



**СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“**

**ФАКУЛТЕТ ПО ХИМИЯ И ФАРМАЦИЯ**

**КАТЕДРА АНАЛИТИЧНА ХИМИЯ**

---

**Вяра Николаева Велчева**

**„Некласически“ противотуморни препарати на основата на  
метални комплекси- синтез, структура и свойства**

**АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд за придобиване  
на образователна и научна степен  
„Доктор“

Професионално направление: 4.2 Химически науки  
(Аналитична химия)

**Научен ръководител: доц. д-р Галина Генчева**

София, 2023 г.



СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

ФАКУЛТЕТ ПО ХИМИЯ И ФАРМАЦИЯ

КАТЕДРА АНАЛИТИЧНА ХИМИЯ

---

**Вяра Николаева Велчева**

**„Некласически“ противотуморни препарати на основата на метални  
комплекси- синтез, структура и свойства**

**АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд за придобиване  
на образователна и научна степен

„Доктор“

Професионално направление: 4.2 Химически науки  
(Аналитична химия)

**Научен ръководител: доц. д-р Галина Генчева**

**Рецензенти:** проф. дхн Светлана Симова  
проф. д-р Борис Шивачев

**Научно жури:** проф. дхн Светлана Симова  
проф. д-р Борис Шивачев  
проф. д-р Стефан Цаковки  
доц. д-р Ивайло Иванов  
доц. д-р Галина Генчева

София, 2023 г.

Дисертацията съдържа 125 страници, в които са включени 75 фигури, 13 таблици, 5 схеми и 121 цитирани литературни източници.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от Катедрения съвет на Катедра Аналитична химия, към Факултет по химия и фармация на Софийски университет „Св. Климент Охридски“, състоял се на 08.02.2023 г.

Защита на дисертационния труд ще се състои на **10.05.2023 г.** от **11:00** часа в заседателна зала (107) на Факултет по химия и фармация на Софийски университет „Св. Климент Охридски“.

Материалите по защитата са на разположение в Деканата на ФХФ, СУ, бул. Джеймс Баучер, № 1.

## Съдържание

|  |    |
|--|----|
| 1. Увод  | 5  |
| 2. Цел и задачи  | 7  |
| 3. Резултати и обсъждане   | 8  |
| 3.1. Кристална структура на протонирана форма на лиганда – (H <sub>3</sub> taci)SO <sub>4</sub> Cl   | 8  |
| 3.2. Характеризиране на молекулната структура на taci във воден разтвор  | 8  |
| 3.3. Охарактеризиране на taci в твърда фаза  | 16 |
| 3.4. Получаване на комплексите <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , <i>bis</i> -[Pt(taci) <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup> и [Pt(taci)(taci- <sub>4H</sub> 2CO <sub>2</sub> )]               | 18 |
| 3.5. Охарактеризиране на комплексите в твърда фаза   | 20 |
| 3.5.1. Рентгеноструктурен анализ на монокристални образци  | 20 |
| 3.5.1.1 Кристална структура на комплекси със състав <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>   | 20 |
| 3.5.1.2 Кристална структура на комплекси със състав <i>bis</i> -[Pt(taci) <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>   | 22 |
| 3.5.1.3 Кристална структура на комплекси със състав [Pt(taci)(taci- <sub>4H</sub> 2CO <sub>2</sub> )]  | 24 |
| 3.5.2. <sup>15</sup> N и <sup>13</sup> C твърдофазен CP-MAS ЯМР анализ   | 25 |
| 3.5.3. Инфрачервена спектроскопия  | 27 |
| 3.6. Структура и състав на <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , <i>bis</i> -[Pt(taci) <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup> и [Pt(taci)(taci- <sub>4H</sub> 2CO <sub>2</sub> )] във воден разтвор | 28 |
| 3.6.1. Прямо приготвени разтвори на <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> и <i>bis</i> -[Pt(taci) <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>  | 28 |
| 3.6.2. Комплекс [Pt(taci)(taci- <sub>4H</sub> 2CO <sub>2</sub> )]  | 32 |
| 3.7. Изследване стабилността на комплексите <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , <i>bis</i> -[Pt(taci) <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup> във воден разтвор                                    | 35 |
| 3.8. Влияние на рН върху стабилността на <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , <i>bis</i> -[Pt(taci) <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup> и [Pt(taci)(taci- <sub>4H</sub> 2CO <sub>2</sub> )]     | 39 |
| 3.8.1. Във воден разтвор   | 39 |
| 3.8.2. Във фосфатно буфериран воден разтвор  | 41 |
| 3.9. Влияние на редуциращи агенти върху стабилността на <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>   | 45 |
| 3.10. Оценка на биологични свойства на комплексите <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> и <i>bis</i> -[Pt(taci) <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>   | 46 |
| 3.10.1. In vitro антипролиферативна активност  | 46 |
| 3.10.2. Метод COMPARE  | 48 |
| 3.10.3. In vitro нефротоксичност   | 49 |
| 4. Изводи  | 51 |
| Заключение   | 51 |

|                       |    |
|-----------------------|----|
| Приноси               | 52 |
| Публикации            | 53 |
| Участия в проекти     | 53 |
| Участия в конференции | 54 |

## 1. Увод

Развитието на химиотерапията при лечение на ракови заболявания бележи историята с редица значими открития, довели до удължаване живота на пациенти, диагностицирани с рак, както и до подобряване качеството им на живот. Един от най-успешните химиотерапевтици и до днес остава съединението цисплатин,  $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ , въведено в клинична употреба в края на 70-те години. Неговият противотуморен ефект бързо го превръща в „златен стандарт“ при лечение на различни по вид тумори и поставя началото на нов клас химиотерапия – на основата на метални комплекси. Въпреки най-общо ненадминатия му цитотоксичен ефект, приложението на цисплатин е ограничено от присъща и придобита резистентност на определени туморни видове, както и поради проявата на тежки странични ефекти. В търсене на нови лекарства, преодоляващи тези недостатъци, са синтезирани и изследвани огромен брой платинови комплекси, следващи връзката структура-активност, определена за цисплатин. Едва няколко структурни аналога на цисплатин достигат до световна или регионална клинична употреба. Макар че те безспорно се характеризират с по-слаби странични ефекти, никое от тях не надминава терапевтичния спектър и противотуморен ефект на цисплатин. Това ясно доказва необходимостта от търсене на нови лекарства с подобрен фармакологичен профил. Изследванията през последните години показват, че нови структурни аналози на цисплатин не биха могли да предоставят значими предимства и обосновават необходимостта от разработване на различни стратегии при моделирането на противотуморни препарати. В областта на химиотерапия на основата на платинови комплекси, днес научният интерес е насочен към търсенето на „некласически“ комплекси, като някои от прилаганите подходи са промяна на степента на окисление на платината, насочен подбор на лиганди, специфично конструиране на вътрешната координационна сфера на комплексите и др. В тази връзка особено внимание заслужават октаедричните комплекси на Pt(IV). Приема се, че те биха могли да подобрят фармакологичните свойства на Pt(II)-аналозите им поради присъщата им кинетична инертност. Координационният полиедър в комплексите на Pt(IV) е съставен от три групи лиганди: ацидо-лиганди и носещи- (N-съдържащи) лиганди, които се намират в екваториалната равнина и два лиганда, разположени по z-оста на комплекса, аксиални лиганди. Трябва да се подчертае, че въпреки задълбочените изследвания върху разработването на нови лекарства на основата на комплекси на Pt(IV), само няколко от тях се намират в различни фази на клинични изпитвания, като нито едно от тези

съединения не е одобрено за клинично приложение, с което моделирането на комплекси на Pt(IV) с противотуморни свойства все още остава предизвикателство.

Представеният дисертационен труд е посветен на моделиране на „некласически“ противотуморни препарати на основата на Pt(IV) комплекси. Избраният органичен лиганд, 1,3,5-триамино-1,3,5-тридеокси-*cis*-инозитол (*cis*-2,4,6-триаминоциклохексан-1,3,5-триол), с тривиално наименование *taci*, е от групата на полиамино-полиалкохолите.

Предимства на предложените в дисертационния труд структури могат да се обобщят, както следва: 1) изборът на тридентатен лиганд; 2) структура на лиганда, сходна с биомолекули; 3) избор на I- лиганди, изпълняващи ролята на три ацидо-лиганди в комплекс  $fac-[Pt(taci)I_3]^+$ , **1**; 4) висока степен на окисление на платиновия йон. Координационният полиедър на комплексите, подложени на биологични тестове, съществено се отличава от класическите представи за наличие на противотуморни свойства. Очаква се, че моделираната различна координационна сфера с помощта на тридентатен „носещ“ лиганд ще бъде основа за принципно различни физикохимични свойства и механизъм на противотуморно действие. Изборът на I- „напускащи“ лиганди в комплекса **1** допълнително ще отмести механизмите от класическите изисквания за активност. Изборът на високата степен на окисление ще допринесе за доставка на лекарството в туморната тъкан, без да се дезактивира от взаимодействия с нецелев биомолекули в организма.

## 2. Цел и задачи

Основна цел на представения дисертационен труд е получаването на комплекси на платина в степен на окисление +4, със структура, в която носещите лиганди принадлежат на тридентатен лиганд и заемат едновременно екваториална и аксиална позиции в координационния полиедър, и да се оцени влиянието на структурата върху цитотоксичните им свойства.

За изпълнение на тази цел са поставени следните задачи:

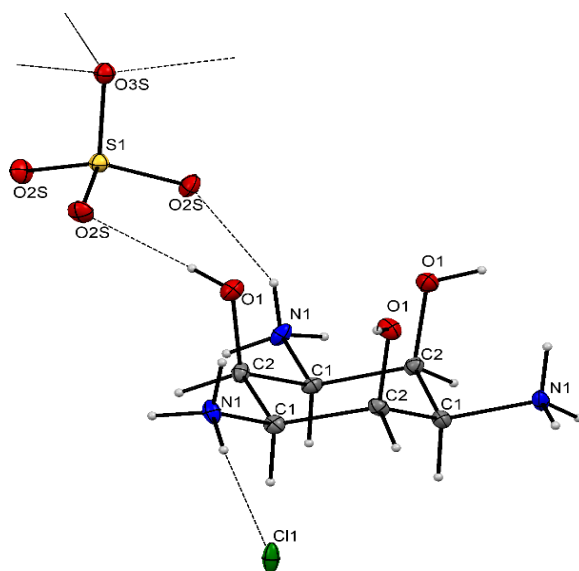
1. Изучаване координационната способност на  $tac1$  към Pt(IV).
2. Получаване на стабилни комплекси на лиганда  $tac1$  с Pt(IV).
3. Охарактеризиране на новосинтезираните комплекси в твърда фаза и в разтвор.
4. Оценка на стабилността на получените комплекси при различни условия, включително и физиологични (pH=7.4, 37 °C). Изучаване на процесите на лигандно заместване във водна среда при различна киселинност.
5. Изучаване на редукционна стабилност на получените комплекси към биологични редуктори.
6. Оценка на антипролиферативните отнасяния на комплексите.
7. Оценка на активността на комплексите по отношение на резистентни клетъчни линии и сравнение с ефекта на класическото лекарство цисплатин.



### 3. Резултати и обсъждане

#### 3.1. Кристална структура на протонираната форма на tacі като хидрохлорид-сулфат: all-cis-2,4,6-триаминоциклохексан-1,3,5-трихидрокси сулфат хлорид ((H<sub>3</sub>tacі)SO<sub>4</sub>Cl)

Кристали от (H<sub>3</sub>tacі)SO<sub>4</sub>Cl са изолирани в реакционната система (H<sub>3</sub>tacі)1.5H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и K<sub>2</sub>PtI<sub>6</sub> (молно отношение Pt : tacі = 1), в присъствието на разредена HCl (2×10<sup>-3</sup> mol/L), (pH ~ 3), след нагряване при 60 °C за около 3 часа. Лигандът е кристализирал в трипротонна форма [H<sub>3</sub>tacі]<sup>3+</sup> (фиг.1). [H<sub>3</sub>tacі]<sup>3+</sup> катионите са в конформация „стол“ с три хидроксилни групи (C–O – 1.398 Å) в аксиална позиция и три amino групи (C–N – 1.486 Å) – в екваториална позиция. Наблюдаваната конфигурация съответства на литературни данни за стабилните конформери на лиганда tacі. +3 зарядът е неутрализиран от един сулфатен и един хлориден аниони, участващи във водородни връзки с amino и хидроксилните групи (фиг. 1).



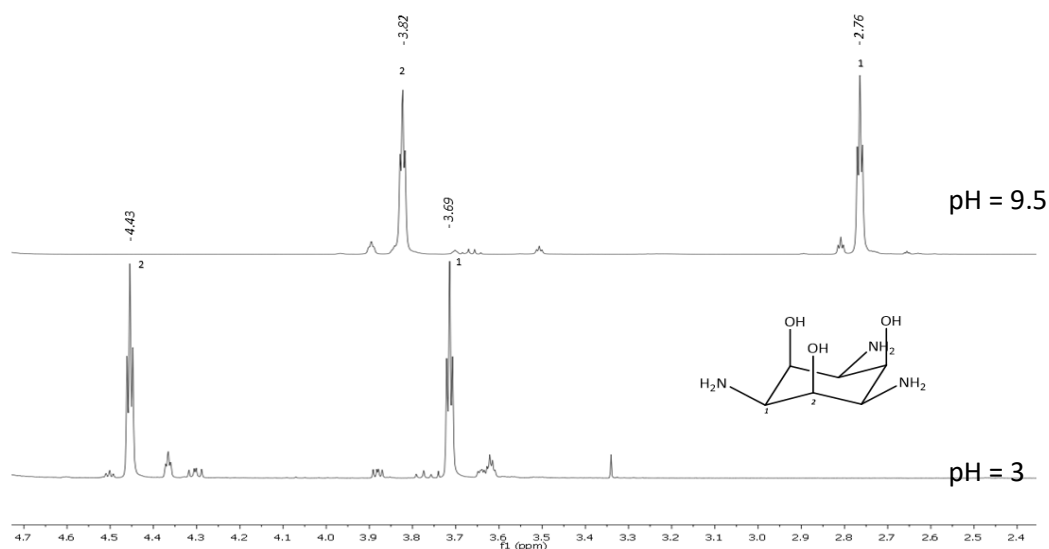
Фигура 1. Кристална структура на (H<sub>3</sub>tacі)SO<sub>4</sub>Cl. Съединението (H<sub>3</sub>tacі)SO<sub>4</sub>Cl кристализира в тригонална система с P31c пространствена група (№ 159), Z = 2, R = 4.95%. С пунктирна линия са показани водородни връзки. Термалните елипсоиди са представени с 30% вероятност.

#### 3.2. Характеризиране на молекулната структура на tacі във воден разтвор

За по-нататъшни реакции на комплексообразуване е използван лигандът tacі кристалохидрат (tacі·3H<sub>2</sub>O), прясно приготвен от неговия трихидрохлорид или сулфатен прекурсор чрез йонообменна хроматография.

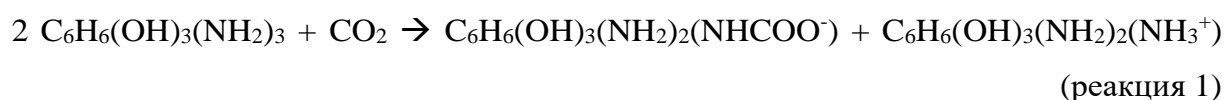
Кристалохидратната форма на tacі, аналогично на трипротонираната му форма, се характеризира с C<sub>3v</sub> молекулна симетрия в разтвор, в резултат на което в <sup>1</sup>H- ЯМР-спектъра (в D<sub>2</sub>O) се наблюдават два триплетни сигнала – съответно един за трите H-

атома, свързани с C- атом до amino група ( $H(CN)$ ), в по-силно поле и един за трите H-атома, свързани с C- атом до хидроксилна група ( $H(CO)$ ), в по-слабо поле (фиг. 2). Трябва да се подчертае, че мястото на сигналите се определя от киселинността на средата, следователно от протичащите процеси на протониране и депротониране във водна среда, като при повишаване на киселинността на средата се наблюдава отместване на двата сигнала към по-слабо поле (фиг. 2, таблица 1).

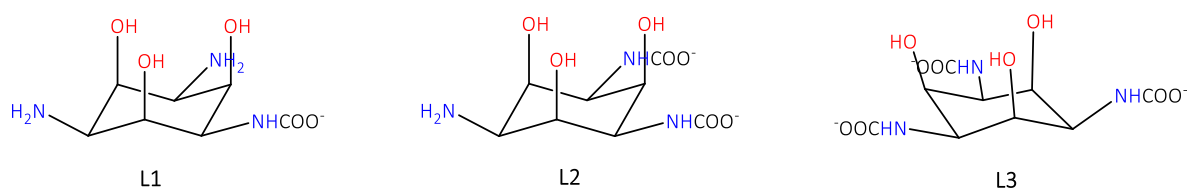


Фигура 2.  $^1H$ - ЯМР- спектър на  $tac1 \cdot 3HCl$  ( $pH = 3$ ) и  $tac1 \cdot 3H_2O$  ( $pH = 9.5$ ) в  $D_2O$ .

Като съединение, притежаващо amino групи, лигандът  $tac1 \equiv (C_6H_6(OH)_3(NH_2)_3)$  има способността да присъединява  $CO_2$  от въздуха, при което се образуват карбаматни производни (реакция 1).



Така, чрез последователно заместване на H- атом от трите  $NH_2$ - групи на  $tac1$ , могат да се получат три химични вида, със състав  $C_6H_6(OH)_3(NH_2)_{3-x}(NHCOO^-)_x$ ,  $1 \leq x \leq 3$ , наименувани както следва: **L1**, **L2** и **L3** (фиг. 3).



Фигура 3. Химични видове (карбамати) на лиганда  $tac1$  -  $C_6H_6(OH)_3(NH_2)_{3-x}(NHCOO^-)_x$ , съответно за  $x = 1$ , **L1**;  $x = 2$ , **L2** и  $x = 3$ , **L3**.

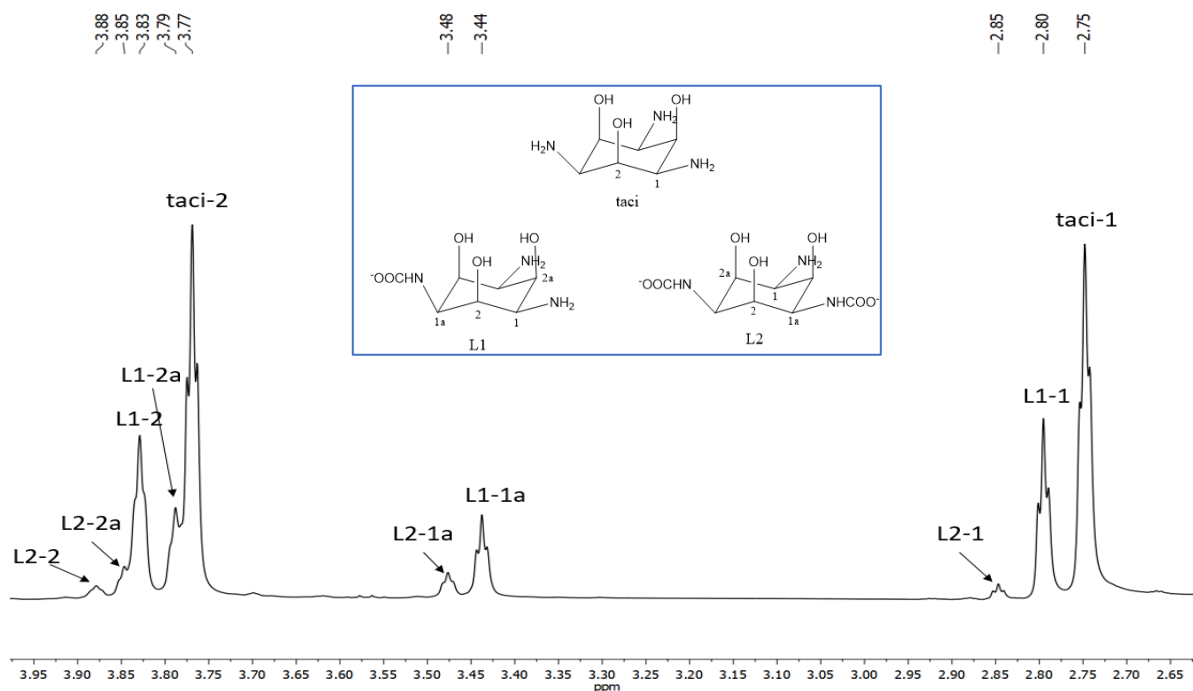
Процесите на образуване на карбамати във воден разтвор протичат в различна степен в зависимост от рН на средата, като увеличаването на броя свързани CO<sub>2</sub>- групи води до намаляване на рН на разтвора. Следователно, рН на средата е индикативно за присъствието и състава на taci-карбаматите.

С ЯМР експеримент е установено присъствието и на трите карбаматни химични вида, заедно с незаместени молекули taci, като е определен рН интервал 7.0 – 9.0, в който те се наблюдават (за **L3** – рН ~7.0 – 8.0) (таблица 1).

Таблица 1. Данни за химично отместване ( $\delta$  [м.ч.]) в <sup>1</sup>H- ЯМР- спектри на химични видове на taci при различна киселинност на средата.

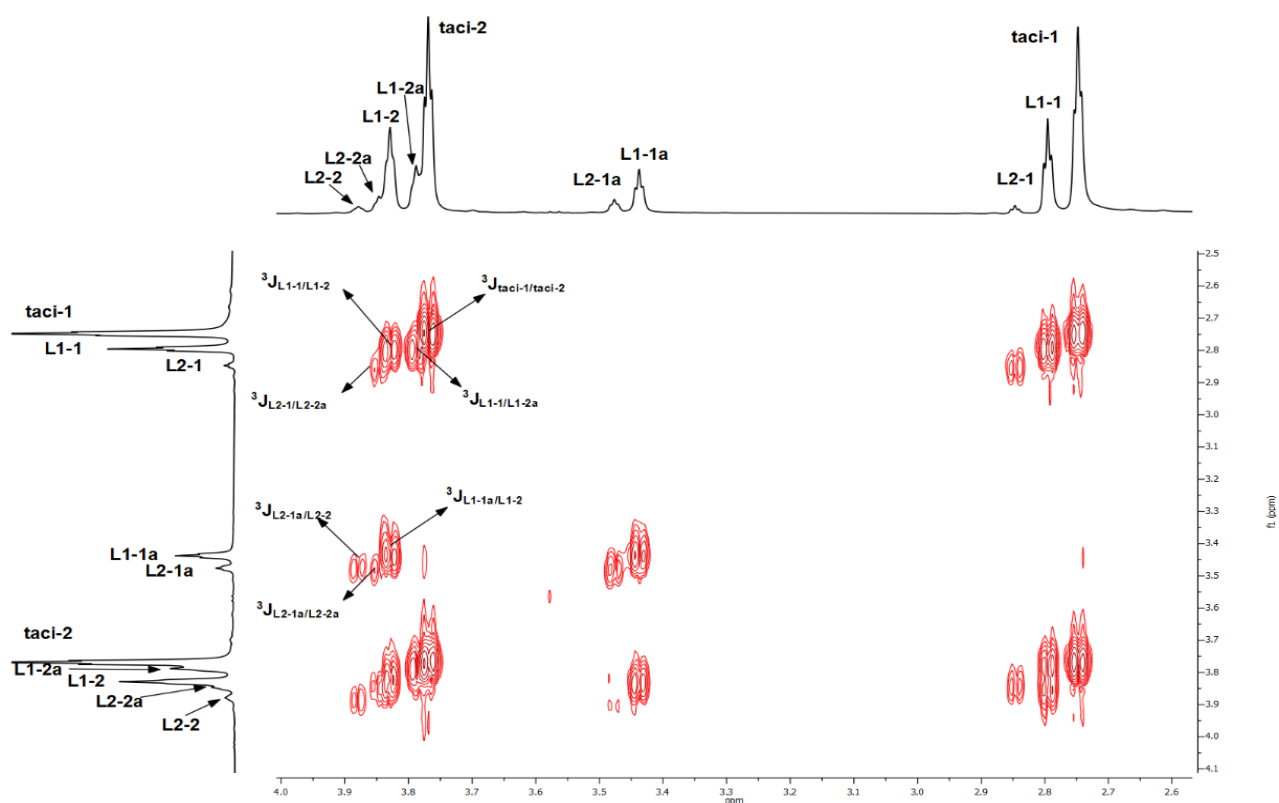
| Химичен вид | рН  | <sup>1</sup> H NMR $\delta$ [м.ч.], <sup>3</sup> J <sub>HH</sub> [Hz] |                                      |                    |                     |
|-------------|-----|---|--------------------------------------|--------------------|---------------------|
|             |     | HC(NH <sub>2</sub> )<br><b>1</b>                                      | HC(NHCOO <sup>-</sup> )<br><b>1a</b> | HC(OH)<br><b>2</b> | HC(OH)<br><b>2a</b> |
| <b>taci</b> | 3   | 3.69, 3.3   | -                                    | 4.43, 3.2          | -                   |
|             | 9.5 | 2.76, 3.0   | -                                    | 3.82, 3.0          | -                   |
| <b>L1</b>   | 8.5 | 2.80, 3.0   | 3.44, 3.0                            | 3.79, 3.0          | 3.83, 3.0           |
| <b>L2</b>   | 8.5 | 2.85, 3.1   | 3.48, 3.1                            | 3.85, 3.2          | 3.88, 2.9           |
| <b>L3</b>   | 7.5 | -   | 3.51, 3.1                            | -                  | 3.89, 3.3           |

При рН = 8.5 в <sup>1</sup>H- ЯМР- спектъра се наблюдават 10 триплетни сигнала (фиг. 4), които с помощта на <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H- COSY експеримент (фиг. 5) са отнесени към три taci – химични вида: **taci**, **L1** и **L2**.



