cys у центру трипептида, очекиван је спорији процес супституције у односу на слободан L-Cys. Међутим, експериментално добијене вредности показале су да је GSH реактивнији. Објашњење се налази у одговарајућој геометријској структури молекула GSH, у којој постоји изложеност атома сумпора из тиолне групе, што га чини погодним за супституцију.[55,56,64,108] При задатим експерименталним условима, сумпор из тиолне групе GSH је у потпуности депротонован, што додатно повећава његову нуклеофилност, а тиме и реактивност. Већа реактивност GSH у односу на друге тиоле приказана је и у литератури.[53,56,64,108]

Испитивани лиганди *S*-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys подлежу депротоновању (*S*-Met-L-Cys: pK_{a1}= 2,0, pK_{a2} = 8,74; L-Met: pK_{a1} = 2,28, pK_{a2} = 9,21; GSH: pK_{a1} = 2,05, pK_{a2} = 3,40, pK_{a3} = 8,72; L-Cys: pK_{a1} = 1,9, pK_{a2} = 8,10, pK_{a3} = 10,1), па сходно томе, супституционе реакције у којима учествују ови лиганди представљају сложене процесе, као што је приказано на Шемама 3.1. и 3.2.



Шема 3.1. *Супституционе реакције испитиваних мононуклеарних стерно заштићених комплекса са тиолима;* X=TL$^{t\text{Bu}}$, tpdm.



Шема 3.2. *Супституционе реакције испитиваних мононуклеарних стерно заштићених комплекса са тиоетрима;* X=TL$^{t\text{Bu}}$, tpdm.

На основу Шема 3.1. и 3.2. може да се закључи да супституционе реакције зависе од pH вредности. У ранијим истраживањима[109] утврђено је да промене pH у распону од 1 до 6 мало утичу на константу брзине реакције. Све супституционе реакције изучаване су на pH ≈ 5; дакле, у раствору је депротонована само –COOH група испитиваних лиганада

што значајно не утиче на брзину реакције, јер су за стварање комплекса одговорне тиолна и тиоетарска група. У случају GSH, на радној pH вредности, –COOH и −SH група (pK_{a1} = 2,05, pK_{a2} = 3,40) су депротоноване. Дакле, реакције са константама брзине k_2, k_3 и k_4 доприносе мање од 5% у односу на укупну кинетику реакције, што је у границама грешке кинетичких мерења и одређивања активационих параметара. Такође, успостављање интрамолекулских водоничних веза, које укључују протон из тиолне групе, додатно стабилизују прелазно стање у процесу супституције и, самим тим, убрзавају процес.[56,64,110]

Из Табеле 3.1. може да се види да су вредности константе брзине реакције другог реда, k_2, веће код супституционих реакција комплекса $[Pt(tpdm)Cl]^+$ у односу на вредности константе за комплекс $[(TL^{tBu})PtCl]^+$. Мања реактивност комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ последица је стерних сметњи узрокованих присуством две волуминозне *terc*-бутил групе, што отежава прилаз улазном лиганду. Осим тога, овај комплекс садржи волуминозну имидазолин-2-имино групу са израженим електрон-донорским способностима. Дакле, мала реактивност комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ може да се припише његовим структурним и електронским особинама.[111]

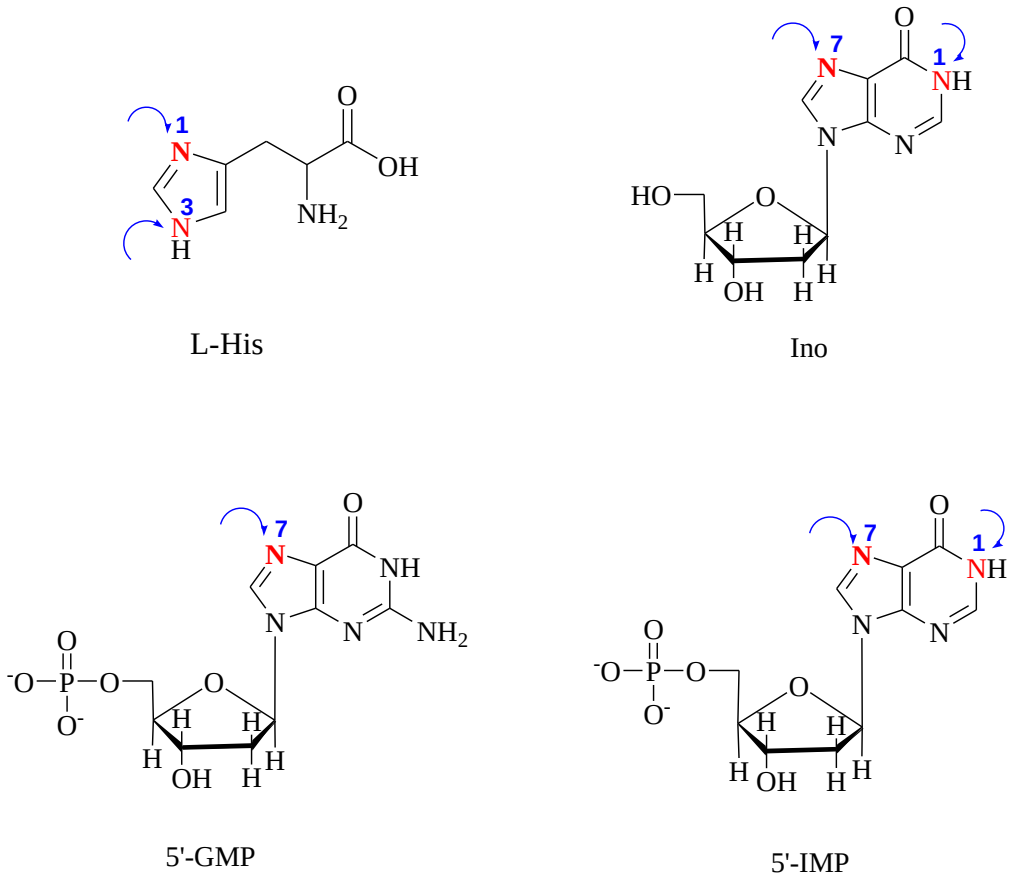
Испитивани комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ показује исти ред реактивности као комплекс $[Pt(dien)Cl]^+$ (константа брзине реакције другог реда за реакцију између комплекса $[Pt(dien)Cl]^+$ и L-Met на 298 K у 0,1 M $NaClO_4$ са 10 mM NaCl је $6{,}22\cdot10^{-2}$ $M^{-1}s^{-1}$[40]), док је мање реактиван у односу на структурно сличан комплекс $[Pt(terpy)Cl]^+$.

Комплекс $[Pt(terpy)Cl]^+$ има планарну структуру и изражену π-електронску комуникацију између пиридина и јона метала. Комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ има, такође, три пиридинске јединице у инертном лиганду раздвојене $-CH_2-$ групама. Због тетраедарске структуре око везивних метиленских група, пиридинске јединице су приморане да буду ван равни у којој се налази јон метала. Оваква геометрија инертног лиганда у комплексу $[Pt(tpdm)Cl]^+$ значајно утиче на смањење π-повратне донације између пиридинских прстенова и јона метала, што узрокује значајно смањење реактивности овог комплекса у односу на $[Pt(terpy)Cl]^+$. Кристална структура комплекса [Pt(tpdm)Cl]Cl јасно показује одступање од планарне структуре.[49]

DFT израчунавања су, такође, показала разлике у реду реактивности **tpdm** и **terpy** комплекса.[49]

3.2. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ комплекса са L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP

Структурне формуле испитиваних комплекса приказане су на Слици 3.1., а испитиваних лиганада на Слици 3.5.



Слика 3.5. *Структурне формуле испитиваних лиганада.*

Изучаване супституционе реакције комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са биолошки важним N-донорским лигандима: L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP могу да се прикажу једначином (3.1.3).

$$[(X)PtCl]^{+} + Nu \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} [(X)PtNu]^{2+} + Cl^{-} \qquad (3.1.3)$$

X= TL^{tBu}, tpdm

Nu= L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP

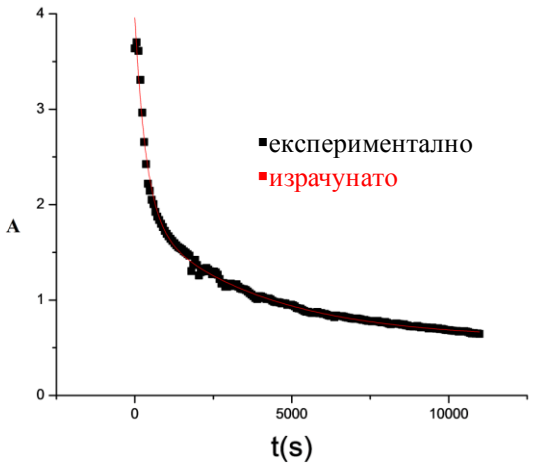
У поглављу **3.1.** описан је начин одвијања супституционих реакција квадратно-планарних комплекса.

Зависност константе брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd}, од концентрације нуклеофила, описана је једначином (3.1.4).

$$k_{obsd} = k_{-2}[Cl^{-}] + k_2[Nu] \qquad (3.1.4)$$

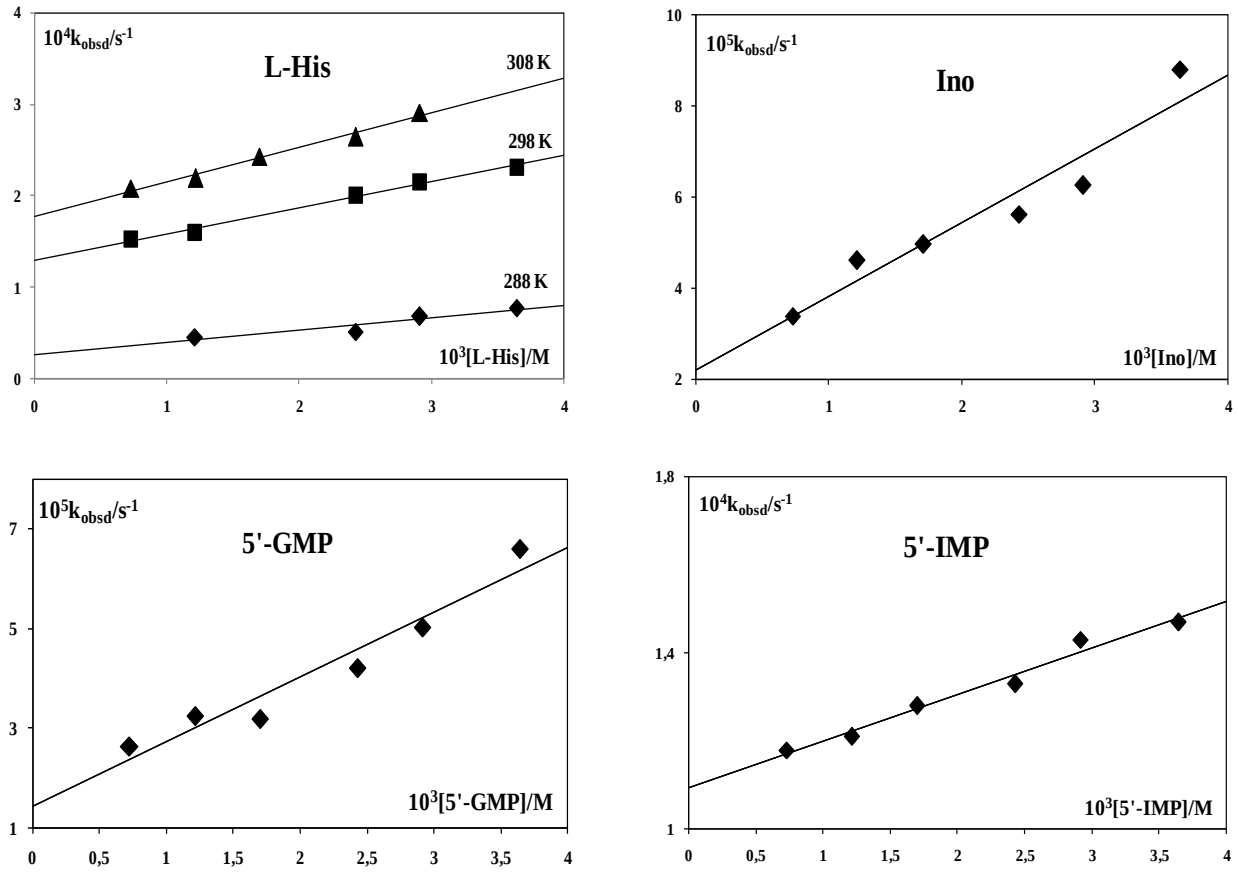
Пошто је посматрана зависност линеарна функција, из нагиба добијене праве одређује се константа k_2, која карактерише пут директне нуклеофилне супституције, док се из одсечка одређује константа k_{-2}, која карактерише повратну реакцију.

Добијена зависност апсорбанце од времена, на одговарајућој таласној дужини, посматрана је као експоненцијална функција другог реда и приказана на Слици 3.6.

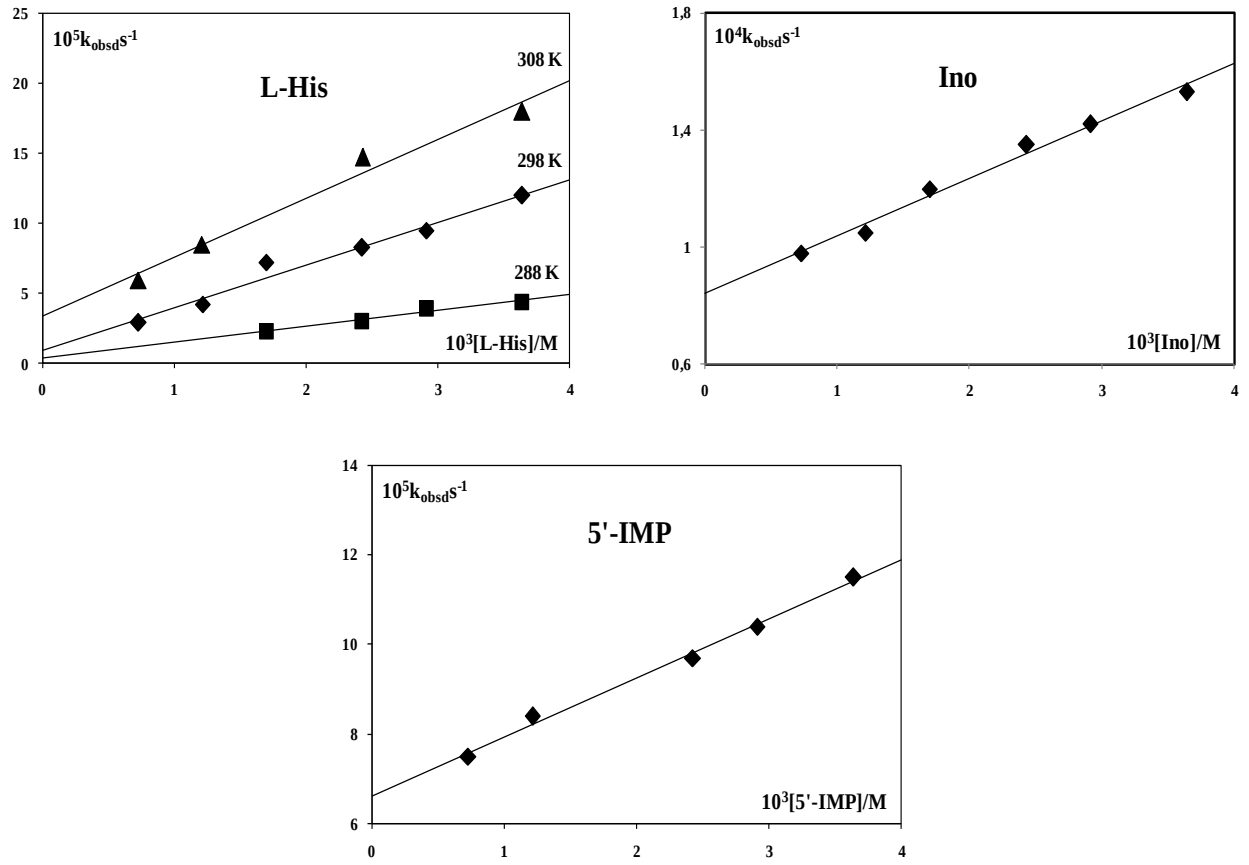


Слика 3.6. *График зависности апсорбанце од времена супституционе реакције комплекса* $[Pt(tpdm)Cl]^{+}$ *са L-His (3,64 x* 10^{-3} *M) на 325 nm, T = 298 K у 0,1 M* $NaClO_4$ *и 10 mM NaCl.*

Експериментално добијени резултати зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила приказани су на Сликама 3.7. и 3.8.



Слика 3.7. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, k_{obsd}, у функцији од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ са L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP у 0,1 M $NaClO_4$ и 10 mM NaCl.*



Слика 3.8. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, k_{obsd}, у функцији од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са L-His, Ino и 5'-IMP у 0,1 M $NaClO_4$ и 10 mM NaCl.*

Вредности добијених константи брзине, k_2 и k_{-2}, дате су у Табели 3.2. Праћењем супституционих реакција на три различите температуре одређени су активациони параметри $\Delta H_2^{\neq}$ и $\Delta S_2^{\neq}$ на основу Ајрингове (Eyring) једначине (1.6.5, односно 1.6.8), Табела 3.2.

На основу података из Табеле 3.2. може да се види да су N-донорски лиганди: L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP добри улазни лиганди у испитиваним супституционим процесима. Упоређивањем вредности константи брзине другог реда, k_2, може да се закључи да је ред реактивности испитиваних лиганада: L-His > Ino > 5'-GMP > 5'-IMP.

Табела 3.2. Константе брзине другог реда и активациони параметри супституционих реакција комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$ са L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP у 0,1 M $NaClO_4$ и 10 mM NaCl.

$[(TL^{tBu})PtCl]^+$						
лиганди	λ [nm]	T [K]	10^2k_2 [$M^{-1}s^{-1}$]	$10^3k_{-2}[Cl^-]$ [$M^{-1}s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [$kJmol^{-1}$]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
L-His	260	288 298 308	1,30 ± 0,04 2,91 ± 0,03 3,82 ± 0,03	2,6 ± 0,1 12,9 ± 0,1 17,7 ± 0,5	37 ± 1	-166 ± 4
Ino	315	298	1,6 ± 0,2	2,3 ± 0,2	-	-
5'-GMP	350	299	1,38 ± 0,05	1,4 ± 0,1	-	-
5'-IMP	320	298	1,06 ± 0,01	10,9 ± 0,2	-	-
$[Pt(tpdm)Cl]^+$						
лиганди	λ [nm]	T [K]	10^2k_2 [$M^{-1}s^{-1}$]	$10^3k_{-2}[Cl^-]$ [$M^{-1}s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [$kJmol^{-1}$]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
L-His	325	288 298 308	1,1 ± 0,1 3,0 ± 0,1 4,2 ± 0,2	0,42 ± 0,2 1 ± 0,2 3,4 ± 0,1	46 ± 1	-135 ± 4
Ino	312	298	2,01 ± 0,01	8,42 ± 0,03	-	-
5'-GMP[a]		298	1,63 ± 0,04	-	-	-
5'-IMP	315	298	1,32 ± 0,06	6,6 ± 0,1	-	-

[a][49]

Кинетички подаци из Табеле 3.2. такође јасно показују да је L-His најреактивнији N-донорски нуклеофил. Разлике у реактивности кориштених нуклеофила последица су електронских и стерних ефеката. Стерно најмањи од испитиваних нуклеофила је L-His, па сходно томе најбрже и реагује.

Хетероциклични имидазол у L-His је лиганд са два конкурентна донорска атома N1 и N3. У биолошким системима постоје бројни металопротеини у којима су јони метала координовани за имидазол из L-хистидина преко атома N1 и N3.[112,113]

Инозин, 5'- GMP и 5'- IMP за јон метала најчешће се координују преко атома N7 и N1, с тим што је у неутралним и слабо киселим срединама потврђено координовање преко атома N7.[62,114-116]

Кинетички подаци из Табеле 3.2. показују да је у реакцијама са испитиваним комплексима Ino реактивнији од 5'-GMP и 5'-IMP. Већа реактивност Ino последица је делимичне преасоцијације комплекса са фосфатним групама из 5'-GMP и 5'-IMP, чиме се успорава процес супституције. Овај тип интеракције је електростатички и доводи до смањењења ефективне концентрације фосфата. Како Ino у својој структури нема фосфатну групу, описани облик интеракције се не дешава.[64]

Ред реактивности кориштених лиганада у сагласности је са литературним подацима за супституционе реакције истих нуклеофила са комплексима $[Pt(SMC)(H_2O)_2]^+$,[117] $[Pt(Met)Cl_2]^+$[118] и $[Pt(pic)(H_2O)_2]^{2+}$.[119] Међутим, у реакцијама комплекса $[Pt(terpy)(H_2O)]^{2+}$ са овим нуклеофилима, највећу реактивност показује 5'-GMP. Реакције комплекса $[Pt(terpy)(H_2O)]^{2+}$ су извођене на pH = 2,5, а при тој pH вредности фосфатни део нуклеотида у потпуности је протонован.

Комплекси $[Pt(tpdm)Cl]^+$ и $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ имају исти ред реактивности као комплекс $[Pt(dien)Cl]^+$, Табела 3.3.

Табела 3.3. Константе брзине другог реда супституционих реакција серије различитих комплекса $[Pt(L)Cl]^+$ са 5'-GMP на 298 K.

$[Pt(L)Cl]^+$		
L	k_2 $[M^{-1}s^{-1}]$	Реф.
terpy	$(1,98 \pm 0,08)\cdot10^{2}$	[120]
bpma	$(5,48 \pm 0,06)\cdot10^{-2}$	[47]
dien	$(1,91 \pm 0,06)\cdot10^{-2}$	[40]
tpdm	$(1,63 \pm 0,04)\cdot10^{-2}$	[49]
TL^{tBu}	$(1,38 \pm 0,05)\cdot10^{-2}$	овај рад

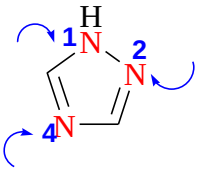
Међутим, комплекс $[Pt(bpma)Cl]^+$ реагује са 5'-GMP много брже него испитивани комплекси. Разлог за већу реактивност комплекса $[PtCl(bpma)]^+$, а посебно комплекса $[Pt(terpy)Cl]^+$, у поређењу са осталим комплексима, јесте присуство пиридинских прстенова у координационој сфери ових комплекса. Ово је детаљно изучавано за серију монофункционалних комплекса Pt(II) са тридентатним лигандима у којима је број и положај амино и пиридинских група системски варирао.[41] Присуство π-акцепторских лиганада повећава електрофилност јона метала и тиме олакшава нуклеофилни напад.[41,42]

Мања реактивност комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ последица је стерних сметњи услед присуства две волуминозне *terc*-бутил групе. Поред тога, реактивност комплекса умањује и имидазолин-2-имино група са јаким електрон-донорским капацитетом. Мања реактивност комплекса $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ **у** односу на комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ описана је у поглављу **3.1.**

3.3. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних комплекса Pt(II), диаква Pt1a, Pt2a и Pt3a и дихлоридо Pt1, Pt2 и Pt3, са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP

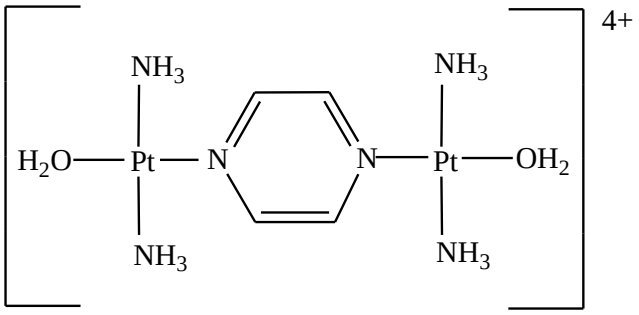
Супституционе реакције испитиваних динуклеарних комплекса Pt(II) са биолошки важним N-донорским лигандима: 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP изучаване су Uv-Vis спектрофотометријски, праћењем промене апсорбанце у функцији времена на одговарајућим таласним дужинама. Све реакције су изучаване као реакције *pseudo*-првог реда на температури од 310 K, с тим што су реакције комплекса **Pt1a** и **Pt1** са 1,2,4-триазолом проучаване и на температурама од 288 K и 298 K.

Структурне формуле испитиваних лиганада приказане су на Сликама 3.5. и 3.9., а структурне формуле испитиваних комплекса на Сликама 3.10. и 3.11.

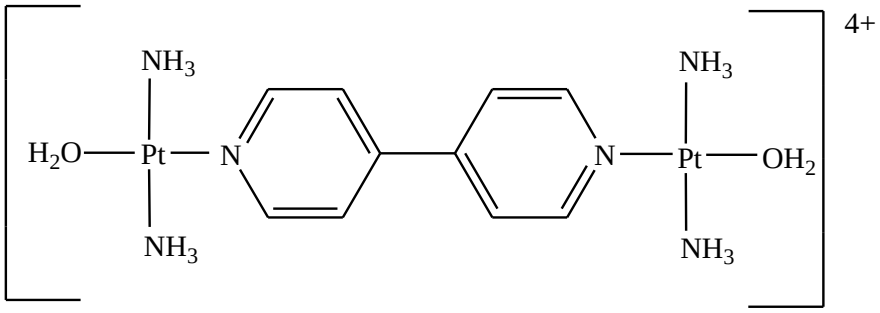


1,2,4-триазол

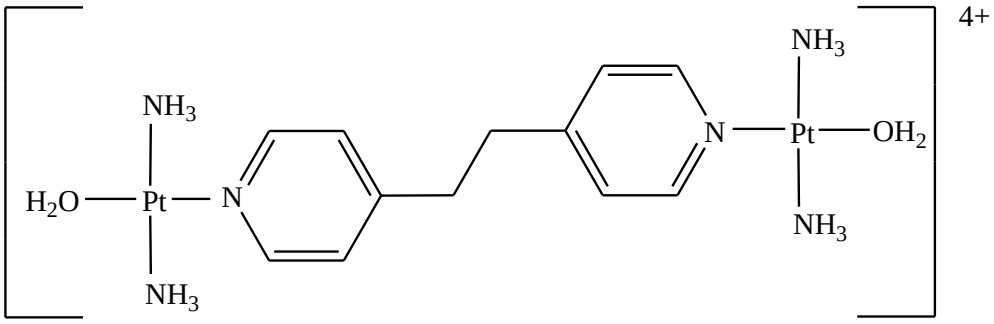
Слика 3.9. *Структурна формула испитиваног лиганда 1,2,4-триазола.*



[{*trans*-PtNH_3)$_2$(H_2O)}$_2$(μ-пиразин)]$^{4+}$ (**Pt1a**)

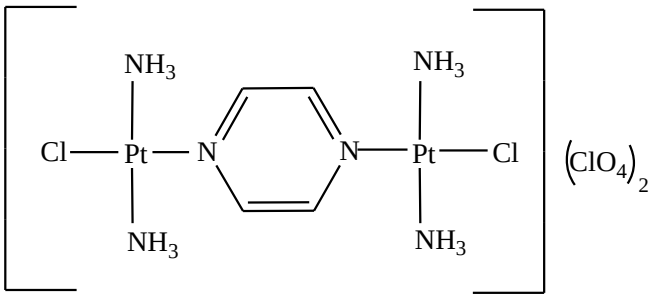


[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(H_2O)}$_2$(μ-4,4'-бипиридин)]$^{4+}$**(Pt2a)**

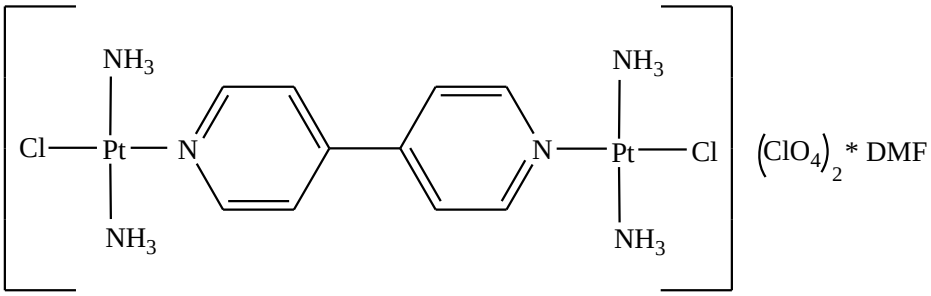


[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(H_2O)}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)]$^{4+}$ (**Pt3a**)

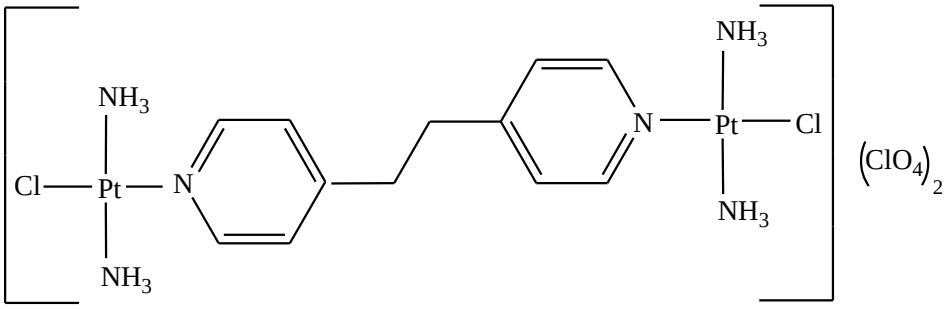
Слика 3.10. *Структурне формуле испитиваних комплекса.*



[{*trans*-PtCl(NH_3)$_2$}$_2$(μ-пиразин)](ClO_4)$_2$ (**Pt1**)



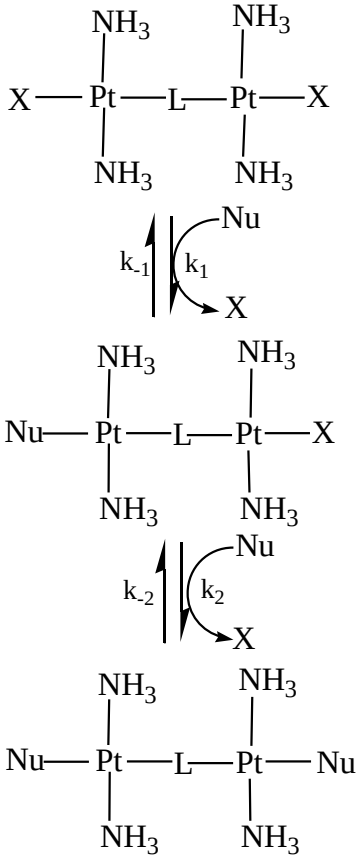
[{*trans*-PtCl(NH_3)$_2$}$_2$(μ-4,4'-бипиридин)](ClO_4)$_2$ · DMF (**Pt2**)



[{*trans*-PtCl(NH_3)$_2$}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-пиридил)етан)](ClO_4)$_2$ (**Pt3**)

Слика 3.11. *Структурне формуле испитиваних комплекса.*

Супституционе реакције ових комплекса могу да се прикажу Шемом 3.3.



