

# مطالعه برهم کنش بین آلومین سرم گاوی با سه کمپلکس مس (II) - ایمین به روش طیف سنجی جذب الکترونی

معصومه احمدی سرخونی، حسن منصوری ترشیزی<sup>+</sup>، خاطره عبدی

گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

**چکیده:** سه کمپلکس بیس (۲-بی پیریدین-، بیس (۱، ۱-فئاترولین- و (۲، ۲-بی پیریدین) (۱، ۱-فئاترولین)- کلرومس (II) کلرید به ترتیب با فرمول‌های مولکولی  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$ ،  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$  با هندسه دوهرمی با قاعده مثلث، مطابق روش گزارش شده از واکنش  $CuCl_2$  با لیگاندهای  $bpy$  و  $phen$  تهیه شدند. برهم کنش این کمپلکس‌ها در دو دمای ۲۹۶ و ۳۱۰ کلوین در محیط بافر تریس ( $pH = 7$ ) و سدیم کلرید (۱۰ میلی مولار) با آلومین سرم گاوی (BSA) به روش طیف سنجی جذب الکترونی مطالعه شد. این مطالعات شامل تعیین ثابت پیوند شدن هر یک از کمپلکس‌ها با سرم آلومین (K)، غلظتی از هر کمپلکس که در آن غلظت نیمی از BSA موجود در محیط غیرطبیعی می‌شود ( $L_{1/2}$ ) و پارامترهای ترمودینامیکی می‌شوند. مقادیر ثابت پیوندی که در محدوده  $10^4 M^{-1} \times 65 - 2/08$  به دست آمدند، حاکی از برهم کنش مناسب هر یک از کمپلکس‌ها با BSA است. در فرآیند تیتراسیون BSA با هر یک از کمپلکس‌ها مشخص شد که صورت‌بندی این پروتئین با افزایش غلظت هر یک از کمپلکس‌ها تغییر کرده زیرا جذب BSA در ناحیه ۲۸۰ نانومتر با افزایش این ترکیبات کاهش معنی‌داری نشان داد. در بررسی پارامترهای ترمودینامیکی: منفی بودن مقادیر تغییرات انرژی آزاد گیبس در برهم کنش هر سه کمپلکس با BSA خودبخودی بودن برهم کنش را تایید نمود. مثبت بودن مقادیر تغییرات آنتالپی استاندارد برای کمپلکس‌های  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$ ، گرماگیر بودن و منفی بودن آن برای کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  گرمازا بودن این سیستم‌ها را نشان داد. به علاوه، مثبت بودن مقادیر تغییرات آنتروپی استاندارد برای کمپلکس‌های  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$  بی‌نظمی سیستم (پیش‌برنده با آنتروپی) و منفی بودن آن برای کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  نشان‌دهنده نظم بیشتر است. به علاوه، مثبت بودن  $\Delta H^\circ$  و  $\Delta S^\circ$  برای کمپلکس‌های  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$  و منفی بودن این دو پارامتر برای کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  نشان می‌دهد که نوع پیوند بین آنها به ترتیب هیدروفوب و هیدروژنی + واندروالس می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** کمپلکس‌های مس (II)، لیگاندهای پلی پیریدیلی، آلومین سرم گاوی، پارامترهای ترمودینامیکی

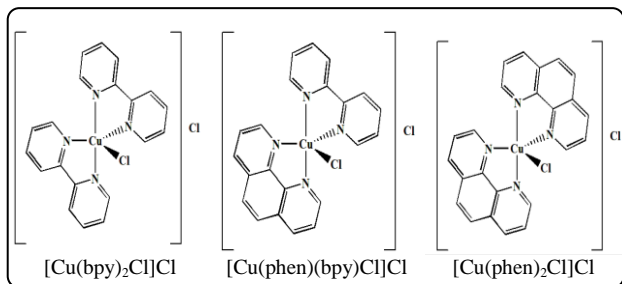
**KEYWORDS:** Cu(II) complexes, Polypyridyl ligands, Bovine serum albumin, Thermodynamic parameters