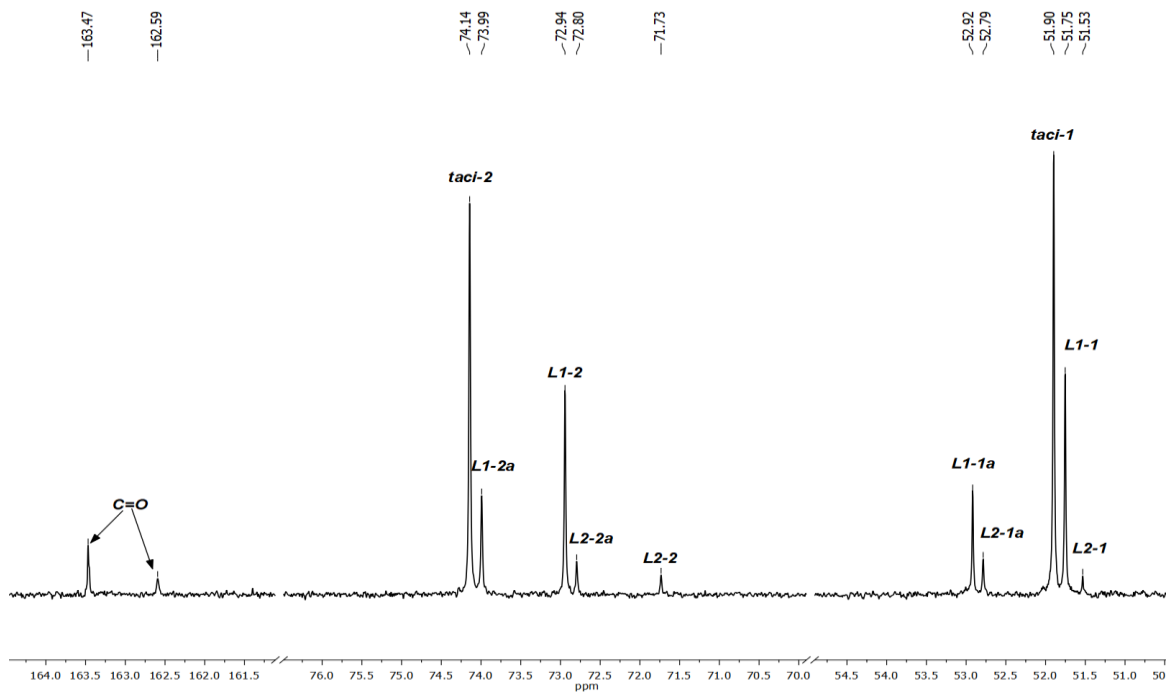
Фигура. 4. <sup>1</sup>H- ЯМР- спектър на taci в D<sub>2</sub>O, при рН = 8.5. Означенията на сигналите съответстват на означенията на химичните видове, представени на фигурата.

При химични видове със заместени една или две  $\text{NH}_2$ - групи (**L1** и **L2**), молекулната симетрия се понижава от  $C_{3v}$  в  $C_s$ , в резултат на което в  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектрите за всеки от тях се наблюдават по 4 сигнала. Така за **H(CN)** се наблюдават два сигнала – **H(CNH<sub>2</sub>)** (сигнал 1) и **H(CNHCOO<sup>-</sup>)** (сигнал 1a) с отношение на площите на сигналите 2 : 1 за **L1** и 1 : 2 за **L2**, съответно и два сигнала за **H(CO)** (2 и 2a). Присъствието на **NHCOO<sup>-</sup>**- група води до химично отместване към по-слабо поле на сигналите за **H**- ядрата, което е най-голямо за **HC(NCOO<sup>-</sup>)**.

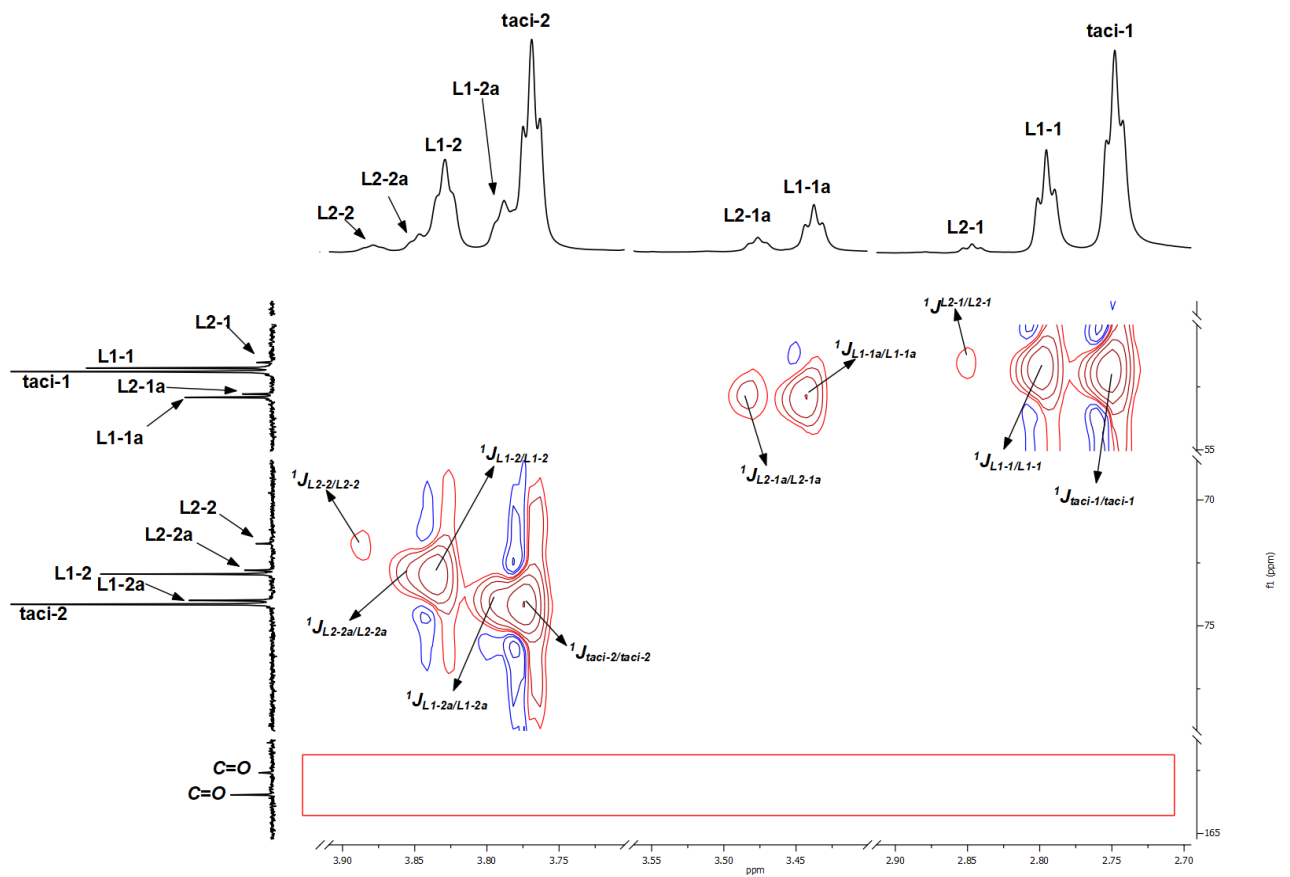


Фигура 5.  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY спектър на разтвор на *taci* в  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{pH} = 8.5$ .

Във  $^{13}\text{C}$ - ЯМР- спектъра на същия разтвор се наблюдават 12 сигнала (фиг. 6). С помощта на  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC двумерна техника (фиг. 7) е показана директната свързаност, по химична връзка, на даден протон към съответния въглероден атом. Показателно за присъствието на карбаматни производни на *taci* са сигналите при  $\sim 163$  ppm, дължащи се на карбонилен въглероден атом ( $\text{C}=\text{O}$ ) от **HNCOO<sup>-</sup>**- групите.



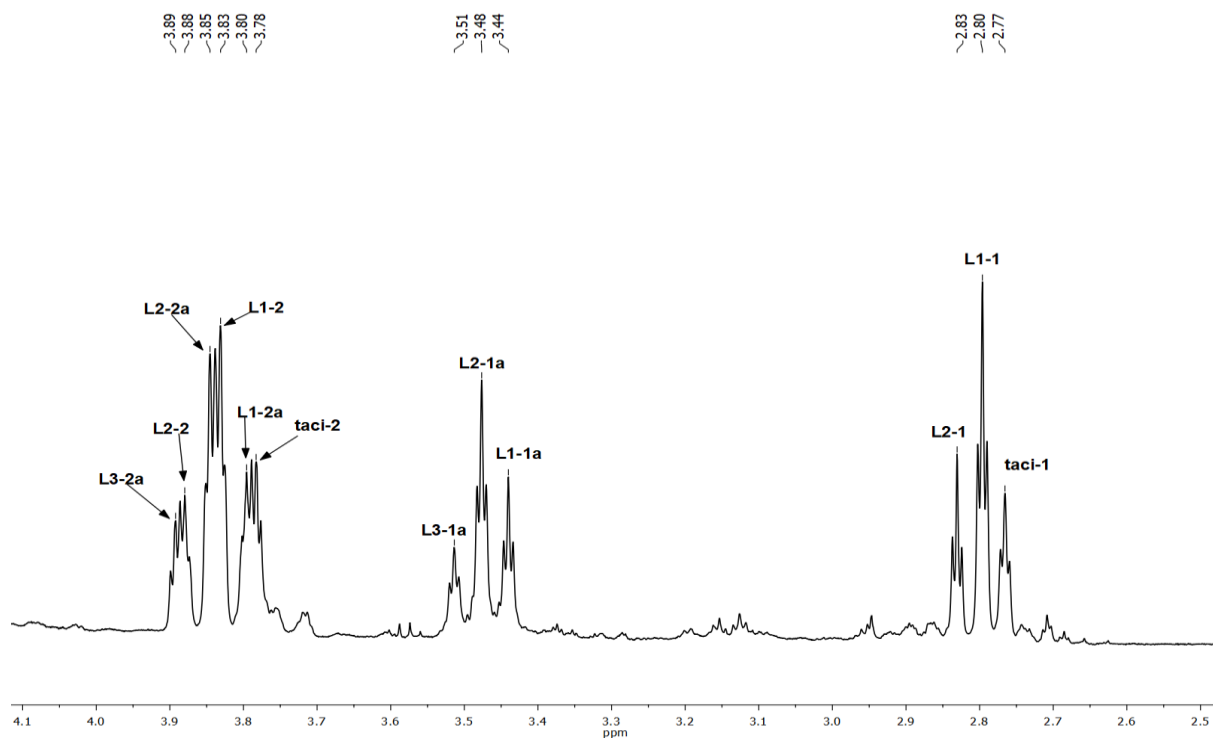
Фигура 6.  $^{13}\text{C}$ - ЯМР- спектр на разтвор на taci в  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{pH} = 8.5$ .



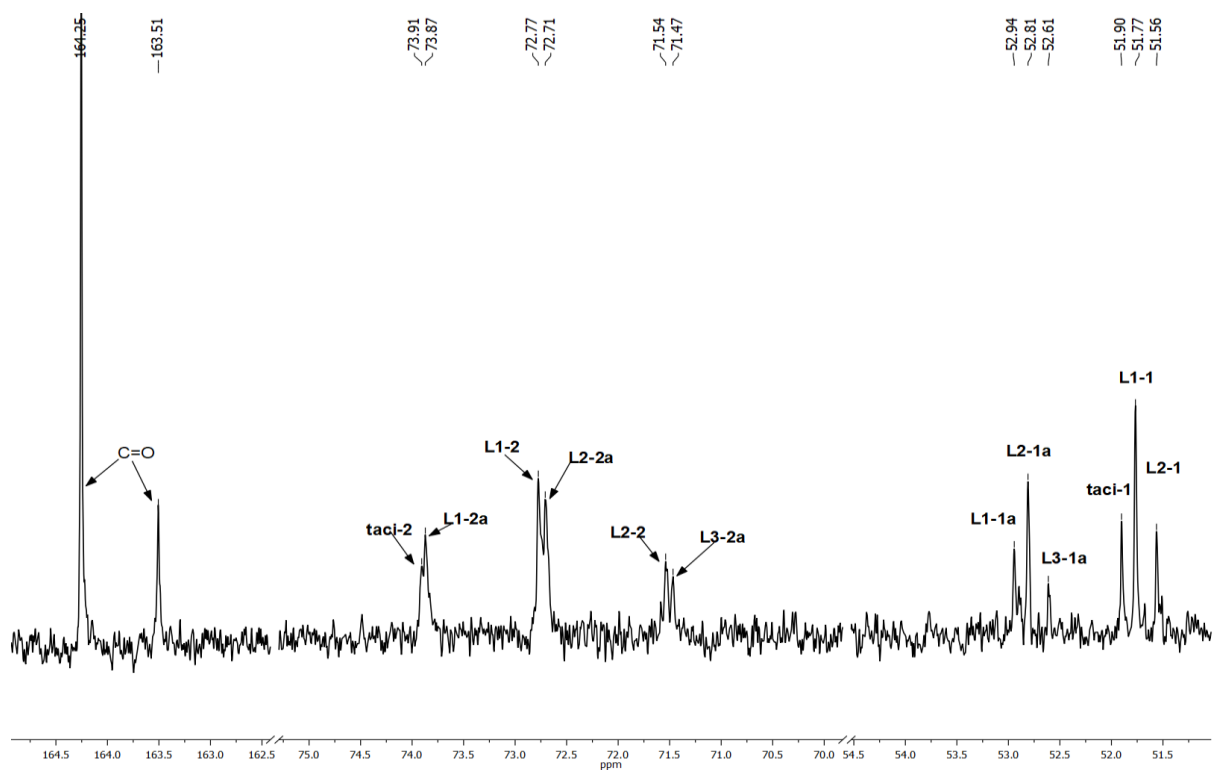
Фигура 7.  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC ЯМР- спектр на разтвор на taci в  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{pH} = 8.5$ .



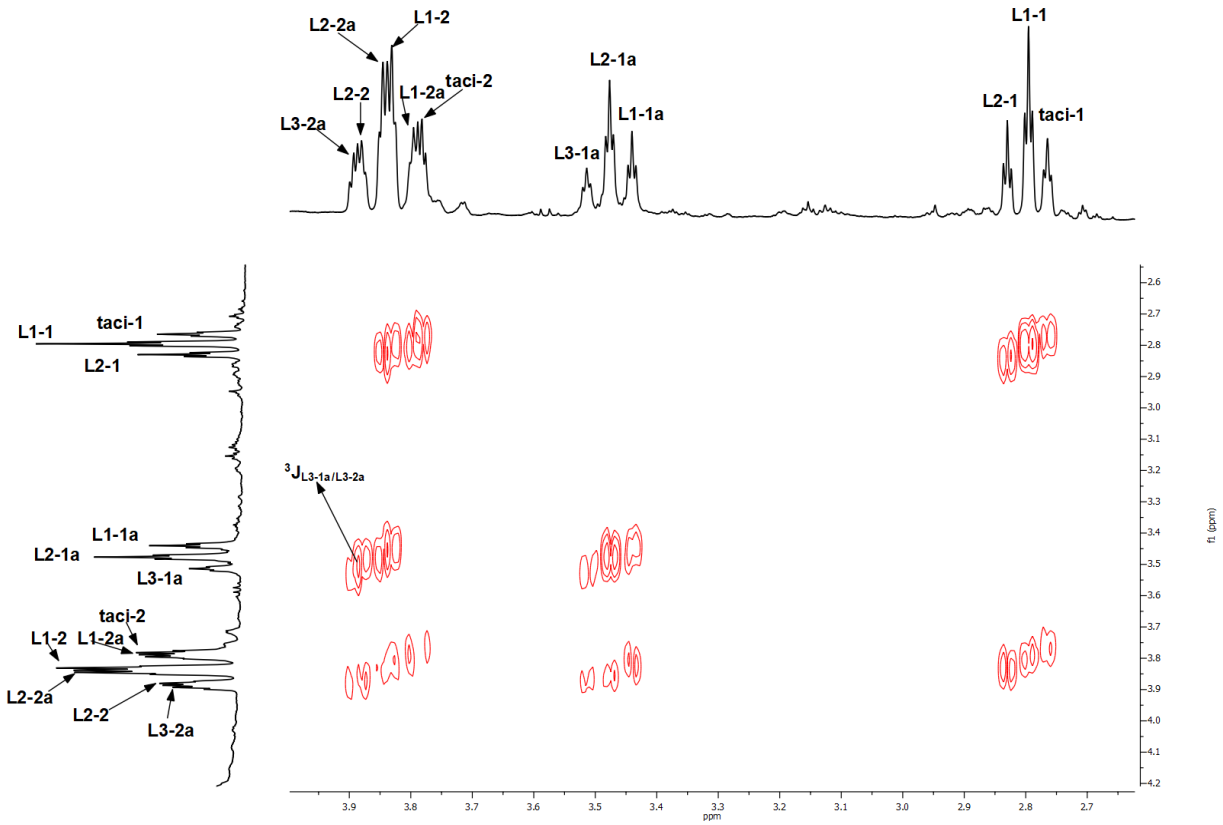
Таблица 1).  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY и  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC ЯМР- спектри на разтвор на тасі при pH = 7.5 са показани на фигури 11 – 12.



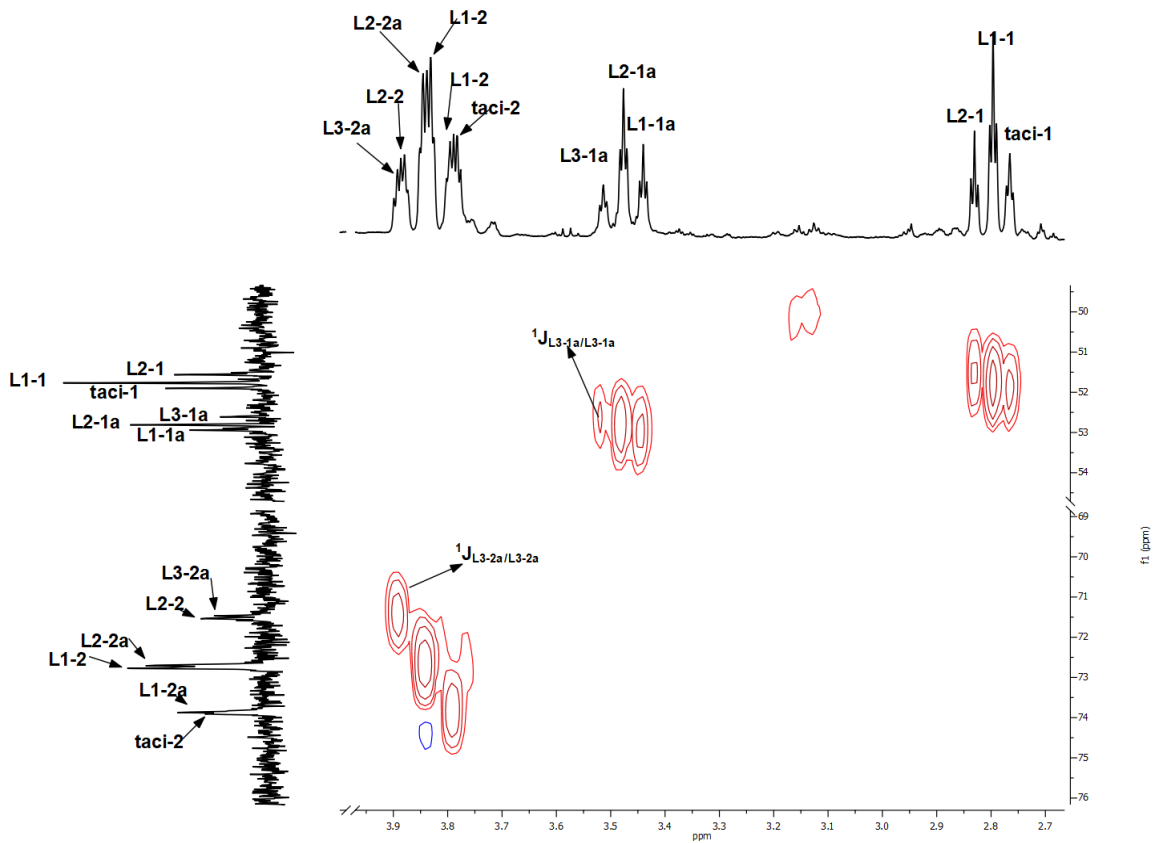
Фигура 9.  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектър на тасі в  $\text{D}_2\text{O}$ , pH = 7.5.



Фигура 10.  $^{13}\text{C}$ - ЯМР- спектър на тасі в  $\text{D}_2\text{O}$ , pH = 7.5.



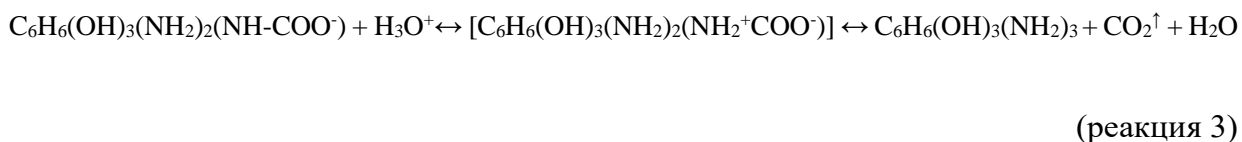
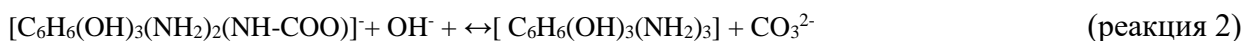
Фигура 11.  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY ЯМР- спектр на разтвор на tac1 при pH = 7.5



Фигура 12.  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC ЯМР- спектр на разтвор на tac1 при pH = 7.5

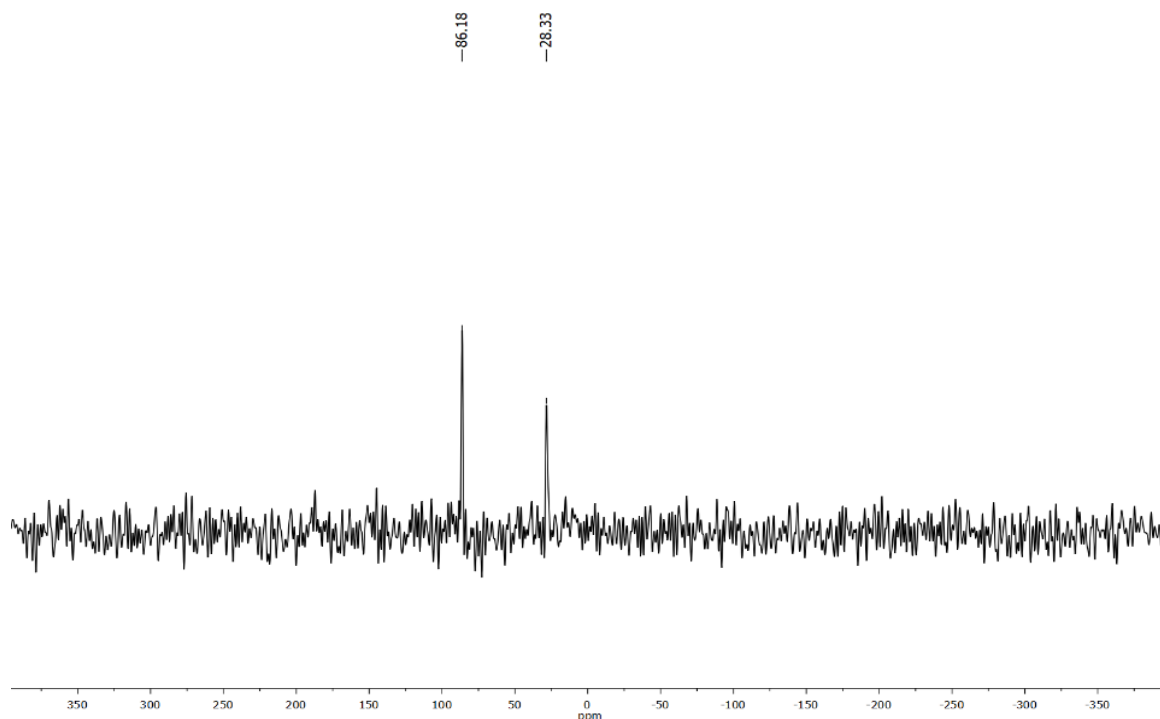


Карбаматите на тасі съществуват при определена киселинност на средата (рН в интервала 7.0 – 9.0), като в основна среда, при рН > 9.0, се разрушават с отделяне на  $\text{CO}_3^{2-}$  (реакция 2), а в кисела среда, рН < 7, с отделяне на  $\text{CO}_2$  (реакция 3).