X = H_2O, Cl^-

Nu = 1,2,4-триазол, L-His, 5'-IMP

L = Пиразин; 4,4'-бипиридил; 1,2-*bis(*4-пиридил)етан

Шема 3.3. *Супституционе реакције испитиваних динуклеарних комплекса Pt(II) са N-донорским нуклеофилима.*

Супституционе реакције испитиваних динуклеарних комплекса Pt(II) одвијају се у два корака који зависе од концентрације нуклеофила, а окарактерисане су константама брзине реакције другог реда, k_1 и k_2, Шема 3.3.

3.3.1. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса Pt1a, Pt2a и Pt3a са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP

Реакције диаква динуклеарних комплекса Pt(II), **Pt1a**, **Pt2a** и **Pt3a**, изучаване су на pH = 2,5 у воденом раствору 0,01 M $NaClO_4$. При овој pH вредности испитивани комплекси постоје у диаква облику.[121]

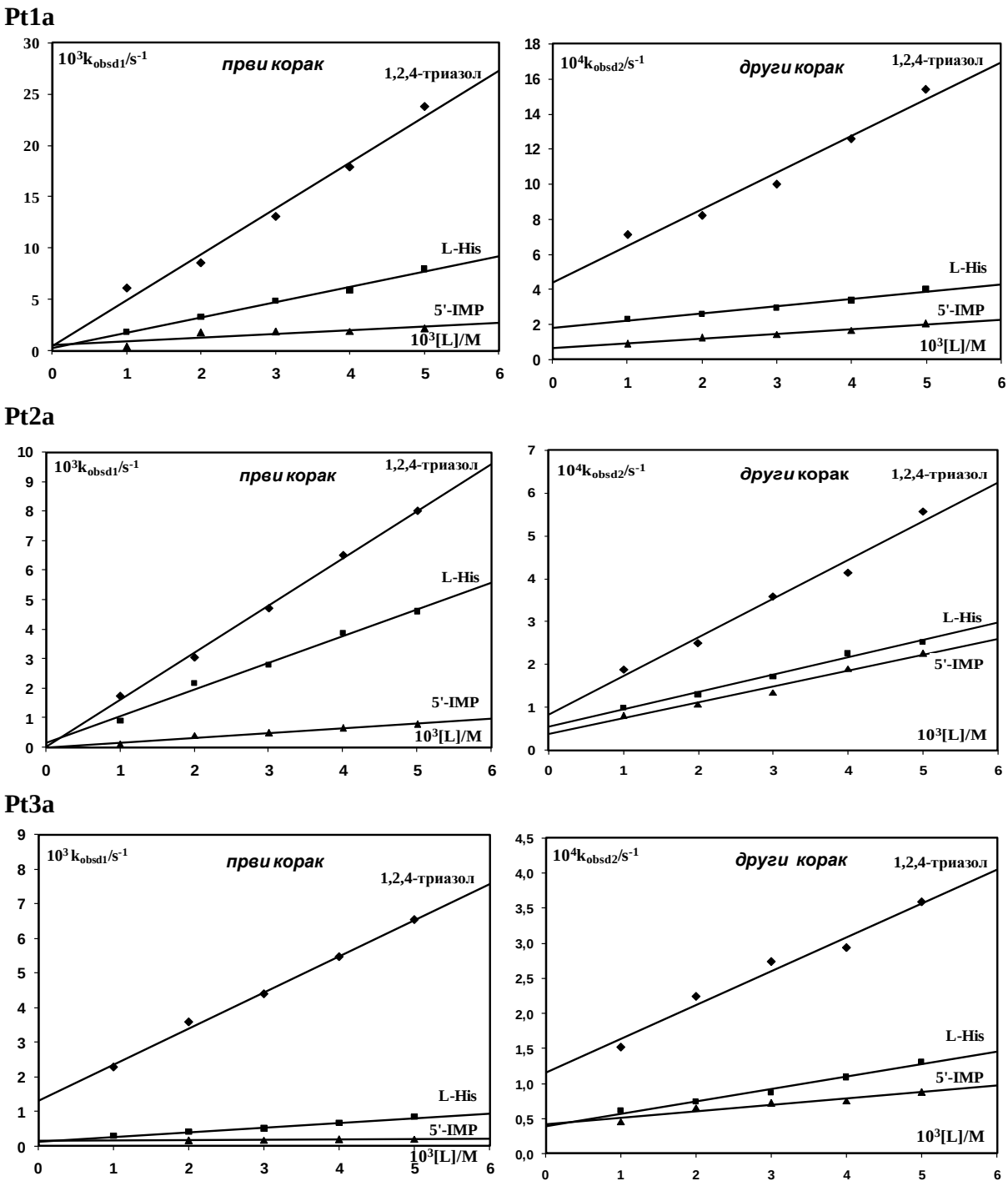
Добијене константе брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd1} и k_{obsd2}, у функцији од укупне концентрације нуклеофила, описане су једначинама (3.3.1.1) и (3.3.1.2). Из нагиба добијених линеарних зависности одређују се константе k_1 и k_2, које карактеришу пут директне нуклеофилне супституције молекула воде нуклеофилом, док се из одсечка одређују константе k_{-1} и k_{-2}, које карактеришу реакцију анације (Шема 3.3).

$$k_{obsd1} = k_1[Nu] + k_{-1} \qquad (3.3.1.1)$$

$$k_{obsd2} = k_2[Nu] + k_{-2} \qquad (3.3.1.2)$$

Експериментално добијени резултати зависности k_{obsd1} и k_{obsd2} од концентрације нуклеофила приказани су на Слици 3.12.

Израчунате вредности за константе брзине другог реда, k_1 и k_2, супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса Pt(II) са N-донорским лигандима: 1,2,4-триазолом, L- His и 5'-IMP, дате су у Табели 3.4.



Слика 3.12. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда у функцији од концентрације нуклеофила и температуре за први, k_{obsd1}, и за други, k_{obsd2}, корак супституционих реакција диаква комплекса* ***Pt1a***, ***Pt2a*** *и* ***Pt3a*** *са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP на pH = 2,5 у 0,01 M $NaClO_4$ на 310 K.*

Табела 3.4. Константе брзине другог реда и активациони параметри супституционих реакција диаква комплекса **Pt1a**, **Pt2a** и **Pt3a** са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP на pH = 2,5 у 0,01 M $NaClO_4$ на 310 K.

		комплекс	**Pt1a**		
први корак	λ [nm]	$10^2\,k_1$ [$M^{-1}\,s^{-1}$]	$10^2 k_{-1}$ [s^{-1}]	$\Delta H_1^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_1^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole	315	450 ± 40	0,047	60 ± 2	-39 ± 5
L-His	327	149 ± 8	0,026	-	-
5'-IMP	327	25 ± 2	0,009	-	-
други корак		$10^2\,k_2$ [$M^{-1}\,s^{-1}$]	$10^2 k_{-2}$ [s^{-1}]	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole		20 ± 2	0,043	82 ± 2	-55 ± 6
L-His		4,2 ± 0,4	0,018	-	-
5'-IMP		2,7 ± 0,1	0,006	-	-
		комплекс	**Pt2a**		
први корак	λ [nm]	$10^2\,k_1$ [$M^{-1}\,s^{-1}$]	$10^2 k_{-1}$ [s^{-1}]	$\Delta H_1^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_1^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole	325	160 ± 5	0,001	-	-
L-His	329	72 ± 7	0,074	-	-
5'-IMP	336	11,8 ± 0,8	0,017	-	-
други корак		$10^2\,k_2$ [$M^{-1}\,s^{-1}$]	$10^2 k_{-2}$ [s^{-1}]	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole		9,0 ± 0,8	0,008	-	-
L-His		4,0 ± 0,2	0,006	-	-
5'-IMP		3,7 ± 0,3	0,004	-	-
		комплекс	**Pt3a**		
први корак	λ [nm]	$10^2\,k_1$ [$M^{-1}\,s^{-1}$]	$10^2 k_{-1}$ [s^{-1}]	$\Delta H_1^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_1^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole	240	104 ± 4	0,132	-	-
L-His	263	13,6 ± 0,8	0,013	-	-
5'-IMP	351	1,1 ± 0,1	0,015	-	-
други корак		$10^2\,k_2$ [$M^{-1}\,s^{-1}$]	$10^2 k_{-2}$ [s^{-1}]	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole		4,8 ± 0,5	0,012	-	-
L-His		1,8 ± 0,1	0,004	-	-
5'-IMP		0,9 ± 0,1	0,004	-	-

Кинетички подаци из Табеле 3.4. показују да је за оба реакциона корака ред реактивности испитиваних диаква комплекса Pt(II): **Pt1a** > **Pt2a** > **Pt3a**, за све испитиване N-донорске нуклеофиле**.** Добијени резултати су у сагласности са ранијим публикацијама.[121] Као што може да се види, најреактивнији комплекс је **Pt1a**. Велика лабилност комплекса **Pt1a** може да се припише смањењу електронске густине на јону Pt(II), узроковане π-повратном донацијом мостног лиганда пиразина. Као последица овог деловања, Pt(II) јон у **Pt1a** комплексу постаје електрофилнији, што доводи до бржег везивања улазног нуклеофила. Комплекси **Pt2a** и **Pt3a** реагују спорије у односу на комплекс **Pt1a**, јер у њиховим структурама мостни лиганди узрокују мању π-повратну донацију и у мањој мери смањују електронску густину на јону Pt(II)**.**[121] У комплексу **Pt3a** два јона Pt(II) су највише удаљена, што доводи до смањене електронске комуникације између њих у поређењу са интеракцијама у комплексима **Pt1a** и **Pt2a** (Слика 3.10.).

Упоређивањем вредности константи брзине реакције другог реда, може да се закључи да је ред реактивности испитиваних лиганада: 1,2,4-триазол > L-His > 5'-IMP. Највећа реактивност 1,2,4-триазола може да се припише стерном ефекту. Наиме, 1,2,4-триазол је најмањи од свих испитиваних лиганада (Табела 3.4. и Слика 3.9.).

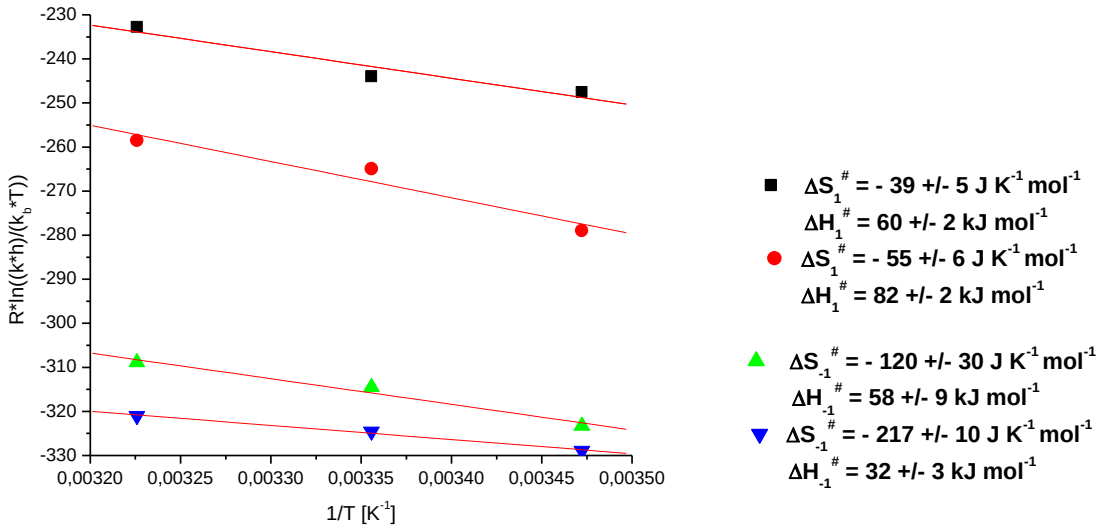
Познато је да 1,2,4-триазол може да се координује за комплекс Pt(II) преко атома N1, N2 и N4, [122] док хетероциклични систем L-His поседује два конкурентна донорска атома, N1 и N3. На pH = 2,5 лиганд 5'-IMP може да се координује за динуклеарни комплекс Pt(II) преко атома N7,[83,121] при чему настаје термодинамички стабилна веза Pt-N (нуклеобазе).[123]

Из Табеле 3.4. може да се види да су у свим испитиваним системима вредности константе брзине реакције k_1 веће од вредности константе брзине реакције k_2**.** Испитивани лиганди су јаки нуклеофили са добрим електрон-донорским капацитетом, због чега након координовања првог лиганда за један од Pt(II) јона, тај јон постаје богатији електронима. С обзиром на то да се преко мостног лиганда одвија електронска комуникација између јона метала, повећање електронске густине на једном јону узрокује повећање електронске густине и на другом јону, чинећи га мање електрофилним и мање реактивним. Последица ове интеракције су мање константе брзине реакције за други супституциони корак у поређењу са првим кораком.

Други реакциони корак супституционих реакција између 5'-IMP и комплекса **Pt1a** и **Pt2a** је око 8-9 пута спорији у односу на први реакциони корак. Међутим, комплекс **Pt3a** показује исти ред реактивности за оба супституциона корака. Наиме, два јона Pt(II) у комплексу **Pt3a** одвојена су мостним лигандом 1,2-*bis*(4-пиридил)етан, тако да је растојање између њих довољно велико да спречи међусобну електронску комуникацију. У овом комплексу оба јона Pt(II) показују исте термодинамичке и кинетичке особине и понашају се потпуно независно један од другог. Ове особине динуклеарних комплекса Pt(II) објашњене су у супституционим реакцијама са 5'-GMP.[83]

Проучавањем супституционих реакција комплекса **Pt1a** (на pH = 2,5) са 1,2,4-триазолом на три различите температуре, одређени су активациони параметри (Слика 3.13.). Активациони параметри $\Delta H_1^{\neq}$, $\Delta H_2^{\neq}$, $\Delta S_1^{\neq}$ и $\Delta S_2^{\neq}$ израчунати помоћу Ајрингове (Eyring) једначине (1.6.5, односно 1.6.8), дати су у Табели 3.4. Сви активациони параметри подржавају асоцијативни механизам за све супституционе реакције. Значајно негативна ентропија активирања указује на то да у изучаваним системима, у процесу активирања, јако доминира настајање везе. Вредност ентропије активирања за други супституциони корак већа је у односу на вредност за први корак.

На Слици 3.13. приказан је Ајрингов (Eyring) дијаграм за оба реакциона корака супституционе реакције диаква комплекса **Pta1** са 1,2,4-триазолом.



Слика 3.13. *Ајрингов (Eyring) дијаграм за оба реакциона корака супституционе реакције диаква комплекса* ***Pta1*** *са 1,2,4-триазолом у 0,01M $NaClO_4$ на pH = 2,5 и λ = 315 nm.*

3.3.2. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних дихлоридо комплекса Pt1, Pt2 и Pt3 са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP

Реакције дихлоридо динуклеарних комплекса Pt(II), **Pt1**, **Pt2** и **Pt3**, изучаване су на pH = 7,2 у 25 mM Hepes пуферу и присуству 20 mM NaCl.

Структурне формуле испитиваних комплекса приказане су на Слици 3.11. а структурне формуле испитиваних лиганада на Сликама 3.5. и 3.9.

У поглављу **3.1.** описан је начин одвијања супституционих реакција квадратно-планарних комплекса. У изучаваним реакцијама солволитички пут је сузбијен додавањем 20 mM NaCl,[121] па се реакције одвијају према једначинама као што је приказано на Шеми 3.3.

Добијене константе брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd1} и k_{obsd2}, у функцији од укупне концентрације нуклеофила, описане су једначинама (3.3.2.1) и (3.3.2.2)

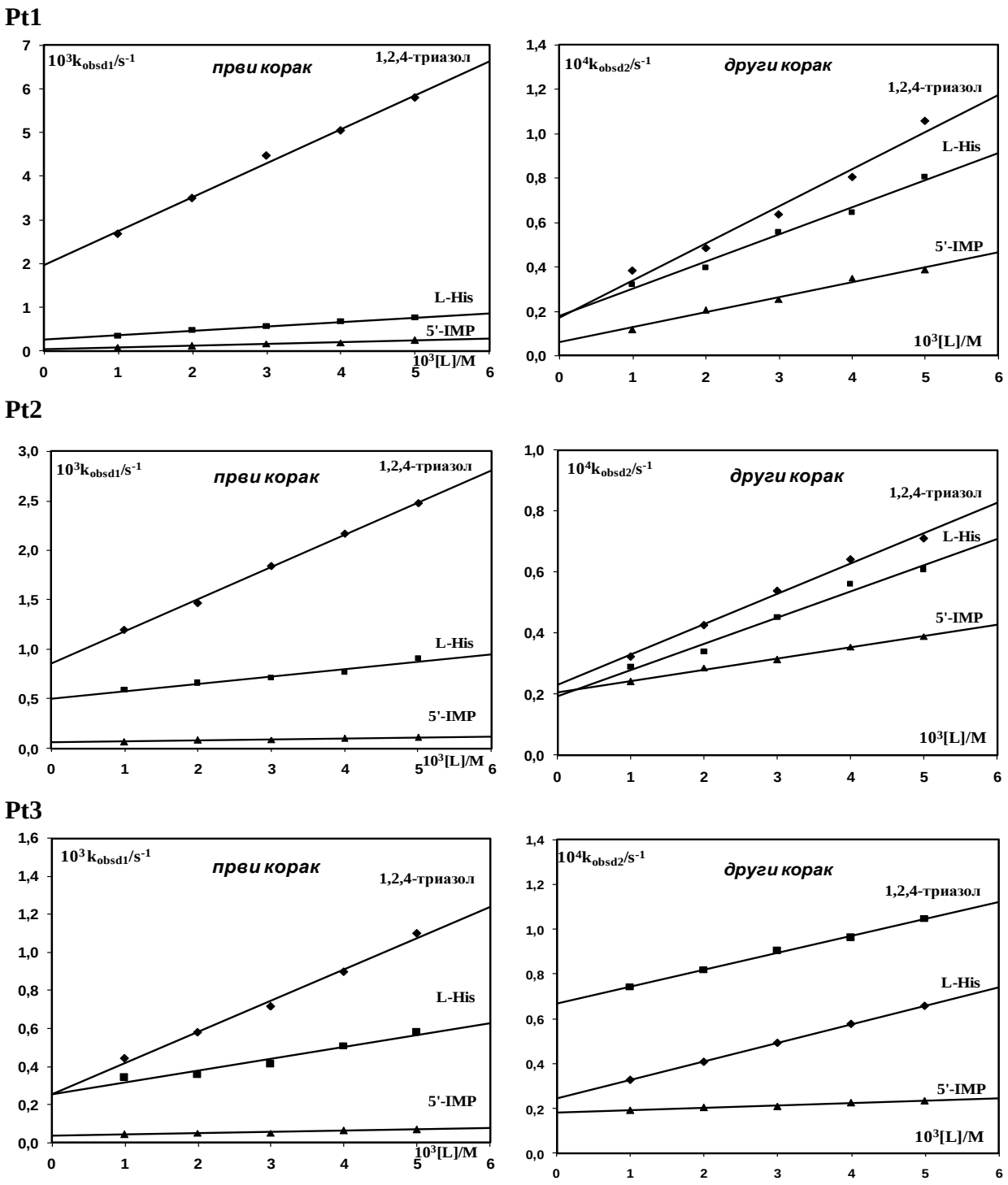
$$k_{obsd1} = k_{-1}[Cl^-] + k_1[Nu] \qquad (3.3.2.1)$$

$$k_{obsd2} = k_{-2}[Cl^-] + k_2[Nu] \qquad (3.3.2.2)$$

При условима реакције *pseudo*-првог реда, константе брзине реакције које карактеришу процес супституције могу да се одреде из линеарне зависности константи брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd1} и k_{obsd2}, од укупне концентрације нуклеофила, према једначинама (3.3.2.1) и (3.3.2.2). Из нагиба добијене праве одређују се константе, k_1 и k_2, које карактеришу пут директне нуклеофилне супституције, док одсечак представља $k_{-1}[Cl^-]$ и $k_{-2}[Cl^-]$.

Експериментално добијени резултати зависности k_{obsd1} и k_{obsd2} од концентрације нуклеофила приказани су на Слици 3.14.

Израчунате вредности за константе брзине реакције другог реда, k_1 и k_2, супституционих реакција динуклеарних дихлоридо комплекса Pt(II) са N-донорским лигандима: 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP дати су у Табели 3.5.



Слика 3.14. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда у функцији од концентрације нуклеофила и температуре за први, k_{obsd1}, и за други, k_{obsd2}, корак супституционих реакција дихлоридо комплекса* ***Pt1***, ***Pt2*** *и* ***Pt3*** *са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP на pH = 7,2 (25 mM Hepes пуфер), 20 mM NaCl на 310 K.*

Табела 3.5. Константе брзине другог реда и активациони параметри супституционих реакција дихлоридо комплекса **Pt1**, **Pt2** и **Pt3** са 1,2,4-триазолом, L- His и 5'-IMP на pH = 7,2 у 25 mM Hepes пуферу и 20 mM NaCl на 310 K.

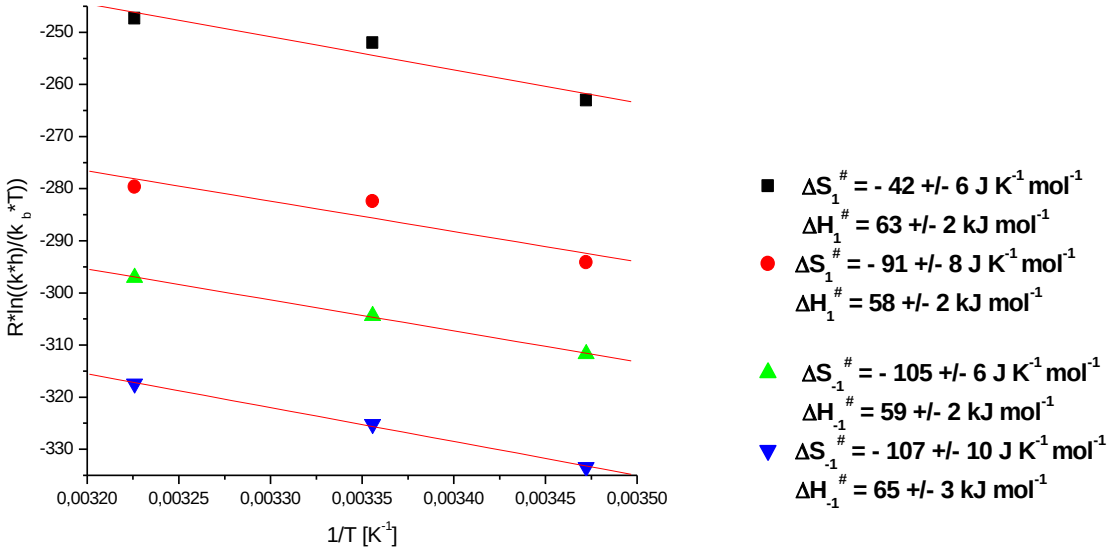
		комплекс	**Pt1**		
први корак	λ [nm]	$10^2 k_1$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$10^2 k_{-1}[Cl^-]$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$\Delta H_1^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_1^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole	311	78 ± 4	0,196	63 ± 2	-42 ± 6
L-His	328	10,2 ± 0,4	0,025	-	-
5'-IMP	328	4,2 ± 0,2	0,003	-	-
други корак		$10^2 k_2$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$10^2 k_{-2}[Cl^-]$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole		1,7 ± 0,2	0,002	58 ± 2	-91 ± 8
L-His		1,22 ± 0,01	0,002	-	-
5'-IMP		0,68 ± 0,05	0,001	-	-
		комплекс	**Pt2**		
први корак	λ [nm]	$10^2 k_1$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$10^2 k_{-1}[Cl^-]$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$\Delta H_1^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_1^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole	327	32,6 ± 0,8	0,085	-	-
L-His	338	7,5 ± 0,9	0,05	-	-
5'-IMP	330	1,0 ± 0,1	0,006	-	-
други корак		$10^2 k_2$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$10^2 k_{-2}[Cl^-]$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole		0,99 ± 0,05	0,002	-	-
L-His		0,86 ± 0,07	0,002	-	-
5'-IMP		0,37 ± 0,01	0,002	-	-
		комплекс	**Pt3**		
први корак	λ [nm]	$10^2 k_1$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$10^2 k_{-1}[Cl^-]$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$\Delta H_1^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_1^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole	246	16,4 ± 0,1	0,026	-	-
L-His	285	6,2 ± 0,8	0,025	-	-
5'-IMP	330	0,68 ± 0,08	0,003	-	-
други корак		$10^2 k_2$ [$M^{-1} s^{-1}$]	$10^2 k_{-2}$ [Cl^-] [$M^{-1} s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [$JK^{-1}mol^{-1}$]
1,2,4-triazole		0,83 ± 0,01	0,002	-	-
L-His		0,76 ± 0,02	0,007	-	-
5'-IMP		0,10 ± 0,01	0,002	-	-

Упоређивањем вредности константи брзине реакције другог реда за оба реакциона корака, k_1 и k_2, може да се види да је ред реактивности испитиваних лиганада: 1,2,4-триазол > L-His > 5'-IMP. Добијени ред реактивности исти је као и код аналогних диаква комплекса, што је објашњено у поглављу **3.3.1.** Упоређивањем добијених резултата за константе k_1 и k_2 из Табела 3.4. и 3.5., може да се закључи да су дихлоридо комплекси мање реактивни од својих диаква аналога, јер је добро познато да је веза Pt-Cl јача од везе Pt-O.[121]

Кинетички подаци из Табеле 3.5. показују да је за оба реакциона корака ред реактивности испитиваних дихлоридо комплекса: **Pt1** > **Pt2** > **Pt3** за све испитиване N-донорске нуклеофиле**.** Овакав ред реактивности објашњава се на начин као што је описано у поглављу **3.3.1**.[121]

Проучавањем супституционих реакција комплекса **Pt1** (pH = 7,2) са 1,2,4-триазолом на три различите температуре одређени су активациони параметри (Слика 3.15.). Активациони параметри $\Delta H_1^{\neq}$, $\Delta H_2^{\neq}$, $\Delta S_1^{\neq}$ и $\Delta S_2^{\neq}$ израчунати помоћу Ајрингове (Eyring) једначине (1.6.5, односно 1.6.8) дати су у Табели 3.5. Сви активациони параметри подржавају асоцијативни механизам за све супституционе реакције. Значајно негативна ентропија активирања указује на то да у изучаваним системима, у процесу активирања, јако доминира настајање везе. Вредност ентропије активирања за други супституциони корак је већа у односу на први корак.

На Слици 3.15. приказан је Ајрингов (Eyring) дијаграм за оба реакциона корака супституционе реакције дихлоридо комплекса **Pt1** са 1,2,4-триазолом.



Слика 3.15. *Ајрингов (Eyring) дијаграм за оба реакциона корака супституционе реакције дихлоридо комплекса* ***Pt1*** *са 1,2,4-триазолом у 25 mM Hepes пуферу, 20 mM NaCl на pH = 7,2 и* λ *= 311 nm.*

У Табели 3.6. приказане су константе брзине реакције другог реда за супституционе реакције испитиваних комплекса са TU и 5'-GMP.[121]

Табела 3.6. Константе брзине другог реда супституционих реакција дихлоридо комплекса **Pt1**, **Pt2** и **Pt3** са TU и 5'-GMP на pH = 7,2 у 25 mM Hepes пуферу и 20 mM NaCl на 310 K.

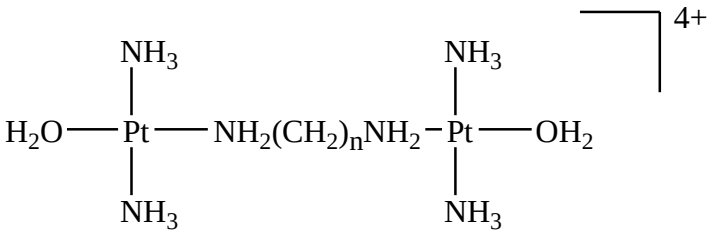
	TU	**5'-GMP**
комплекс	$10^2 k_1$ $[M^{-1} s^{-1}]$	
Pt1	156 ± 7	8,7 ± 0,6
Pt2	130 ± 7	6,1 ± 0,4
Pt3	80 ± 4	1,2 ± 0,1

Упоређивањем вредности за константе брзине у Табелама 3.5 и 3.6. може да се закључи да TU реагује 5 до 100 пута брже у односу на испитиване N-донорске нуклеофиле. Добијени резултати су очекивани, јер је познато да молекули који садрже сумпор имају велики афинитет према платини и могу да граде веома стабилне везе.[124]

Осим тога, интеракција комплекса Pt(II) са биомолекулима који садрже сумпор повезана је са негативним појавама, као што су нефротоксичност, гастроинтестинална токсичност, ототоксичност, кардиотоксичност и неуротоксичност. 5'-GMP реагује мало брже од 5'-IMP, што може да се припише стерним и електронским ефектима.

