

طراحی، سنتز و برهمکنش DNA با والین از کمپلکس پالادیوم فندایون

حسین فرهنگیان*^۱، علی نعمتی خراط*^۲

۱. پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران

۲. دانشکده شیمی دانشگاه تهران

E-mail: Farhangian@ccerci.ac.ir

E-mail: anemati@ut.ac.ir

چکیده

این تحقیق در جهت طراحی و سنتز مشتق جدیدی از داروهای ضد سرطان با سمیت و عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای کلینیکی شناخته شده در درمان سرطان می باشد. از اینرو، برهمکنش DNA با کمپلکس ضد سرطان جدید پالادیوم (II) با فرمول $[Pd(phendione)(valine)]NO_3$ که در آن phendione، ۱ و ۱۰-فنانترویلین-۵ و ۶-دی ان می باشد، در محیط تریس بافر با pH=7.4 در دو دمای 27°C و 37°C مورد بررسی قرار گرفت. این اسید آمینه قادر است DNA را در غلظت میلی مولار دناتور کند و این توانایی با افزایش دما، بیشتر می شود. همچنین با تعیین پارامترهای ترمودینامیکی این برهمکنش، مکانیسم احتمالی و نحوه تغییر کانفورماسیون DNA پیش بینی شد.

واژه های کلیدی: کمپلکس پالادیوم (II)، DNA، فندایون، اسید آمینه والین، ضد سرطان

۱- مقدمه

علم داروشناسی جدید در زمینه درمان سرطان بر میزان فهم عملکرد داروهایی که با پروتئین یا DNA پیوند می‌شوند، استوار بوده و فعالیت این داروها را در ابعاد ژنی نیز بررسی می‌کند. تعدادی از داروهای ضدسرطان، از طریق برهم کنش های مستقیم با DNA از گسترش سرطان جلوگیری می‌کنند. بنابراین، تحقیقات وسیعی در زمینه برهم کنش دارو و DNA انجام شده است [1,2].

در حال حاضر سیس پلاتین و کربو پلاتین متعلق به گروه داروهای ضد سرطان خانواده پلاتین هستند. آنها با DNA سلول واکنش داده و در تعمیر آن تداخل ایجاد می‌کنند. این داروها به موازات خواص ضد سرطانی دارای عوارض جانبی مثل نوتروپنی، ترومبوسیتوپنی، کم خونی، تهوع، استفراغ، آسیب شنوایی، آسیب کلیه، خستگی و ریزش مو می‌باشند [3,4].

همین امر سبب گسترش زمینه تحقیقات در خصوص سنتز کمپلکس های جدید با سمیت و عوارض جانبی کمتر گردیده است. برای مثال تعدادی از کمپلکس های پلاتین و پالادیم همراه با آمینو اسیدها سنتز شده و به عنوان عامل ضد سرطان شناسایی شده است [5].

با کشف فعالیت ضد سرطانی سیس پلاتین و عدم فعالیت ترانس پلاتین و نیز عوارض جانبی نامطلوب در اثر استفاده از سیس پلاتین، تلاش های بعدی برای محققین بر روی توسعه کمپلکس های ضد تومور متمرکز و هدف این بود که این کمپلکس ها بتوانند بر روی انواع سلول های سرطانی نیز اثر داشته و عوارض جانبی سیس پلاتین را به حداقل برسانند.

۱-۱- پالادیوم در جایگاه پلاتین

به طور کلی هرچند کمپلکس های پلاتین (II) از لحاظ سینتیکی و ترمودینامیکی پایدارتر از پالادیوم (II) هستند اما پالادیوم 10^5 بار در واکنش های جایگزینی لیگاند سریع تر از کمپلکس های پلاتین عمل می‌کند و این مساله سنتز