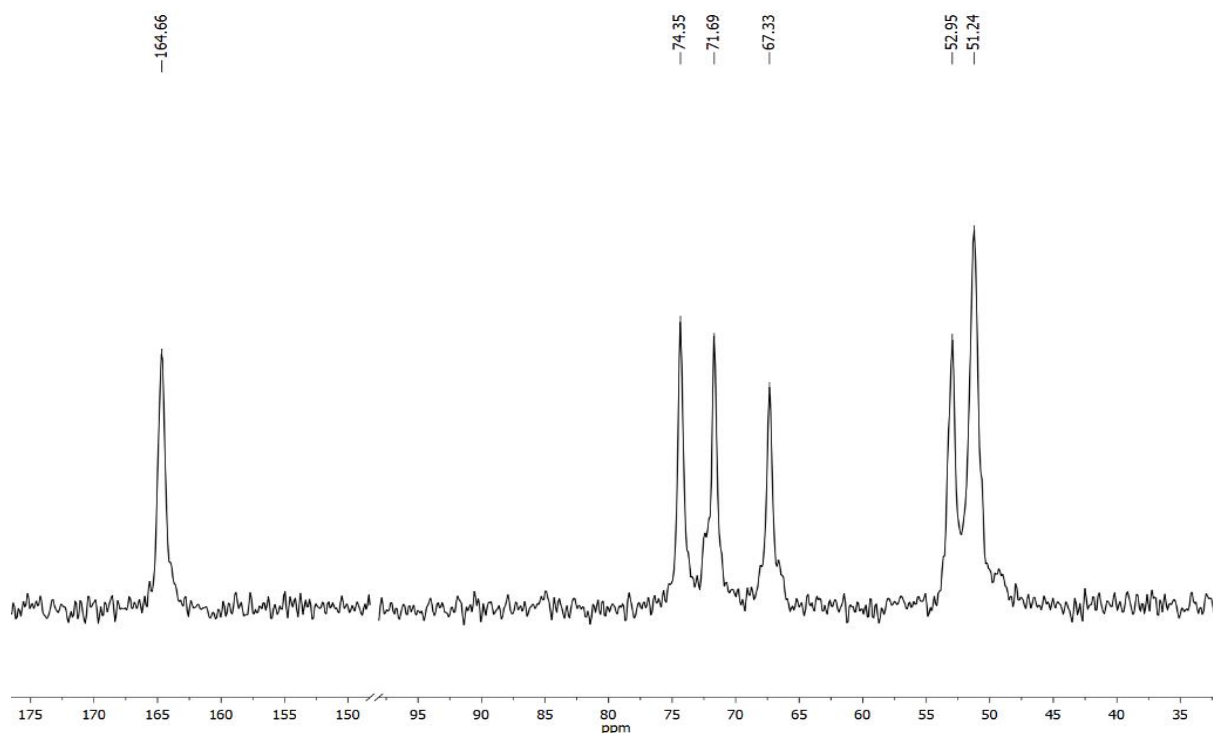


### 3.3. Охарактеризиране на тасі в твърда фаза.

В  $^{15}\text{N}$ - CP-MAS ЯМР- спектъра на тасі (фиг.13), изолиран от разтвор с рН ~ 8.5, се наблюдават два сигнала, при 28.33 м.ч. (свободна амино група) и 86.18 м.ч. ( $\text{NHCOO}^-$ ), което показва присъствие на карбаматна форма на тасі и в твърда фаза. Сигналите за  $^{15}\text{N}$  от  $\text{NHCOO}^-$  са регистрирани в по-слабо поле поради електрон-акцепторните свойства на карбаматната група. Присъствието С- атом от карбаматните групи ( $\text{CNHCOO}^-$ ) се доказва и от сигнал при 164.66 м.ч. в  $^{13}\text{C}$ - CP-MAS ЯМР- спектъра на тасі (фиг. 14).



Фигура 13.  $^{15}\text{N}$ - CP- MAS ЯМР- спектър на лиганда тасі, изолиран от разтвор с рН ~ 8.5.

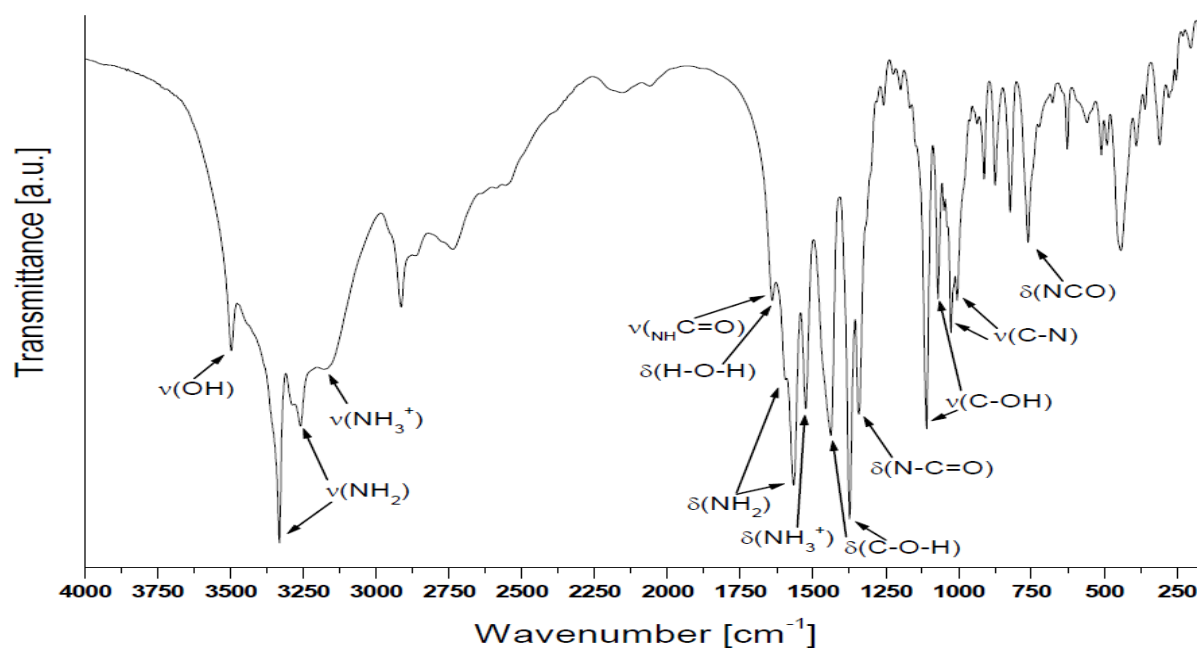


Фигура 14.  $^{13}\text{C}$ -CP-MAS ЯМР спектър на лиганда *tac1*, изолиран от разтвор с  $\text{pH} \sim 8.5$ .

В  $^{13}\text{C}$ -CP-MAS спектърта се наблюдават още две групи сигнали. Сигналите в интервала 51 – 53 м.ч. се дължат на  $^{13}\text{C}$ - атоми съответно, свързани с амино и с карбаматни групи, а тези в интервала 67 – 75 м.ч. се дължат на C- атоми от пръстена, свързани с -ОН.

ИЧ- спектри на лиганда *tac1* са регистрирани в областта  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  (таблетка KBr) (фиг.15) и в областта  $4000 - 80 \text{ cm}^{-1}$  (таблетка CsI). Присъствието на кристализационна вода се доказва от широките ивици, наблюдавани в интервала  $3550 - 3350 \text{ cm}^{-1}$  и тези за деформационно трептене Н–О–Н при  $\sim 1640 - 1620 \text{ cm}^{-1}$ . Ивици за валентно трептене  $\nu_{\text{OH}}$ , са наблюдавани при  $3497 \text{ cm}^{-1}$  и широки ивици около  $3270 - 3180 \text{ cm}^{-1}$  за ОН- групите, участващи във водородни връзки. Ивиците за валентните трептения С–О са отбелязани в интервала  $1110 - 1050 \text{ cm}^{-1}$ , а тези за деформационните трептения С–О–Н са в интервала  $1460 - 1370 \text{ cm}^{-1}$ . Валентни трептения, дължащи се на  $\text{NH}_2$ - групите, се наблюдават в интервала  $3332 - 3259 \text{ cm}^{-1}$ , а деформационните трептения- в интервалите:  $1595 - 1530 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta_{\text{NH}_2}$ ),  $1295 - 1145 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta^{\text{in}}_{\text{NH}_2} + \nu_{\text{C-C}}$ ) и  $850 - 650 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta^{\text{out}}_{\text{NH}_2}$ ). В спектърта могат да се отнесат и ивици, доказващи присъствието на карбаматни форми. Широката ивица при  $1645 \text{ cm}^{-1}$  може да бъде отнесена за  $\nu_{\text{C=O}}$  до амино група (чиито електрон-донорни свойства водят до наблюдаваното нискочестотно отместване). Ивиците при  $1280 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta_{\text{N-C=O}}$ ),  $780 -$

750  $\text{cm}^{-1}$ , могат да бъдат отнесени към деформационните  $\delta^{\text{out}}_{\text{OCN}}$ ,  $\delta^{\text{in}}_{\text{OCO}}$  и  $\delta^{\text{in}}_{\text{CNC}}$  трептения. Ивиците при 3150  $\text{cm}^{-1}$ , както и тази при 1525  $\text{cm}^{-1}$ , могат да се отнесат съответно за трептенията  $\nu_{\text{N-H}}$  и  $\delta_{\text{NH}_3^+}$  от протонирана аминок група, принадлежаща на протонирани *taci*-лиганди, които може да се получават паралелно с карбаматните форми (реакция 1).



Фигура 15. ИЧ- спектър на *taci*·3H<sub>2</sub>O, съдържащ карбаматни форми, записан в таблетка KBr.

### 3.4. Получаване на комплексите.

Образуването на различни комплексни видове между Pt(IV) и *taci* зависи от молното отношение и киселинността на реакционната среда (схема 1). В излишък на K<sub>2</sub>PtI<sub>6</sub> (молно отношение [PtI<sub>6</sub>]<sup>2-</sup>: *taci* = 1.5 : 1) рН на средата е ~ 5. От разтвора, в рамките на няколко часа се получават червени кристали. Данните от елементарен анализ показват състав: Pt : 3I : *taci*. Следователно, в резултат на комплексобразуването е получен комплекс, в който на мястото на три от йодидните йони от изходната платинова сол [PtI<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> е координирана една молекула лиганд *taci*. Координирането на втора молекула *taci* се благоприятства от повишаване на рН на разтвора или нагряване, условия, които определят ускоряване на хидролизата на йодидните йони. При смесване на реагентите в молно отношение *taci* : Pt = 1 : 2 се установява равновесие с получаване на *bis*-комплекси заради увеличаване концентрацията на лиганда. При тези условия, рН на реакционната система се повишава до около 8.0 – 8.5 поради слабо основните свойства на *taci*, в резултат на което трите йодидни йона от вътрешната координационна сфера на платина се

заместват с  $\text{OH}^-$ . Високата електроотрицателност и наличието на свободна електронна двойка на  $\text{OH}^-$  групите водят до по-силно отблъскване с електроните от запълнените  $d$  несвързващи орбитали на  $\text{Pt(IV)}$ . Под действието на *trans*-разположените  $\text{NH}_2$ - групи,  $\text{OH}^-$  лесно се заместват от втора молекула *taci*, при което се получава комплекс с отношение  $\text{Pt} : \text{taci} = 1 : 2$ .

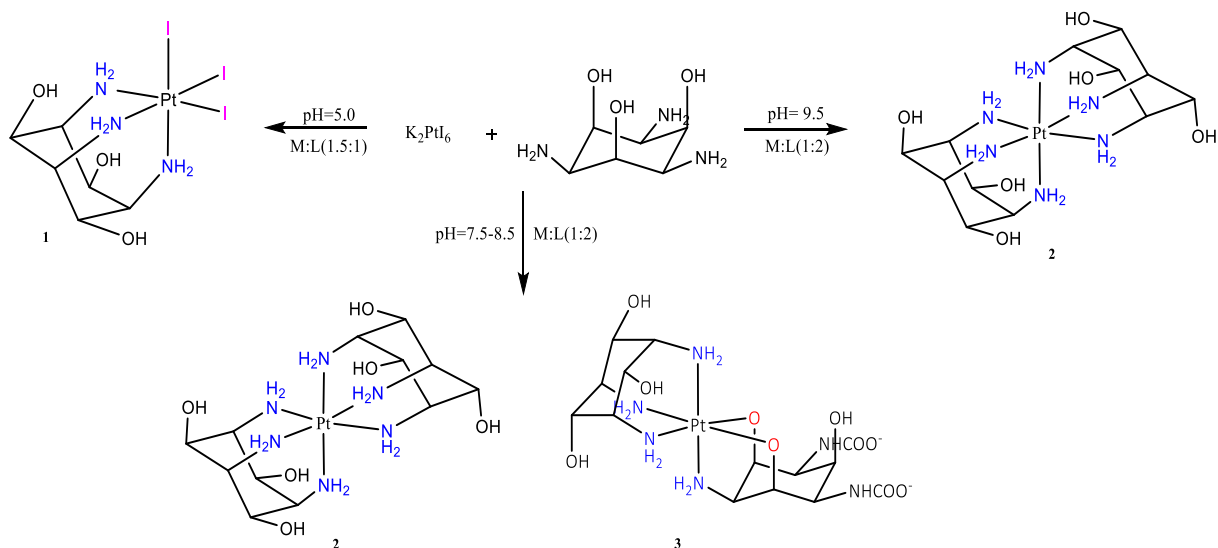


Схема 1. Схематично представяне на условия за получаване на комплексите.

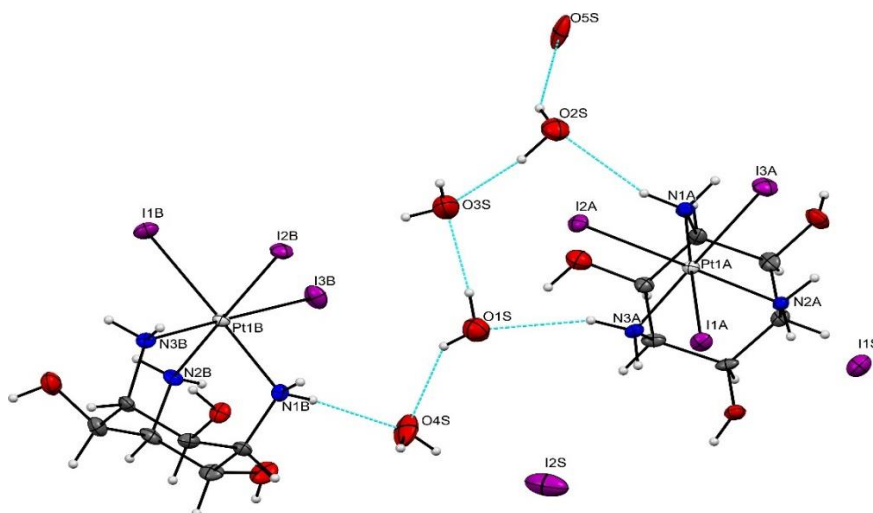
При тези условия ( $\text{pH} \sim 8.0 - 8.5$ ) в реакционната система могат да присъстват и карбаматни форми на *taci* (реакция 1). В резултат на това амино групите остават блокирани за по-нататъшна координация към метален йон. Следователно, в разтвор могат да се получат *bis*-комплекси с отношение  $\text{taci} : \text{Pt} = 2 : 1$  с различен състав на вътрешната координационна сфера, например  $\text{PtN}_4\text{O}_2$ ,  $\text{PtN}_3\text{O}_3$  и др. В присъствие на карбаматни производни на *taci* е доказано получаването на комплексен вид с  $\text{Pt}^{\text{IV}}\text{N}_4\text{O}_2$  октаедрична конфигурация (**3**). За да се насочи комплексообразователната реакция към получаване на симетричен *bis*-комплекс на  $\text{Pt(IV)}$  с *taci*, със симетрична координация на двете молекули *taci* през аксиално разположените амино групи, е необходимо, след смесването на изходните реагенти с излишък на лиганда *taci* ( $\text{taci} : \text{Pt} = 2 : 1$ ), да се добави основа за постигане на  $\text{pH} \sim 9.5$ . По този начин от една страна се повишава концентрацията на  $[\text{OH}^-]$  в разтвора, което улеснява заместването на йодидните йони от втора молекула *taci*, а от друга страна, хидроксидните йони участват като база за свързване на  $\text{CO}_2$ , при което се освобождават амино групите за координация и в разтвора се образува  $\text{CO}_3^{2-}$  (реакция 2), който служи като противойон за изолирането на кристали от комплекс **2A**.

### 3.5. Охарактеризиране на комплекси на *fac* с Pt(IV) в твърда фаза

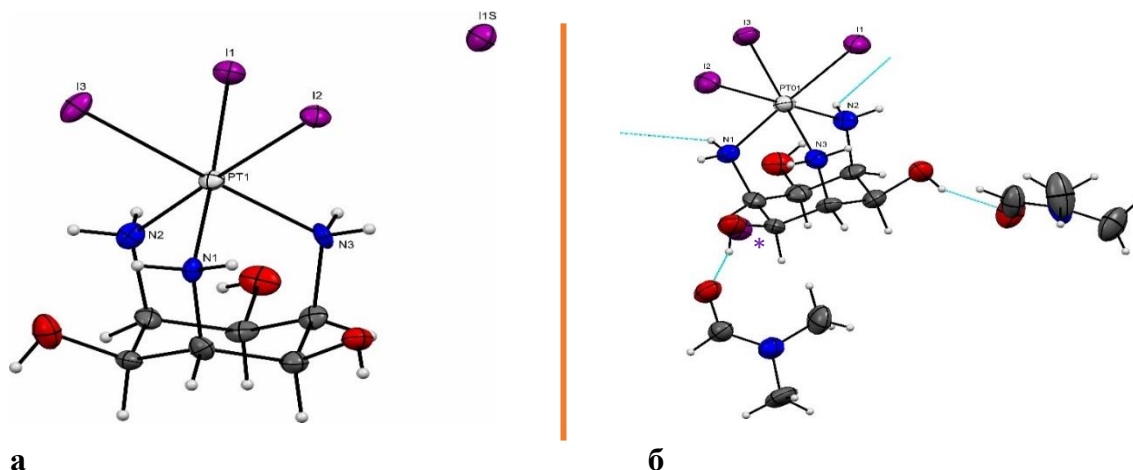
#### 3.5.1. Рентгенова дифракция на монокристални образци

##### 3.5.1.1. Кристална структура на комплекси със състав $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]^+$ .

Комплексните катиони *fac*- $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]^+$  кристализират като *fac*- $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]\text{I}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**1A**) от воден разтвор (фиг. 16) и при прекристализиране от диметил формамид (DMF) (*fac*- $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]\text{I}\cdot 2\text{DMF}$ , **1C**, фиг. 17 б)). При съхранение на **1A** без разтворител или под неполярен разтворител, се образуват кристали със състав *fac*- $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]\text{I}$ , **1B** (фиг. 17 а)). Кристали, подходящи за монокристална дифракция, бяха избрани от всяка една от изброените проби и анализирани.



Фигура 16. Кристална структура на комплекс **1A**. **1A** кристализира в моноклинна кристална решетка, пространствена група  $P2_1/c$  (№ 14),  $Z = 8$ ,  $R = 4.85\%$ . С пунктирни линии са показани водородни връзки. Термалните елипсоиди са представени с 30% вероятност.



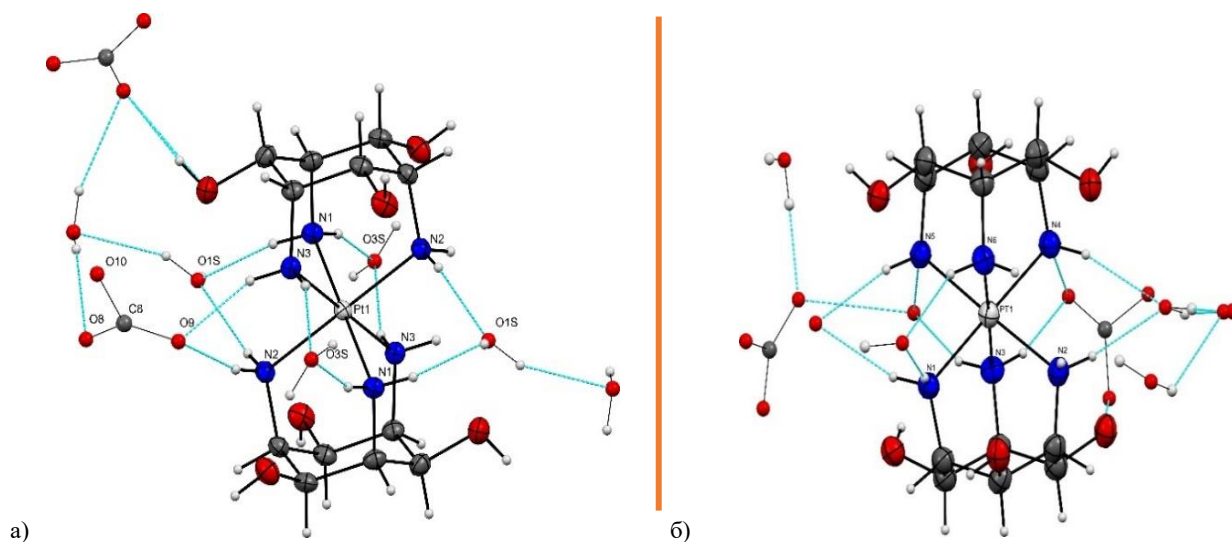
Фигура 17. Кристална структура на **1B**, триклинна кристална решетка, пространствена група  $P-1$  (№ 2),  $Z = 2$ ,  $R = 5.12\%$  (а) и **1C**, моноклинна кристална решетка, пространствена група  $P2_1/n$  (№ 14),  $Z = 4$ ,  $R = 7.87\%$  (б). С пунктирни линии са показани водородни връзки. Термалните елипсоиди са представени с 30% вероятност. \*- Йодиден йон от външната координационна сфера.