## مقدمه

می‌دانیم که در بحث درمان انواع سرطان‌ها، اخیراً از کمپلکس‌های عناصر فلزی در سطح وسیعی استفاده می‌شود. یکی از خصوصیات که لازم است این کمپلکس‌ها داشته باشند، حفظ پایداری ساختار آن‌ها از بدو ورود به بدن بیمار تا رسیدن به هدف دارو می‌باشد. تا بحال تعداد زیادی کمپلکس با عنصر پلاتین برای درمان سرطان‌های متعدد به کار گرفته شده است ولی اکثر آن‌ها دارای عوارض جانبی حاد می‌باشند [۱، ۲]. بنابراین یکی از تدابیر اتخاذ شده در این زمینه استفاده از کمپلکس‌های فلزات واسطه به غیر از پلاتین می‌باشد که از آن جمله، کمپلکس‌های فلز مس هستند. گزارش شده است که در بین عناصر واسطه دو ظرفیتی، Cu(II) پایدارترین کمپلکس‌ها را تشکیل می‌دهد [۳]. البته سرعت واکنش‌های استخلافی کمپلکس‌های Cu(II) بالاست ولی می‌توان آن را با کوئوردینه کردن با لیگاندهای کی‌لیت ساز تنظیم کرد. از طرفی، مشاهده‌ها نشان داده است که کمپلکس‌های سنتز شده از مس با لیگاندهای دو دندانه ۲، ۲- بی‌پیریدین و ۱، ۱- فنانترولین و مشتقات آن‌ها حلقه‌های کی‌لیت پایداری ایجاد می‌کنند. این کمپلکس‌های فلزی در دستگاه گوارش، سمیت و عوارض جانبی کمتری ایجاد کرده و فعالیت ضد سرطانی بیشتری از خود نشان می‌دهند [۴].

هنگامی که کمپلکس‌های فلزی به عنوان داروهای ضدسرطان استفاده می‌شوند، به پروتئین‌های حامل متصل شده و در خون جریان می‌یابند. این خاصیت از آن جهت که بسیاری از داروها عموماً از طریق ترکیب با آلبومین در خون به سلول‌های هدف تحویل می‌شوند مهم است [۵، ۶]. آلبومین تا به امروز، چند منظوره‌ترین پروتئین حامل در خون شناخته شده است. این پروتئین به طور عمده مسئول انتقال طیف گسترده‌ای از ترکیبات از جمله داروها و مواد مغذی است که بیشتر از طریق مکان‌های اتصال خاص، به طور غیرکووالانسی به آن‌ها متصل می‌شود [۷]. آلبومین سرم انسانی (HSA) به عنوان مهمترین پروتئین حامل در خون، دارای چند مکان اتصال برای تداخل با بسیاری از داروها است [۸]. اما در شرایط آزمایشگاهی از سرم آلبومین گاوی (BSA) به دلیل عدم تأثیر آن در بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی، ارزان بودن، راحتی تهیه و از همه مهم‌تر شباهت ساختاری آن با HSA، به عنوان مدلی برای مطالعه اثر متقابل دارو و پروتئین استفاده می‌شود [۹].

در مقاله پیش رو، ابتدا سه کمپلکس  $[\text{Cu}(\text{bpy})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ ،  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  و  $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{Cl}]\text{Cl}$  مطابق روش



شکل ۱- ساختار سه کمپلکس مورد مطالعه در این تحقیق [۱۰-۱۳].

گزارش شده [۱۰، ۱۱] سنتز و سپس برهم‌کنش این سه ترکیب با BSA به روش طیف سنجی جذب الکترونی بررسی گردید. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، تفاوت این کمپلکس‌ها از چپ به راست به ترتیب دارا بودن چهار، پنج و شش حلقه آروماتیک می‌باشد. بنابراین یکی از اهداف این تحقیق تأثیر تعداد حلقه‌ها در برهم‌کنش با BSA است. اهداف دیگر شامل: تعیین میزان تمایل برهم‌کنش کمپلکس‌ها با BSA با توجه به مقادیر ثابت تجمع برهم-کنش (K) و غلظتی از هر یک از کمپلکس‌ها که در آن برهم‌کنش به میزان ۵۰٪ پیش رفته ( $L_{1/2}$ ) و در نهایت محاسبه مقادیر و علایم پارامترهای  $\Delta H^\circ$ ،  $\Delta S^\circ$  و  $\Delta G^\circ$  به منظور تخمین طبیعت ترمودینامیکی این برهم‌کنش‌ها با BSA است.