کمپلکس های بهینه شده را با پالادیوم مقدر می‌سازد در صورتی که ممکن است با پلاتین واکنش انجام نشود. اما از طرفی این مساله علت فعالیت کمتر ضدتوموری و سمیت بالای این ترکیبات در مقایسه با کمپلکس های پلاتینی مشابه آنها است. به همین دلیل به طور کلی استفاده از پالادیوم (II) و کمپلکس های آن در داروسازی محدود شده است و تنها کاربرد آن ایزوتوپ ^{103}Pd بود که برای جلوگیری از رشد سریع سرطان پروستات پیشرفته استفاده می‌شد. اما پالادیوم (II) به دلیل نرم بودن با لیگاندهای غیر فعال و نرم N و S ترکیبات مفیدتری از فلزات دیگر می‌ساخت، آنها فعالیت مناسب برای پیوند با DNA دارند و از لحاظ سینتیکی بسیار غیر فعال می‌شوند در صورتیکه فلزاتی از قبیل Ni(II)، Zn(II)، Cu(II) و پایداری ترمودینامیکی کافی ندارند [3,4]. به این ترتیب، پالادیوم (II) به عنوان یکی از فلزات جایگزین برای داروهای ضد سرطان پلاتین مورد بررسی و تحقیق قرار گرفت.

۱-۲- کمپلکس های پالادیوم با لیگاندهای دارای حلقه

آروماتیک

اگرچه ترکیب های آلی فلزی برای سیستم های زیستی به عنوان عوامل سمی شناخته می‌شوند، با این حال داروهای با بنیان فلزات واسطه روز به روز از اهمیت بیشتری در درمان برخوردار می‌شوند. افزودن یون های فلزی درون درشت مولکول های زیستی، از قبیل پروتئین ها و نوکلئیک اسیدها، خود زمینه گسترده ای در تحقیقات به شمار می‌رود. استفاده از ترکیب های آلی فلزات واسطه در داروسازی بسیار وسیع می‌باشد. در سال های اخیر از تعداد زیادی دارو به خاطر فعالیت های درمانی آنها در گستره عظیمی از بیماری ها رونمایی شده است، اما فقط تعداد انگشت شماری از آنها وارد چرخه پزشکی شده اند. در طول فرایند استفاده آزمایشی مشخص شده است که تغییرات کوچک ساختاری به نحو قابل توجهی قدرت تغییر در خواص دارویی بسیاری از داروها را

ضد توموری مشاهده شده است، به عنوان مثال اثر کمپلکس $[Pd(phen)(Tyr)]^+$ بر روی سلول سرطانی لنفوسیت P388 گزارش شده است [21].

۲- مواد و روش‌ها

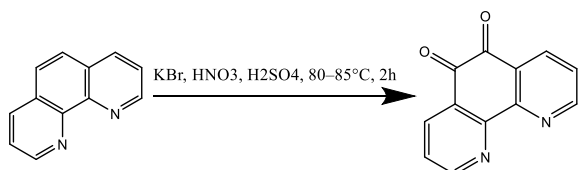
۲-۱- مواد

مواد واکنش شامل ۱۰ و ۱۰- فنانترولین مونوهیدرات، پتاسیم برماید، پالادیوم کلراید، نیترات نقره و DNA از سیگما الدریج و سایر مواد و حلال‌ها از شرکت امرتات شیمی تهیه شده است.

۲-۲- سنتز مواد اولیه و کمپلکس

۲-۲-۱- سنتز لیگاند ۱۰ و فنانترولین-۶ و ۵-دی ان

به یک بالون دو دهانه ۱۰۰ میلی لیتری مخلوطی از ۴ گرم ۱۰ و فنانترولین مونوهیدرات و ۴ گرم پتاسیم برمید اضافه می‌کنیم سپس مخلوط سردی از ۴۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ۲۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ را به صورت قطره قطره به محتویات بالون اضافه می‌کنیم بالون باید در حمام یخ قرار داشته باشد دود نارنجی برم از ظرف واکنش متصاعد می‌شود. پس از اتمام افزودن مخلوط اسیدها بالون را در دمای ۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد و برای مدت ۳ ساعت تحت ریفلکس قرار می‌دهیم. سپس واکنش را برای مدت ۱ ساعت دیگر بدون کندانسور ادامه می‌دهیم تا دیگر گاز برم خارج نشود. پس از این مرحله اجازه می‌دهیم تا مخلوط واکنش خنک شود. و محتویات بالون را به مخلوط ۴۰۰ میلی لیتر آب و یخ تقطیر شده می‌افزاییم و pH آن توسط محلول سود به ۴ تا ۵ می‌رسانیم و توسط دی کلرومتان استخراج می‌کنیم پس از تبخیر حلال فندایون با راندمان ۹۶ درصد به دست می‌آید. جهت افزایش خلوص محصول حاصل در اتانل کریستال گیری مجدد شد.