Данните от рентгеноструктурния анализ показват, че и в трите съединения комплексният катион е еднакъв. Независимо от условията на кристализация, една молекула *taci* е координирана тридентатно към платиновия център през трите си аксиално разположени amino групи. Всяка amino група е разположена противоположно на един от останалите три незаместени йодидни йони, образувайки октаедрична геометрия с фасиална PtI<sub>3</sub>N<sub>3</sub> координация. В резултат на координирането на трите amino групи, се образуват три идентични хелатни пръстена Pt–N1–C1–C2–C3–N2 в леко деформирана конформация „стол“ (средни ъгли в пръстена: N–Pt–N ~ 90 °; Pt–N–C ~ 116 °; N–C–C ~ 111 °; C–C–C ~ 114 °). Дължините на връзките Pt–N са в интервала 2.086 – 2.127 Å, което е в съответствие с дължините на връзките Pt–N, определени за други *fac*-Pt<sup>IV</sup>N<sub>3</sub>I<sub>3</sub> комплекси. Сравнението на дължините на връзките Pt–I и съответно Pt–N в комплексния катион, *fac*-[Pt(*taci*)I<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, показва, че няма съществени различия между аналогичните връзки. От кристалографските данни се вижда, че получените комплекси са с почти правилна октаедрична геометрия, като разликите във вътрешнолигандните N–Pt–N и междулигандните N–Pt–I ъгли в **1A** също са несъществени (с отклонение от 90 ° до 1.5 °) и са причина за незначителна тригонална до ромбична деформация. Този резултат е очакван предвид съответствието в размера на симетричните, триаксиални координационни места, които лигандът *taci* предоставя за координация и йонния радиус на Pt(IV). В **1B** и **1C** има отклонения до 5 ° в тези ъгли. Следователно, може да се направи заключение, че деформацията в октаедричната геометрия на комплексите е свързана с процеса на кристализация и пакетиране, както и ефекта на съкристализираните молекули разтворител, а не е резултат от стерични напрежения при координиране на донорните групи към Pt(IV). На базата на представения анализ можем да кажем, че в трите съединения с комплексен катион, *fac*-[Pt(*taci*)I<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, могат да бъдат прекарани три идентични координационни равнини, всяка от които съдържа Pt, два I- и два N- атоми. Във външната координационна сфера на комплексите и в трите кристални структури присъства по един йодиден анион за всеки комплексен катион. В трите кристални структури този йодиден анион е отдалечен от платиновия център, вероятно поради стерични причини, както и поради намаления ефективен положителен заряд на платина. Трите йодидни йони от вътрешната координационна сфера на комплексите, заедно с йодидния йон от външната са доказателство за +4 степен на окисление на платина.

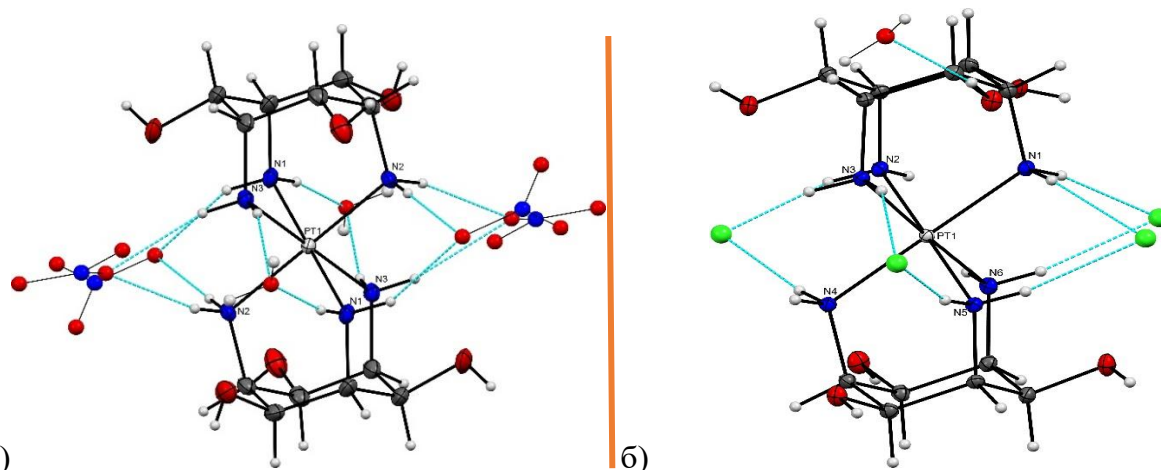
И в двата случая на пакетиране в моноклинна система (**1A**, **1C**) комплексът кристализира с молекули от разтворителя, свързани чрез водородни връзки към NH<sub>2</sub>- и OH- групите на лиганда *taci*. За разлика от тях, в **1B** наблюдаваната трансформация на кристалната решетка е следствие от дехидратация на кристала, в резултат на което в елементарната клетка не присъстват молекули разтворител.

### 3.5.1.2. Кристална структура на комплекси със състав *bis*-[Pt(*taci*)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>.

Кристали със състав на комплексния катион *bis*-[Pt(*taci*)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> са изолирани при различни условия. Кристали, получени директно при синтез на комплекси в отношение *taci* : Pt = 2 и рН ~ 9.5, *bis*-Pt(*taci*)<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (**2A** (фиг. 18 а)) или при прекристализиране на **2A** във воден разтвор с: 2.5×10<sup>-3</sup> М HNO<sub>3</sub>, *bis*-Pt(*taci*)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O (**2B** (фиг. 19 а)); 5×10<sup>-2</sup> М NaOH, *bis*-Pt(*taci*)<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>1.5</sub>(OH)·7H<sub>2</sub>O, (**2C** (фиг. 18 б)) и 5×10<sup>-3</sup> mol/L KCl-*bis*-Pt(*taci*)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, (**2D** (фиг. 18 б)) . В структурите **2A** – **2D** шестте йодидни йони от изходната платинова сол са заместени от две молекули лиганд, тридентатно координирани през трите си аксиално разположени amino групи, при което се образува октаедричен *bis*-комплекс с хромофор PtN<sub>6</sub>. Този вид комплекси могат да се опишат като тип сандвич, в който двата неутрални лиганда са локализирани под и над равнина, в която се разполага платиновия център.



Фигура 18. Кристална структура на **2A** (а), моноклинна система, пространствена група C2/c (№ 15), Z = 4, R = 2.41% и **2C** (б), триклинна кристална система, P-1 (№ 2), Z = 2, R = 5.85%. С пунктирани линии са показани водородни връзки. Термалните елипсоиди са представени с 30% вероятност. Молекули на разтворител и противоиони са представени с „топчета“ за повече яснота.



Фигура 19. Кристална структура на **2B** (а), моноклинна кристална система,  $P2_1/n$  ( $N\bar{2}14$ ),  $Z = 2$ ,  $R = 1.98\%$  и **2D** (б), триклинна система, пространствена група  $P-1$ ,  $Z = 2$ ,  $R = 1.73\%$ . С пунктирани линии са показани водородни връзки. Термалните елипсоиди са представени с 30% вероятност. Молекули на разтворител и противоиони са представени с „топчета“ за повече яснота.

Връзките Pt–N (2.04 – 2.128 Å) в този тип комплекси са малко по-къси в сравнение с връзките Pt–N в комплекси със състав  $fac-[Pt(taci)_3]^+$ . Причина за това е отсъствието на йодидни лиганди. В тази група комплекси не се наблюдава стерично напрежение, което ясно показва съответствие между размера на металния йон и начина на координация на лиганда {N,N,N}. Трите идентични координационни равнините в комплекси  $bis-[Pt(taci)_2]^{4+}$  съдържат 4 N- атома от две молекули лиганд и Pt, локализирана в средата на равнината. Зарядът на комплекс **2A** е неутрализиран с два  $CO_3^{2-}$  аниона за всяка молекула комплекс, потвърждаващи +4 заряда на комплексния катион (фиг. 18 а).

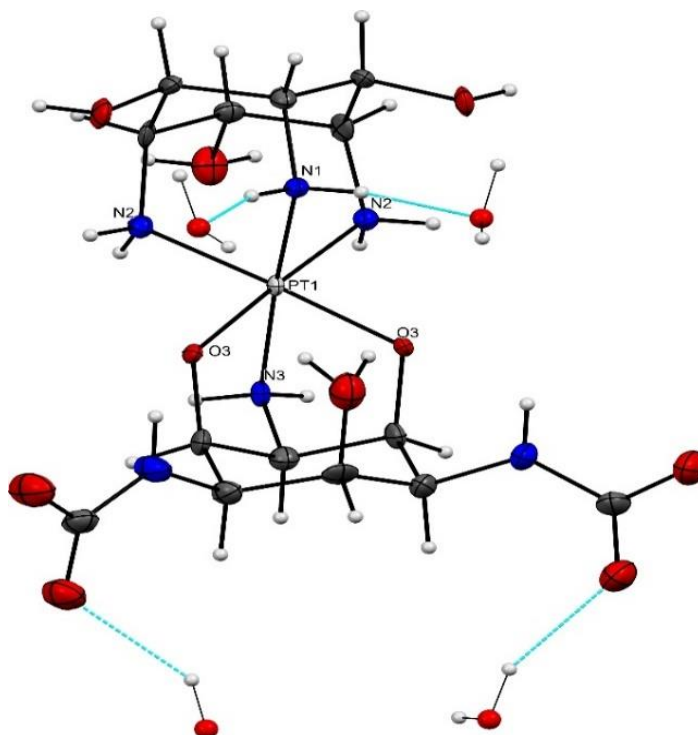
Неутрализиране на заряда в комплекс **2C** е в резултат от частична замяна на карбонатни аниони с хидроксидни групи и 2 молекули комплекс кристализират с 3 карбонатни аниона и 2 хидроксидни групи (фиг. 18 б). В комплекс **2B** карбонатните аниони са заместени с четири нитратни аниона (фиг. 19 а), а в структурата на **2D** зарядът на комплексния катион е неутрализиран с четири хлоридни аниона (фиг. 19 б). Във всички комплекси Pt е в +4 степен на окисление. Във всички структури (**2A** – **2D**) част от противойоните и молекулите на водата се намират в равнината на платиновия център, като образуват външна координационна сфера около него, стабилизирайки комплекса с мрежа от водородни връзки с амино групите от двете молекули лиганд.



### 3.5.1.3. Кристална структура на комплекс със състав

#### $[\text{Pt}(\text{taci})(\text{taci-4H}_2(\text{CO}_2))]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**3**)

Структурата на комплекс **3** е съставена от Pt(IV) координационен център и две молекули taci, тридентатно свързани към платиновия център (фиг.20). Едната молекула е координирана през трите аксиални amino групи. Дължините на връзките Pt–N са в интервала 2.045 – 2.051 Å, като са с около 0.02 Å по-къси от дължините на връзки Pt–N в комплекси със състав *fac*-[Pt(taci)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>. Във втората молекула taci две amino групи са заместени с карбаматни групи. В резултат на това втората taci молекула е координирана асиметрично през две депротонирани аксиални OH- (алкокси) групи (Pt–O = 1.995 Å) и една незаместена екваториална NH<sub>2</sub>- група (Pt–N = 2.004 Å). Така се оформя координационен полиедър PtO<sub>2</sub>N<sub>4</sub>. Двете карбаматни групи -NHCOO<sup>-</sup> имат заряд -1, което заедно с двете депротонирани OH- групи неутрализира заряд +4 на платиновия йон. При асиметричния начин на координация участват съседни донорни групи от лиганда, при което се образуват два 5- членни хелатни пръстена (Pt–O–C–C–N) и един 6-членен (Pt–O–C–C–C–O). В резултат на това се наблюдава намаляване големината на валентния ъгъл N–Pt–O (~ 82 °), което е в съответствие с пространствените изисквания в 5- членен хелатен пръстен. Следователно, при асиметричната координация {N,O,O} стеричното напрежение е по-голямо, спрямо симетричната {N,N,N} координация по отношение на октаедричната координация на платиновия център. В допълнение, разстоянията между донорните функционални групи в комплекс **3** са измерени – 2.76 Å за O–O и 2.63 Å за N–O, което е с около 0.2 Å по-късо от разстоянията между донорните функционални групи в свободния лиганд и комплекси от вида *fac*-[PtI<sub>3</sub>(taci)]<sup>+</sup> и *bis*-[Pt(taci)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>. Това още веднъж потвърждава, че начинът на координация на taci се определя от размера на координационното място и характера на металния йон. Трябва да се подчертае, че експерименталните изследвания показват, че предпочетено за Pt(IV) е симетричното {N,N,N} координационно място.

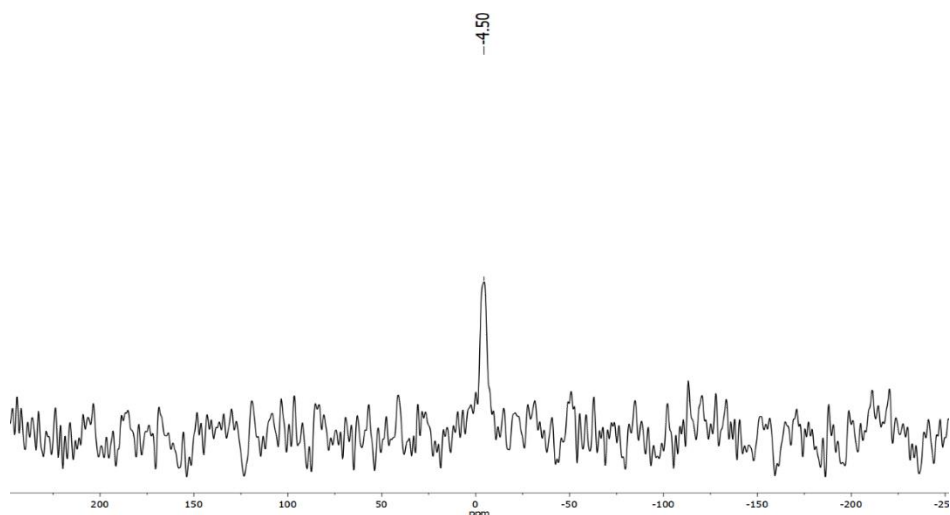


Фигура 20. Кристална структура на  $[Pt(taci)(taci \cdot 4H_2O)] \cdot 2H_2O$  (**3**). Комплекс **3** кристализира в орторомбична кристална система, пространствена група  $Pnma$  (№ 62),  $Z = 4$ ,  $R = 3.50\%$ . С пунктирани линии са показани водородни връзки. Термалните елипсоиди са представени на 30%. Водните молекули са представени с „топки“.

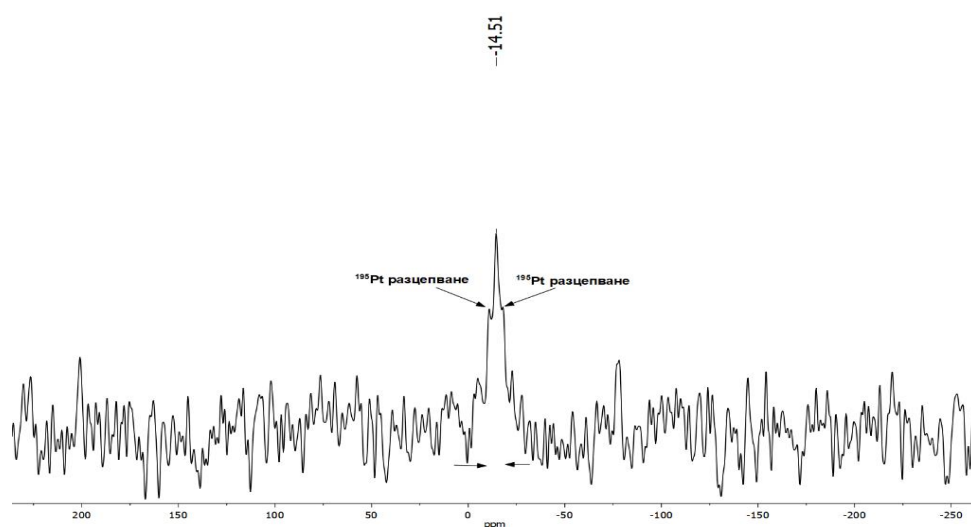
### 3.5.2. $^{15}N$ - и $^{13}C$ - твърдофазен CP-MAS ЯМР анализ.

Съответствие между монокристални образци и поликристална твърда проба на комплекси **1A** и **2A** е доказано с помощта на спектрални методи, на основата на сравнение на спектрите на комплексите със съответните спектри на некоординирано  $taci$  в твърда фаза, както и с отчитане на данните за структурата на монокристални образци от съответните съединения. В регистрираните  $^{15}N$  CP-MAS ЯМР- спектри на **1A** и **2A** (фиг. 21 – 22) се наблюдава по един сигнал за трите N- донорни атоми, съответно при -4.5 м.ч. за **1A** и -14.5 м.ч. – за **2A**, което показва, че амино групите на лиганда са с еднаква функция. Сигнали за  $^{15}N$  в **1A** и **2A** са наблюдавани в по-силно поле спрямо сигналите в некоординиран лиганд. Следователно,  $sp^3$ - хибридният N- атоми на  $taci$  са координирани със  $\sigma$ - връзки към платина(IV), а отместването на  $^{15}N$ - сигналите към силно поле се определя от ефекта на екраниране от Pt(IV), която се характеризира с голяма електронната плътност и е доказателство за координирането на азотните донорни атоми към Pt(IV).  $^{15}N$ - CP-MAS ЯМР- сигналът в спектъра на **1A** се наблюдава в сравнително по-слабо поле в сравнение с този в спектъра на **2A**, в следствие от ефекта на деекраниране, дължащ се на координираните във

вътрешната координационна сфера I- лиганди. Формално деекраниращото действие на I- лиганди може да бъде прогнозирано на основата на структурния *trans*-ефект на трите I- лиганди по отношение на трите *trans*-разположени N- донорни атоми, което се изразява в удължаване на връзката Pt–N (данните от X-ray анализа за комплексите показват, че връзките Pt–N в комплекса **1A** са по-дълги с  $\sim 0.05 \text{ \AA}$  в сравнение с тези в комплекса **2A**).  $^{15}\text{N}$ - сигналът в спектъра на **2A** може да бъде интерпретиран и с наличие на спин-спиново взаимодействие с  $^{195}\text{Pt}$  ( $I = 1/2$ , естествено съдържание 33.3%) с константа на куплиране  $^1J_{\text{PtN}}$  от 360 Hz. Спин-спиново взаимодействие от  $^{195}\text{Pt}$  формално не може да се определи при  $^{15}\text{N}$ - спектъра на **1A**, вероятно поради големия размер, лесна поляризуемост и значителен по стойност квадруполен момент на йодидните лиганди.



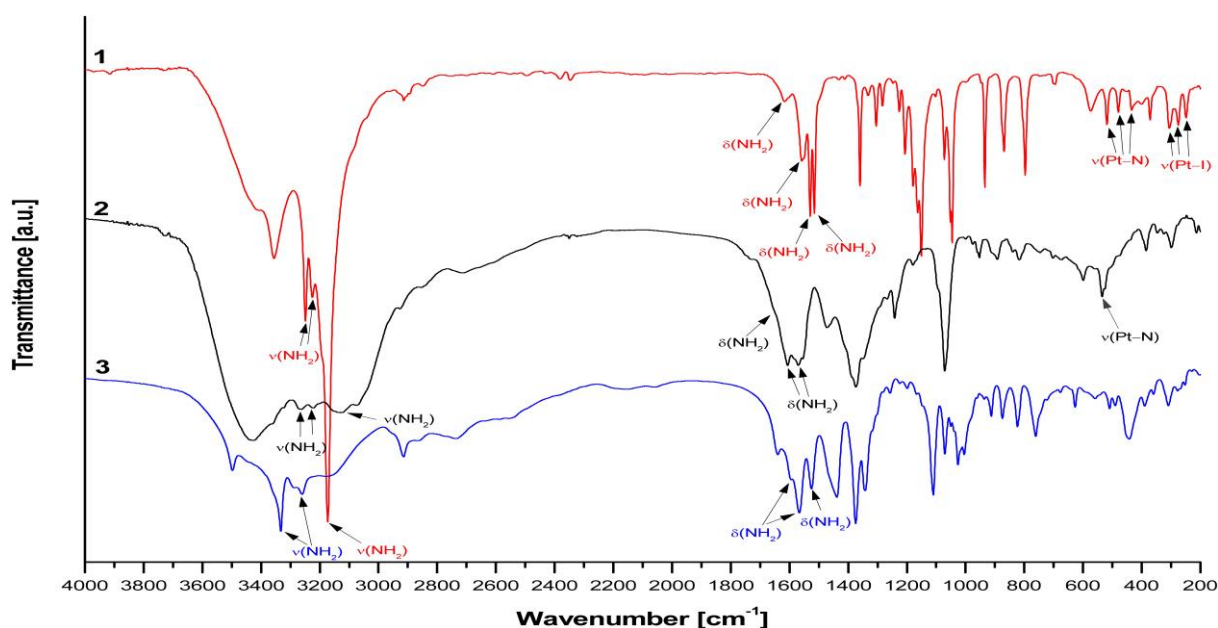
Фигура 21.  $^{15}\text{N}$ - CP- MAS ЯМР- спектър на комплекс **1A**.



Фигура 22.  $^{15}\text{N}$ - CP- MAS ЯМР- спектър на комплекс **2A**.

### 3.5.3. Инфрачервена спектроскопия

Данни за начина на координиране на лиганда  $\text{tac}i$ , както и за структурата на поликристални проби от комплексите **1A**, **1B** и **2A** са получени с помощта на ИЧ спектроскопия. Сравнението на спектрите на комплексите със спектъра на свободния лиганд показва, че всички ивици от ИЧ- спектрите на комплексите (фиг. 23), в сравнение с ИЧ- спектъра на свободния лиганд са повлияни от координацията. В спектрите на комплексите ивиците за валентните трептения на amino групите се наблюдават при по-ниски честоти в сравнение със свободния лиганд. Паралелно с това, ивиците отнесени към деформационните ножични трептения на amino групите, както и тези за извънравнинните „ветрилни“ трептения са отместени към по-високи честоти, а тези за деформационното усукващо – към по-ниски честоти. Наблюдаваните отмествания на ивиците за amino групите подкрепят участието и на трите в координацията. Доказателство за координиране на  $\text{tac}i$ - лигандите през amino групите са и наблюдаваните ивици, дължащи се на  $\nu_{\text{Pt-N}}$ : при  $518\text{ cm}^{-1}$ ,  $481\text{ cm}^{-1}$ ,  $435\text{ cm}^{-1}$  (**1A**) и  $539\text{ cm}^{-1}$  (**2A**). Ниско-честотното отместване на  $\nu_{\text{Pt-N}}$  в **1A** спрямо **2A** е в съответствие с наблюдаваното удължаване на Pt–N връзката в **1A**. Ивици, дължащи на Pt–I са определени при  $307\text{ cm}^{-1}$ ,  $275\text{ cm}^{-1}$  и  $250\text{ cm}^{-1}$ . По-слабо засегнати от включването на  $\text{tac}i$  в комплекса са ивиците, принадлежащи на валентните и деформационните трептения на OH- групите. Ивиците отнесени към валентните OH- трептения в спектрите на комплексите се изместват към по-високи честоти, най-вероятно поради различното им ангажиране в образуването на водородни връзки в комплексите и в свободния лиганд.



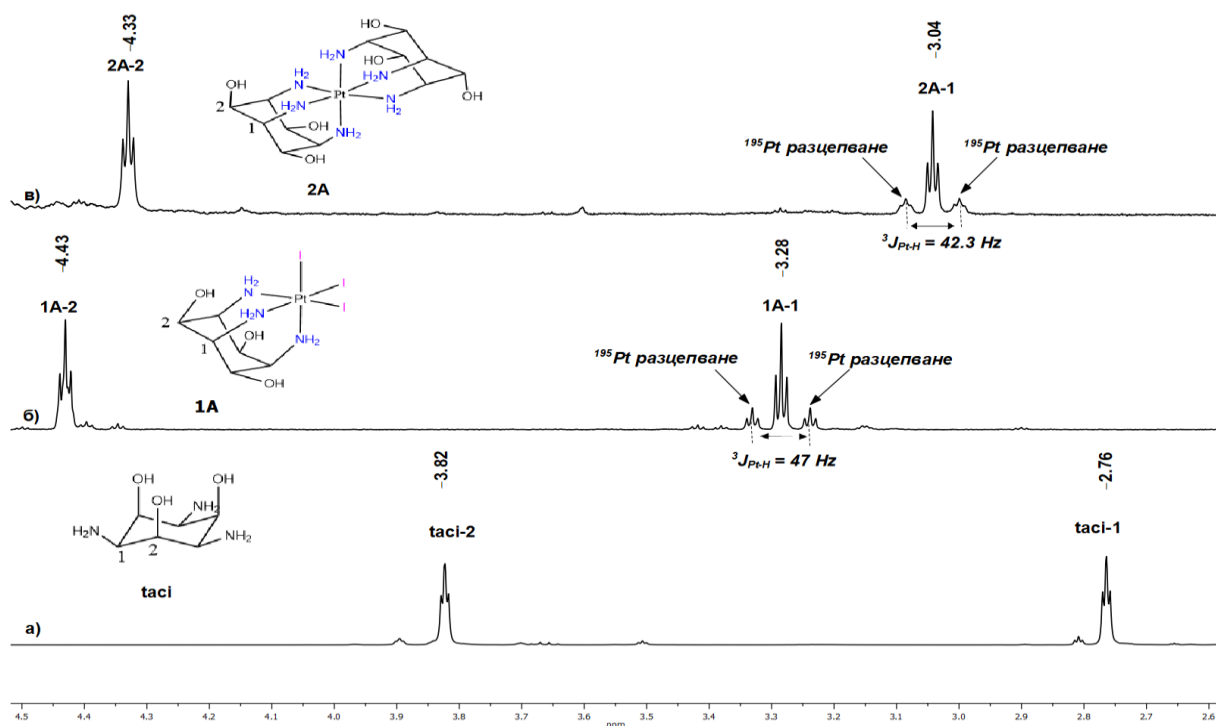
Фигура. 23. ИЧ- спектри на **1A** (1), **2A** (2) и **taci** (3).