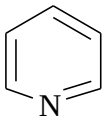
3.4. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса Pt4a, Pt6a и Pt8a са S-донорским лигандима L-Cys и GSH и N-донорским лигандима 5'-GMP, L-His и пиридином

Структурне формуле испитиваних комплекса приказане су на Слици 3.16. а структурне формуле испитиваних лиганада на Сликама 3.2., 3.5. и 3.17.



n = 4, **Pt4a**
n = 6, **Pt6a**
n = 8, **Pt8a**

Слика 3.16. *Структурне формуле испитиваних комплекса.*



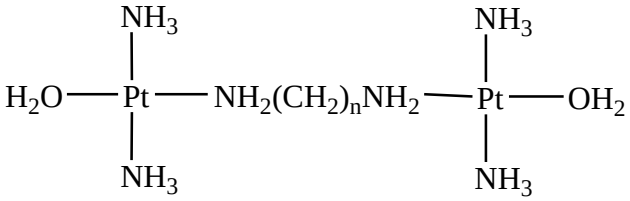
Py (пиридин)

Слика 3.17. *Структурна формула испитиваног лиганда пиридина.*

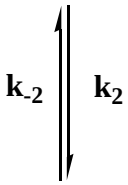
Одабрани нуклеофили су градивни елементи неких биомолекула и могу да се нађу на путу метаболизма комплекса Pt(II) до оболелог ткива.

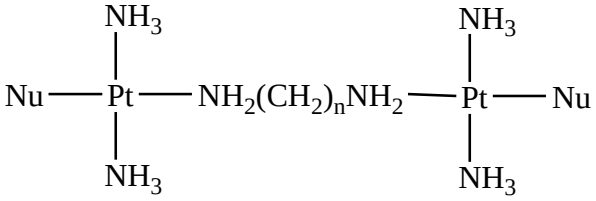
Генерално, познато је да када се комплекс Pt(II) унесе у ћелију, где је концентрација хлорида око 4 mM, долази до хидролизе комплекса и преласка у аква честицу.[124] У складу са тим за изучавање и разумевање процеса супституције одабрани су аква облици динуклеарних комплекса Pt(II).

Супституционе реакције испитиваних динуклеарних комплекса Pt(II) са S-донорским и N-донорским нуклеофилима одигравају се као што је приказано на Шеми 3.4.



+ 2 Nu





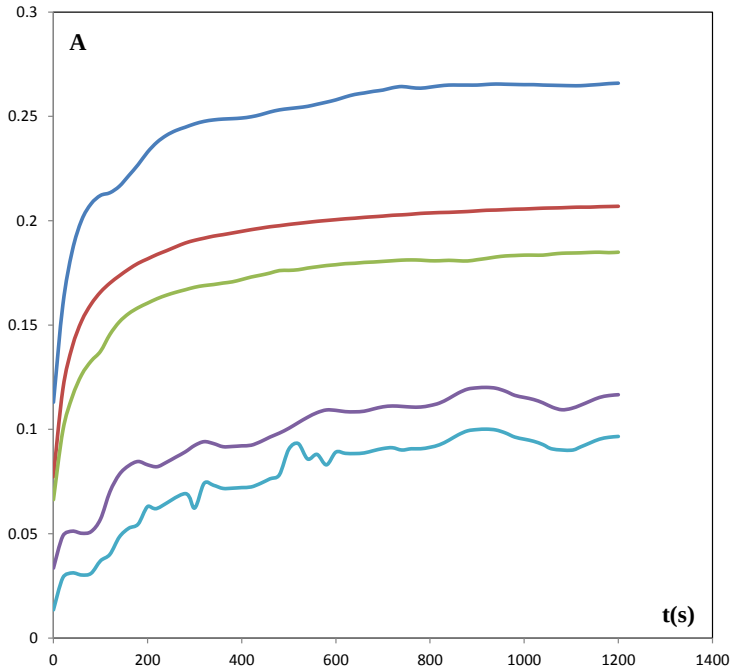
+ 2 H_2O

n = 4, 6, 8

Nu = L-Cys , GSH, 5'-GMP, L-His и Py

Шема 3.4. *Супституционе реакције испитиваних динуклеарних комплекса Pt(II) са S-донорским и N-донорским лигандима.*

Промене апсорбанце са временом на одговарајућој таласној дужини у реакцији комплекса **Pt4a** са различитим концентрацијама лиганда GSH, приказане су на Слици 3.18.

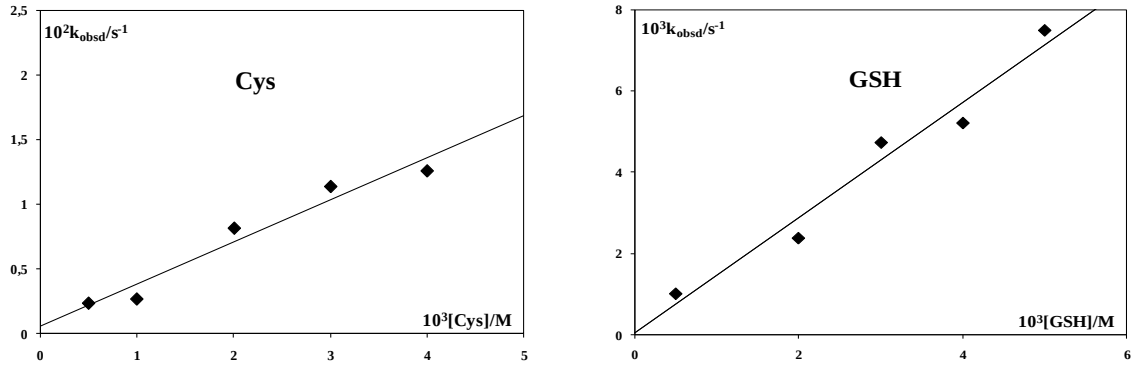


***Слика 3.18**. Промене апсорбанце у одређеном временском периоду за супституциону реакцију комплекса **Pt4a** са GSH (у различитом моларном односу од 1 : 10 до 1 : 50) на 360nm, T = 298 K, 0,1 M $NaClO_4$, pH = 2,5.*

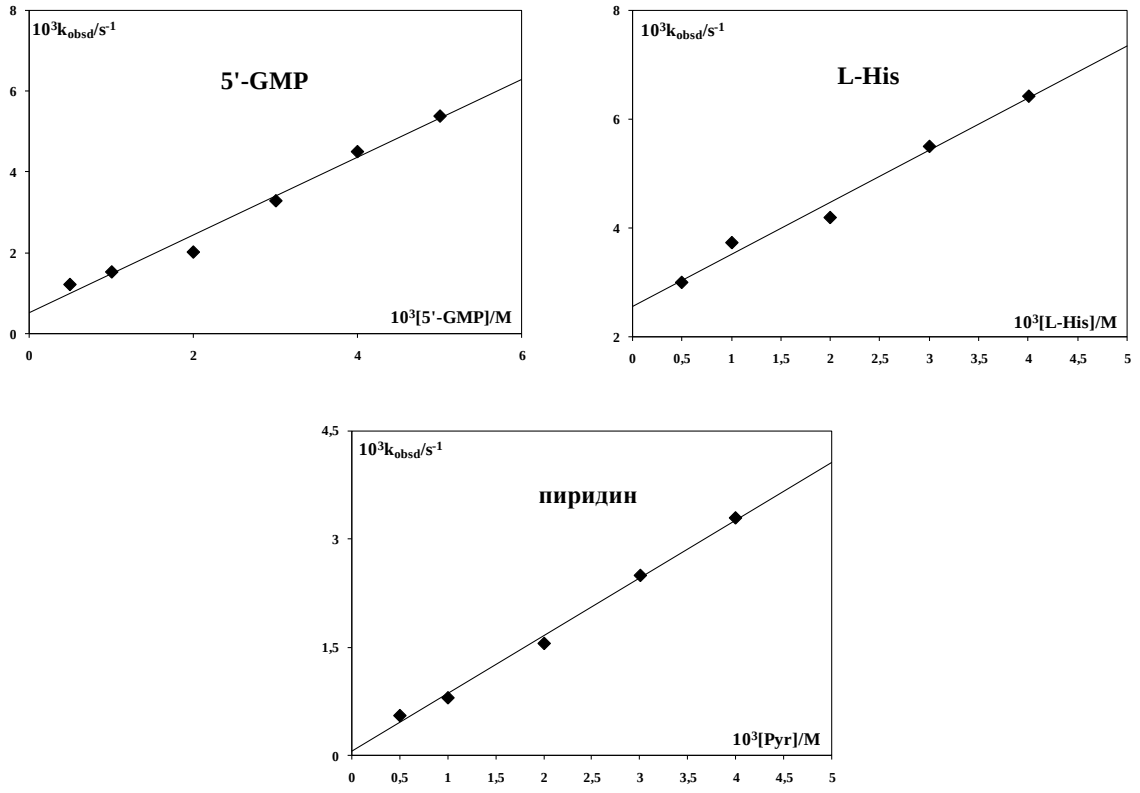
Зависност константе брзине реакције *pseudo*-првог реда, k_{obsd}, у функцији од укупне концентрације нуклеофила описана је једначином (3.4.1).

$$k_{obsd} = k_2[Nu] + k_{-2} \qquad (3.4.1.)$$

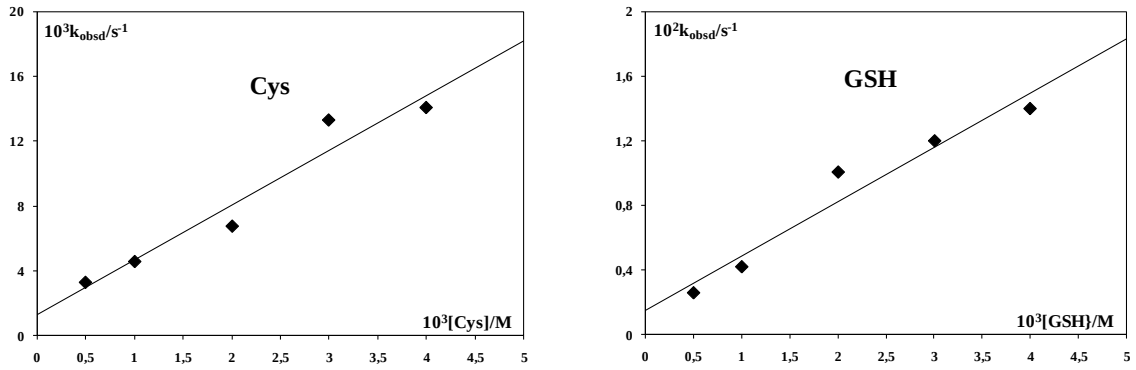
Експериментално добијени резултати зависности k_{obsd} од концентрације нуклеофила приказани су на Сликама од 3.19. до 3.24.



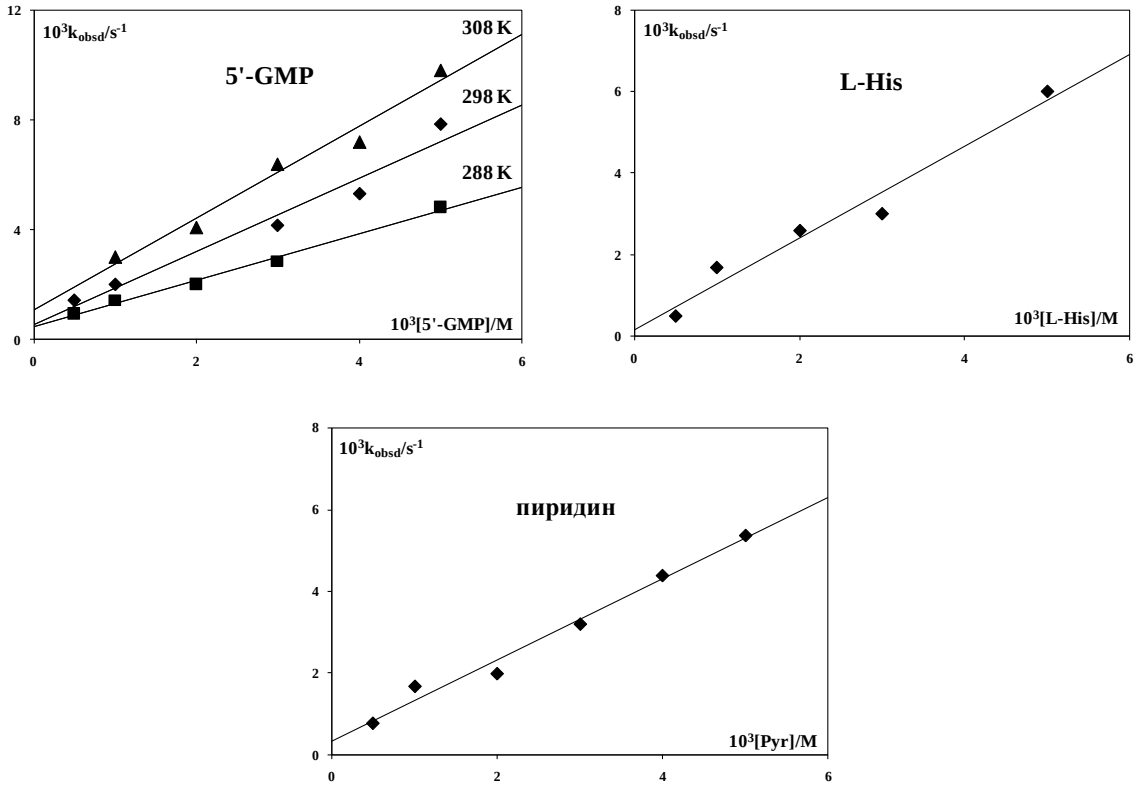
Слика. 3.19. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, $k_{obsd,}$ у зависности од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса* ***Pt4a*** *са Cys и GSH у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.*



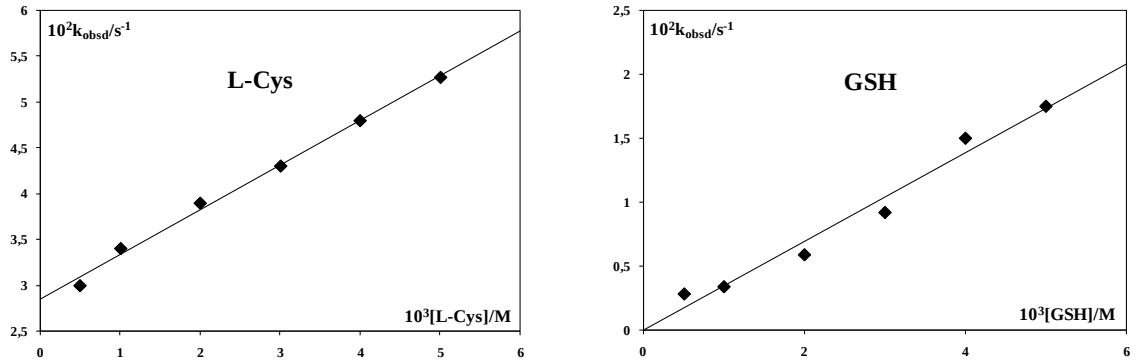
Слика. 3.20. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, $k_{obsd,}$ у зависности од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса* ***Pt4a*** *са 5'-GMP, L-His и пиридином у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.*



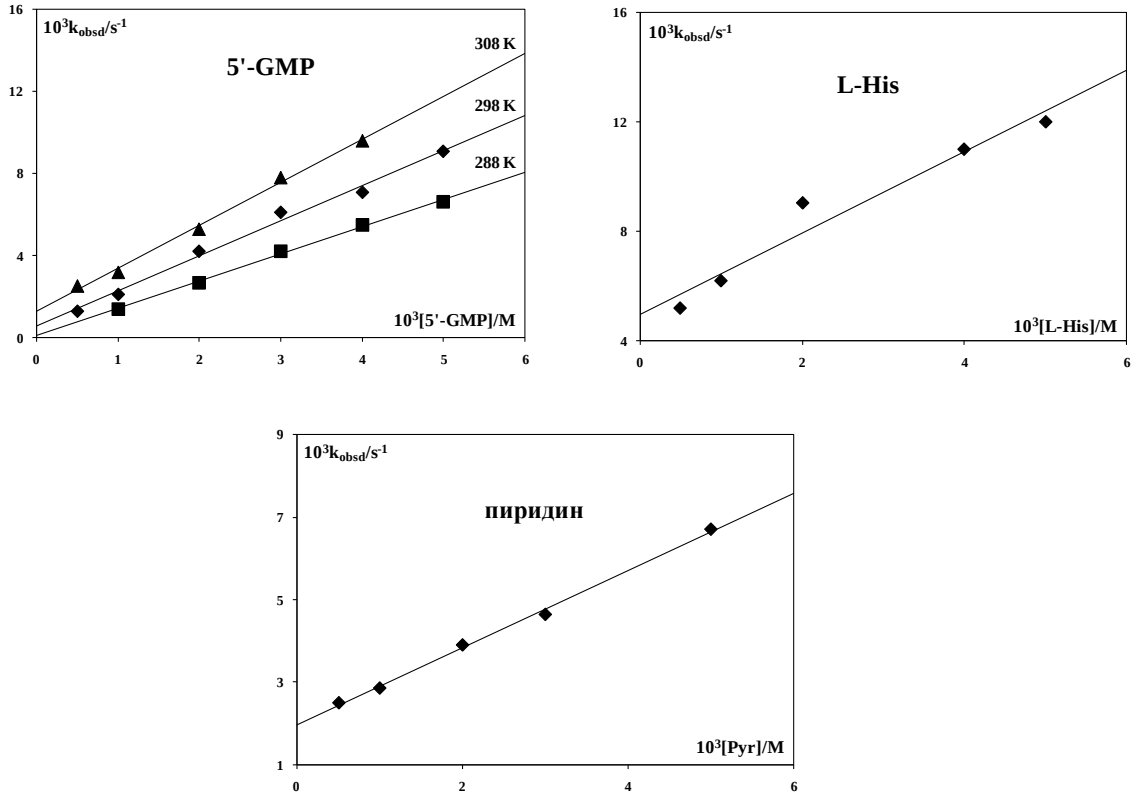
Слика. 3.21. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, $k_{obsd,}$ у зависности од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса* ***Pt6a*** *са Cys и GSH у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.*



Слика. 3.22. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, $k_{obsd,}$ у зависности од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса* ***Pt6a*** *са 5'-GMP, L-His и пиридином у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.*



Слика 3.23. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, $k_{obsd,}$ у зависности од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса* ***Pt8a*** *са Cys и GSH у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.*



Слика 3.24. *Константе брзине реакције pseudo-првог реда, $k_{obsd,}$ у зависности од концентрације нуклеофила и температуре, за супституционе реакције комплекса* ***Pt8a*** *са 5'-GMP, L-His и пиридином у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.*

Подаци су израчунати као експоненцијална функција другог реда према једначини (3.4.1), у којој је са k_2 обележена константа брзине директне реакције, а са k_{-2} константа брзине реакције анације, према Шеми 3.4.

У Табели 3.7. дати су добијени резултати за константе брзине супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса **Pt4a, Pt6a** и **Pt8a** са S-донорским лигандима: L-Cys и GSH и N-донорским лигандима: 5'-GMP, L-His и пиридином**.**

Табела 3.7. Константе брзине другог реда супституционих реакција комплекса **Pt4a**, **Pt6a** и **Pt8** са одабраним N-донорским и S-донорским лигандима у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.

комплекс **Pt4a**				
лиганди	λ [nm]	T [K]	k_2 [$M^{-1}s^{-1}$]	10^3k_{-2} [s^{-1}]
L-Cys	355	298 K	3,2 ± 0,4	0,62 ± 0,01
GSH	360	298 K	1,2 ± 0,1	0,30 ± 0,04
5'-GMP	350	298 K	0,96 ± 0,07	0,51 ± 0,02
L-His	240	298 K	0,95 ± 0,07	2,6 ± 0,2
Py	224	298 K	0,80 ± 0,03	0,05 ± 0,01
комплекс **Pt6a**				
лиганди	λ [nm]	T [K]	k_2 [$M^{-1}s^{-1}$]	10^3k_{-2} [s^{-1}]
L-Cys	260	298 K	3,4 ± 0,4	1,3 ± 0,1
GSH	360	298 K	3,37 ± 0,04	1,5 ± 0,1
		308 K	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,2
5'-GMP	315	298 K	1,3 ± 0,2	0,56 ± 0,01
		288 K	0,85 ± 0,04	0,46 ± 0,01
L-His	310	298 K	1,1 ± 0,1	0,20 ± 0,01
Py	274	298 K	1,00 ± 0,07	0,33 ± 0,01
комплекс **Pt8a**				
лиганди	λ [nm]	T [K]	k_2 [$M^{-1}s^{-1}$]	10^3k_{-2} [s^{-1}]
L-Cys	260	298 K	4,8 ± 0,1	28,5 ± 0,5
GSH	243	298 K	3,47 ± 0,03	0,010± 0,001
		308 K	2,10 ± 0,08	1,3 ± 0,2
5'-GMP	310	298 K	1,71 ± 0,08	0,60 ± 0,01
		288 K	1,32 ± 0,04	0,10 ± 0,01
L-His	255	298 K	1,5 ± 0,2	5,0 ± 0,6
Py	277	298 K	0,93 ± 0,03	1,98 ± 0,08

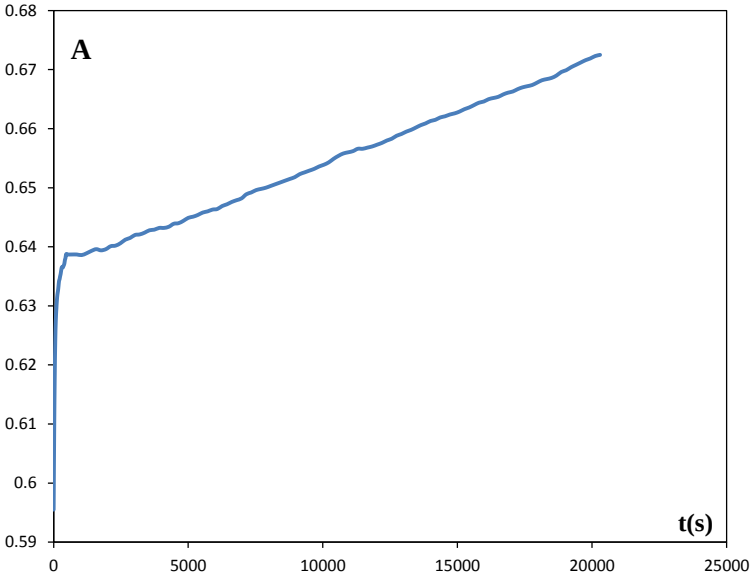
У свим случајевима добијене су мале вредности за константе k_{-2}, што указује да растварач не може ефективно да супституише координовани нуклеофил.

Проучавањем супституционих реакција са 5'-GMP на три различите температуре (288 K, 298 K и 308 K), одређени су активациони параметри $\Delta H_2^{\neq}$ и $\Delta S_2^{\neq}$ на основу Ајрингове (Eyring) једначине (1.6.5, односно 1.6.8), Табела 3.8.

Табела 3.8. Активациони параметри супституционих реакција комплекса **Pt6a** и **Pt8a** са 5'-GMP у 0,1 M $NaClO_4$ на pH = 2,5.

	комплекс **Pt6a**			
	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJmol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [JK^{-1}mol^{-1}]	$\Delta H_{-2}^{\neq}$ [kJmol^{-1}]	$\Delta S_{-2}^{\neq}$ [JK^{-1}mol^{-1}]
5'-GMP	22 ± 4	-180 ± 10	29 ± 1	-166 ± 4
	комплекс **Pt8a**			
	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJmol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [JK^{-1}mol^{-1}]	$\Delta H_{-2}^{\neq}$ [kJmol^{-1}]	$\Delta S_{-2}^{\neq}$ [JK^{-1}mol^{-1}]
5'-GMP	14 ± 1	-206 ± 3	91 ± 2	- 40 ± 6

Супституционе реакције динуклеарних комплекса Pt(II) одвијају се у два узастопна корака, као што може да се види из литературних података.[85,121,125,126] У првом супституционом кораку долази до супституције једног лабилног лиганда (хлорида или воде) из координационе сфере комплекса, док се у другом супституционом кораку одвија супституција другог лабилног лиганда.[85,121,125,126] У изучаваним супституционим реакцијама први супституциони корак је брз (500-1000 секунди) и представља супституцију оба лабилна молекула воде, Слика 3.25.



Слика 3.25*. Промена апсорбанце са временом за супституциону реакцију комплекса* ***Pt6a*** *(1 x 10^{-4} M) са 5'-GMP (4 x 10^{-3} M) на 315 nm, T = 298 K, 0,1 M $NaClO_4$, pH = 2,5.*

Други супституциони корак се знатно спорије одвија (120-180 минута), што може да се припише декомпозицији динуклеарних комплекса услед јаког *trans*-ефекта координованих нуклеофила (Шема 3.4.), што је, такође, у складу са литературним подацима.[53,55, 56,64,107-109]

Будући да су све супституционе реакције проучаване класичном Uv-Vis спектрофотометријом, детектован је само један корак реакције, који представља супституцију оба лабилна лиганда, Шема 3.4.

Из Табеле 3.7. може да се види да су N-донорски лиганди 5'-GMP, L-His и пиридин добри улазни лиганди за процес супституције динуклеарних комплекса Pt(II). На основу вредности константе брзине за директну реакцију супституције, k_2, може да се закључи да је за сва три испитивана комплекса ред реактивности лиганада: 5'-GMP > L-His > пиридин.

Међутим, разлике у вредностима константе брзине k_2 за реакције N-донорских лиганада нису велике. Константа брзине за супституциону реакцију комплекса **Pt4a** са

5'-GMP је k_2 = 0,96 $M^{-1}s^{-1}$, док је за супституциону реакцију комплекса **Pt4a** са L-His k_2 = 0,95 $M^{-1}s^{-1}$. Оваква разлика у реактивности може да се припише чињеници да су сва три N-донорска лиганда хетероцикли. Пиридин има вредност pKa = 5,25, а имидазол у L-His има pKa = 6,0, док пурин у молекулу 5'-GMP има pKa = 6,2. На основу pKa вредности може да се види да је 5'-GMP најјача база и најбољи нуклеофил, а мале разлике у добијеним константама брзине су, управо, последица мале разлике у базности нуклеофила.

Добијени резултати показују да испитивани комплекси лако реагују са S-донорским лигандима. Испитивани лиганди L-Cys и GSH реагују брже од N-донорских лиганада, око 3 до 4 пута, Табела 3.7. Овакви резултати су сасвим очекивани, јер је добро познато да Pt(II) има велики афинитет према једињењима која садрже сумпор.

Анализом константи брзина реакције супституције може да се закључи да реактивност комплекса зависи од структуре алкандиаминских мостних лиганада. Наиме, ред реактивности испитиваних комплекса је: **Pt8a** > **Pt6a** ≥ **Pt4a**. Најреактивнији комплекс је онај који садржи алкандиаминski мостни лиганд 1,8-диаминооктан, а најмање реактиван онај који садржи мостни лиганд 1,4-диаминобутан.

Фарел (Farell) и сарадници дошли су до закључка да се између два јона метала у мултинуклеарним комплексима неће остварити електронска комуникација уколико се између њих налази угљоводонични ланац одређене дужине.[67-69,7,71-76,103] На основу других литературних података потврђено је да се између два јона метала, који су одвојени низом који садржи 6 и више атома угљеника, неће остварити електронска комуникација и они ће се понашати независно тј. као две позитивно наелектрисане групе $[Pt(NH_3)_2(NH_2R)OH_2]^{2+}$.[85,121,125-128]

Наиме, дужина алифатичног ланца од 2-6 угљеникових атома утиче на електронску комуникацију између јона метала, што код испитиваних комплекса доводи до смањења реактивности у поређењу са мононуклеарним комплексима. Међутим, код динуклеарних комплекса који садрже алифатични ланац дужи од 6 угљеникових атома, потпуно престаје електронска комуникација између јона метала, тако да динуклеарни комплекс поприма карактеристике мононуклеарног. На темељу тога, очекује се највећа реактивност комплекса **Pt8a**, а најмања реактивност комплекса **Pt4a.**

ЗАКЉУЧАК

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

1. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[(TL^{tBu})PtCl]ClO_4$ и [Pt(tpdm)Cl]Cl комплекса са S-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys

- ✓ Испитивани мононуклеарни комплекси Pt(II) показују велики афинитет према одабраним S-донорским лигандима (S-Met-L-Cys, L-Met, GSH и L-Cys).
- ✓ Комплекс $[Pt(tpdm)Cl]^+$ је реактивнији у односу на комплекс $[(TL^{tBu})PtCl]^+$
- ✓ Редослед реактивности испитиваних лиганада је: S-Met-L-Cys > L-Met > GSH > L-Cys.
- ✓ Тиоетри *S*-Met-L-Cys и L-Met, реактивнији су од тиола, GSH и L-Cys
- ✓ Реакције ова два стерно заштићена комплекса Pt(II), ($[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$), са испитиваним лигандима, теку по асоцијативном механизму, што подржава негативна вредност за $\Delta S^{\neq}$.

2. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција $[(TL^{tBu})PtCl]ClO_4$ и [Pt(tpdm)Cl]Cl комплекса са L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP

- ✓ Испитивани мононуклеарни комплекси Pt(II) показују велики афинитет према одабраним N-донорским лигандима (L-His, Ino, 5'-GMP и 5'-IMP).