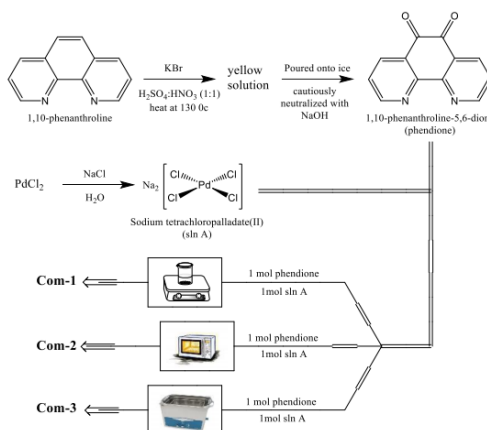


دارد. پر واضح است که لیگاندهای آلی فلزی فرصت‌هایی را ارائه می‌دهند که با داروهای معدنی سنتی قابل دسترس نمی‌باشد [6].

تحقیقات نشان می‌دهد اگر گروه NH_3 در سیس پلاتین و ترکیبات مشابه آن با آمین‌های نوع اول (خصوصاً حلقوی و آروماتیک) جایگزین شود، منتهی به تهیه داروهای ضد سرطانی با عوارض جانبی کمتر می‌شود [6,7]. به این ترتیب کمپلکس‌های فلزی با لیگاندهای آروماتیک چنددندانه با کئوردیناسیون مسطح مربعی N_4 یا N_2O_2 ، بیشتر برای برهمکنش با DNA مطالعه می‌شود [8-10]. از انواع این ترکیبات کمپلکس‌های حاوی لیگاندهای دودندانه نیتروژن از جمله ۱۰ و فنانترولین به عنوان برش دهنده (cleavage) رشته‌های DNA و غیر رادیواکتیو است [11]. همچنین کمپلکس‌های پالادیوم با لیگاندهای دارای اتم N از جمله پیریدن، کوئینولین و پیرازول نیز سنتز و مشخص شده است که دارای خصلت انتی توموری هستند [12-14]. این ترکیبات علاوه بر کاربرد در طراحی حسگرهای شیمیایی دارای فعالیت بیولوژیکی از قبیل بازدارنده ویروس HIV-1 [15,16] ضد باکتری [17]، ضد مالاریا [18] و ضد توموری بوده [19,20] و به همین دلیل گزینه مناسبی در سنتز و برهمکنش کمپلکس‌های ضد توموری می‌باشد.

در این راستا کمپلکس‌هایی با لیگاندهای آروماتیک مانند فنانترولین یا بی پیریدین و ... با خواص ضد سرطانی مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته‌اند. برای عبور از غشای سلول و سازگاری بیشتر با سیستم فیزیولوژی از اسیدهای آمینه به عنوان لیگاند N و O دهنده استفاده می‌شود. نیتروژن و اکسیژن یا کربوکسیلات به صورت پل به یونهای فلزی متصل می‌شوند. در اثر کئوردینه شدن اسیدهای آمینه به صورت کیلیت باعث غیر فعال شدن یا بلوکه شدن دو جایگاه کلر در سیس پلاتین، عوارض جانبی کاهش می‌یابد. در برخی از کمپلکس‌های پالادیوم و پلاتین با اسیدهای آمینه خصلت

۲-۲-۲- سننیز کمپلکس دی کلرو(او۱) فنانترولین- ۵و۶-دی ان) پالادیوم (II)



۲-۲-۲-۱- سننیز کمپلکس در شرایط عادی

به ۳ میلی لیتر آب دو بار تقطیر، ۱۷,۷ میلی گرم (۰,۱ میلی مول) پالادیوم (II) کلرید و ۲۹,۳ میلی گرم (۰,۵ میلی مول) سدیم کلرید اضافه گردید. سپس مخلوط در ۵۰ درجه سانتیگراد هم زده شد تا کاملاً شفاف شد. سپس سرد و صاف شد. محلول حاوی $\text{Na}_2[\text{PdCl}_4]$ است. به این محلول، قطره قطره محلول حاوی ۲۱ میلی گرم او۱ فنانترولین-۵و۶-دی ان (۰,۱ میلی مول) حل شده در ۲ میلی لیتر اتانول تقطیر شده در دمای اتاق افزوده و به مدت یک ساعت هم زده شد. رسوبهای زرد آجری حاصل تحت خلاء صاف و با مقدار زیادی آب دو بار تقطیر و ۵ میلی لیتر اتانول و ۵ میلی لیتر اتر شستشو داده شد و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد خشک گردید. مقدار محصول ۳۲ میلی گرم و بازده واکنش ۹۰٪ است. دمای تجزیه این کمپلکس ۳۷۰ درجه سانتیگراد تعیین گردید.