### 3.6. Структура и състав на комплексните видове от **1A**, **2A** и **3** във воден разтвор.

Молекулната структура и стабилност на комплексните видове **1A**, **2A** и **3**, както и процесите на хидролиза са изучени във воден разтвор при различни условия с ЯМР спектроскопия, а данни за състава им и процесите на фрагментиране са изследвани с маспектрометрия.

#### 3.6.1. Прясно приготвени разтвори на комплекси **fac**-[Pt(**taci**)I<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (**1A**) и **bis**-[Pt(**taci**)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> (**2A**).

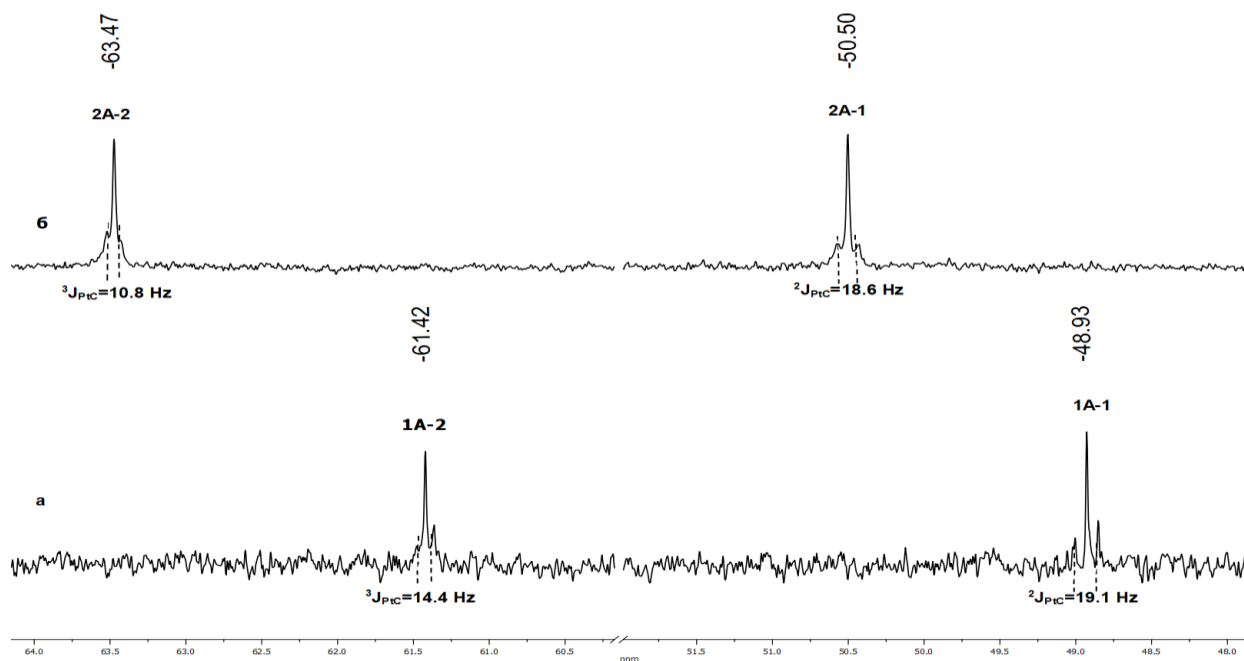
В <sup>1</sup>H- ЯМР- спектъра на прясно приготвени разтвори на **1A** (pH ~ 5.0 – 5.5) и **2A** (pH ~ 9.5) (фиг. 24) (с концентрация 1 mg/mL) за комплексните видове [Pt(**taci**)I<sub>3</sub>]<sup>+</sup> и [Pt(**taci**)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> се наблюдават по два триплетни сигнала (с отношение в площите 1 : 1), дължащи се на H- атоми от наситения цикъл на координирания лиганд **taci**: триплет 1 се дължи на **H**(CN) и триплет 2 – на **H**(CO)). Наблюдаваните спектри са в съответствие с молекулна симетрия C<sub>3v</sub> и D<sub>3d</sub> за **1A** и **2A**, съответно, което съответства и на данните от рентгеновата дифракция на монокристални образци от комплексите.



Фигура 24.  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектър в  $\text{D}_2\text{O}$  на: а) свободен лиганд при  $\text{pH} = 9.0$ ; б) комплекс **1A** с  $\text{pH} = 5.0$ ; в) комплекс **2A** с  $\text{pH} = 9.5$ .

Доказателство за това, че и в разтвор координацията на двата комплекса се осъществява именно през амино групите на лиганда, е, че и в двата спектъра около централния триплет в по-силно поле 1 ( $\text{H}(\text{CN})$ ) е наблюдаван дублет от триплети, дължащи се на спин-спиново взаимодействие на  $\text{H}(\text{CN})$  с ядрото на  $^{195}\text{Pt}$  (ядрен спин  $I = \frac{1}{2}$ ), с константа  $^3J_{\text{PtH}}$ , определена за **1A** – 47.0 Hz и за **2A** – 42.4 Hz.

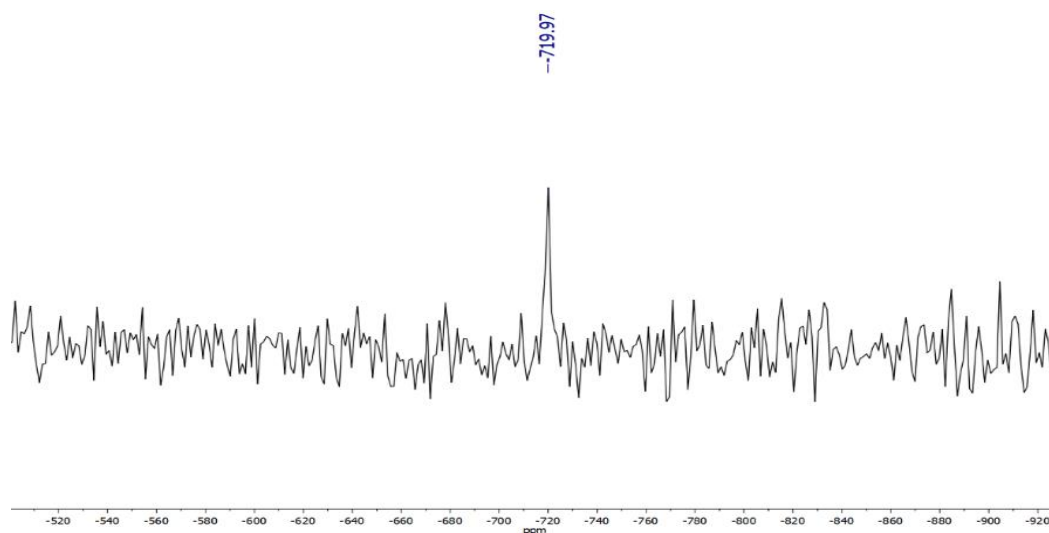
В  $^{13}\text{C}$ - ЯМР- спектрите на двата комплекса (фиг. 25) се наблюдават два сигнала, съответно за  $\text{C}(\text{N})$  (означен в спектрите като сигнал 1), в по-силно поле и за  $\text{C}(\text{O})$  – в по-слабо поле (означен като сигнал 2). Измерени са константите от  $^{195}\text{Pt}$ - $^{13}\text{C}$  спин-спиново взаимодействие,  $^nJ_{\text{PtC}}$ , съответно за сигнала в по-силно поле:  $^2J_{\text{Pt-C}(\text{N})}$  за **1A** е 19.1 Hz и за **2A** е 18.6 Hz, и за сигнала в по-слабо поле:  $^3J_{\text{Pt-C}(\text{O})}$  за **1A** е 10.8 Hz и за **2A** е 14.4 Hz.



Фигура 25.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектър в  $\text{D}_2\text{O}$  на а) комплекс 1А и б) комплекс 2А.

Регистрирани са и двумерни спектри –  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY и  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC, с които е доказана принадлежността на сигналите към съответния химичен вид.

За комплекс 2А е регистриран  $^{195}\text{Pt}$ -ЯМР-спектър (фиг. 26), в който е определен сигнал за Pt(IV) при -720 м.ч..

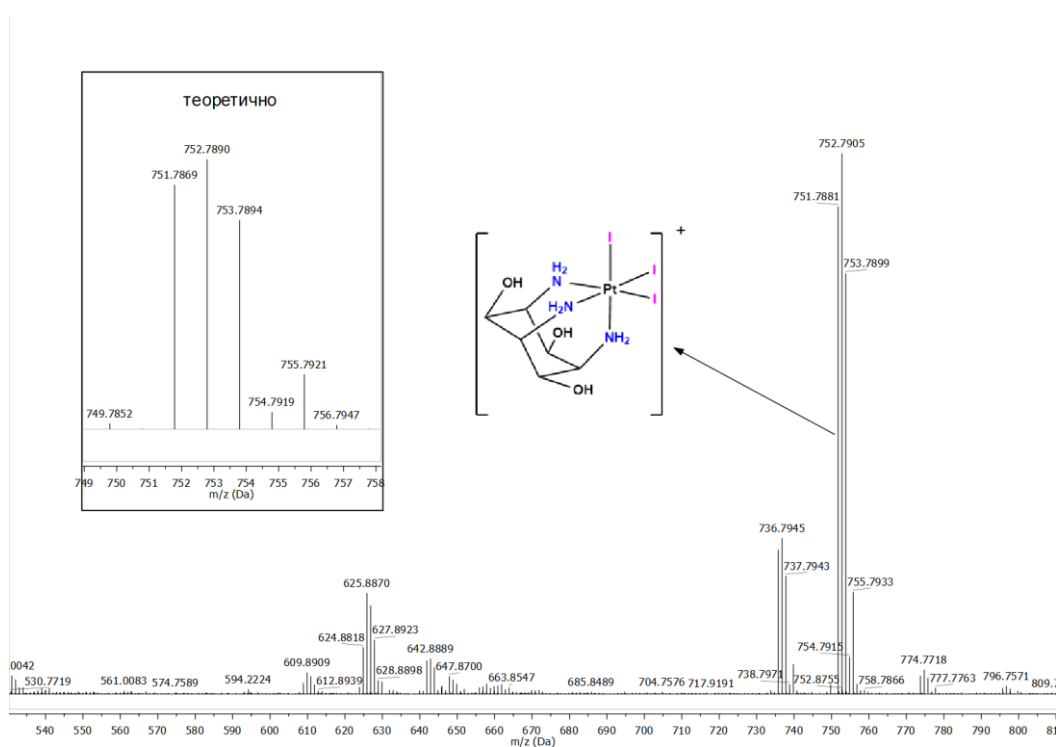


Фигура 26.  $^{195}\text{Pt}$ -ЯМР-спектър на комплекс 2А, регистриран в  $\text{D}_2\text{O}$ .

Съставът на комплексите 1А и 2А в разтвор беше изучен с метода на мас-спектрометричен анализ. Регистрирани са масспектри на пресни водни разтвори на комплекс 1А и 2А, с концентрации  $1 \times 10^{-5}$  М. При анализа на новосинтезираните комплекси е взето под внимание не само точната измерена маса, но са пресметнати и

очакваните изотопни модели, на основана на молекулни формули и са сравнени с наблюдаваните. Всички данни в текста за масите на химичните видове съответстват на най-интензивния пик на изотопния модел, който за изследваните системи съответства на най-разпространения в природата изотоп  $^{195}\text{Pt}$ . В регистрираните масспектри изотопните пикове се различават с 1 Da, откъдето е определен и заряд +1 на наблюдаваните комплексни видове и/или фрагменти.

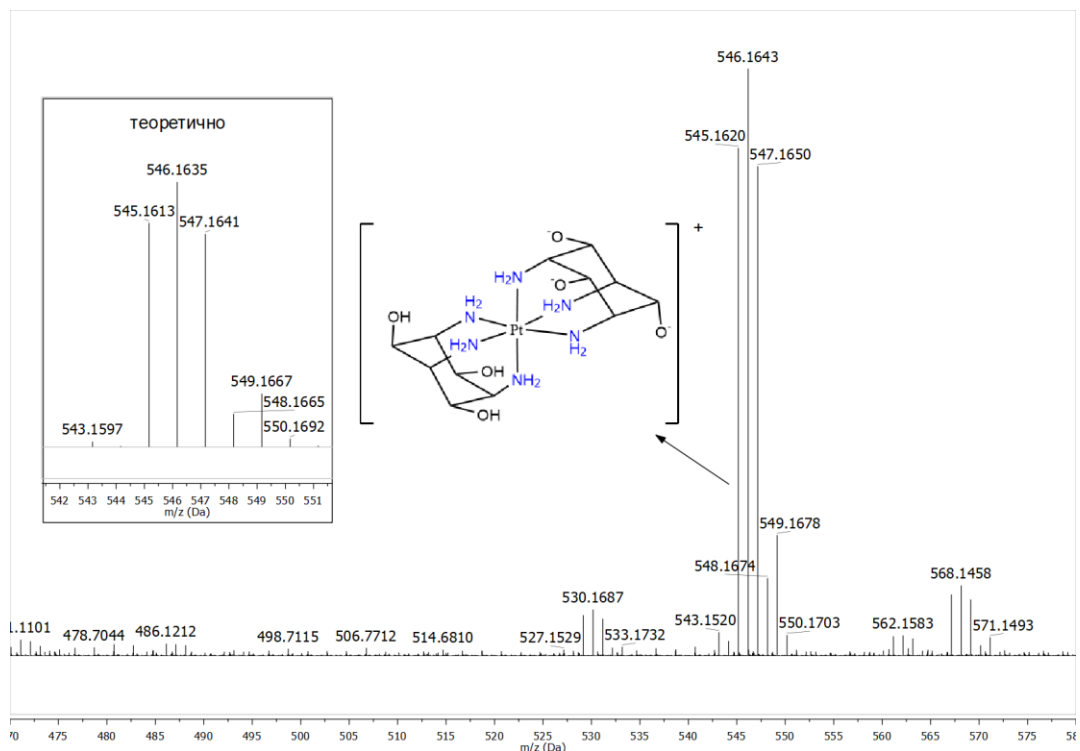
Комплексният катион в **1A** е със заряд +1, при което наблюдаваният сигнал с маса 752.7905 Da в спектъра на пресен воден разтвор на комплекса съответства на масата на комплекса (фиг. 27), без да е допълнително протониран.



Фигура 27. Масспектър на комплекс **1A**, регистриран в  $\text{H}_2\text{O}$ .

В масспектъра на комплекс **2A** се наблюдава един основен сигнал (фиг. 28) с  $m/z = 546.1643$ , отговарящ на състав  $[\text{Pt}(\text{taci})(\text{taci-3H})]^+$ . Наблюдаваната маса е с три протона по-малка от масата на комплексния катион в **2A** ( $[\text{Pt}(\text{taci})_2]^{4+}$ ), което обяснява и наблюдавания заряд +1.





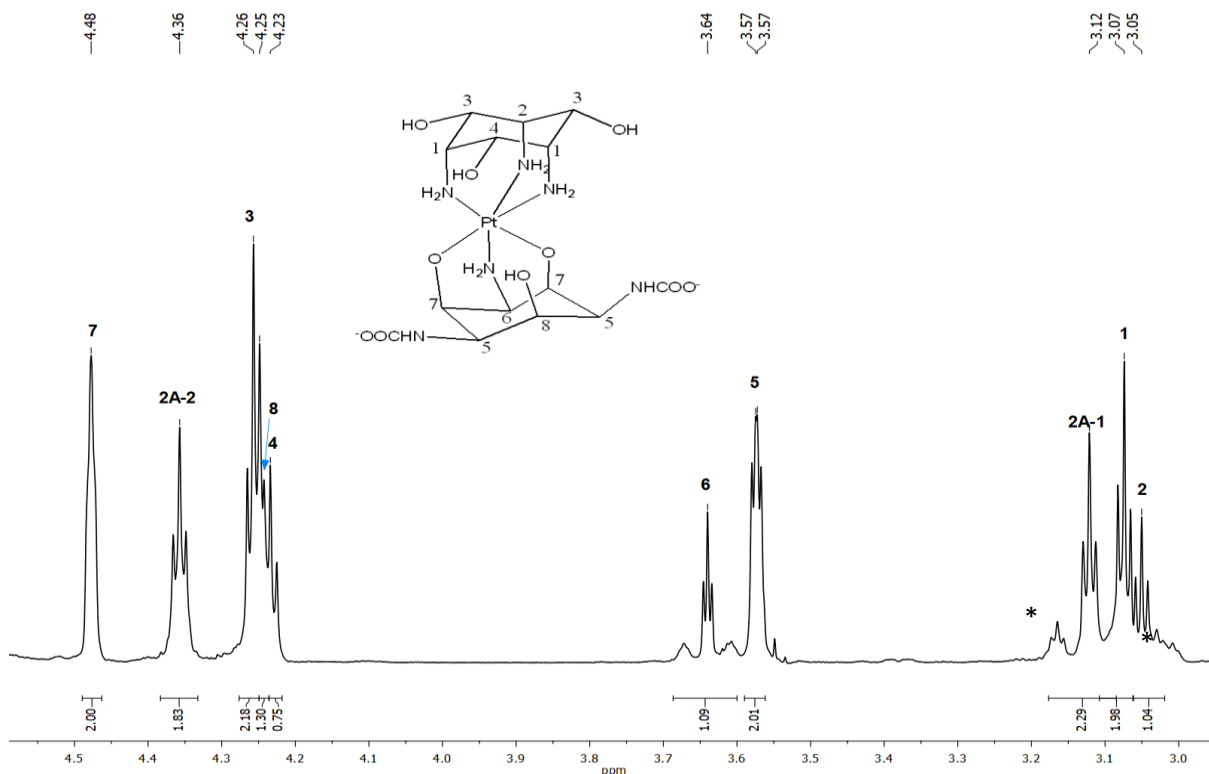
Фигура 28. Масспектър на 2A, регистриран в H<sub>2</sub>O.

### 3.6.2. Комплекс 3.

Образуването на комплекс **3** е доказано и във воден разтвор с pH ~ 8. В регистрирания <sup>1</sup>H- ЯМР- спектър (фиг. 29) се наблюдават 10 сигнала. С помощта на <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY (фиг. 30) и <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC двумерни техники, отчитайки и химичното отместване и площите на сигналите, сигналите са отнесени към два комплексни вида. Два от сигналите, означени в спектъра като 2A-1 (3.121 м.ч.) и 2A-2 (4.358 м.ч.), принадлежат на комплекса **2A**. Присъствието на комплекс **2A** в реакционната система с pH 8.0 – 8.5 се обяснява с равновесието между свободен лиганди tac<sub>i</sub> и карбаматни производни на tac<sub>i</sub>, както и предпочетеното за Pt(IV) координационно място {N,N,N}. Другите 8 сигнала, означени от 1 до 8, могат да се интерпретират като принадлежащи на комплексен вид **3**, в който различно координираните лиганди, {N,N,N} и {N,O,O}, определят и понижена молекулна симетрия и различно химично отместване. Данни за химично отместване и константи на спин-спиново взаимодействие са представени в таблица 2.

Таблица 2. Параметри на  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектър на комплекс 3.

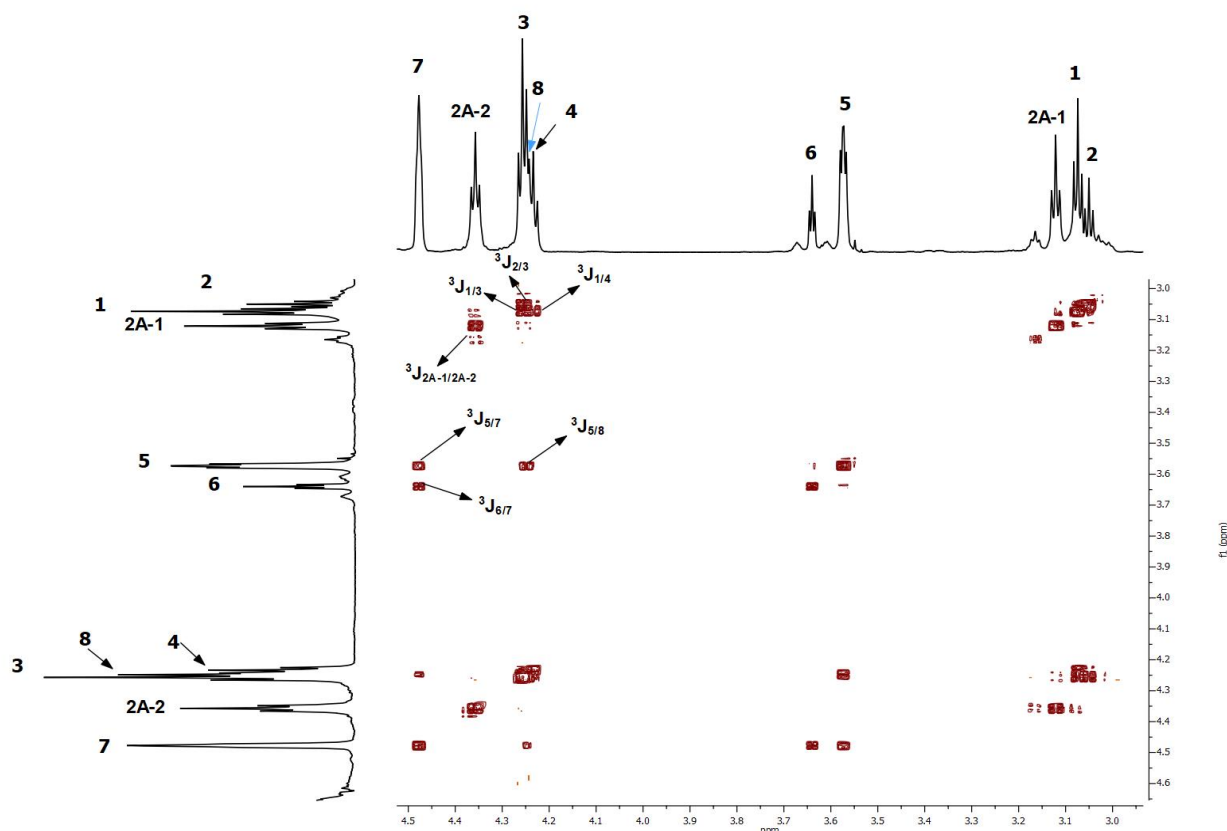
| Сигнал                              | 1   | 2   | 3                      | 4                      | 5                         | 6   | 7   | 8                      |
|-------------------------------------|---|---|------------------------|------------------------|---------------------------|---|---|------------------------|
| Произход                            | $\text{H}(\text{C}_\text{N}\text{-Pt-O})$ | $\text{H}(\text{C}_\text{N}\text{-Pt-N})$ | $\text{H}(\text{COH})$ | $\text{H}(\text{COH})$ | $\text{H}(\text{CNHCOO})$ | $\text{H}(\text{C}_\text{N}\text{-Pt-N})$ | $\text{H}(\text{C}_\text{O}\text{-Pt-N})$ | $\text{H}(\text{COH})$ |
| $^1\text{H}$ ЯМР<br>$\delta$ [м.ч.] | 3.07                                      | 3.05                                      | 4.26                   | 4.23                   | 3.57                      | 3.57                                      | 4.48                                      | 4.25                   |
| $^3\text{J}_{\text{NH}}$ [Hz]       | 4.3                                       | 4.1                                       | 4.2                    | 4.3                    | 3.7; 2.6                  | 2.9                                       | NA  | NA                     |
| $^3\text{J}_{\text{PtH}}$ [Hz]      | 44  | 42.2                                      | -                      | -                      | -                         | 32.2                                      | -   | -                      |



Фигура 29.  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектър в  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{pH} = 8.0$ . Със звезда (\*) са означени сателитите от  $^{195}\text{Pt}$ .