- ✓ Редослед реактивности испитиваних лиганада је: L-His > Ino > 5'-GMP > 5'-IMP.
- ✓ Негативна вредност за $\Delta S^{\neq}$ указује да реакције ова два стерно заштићена комплекса Pt(II), ($[(TL^{tBu})PtCl]^+$ и $[Pt(tpdm)Cl]^+$), са испитиваним лигандима, теку по асоцијативном механизму.

3. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних дихлоридо комплекса Pt1, Pt2 и Pt3, и њихових диаква аналога Pt1a, Pt2a и Pt3a, са 1,2,4-триазолом, L-His и 5'-IMP

- ✓ Редослед реактивности испитиваних динуклеарних комплекса Pt(II) у реакцијама супституције опада у низу: **Pt1** > **Pt2** > **Pt3**.
- ✓ Природа мостног лиганда има велики утицај на реактивност изучаваних динуклеарних комплекса.
- ✓ Испитивани динуклеарни диаква комплекси Pt(II) показали су већу реактивност на pH = 2,5 у поређењу са реактивношћу њихових дихлоридо аналога на pH = 7,2.
- ✓ Реактивност испитиваних лиганада опада у низу: 1,2,4-триазол > L-His > 5'-IMP.
- ✓ Негативне вредности за $\Delta S^{\neq}$ указују да се процес супституције ових комплекса одвија по асоцијативном механизму у оба реакциона корака.

4. Резултати испитивања кинетике и механизма супституционих реакција динуклеарних диаква комплекса Pt4a, Pt6a и Pt8a са L-His, Ino, пиридином и 5'-GMP, као и са L-Cys, и GSH

- ✓ Редослед реактивности испитиваних динуклеарних комплекса Pt(II) у реакцијама супституције опада у низу: **Pt8a** > **Pt6a** ≥ **Pt4a**.

- ✓ Добијени резултати показују да природа улазног лиганда, као и дужина алкандиаминског моста, игра важну улогу у кинетичком понашању динуклеарних комплекса Pt(II).
- ✓ Ред реактивности испитиваних лиганада је следећи: L-Cys > GSH > 5'-GMP > L-His > пиридин
- ✓ Ред реактивности улазних лиганада је такав да L-Cys и GSH, као S-донорски лиганди, реагују брже од 5'-GMP, L-His и пиридина, као N-донорских лиганада.
- ✓ Механизам супституционих реакција је асоцијативан, што је потврђено негативном вредношћу за $\Delta S^{\neq}$.

Резултати изучавања реакција монофункционалних комплекса Pt(II) са инертним тридентатним лигандима, који не могу показивати антитуморску активност, корисни су за разумевање првог реакционог корака комплекса Pt(II) са биолошки важним молекулима. Такође, ови комплекси су добри модели за изучавање супституционих реакција квадратно-планарних комплекса.

Резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације доприносе бољем разумевању механизма интеракције динуклеарних комплекса Pt(II) са N-донорским и S-донорским лигандима и омогућавају боље разумевање утицаја мостних лиганада између два јона Pt(II) на механизам метаболизма платине. Такође, ово истраживање може дати допринос у расветљавању утицаја дужине алкандиаминског ланца, као мостног лиганда, на реактивност динуклеарних комплекса.

Осим наведеног, разултати ових испитивања могу да помогну при избору одговарајућих комплекса за даља тестирања.

Детаљно познавање интеракција између комплекса прелазних метала и биомолекула, као и стабилности насталих производа, под различитим експерименталним условима, од фундаменталног је значаја за будућа истраживања нових фармаколошких средстава и открића алтернативних поступака лечења тумора.

ЛИТЕРАТУРА

[1] B. Rosenberg and L. V. Camp, *Nature*, 1965, **205**, 698.

[2] B. Rosenberg, L. V. Camp, J. E. Trosko and V. H. Mansour, *Nature*, 1969, **222,** 385.

[3] B. Rosenberg and L. V. Camp, *Canc. Res.*, 1970, **30**, 1799.

[4] B. Rosenberg, L. V. Camp, E. B. Grimley and A. J.Thomson, *J. Biol. Chem.*, 1967, **242**, 1347.

[5] E. Alessio, in *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2011, ch. 1–4.

[6] P. E. N. Barry and J. Peter Sadler, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 5106.

[7] N. Farrell and Y. Qu, *Inorg. Chem.*, 1989, **28**, 3416.

[8] J. W. Cox, S. J. Berners-Price, M. S. Davies, Y. Qu and N. Farrell, *J. Am. Chem. Soc*., 2001, **123**, 1316.

[9] A. Mukherjee and J. Peter Sadler, in *Metals in Medicine, Therapeutic Agents, Wiley Encyclopedia of Chemical Biology,* Ed., T. P. Begley, John Wiley & Sons, Hoboken, 2009, vol. 3, pp. 80.

[10] P. Caravan, in *Metals in Medicine, Imaging Agents, Wiley Encyclopedia of Chemical Biology*, Ed., T. P. Begley, John Wiley & Sons, Hoboken, 2009, vol. 3, pp. 66.

[11] P. Faller and C. Hureau, *Chem.–Eur. J*., 2012, **18**, 15910.

[12] N. J. Farrer and J. P. Sadler, in *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, Ed., E. Alessio, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011, pp. 1.

[13] N. Farrell, T. G. Appleton, Y. Qu, J. D. Roberts, A. P. S. Fontes, K. A. Skov, P. Wu and Y. Zou, *Biochemistry*, 1995, **34**, 15480.

[14] S. J. Berners-Price, M. S. Davies, J. W. Cox, D. S. Thomas and N. Farrell, *Chem.–Eur. J*., 2003, **9**, 713.

[15] N. P. Farrell, S. G. De Almeida and K. A. Skov, *J. Am. Chem. Soc*., 1988, **110**, 5018.

[16] C. Sessa, G. Capri, L. Gianni, F. Peccatori, G. Grasselli, J. Bauer, M. Zucchetti, L. Vigano, A. Gatti, C. Minoia, P. Liati, S. Van den Bosch, A. Bernareggi, G. Camboni and S. Marsoni, *Ann. Oncol*., 2000, **11**, 977.

[17] C. Manzotti, G. Pratesi, E. Menta, R. D. Domenico, E. Cavalletti, H. H. Fiebig, L. R. Kelland, N. Farrell, D. Polizzi, R. Supino, G. Pezzoni and F. Zunino, *Clin. Cancer Res.*, 2000, **6**, 2626.

[18] G. Pratesi, P. Perego, D. Polizzi, S. C. Righetti, R. Supino, C. Caserini, C. Manzotti, F. C. Giuliani, G. Pezzoni, S. Tognella, S. Spinelli, N. Farrell and F. Zunino, *Br. J. Cancer*, 1999, **80**, 1912.

[19] F. Wang, H. Chen, S. Parsons, I. D. H. Oswald, J. E. Davidson and P. J. Sadler, *Chem.–Eur. J.*, 2003, **9**, 5810.

[20] A. Bergamo and G. Sava, *Dalton Trans.*, 2007, 1267.

[21] C. G. Hartinger, M. A. Jakupec, S. Zorbas-Seifried, M. Groessl, A. Egger, W. Berger, H. Zorbas, P. J. Dyson and B. K. Keppler, *Chem. Biodiversity*, 2008, **5**, 2140.

[22] L. Ronconi and J. P. Sadler, *Coord. Chem. Rev.,2007*, **251**,1633.

[23] Z. E. Housecroft and A. G. Sharp, in *Inorganic Chemistry*, Essex, England, 2001, ch. 6, 19.

[24] R. V. Parish, B. P. Howe, J. P. Wright, J. Mack, R. G. Pritchard, R. G. Buckley, A. M. Elsome and S. P. Fricker, *Inorg. Chem.*, 1996, **35**, 1659.

[25] R. G. Buckley, A. M. Elsome, S. P. Fricker, G. R. Henderson, B. R. Theobald, R. V. Parish, B. P. Howe and L. R. Kelland, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**, 5208.

[26] P. D. Braddock, T. A. Connors, M. Jones, A. R. Khokhar, D. H. Melzack and M. L. Tobe, *Chem.–Biol. Interact*., 1975, **11**, 145.

[27] V. H. Bramwell, D. Crowther, S. O'Malley, R. Swindell, R. Johnson, E. H. Cooper, N. Thatcher and A. Howell, *Cancer Treat. Rep*., 1985, **69**, 409.

[28] P. D. Bonomi, D. M. Finkelstein, J. C. Ruckdeschel, R. H. Blum, M. D. Green, B. Mason, R. Hahn, D. C. Tormey, J. Harris and R. Comis, *J. Clin. Oncol*., 1989, **7**, 1602.

[29] R. J. Schilder, F. P. LaCreta, R. P. Perez, S. W. Johnson, J. M. Brennan, A. Rogatko, S. Nash, C. McAleer, T. C. Hamilton and D. Roby, *Cancer Res*., 1994, **54**, 709.

[30] J. P. Sadler, in *Metals in medicine*., University Science Books, 2007, pp. 95.

[31] T.W. Hambley, *Science*, 2007, **318**, 1392.

[32] R. B. Weiss and M. C. Christian, *Drugs*, 1993, **46**, 360.

[33] B. Lippert, in *Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of Leading Antitumor Drugs*, Wiley-VCH, Zuruch, 1999, pp. 183.

[34] M. A. Fuertes, C. Alonso and J. M. Perez, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 3.

[35] J. Reedijk, *Chem. Rev*., 1999, **99**, 2499.

[36] M. A. Jakupec, M. Galanski and B. K. Keppler, *Rev. Phys. Biochem. Pharm.*, 2003, **146**, 1.

[37] J. Kozelka, F. Legendre, F. Reeder and J. C. Chottard, *Coord. Chem. Rev*., 1999, **190-192**, 61.

[38] J. Reedijk, *Eur. J. Inorg. Chem*., 2009, 1303.

[39] M. A. Jakupec, M. Galanski, V. B. Arion, C. G. Hartinger and B. K. Keppler, *Dalton Trans.*, 2008, 183-194.

[40] T. Soldatović and Ž. D. Bugarčić, *J. Inorg. Biochem.*, 2005, **99**, 1472.

[41] A. Hofmann, D. Jaganyi, O. Q. Munro, G. Liierh and R. Van Eldik, *Inorg. Chem.* 2003, **42**, 1688.

[42] D. Jaganyi, A. Hofmann and R. van Eldik, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*., 2001, **40**, 1680.

[43] B. V. Petrović, M. I. Đuran and Ž. D. Bugarčić, *Met-Based Drugs*, 1999, **6**, 355.

[44] N. M. Kostić, *Inorg. Chem. Comm.*, 1988, **8**, 137.

[45] Ž. D. Bugarčić, B. V. Đorđević and M. I. Đuran, *J. Serb. Chem. Soc*., 1997, **62**, 1031.

[46] M. Casumano, M. L. Di Pietro, A. Giannetto and P. A. Vainiglia, *J. Inorg. Biochem*., 2005, **99**, 560.

[47] Ž. D. Bugarčić, J. Rosić, B. Petrović, N. Summa, R. Puchta and R. van Eldik, *J. Biolog. Inorg. Chem.*, 2007, **12**, 1141.

[48] Ž. D. Bugarčić, G. Liehr and R. van Eldik, *Dalton Trans*., 2002, 2825.

[49] B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, A. Dees, I. Ivanović-Burmazović, F. W. Heinemann, R. Puchta, S. N. Steinmann, C. Corminboeuf and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 2012, **51**, 1516.

[50] E. L. M. Lampers, K. Inakagi and J. Reedijk, *Inorg. Chim. Acta*, 1988, **152**, 201.

[51] M. I. Đuran, E. L. M. Lampers and J. Reedijk, *Inorg. Chem*.,1991, **30**, 2648.

[52] N. Bose, S. Moghaddas, E. L. Weaver and E. H. Cox, *Inorg. Chem*., 1995, **34**, 5878.

[53] J. M. Tauben, M. Rodrugez, I. Zubiri and J. Reedijk, *J. Chem. Soc. Dalton Trans*., 2000, 369.

[54] K. Lemma, S. K. C. Elmroth and L. I. Elding, *J. Chem. Soc. Dalton Trans*., 2002, 1281.

[55] B. Petrović and Ž. D. Bugarčić, *J. Coord. Chem*., 2001, **53**, 35.

[56] Ž. D. Bugarčić and B. V. Đorđević, *Monatsh. Chem.*, 1998, **129**, 1267.

[57] A. K. Fazlur-Rahman and J. G. Verkade, *Inorg. Chem*., 1992, **31**, 2064.

[58] L. M. Lampers and J. Reedijk, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 217.

[59] K. J. Barnham, M. I. Đuran, P. S. Murdoch and P. J. Sadler, *J. Chem. Soc., Chem. Comm*., 1994, 721.

[60] Y. Chen, Z. Guo, P. S. Murdoch, E. Zang and P. J. Sadler, *J. Chem. Soc., Dalton Trans*., 1998, 1503.

[61] M. I. Đuran and S. U. Milinković, *Aust. J. Chem.*, 2000, **53**, 645.

[62] J. Arpalahti and P. Lehikonen, *Inorg. Chem*., 1990, **29**, 2564-2567.

[63] S. S. G. E. van Boom, B. W. Chen, J. M. Tauben and J. Reedijk, *Inorg. Chem*., 1999, **38**, 1450.

[64] Ž. D. Bugarčić, F. W. Heinemann and R. van Eldik, *Dalton Trans*., 2004, 279.

[65] H. Sigel, S. S. Massoud and N. A. Corfu, *J. Am. Chem. Soc*., 1994, **116**, 2958.

[66] N. Bose, S. Moghaddas, E. L. Weaver and E. H. Cox, *Inorg. Chem*., 1995, **34**, 5878.

[67] N. Farrell, *Comments Inorg. Chem*., 1995, **16**, 373.

[68] V. Brabec, J. Kasparkova, O. Vrana, O. Novakova, J. W. Cox, Y. Qu and N. Farrell, *Biochemistry*, 1999, **38**, 6781.

[69] Y. Qu and N. Farrell, *J. Am. Chem. Soc*., 1991, **113**, 4851.

[70] N. Farrell, Y. Qu, L. Feng and B. van Houten, *Biochemistry*, 1990, **29**, 9522.

[71] J. W. Cox, S. J. Berners-Price, M. S. Davies, Y. Qu and N. Farrell, *J. Am. Chem. Soc*., 2001, **123**, 1316.

[72] V. Brabec and J. Kasparova, *Drug Resist. Updates*, 2005, **8**, 131.

[73] N. Farrell, S. G. de Almeida and K. A. Skov, *J. Am. Chem. Soc*., 1988, **110**, 5018.

[74] N. Farrell, Y. Qu and M. P. Hacker, *J. Med. Chem.*, 1990, **33**, 2179.

[75] J. D. Roberts, B. van Houten, Y. Qu and N. P. Farrell, *Nucleic Acids Res.*, 1989, **17**, 9719.

[76] A. Kraker, W. Elliott, B. van Houten, N. Farrell, J. Hoeschele and J. Roberts, *J. Inorg. Biochem.*, 1989, **36**, 160.

[77] A. Mambanda, D. Jaganyi, S. Hochreuther and R. van Eldik, *Dalton Trans*., 2010, **39**, 3595.

[78] G. Bogdanović, V. Kojić, T. Srdić, D. Jakimov, M. Djuran, Ž. D. Burgarčić, M. Baltić and V. V. Baldić, *Metal-Based Drugs*, 2002, **9**, 33.

[79] Q. Liu, Y. Qu, R. van Antwerpen and N. Farrell, *Biochemistry*, 2006, **45**, 4248.

[80] N. Summa, J. Maigut, R. Puchta and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 2007, **46**, 2094.

[81] M. E. Oehlsen, Y. Qu and N. Farrell, *Inorg. Chem.*, 2003, **42**, 5498.

[82] M. E. Oehlsen, A. Hegmans, Y. Qu and N. Farrell, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2005, **10**, 433.

[83] H. Ertürk, J. Maigut, R. Puchta and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2008, 2759.

[84] Y. Qu and N. Farrell, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 4851.

[85] S. Hochreuther, R. Puchta and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 8984.

[86] S. Hochreuther, R. Puchta and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 2012, **51**, 3341.

[87] S. Hochreuther and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 2012, **51**, 3025.

[88] J. Reedijk, *Chem. Commun.*, 1996, 801; J. H. Burchenal, K. Kalaher, K. Dew, L. Lokys and G. Gale, *Biochimie*, 1978, **60**, 961.

[89] S. Hochreuther, R. Puchta and R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 12747.

[90] S. Ašperger, *in Chemical Kinetics and Inorganic Reaction Mechanisms*, 2nd Ed., Plemium Publishers, New York, 2003, ch. 2.

[91] C. H. Langford and H. B. Gray, in *Ligand Substitution Processes*, Benjamin, New York, 1974, ch. 2.

[92] M. L. Tobe and J. Burgess, in *Inorganic Reaction Mechanism*, Longman, England, 1999, p. 70; p. 364.

[93] Ž. D. Bugarčić, in *Kinetika i Mehanizam Supstitucionih Reakcija*, PMF Kragujevac, 1996, pp. 12-32.

[94] I. Gal, in *Mehanizmi Neorganskih Reakcija*, Naučna knjiga, 1979, ch. 2, 3.

[95] K. J. Laidler, in *Chemical Kinetics*, Harper and Row, New York, 1987, ch. 4, 6.

[96] J. H. Espenson, in *Chemical Kinetics and Reaction Mechanism*, 2nd Ed, McGrow Hill, New York, 1995, ch. 2, 6.

[97] M. Kotowski and R. van Eldik, in *Inorganic High Pressure Chemistry, Kinetics and Mechanism*, Ed., R. van Eldik, Elsevier, Amsterdam, 1986, ch. 1, 3, 4.

[98] R. van Eldik, T. Asano and W. J. Le Noble, *Chem. Rev.*, 1989, **59**, 93.

[99] M. Đurović, J. Bogojeski, B. Petrović, D. Petrović, F. W. Heinemann and Ž. D. Bugarčić, *Polyhedron*, 2012, **41**, 70.

[100] D. Petrović, L. M. R. Hill, P. G. Jones, W.B. Tolman and M. Tamm, *Dalton Trans.*, 2008, 887.

[101] A. N. Vedernikov, J. C. Huffman and K. G. Caulton, *Inorg. Chem.*, 2002, **41**, 6244.

[102] S. Komeda, G. V. Kalayda, M. Lutz, A. L. Spek, Y. Yamanaka, T. Sato, M. Chikuma and J. Reedijk, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 1210.

[103] N. Farrell, Qu Y, L. Feng and B. Houten, *Biochemistry*, 1990, **29**, 9522.

[104] T. G. Appleton, J. R. Hall, S. F. Ralph and C. S. M. Thompson, *Inorg. Chem.*, 1984, **23**, 3521.

[105] A. R. Khokhar, Q. Xu, S. Al-Baker and J. L. Bear, *Inorg. Chim. Acta*, 1992, **194**, 243.

[106] B. Petrović and Ž. D. Bugarčić, *Aust. J. Chem*. 2005, **58**, 544.

[107] G. Annibale, L. Cattalini, L. Canovese, G. Michelon, G. Marangoni and M. L. Tobe, *Inorg. Chem.* 1983, **22**, 975.

[108] T. Shi and L. I. Elding, *Inorg. Chem.* 1996, **35**, 735.

[109] Ž. D. Bugarčić, G. Liehr and R. van Eldik, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2002, 951.

[110] V. Vasić, M. Čakar, J. Savić, B. Petrović, J. Nadeljković and Ž. D. Bugarčić, *Polyhedron* 2003, **22**, 279.

[111] J. Bogojeski, R. Jelić, D. Petrović, E. Herdtweck, P. G. Jones, M. Tamm and Ž. D. Bugarčić, *Dalton Trans.* 2011, **40**, 6515.

[112] M. Perutz, *Nature*, 1970, **228**, 726.

[113] J. A. Tainer, E. D. Getzoff, K. M. Beem, J. S. Richardson and D. C. Richardson, *J. Mol. Biol.*, 1982, **160**, 181.

[114] J. Arpalahti and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 104.

[115] J. P. Caradonna and S.J. Lippard, *Inorg. Chem.*, **27**, 1454.

[116] M. Mikola, K. D. Kilika and J. Arpalahti, *Chem. Eur. J.*, 2000, 3404.

[117] Ž. D. Bugarčić, T. Soldatović, R. Jelić, B. Alguero and A. Grandas, *Dalton Trans.*, 2004, 3869.

[118] T. Rau and R. van Eldik , *Inorg. Chem.*, 1997, **36**, 1454.

[119] F. F. Prinsloo, J. J. Pienaar and R. van Eldik , *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1995, 2564.

[120] D. Petrović, B. Stojimirović, B. Petrović, Z. M. Bugarčić and Ž. D. Bugarčić, *Bioorgan. Med. Chem.*, 2007, **15**, 4203.

[121] T. Soldatović, S. Jovanović, Ž. D. Bugarčić and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2012, **41**, 876.

[122] J. Rosić, B. Petrović, M. I. Djuran and Ž. D. Bugarčić, *Monatsh. Chem.*, 2007, **138**, 1.

[123] Ž. D. Bugarčić, J. Bogojeski, B. Petrović, S. Hochreuther and R. van Eldik , *Dalton Trans.*, 2012, **41,** 12329.

[124] N. Summa, W. Schiessl, R. Puchta, N. van Eikema Hommes and R. van Eldik , *Inorg. Chem.*, 2006, **45,** 2948.

[125] H. Ertürk, A. Hofmann, R. Puchta and R. van Eldik, *Dalton Trans.*, 2007, 2295.

[126] H. Ertürk, R. Puchta and R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 1331.

[127] D. Jaganyi, V. M. Munisamy and D. Reddy, *Int. J. Chem. Kinet.*, 2006, **38**, 202.

[128] P. O. Ongoma and D. Jaganyi, *Trans. Met. Chem.*, 2013, **38**, 587.

БИОГРАФИЈА

Ениса Селимовић рођена је 05.07.1972. године у Сјеници. Основну школу завршила је у Кладници, а средњу у Сјеници. Основне академске студије уписала је школске 1992/1993. године на Природно-математичком факултету у Приштини, одсек Хемија. Дипломирала је 1996. године са просечном оценом 8.47 (8 и 47/100).

Као професор хемије радила је од 01.09.1997. до 31.12.2009. године у Бужиму у Мешовитој средњој школи "Хасан Мусић", Босна и Херцеговина.

На Државном универзитету у Новом Пазару, на Департману за хемијско-технолошке науке, ангажована је као сарадник у настави од 01.01.2010. а од 01.01.2012. године изабрана је у звање асистент, где и сада ради.



Докторске студије, смер Неорганска хемија, уписала је школске 2010/2011. године на Природно-математичком факултету у Крагујевцу.

Бави се испитивањем интеракција мононуклеарних и динуклеарних комплекса Pt(II) са биолошки значајним лигандима.

ПРИЛОГ

CSIRO PUBLISHING

Aust. J. Chem. **2013**, *66*, 534–538
http://dx.doi.org/10.1071/CH12218

Full Paper

Kinetic Studies on the Reactions of $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ Complexes with Some Thiols and Thioethers

Enisa Selimović,[A] *Biljana Petrović,*[A] *Dragan Čanović,*[B] *Živadin D. Bugarčić,*[A] *and Jovana Bogojeski*[A,C]

[A]Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, PO Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia.
[B]Faculty of Medicine, University of Kragujevac, S. Markovića 69, 34000 Kragujevac, Serbia.
[C]Corresponding author. Email: jrosic@kg.ac.rs

Substitution reactions of the complexes $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$, where TL^{tBu} = 2,6-bis[(1,3-di-*tert*-butylimidazolin-2-imino)methyl]pyridine and tpdm = terpyridinedimethane, with nucleophiles: *S*-methyl-L-cysteine (*S*-Met-L-Cys), L-cysteine (L-Cys), glutathione (GSH) and L-methionine (L-Met) were studied in aqueous 0.1 M $NaClO_4$ solution in the presence of 10 mM NaCl using variable-temperature UV-vis spectrophotometry. The higher reactivity of the complex with the tpdm ligand could be attributed to the influence of the bulkiness of the *tert*-butyl-groups from the $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ complex. The order of reactivity of the studied ligands is: *S*-Met-L-Cys > L-Met > GSH > L-Cys. The thioethers (*S*-Met-L-Cys and L-Met) are more reactive than the thiols (GSH and L-Cys). This order of reactivity is in relation with their electron properties and structures. The negative values reported for the entropy of activation confirmed the associative mode.

Manuscript received: 25 April 2012.
Manuscript accepted: 13 December 2012.
Published online: 31 January 2013.

Introduction

The interactions between platinum(II) and sulfur-bonding nucleophiles could be very important since some platinum(II) complexes are used as anticancer drugs.[1–4] The use of platinum(II) complexes as anticancer drugs has been limited by toxicity and side effects that cause interactions between platinum(II) complexes and sulfur-bonding biomolecules.[1–5] Lately, investigations were undertaken in an attempt to obtain a better understanding of the interactions between different platinum(II) complexes and some sulfur-bonding ligands, especially thiols and thioethers.[6–11]

Platinum(II) as a 'soft' acid forms very stable compounds with sulfur donors ('soft' bases). Since the concentration of thiols, including glutathione (GSH) and L-cysteine, in intracellular liquid is ~10 mM, it is assumed that most of the Pt drug binds to sulfur before it reaches the DNA.[1–5,12,13] The interaction of Pt^{II} complexes with thioethers is the kinetically favoured process. The resulting Pt–S(thioether) bond may be terminated in the presence of DNA, i.e. the N7 atom of 5′-GMP can substitute the molecule of thioether.[8,12,14] For these reasons, S-bound Pt^{II} complexes are so-called Pt-reservoirs in the body, i.e. they are suitable intermediates in the reaction of Pt^{II} complexes with DNA. However, on the other hand, Pt^{II} complexes can bind to sulfur from thiol molecules and the resulting Pt–S(thiol) bond is very stable and cannot be easily broken. In addition, the Pt–S(thioether) bond can be terminated in the presence of thiol molecules. It can be assumed that compounds of the type Pt–S(thiol) are responsible for the occurrence of toxic side effects during the employment of Pt^{II} complexes as antitumour reagents. The Pt–S(thiol) bond can be broken in the presence of compounds known as 'rescue agents', which are exclusively S-containing compounds, such as diethyldithiocarbamate (DEDTC), thiourea (TU), thiosulfate, GSH, cysteine and biotin.[4]

With the aim of extending previous work on complexes whose structure contained the tridentate ligands, 2,6-bis[(1,3-di-*tert*-butylimidazolin-2-imino)methyl]pyridine (TL^{tBu}) and terpyridinedimethane (tpdm),[11,15–17] a study of complex formation between $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ and some thiols and thioethers (Fig. 1.) in aqueous 0.1 M $NaClO_4$ solution in the presence of 10 mM NaCl, to prevent the spontaneous hydrolysis of the complexes, is reported herein.

Results and Discussion

The substitution reactions of the studied complexes $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ with *S*-Met-L-Cys, L-Cys, GSH and L-Met can be represented by Eqn 1.

$$[(X)PtCl]^+ + L \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} [(X)PtL]^{2+} + Cl^- \qquad (1)$$

$X = TL^{tBu}$, tpdm

L = *S*-Met-L-Cys, L-Cys, GSH and L-Met

Journal compilation © CSIRO 2013

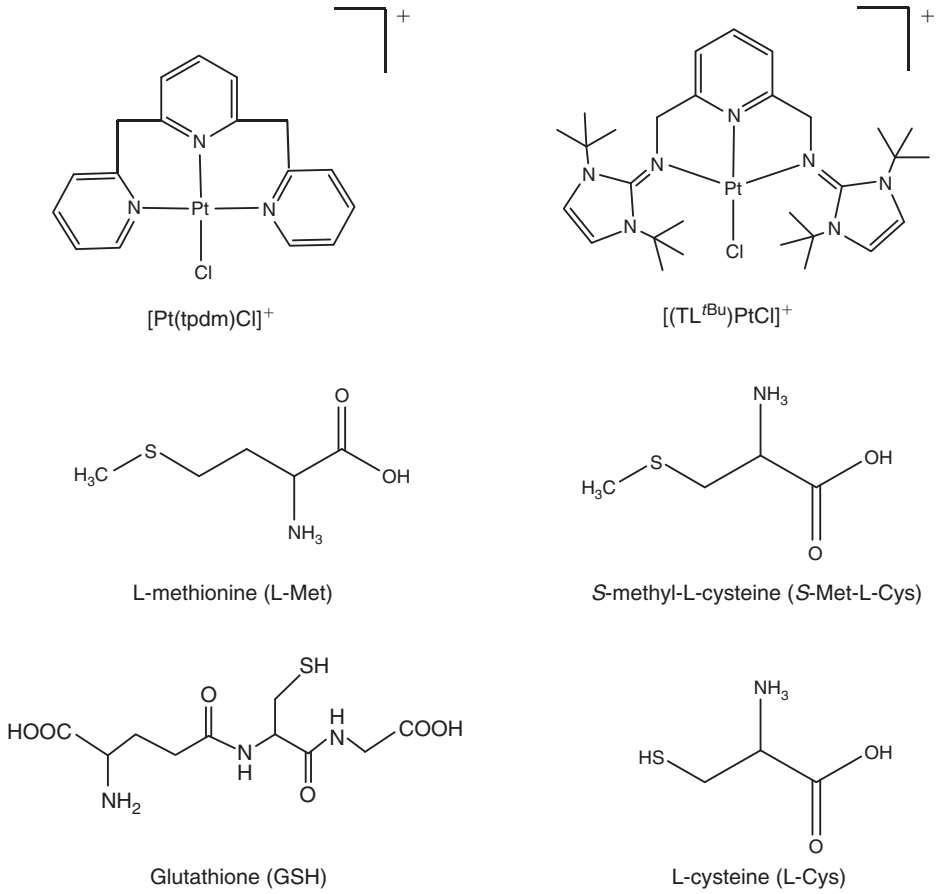


Fig. 1. Structure of studied complexes and ligands.