۲-۲-۲-۲- سننیز کمپلکس تحت تابش میکروویو

به ۰,۱ میلی مول محلول حاوی $\text{Na}_2[\text{PdCl}_4]$ و محلول حاوی ۲۱ میلی گرم او۱ فنانترولین-۵و۶-دی ان (۰,۱ میلی مول) حل شده در ۲ میلی لیتر اتانول تقطیر شده افزوده شد و محلول حاصل برای مدت ۳ دقیقه تحت تابش میکروویو

قرار گرفت. رسوبهای سبز تیره حاصل سانتریفیوژ گردید و با مقدار زیادی آب دو بار تقطیر و ۵ میلی لیتر اتانول و ۵ میلی لیتر اتر شستشو داده شد و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد خشک گردید. مقدار محصول ۳۲ میلی گرم و بازده واکنش ۹۰٪ است.

۲-۲-۲-۳- سننیز کمپلکس تحت امواج التراسونیک

۰,۱ میلی مول محلول حاوی $\text{Na}_2[\text{PdCl}_4]$ در حمام التراسونیک در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد سپس قطره قطره محلول حاوی ۲۱ میلی گرم او۱ فنانترولین-۵و۶-دی ان (۰,۱ میلی مول) حل شده در ۲ میلی لیتر اتانول تقطیر شده افزوده شد و محلول حاصل برای مدت ۲۰ دقیقه تحت امواج التراسونیک قرار گرفت. رسوبهای سبز زیتونی حاصل سانتریفیوژ گردید و با مقدار زیادی آب دو بار تقطیر و ۵ میلی لیتر اتانول و ۵ میلی لیتر اتر شستشو داده شد و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد خشک گردید. مقدار محصول ۳۲ میلی گرم و بازده واکنش ۹۰٪ است.

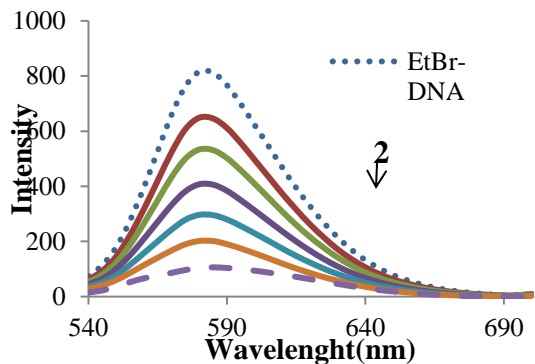
۲-۲-۲-۴- سننیز کمپلکس پالادیوم فندایون والین

نیترا

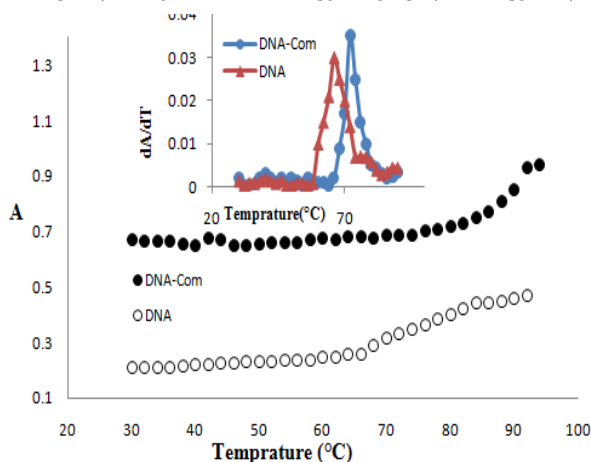
در یک بالون ۵۰ میلی لیتری مقدار یک میلی مول والین، یک میلی مول فندایون پالادیوم کلراید، دو میلی مول نیترا نقره و ۳۵ میلی لیتر آب مقطر می‌ریزیم و بالون را برای مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد حرارت می‌دهیم. پس از این مدت رسوب AgCl را فیلتر می‌کنیم و حلال را توسط خلا حذف می‌کنیم. رسوب حاصل را توسط استون شستشو داده و در آن خشک می‌کنیم. راندمان واکنش ۷۸ درصد می‌باشد. طیف HNMR در حلال DMSO گرفته شد.