Двата сигнала за  $\text{H}(\text{CN})$  от симетрично  $\{\text{N},\text{N},\text{N}\}$ - координираната молекула  $\text{tac}^1$  (1 при 3.07 м.ч. и 2 при 3.05 м.ч., с отношение 2 : 1 в спектъра) са в по-силно поле в сравнение със съответните сигнали от  $^1\text{H}$ - спектъра на комплекс **2A**, въпреки аналогичния начин на координация на лиганда. Причината за това е промяната в електронната плътност на комплексната молекула, произлизаща от координираната втора молекула лиганд, **L2** (която проявява по-силни киселинни свойства поради присъствието на електрон-акцепторните  $\text{NHCOO}^-$  групи), както и поради координиране на O- донор от втората лигандна молекула във вътрешната координационна сфера на  $\text{Pt}(\text{IV})$ . Сигналите 1 и 2 са близко разположени. За  $\text{H}(\text{CO})$  се наблюдават също два близко разположени сигнала, означени с 3 (4.26 м.ч.) и 4 (4.23 м.ч.) в спектъра, с отношение в площите 2 : 1, съответно. Другите 4 сигнала са отнесени към втората молекула лиганд (**L2**). Наблюдава се

значително отместване на сигналите  $H(CN)$  (5 (3.57 м.ч.) и 6 (3.64 м.ч.) в спектъра) с около 0.5 м.ч. спрямо сигнали 1 и 2, което потвърждава присъствието на електрон-акцепторен заместител ( $NHCOO^-$ ). За сигнал 6 се наблюдава спин-спиново взаимодействие от  $^{195}Pt$ , което заедно с отношението на площите на сигналите, съответно 2 : 1 (5 : 6) и тяхната структура еднозначно доказват, че само един N- донорен атом в този лиганд участва в координацията. Двата сигнала за трите  $H(CO)$ - ядра, 7 (4.48 м.ч.) и 8 (4.25 м.ч) в спектъра, са значително отместени един спрямо друг с около 0.25 м.ч.. Химичното отместване на сигнал 8 е в интервала на  $H(CO)$  сигналите в *trans*. От отношението на площите на двата сигнала (2 : 1 (7 : 8)) следва, че координацията е осъществена през 2 от трите аксиални O- донорни атоми в **L2**. Оценката на площите на сигналите показва, че в изследвания разтвор комплексите са в съотношение 1 : 2.5 в полза на комплекса със смесена координация на *trans*.

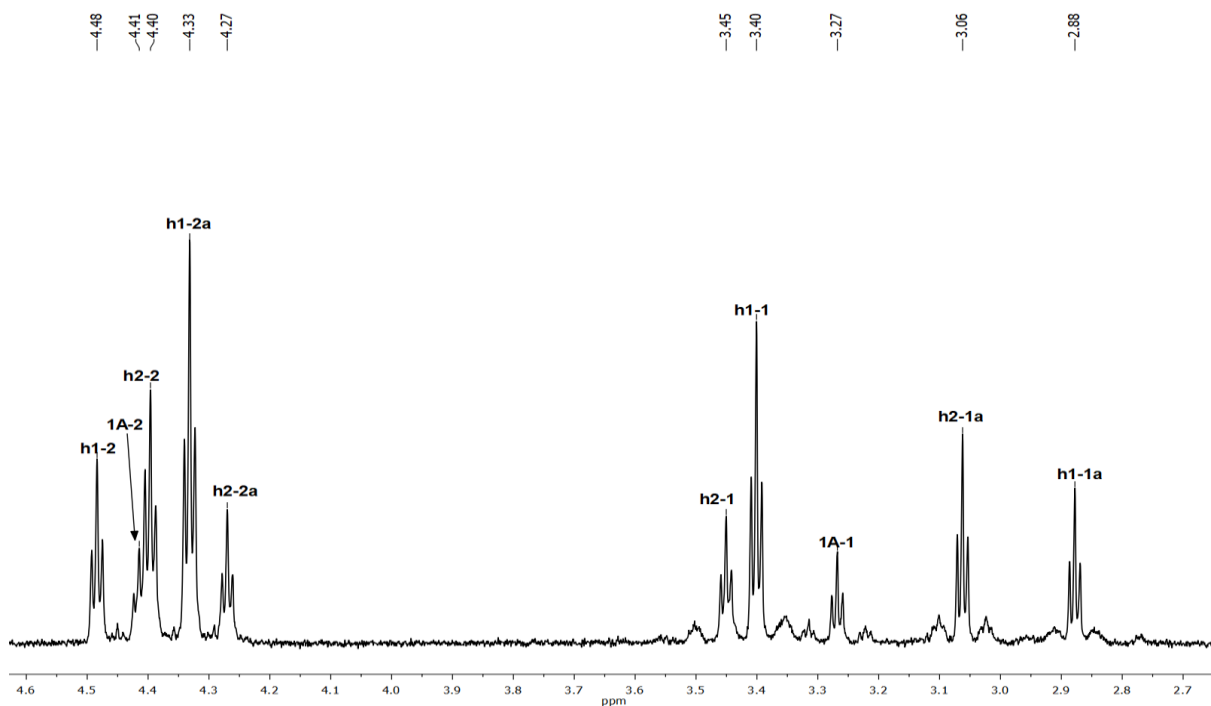


Фигура 30.  $^1H$ - $^1H$  COSY ЯМР-спектър в  $D_2O$ ,  $pH = 8$ .

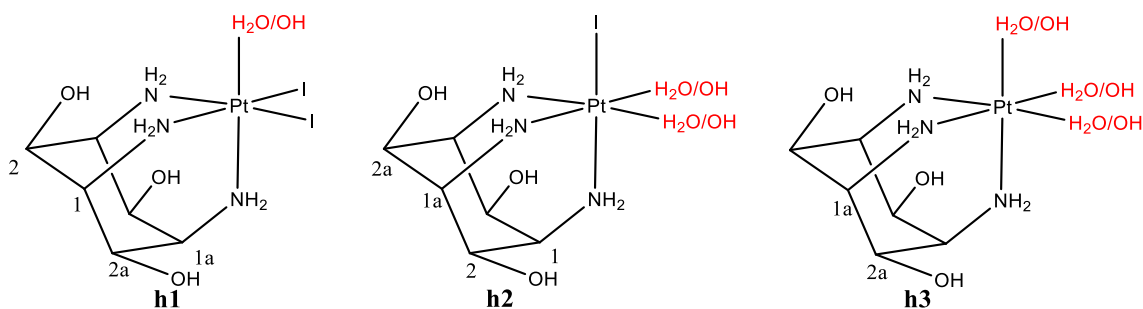
### 3.7. Изследване стабилността на комплексите $fac-[Pt(taci)I_3]^+$ и $bis-[Pt(taci)_2]^{4+}$ във воден разтвор.

В  $^1H$ - ЯМР- спектъра (фиг. 31) на воден разтвор на комплекс **1A** ( $1.5 \times 10^{-3}$  M), pH ~ 5.5, оставен на стайна температура в рамките на 5 дни се наблюдават освен сигналите на изходния комплекс (означени с 1A-1 ( $H(CN)$ ) и 1A-2 ( $H(CO)$ ) в спектъра), още 8 сигнала, отнесени към два хидролизни продукта – **h1** и **h2**, със структури, представени на фигура 32 и доказващи протичащите процеси на хидролиза.

За всеки от хидролизните продукти **h1** и **h2** в  $^1H$ - ЯМР- спектъра се наблюдават по 4 сигнала – два в областта на  $H(CN)$  (1 и 1a от фигура 32) и два – в областта на  $H(CO)$  (2 и 2a от фигура 32). Със символ 1 са отбелязани сигналите за  $H(CN)$  до  $NH_2$ - група координирана срещу  $I^-$  лиганди, с 1a –  $H(CN)$  до  $NH_2$ - група координирана срещу  $OH^-$  лиганди, с 2 –  $H(CO)$  съседен на 1a и с 2a –  $H(CO)$  – съседен на 1, като означенията на сигналите съвпадат с тези от фигура 32.

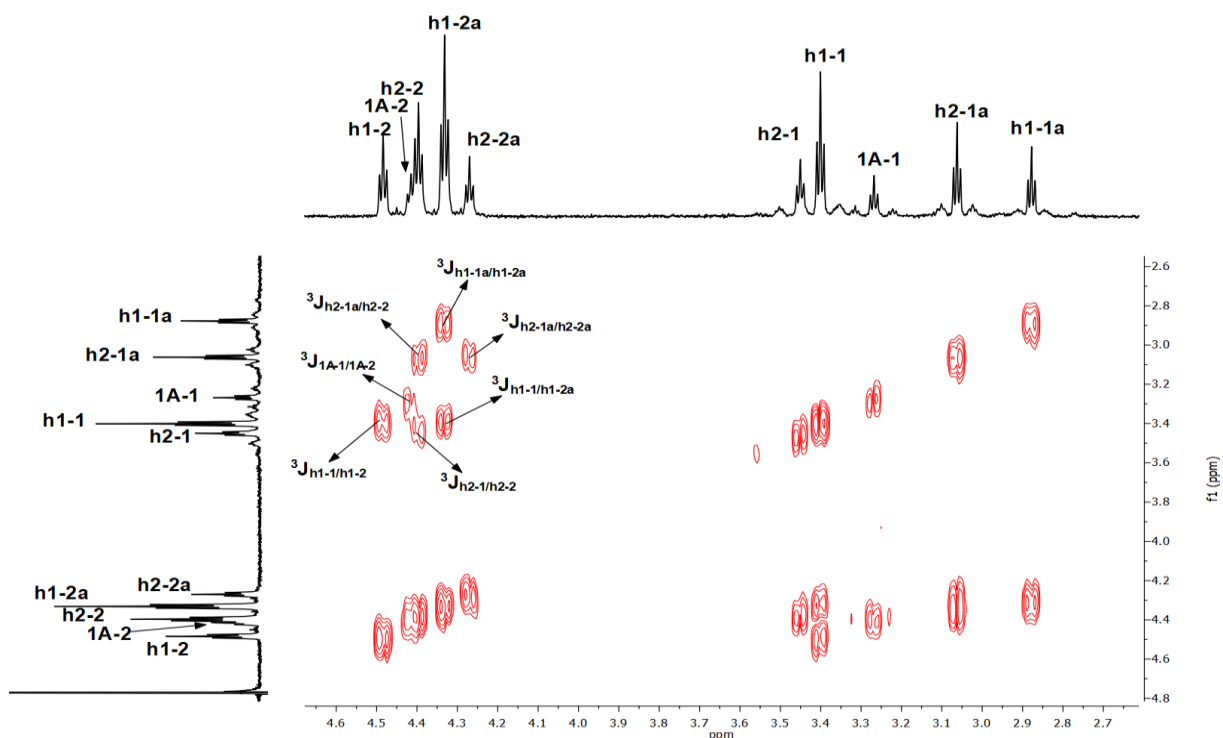


Фигура 31.  $^1H$ - ЯМР- спектър на комплекс **1A** в  $D_2O$ , регистриран 5 дни след разтваряне на пробата при стайна температура, pH ~ 5.5.



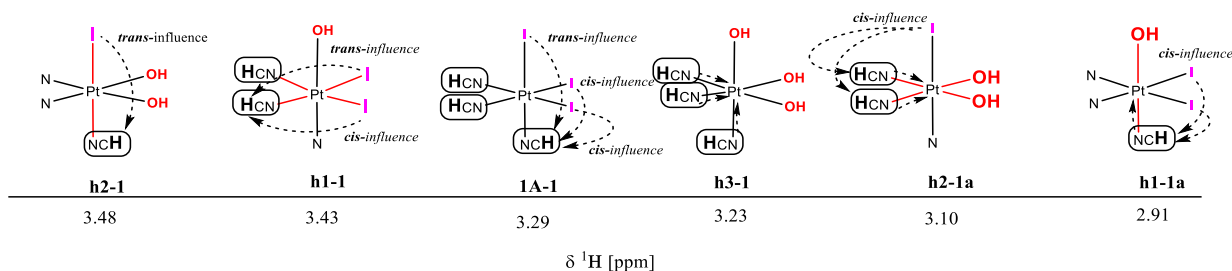
Фигура 32. ChemDraw представяне на хидролизни продукти на комплекс **1A**, представящо получаването на хидроксидо или аква комплексни видове. (\* Експериментът е в  $D_2O$  и заместването е с  $OD^-$  или  $D_2O$ )

За сигналите 1 и 1a, освен  $^1H$ - $^1H$  спин-спиново взаимодействие, се наблюдава и взаимодействие  $^1H$ - $^{195}Pt$ . Това показва, че тези сигнали се отнасят към комплексен химичен вид на платина, както и че координацията се осъществява през amino групите на *fac*. Отношението на площите на двата  $H(CN)$  сигнала за **h1** е 2 : 1, (1 : 1a, съответно), а за **h2** следва обратното отношение – 1 : 2, (1 : 1a, съответно). Сигнал 1 в **h1** и **h2** е отместен към по-слабо поле спрямо същия, дължащ се на **1A**, и има същата J- константа като в сигнала на комплекс **1A** ( $^3J_{PtH} = 47$  Hz). Вторият сигнал за  $H(CN)$  (1a) е отместен към по-силно поле в сравнение със сигнала, принадлежащ на **1A** и се характеризира с по-малка J- константа ( $^3J_{PtH} = 40$  Hz). Химичното отместване на сигналите 1 и 1a, съответстващи на **h2** са към по-слабо поле спрямо тези, принадлежащи на **h1**. Съответствието на сигналите за  $H(CO)$ , отбелязани като 2 и 2a в спектъра, е доказано от стойностите на химичното отместване и отношението на площите на тези сигнали. Принадлежността на наблюдаваните сигнали към **h1** и **h2** е определена с помощта на  $^1H$ - $^1H$  COSY спектър (фиг. 33).



Фигура 33.  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY ЯМР- спектър на комплекс **1A**, регистриран 5 дни след разтваряне на пробата. Означенията на сигналите съвпадат с тези в означенията на химичните видове на фиг. 32.

Отместванията на сигналите за Н- атоми от пръстена следват характера и природата на лигандите  $\Gamma$  и  $\text{OH}$ , разположени срещу координираните  $\text{NH}_2$ - групи на  $\text{tac}$ . Съществено влияние оказва разположението на  $\Gamma$ - лиганда поради големия си йонен радиус и лесна поляризуемост в *trans*- или *cis*-положение по отношение на Н- ядро до координираната  $\text{NH}_2$ - група. Например, наблюдаваното отместване към по-слабо поле на сигнала за Н- ядро до  $\text{NH}_2$ - група срещу  $\Gamma$ - е следствие от *trans*-разположението му, което води до деекраниране на Н- ядрото, докато сигналът за  $\text{H}(\text{CN})$  към  $\text{NH}_2$ , разположени в *cis*-положение спрямо  $\Gamma$  са в по-силно поле. На фигура 34 схематично е показана координационната сфера на наблюдаваните химични видове и химичното отместване на съответните протони.



Фигура 34. Схематично представяне на координационната сфера на химични видове **1A**, **h1**, **h2** и **h3** и данни за химичните отмествания на  $^1\text{H}$  ЯМР сигналите  $\text{H}(\text{CN})$  във воден разтвор. Данните са взети от ЯМР спектър на разтвор с  $\text{pH}$  7.4, в който всички хидролизни продукти се наблюдават.

От направените разглеждания може да се да направи заключение, че при престояване на комплекс **1A** във воден разтвор протичат процеси на хидролиза. Получените комплексни хидролизни видове са с един, **h1**, и два, **h2**, заместени йодидни лиганди от вътрешната координационна сфера на комплекса с H<sub>2</sub>O или OH- група. Доказването на **h1** и **h2** е в съответствие освен с наблюдаваните спектрални характеристики в <sup>1</sup>H-спектрите им, отнасящи се до химичното отместване, площ на сигнала, и с броя на сигналите в протонния спектър, определено от молекулната симетрия C<sub>s</sub> за **h1** и **h2**. Трябва да се подчертае, че регистрираният <sup>1</sup>H-ЯМР- спектър доказва, че в системата (воден разтвор на **1A** с рН ~ 5.5) присъстват комплексните видове **1A**, **h1** и **h2**, като с най-високо съдържание е монозаместения хидролизен продукт **h1**. Оценката за съотношението на химичните видове, чрез площите на сигналите, е **h1** : **h2** : **1A** = 4.5 : 3 : 1. При условията на експеримента, рН ~ 5.5, наличие на тризаместен хидролизен комплексен вид (**h3** на фиг. 32) не е наблюдаван. Данни за химично отместване, J-константи, както и за *m/z* стойности са обобщени в таблица 3.

Паралелно изследване на воден разтвор на комплекса **2A** (рН ~ 9.5) в рамките на същия период от време (5 дни) показва, че <sup>1</sup>H- ЯМР- спектралните параметри не са променени. Следователно, в рамките на изследвания период няма данни за протичане на хидролиза.

Таблица 3. <sup>1</sup>H- ЯМР данни (химично отместване (δ [м.ч.]), константи на спин-спиново взаимодействие (J [Hz])) и масспектрометрични данни (*m/z*) на основни химични видове.

| Съединение   | Състав  | рН  | <sup>1</sup> H ЯМР, δ [м.ч.]/ J [Hz]   |   | ESI-MS [Da]         |                    |                  |
|--|---|-----|--|---|---------------------|--------------------|------------------|
|  |   |     | <i>H</i> -(C-NH <sub>2</sub> )/<br><sup>3</sup> J <sub>HH</sub> / <sup>3</sup> J <sub>PH</sub> | <i>H</i> -(C-OH)/<br><sup>3</sup> J <sub>HH</sub> | Наблюдавана<br>маса | Теоретична<br>маса | грешка<br>[м.ч.] |
| taci·3HCl  | C <sub>6</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>3</sub>  | 3.0 | 3.69 / 3.3 / -   | 4.43/3.2  | 178.1197            | 178.1192           | 2.8              |
| taci·3H <sub>2</sub> O   | C <sub>6</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub>                  | 9.5 | 2.76 / 3.0 / -   | 3.82/3.0  | 178.1197            | 178.1192           | 2.8              |
| <i>fac</i> -[Pt(taci)I <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , <b>1</b>                    | PtC <sub>6</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> I <sub>3</sub> | 5.5 | 3.29 / 4.4 / 47.0  | 4.43/4.3  | 752.7885            | 752.7869           | 2.13             |
| <i>fac</i> -, <i>cis</i> -[Pt(taci)I <sub>2</sub> OH] <sup>+</sup> , <b>h1</b>   | PtC <sub>6</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> I <sub>2</sub> | 7.4 | 3.43 / 4.4 / 48.0  | 4.35/4.3  | 642.8872            | 642.8852           | 3.12             |
|  |   |     | 2.91 / 4.3 / 33.1  | 4.50/NA   |                     |                    |                  |
| <i>fac</i> -, <i>cis</i> -[Pt(taci)I(OH) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , <b>h2</b> | PtC <sub>6</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> I              | 7.4 | 3.48 / 4.3 / 49.0  | 4.41/4.3  | 532.9860            | 532.9861           | 0.19             |
|  |   |     | 3.10 / 4.3 / 38.3  | 4.27/4.3  |                     |                    |                  |
| <i>fac</i> -[Pt(taci)(OH) <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , <b>h3</b>                | PtC <sub>6</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub>                | 7.4 | 3.23 / 4.3 / 41.7  | 4.35/4.2  | 423.0844            | 423.0844           | -                |
| <i>bis</i> -[Pt(taci- <sub>3H</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , <b>2</b>     | PtC <sub>12</sub> H <sub>27</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>               | 9.5 | 3.04 / 4.3 / 42.3  | 4.33/4.3  | 546.1637            | 546.1641           | 0.73             |

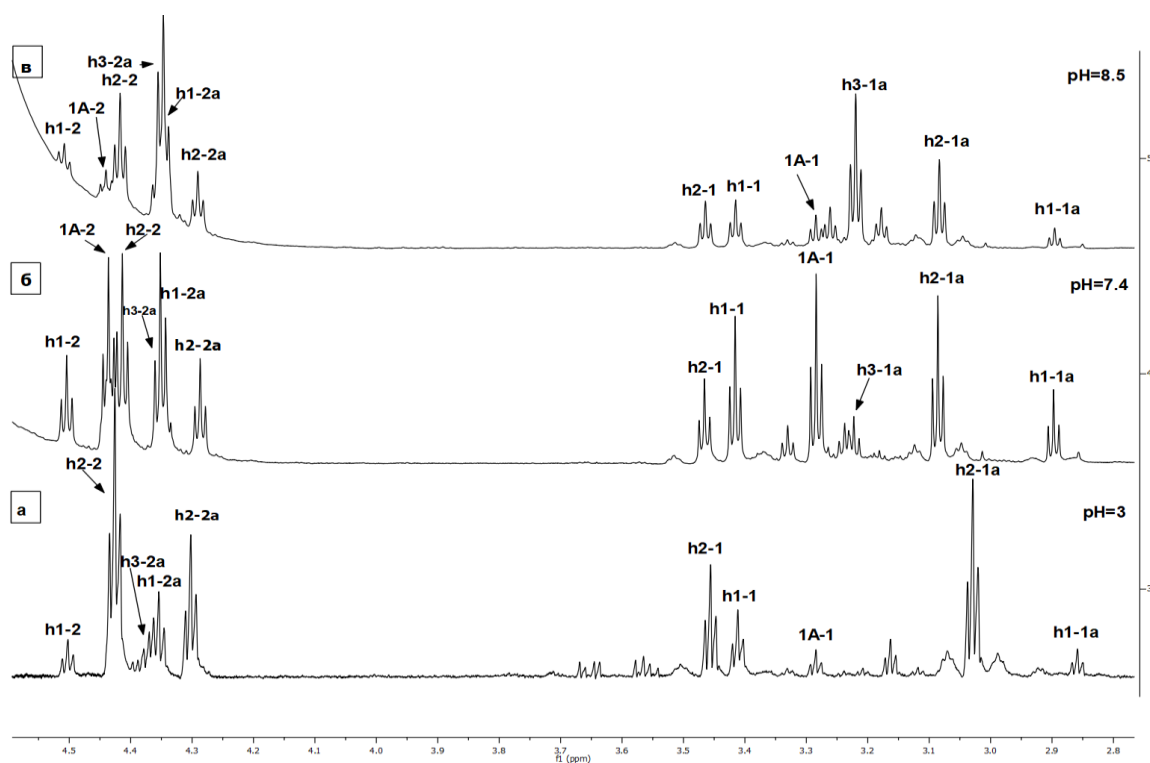
### 3.8. Влияние на киселинността на средата върху процесите на хидролиза на комплексите *fac*-[Pt(taci)I<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, *bis*-[Pt(taci)<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> и [Pt(taci)(taci-4n2CO<sub>2</sub>)]

#### 3.8.1. Влияние на рН за водни разтвори на комплексите

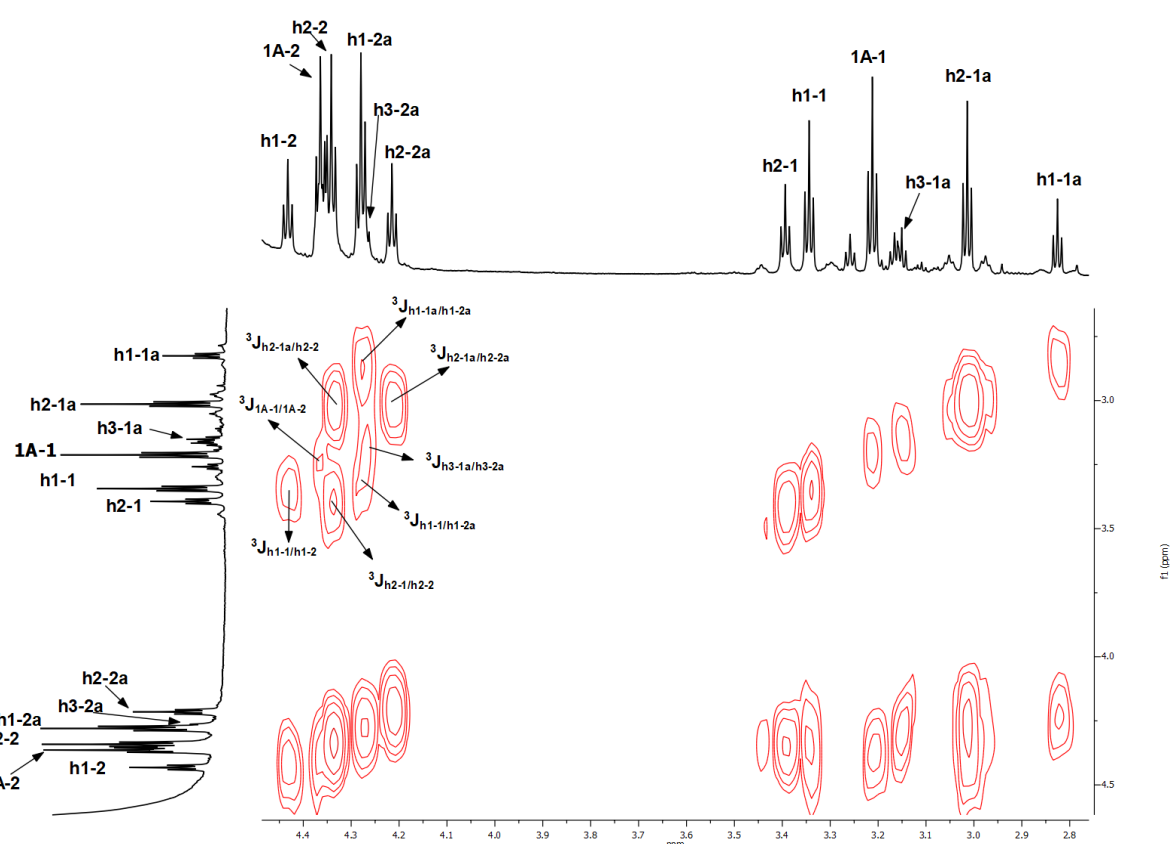
Изучени бяха и процесите на хидролиза във водни разтвори на комплексите при различна киселинност на средата (фиг. 35). За комплекса **1A** изследването беше проведено при рН = 3.0; 7.4 и 8.5. <sup>1</sup>H- ЯМР- спектър на проба с рН 3.0 ( 0.025 М HNO<sub>3</sub> ) беше регистриран веднага след корекцията на рН и след 24 часа. За рН > 7.0 <sup>1</sup>H- ЯМР- спектър бе регистриран след добавяне на 0.05 М NaOH до достигане на рН = 7.4. Към този разтвор, след 24 часа е добавена отново 0.05 М NaOH до рН = 8.5 и отново бе регистриран <sup>1</sup>H- ЯМР- спектър.