It is generally known that the substitution reactions of square-planar complexes proceed according to the two parallel associative reaction paths.[18] One path involves the rate-determining formation of the solvento complex followed by rapid substitution of the coordinated solvent. The other reaction involves direct nucleophilic attack by the entering ligand. In the present study, all reactions were performed in the presence of 10 mM NaCl whereby the solvolysis pathway was suppressed, while the direct nucleophilic attack proceeded in a reversible manner (Eqn 1). Under *pseudo*-first-order conditions, these rate constants can be determined from a plot of the linear dependence of k_{obsd} *versus* the total nucleophile concentration, according to Eqn 2. The slope of the line represents k_2, whereas the intercept represents k_{-2} [Cl^-]. All kinetic data are summarised in Tables S1–S6 (Supplementary Material).

The observed *pseudo*-first order rate constants, k_{obsd}, as a function of the total concentration of nucleophile concentration are described by Eqn 2.

$$k_{obsd} = k_{-2}\,[Cl^-] + k_2\,[L] \qquad (2)$$

Dependences of k_{obsd} on the nucleophile concentration are shown in Figs 2 and 3.

For all the studied substitution reactions, the dependences of k_{obsd} on the nucleophile concentration were linear. The second-order rate constants k_2, characterising the formation of the product complex, was evaluated from the slopes of the plots of k_{obsd} *versus* [nucleophile] (Figs 2 and 3). The use of three reaction temperatures enabled the determination of the activation parameters $\Delta H_2^{\neq}$ and $\Delta S_2^{\neq}$ for the forward reactions. The results are summarised in Table 1.

The kinetic data clearly show that these sulfur-containing nucleophiles are very good entering ligands for Pt^{II} complexes (Table 1). The order of reactivity of the studied nucleophiles was: *S*-Met-L-Cys > L-Met > GSH > L-Cys. This order of reactivity is in relation to their electron properties and structures.

From the obtained order of reactivity, it could be concluded that the thioethers (*S*-Met-L-Cys and L-Met) were more reactive than the thiols (GSH and L-Cys). The difference in nucleophilicity of the selected thioethers and thiols could be explained by the positive inductive effect of the methyl group on the sulfur atom from the thioether. Additionally, this is in agreement with literature data.[7–11] The influence of different electronic and steric properties of thiols and thioethers towards Pt^{II} and Pd^{II} complexes were nicely explained.[19,20] The better reactivity of *S*-Met-L-Cys than of L-Met towards the studied complexes could be attributed to the steric effect. Namely, L-Met has one more $–CH_2$ group than *S*-Met-L-Cys.

The sensitivity of the reaction rate towards the σ-donor properties of the entering ligands is in line with that expected for an associative mode of activation.

Comparing the values of the rate constants of substitution reactions of the studied complexes $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ with L-Cys and GSH, a higher reactivity of GSH compared with L-Cys was registered. GSH is a tripeptide that contains an unusual peptide linkage between the amine group of L-cysteine (which is attached by a normal peptide linkage to an L-glycine) and the carboxyl group of the glutamate side-chain, with an L-cysteine molecule at the centre. It was assumed that the substitution process was much slower compared with that of L-cysteine. However, the

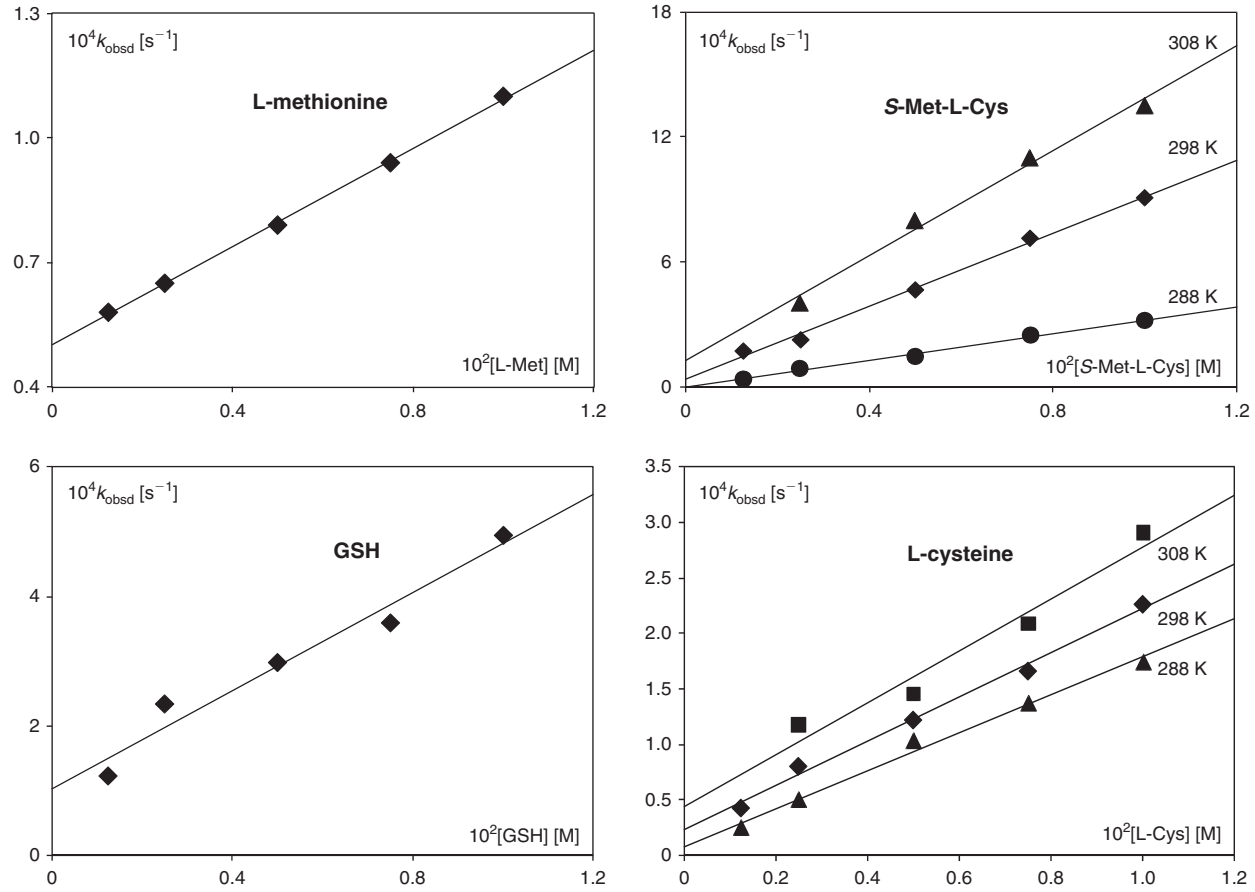


Fig. 2. *Pseudo*-first order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ with *S*-Met-L-Cys, L-Cys, GSH and L-Met in 0.1 M $NaClO_4$ and 10 mM NaCl.

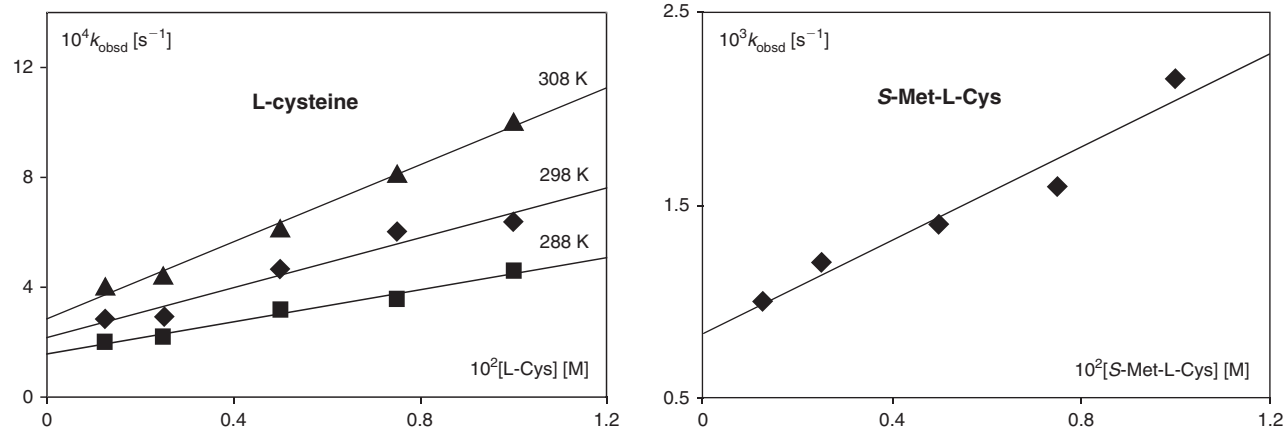


Fig. 3. *Pseudo*-first order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of $[Pt(tpdm)Cl]^+$ with L-Cys and *S*-Met-L-Cys in 0.1 M $NaClO_4$ and 10 mM NaCl.

experimentally obtained values showed a much higher reactivity of GSH. This was explained by a suitable geometrical structure of the molecules, in which exposure of the sulfur atom from the thiol group was observed, making it suitable for substitution.[10,21–23] Under the employed experimental conditions, the sulfur from the thiol group of GSH is fully deprotonated, resulting in a significantly increased nucleophilicity of the sulfur atoms and therefore higher reactivity. These discrepancies of GSH compared with other thiols were shown in earlier publications.[21–24]

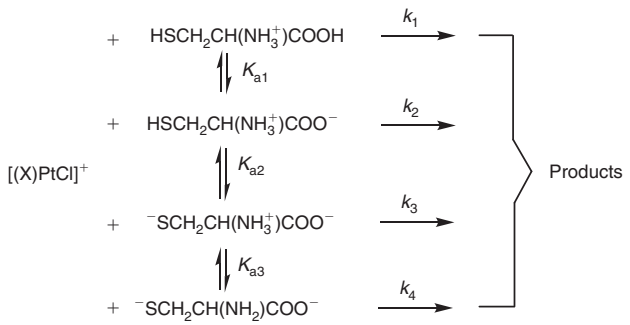
The studied ligands, *S*-Met-L-Cys, L-Cys, GSH and L-Met, undergo deprotonation (*S*-Met-L-Cys: $pK_{a1} = 2.0$, $pK_{a2} = 8.74$; L-Cys: $pK_{a1} = 1.9$, $pK_{a2} = 8.10$, $pK_{a3} = 10.1$; GSH: $pK_{a1} = 2.05$, $pK_{a2} = 3.40$, $pK_{a3} = 8.72$; L-Met: $pK_{a1} = 2.28$, $pK_{a2} = 9.21$). Therefore, substitution reactions involving these ligands represent complex processes consisting of a series of reactions, as shown in Scheme 1 for the thiols and Scheme 2 for the thioethers.

Based on Schemes 1 and 2, it could be concluded that the substitution process depends on pH. In previous studies,[25] it

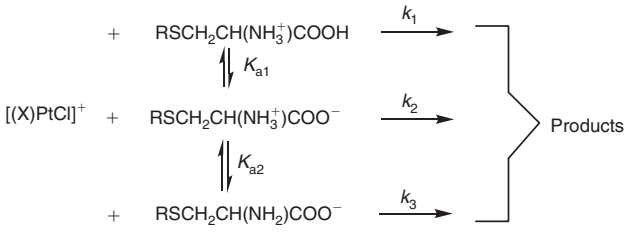
Table 1. Rate constants and activation parameters for the substitution reactions of $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ complexes with *S*-Met-L-Cys, L-Cys, GSH and L-Met in 0.1 M $NaClO_4$ and 10 mM NaCl

	T [K]	$10^2\,k_2$ [$M^{-1}\,s^{-1}$]	k_{-2} [Cl^-] [$M^{-1}\,s^{-1}$]	$\Delta H_2^{\neq}$ [kJ mol^{-1}]	$\Delta S_2^{\neq}$ [J $K^{-1}\,mol^{-1}$]
$[(TL^{tBu})PtCl]^+$					
***S*-Met-L-Cys**	288.0	3.2 ± 0.1	$(3.4 \pm 0.1)10^{-4}$		
	298.0	8.7 ± 0.3	$(4.13 \pm 0.20)10^{-3}$	9 ± 0.3	-263 ± 1
	308.0	12.5 ± 0.1	$(1.34 \pm 0.20)10^{-2}$		
GSH	298.0	3.8 ± 0.4	$(1.02 \pm 0.20)10^{-2}$		
L-Cys	288.0	2.3 ± 0.3	$(8.13 \pm 0.50)10^{-4}$		
	298.0	2.0 ± 0.1	$(2.25 \pm 0.20)10^{-3}$	48 ± 13	-120 ± 40
	308.0	1.7 ± 0.1	$(4.44 \pm 0.20)10^{-2}$		
L-Met	298.0	5.9 ± 0.1	$(5.01 \pm 0.10)10^{-2}$		
$[Pt(tpdm)Cl]^+$					
***S*-Met-L-Cys**	298.0	12.1 ± 0.2	$(8.4 \pm 0.1)10^{-2}$		
GSH[A]	298.0	1.79 ± 0.01	$(5.2 \pm 0.8)10^{-3}$	48 ± 4	-118 ± 13
L-Cys	288.0	2.92 ± 0.10	$(1.6 \pm 0.8)10^{-2}$	30 ± 1	-185 ± 3
	298.0	4.5 ± 0.3	$(2.2 \pm 0.3)10^{-2}$		
	308.0	7.04 ± 0.30	$(2.8 \pm 0.2)10^{-2}$		
L-Met[A]	298.0	6.21 ± 0.05	$(9.9 \pm 0.3)10^{-3}$	31 ± 3	-164 ± 9

[A]Ref. [11].



Scheme 1. X = TL^{tBu}, tpdm.



Scheme 2. X = TL^{tBu}, tpdm.

was shown that changes in acidity in the pH range from 1 to 6 have little influence on the reaction rate constants. In the present study, the pH was ~5; hence, in solution, only the dissociation of the –COOH groups of the studied ligands occurs, which does not influence the reaction rate, since the thiol and thioether groups are responsible for complex formation. In the case of GSH, at the employed pH, both the –COOH and the thiol groups ($pK_{a2} = 2.05$) are dissociated. The substitution process with thiols is accompanied by deprotonation of the thiols. In addition, the transition state is stabilised by the formation of intramolecular hydrogen bonds involving the proton from the thiol group.[20–22] Thus, the reactions with rate constants k_2, k_3 and k_4 contribute less than 5 % to the overall kinetics, which is within the limits of error of the kinetics measurements and the determinations of the activation parameters.

From Table 1, it can be seen that the second order rate constants, k_2, for the studied reactions of the complexes, $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$, are higher for the substitution reactions of the $[Pt(tpdm)Cl]^+$ complex. The low reactivity of the studied $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ is the result of the bulkiness of the *tert*-butyl-groups. In addition, this complex contains bulky imidazolin-2-imine moieties with a strong electron-donating capacity. Hence, the low reactivity of the complex $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ can be attributed to the both the electronic and structural properties of this compound.[16]

The studied complex $[Pt(tpdm)Cl]^+$ had almost the same order of reactivity as the $[Pt(dien)Cl]^+$ (dien = diethyenetriamine) complex (second order rate constant for the reaction between $[Pt(dien)Cl]^+$ complex and L-Met at 298 K in 0.1 M $NaClO_4$ with 10 mM NaCl was $6.22 \times 10^{-2}\,M^{-1}\,s^{-1}$[8]). The $[Pt(tpdm)Cl]^+$ complex is structurally similar to the complex $[Pt(terpy)Cl]^+$ (terpy = 2,2′:6′,2″-terpyridine), both of the complexes have three pyridine units in the inert ligand, the only difference being that the complex with the tpdm ligand has CH_2 group bridges between the adjacent pyridine groups. It is already known that the $[Pt(terpy)Cl]^+$ complex has unusually high reactivity compared with many other Pt^{II} complexes.[26] The high reactivity of the $[Pt(terpy)Cl]^+$ complex was explained in earlier studies by the π back-bonding effect of the aromatic in-plane coordinated pyridine ligands.[26] However, in the corresponding complex with tpdm chelate, the pyridine ligands are forced to be out-of-plane with the metal centre because of the tetrahedral arrangement around the bridged methylene groups. This should have a significant effect on its π back-bonding ability and its reactivity. This was indeed found to be the case. The reported crystal structure of the structurally similar [Pd(tpdm)Cl]Cl complex clearly shows the deviations from the planar arrangement found for the corresponding terpyridine complex.[11] DFT calculations were performed in an effort to account for the orders of magnitude difference in the reactivity of the tpdm and terpy complexes.[11]

Conclusions

In conclusion, obtained results show that the substitution reactions of two sterically hindered Pt^{II} complexes ($[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$) proceed via an associative mechanism, as

supported by negative values of the entropy of activation. The studied S-bonding ligands are very good nucleophiles for these complexes, and the order of reactivity is: *S*-Met-L-Cys > L-Met > GSH > L-Cys. The thioethers (*S*-Met-L-Cys and L-Met) are more reactive than thiols (GSH and L-Cys). These results also show that the complex with tpdm ligand is more reactive than complex with TL^{tBu} ligand.

Experimental

Chemicals and Solutions

S-Methyl-L-cysteine (Sigma), L-cysteine (Acros), glutathione (Sigma) and L-methionine (Sigma) were used without further purification. [(TL^{tBu})PtCl]ClO_4 and [Pt(tpdm)Cl]Cl complexes (where TL^{tBu} is 2,6-bis[(1,3-di-*tert*-butylimidazolin-2-imino) methyl]pyridine and tpdm is tripyridinedimethane) were prepared according to published procedures.[11,15] The preparation of the ligands TL^{tBu} and tpdm was also previously published.[27,28] All the other chemicals were of the highest purity commercially available and were used without further purification. Elemental analysis and the ^{1}H NMR spectra of the complexes were in good agreement with previously obtained data.[11,15] Ultra-pure water was used in all experiments. Nucleophile stock solutions were prepared shortly before use.

Instrumentation and Measurements

UV-vis spectra and kinetic traces were recorded on a Perkin-Elmer Lamda 35 double-beam spectrophotometer in thermostated 1.00 cm quartz Suprasil cells. The 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. ^{1}H NMR measurements were performed on a Varian Gemini 2000, 200 MHz NMR spectrometer.

Kinetics Measurements

The kinetics of the substitution of the coordinated chloride 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 the 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_{obsd}, represent an average value of four to six independent kinetic runs for each experimental condition. All substitution reactions were studied in 0.1 M $NaClO_4$, which was chosen because it is well known that perchlorate ions do not coordinate to Pt^{II} or Pd^{II} in aqueous solution.[29] Some of the reactions were studied at three temperatures (288, 298 and 308 K). The experimental data are summarised in the Supplementary Material (Tables S1–S6). The values of the constants and other thermodynamic parameters were determined using the computer programs *Microsoft Excel 2007* and *OriginPro 8*.

Supplementary Material

Observed *pseudo*-first order rate constants under various conditions are available as Supplementary Material on the Journal's website.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge financial support from the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Project No. 172011.

References

[1] E. Alessio, in *Bioinorganic Medicinal Chemistry* (Ed. E. Alessio) **2011**, Ch. 1–4 (John Wiley & Sons Inc.: New York, NY).
[2] J. Reedijk, *Pure Appl. Chem.* **2011**, *83*, 1709. doi:10.1351/PAC-CON-10-11-03
[3] J. Reedijk, *Macromol. Symp.* **2008**, *270*, 193. doi:10.1002/MASY.200851023
[4] M. A. Jakupec, M. Galanski, B. K. Keppler, *Rev. Phys. Biochem. Pharm.* **2003**, *146*, 1. doi:10.1007/S10254-002-0001-X
[5] M. A. Jakupec, M. Galanski, B. K. Keppler, *Met. Ions Biol. Syst.* **2004**, *42*, 179.
[6] E. Volckova, L. P. Dudones, R. N. Bose, *Pharm. Res.* **2002**, *19*, 124. doi:10.1023/A:1014268729658
[7] B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, *Aust. J. Chem.* **2005**, *58*, 544. doi:10.1071/CH05033
[8] T. Soldatović, Ž. D. Bugarčić, *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 1472. doi:10.1016/J.JINORGBIO.2005.04.005
[9] Ž. D. Bugarčić, J. Rosić, B. Petrović, N. Summa, R. Puchta, R. van Eldik, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, *12*, 1141. doi:10.1007/S00775-007-0283-1
[10] B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, *J. Coord. Chem.* **2001**, *53*, 35. doi:10.1080/00958970108022599
[11] B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, A. Dees, I. Ivanović-Burmazović, F. Heinemann, R. Puchta, R. van Eldik, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 1516. doi:10.1021/IC201807A
[12] J. Reedijk, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2499. doi:10.1021/CR980422F
[13] B. Lippert, in *Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of Leading Antitumor Drugs* (Ed. B. Lippert) **1999**, pp. 183–221 (Wiley-VCH: Zurich).
[14] J. Bogojeski, Ž. D. Bugarčić, R. Puchta, R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 5439. doi:10.1002/EJIC.201000654
[15] M. Đurović, J. Bogojeski, B. Petrović, D. Petrović, F. W. Heinemann, Ž. D. Bugarčić, *Polyhedron* **2012**, *41*, 70. doi:10.1016/J.POLY.2012.04.024
[16] J. Bogojeski, R. Jelić, D. Petrović, E. Herdtweck, P. G. Jones, M. Tamm, Ž. D. Bugarčić, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6515. doi:10.1039/C1DT10289C
[17] A. Mijatović, J. Bogojeski, B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, *Inorg. Chim. Acta* **2012**, *383*, 300. doi:10.1016/J.ICA.2011.11.031
[18] M. L. Tobe, J. Burgess, in *Inorganic Reaction Mechanism* (Eds M. L. Tobe, J. Burgess) **1999**, p. 70, p. 364 (Longman: London).
[19] G. Annibale, L. Cattalini, L. Canovese, G. Michelon, G. Marangoni, M. L. Tobe, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 975. doi:10.1021/IC00148A026
[20] T. Shi, L. I. Elding, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 735. doi:10.1021/IC950935U
[21] Ž. D. Bugarčić, F. W. Heinemann, R. van Eldik, *Dalton Trans.* **2004**, 279. doi:10.1039/B311056G
[22] Ž. D. Bugarčić, B. V. Đorđević, *Monatsh. Chem.* **1998**, *129*, 1267.
[23] Ž. D. Bugarčić, G. Liehr, R. van Eldik, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, 951. doi:10.1039/B106038B
[24] J. M. Teuben, M. Rodrugez, I. Zubiri, J. Reedijk, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**, 369. doi:10.1039/A908135F
[25] V. Vasić, M. Čakar, J. Savić, B. Petrović, J. Nadeljković, Ž. D. Bugarčić, *Polyhedron* **2003**, *22*, 279. doi:10.1016/S0277-5387(02)01307-4
[26] A. Hofmann, D. Jaganyi, O. Q. Munro, G. Liehr, R. Van Eldik, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 1688. doi:10.1021/IC020605R
[27] D. Petrović, L. M. R. Hill, P. G. Jones, W. B. Tolman, M. Tamm, *Dalton Trans.* **2008**, 887. doi:10.1039/B715590E
[28] A. N. Vedernikov, J. C. Huffman, K. G. Caulton, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 6244. doi:10.1021/IC025708O
[29] T. G. Appleton, J. R. Hall, S. F. Ralph, C. S. M. Thompson, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 3514. doi:10.1021/IC00190A016

Complex formation reactions of two sterically hindered platinum(II) complexes with some N-bonding ligands

Enisa Selimović, Tatjana Vulović, Biljana Petrović, Živadin D. Bugarčić & Jovana Bogojeski

Transition Metal Chemistry

ISSN 0340-4285
Volume 38
Number 6

Transition Met Chem (2013) 38:635-640
DOI 10.1007/s11243-013-9731-7



Springer

Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer Science +Business Media Dordrecht. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".



Author's personal copy

Transition Met Chem (2013) 38:635–640
DOI 10.1007/s11243-013-9731-7

Complex formation reactions of two sterically hindered platinum(II) complexes with some N-bonding ligands

Enisa Selimović · Tatjana Vulović · Biljana Petrović · Živadin D. Bugarčić · Jovana Bogojeski

Received: 8 April 2013 / Accepted: 9 May 2013 / Published online: 24 May 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Abstract The kinetics of the complex formation reactions of two $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ complexes (TL^{tBu} = 2,6-bis[(1,3-di-*tert*-butylimidazolin-2-imino)methyl]pyridine and tpdm = terpyridinedimethane) with N-donor ligands, L-histidine (L-His), inosine (Ino), inosine-5′-monophosphate (5′-IMP) and guanosine-5′-monophosphate (5′-GMP), were studied. All reactions were studied under *pseudo*-first-order conditions as a function of nucleophile concentration and temperature in aqueous 0.1 M $NaClO_4$ solution in the presence of 10 mM NaCl using variable-temperature Uv–Vis spectrophotometry. The order of reactivity of the studied ligands is L-His > Ino > 5′-GMP > 5′-IMP. This order of reactivity is in relation to their electronic properties and structures. The mechanism of the substitution reactions is associative in nature as supported by the negative entropy of activation.

Keywords Pt(II) · Substitution · Kinetics · Mechanism · Reactivity

Abbreviations

TL^{tBu}	2,6-bis[(1,3-di-*tert*-butylimidazolin-2-imino)methyl]pyridine
Tpdm	Terpyridinedimethane

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11243-013-9731-7) contains supplementary material, which is available to authorized users.

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

T. Vulović
Faculty of Medicine, University of Kragujevac, S. Markovića 69, 34000 Kragujevac, Serbia

Introduction

Presently, platinum drugs are playing a major role within established medical treatments of cancer [1–6]. The clinical success of cisplatin has produced an interest in synthesis of structurally different platinum metallodrugs that might exhibit better cytotoxic properties, hopefully accompanied by different antitumor specificities. Thus, various classes of platinum compounds were intensely investigated during the last decades as potential anticancer agents. Although the precise mechanism of the antitumor 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 [1–6].

Complexes of Pt(II) with inert tridentate nitrogen-donor ligands such as diethylenetriamine (dien), bis-(2-pyridylmethyl)amine (bpma), 2,2′:6′,2″-terpyridine (terpy), 2,6-bis[(1,3-di-tert-butylimidazolin-2-imino)methyl]pyridine (TL^{tBu}) and tripyridinedimethane (tpdm) are very useful models for studying the ligand substitution reactions of square-planar complexes [7–11]. These complexes are monofunctional, and they do not show antitumor activity, but they are very useful for the study of the first step of the reaction with biologically important molecules. In the reported studies, there are several different nucleophiles among which are L-histidine, amino acid, a part of most proteins and guanosine-5′-monophosphate a fragment of DNA, the classic targets for Pt(II) complexes [1–6].

The study of complex formation between $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ and L-histidine (L-His), inosine (Ino), inosine-5′-monophosphate (5′-IMP) and guanosine-5′-monophosphate (5′-GMP) (Fig. 1) in aqueous 0.1 M $NaClO_4$ solution in the presence of 10 mM NaCl is reported herein. This work is an extension of the previous work on complexes

Author's personal copy

whose structures contained the tridentate ligands, TL^{tBu} and tpdm [11–15].

Results and discussion

The substitution reactions of two different complexes $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ with L-His, 5′-GMP, Ino and 5′-IMP were studied spectrophotometrically in 0.1 M $NaClO_4$ to which was added 10 mM NaCl to prevent the spontaneous hydrolysis of the complexes. These substitution reactions can be represented by Eq. 1.

$$[(X)PtCl]^+ + L \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} [(X)PtL]^{2+} + Cl^- \quad (1)$$

X = TL^{tBu}, tpdm, L = L-His, 5′-GMP, 5′-IMP and Ino

The observed time trace at suitable wavelengths was fitted to a one-exponential function as shown in Fig. 2.

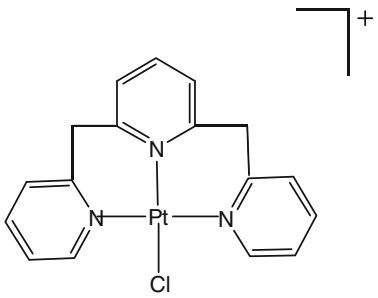
It is generally known that substitution reactions of square-planar complexes proceed according to the two parallel associative reaction paths [16]. One path involves the rate-determining formation of the solvent complex followed by rapid substitution of the coordinated solvent. The other reaction involves a direct nucleophilic attack by the entering ligand. In the present study, all reactions were performed in the presence of 10 mM NaCl whereby the solvolysis pathway was suppressed, while the direct nucleophilic attack proceeded in a reversible manner (Equation 1). Under *pseudo*-first-order conditions, these rate constants can be determined from a plot of the linear dependence of k_{obsd} versus the total nucleophile concentration, according to Eq. (2). The slope of the line represents k_2, whereas the intercept represents $k_{-2}[Cl^-]$. All kinetic data are summarized in Tables S1–S7 (Electronic Supporting Information, ESI).

The observed *pseudo*-first-order rate constants, k_{obsd}, as a function of the total concentration of nucleophile are described by Eq. (2).

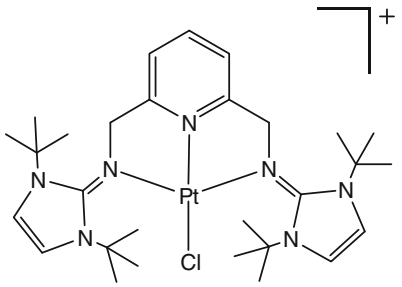
$$k_{obsd} = k_{-2}[Cl^-] + k_2[L] \quad (2)$$

the dependencies of k_{obsd} on the nucleophile concentration are shown in Figs. 3 and 4.