## بخش تجربی

## مواد شیمیایی مورد استفاده

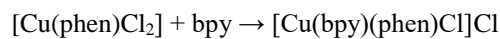
از متانول و اتانول مطلق به عنوان حلال، از استون تجاری تقطیر شده جهت شستشو و برای خالص‌سازی از استون‌تریل استفاده گردید. ترکیبات مورد استفاده دیگر شامل: مس(II) کلرید، بی‌پیریدین، دی اتیل اتر و فنانترولین یک آبه از شرکت مرک و BSA و تریس بافر از شرکت سیگما-آلدْرِیج خریداری شدند.

## روش‌ها و دستگاه‌های مورد استفاده

طیف‌های IR لیگاندها و کمپلکس‌ها به صورت قرص KBr در محدوده  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  توسط دستگاه FT-IR، مدل Spectrum TWO شرکت PerkinElmer ثبت شدند. هدایت مولی کمپلکس‌ها توسط دستگاه هدایت سنج EC215 شرکت Hanna با ثابت سل معادل ۱ در محیط آبی با استفاده از آب دو بار تقطیر به عنوان حلال، طیف‌های جذب الکترونی توسط دستگاه UV-Vis، مدل UV-1601 شرکت Rayleigh و نقطه تجزیه توسط دستگاه الکتروترمال ۹۱۰۰ ثبت و بررسی شد.

### روش تهیه کمپلکس‌ها

کمپلکس‌های  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  با استفاده از روش‌های گزارش شده ولی با اندک تغییر تهیه شدند [۱۰، ۱۱].  
تهیه کمپلکس  $[Cu(phen)(bpy)Cl]Cl$  به روش زیر انجام شد.  
مقدار ۰/۴۷ گرم (۱/۵ میلی‌مول) از ترکیب  $[Cu(phen)Cl_2]$  [۱۰] در ۱۵ میلی‌لیتر مخلوط ۱:۱ استونیتریل:متانول سوسپانسیون شد و به آن ۰/۲۳۴ گرم (۱/۵ میلی‌مول) از ۲، ۲-بی‌پیریدین اضافه گردید. ترکیب شونده‌ها در دمای ۴۰ درجه سلسیوس شب تا صبح هم زده شد و سپس در دمای محیط خنک و صاف شد. پس از آنکه حجم محلول به ۱۱ میلی‌لیتر رسید، تحت نفوذ دی‌اتیل اتر قرار داده شد. بعد از سه روز بلورهای بسیار ریز سوزنی تشکیل شد. محلول روی بلورها دکانته و بلورهای به‌دست آمده با استون شستشو داده شد. این بلورها در آون در دمای ۴۵ درجه سلسیوس خشک شد. وزن بلورها ۰/۴۷ گرم و راندمان ۶۷ درصد به‌دست آمد. واکنش مربوطه به صورت زیر است:



### روش انجام آزمایش‌های مربوط به برهم‌کنش کمپلکس‌ها با BSA

به منظور بررسی برهم‌کنش کمپلکس‌های سنتز شده با BSA از دو آزمایش استفاده شد. ضمناً همانطور که گفته شد کلیه بررسی‌های مربوط به BSA، در طول موج ۲۸۰ نانومتر که جذب ماکزیمم پروتئین‌هاست، انجام پذیرفت. اضافه می‌شود که جهت بررسی پایداری این سه کمپلکس در محیط مائی و بافر تریس، محلول هر یک از سه کمپلکس با غلظت  $1 \times 10^{-4} M$  در بافر تریس تهیه و طیف جذب الکترونی آنها بر حسب زمان (صفر، ۲، ۱۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) ثبت شد. عدم تغییر در طیف‌ها نشان‌دهنده پایداری کمپلکس‌ها در شرایط برهم‌کنش می‌باشد.