При рН = 3.0 24 часа след престояване на разтвора, основен продукт е **h2**, а комплекс **1A** е в пренебрежимо количество, докато при рН = 7.4 има съизмерими количества от комплексните видове **1A**, **h1** и **h2**. Освен тези химични видове, в <sup>1</sup>H- ЯМР- спектрите при изследваните рН стойности (3.0; 7.4 и 8.5) се наблюдава и хидролизен комплексен вид **h3**, в който всички йодидни лиганди са заместени с OH- групи (фиг. 32), Към **h3** са отнесени два сигнала – един за **H(CN)**- ядра (означен с 1a) и един за **H(CO)** (означен с 2a), резултат на C<sub>3v</sub> молекулна симетрия, определена за **h3**. Принадлежността на двата сигнала към **h3** е потвърдена от <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY експеримент при рН 7.4 (фиг. 36). Сигналят **H(CN)**, отнесен за **h3**, е отместен към по-слабо поле спрямо **H(CN)** в **h1** (1a) и **h2** (1a), което е в подкрепа на предложената структура. При рН 8.5 (фиг. 35) **h3** става основен продукт в разтвор. В <sup>1</sup>H- ЯМР- спектрите при рН < 5.5 се наблюдава отместване на сигнали 1a към по-силно поле в сравнение със сигналите 1a, регистрирани при рН > 5.5. Този резултат е в съответствие и с реда на *trans*-влияние на лиганди, които се подреждат в реда **I** > **OH**<sup>-</sup> > **H<sub>2</sub>O**. Съответно и стойностите на химичното отместване на сигнала **H(CN)**, до NH<sub>2</sub>- група, разположена срещу тези лиганди, ще намаляват в същия ред. Следователно, в кисела среда хидролизата се осъществява чрез заместване на йодидните лиганди с H<sub>2</sub>O молекули, докато при по-високи рН стойности (включително и при рН 5.5), йодидните лиганди са заместени с хидроксидни групи.





Фигура 35.  $^1\text{H}$  ЯМР- спектър на комплекс **1A**, разтворен във вода при  $\text{pH} = 3.0, 7.4$  и  $8.5$ . Означенията на сигналите съвпадат с означенията на химичните видове на фиг. 32.



Фигура 36.  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY ЯМР- спектър на комплекс **1A**, разтворен във вода при  $\text{pH} = 7.4$ . Означенията на сигналите съвпадат с означенията на химичните видове на фиг. 32.

Комплекс **2A** се характеризира с висока стабилност по отношение на хидролизни процеси и при на всички изучавани стойности на рН на средата. Така, добавянето на киселина или основа към негови водни разтвори не води до протичане на хидролизни процеси, нито до разрушаване на комплексния катион  $bis-[Pt(taci)_2]^{4+}$ , а единствено до замяна на анионите от външната координационна сфера на комплекса, както беше показано от данни за рентгенова дифракция на кристали, съдържащи комплексния катион  $bis-[Pt(taci)_2]^{4+}$ .

Комплекс **3** се разрушава, като при добавяне на киселина се отделя  $CO_2$  от карбаматните форми на  $taci$  (схема 2). От друга страна, поради сравнително близките енергии на двете конформации стол на свободния лиганд, при освобождаване на амино групите е възможно обръщане на конформацията, при което аксиално да са разположени амино групите. В резултат на това се наблюдава трансформация на координационната сфера на платина в симетричната  $PtN_6$ , като октаедричната структура на комплекса се запазва.

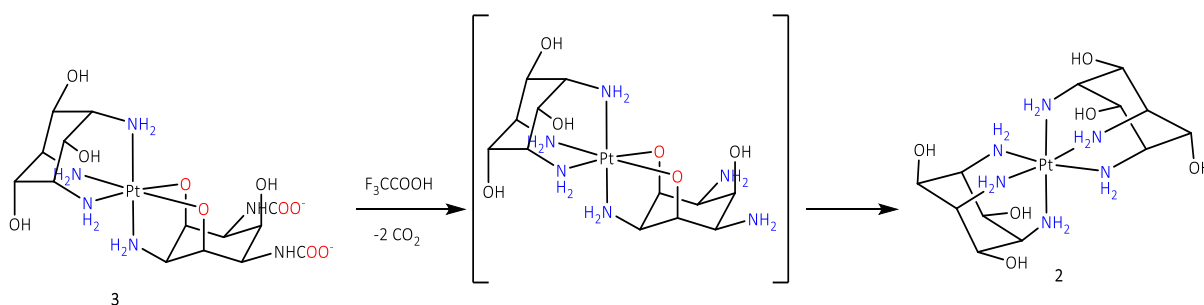


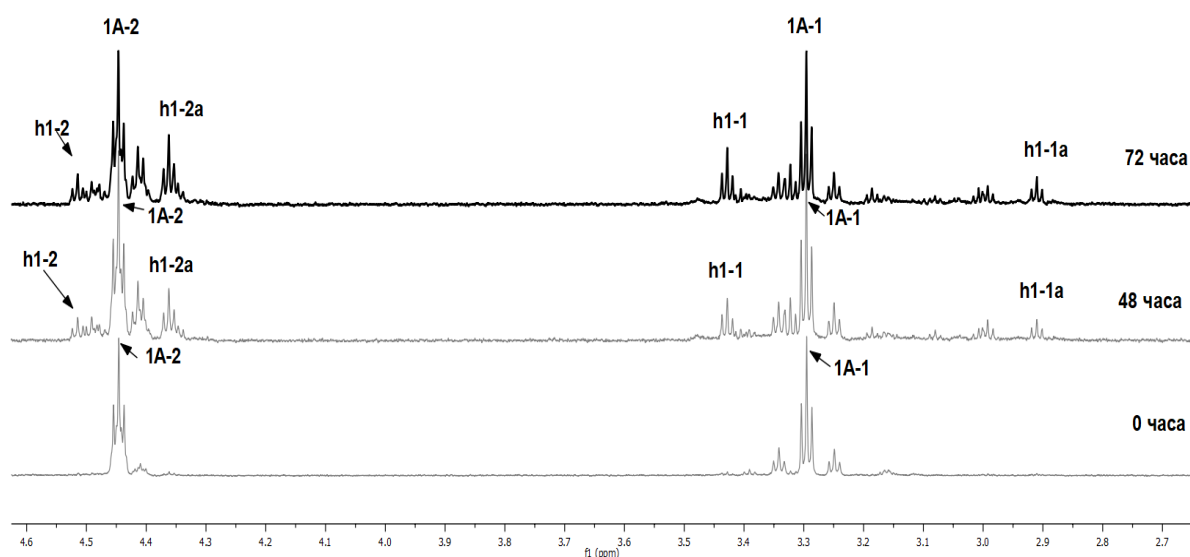
Схема 2. Трансформация на координационната сфера на комплекс **3** при добавяне на  $F_3CCOOH$ .

### 3.8.2. Влияние на рН в присъствие на фосфатен буфер.

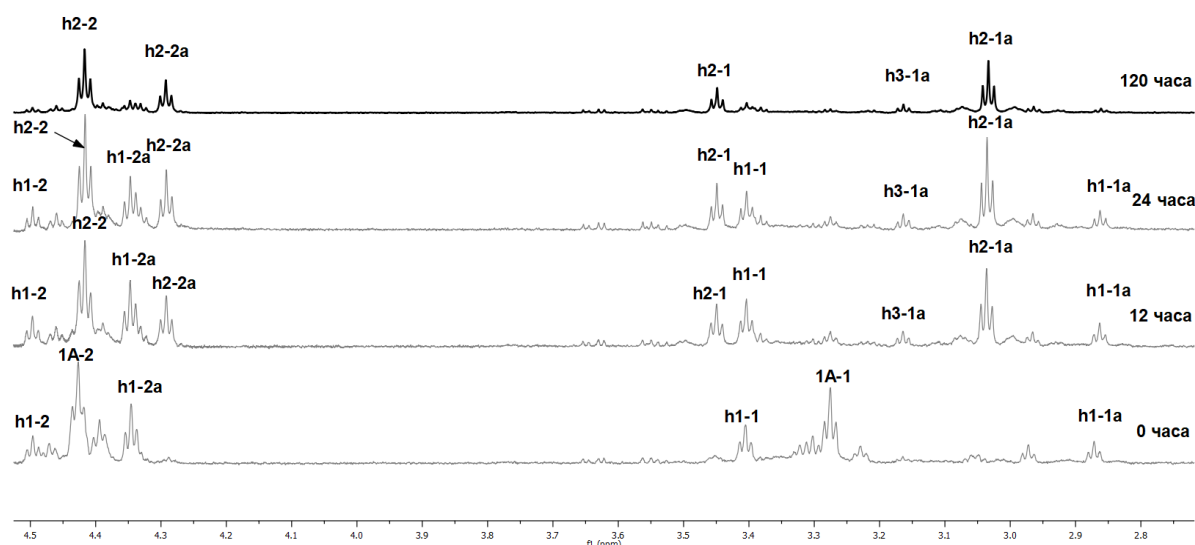
Процесите на хидролиза, протичащи във водна среда с комплекса **1A** са проследени с  $^1H$ - ЯМР, в присъствие на фосфатен буфер с рН = 3.0 и 7.4 (обща молна концентрация на всеки буфер 0.05 М). Експериментът е проведен паралелно при стайна температура и при 37 °С в рамките на 72 часа. За симулиране на физиологичните условия към фосфатния буфер с рН 7.4 е добавен 0.9 % NaCl (PBS).

При стайна температура, процесите на хидролиза и при двете стойности на рН протичат бавно. При рН = 3.0,  $^1H$ - ЯМР- параметрите, които съответстват на комплекс **1A**, остават непроменени през първите 24 часа (фиг. 37). Въпреки това, хидролизата протича измеримо и в кисела среда, като в  $^1H$ - ЯМР- спектъра, регистриран на 5-ти ден, се наблюдават сигнали за хидролизните видове **h2** и **h3**. Необходимо е да се подчертае,

че при тези условия цялото количество **1A** е хидролизирало, като основен продукт на хидролизата е **h2**. При рН = 7.4 (фиг. 38) обаче през целия изследван период **1A** присъства в системата. Хидролизата при тези условия измеримо започва от 48 час с появата и нарастване на количеството на **h1**. Следователно, в буферирана система при рН = 7.4, през първите 72 часа, основният компонент на системата е комплекс **1A**, като след 48 часа се наблюдава и присъствие на **h1**, чиято концентрация е значително по-ниска от тази на комплекс **1A**. В буфер с рН 3.0 след 72 часа, основен компонент е **h2** и започва образуването на **h3**.

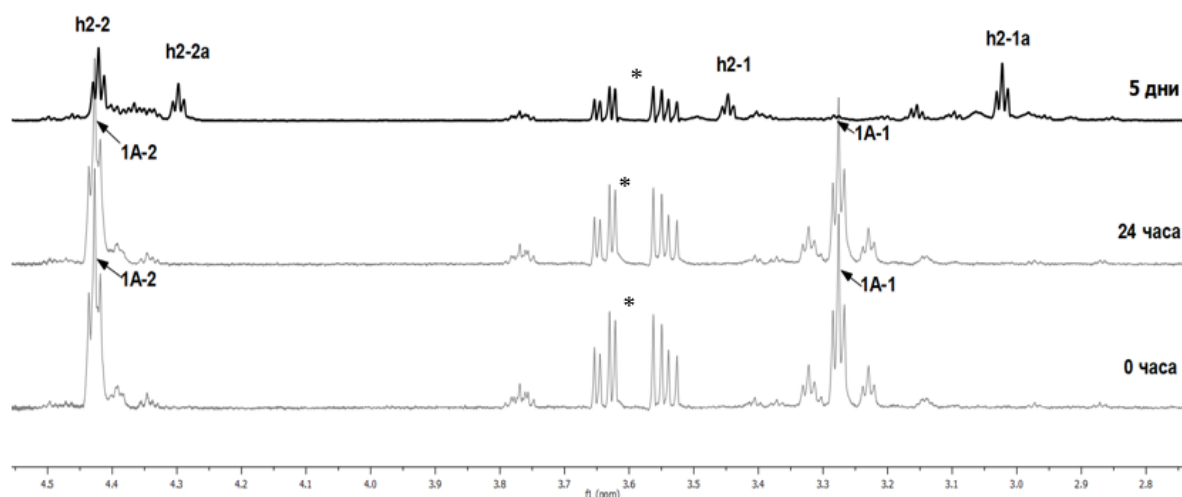


Фигура 37.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектър на комплекс **1A**, разтворен в буфер с рН = 3.0 на стайна температура. Означенията на сигналите съвпадат с означенията на химичните видове на фиг. 32.

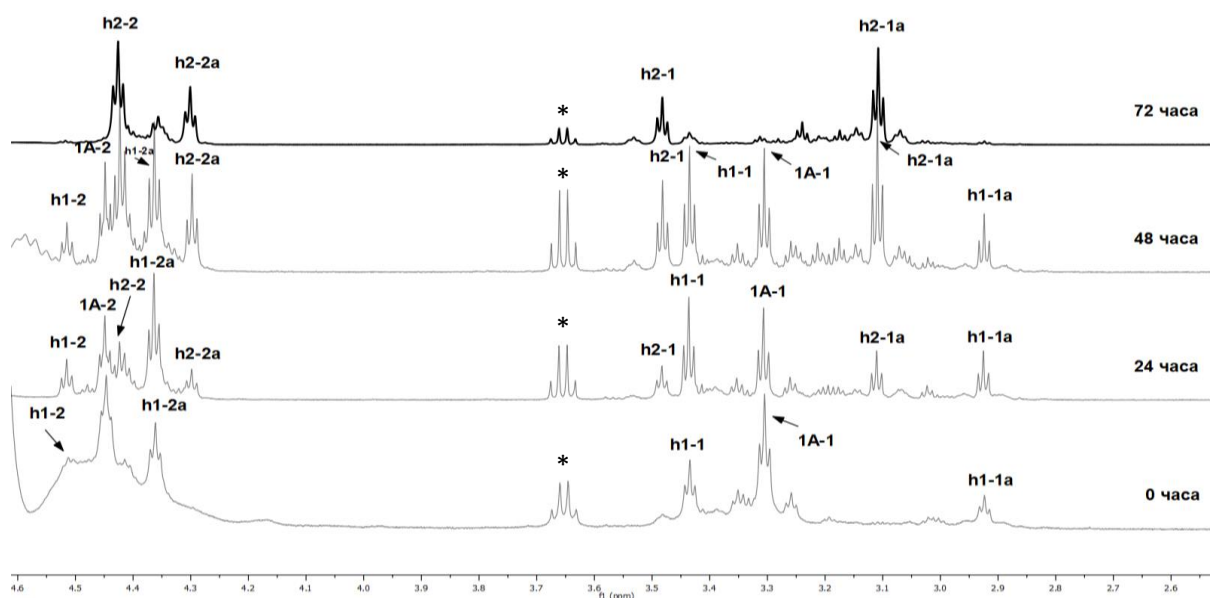


Фигура 38.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектър на комплекс **1A**, разтворен в буфер с рН = 7.4 на стайна температура. Означенията на сигналите съвпадат с означенията на химичните видове на фиг. 32.

Нагряването (при 37 °C) на разтворите на комплекс **1A** в буферирани системи значително ускорява хидролизните процеси. В <sup>1</sup>H- ЯМР- спектри, проследяващи процесите при нагряване на пробите (фиг. 39, 40), бе установено образуването на **h1** веднага след разтваряне на комплекса и при двете стойности на рН = 3.0 и рН = 7.4. **h2** е основен продукт след 12 часа от началото на реакцията при рН 3.0, а при рН 7.4 за появата на **h2** са необходими 24 часа. В края на изследвания период **h2** е основен продукт при изследваните рН стойности на буферирани системи.

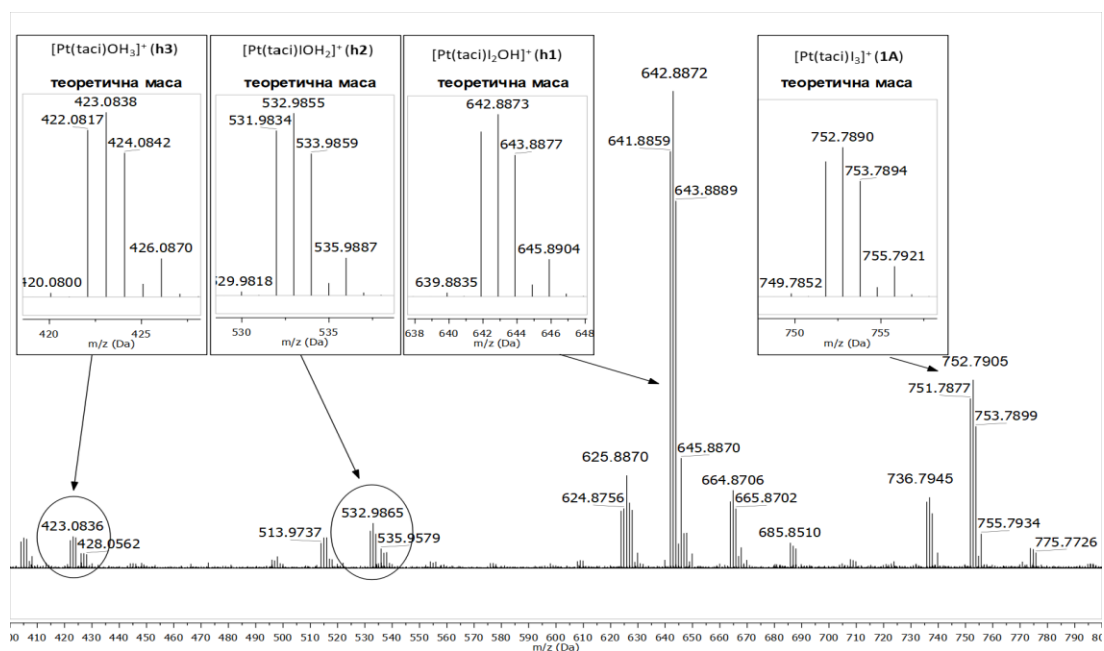


Фигура 39. <sup>1</sup>H- ЯМР-спектър на комплекс **1A**, разтворен в буфер с рН = 3.0 при нагряване от 37 °C. Означенията на сигналите съвпадат с означенията на химичните видове на фиг. 32. \* - примеси.



Фигура 40. <sup>1</sup>H- ЯМР-спектър на комплекс **1A**, разтворен в буфер с рН = 7.4 при нагряване от 37 °C. Означенията на сигналите съвпадат с означенията на химичните видове на фиг. 32. \*-примеси- етанол

Паралелно, процесите на хидролиза на комплекс **1A** във водна и фосфатно буферирана среда бяха изследвани с метода на маспектрометрия с висока резолюция. Проведени са два успоредни експеримента – единият с пресен разтвор с концентрация на комплекс **1A**  $1.5 \times 10^{-5}$  M, другият – на престоял 4 дни разтвор на комплекс **1A** със същата концентрация, съхраняван при 6 °C. Приготвени бяха три паралелни проби – една във вода (pH ~ 5.5), една с pH 3.0 (с 0.01M HNO<sub>3</sub>), една с pH = 7.4 (с 0.01 M NaOH) и в рамките на 72 часа бяха регистрирани маспектрите. Маспектри бяха регистрирани и на разтвор на **1A** при pH 7.4 в PBS. Маспектър, регистриран след добавяне на 0.1 M NaOH е показан на фигура 41. Данни за състава и масата на основните комплексни видове е обобщена в таблица 3. В маспектъра на всички проби във вода се наблюдават хидролизни продукти в рамките на първите 24 часа, като концентрацията на изходния комплекс **1A** е сравнително ниска (по-ниска от тази за **h1**). Основната причина за наблюдаваното по-бързо протичане на хидролизните процеси е в значително по-ниската концентрация на изследваните разтвори, необходима за маспектрометричния анализ (с  $\sim 10^{-6}$  M) за разлика от ЯМР (с  $\sim 10^{-1}$ - $10^{-3}$  M). В буфериран разтвор се наблюдава същата зависимост от концентрацията.



Фигура 41. Маспектър, регистриран след добавяне на 0.01 M NaOH. Показани са и теоретичните маси за всеки химичен вид.

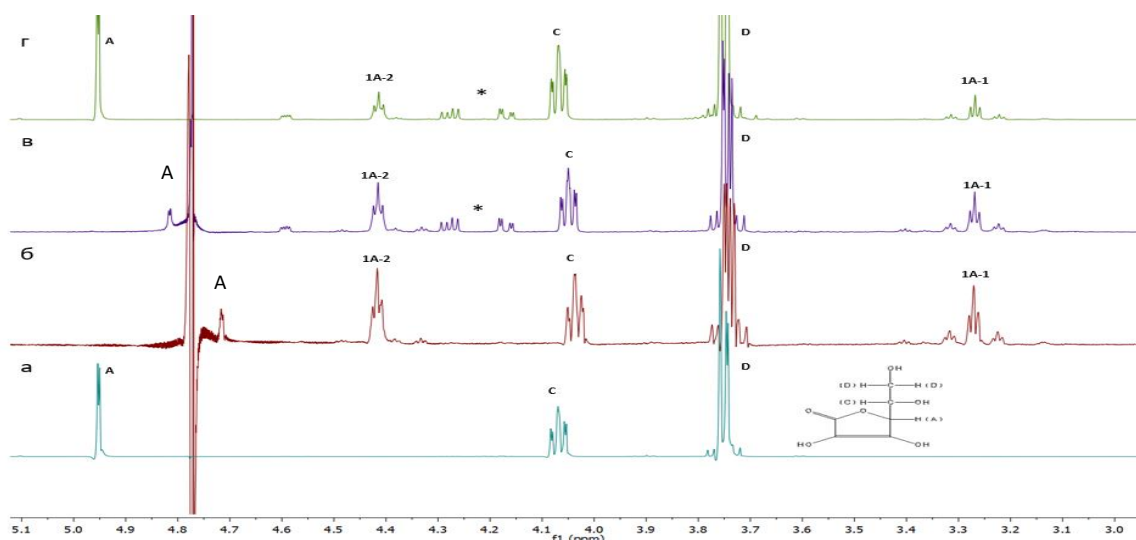
Резултатите от направения МС анализ за всички проби доказват напускането на йодидни йони от вътрешната координационна сфера на платина. В кисела среда всеки етап на замяна на йодиден йон с молекула вода би довел до увеличаване на заряда на

комплексния йон с +1. Химични видове с  $m/z$  стойности за различен от +1 заряд, обаче не са наблюдавани. Масите на всички комплексни химични видове съответстват на заряд +1. Следователно, може да се предположи, че йодидни йони се заместват с хидроксидни групи, при което зарядът на комплексния катион остава +1. Поради спецификата на маспектрометричния анализ, при който молекулите се подлагат на йонизация, в случаите на аква комплекси, е възможно депротониране на молекула вода или хидроксилна група на лиганда, което да компенсира заряда на платина и да запази +1 заряда на комплексните видове. За това и не може еднозначно да се приеме, че аква продукти не са получени.