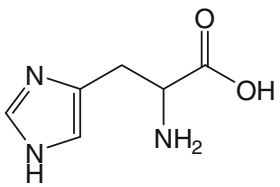
Fig. 1 Structure of studied complexes and ligands



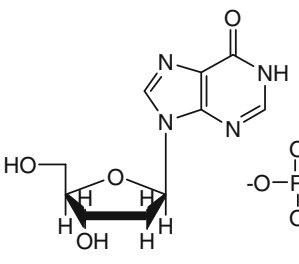
[Pt(tpdm)Cl]+



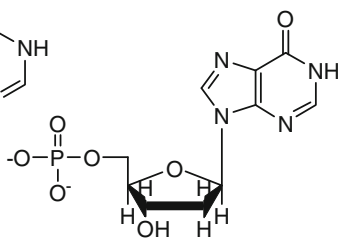
[(TL^{tBu})PtCl]+



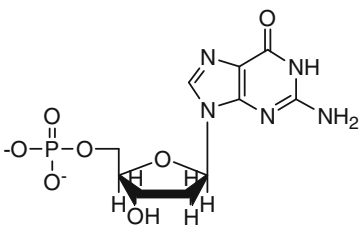
L-Histidine



Inosine



Inosine-5'-monophosphate



Guanosine-5'-monophosphate

Author's personal copy

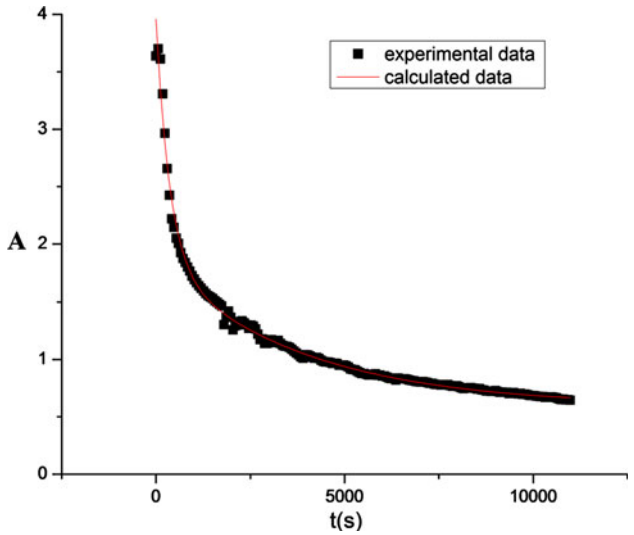


Fig. 2 Absorbance–time trace recorded for the reaction of $[P(tpdm)Cl]^+$ with L-His (3.64×10^{-3} M) at 325 nm, $T = 298$ K in 0.1 M $NaClO_4$ and 10 mM NaCl

For all the studied substitution reactions, the dependencies of k_{obsd} on the nucleophile concentration were linear. The second-order rate constants, k_2, characterizing the formation of the product complex, were evaluated from the slopes of the plots of k_{obsd} versus [nucleophile] (Figs. 3, 4). The use of three reaction temperatures allowed the determination of the activation parameters $\Delta H_2^{\neq}$ and $\Delta S_2^{\neq}$ for the forward reactions for the substitution reactions of the L-His. The results are summarized in Table 1.

Nitrogen-donor ligands L-His, 5′-GMP, Ino and 5′-IMP according to Table 1 are good entering ligands for Pt(II) complexes. From a comparison of the values of the second-order rate constants for the forward reaction step, k_2, it can be concluded that the order of reactivity of the used ligands is L-His > Ino > 5′-GMP > 5′-IMP. The heterocyclic imidazole system in L-His is a bidentate ligand with two competitive donor atoms N_1 and N_3. In biological systems, there are numerous metalloproteins in which a metal ion is bound to a histidine imidazole through N_1 or N_3 [17, 18]. The purines, Ino, 5′-IMP and 5′-GMP have two metal ion binding sites, versus N_1 and N_7, but binding through the N_7 position in a neutral or weakly acidic medium has been verified [19–22].

The kinetic data (Table 1) clearly show that Ino is more reactive toward the studied complexes than either 5′-IMP or 5′-GMP, which could be due to a partial pre-association of the metal complexes with the phosphate groups in 5′-IMP and 5′-GMP by which the actual substitution process is slowed down. Such an interaction could be purely electrostatic in nature and diminishes the effective concentration of the phosphate containing nucleophiles. The order of reactivity of the used ligands is in a good agreement with the results for the same nucleophiles reacting with $[Pt(smc)(H_2O)_2]^+$ (smc = *S*-methyl-L-cysteine) [23], $[Pd(met)Cl_2]^+$ (met = L-methionine) [24] and $[Pd(pic)(H_2O)_2]^{2+}$ (pic = 2-picolylamine) [25]. On the contrary, in the reactions of $[Pt(terpy)(H_2O)]^{2+}$ with the same nucleophiles, the most reactive one was 5′-GMP, but in this case, all reactions were performed at pH = 2.5, so the phosphate residue on the nucleotide was fully protonated. In the case of Ino, no phosphate group is present and this interaction does not occur [8].

On the basis of the data reported in Table 1, the most reactive N-donor nucleophile is L-histidine. The difference in the reactivity of the used nucleophiles can be accounted for in terms of electronic and steric effects. L-His is

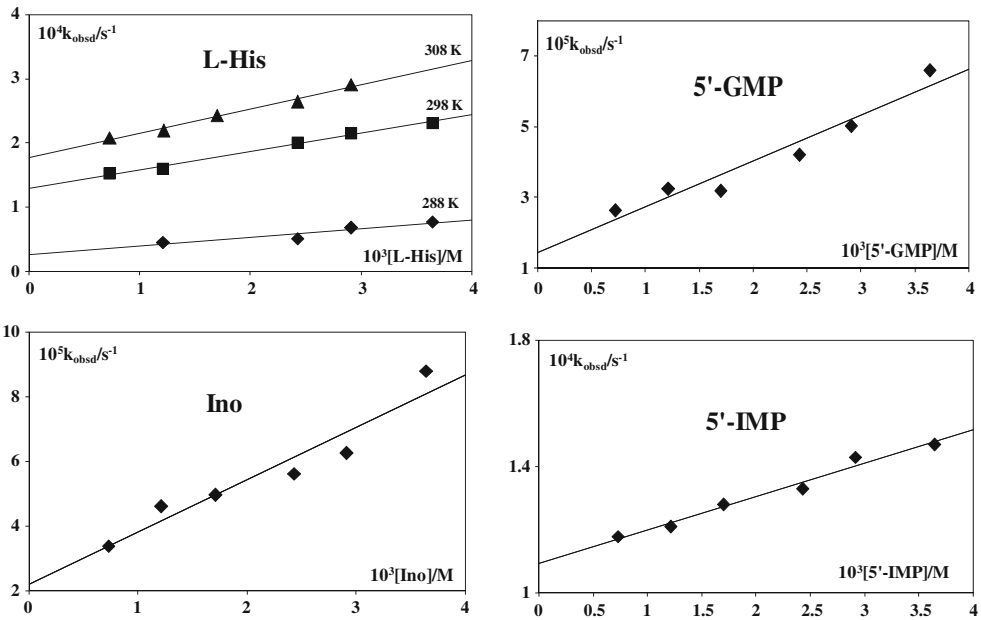


Fig. 3 *Pseudo*-first-order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ with L-His, 5′-GMP, Ino and 5′-IMP in 0.1 M $NaClO_4$ and 10 mM NaCl

Author's personal copy

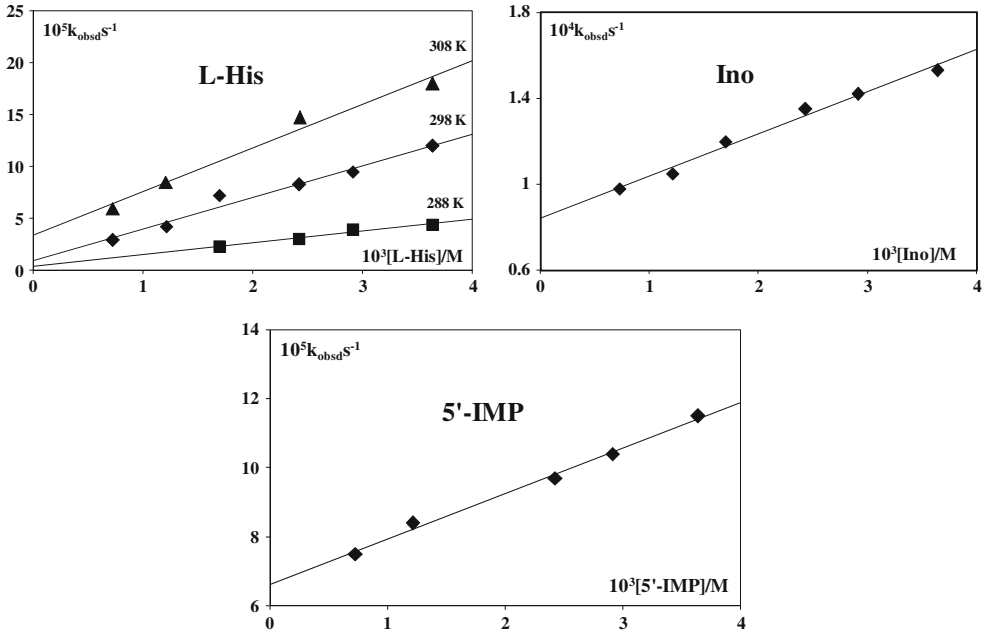


Fig. 4 *Pseudo*-first-order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of $[P(tpdm)Cl]^+$ with L-His, Ino and 5′-IMP in 0.1 M $NaClO_4$ and 10 mM NaCl

Table 1 Rate constants and activation parameters for the substitution reactions of $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$ complexes with L-His, 5′-GMP, Ino and 5′-IMP in 0.1 M $NaClO_4$ and 10 mM NaCl

	$[(TL^{tBu})PtCl]^+$				$[Pt(tpdm)Cl]^+$			
T(K)	10^2k_2 $M^{-1}s^{-1}$	$10^3k_{-2}[Cl^-]$ $M^{-1}s^{-1}$	$\Delta H_2^{\neq}$ $kJmol^{-1}$	$\Delta S_2^{\neq}$ $JK^{-1}mol^{-1}$	10^2k_2 $M^{-1}s^{-1}$	$10^3k_{-2}[Cl^-]$ $M^{-1}s^{-1}$	$\Delta H_2^{\neq}$ $kJmol^{-1}$	$\Delta S_2^{\neq}$ $JK^{-1}mol^{-1}$
L-His								
288	1.3 ± 0.04	2.6 ± 0.1			1.12 ± 0.1	0.42 ± 0.2		
298	2.9 ± 0.03	12.9 ± 0.1	37 ± 1	−166 ± 4	3.04 ± 0.1	1.0 ± 0.2	46 ± 1	−135 ± 4
308	3.8 ± 0.03	17.7 ± 0.5			4.19 ± 0.2	3.39 ± 0.1		
5′-GMP								
298	1.38 ± 0.05	1.4 ± 0.1	/	/	1.63 ± 0.04[a]	/	/	/
Ino								
298	1.6 ± 0.2	2.3 ± 0.2	/	/	2.0 ± 0.01	8.4 ± 0.03	/	/
5′-IMP								
298	1.06 ± 0.01	10.9 ± 0.2	/	/	1.32 ± 0.06	6.63 ± 0.1	/	/

[a] Ref. [11]

sterically the least crowded, and that can be the reason why the reactions with L-His are fastest.

The complexes $[Pt(tpdm)Cl]^+$ and $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ had almost the same order of reactivity as the $[Pt(dien)Cl]^+$ (dien = diethylenetriamine) complex (Table 2). On the contrary, the complex $[Pt(bpma)Cl]^+$ (bpma = bis(2-pyridylmethyl)amine) reacts with 5′-GMP much faster than the studied complexes (Table 2). The low reactivity of the complex $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ can be attributed to the structural properties of this complex, namely this complex in the structure contains bulky *tert*-butyl-imidazolin-2-imine moieties. In addition, this complex contains bulky imidazolin-2-imine moieties with a strong electron-donating capacity. The reason for the higher reactivity of the $[PtCl(bpma)]^+$ complex and especially of the $[Pt(terpy)Cl]^+$ complex is the presence of 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 [26]. The presence of π-acceptor ligands promotes the electrophilicity of the metal center and thereby the nucleophilic attack [26, 27]. The complex $[Pt(tpdm)Cl]^+$ has a three pyridine units in the inert ligand, but the tpdm ligand has CH_2 group bridges between the adjacent pyridine groups. In the complex with tpdm chelate, the pyridine ligands are forced to be out-of-plane with the metal center because of the tetrahedral arrangement around the bridged methylene groups. This has a significant effect on its π back-bonding ability and its reactivity [11].

Author's personal copy

Table 2 Second-order rate constants, k_2, for the substitution reactions of series of different $[Pt(L)Cl]^+$ complexes with 5′-GMP at 298 K

L	k_2 ($M^{-1}s^{-1}$)	Ref.
tpdm	$(1.63 \pm 0.04) \times 10^{-2}$	[11]
TL^{tBu}	$(1.38 \pm 0.05) \times 10^{-2}$	This work
dien	$(1.91 \pm 0.06) \times 10^{-2}$	[9]
Terpy	$(1.98 \pm 0.08) \times 10^{2}$	[28]
bpma	$(5.48 \pm 0.06) \times 10^{-2}$	[10]

From Table 1, it can be seen that the second-order rate constants, k_2, for the studied reactions of the complexes, $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ and $[Pt(tpdm)Cl]^+$, are higher for the substitution reactions of the $[Pt(tpdm)Cl]^+$ complex. The lower reactivity of the studied $[(TL^{tBu})PtCl]^+$ is the result of the greater bulkiness of the this complex.

The temperature dependence of these rate constants for the reactions with L-His enabled the calculation of the activation enthalpies and entropies by use of the Eyring equation. Rate constants and activation parameters derived from these experiments are summarized in Table 1.

Conclusions

The substitution reactions of two Pt(II) complexes containing different chelating inert ligands with selected nucleophiles were investigated. These results show that the complex with tpdm ligand reacts faster than the complex with TL^{tBu} ligand, which could be explained by the bulkiness of the inert TL^{tBu} tridentate ligands. The order of reactivity of entering ligands is L-His>Ino>5′-GMP>5′-IMP which is in correlation with their electronic and structural properties. The mechanism of the substitution reactions is associative, as indicated by the negative values of $\Delta S^{\neq}$.

Experimental

Chemicals and solutions

Guanosine-5′-monophosphate sodium salt (Acros), L-histidine (Sigma), Inosine (Acros) and Inosine-5′- monophosphate disodium salt (Sigma) were used without further purification. $[(TL^{tBu})PtCl]ClO_4$ and [Pt(tpdm)Cl]Cl complexes (where TL^{tBu} is 2,6-bis[(1,3-di-*tert*-butylimidazolin-2-imino)methyl]pyridine and tpdm is tripyridinedimethane) were prepared according to published procedures [11, 13]. The preparation of the ligands TL^{tBu} and tpdm was also previously published [29, 30]. All the other chemicals were of the highest purity commercially available and were used without further purification. Elemental analysis and the ^1H NMR spectra of the complexes were in good agreement with previously obtained data [11, 13]. Ultra-pure water was used in all experiments. Nucleophile stock solutions were prepared shortly before use.

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. The temperature was controlled to $\pm$ 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. ^1H NMR measurements were performed on a Varian Gemini 2000, 200 MHz NMR spectrometer.

Kinetics measurements

The kinetics of the substitution of the coordinated chloride 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 the 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_{obsd}, represent an average value of four to six independent kinetic runs for each experimental condition. All substitution reactions were studied in 0.1 M $NaClO_4$, which was chosen because it is well known that perchlorate ions do not coordinate to Pt(II) or Pd(II) in aqueous solution [31]. Some of the reactions were studied at three temperatures (288, 298 and 308 K). The experimental data are summarized in the Electronic Supporting Information (Tables S1–S7). The values of the constants and other thermodynamic parameters were determined using the computer programs Microsoft Excel 2007 and OriginPro 8.

Acknowledgments The authors gratefully acknowledge financial support from the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Project No. 172011.

References

1. Lippert B (1999) Cisplatin, chemistry and biochemistry of leading antitumor drugs. Wiley-VCH, Zuruch, pp 183–221
2. Alessio E (2011) Bioinorganic medicinal chemistry. Wiley-VCH, Weinheim Chapters 1–4
3. Reedijk J (2011) Pure Appl Chem 83:1709–1719

Author's personal copy

4. Butler JS, Sadler PJ (2013) Cur Opin Chem Biol. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.01.004
5. Jakupec MA, Galanski M, Arion VB, Hartinger CG, Keppler BK (2008) Dalton Trans 2:183
6. Bruijnincx PCA, Sadler PJ (2009) Adv Inorg Chem 61:1–62
7. Bugarčić ŽD, Bogojeski J, Petrović B, Hochreuther S, van Eldik R (2012) Dalton Trans 41:12329–12636
8. Bugarčić ŽD, Heinemann FW, van Eldik R (2004) Dalton Trans 279–286
9. Soldatović T, Bugarčić ŽD (2005) J Inorg Biochem 99:1472–1479
10. Bugarčić ŽD, Rosić J, Petrović B, Summa N, Puchta R, van Eldik R (2007) J Biol Inorg Chem 12:1141–1150
11. Petrović B, Bugarčić ŽD, Dees A, Ivanović-Burmazović I, Heinemann F, Puchta R, van Eldik R (2011) Inorg Chem 51:1516–1529
12. Bogojeski J, Jelić R, Petrović D, Herdtweck E, Jones PG, Tamm M, Bugarčić ŽD (2011) Dalton Trans 40:6515–6523
13. Đurović M, Bogojeski J, Petrović B, Petrović D, Heinemann FW, Bugarčić ŽD (2012) 41:70–76
14. Mijatović A, Bogojeski J, Petrović B, Bugarčić ŽD (2012) Inorg Chem Acta 283:300–304
15. Selimović E, Petrović B, Čanović D, Bugarčić ŽD, Bogojeski J (2013) Aust J Chem. doi:10.1071/CH12218
16. Tobe ML, Burgess J (1991) Inorganic reaction mechanisms. Addison Wesley Longman, Essex Chapter 3
17. Perutz M (1970) Nature 228:726–734
18. Tainer JA, Getzoff ED, Beem KM, Richardson JS, Richardson DC (1982) J Mol Biol 160:181–217
19. Arpalahti J, Lehikoinen P (1990) Inorg Chem 29:2564–2567
20. Arpalahti J, Lippert B (1990) Inorg Chem 29:104–110
21. Caradonna JP, Lippard SJ Inorg Chem 27:1454–1466
22. Mikola M, Kilika KD, Arpalahti J (2000) Chem Eur J:3404–3413
23. Bugarčić ŽD, Soldatović T, Jelić R, Alguero B, Grandas A (2004) Dalton Trans:3869–3877
24. Rau T, van Eldik R (1997) Inorg Chem 36:1454–1463
25. Prinsloo FF, JPienaar JJ, van Eldik R (1995) J Chem Soc Dalton Trans:3581–3589
26. Hofmann A, Jaganyi D, Munro QO, Liehr G, van Eldik R (2003) Inorg Chem 42:1688–1700
27. Jaganyi D, Hofmann A, van Eldik R (2001) Angew Chem Int Ed Engl 40:1680–1683
28. Petrović D, Stojimirović B, Petrović B, Bugarčić ZM, Bugarčić ŽD (2007) Bioorgan Med Chem 15:4203–4211
29. Petrović D, Hill LMR, Jones PG, Tolman WB, Tamm M (2008) Dalton Trans:887–894
30. Vedernikov AN, Huffman JC, Caulton KG (2002) Inorg Chem 41:6244–6248
31. Appleton TG, Hall JR, Ralph SF, Thompson CSM (1984) Inorg Chem 23:3521–3525

Substitution reactions of dinuclear platinum(II) complexes with some nitrogen nucleophiles

Enisa Selimović, Tanja Soldatović, Jovana Bogojeski & Živadin D. Bugarčić

Transition Metal Chemistry

ISSN 0340-4285
Volume 40
Number 2

Transition Met Chem (2015) 40:137-144
DOI 10.1007/s11243-014-9899-5



Springer

Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer International Publishing Switzerland. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com”.



Author's personal copy

Transition Met Chem (2015) 40:137–144
DOI 10.1007/s11243-014-9899-5

Substitution reactions of dinuclear platinum(II) complexes with some nitrogen nucleophiles

Enisa Selimović · Tanja Soldatović · Jovana Bogojeski · Živadin D. Bugarčić

Received: 15 October 2014 / Accepted: 6 November 2014 / Published online: 13 November 2014
© Springer International Publishing Switzerland 2014

Abstract The substitution reactions of dinuclear Pt(II) complexes [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl$}$_2$(μ-pyrazine)]$^{2+}$ (**Pt1**), [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl$}$_2$(μ-4,4′-bipyridyl)]$^{2+}$ (**Pt2**), and [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl$}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-pyridyl)ethane)]$^{2+}$ (**Pt3**) and their aqua analogues with nitrogen-donor nucleophiles 1,2,4-triazole, L-histidine (His), and inosine-5′-monophosphate (5′-IMP) were studied under *pseudo*-first-order conditions as a function of concentration and temperature using UV–Vis spectrophotometry. The reactions of the chlorido complexes were followed in aqueous 25 mM Hepes buffer in the presence of 20 mM NaCl at pH = 7.2, whilst the reactions of the aqua complexes were studied at pH 2.5 in 0.01 M $NaClO_4$. Two consecutive reaction steps, which both depend on the nucleophile concentration, were observed. The order of reactivity of the investigated complexes is **Pt1** > **Pt2** > **Pt3,** and the order of reactivity of the nucleophiles is 1,2,4-triazole > His > 5′-IMP for both steps. The results indicate that the bridging ligand has an influence on the reactivity of the complexes toward nucleophiles.

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11243-014-9899-5) contains supplementary material, which is available to authorized users.

E. Selimović · T. Soldatović
Department of Chemical-Technological Sciences, State University of Novi Pazar, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Serbia

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

Introduction

Anticancer drugs such as cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin are widely used for the treatment of different types of cancer [1–5]. However, these complexes also show harmful side effects such as nephrotoxicity, ototoxicity, neurotoxicity, cardiotoxicity [1–5]. Many studies have been focused on the search for new classes of platinum complexes with improved antitumor properties. The third-generation antitumor complexes such as sterically hindered and polynuclear Pt(II) complexes, sulfur-containing platinum complexes, and orally active Pt(IV) complexes are now being tested in preclinical trials [6–9].

The development of Pt(II) complexes with more than one metal center, mainly dinuclear Pt(II) complexes, started with the group of N. Farrell [10]. Dinuclear Pt(II) complexes form with DNA products that differ significantly in structure, sequence specificity, and formation kinetics from those of cisplatin [11]. The polynuclear Pt(II) complexes consist of either two or three platinum centers linked through a flexible bridge such as an aliphatic chain [12], or a rigid bridge that consists, for example, of azole moieties [13]. These polynuclear Pt(II) complexes are sufficiently flexible to provide 1,2-intrastrand cross-links with a minimal distortion of the DNA [11]. The biological activity of polynuclear Pt(II) complexes depends on their geometry and also on the nature of the linkers connecting the Pt(II) centers [14–16].

The five-membered azole rings with two or three nitrogen atoms have been found to be very important in bioinorganic chemistry. They can inhibit the binding of CO to the sodium dithionite-reduced ferrous cytochrome and can affect the activity of reconstituted P-450 by binding to the cytochrome in a 1:1 stoichiometry [17]. The imidazole group of L-histidine acts as a ligand in those hemoproteins

Author's personal copy

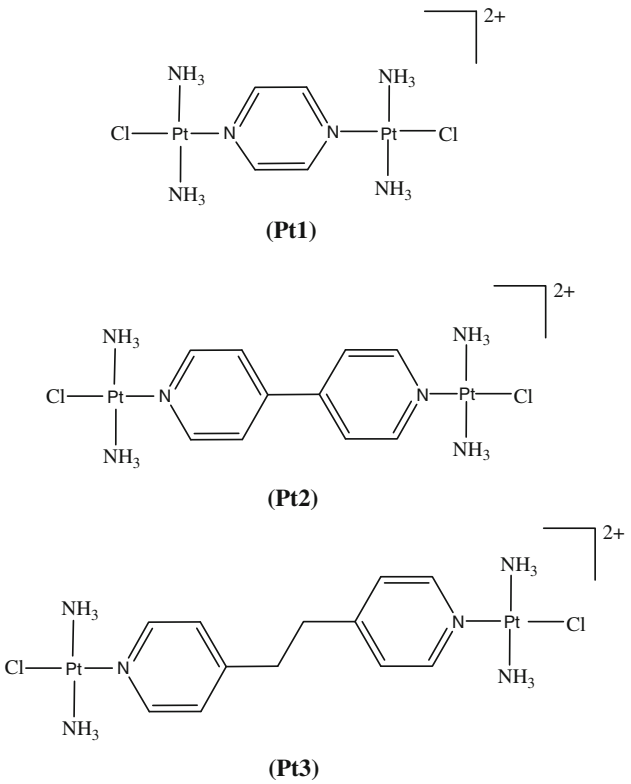


Fig. 1 Structures of the dinuclear platinum(II) complexes

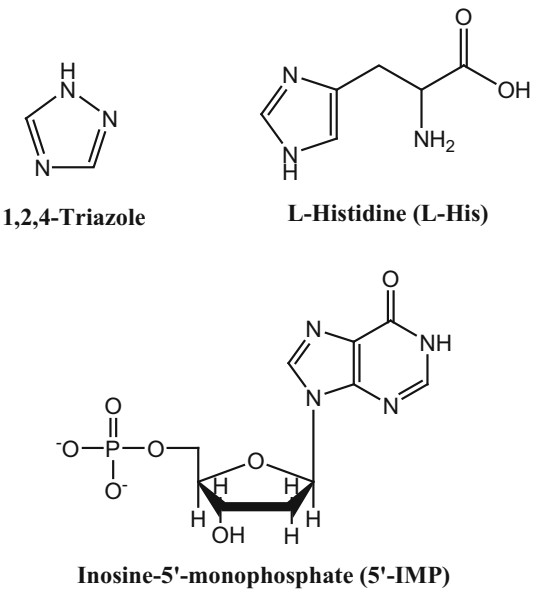
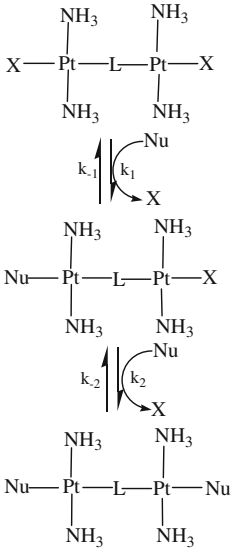


Fig. 2 Structures of the investigated nucleophiles along with the adopted abbreviations

that are responsible for the uptake of oxygen as well as electron transfer cytochromes [18].

As an extension of our earlier work with dinuclear Pt(II) complexes [19], we have carried out a kinetic study of complex formation between three dinuclear Pt(II) complexes (Fig. 1) and different nucleophiles (Fig. 2) in aqueous solution at pH 2.5 and 7.2 using UV–Vis spectrophotometry. The results are reported in this paper. Our aims were to throw more light on the mechanism of interactions of dinuclear Pt(II) complexes with N-donor ligands and also provide a better understanding of the influence of the bridging ligands on the mechanisms of platinum metabolism.

Scheme 1 $X = H_2O, Cl^-$; Nu = 1,2,4-triazole, His, 5′-IMP; L = pyrazine, 4,4′-bipyridyl, 1,2-*bis*(4-pyridyl)ethane



Results and discussion

The substitution reactions of dinuclear Pt(II) complexes with nitrogen-donor nucleophiles were investigated by UV–Vis spectrophotometry by following the change in absorbance at suitable wavelengths as a function of time at 310 K. The proposed reaction pathways for all the observed substitution processes are presented in Scheme 1. The substitution reactions of all three dinuclear Pt(II) complexes proceeded in two successive reaction steps that were both dependent on the nucleophile concentration.

Reactions of the diaqua complexes

The substitution reactions of the diaqua complexes were studied at pH 2.5 (0.01 M $NaClO_4$). At this pH, the aqua complexes exist in the diaqua form, based on their pK_a values [19]. The complex formation reactions involve two reaction steps determined by the second-order rate constants k_1 and k_2 [k_2 and k_1 for direct substitution of a water ligand by nucleophile, and k_{-1} and k_{-2} for anation (Scheme 1)].

Author's personal copy

Table 1 Second-order rate constants for the reactions of the diaqua **Pt1**, **Pt2,** and **Pt3** complexes with 1,2,4-triazole, His, and 5′-IMP at pH = 2.5 (0.01 M $NaClO_4$) and 310 K

Complex **Pt1**				
First step	$10^2\ k_1$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2\ k_{-1}$ (s^{-1})	$\Delta H_1^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_1^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	446.5 ± 37.2	0.047	60 ± 2	−39 ± 5
His	149.1 ± 7.6	0.026	–	–
5′-IMP	24.8 ± 1.6	0.009	–	–
Second step	$10^2\ k_2$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2\ k_{-2}$ (s^{-1})	$\Delta H_2^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_2^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	20.1 ± 2.1	0.043	82 ± 2	−55 ± 6
His	4.2 ± 0.4	0.018	–	–
5′-IMP	2.7 ± 0.1	0.006	–	–
Complex **Pt2**				
First step	$10^2\ k_1$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2\ k_{-1}$ (s^{-1})	$\Delta H_1^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_1^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	159.9 ± 4.4	0.001	–	–
His	71.9 ± 7.4	0.074	–	–
5′-IMP	11.8 ± 0.8	0.017	–	–
Second step	$10^2\ k_2$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2\ k_{-2}$ (s^{-1})	$\Delta H_2^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_2^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	9.0 ± 0.8	0.008	–	–
His	4.0 ± 0.2	0.006	–	–
5′-IMP	3.7 ± 0.3	0.004	–	–
Complex **Pt3**				
First step	$10^2\ k_1$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2\ k_{-1}$ (s^{-1})	$\Delta H_1^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_1^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	104.4 ± 3.6	0.132	–	–
His	13.6 ± 0.8	0.013	–	–
5′-IMP	1.1 ± 0.1	0.015	–	–
Second step	$10^2\ k_2$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2 k_{-2}$ (s^{-1})	$\Delta H_2^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_2^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	4.8 ± 0.5	0.012	–	–
His	1.8 ± 0.1	0.004	–	–
5′-IMP	0.93 ± 0.14	0.004	–	–

The observed *pseudo*-first-order rate constants, k_{obs}, as a function of the total concentration of nucleophile are described by Eqs. (1) and (2).

$$k_{obs1} = k_1[L] + k_{-1} \quad (1)$$

$$k_{obs2} = k_2[L] + k_{-2} \quad (2)$$

The obtained rate constants for both reaction steps are summarized in Table 1.