۲-۳- روش آزمایش

برهمکنش کمپلکس و DNA



شکل ۲- طیف نشر فلورسانس برای برهم‌کنش EtBr-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظت‌های متفاوت کمپلکس



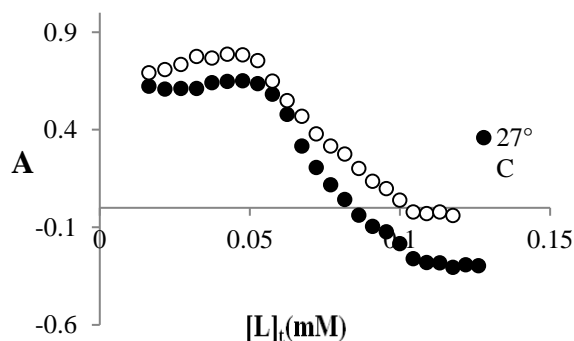
شکل ۳- منحنی ذوب DNA در غیاب و حضور کمپلکس

۳- شرح و بحث

با رسم منحنی تغییرات جذب به غلظت کمپلکس، منحنی دنا توری رسم گردید (شکل ۱). مطالعه غیر طبیعی شدن DNA با کمپلکس تهیه شده، نشان داد که این ترکیب می‌تواند DNA را در غلظت‌های میکرومولار دنا توری کند. مقادیر $[L]_{1/2}$ در دو دمای 27°C و 37°C به ترتیب (۸۰ و ۷۰) میکرومولار است که با افزایش دما این غلظت کاهش می‌یابد.

با استفاده از منحنی فوق و روش PACE [23] میزان پایداری DNA ($\Delta G^\circ_{\text{H}_2\text{O}}$) در دو دمای 27°C و 37°C به ترتیب (۳۳٫۶ و ۲۷٫۳ kJ/mol) می‌باشد. بنابراین DNA در دمای 37°C پایداری کمتری دارد و این پایداری در حضور

مطالعه غیر طبیعی شدن DNA با کمپلکس تهیه شده در محیط تریس بافر با $\text{pH}=7.4$ و 10 mM سدیم کلرید در دو دمای 27°C و 37°C با استفاده از طیف سنجی UV-visible, Fluorescence انجام و پارامترهای ترمودینامیکی این برهم‌کنش بررسی شد. شکل ۱ تغییرات جذب DNA در ۲۵۸ نانومتر با افزایش کمپلکس در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتیگراد در محیط تریس بافر را نشان می‌دهد که در آن دنا توری شدن DNA قابل مشاهده می‌باشد. همچنین شکل ۲ کاهش شدت نشر فلورسانس با افزایش کمپلکس به محلول DNA-EtBr در دمای 27°C در محیط تریس بافر با $\text{pH}=7.4$ را نشان می‌دهد که این امر به واسطه خروج اتیدیوم برمید و قرار گرفتن کمپلکس به جای آن می‌باشد. شکل ۳ برهم‌کنش بین کمپلکس و DNA در دمای انتقال را نشان می‌دهد. در صورت وجود برهم‌کنش بین کمپلکس و DNA، در دمای انتقال محلول Complex-DNA نسبت به دمای انتقال محلول DNA تنها، تغییر ایجاد می‌شود به طوریکه پایداری حرارتی آن افزایش می‌یابد، که اگر این افزایش بین ۵ تا ۱۲ درجه سانتیگراد باشد نشانه برهم‌کنش از نوع اینترکلیشن است [22]. این میزان برای این برهم‌کنش ۸ درجه سانتیگراد بدست آمده است که نشان از برهم‌کنش از نوع اینترکلیت می‌باشد.



شکل ۱- تغییرات جذب DNA با افزایش کمپلکس در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد و محیط تریس بافر با $\text{pH}=7.4$

نتایج ترمودینامیکی غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکس پالادیوم در جدول زیر نشان داده شده است.