Комплекс **2A** (със състав:  $[\text{Pt}(\text{taci})_2]^{4+}$ ) и в маспектрометричния експеримент показва висока стабилност, дължаща се на координираните две тридентатни молекули лиганд към платиновия център. В хода на изследването на комплекс **2A** в разтвор не беше наблюдавана промяна в регистрираните ЯМР- и МС- спектри при нито едно от изучаваните условия. С данни от рентгенова дифракция на изолирани монокристални образци беше доказано, че във воден разтвор с рН 3.0, (рН коригирано с 0.025 М  $\text{HNO}_3$ ), както и в основна среда, при рН 12, (рН коригирано с 0.05 М  $\text{NaOH}$ ), се наблюдава единствено заместване на анионните лиганди от външната координационна сфера на  $\text{Pt(IV)}$  (фиг. 18 б) и фиг. 19 а).

### 3.9. Влияние на редуциращи агенти върху стабилността на комплекс $\text{fac-}[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]^+$ .

За да се оценят редокси свойствата на комплекс **1A**, е избран като редуциращ агент аскорбинова киселина (АК). Първоначално АК е добавена в молно отношение с комплекса АК : **1A** = 2, след което количеството ѝ е увеличавано постепенно до 5-кратен излишък. В отношение 1 : 1 и 1 : 5 комплекс : киселина, за 20 часа в протонния ЯМР-спектър се наблюдават сигнали, дължащи се на окислената форма на аскорбиновата киселина- дехидро аскорбинова киселина, означени с (\*) в спектъра. Сигнали, дължащи се на свободен лиганд, както и на друг Pt- комплексен вид, не се наблюдават. Не се наблюдава и образуване на утайка. Това дава основание да смятаме, че причина за окислението на аскорбиновата киселина може да бъде разтвореният във водата кислород и че в рамките на изследването не протича окислително-редукционна реакция с участие на комплекса **1A**.  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектър на чиста аскорбинова киселина, както и избрани  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектри в хода на изследването са показани на фигура 42.



Фигура 42.  $^1\text{H}$ - ЯМР- спектри на аскорбинова киселина (а), поведение на комплекс **1A** в присъствие на 1 mol АК (б), 5 mol АК (в) 10 mol АК (г). Сигналят за водата е подтиснат.

### 3.10. Оценка на биологични свойства на комплексите $\text{fac-}[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]^+$ и $[\text{Pt}(\text{taci})_2]^{4+}$

#### 3.10.1. *in vitro* антипролиферативна активност.

Цитотоксичната активност на изследваните комплекси – **1A** и **2A**, е оценена по отношение на серия човешки туморни клетъчни линии, с МТТ-тест. Резултатите след обработка на получените експериментални данни, са представени като % живи клетки в зависимост от концентрацията на приложения комплекс.

Изследваните платинови комплекси – **1A** и **2A** се характеризират с концентрационно зависима цитотоксична активност (таблица 4, фиг. 43), която за комплекс **1A** е сравнима с тази на референтното лекарство цисплатин, а при туморния модел SAOS-2 (саркома), HL-60/DOX<sup>1</sup>, HL-60/CDDP<sup>1</sup> показва по-изразено инхибиране на клетъчната жизненост и пролиферация в сравнение с клинично прилагания цитостатик.

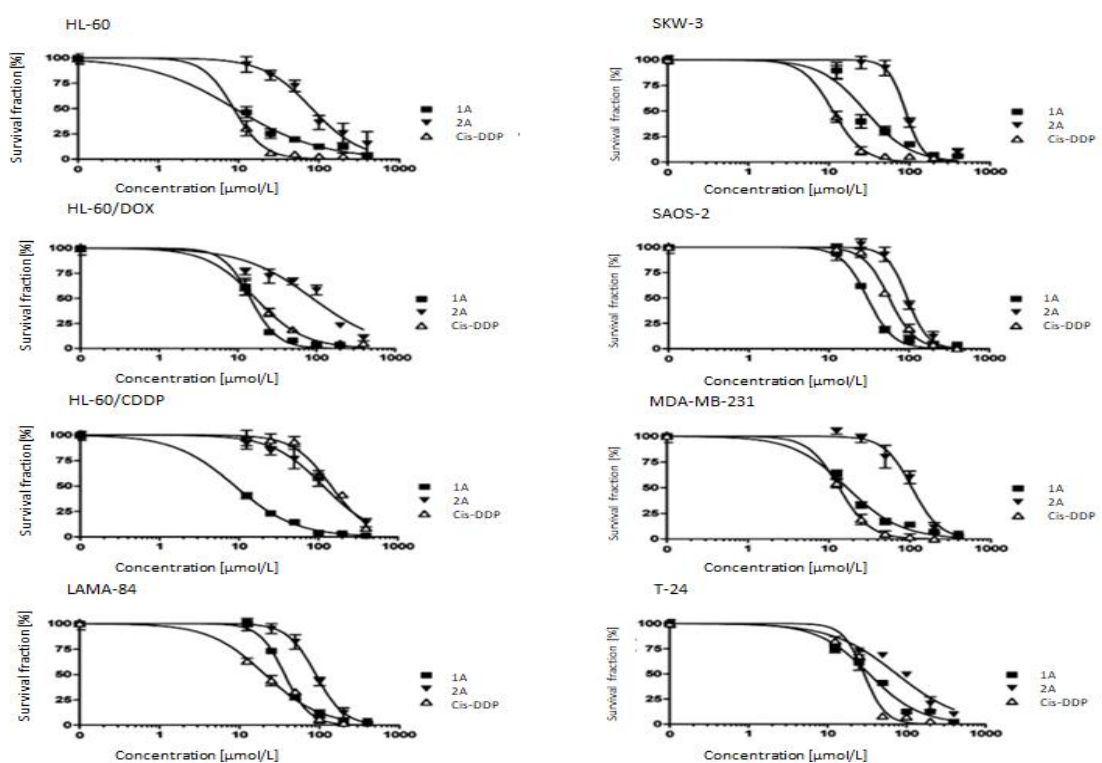
При всички клетъчни линии комплекс **2A** показва значително по-слабо изразена цитотоксична активност, както спрямо цисплатин, така и спрямо **1A**.

<sup>1</sup> Варианти на изходната миелоидна клетъчна линия (HL-60) с индуцирана множествена лекарствена резистентност и свръх експресия на ксенобиотичния транспортер MRP-1 (HL-60/DOX) и с индуцирана цисплатинова резистентност (HL-60/CDDP) са разработени от доц. д-р Георги Момеков, Лаборатория по експериментална химиотерапия при Катедра по фармакология и токсикология, ФФ, МУ-София

Таблица 4. Инхибиращи концентрации ( $IC_{50}$ ) на проучваните платинови координационни съединения **1A** и **2A**, и референтния цитостатик цисплатин върху спектър от човешки туморни клетъчни линии.

| Клетъчни линии | Произход/клетъчен тип                 | $IC_{50}$ ( $\mu M$ ) <sup>1</sup> |              |             |
|----------------|---------------------------------------|------------------------------------|--------------|-------------|
|                |                                       | 1A                                 | 2A           | Cis-DDP     |
| HL-60          | Остра миелоидна левкемия              | 9.0 ± 1.2                          | 81.7 ± 11.7  | 8.3 ± 0.8   |
| HL-60/DOX      | Остра миелоидна левкемия <sup>2</sup> | 14.4 ± 3.4                         | 89.0 ± 9.0   | 16.8 ± 4.2  |
| HL-60/CDDP     | Остра миелоидна левкемия <sup>3</sup> | 8.9 ± 2.4                          | 115.1 ± 18.8 | 144.4 ± 9.8 |
| LAMA-64        | Хронична миелоидна левкемия           | 36.6 ± 5.7                         | 89.9 ± 10.7  | 20.8 ± 4.4  |
| SKW-3          | Остра лимфоидна левкемия              | 28.4 ± 3.9                         | 89.4 ± 9.4   | 11.2 ± 2.9  |
| MDA-MB-231     | Карцином на млечната жлеза            | 16.8 ± 1.8                         | 106.3 ± 12.0 | 13.4 ± 5.3  |
| SAOS-2         | Остеогенен сарком                     | 30.5 ± 5.6                         | 95.0 ± 9.9   | 56.3 ± 8.2  |
| T-24           | Карцином на пикочния мехур            | 33.5 ± 4.0                         | 74.9 ± 6.8   | 29.1 ± 3.1  |

<sup>1</sup>Концентрация, индуцираща 50% инхибиране на туморно-клетъчната пролиферация/жизненост.



Фигура 43. Цитотоксична активност на референтния цитостатик cis-DDP и на новосинтезираните платинови комплекси **1A** и **2A** спрямо спектър от човешки туморни клетъчни линии.

Най-значимият резултат от проведеното изследване е по отношение на туморни клетъчни линии с индуцирана множествена лекарствена резистентност (HL-60/DOX) и такава с резистентност към цисплатин (HL-60/CDDP), към които изследваните комплекси проявяват значима активност. Индексът на резистентност (ИР), представен



като отношение на HL-60/CDDP или HL-60/Dox върху изходната HL-60 (таблица 5) показва, че изследваните комплекси се характеризират с по-висока цитотоксичност спрямо цисплатин, което предполага че преодоляват механизмите на инактивиране на цисплатин. Този резултат дава основание да се смята, че изследваните комплекси се характеризират с алтернативни фармакологични свойства.

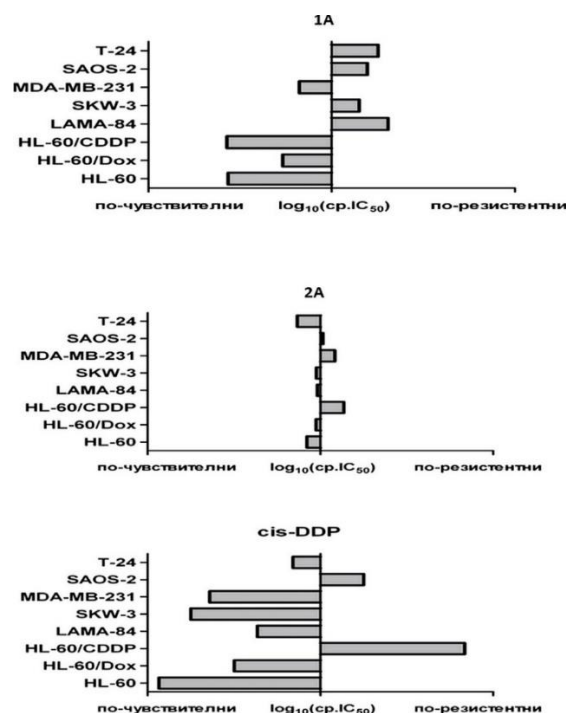
Таблица 5. Индекси на резистентност (IP) установени за новосинтезираните платинови комплекси 1A и 2A и за референтното антинеопластично лекарство при химиорезистентните туморни модели HL-60/Dox и HL-60/CDDP.

| Съединение/<br>клетъчна линия | IP  |     |         |
|-------------------------------|-----|-----|---------|
|                               | 1A  | 2A  | Cis-DDP |
| HL-60/Dox                     | 1.6 | 1.1 | 2.0     |
| HL-60/CDDP                    | 1.0 | 1.4 | 17.4    |

### 3.10.2. Метод COMPARE.

Спектърът на действие на изследваните съединения е оценен с метод COMPARE, разработен в National Cancer Institute, САЩ и прилаган като част от рутинната предклинична оценка на потенциални цитостатици.  $\lg IC_{50}$  стойностите за всяка клетъчна линия, получени от анализа на данните от МТТ-теста, се сравняват с десетичен логаритъм от средната стойност на всички  $IC_{50}$  за даден химичен вид. По този начин се оценява активността спрямо целия спектър туморни модели.

От представените на фигура 44 резултати може да се види, че HL-60/CDDP проявява висока чувствителност към комплекс 1A спрямо останалите туморни модели, за разлика от цисплатин, като не се наблюдава различие в ефекта спрямо HL-60, което ясно може да се оцени от индекса на резистентност (таблица 4) за комплекс 1A.

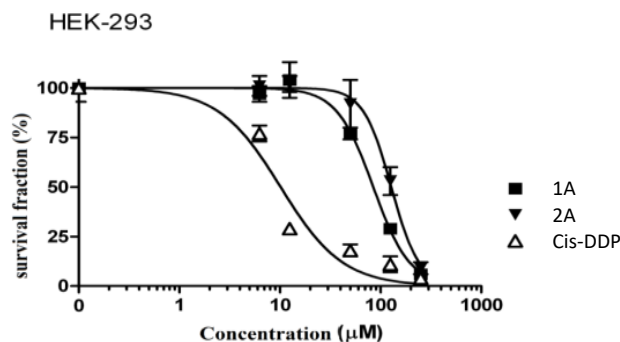


Фигура 44. Графично представяне на спектъра на антинеопластично действие на проучваните съединения по метода COMPARE на National Cancer Institute. Вертикалната линия представлява логаритъм на средната IC<sub>50</sub> стойност на всяко от тестваните съединения по отношение на панела от туморни модели. Горизонталните линии, наляво от определената средна стойност показват чувствителност, която надминава средната активност на съответното съединение, а хоризонталните линии надясно от средата показват по-ниска чувствителност от средната.

### 3.10.3. *in vitro* нефротоксичност

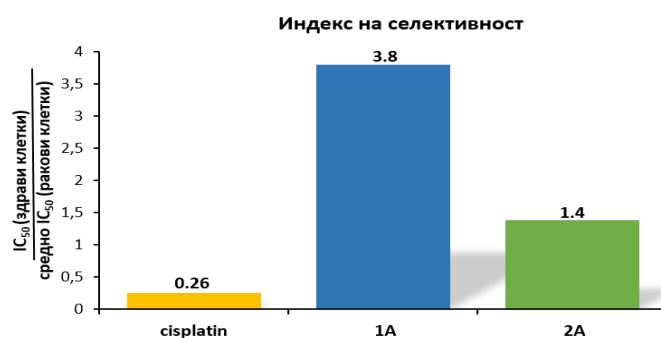
Проведено изследване на изучаваните комплекси за оценка на действието им спрямо ефекта на цисплатин върху човешка ембрионална бъбречна клетъчна линия HEK-293, която е описана като подходяща за проучване на нефротоксичност и съответно профил на безопасност на потенциално нефротоксични съединения.

От представените данни (фиг. 45) се вижда, че при цисплатин (референтно лекарство) се наблюдава изразено концентрационно-зависимо намаляване виталността на бъбречните клетки (IC<sub>50</sub> 9.7 μM). За разлика от него, новосинтезираните комплекси се характеризират със значително по-слабо изразена цитотоксичност и съответно повишени стойности на IC<sub>50</sub> – 84.6 μM за **1A** и 127.7 μM – за **2A**, като резултатът за комплекс **2A** отново може да се отдаде на високата му стабилност.



Фигура 45. Токсичност на 1A, 2A и на цисплатин срещу човешката бъбречна клетъчна линия 293, оценена с помощта на MTT- тест след 72 ч. продължителна експозиция. Всяка точка представя средната аритметична стойност  $\pm$  sd от 8 независими експеримента.

Направена е и оценка на селективността на изследваните комплекси, представена като отношение на  $IC_{50}$  за HEK-293 върху средната стойност на  $IC_{50}$  за изследваните туморните клетъчни линии за двата комплекса и референтния цисплатин (фиг. 46). Получените резултати – 3.8 и 1.4 за 1A и 2A, съответно, са около 14 за 1A и 5 за 2A пъти по-високи от индекса на селективност на цисплатин (0.26), което показва значително по-висока ефективност в селективното инхибиране на пролифераза на туморни клетки за двата комплекса. Показаните резултатите дават основание да смятаме, че изследваните комплекси се характеризират с по-добър, по-благоприятен фармакологичен и токсикологичен профил.



Фигура 46. Индекс на селективност.

#### 4. Изводи

1. Получени са три комплекса на Pt(IV) с лиганда taci, с различен състав на координационната сфера –  $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]^+$  (**PtN<sub>3</sub>I<sub>3</sub>**, **1**),  $[\text{Pt}(\text{taci})_2]^{4+}$  (**PtN<sub>6</sub>**, **2**) и  $\text{Pt}(\text{taci})(\text{taci-4H}(\text{CO}_2)_2)$  (**PtN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>**, **3**).

2. Охарактеризирана е тяхната структура в твърда фаза и в разтвор.

3. Определена е стабилността на комплексите по отношение на процеси на лигандно заместване при различни условия. За комплекс **1A** е определен във физиологични условия хидролизен продукт **h2** ( $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}(\text{OH})_2]^+$ ). За комплекс **2A** не са наблюдавани промени в координационната сфера при нито едни от условията.

4. Комплекси **1A** и **2A** се характеризират с концентрационно-зависима антипролиферативна активност към избрана група туморни клетъчни линии, включително и към цисплатин-резистентни линии. Ефектът, който проявява комплекс **1A** към някои клетъчни линии е сравним с този на референтния цитостатик и дори някои е по-силно изразен – при SAOS клетъчен модел.

5. Комплекс **1A** и **2A** показват по-ниска обща токсичност спрямо цисплатин.

#### Заклучение

Представените в настоящата дисертация резултати дават основание да смятаме, че изследваните Pt(IV) комплекси **1A** и **2A** се характеризират с благоприятен фармакологичен и токсикологичен профил, и различен механизъм на действие, преодолявайки цисплатиновата резистентност, резултат от тяхната „некласическа“ структура.

## Приноси

1. Получени и охарактеризирани са три нови комплекси на Pt(IV) –  $[\text{Pt}(\text{taci})\text{I}_3]^+$  (**PtN<sub>3</sub>I<sub>3</sub>, 1**),  $[\text{Pt}(\text{taci})_2]^{4+}$  (**PtN<sub>6</sub>, 2**) и  $\text{Pt}(\text{taci}(\text{taci-4H}(\text{CO}_2)_2))$  (**PtN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, 3**).

2. За първи път са представени комплекси на Pt(IV) с координационна сфера, съществено отличаваща се от „класическите“ представи за противотуморни платинови лекарства.

### Научни публикации

1. Velcheva, Vyara, Hegetschweiler, Kaspar and Gencheva, Galina. "Crystal structure of all-cis-2,4,6-trihydroxycyclohexane- 1,3,5-triaminium chloride sulfate, C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S" Zeitschrift für Kristallographie - New Crystal Structures, vol. 236, no. 6, **2021**, pp. 1319-1321. <https://doi.org/10.1515/ncrs-2021-0324>
2. Velcheva, Vyara; Hegetschweiler, Kaspar; Momekov, Georgi; Ivanova, Stefka; Ugrinov, Angel; Morgenstern, Bernd; Gencheva, Galina. Platinum(IV) Complexes of the 1,3,5-Triamino Analogue of the Biomolecule Cis-Inositol Designed as Innovative Antineoplastic DrugCandidates. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 2057. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102057>

### Участия в проекти

1. ФНИ- СУ, (80-10-99/2022) за финансиране на публикация „Platinum(IV) Complexes of the 1,3,5-Triamino Analogue of the Biomolecule Cis-Inositol Designed as Innovative Antineoplastic DrugCandidates. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 2057“.
2. ФНИ-МОН, Финансиране на фундаментални научни изследвания (N09/16, 2016-2019) „Проектиране на нови противотуморни препарати на основа на метални комплекси“, ръководител- доц. д-р Галина Генчева
3. ФНИ-СУ, Финансиране на изследователски проект в подкрепа на докторанти (2016) „Изследвания върху предимствата на неklasически противотуморни препарати на основата на платинови комплекси- нови Pt(IV) комплекси с N, O-съдържащи лиганди“, ръководител- доц. д-р Галина Генчева

## Участия в научни конференции

1. Vyara N. Velcheva, Georgi T. Momekov, Angel G. Ugrinov, Nikola T. Burdjiev and Galina G. Gencheva, *Studies on the Solution Behavior of Novel Platinum(IV) Complexes with a N,O- Chelating Ligand Designed as Potential Cytotoxic Agents*, 2<sup>nd</sup> International Conference on Medicinal Chemistry and Drug Design, Renaissance Barcelona Fira Hotel, Barcelona, Spain, 19-20.08.19, p 42.

2. V.Velcheva, G. Gencheva, *A case study on the solution behavior of platinum(IV) complexes designed as potential antiproliferative agents*, Chemistry Today for Tomorrow - A final conference in the framework of the project BG05M2OP001-2.009-0028 funded by operational program "Science and Education for Smart Growth, 01.02.19, p. 41

3. V. Velcheva, G. Gencheva, *1, 3, 5-triamino-1, 3, 5-trideoxy-cis-inositol-characterization in solid state and in solution*, VII National Crystallographic Symposium with International Participation, University of Chemical Technology and Metallurgy, Sofia, Bulgaria, 03-05.10.18, p. 94

4. K. Hegetschweiler, V.Velcheva, A. Ugrinov, B. Morgenstern, G. Momekov, G. Gencheva, *Pt<sup>IV</sup> complexes of 1,3,5-triamin-1,3,5-trideoxy-cis-inositol – Structural Characterization and cytotoxic effects*, Young Research Fellow Meeting, Faculty of Pharmacy, University of Paris-South, Paris, France, 08-10.02.17, p. 211

5. K. Hegetschweiler, V.Velcheva, G. Gencheva, *New Pt<sup>IV</sup> complexes of N,O-containing ligand 1,3,5-triamino, 1,3,5-trideoxy-cis-inositol with potential antitumor activity*, Sixth National Crystallographic Symposium with International Participation, Bulgarian Academy of sciences, Sofia, Bulgaria, 05-07.10.16, p. 49

6. В.Велчева, П.Гороломова, Г. Генчева, *Структура в твърда фаза на нови комплекси с потенциални противотуморни свойства и лиганди, използвани за получаването им*, XV Национална конференция по химия за студенти и докторанти, Факултет по химия и фармация, СУ „Св. Кл. Охридски”, 18-20.05.2016, стр. 17

7. В. Велчева, Г. Генчева, *Изучаване на цитотоксичните отношения на комплекси на Pt<sup>IV</sup> с 1,3,5-триамино-1,3,5-тридеокси-cis-инозитол*, XIV Национална конференция по химия за студенти и докторанти, Факултет по химия и фармация, СУ „Св. Кл. Охридски”, 20-22.05.2015, стр. 56

8. K. Hegetschweiler, V. Velcheva, A. Ugrinov, G. Momekov, G. Gencheva, *Synthesis, structural characterization and in-vitro antiproliferative effects of octahedral Platinum(IV) complexes with 1,3,5-triamino-1,3,5-trideoxy-cis-inositol*, Fifth National Crystallographic Symposium with International Participation, University of chemical technology and metallurgy, Sofia, Bulgaria, 25-27.09.2014
9. K. Hegetschweiler, V. Velcheva, St. Todorova, G. Momekov, G. Gencheva, *PtIV complexes of 1,3,5-triamino-1,3,5-trideoxy-cis-inositol-Single-crystal structure and cytotoxic effects*, Fourth National Crystallographic Symposium with International, University of chemical technology and metallurgy, Sofia, Bulgaria, 01-03.11.2012, p. 29
10. P. Gorolomova, P. Shestakova, St. Todorova, V. Velcheva, G. Gencheva, *Platinum(IV) complexes of 2,2'-dipyridylketone and its gem-diol form – Experimental and Theoretical NMR Study on Complex-Formation and Solution Structures*, 14<sup>th</sup> Central and Eastern European NMR Symposium & Bruker Users' Meeting, Golden Sands, Bulgaria, 16-19.09.2012, p. 78



## **Благодарности:**

Изказвам благодарност към научния си ръководител доц. д-р Г. Генчева за годините на съвместна работа и за възможността да работя в областта на координационната химия и нейното приложение в химиотерапията.

Благодаря на проф. д-р Георги Момеков, МУ, София, за осигуряване на възможност за задълбочени биологични изследвания.

Благодаря на проф. Каспар Хегечвайлер, Заарландски университет, Заарбрюкен, Германия, за предоставяне на лиганда.

Специални благодарности отправям към д-р Ангел Угринов, Севернодакотски щаствки университет, Фарго, Серверна Дакота, САЩ, за безусловната помощ при обработката на данни от рентгенова дифракция; за регистрираните мас спектри и тяхната интерпретация, както и за разширените дискусии и споделените опит и знания.

Благодаря на доц. д-р Никола Бурджиев за регистрираните ЯМР спектри, отделеното време и ценните съвети през годините.

Сърдечна благодарност изказвам и на семейството си за любовта, подкрепата и разбирането през изминалите години.