Figure 3 shows the dependence of k_{obsd} on nucleophile concentration for the aqua complexes **Pt1**, **Pt2,** and **Pt3**.

The order of reactivity of these diaqua Pt(II) complexes for the first and second reaction steps, for all nitrogen-donor nucleophiles, is **Pt1** > **Pt2** > **Pt3.** The present results are in good agreement with those obtained in our previous studies [19]. The most reactive complex is **Pt1** (Table 1), which can be attributed to the decrease in electron density on the platinum center caused by the π-acceptor ability of the pyrazine ligand. The metal centers in **Pt1** are thus more electrophilic and favor the rapid binding of the entering nucleophile. Complexes **Pt2** and **Pt3** react more slowly because the bridging ligands provide a weaker π back-bonding interaction and so increase the electron density on the metal centers compared to **Pt1** [19]. In the **Pt3** complex two, the Pt(II) centers are separated by the greatest distance and there is less electronic communication between them compared to **Pt1** and **Pt2** (Fig. 1).

The order of reactivity of the studied nucleophiles is 1,2,4-triazole > His > 5′-IMP. It is known that 1,2,4-triazole can coordinate through N1, N2, and N4 to Pt(II) [20]. L-Histidine has two competing donor atoms N1 and N3 for

Author's personal copy

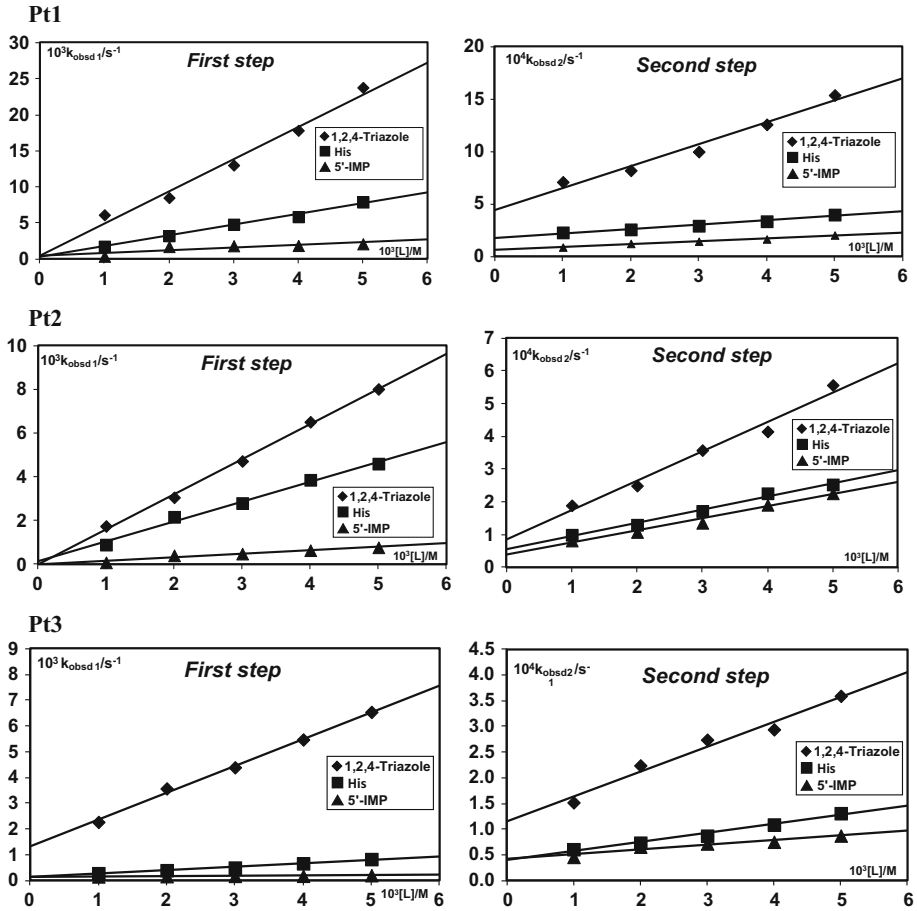


Fig. 3 *Pseudo*-first-order rate constants plotted as a function of nucleophile concentration for the first and second substitution reactions of the diaqua **Pt1**, **Pt2,** and **Pt3** complexes by 1,2,4-triazole, His, and 5′-IMP at pH = 2.5, 0.01 M $NaClO_4$, and 310 K

coordination. Under our experimental conditions (pH 2.5), the 5′-IMP will bind through N7 to the dinuclear Pt(II) complexes [19, 21], and the resulting Pt–N (nucleobase) bond is thermodynamically very stable [22]. 1,2,4-Trizole is the most reactive nucleophile (Table 1, Fig. 3). Its high reactivity can be attributed to steric effects. Namely, 1,2,4-triazole is the least sterically hindered among the ligands studied.

From Table 1, it can be seen that the values for the rate constant k_1 are higher than the values for the rate constant k_2 in all studied systems. The ligands employed here are strong nucleophiles with good electron-donating capacity, so coordination of the first ligand to one of the two Pt(II) centers makes this center more electron rich. Since the two Pt(II) centers are in electronic communication through the bridging ligand, increase in electron density on the one Pt(II) center will cause increase in electron density at the other Pt(II) center also, making it less electrophilic and less reactive. The result of this interaction is smaller rate constants for the second substitution step compared to the first.

The second reaction step, for the substitution reaction between 5′-IMP and complexes **Pt1** and **Pt2**, is around 8–9 times slower than the first step. However, complex **Pt3** shows the same order of reactivity for both steps. Since the two Pt(II) centers in the **Pt3** complex are separated by the 1,2-*bis*(4-pyridyl)ethane bridging ligand, the distance between the two metal centers is sufficient to prevent electronic communication between them. Hence, in this complex, the Pt(II) centers show the same thermodynamic and kinetic properties and act completely independently of each other. These properties of dinuclear Pt(II) complexes have already been observed in their substitution reactions with 5′-GMP [21].

Reactions of the dichlorido complexes

The reactions of the dichlorido dinuclear platinum(II) complexes were studied at pH 7.2 in 25 mM Hepes buffer in the presence of 20 mM NaCl [19] at 310 K. All the substitution processes showed two reaction steps determined by two second-order rate constants k_1 and k_2 (Scheme 1).

It is known that the substitution reactions of square-planar metal complexes proceed according to two parallel pathways [23]. One involves the formation of a solvent-coordinated complex, followed by rapid substitution of the

Author's personal copy

Table 2 Second-order rate constants for the reactions of the dichlorido **Pt1**, **Pt2,** and **Pt3** complexes with 1,2,4-triazole, His, and 5′-IMP at pH = 7.2 (25 mM Hepes buffer) in the presence of 20 mM NaCl at 310 K

Complex **Pt1**				
First step	$10^2\ k_1$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2 k_{-1}$ [Cl^-] ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$\Delta H_1^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_1^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	77.9 ± 3.7	0.196	63 ± 2	−42 ± 6
His	10.2 ± 0.4	0.025	–	–
5′-IMP	4.2 ± 0.2	0.003	–	–
Second step	$10^2\ k_2$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2 k_{-2}$ [Cl^-] ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$\Delta H_2^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_1^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	1.67 ± 0.16	0.002	58 ± 2	−91 ± 8
His	1.22 ± 0.01	0.002	–	–
5′-IMP	0.68 ± 0.05	0.001	–	–
Complex **Pt2**				
First step	$10^2\ k_1$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2 k_{-1}$ [Cl^-] ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$\Delta H_1^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_1^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	32.6 ± 0.8	0.085	–	–
His	7.5 ± 0.9	0.050	–	–
5′-IMP	1.0 ± 0.1	0.006	–	–
Second step	$10^2\ k_2$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2 k_{-2}$ [Cl^-] ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$\Delta H_2^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_2^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	0.99 ± 0.05	0.002	–	–
His	0.86 ± 0.07	0.002	–	–
5′-IMP	0.37 ± 0.01	0.002	–	–
Complex **Pt3**				
First step	$10^2\ k_1$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2 k_{-1}$ [Cl^-] ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$\Delta H_1^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_1^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	16.4 ± 0.1	0.026	–	–
His	6.2 ± 0.8	0.025	–	–
5′-IMP	0.68 ± 0.08	0.003	–	–
Second step	$10^2\ k_2$ ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$10^2 k_{-2}$ [Cl^-] ($M^{-1}\ s^{-1}$)	$\Delta H_2^{\neq}$ (kJ mol^{-1})	$\Delta S_2^{\neq}$ (J K^{-1} mol^{-1})
1,2,4-Triazole	0.83 ± 0.01	0.002	–	–
His	0.76 ± 0.02	0.007	–	–
5′-IMP	0.10 ± 0.01	0.002	–	–

Table 3 Second-order rate constants for the reactions of the dichlorido **Pt1**, **Pt2,** and **Pt3** complexes with TU and 5′-GMP at pH = 7.2 (25 mM Hepes buffer) in the presence of 20 mM NaCl at 310 K

	TU [16] k_1 ($M^{-1}\ s^{-1}$)	5′-GMP [16] k_1 ($M^{-1}\ s^{-1}$)
Complex **Pt1**	156 ± 7	8.7 ± 0.6
Complex **Pt2**	130 ± 7	6.1 ± 0.4
Complex **Pt3**	80 ± 4	1.2 ± 0.1

coordinated solvent by the entering nucleophile (solvolytic pathway), while the other involves a direct nucleophilic attack by the entering nucleophile. The solvolytic pathway was suppressed through the addition of 20 mM NaCl, and the reaction goes to equilibrium (Scheme 1). Under *pseudo*-first-order conditions, these rate constants can be determined from a plot of the linear dependence of k_{obsd} versus the total nucleophile concentration, according to Eqs. (3) and (4). The slope of the line represents k_1 or k_2, while the intercept represents k_{-1} [Cl^-] or k_{-2} [Cl^-]. These reactions were studied in the presence of a large excess of Cl^-. The Cl^- dependence of the kinetics has been (reasonably) assumed.

The observed *pseudo*-first-order rate constants, k_{obs}, as a function of the total concentration of nucleophile are described by Eqs. (3) and (4).

$$k_{obs1} = k_{-1}[Cl^-] + k_1[L] \quad (3)$$

$$k_{obs2} = k_{-2}[Cl^-] + k_2[L] \quad (4)$$

Author's personal copy

Table 2 summarizes all the data for the substitution of dinuclear Pt(II) complexes by 1,2,4-triazole, histidine, and inosine-5′-monophosphate. The order of reactivity of the nucleophiles is 1,2,4-triazole > His > 5′-IMP. The obtained order of reactivity is the same as for the aqua complexes, and the same explanation can be applied. Comparing the obtained results for k_1 and k_2 from Tables 1 and 2, it can be seen that the dichlorido complexes are less reactive than their diaqua analogues, due to the stronger Pt–Cl bond [19]. Plots of the *pseudo*-first-order rate constants as a function of the nucleophile concentration for all these substitution processes are given in Fig. S1.

The order of reactivity of the dichlorido complexes is **Pt1** > **Pt2** > **Pt3**. Again, similar arguments to those made above can be used to explain [19].

The activation parameters $\Delta H^{\neq}$ and $\Delta S^{\neq}$ (Tables 1, 2) were calculated using the Eyring equation for the reactions with 1,2,4-triazole at pH 2.5 and 7.2 (see Figs. S2 and S3, Supporting Information). The activation parameters support an associative mechanism for each of these reactions.

The significantly negative activation entropies suggest that the activation process in the studied systems is strongly dominated by bond making. The value of the activation entropy of the second substitution step is larger than that of the first.

In Table 3 are shown the second-order rate constants for substitution reactions of the studied complexes with thiourea (TU) and guanosine-5′-monophosphate (5′-GMP) [19].

According to the rate constants reported in Tables 2 and 3, it can be seen that TU reacts faster (5–100 times) than the presently studied N-donor nucleophiles. These results are expected since it is known that sulfur-containing molecules have a high affinity for platinum and can form very stable bonds [9]. The interaction of Pt(II) complexes with sulfur-containing biomolecules has been associated with undesirable phenomena such as nephrotoxicity, gastrointestinal toxicity, ototoxicity, cardiotoxicity, and neurotoxicity. Guanosine-5′-monophosphate, 5′-GMP, reacts somewhat faster than 5′-IMP, which may be due to steric and electronic effects.

Conclusion

The substitution reactions of dinuclear Pt(II) complexes with nitrogen-donor ligands 1,2,4-triazole, His, and 5′-IMP proceed in two successive reaction steps that both depend on the nucleophile concentration. The most reactive complex is **Pt1**. The short distance between the two Pt(II) centers in this complex allows for electrostatistic interaction between the metal centers, causing an increase in the electrophilicity of both Pt(II) centers and higher reactivity toward nucleophiles. The order of reactivity of these ligands is 1,2,4-triazole > His > 5′-IMP, which can be explained by steric and electronic effects. This work has shown that the nature of the bridging ligands can strongly influence the reactivity of such dinuclear Pt(II) complexes.

Experimental

Materials and methods

1,2,4-Triazole, L-histidine, and inosine-5′-monophosphate sodium salt, transplatin, *trans*-[$Pt(NH_3)_2Cl_2$], pyrazine, 4,4′-bipyridyl, and 1,2-*bis*(4-pyridyl)ethane were all obtained from Acros Organics. The dinuclear Pt(II) complexes, such as [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl$}$_2$(μ-pyrazine)]$(ClO_4)_2$ (**Pt1**), [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl$}$_2$(μ-4,4′-bipyridyl)]$(ClO_4)_2$·DMF (**Pt2**), and [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl$}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-pyridyl)ethane)]$(ClO_4)_2$ (**Pt3**), were synthesized according to the literature procedures [19, 24].

Chemicals and solutions

Nucleophile stock solutions were prepared shortly before use by dissolving the chemicals in purified water. All other chemicals were of analytical reagent grade. Ultra pure water was used in all experiments. Since it is known that perchlorate ions do not coordinate to Pt(II) or Pd(II) in aqueous solution [25], the kinetics of the ligand substitution reactions were studied in 0.01 M $NaClO_4$ (Merck, p.a.). The pH 2.5 was adjusted with $HClO_4$ and NaOH, whereas for pH 7.2, a freshly prepared 25 mM Hepes buffer (Acros Organics) was used. NaCl was used to adjust the chloride concentration.

Preparation of the dinuclear Pt(II) diaqua complexes

The solutions of the diaqua **Pt1**, **Pt2,** and **Pt3** complexes were prepared from the corresponding dichlorido complexes by the addition of the corresponding amount of $AgClO_4$ to a solution of the chlorido complex and stirring at 50 °C for 8 h. The white precipitate that formed (AgCl) was filtered off using a Millipore filtration unit, and the solutions were diluted. The greatest care was taken to ensure that the resulting solutions were free of Ag^+ ions and that the chlorido complexes had been converted completely into the aqua species. The solution was acidified with $HClO_4$ to pH 2.5 for kinetic measurements. The resulting solution was diluted with water to give the desired complex concentration. The ionic strength was adjusted to 0.01 M with $NaClO_4$.

The products of the reactions were characterized by ^{1}H NMR spectroscopy and elemental analysis, with results presented below:

Author's personal copy

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(1,2,4-triazole)}$_2$(μ-pyrazine)](ClO_4)$_4$:^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 8.73 (s, 1H, CH, pyrazine), 8.55 (s, 2H, CH, 1,2,4-triazole) Anal. Calcd. for ($C_{19}H_{55}Cl_4N_{12}O_{16}Pt_2$) C, 18.4; H, 4.4; N, 13.5. Found: C, 18.1; H, 4.1; N, 13.6

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(1,2,4-triazole)}$_2$(μ-4,4′-bipyridyl)](ClO_4)$_4$:^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 7.45 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.76 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.52 (s, 2H, CH, 1,2,4-triazole) Anal. Calcd. for ($C_{24}H_{56}Cl_4N_{12}O_{16}Pt_2$) C, 22.1; H, 4.3; N, 12.9. Found: C, 22.2; H, 4.5; N, 13.0

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(1,2,4-triazole)}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-pyridyl) ethane)](ClO_4)$_4$: ^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 2.91 (m, 2H, CH2, ethane), 7.42 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.81 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.56 (s, 2H, CH, 1,2,4-triazole) Anal. Calcd. for ($C_{27}H_{63}Cl_4N_{12}O_{16}Pt_2$) C, 24.1; H, 4.7; N, 12.5. Found: C, 24.3; H, 4.9; N, 12.7

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(L-histidine)}$_2$(μ-pyrazine)](ClO_4)$_4$: ^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 8.74 (s, 1H, CH, pyrazine), 7.80 (d, 1H, CH imidazole), 7.28 (d, 1H, CH, imidazole), 3.98 (t, 1H, CH), 3.36–3.32 (m, 2H, CH_2). Anal. Calcd. for ($C_{27}H_{67}Cl_4N_{12}O_{20}Pt_2$) C, 22.9; H, 4.7; N, 11.9. Found: C, 23.0; H, 4.9; N, 11.9.

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(L-histidine)}$_2$(μ-4,4′-bipyridyl)](ClO_4)$_4$: ^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 7.55 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.78 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 7.78 (d, 1H, CH imidazole), 7.17 (d, 1H, CH, imidazole), 3.88 (t, 1H, CH), 3.25–3.21 (m, 2H, CH_2). Anal. Calcd. for ($C_{32}H_{68}Cl_4N_{12}O_{20}Pt_2$) C, 26.1; H, 4.6; N, 11.4. Found: C, 25.8; H, 4.3; N, 11.0.

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(L-histidine)}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-pyridyl)ethane)](ClO_4)$_4$:^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 2.89 (m, 2H, CH2, ethane), 7.40 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.80 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 7.82 (d, 1H, CH imidazole), 7.35 (d, 1H, CH, imidazole), 4.01 (t, 1H, CH), 3.38–3.33 (m, 2H, CH_2). Anal. Calcd. for ($C_{35}H_{75}Cl_4N_{12}O_{20}Pt_2$) C, 27.7; H, 5.0; N, 11.1. Found: C, 27.6; H, 4.7; N, 10.9

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(5′-GMP)}$_2$(μ-pyrazine)](ClO_4)$_4$: ^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 8.74 (s, 1H, CH, pyrazine), δ 8.10 (s, 1H, CH, 5′-GMP), 6.21 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 4.35–4.13 (m, 2H, CH_2, 5′-GMP), 4.05 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 3.65 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 2.64–2.38 (m, 2H, CH_2, 5′-GMP) Anal. Calcd. for ($C_{35}H_{73}N_{16}O_{14}P_2Pt_2$) C, 30.1; H, 5.2; N, 16.0. Found: C, 30.0; H, 5.1; N, 15.8

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(5′-GMP)}$_2$(μ-4,4′-bipyridyl)](ClO_4)$_4$: ^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 7.55 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.78 (m, 1H, CH, 4-pyridine), δ 8.01 (s, 1H, CH, 5′-GMP), 6.19 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 4.32–4.11 (m, 2H, CH_2, 5′-GMP), 3.98 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 3.55 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 2.55–2.32 (m, 2H, CH_2, 5′-GMP) Anal. Calcd. for ($C_{40}H_{74}N_{16}O_{14}P_2Pt_2$) C, 33.0; H, 5.1; N, 15.4. Found: C, 33.2; H, 5.2; N, 15.6

[{*trans*-Pt(NH_3)$_2$(5′-GMP)}$_2$(μ-1,2-*bis*(4-pyridyl)ethane)](ClO_4)$_4$: ^{1}H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 2.95 (m, 2H, CH2, ethane), 7.45 (m, 1H, CH, 4-pyridine), 8.83 (m, 1H, CH, 4-pyridine), δ 8.12 (s, 1H, CH, 5′-GMP), 6.22 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 4.34–4.15 (m, 2H, CH_2, 5′-GMP), 3.99 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 3.62 (t, 1H, CH, 5′-GMP), 2.57–2.36 (m, 2H, CH_2, 5′-GMP) Anal. Calcd. for ($C_{39}H_{69}N_{16}O_{14}P_2Pt_2$) C, 32.6; H, 4.8; N, 15.6. Found: C, 32.7; H, 5.0; N, 15.9

Instrumentation and kinetic measurements

UV–Vis spectra were recorded on a PerkinElmer Lambda 25 spectrophotometer with automatic cell changer and Peltier temperature controller and a PerkinElmer Lambda 35 double-beam spectrophotometer equipped with thermostated 1.00-cm quartz Suprasil cells. The pH measurements were recorded on a Jenway 4330 pH meter with a combined Jenway glass microelectrode that had been calibrated with standard buffer solutions of pH 4.0, 7.0, and 10.0 (Merck). The KCl solution in the reference electrode was replaced with a 3 M NaCl electrolyte to prevent precipitation of $KClO_4$ during use [26, 27]. The ^{1}H NMR measurements were recorded on a Varian Gemini-200 spectrometer. Chemical analyses were performed on a Carlo Erba Elemental Analyser 1106.

Spectral changes resulting from mixing solutions of the appropriate dinuclear Pt(II) complexes and nucleophile were recorded over the wavelength range of 220–600 nm to establish a suitable wavelength at which kinetic measurements could be taken. All kinetic measurements were taken under *pseudo*-first-order conditions, i.e., at least a tenfold excess of the nucleophile was used. The temperature was controlled throughout all kinetic experiments to ±0.1 °C. Reported rate constants represent an average value of at least three to five independent kinetic runs for each set of experimental conditions (see Table S1–S8). All reactions of the diaqua complexes were studied at pH 2.5 (0.01 M $NaClO_4$). Kinetic measurements for all dichlorido complexes were investigated at pH 7.2 in 25 mM Hepes buffer with the addition of 20 mM NaCl. The concentration of 20 mM NaCl was enough to suppress spontaneous hydrolysis of the dichlorido complexes [19].

Acknowledgments The authors gratefully acknowledge financial support of the Ministry of Education, Science, and Technological Development, Republic of Serbia (Project No. 172011).

References

1. Lippert B (1999) Cisplatin, chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug. Wiley, Zürich
2. Wang D, Lippard SJ (2005) Nat Rev Drug Disc 4:307

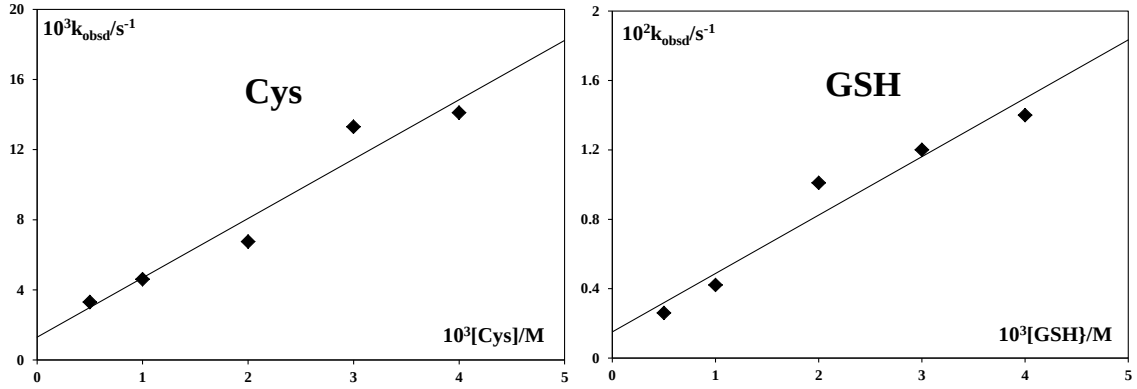
Author's personal copy

3. Van Zutphen S, Reedijk J (2005) Coord Chem Rev 24:2845
4. Zorbas H, Keppler BK (2005) Chem Bio Chem 6:1157
5. Alessio E (2011) Bioinorganic medicinal chemistry, Chapters 1–4. Wiley, Weinheim
6. Barry NPE, Sadler PJ (2013) Chem Commun 49:5106
7. Ronconi L, Sadler PJ (2007) Coord Chem Rev 251:1633
8. Jakupec MA, Galanski M, Arion VB, Hartinger CG, Keppler BK (2008) Dalton Trans 183–194
9. Bugarčić ŽD, Bogojeski J, Petrović B, Hochreuther S, van Eldik R (2012) Dalton Trans 41:12329–12636
10. Farrell N, Qu Y (1989) Inorg Chem 28:3416
11. Farrell N (1996) In: Hurley LH, Chaires JB (eds) Advances in DNA sequence specific agents, vol 2. JAI Press Inc., Greenwich, pp 187–217
12. Farrell N (1995) Comm Inorg Chem 16:373
13. Reedijk J (2003) Proc Natl Acad Sci USA 100:3611
14. Brabec V, Kasparkova J, Vrana O, Novakova O, Cox JW, Qu Y, Farrell N (1999) Biochemistry 38:6781
15. Komeda S, Lutz M, Spek AL, Chikuma M, Reedijk J (2000) Inorg Chem 39:4230
16. Komeda S, Lutz M, Spek AL, Yamanaka Y, Sato T, Chikuma M, Reedijk J (2002) J Am Chem Soc 124:4738
17. Hitchcock CA (1991) Biochem Soc Trans 19:782
18. Sundberg RJ, Martin RB (1974) Chem Rev 74:471
19. Soldatović T, Jovanović S, Bugarčić ŽD, van Eldik R (2012) Dalton Trans 41:876
20. Rosić J, Petrović B, Djuran MI, Bugarčić ŽD (2007) Monatsh Chem 138:1
21. Ertürk H, Maigut J, Puchta R, van Eldik R (2008) Dalton Trans 2759–2766
22. Bogojeski J, Bugarčić ŽD, Puchta R, van Eldik R (2010) Eur J Inorg Chem 5439–5445
23. Tobe ML, Burgess J (1999) Inorganic reaction mechanisms. Addison Wesley Longman Inc, Essex, pp 30–115
24. Komeda S, Kalayda GV, Lutz M, Spek AL, Yamanaka Y, Sato T, Chikuma M, Reedijk J (2003) J Med Chem 46:1210
25. Appleton TG, Hall JR, Ralph SF, Thompson CSM (1984) Inorg Chem 23:3521
26. Jaganyi D, Hoffmann A, van Eldik R (2001) Angew Chem Int Ed 40:1680
27. Hofmann A, Jaganyi D, Munro OQ, Liehr G, van Eldik R (2003) Inorg Chem 42:1688

Graphical Abstract

The substitution reactions of the small bio-molecules and dinuclear Pt(II) complexes with alkanediamine linker

Enisa Selimović[a] and Jovana Bogojeski[b*]



Substitution reactions of the complexes [{*trans*-Pt$(NH_3)_2H_2O\}_2$(μ-1,4-diaminobutane)]$^{4+}$ (**I**), [{*trans*-Pt$(NH_3)_2H_2O\}_2$(μ-1,6-diaminohexane)]$^{4+}$ (**II**) and [{*trans*-Pt$(NH_3)_2$H2O$\}_2$(μ-1,8-diaminooctane)]$^{4+}$ (**III**), with nucleophiles: L-cysteine (L-Cys), glutathione (GSH), guanosine-5'-monophosphate (5'-GMP), L-histidine (L-His) and pyridine were studied in using variable-temperature UV-Vis spectrophotometer.

The substitution reactions of the small bio-molecules and dinuclear Pt(II) complexes with alkanediamine linker

Enisa Selimović[a] and Jovana Bogojeski[b*]

[a]*Department of Chemical-Technological Sciences, State University of Novi Pazar, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Serbia*

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

**Corresponding author:* Dr. Jovana Bogojeski

Tel: +381(0)34336223

Fax: +381(0)34335040

e-mail: jrosic@kg.ac.rs

Abstract

The substitution reactions of the complexes [{*trans*-$Pt(NH_3)_2H_2O\}_2$(μ-1,4-diaminobutane)]$^{4+}$ (**I**), [{*trans*-$Pt(NH_3)_2H_2O\}_2$(μ-1,6-diaminohexane)]$^{4+}$ (**II**) and [{*trans*-$Pt(NH_3)_2H2O\}_2$(μ-1,8-diaminooctane)]$^{4+}$ (**III**), with nucleophiles: L-cysteine (L-Cys), glutathione (GSH), guanosine-5'-monophosphate (5'-GMP), L-histidine (L-His) and pyridine were studied in 0.1 M $NaClO_4$ aqueous solutions at pH = 2.5. The substitutions were studied under *pseudo*-first-order conditions as a function of concentration and temperature using Uv–Vis spectrophotometry. At three different temperatures (288, 298 and 308 K) the reactions of the **II** and **III** complexes and 5'-GMP were studied. The order of reactivity of study ligands is: L-Cys > GSH > 5'-GMP > L-His > pyridine and the order of reactivity of the complexes is: **I** < **II** ≈ **III.** The obtained results indicate that the structure of the alkanediamine linker in the dinuclear Pt(II) complexes controls the substitution process. The negative values reported for entropy of activation confirmed the associative substitution mode. These results are discussed in order to find the connection between structure and reactivity of the dinuclear Pt(II) complexes.