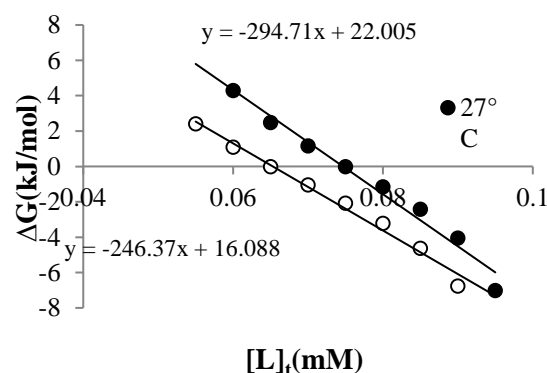
کمپلکس کاهش می‌یابد. شکل ۴ تغییرات انرژی آزاد گیبس برای DNA در دو دمای ۲۷°C و ۳۷°C را نشان می‌دهد. همچنین شکل ۵ نمودار تغییرات انتالپی DNA در برابر

$\Delta S^\circ \text{H}_2\text{O}$ (kJ/molK)	ΔH° conformation (kJ/mol)	$\Delta G^\circ \text{H}_2\text{O}$ (kJ/mol)	غلظت در نقطه میانی انتقال (μM)	دما °C	
۰,۶	۲۲۳	۳۳,۶	۸۰	۲۷	[Pd(phenanthroline)(valine)]NO ₃
۰,۶		۲۷,۳	۷۰	۳۷	

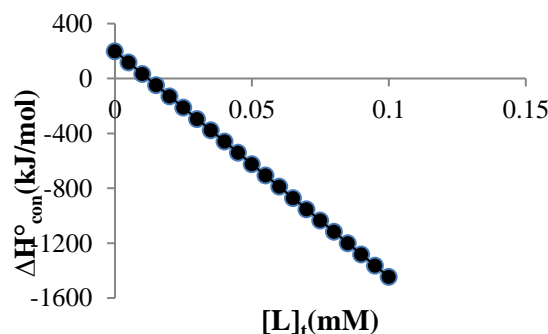
۴- نتیجه گیری

کمپلکس را نشان می‌دهد.

بر همکنش کمپلکس جدید پالادیوم با DNA مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد این کمپلکس می‌تواند DNA را در مقادیر کم غیر طبیعی کند با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ به احتمال قوی نوع بر همکنش کمپلکس DNA از نوع اینترکلیشن می‌باشد. با توجه به شکل ۴ با افزایش غلظت کمپلکس، انرژی آزاد گیبس کاهش می‌یابد. به این دلیل که با افزایش غلظت کمپلکس، تعداد بیشتری از جایگاه‌های پیوندی DNA توسط کمپلکس اشغال شده و موجب تغییر ساختار DNA و کاهش پایداری آن می‌شود. با تعیین معادله خط، عرض از مبدأ که همان $\Delta G^\circ(\text{H}_2\text{O})$ است و نشان دهنده پایداری DNA در عدم حضور کمپلکس می‌باشد، بدست آمده است که بزرگ بودن این پارامتر، نشان از پایداری بیشتر DNA می‌باشد [24]. با توجه به نزولی بودن نمودار تغییرات انتالپی (شکل ۵) می‌توان نتیجه گرفت که این برهمکنش گرمازا است و مقادیر مثبت آنتروپی (ΔS°) به طور معمول دلیل بر، برهمکنش هیدروفوبی می‌باشد [25].



شکل ۴- تغییرات انرژی گیبس DNA با افزایش لیگاند در دو دمای ۲۷°C و ۳۷°C



شکل ۵- نمودار تغییرات انتالپی DNA در برابر $[L]_t$ مربوط به برهم‌کنش DNA با کمپلکس

همچنین با بکارگیری وانت هوف می‌توان ΔH° conformation یا ΔH° denaturation در محدوده دمایی ۲۷°C تا ۳۷°C برای DNA در برهم‌کنش با کمپلکس را تعیین کرد، که

۵- مراجع

1. M. I-Moghaddam, M. Saidifar, F. Rostami-Charati, D. Ajloo, M. Ghadamgahi, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2014, 17, 781-789