***Keywords*:** Dinuclear, Pt(II), Substitution, Kinetics, Mechanism

Abbreviations

I = [{*trans*-Pt(NH_3)$_2$$H_2O$}$_2$($\mu$-1,4-diaminobutane)]$^{4+}$

II = [{*trans*-Pt(NH_3)$_2$$H_2O$}$_2$($\mu$-1,6-diaminohexane)]$^{4+}$

III = [{*trans*-Pt(NH_3)$_2$H2O}$_2$(μ-1,8-diaminooctane)]$^{4+}$

5'-GMP = guanosine-5'-monophosphate

GSH = glutathione

L-Cys = L-cysteine

L-His = L-histidine

Introduction

Metal complexes found an important place in the treatment of various cancers [1-4]. Among these complexes are differente transition metal complexes such as: Pt(II), Pt(IV), Au(III), Ru(II/III) and polynuclear Pt(II) complexes [1-4]. These complexes are developed in order to find compounds that would demonstrate greater anti-tumour activity, less toxicity and resistance compared to cisplatin. The di- and treenuclear Pt(II) complexes could be promising anti-tumour agents in cisplatin resistant cells since they exhibit different DNA adducts [5-8]. They have similar substitution behavior than their mononuclear analogues. A general dark side of polynuclear complexes is the possibility of biotransformation and therefore loss of their cytotoxic ability. This decomposition of a polynuclear structure into mononuclear Pt(II) complexes and the aliphatic linker was reported by for the reaction with different S-containing nucleophiles [9-15].

The most desirable reaction that should occur after the introduction of Pt(II) complexes in the cell is the binding of the Pt drug to the DNA to form DNA adducts, which are responsible for the cytostatic activity [1-4,16]. But, inside the cell many different nucleophiles are present, particularly S-containing compounds, which often react with the Pt complex as reported in the literature [11-15]. In this work we focus on the nature of the substitution reactions with L-cysteine and GSH as a strong S-containing nucleophile and with few N-containing nucleophiles (L-histidine, guanosine-5'-monophosphate and pyridine). The chosen nuceophiles are small molecules that exist in the human body and could be found on the road of Pt(II) drug to the diseased tissue. Also, the aim of this study is to show the dependence on the chain length of the alkanediamine linker on the reactivity of the studied dinuclear complexes.

It is generally known that when the complexes of the Pt(II) entering the cell where the concentration of chloride is approximately 4 mM leads to the hydrolysis of the complex and the conversion into the aqua particles [16]. Accordingly to this it was chosen to study and understand the substitution behavior of the aqua complexes of dinuclear Pt(II) complexes.

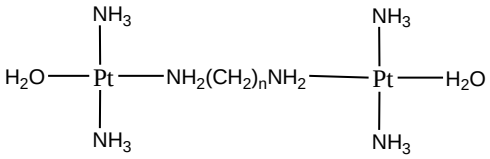
The studied complexes and ligands are presented in the Fig. 1 and 2.

(**Fig. 1.** about here)

(**Fig. 2.** about here)

Results and discussion

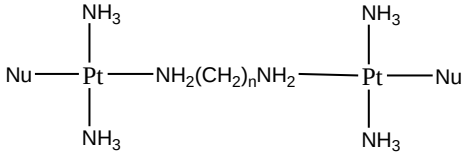
The substitution reactions between dinuclear Pt(II) complexes and sulphur- and nitrogen-bonding nucleophiles can be represented by Scheme 1.



+ 2 Nu

n = 4,6 or 8

k_{-2} **k_2**



+ 2 H_2O

Nu = L-Cys, GSH, 5'-GMP, L-His and pyridine

Scheme 1

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

$$k_{obsd} = k_2[Nu] + k_{-2} \qquad (1)$$

Figure 3, 4 and S1-4 (Supporting Information) shows the dependence of k_{obsd} of nucleophile concentration for the studied **I**, **II** and **III** complexes.

(**Fig. 3.** about here)

(**Fig. 4.** about here)

The least-squares fit of the data according to eqn. (1), resulted in values for the forward anation rate constants, k_2, and the reverse aquation rate constant, k_{-2}, according to Scheme 1. Both of these constants characterized the first step which presents the substitution of both water molecules, Scheme 1. In all cases the substitution reactions are characterized by small values for k_{-2} (see Fig. 3, 4 and S1-S4 in Supporting information) illustrating that the solvent cannot effectively displace the coordinated nucleophile.

The temperature dependence of rate constants enabled the calculation of the activation enthalpies and entropies by use of the Eyring equation. Rate constants and activation parameters derived from these experiments are summarized in Table 1 and 2.

(**Table 1** about here)

(**Table 2** about here)

The substitution reaction of the dinuclear Pt(II) complexes with the biologically significant nucleophiles occur in two consecutive steps as shown earlier in the literature [17-21]. The first step involves the substitution of one labile (chloride or aqua) ligands in the coordination sphere of the starting complex. In the second step substitution of the second labile ligands in the coordination sphere of the complex occurred [17-21].

In the investigated substitution reactions the first substitution step is fast (finished between 500 and 1000 s), which leads to substitution of both labile molecules of water. The second substitution step is considerably slower (it is not finished after 4 or 5 hours) and can be attributed to the decomposition of dinuclear complex, as the result of a strong *trans*-effect of the

coordinated nucleophiles (Scheme 1) as have been indicated earlier in the literature [17-23]. Since, all substitution reactions were followed by using UV-Vis spectrophotometry it was impossible to detect substitution of the one labile ligand and then the substitution of other labile ligand. Instead of this, it was possible to detect just one step which represents the substitution of both labile ligands, Scheme 1.

The nitrogen donor ligands 5'-GMP, L-His and pyridine, according to Table 1 are good entering ligands for dinuclear Pt(II) complexes. From a comparison of the values of the second order rate constants for the forward reaction step, k_2, it can be concluded that the order of reactivity of the used ligands is: 5'-GMP > L-His > pyridine for all three studied complexes. However, the difference in rate constant k_2 between N-donor nucleophiles is not very big, for example constant k_2 for the reaction between complex **I** and 5'-GMP is 0.96 $M^{-1}s^{-1}$ and the same constant for the reaction of complex **I** and L-His is 0.95 $M^{-1}s^{-1}$. Such differences in the reactivity as well as obtained rate constants can be attributed to the fact that all three ligands are N-donor heterocycles. The most crowded ligand is 5'-GMP followed by L-His and the less crowed one is pyridine, but order of reactivity which were obtained is opposite to steric effect. However, the difference between the pyridine and imidazole rings (L-His) is that imidazole is a five membered ring with two conjugated N atoms, which make imidazole electron rich and good nucleophile. Pyridine is six membered ring with one N atom, and has lower nuclepohilicity compared to imidazole, so the pyridine will react slower than L-His. The fastest reactions with 5'-GMP can be attributed to the good nucleophilic characteristics of the purine bases. The small difference in the rate constants which were obtained for the studied N-donor ligand surely can be attributed to the combination of the steric and electronic effects.

However, it has been shown that these complexes easily react with S-containing nucleophiles. The investigated nucleophiles L-Cys and GSH about 3 to 4 times react faster than N-containing nucleophiles, Table 1. The obtained results are fully expected since it is well known that Pt(II) easily react with soft basis (such as sulfur).

An analysis of the rate constants for the displacement of the coordinated aqua ligands by the studied nucleophiles shows that the structure of the alkanediamine linker controls the substitution process. Namely, the order of reactivity of the studied complexes is: **I** < **II** ≈ **III**. The most reactive complex is with 1,8-diaminobutane alkanediamine linker, and the slowest one is with 1,4-diaminooktane linker.

On elongating the aliphatic chain between the two metal centers, the influence of both Pt(II) metals on each other can be controlled. Farrell et al. observed that at a specific chain length the two metal centers in multinuclear complexes will not interact with each other [5-15]. It is known from the literature that if the two part halves are separated by six or more atoms, an independent reaction of the two positively charged $[Pt(NH_3)_2(NH_2R)OH_2]^{2+}$ groups can be expected [17-23].

Namely, the length of the aliphatic chain between the two metal centers of 2 to 6 carbon atoms can influence the electronic communication between the Pt(II) ions which affect the reactivity of the complex, ie. it leads to a decrease in the relative reactivities compared to the mononuclear complex, which is in our case transplatin. Since, it is known that transplatin reacts immediately and very fast [24,25], by introdusing the aliphatic chain between two molecules of transplatin we are slowing down the reactivity of the complex. However, with the bridging ligand containing a long aliphatic chain with more than 6 carbon atoms, the electronic communication between the metal ion is lost, so that the dinuclear complex started to acquire the

characteristics of monouclear complexes. On that basis, it was expected the highest reactivity of **III** complex and least of **I** complex.

Conclusion

The substitution reactions of three dinuclear Pt(II) complexes containing alkanediamine linker with different length (4, 6 and 8 carbon atoms) with selected nucleophiles were investigated. The obtained results show that the nature of entering ligand as well as the length of alkanediamine linker play an important role in the kinetic behavior of dinuclear Pt(II) complexes. The order of reactivity of entering ligands is such that L-Cys and GSH as sulfur-donor ligands react faster than 5'-GMP, L-His and pyridine as N-donor ligands. The mechanism of the substitution reactions is associative supported by the negative values of $\Delta S^{\neq}$.

Experimental

Chemicals and Solutions

The L-cysteine, glutathione, guanosine-5'-monophosphate sodium salt, L-histidine, pyridine, 1,4-diaminobutane, 1,6-diaminohexane, 1,8-diaminooctane and transplatin were obtained from Acros Organic or Sigma Aldrich and used without further purification. All the other chemicals were of the highest purity commercially available. Ultra-pure water was used in all experiments. Nucleophile stock solutions were prepared shortly before use.

The complexes [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl\}_2$(μ-1,4-diaminobutane)]$^{2+}$ (**I**), [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl\}_2$(μ-1,6-diaminohexane)]$^{2+}$ (**II**) and [{*trans*-$Pt(NH_3)_2Cl\}_2$(μ-1,8-diaminooctane)]$^{2+}$ (**III**) were prepared by modifying the published procedures [8].

Synthesis of the [{trans-$Pt(NH_3)_2Cl\}_2$(μ-1,4-diaminobutane)]Cl_2 (I)

In the solution of the trans-[$Pt(NH_3)_2Cl_2$] (0.1 g; 0.333 mmol, 2 eq) in DMF (3 ml) a solution of ligand 1.4-diaminobutane (0,0147 g; 0,166 mmol, 1eq) in DMF (2 ml) was added drop wise. The mixture was stirred 24 hours at the 50 ^oC. The white precipitate was removed by filtration, washed with diethyl-ether and left to dry in the air. Yield (80 mg, 69.87 %).

^1H NMR (200 MHz; DMSO-d_6): δ = 2.50 (bs, 4H, CH_2), 3.35 (bs, 4H, CH_2)

Anal. Calcd. for ($C_4H_{24}Cl_4N_6Pt_2$) C, 6.98; H, 3.51; Cl, N, 12.21; Found: C: 7.05; H: 3.60; N: 12.25.

Synthesis of the [{trans-$Pt(NH_3)_2Cl\}_2$(μ-1,6-diaminohexane)]$^{2+}$ (II)

In the solution of the trans-[$Pt(NH_3)_2Cl_2$] (0.1 g; 0.333 mmol, 2 eq) in DMF (3 ml) a solution of ligand 1.6-diaminoxeane (38,4 μL; 0,0194 g; 0,166 mmol, 1eq) in DMF (2 ml) was added drop wise. The mixture was stirred 24 hours at the 50^oC. The white precipitate was removed by filtration, washed with diethyl-ether and left to dry in the air. Yield (103.2 mg, 86.43 %).

^1H NMR (200 MHz; D_2O): δ = 1.28 – 1.47 (m, 4H, CH_2), 1.57 – 1.78 (m, 4H, CH_2), 2.63 – 2.73 (m, 4H, CH_2)

Anal. Calcd. for $C_6H_{28}Cl_4N_6Pt_2$: C, 10.6; H, 3.94; N, 11.73; Found: C: 10.51; H: 3.83; N: 11.71.

Synthesis of the [{trans-Pt(NH_3)$_2$Cl}$_2$(μ-1,8-diaminooctane)]$^{2+}$ (III)

In the solution of the trans-[Pt(NH_3)$_2$$Cl_2$] (0.1 g; 0.333 mmol, 2 eq) in DMF (3 ml) a solution of ligand 1.8-diaminoctane (0,0240 g; 0,166 mmol, 1eq) in DMF (2 ml) was added drop wise. The mixture was stirred 24 hours at the 50^{o}C. The white precipitate was removed by filtration, washed with diethyl-ether and left to dry in the air. Yield (98 mg, 79.03 %).

^{1}H NMR (200 MHz; DMSO-d_6): δ = 1.27 (bs, 6H, CH_2), 2.50 (bs, 4H, CH_2), 4.02 (bs, 4H, CH_2)

Anal. Calcd. for $C_8H_{32}Cl_4N_6Pt_2$: C, 12.91; H, 4.33; N, 11.29; Found: C: 13.01; H: 4.50; N: 11.43.

The conversion of these complexes into the aqua analogs was performed by adding the corresponding amount of $AgClO_4$ to the solution of the chlorido complexes, heating to 40 ^{0}C and removing the formed AgCl precipitate by filtration through the 0.2 μm membrane filter. The clear filtrate contains the aqua complex because, it is well known, the perchlorate ion does not coordinate to Pt(II) [26].

Instrumentation and measurements

UV-Vis spectra and kinetic traces were recorded on a PerkinElmer Lamda 25 and 35 double-beam spectrophotometer in thermostated 1.00 cm quartz Suprasil cells. The temperature was controlled to ± 0.1 ^{o}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. ^{1}H NMR measurements were performed on a Varian Gemini 2000, 200 MHz NMR spectrometer. The elemental analysis was done on a Carlo Erba Elemental Analyser 1106.

Kinetic measurements

The kinetics of the substitution of the coordinated water were 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 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 10-fold excess. The reactions were initiated by mixing 0.5 ml of the 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_{obsd}, represent an average value of four to six independent kinetic runs for each experimental condition. All substitution reactions were studied in 0.1 M $NaClO_4$ at pH 2.5, adjusted by adding a solution of 0.1 M $HClO_4$. 0.1 $NaClO_4$ was chosen because it is well known that perchlorate ions do not coordinate to Pt(II) or Pd(II) in aqueous solution.[20] Some of the reactions were studied at three temperatures (288, 298 and 308 K). The experimental data are summarized in the Supporting Information (Tables S1 – S15). The values of the constants and other thermodynamic parameters were determined using the computer programs Microsoft Excel 2007 and OriginPro 8.

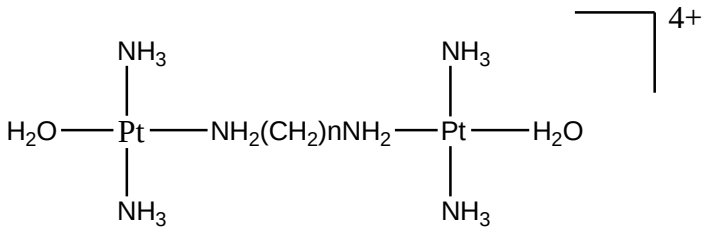
Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge financial support from the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Project No. 172011.

References

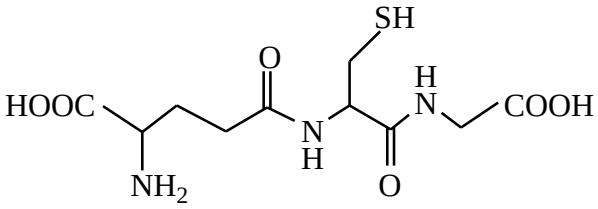
1. Lippert, B. (Ed) In Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug, Wiley-VCH, Zurich, 1999.
2. Alessio E In: Bioinorganic Medicinal Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, 2011, Chapters 1–4.
3. Barry, N. P. E.; Sadler, P. J. Chem Commun 2013, 49, 5106-5131.
4. Ronconi, L.; Sadler, P. J. Coord Chem Rev 2007, 251, 1633-1648.
5. Farrell, N.; Comments Inorg Chem 1995, 16, 373–389.
6. Brabec, V.; Kasparkova, J.; Vrana, O.; Novakova, O.; Cox, J. W.; Qu, Y.; Farrell, N. (1999) Biochemistry 1999, 38, 6781–6790.
7. Qu, Y.; Farrell, N. J Am Chem Soc, 1991, 113, 4851–4857.
8. Farrell, N.; Qu, Y.; Feng, L.; van Houten, B. Biochemistry 1990, 29, 9522–9531.
9. Cox, W.; Berners-Price, S. J.; Davies, M. S.; Qu, Y.; Farrell, N. J Am Chem Soc 2001, 123, 1316–1326.
10. Brabec, V.; Kasparova, J. Drug Resist Updates 2005, 8, 131–146.
11. Farrell, N.; Qu, Y. Inorg Chem 1989, 28, 3416–3420.
12. Farrell, N.; de Almeida, S. G.; Skov, K. A. J Am Chem Soc 1988, 110, 5018–5019.
13. Farrell, N.; Qu, Y.; Hacker, M. P. J Med Chem 1990, 33, 2179–2184.
14. Roberts, J. D.; van Houten, B.; Qu, Y.; Farrell, N. P. Nucleic Acids Res 1989, 17, 9719–9733.
15. Kraker, A.; Elliott, W.; van Houten, B.; Farrell, N.; Hoeschele, J.; Roberts, J. J Inorg Biochem 1989, 36, 160.

16. Bugarčić, Ž. D.; Bogojeski, J.; Petrović, B.; Hochreuther, S.; van Eldik, R. (2012) Dalton Trans 2012, 41, 12329-12636.
17. Summa, N.; Schiessl, W.; Puchta, R.; van Eikema Hommes, N.; van Eldik, R. Inorg Chem 2006, 45, 2948-2959.
18. Hochreuther, S.; Puchta, R.; van Eldik, R. Inorg Chem 2011, 50, 8984-8996.
19. Ertürk, H.; Hofmann, A.; Puchta, R.; van Eldik, R. Dalton Trans 2007, 2295-2301.
20. Ertürk, H.; Puchta, R.; van Eldik, R. Eur J Inorg Chem 2009, 1331-1338.
21. Soldatović, T.; Jovanović, S.; Bugarčić, Ž. D.; van Eldik, R. Dalton Trans 2012, 41, 876-884.
22. Jaganyi, D.; Munisamy, V. M.; Reddy, D. Int J Chem Kinet 2006, 38, 202-210.
23. Ongoma, P. O.; Jaganyi, D. Trans Met Chem 2013, 38, 587-601.
24. Tucker, M. A.; Colvin, C. B.; Martin, D. S. Inorg. Chem. 1964, 3, 1373–1383
25. Hartley F. R. In: The Chemistry of Piatinum and Paliadium, John Wiley and Sons, New York, 1973.
26. Appleton, T. G.; Hall, J. R.; Ralph, S. F.; Thompson, C. S. M. Inorg Chem 1984, 23, 3521-3525.

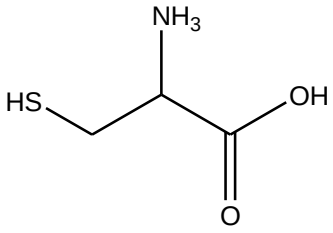


n = 4, **I** complex
n = 6, **II** complex
n = 8, **III** complex

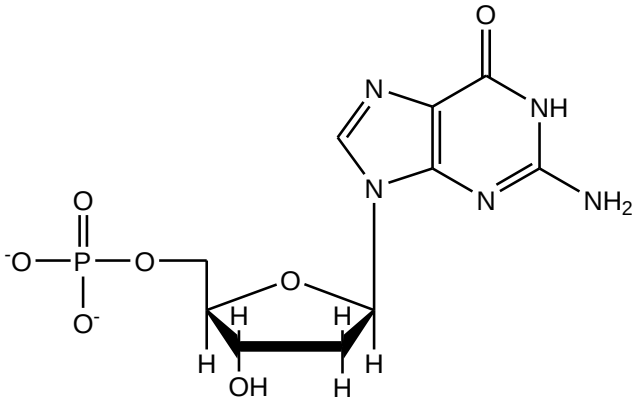
Fig. 1. Structure of the studied complexes.



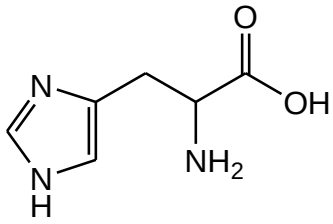
Glutathione (GSH)



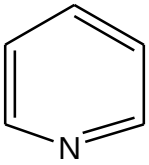
L-Cysteine (L-Cys)



Guanosine-5'-monophosphate (5'-GMP)



L-Histidine (L-His)



Pyridine

Fig. 2. Structure of the studied ligands

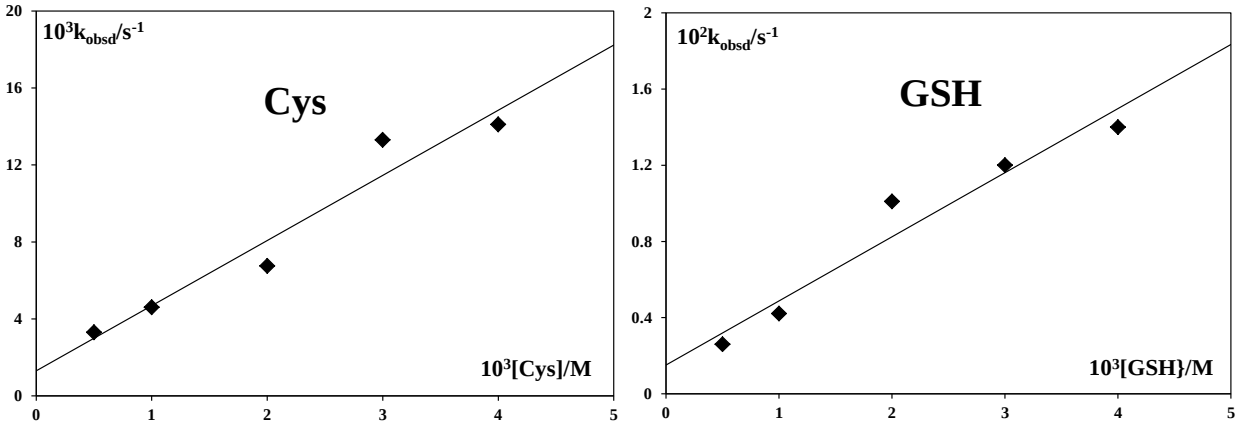


Fig. 3. *Pseudo*-first order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of complex **II** with Cys and GSH in 0.1 M $NaClO_4$ at pH = 2.5 and 298 K.

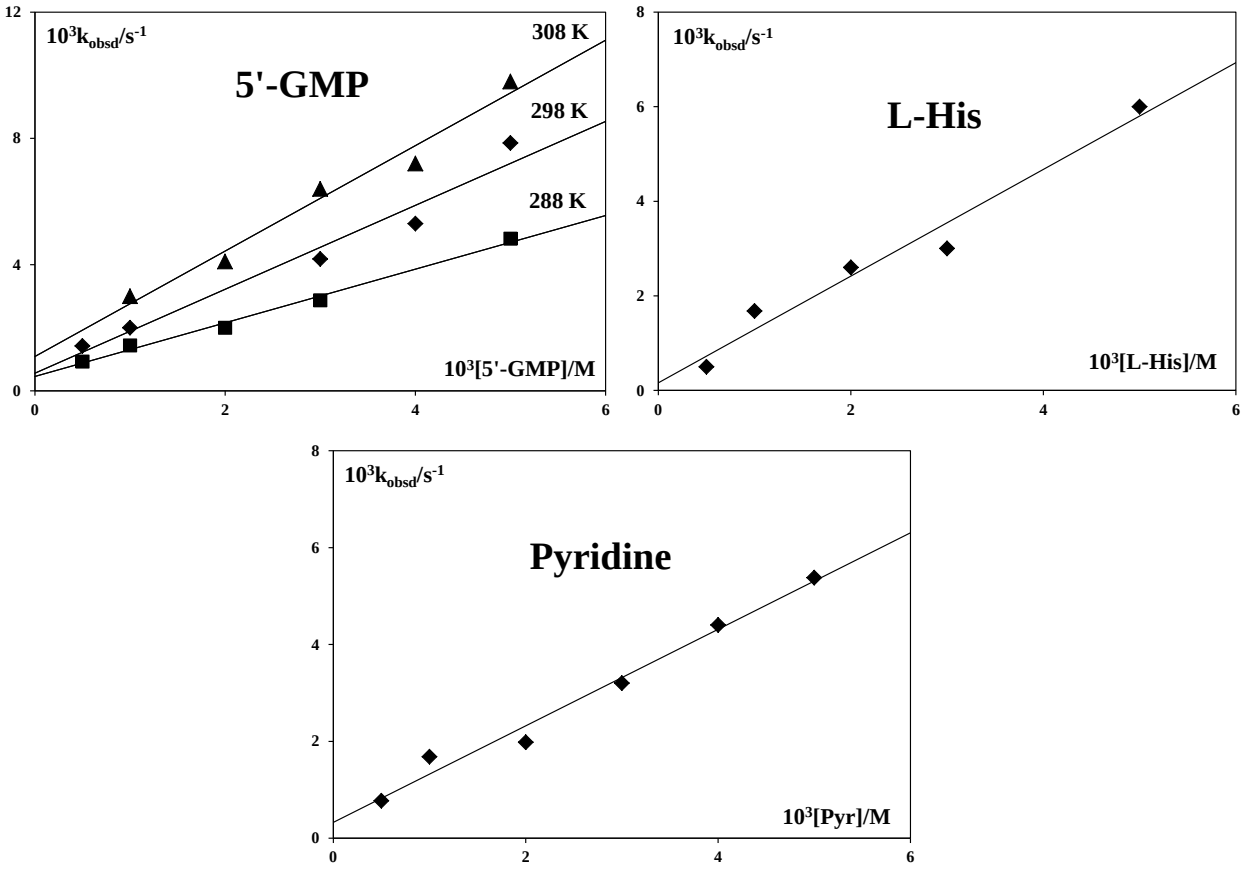


Fig. 4. *Pseudo*-first order rate constants as a function of nucleophile concentration for the substitution reactions of complex **II** with 5'-GMP, L-His and pyridine in 0.1 M $NaClO_4$ at pH = 2.5. The reactions with 5'-GMP are studied at tree temperature (288, 298 and 308 K) and the reactions with L-His and pyridine are studied at 298 K.

Table 1. Rate constants for the substitution reactions of **I**, **II** and **III** complexes with some N- and S-bonding nucleophiles in 0.1 M $NaClO_4$ and pH = 2.5.

		I		**II**		**III**	
	T(K)	k_2 $M^{-1}s^{-1}$	10^3k_{-2} $M^{-1}s^{-1}$	k_2 $M^{-1}s^{-1}$	10^3k_{-2} $M^{-1}s^{-1}$	k_2 $M^{-1}s^{-1}$	10^3k_{-2} $M^{-1}s^{-1}$
L-Cys	298 K	3.25 ± 0.4	0.62 ± 0.01	3.38 ± 0.4	1.3 ± 0.1	4.8 ± 0.1	28.5 ± 0.5
GSH	298 K	1.25 ± 0.1	0.3 ± 0.04	3.37 ± 0.04	1.5 ± 0.1	3.47 ± 0.03	0.01 ± 0.001
	308 K	/	/	1.67 ± 0.1	1.09 ± 0.20	2.10 ± 0.08	1.27 ± 0.2
5'-GMP	298 K	0.96 ± 0.07	0.51 ± 0.02	1.33 ± 0.2	0.56 ± 0.01	1.71 ± 0.08	0.6 ± 0.01
	288 K	/	/	0.85 ± 0.04	0.46 ± 0.01	1.32 ± 0.04	0.1 ± 0.01
L-His	298 K	0.95 ± 0.07	2.6 ± 0.2	1.13 ± 0.1	0.2 ± 0.01	1.48 ± 0.2	4.98 ± 0.6
Pyridine	298 K	0.80 ± 0.03	0.05 ± 0.01	1.0 ± 0.07	0.33 ± 0.01	0.93 ±0.03	1.98 ± 0.08

Table 1. Activation parametars for the substitution reactions of the **II** and **III** complexes with 5'-GMP in 0.1 M $NaClO_4$ and pH = 2.5.

	II				**III**			
	$\Delta H_2^{\neq}$ $kJmol^{-1}$	$\Delta S_2^{\neq}$ $JK^{-1}mol^{-1}$	$\Delta H\text{-}_2^{\neq}$ $kJmol^{-1}$	$\Delta S\text{-}_2^{\neq}$ $JK^{-1}mol^{-1}$	$\Delta H_2^{\neq}$ $kJmol^{-1}$	$\Delta S_2^{\neq}$ $JK^{-1}mol^{-1}$	$\Delta H\text{-}_2^{\neq}$ $kJmol^{-1}$	$\Delta S\text{-}_2^{\neq}$ $JK^{-1}mol^{-1}$
5'-GMP	22 ± 4	-183 ± 14	29 ± 1	-166 ± 4	14 ± 1	-206 ± 3	91 ± 2	- 40 ± 6

ОБРАЗАЦ 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Енеса Селимовић
број уписа 10/2010.

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом
Испитивање кинетике и механизма супституционих реакција
мононуклеарних и динуклеарних комплекса платине (II)

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Крагујевцу, 12.03.2015.

Selimović Enesa

ОБРАЗАЦ 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Енеса Селимовић
Број уписа 10/2010.
Студијски програм Докторске академске студије; Хемија - Неорганска хемија
Наслов рада (Испитивање кинетике и механизма супстит. р-ја мононуклеарних и динуклеарних комплекса платине (II))
Ментор проф. др Живадин Д. Бугарчић

Потписани Енеса Селимовић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Крагујевцу.

Потпис аутора

У Крагујевцу, 12.03.2015.

Selimović Enisa

ОБРАЗАЦ 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом:
ИСПИТИВАЊЕ КИНЕТИКЕ И МЕХАНИЗМА СУПСТИТУЦИОНИХ РЕАКЦИЈА МОНОНУКЛЕАРНИХ И ДИНУКЛЕАРНИХ КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЕ (II)
која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, чији је кратак опис дат је на обрасцу број 4.).

Потпис аутора

У Крагујевцу, 12.03.2015.

Jeliković Enisa