14. Kovalá-Demertzi, D., Demertzis, M.A., Filiou, E., Pantazaki, A.A., Yadav, P.N., Miller, J.R., Zheng, Y., Kyriakidis, D.A., *Biomaterials*, 2003, 16, 411
15. Zhuang, L., Wai, J.S., Embrey, M.W., Fisher, T.E., Egbertson, M.S., Payne, L.S., Guare Jr., J. P., Vacca, J.P., Hazuda, D.J., Felock, P.J., Wolfe, A.L., Stillmock, K.A., Witmer, M.V., Moyer, G., Schleif, W.A., Gabryelski, L.J., Leonard, Y.M., Lynch Jr., J.J., Michelson, S.R., Young, S.D., *J. Med. Chem.*, 2003, 46, 453
16. Shaw, A.Y., Chang, Ch.-Y., Hsu, M.-Y., Lu. P.-J., Yang, Ch.-N., Chen, H.-L., Lo, Ch.-W., Shiau, Ch.-W., Chern, M.-K., *Europ. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 2860
17. Gershon, H., Parmegiani, R., *Appl. Microbiol.*, 1962, 10, 348
18. Negm, N.A., Morsy, S.M.I., Said, M.M., *Bioorg.Med.Chem.*, 2005, 13, 5921
19. Yamato, M., Hashigaki, K., Yasumoto, Y., Sakai, J., Tsukagoshi, S., Tashiro, T., Tsuruo, T., The synthesis and antitumor *Chem. Pharm. Bull.*, 1986, 34, 3496
20. Moret, V., Laras, Y., Cresteil, T., Aubert, G., Ping, D.Q., Di, C., BarthélemyRequin, M., Béclin, C., Peyrot, V., Allegro, D., Rolland, A., De Angelis, F., Gatti, E., Pierre, P., Pasquini, L., Petrucci, E., Testa, U., Kraus, J.-L., *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, 44, 558
21. Jin, V.X., Ranford, J.D., *Inorg. Chim. Acta*, 2000, 304, 38
22. Grant, M.; Baron, R.; Macias, M.; Layne, M.; Perrella, M., *Biochem. J.*, 2009, 418, 103.
23. Greene, R. F., & Pace, C. N. *Journal of Biological Chemistry*, 1974, 249, 5388
24. Cao, Y.; He, Xi-w., *Spectrochim. Acta. A*, 1998, 54, 883.
25. Divsalar A.; Saboury, A. A.; Mansoori-Torshizi; H.; Eslami, M.
2. M. Saidifar, H. Mansouri-Torshizi, Y. Palizdar, M. I-Moghaddam, A. Divsalar, A.A.Saboury, *Acta Chim. Slov.*, 2014, 61, 126
3. J.L. van der Veer, J. Reedjik, *Chem. Brit.*, 1985, 20, 775
4. R.F. Ozds, R.C. Young, *Semin. Oncol.*, 1985, 12, 21
5. M. I-Moghaddam, M. Saidifar, A. Divsalar, H. Mansouri-Torshizi, A.A.Saboury, H. Farhangian, M. Ghadamgahi, *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2016, 34, 206
6. Szucova. L., Travnicek. Z., Zatloukal. M., Popa. I., *Bioorg. Med. Chem.*, 2006, 14, 479
7. Natile, G., Coluccia, M., *Coord. Chem. Rev.*, 2001, 216, 383
8. Gao, E., Wang, L., Zhu, M., Liu, L., Zhang, W., *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 311
9. Erkkila, K.E., Odom, T.D., Barton, J.K., *Chem. Rev.*, 1999, 99, 2777
10. Metcalfe, C., Thomas, J.A., *Kinetically Chem. Soc. Rev.*, 2003, 32, 215
11. Tan, L.-F., Liu, X.-H., Chao, H., Ji, L.-N., *J. Inorg. Biochem.*, 2007, 101, 56
12. Tusek-Bozic, L., Juribasic, M., Traldi, P., Scarcia, V., Furlani, A., *Polyhedron*, 2008, 27, 1317
13. Higgins III, J.D., Neely, L., Fricker, S., *J. Inorg. Biochem.*, 1993, 49, 156

M.; Ahmad, F.; Hakimelahi, G. H., J.
Biomol. Struc., 2009, 26, 5, 587.