*الف: آزمایش اول:* این آزمایش بایستی در دستگاه جذب الکترونی دو پرتویی انجام شود و طیف‌ها روی هم ثبت شوند. ابتدا در هر یک از دو سل مرجع و نمونه، ۲ میلی‌لیتر بافر کار ریخته و مقدار جذب دستگاه صفر شد. سپس از سل نمونه ۴۰۰ میکرولیتر بافر برداشته و به جای آن ۴۰۰ میکرولیتر از محلول استوک BSA اضافه گردید تا نه تنها حجم محلول در سل نمونه تغییر نکند بلکه مقدار ثابتی BSA به سیستم وارد شده که می‌توانیم آن را با کمپلکس تیترا کنیم. محلول به آرامی هم زده شد و طیف آن در محدوده ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر ثبت شد. سپس ۱۵ میکرولیتر از محلول استوک کمپلکس با غلظت  $1 \times 10^{-4}$  مولار را به هر یک از دو سل

نمونه و مرجع اضافه کرده، آن را به آهستگی هم زده و به مدت ۳ دقیقه در دمای مورد نظر انکوبه گردید. سرانجام طیف جذبی آن در محدوده ۲۰۰-۴۰۰ نانومتر ثبت شد. اضافه کردن کمپلکس تا جایی ادامه یافت که تغییرات جذب در طیف‌ها مشاهده نشود. با استفاده از معادله (۱) و اطلاعات به‌دست آمده از این آزمایش می‌توان K (ثابت پیوند شدن کمپلکس به BSA) را محاسبه نمود.

$$\frac{1}{A-A_0} = \frac{1}{A_{\infty}-A_0} + \frac{1}{K(A_{\infty}-A_0)} \times \frac{1}{[complex]} \quad (1)$$

در این معادله  $A_0$  جذب اولیه BSA در ۲۸۰ نانومتر در غیاب کمپلکس فلزی،  $A_{\infty}$  جذب نهایی BSA است یعنی زمانی که واکنش بین آن‌ها به تعادل برسد و A جذب در غلظت‌های مختلف از کمپلکس فلزی بعد از هر تزریق است. این آزمایش به طور جداگانه در دو دمای ۲۹۶ و ۳۱۰ کلون تکرار شد. با رسم مقادیر  $1/(A-A_0)$  در مقابل  $1/[metal complex]$  یک معادله خط به‌دست می‌آید که با محاسبه نسبت عرض از مبدأ به شیب این خط، می‌توان ثابت پیوندی (K) را محاسبه کرد [۱۴].

*ب: آزمایش دوم:* در این آزمایش نیاز به ثبت طیف نیست، فقط خواندن جذب‌ها در طول موج‌های ۲۸۰ و ۶۴۰ نانومتر کافی است. ولی دستگاه باید دو پرتویی باشد. هدف از انجام این آزمایش بررسی توانایی دنا‌تورکنندگی BSA توسط هر یک از کمپلکس‌های فلزی است. ابتدا به هر دو سل دستگاه UV-Vis، ۲ میلی‌لیتر محلول تریس بافر کار اضافه و توسط آن جذب دستگاه صفر شد. ۴۰۰ میکرولیتر محلول تریس بافر از سل نمونه توسط میکروپیپت برداشته و به همان مقدار محلول استوک BSA اضافه شد تا طی این عمل حجم محلول تغییر نکند. سپس محلول به آرامی یکنواخت شد و جذب آن در ۲۸۰ نانومتر ( $A_{280}$ )، طول موج بیشینه مربوط به BSA) و ۶۴۰ نانومتر ( $A_{640}$ )، طول موج سنجش کدورت احتمالی) ثبت و یادداشت شد. حال به هر دو سل نمونه و مرجع، ۱۵ میکرولیتر از محلول استوک کمپلکس اضافه و محتوی سل به آرامی هم‌زده و به مدت ۳ دقیقه در دمای مورد نظر (۲۹۶ و ۳۱۰ کلون) نگه داشته و سپس جذب آن خوانده و یادداشت شد. افزایش محلول کمپلکس با همین حجم (۱۵ میکرولیتر) و خواندن جذب‌ها تا جایی ادامه پیدا کرد تا تغییر در جذب در ناحیه ۲۸۰ نانومتر دیده نشود. از رسم مقادیر  $a(A_{280} - A_{640})$  (a عبارت است از ضریب رقت که مقدار آن از نسبت  $V_2/V_1$  به‌دست می‌آید)  $V_1$  و  $V_2$  به ترتیب حجم کل در هر مرحله و حجم اولیه می‌باشند) در برابر  $[L]$ ، نمودار سیگموئیدی (کاهشی یا افزایشی) را می‌توان مشاهده کرد. از این نمودارها می‌توان غلظت کمپلکس در نقطه میانی

نوارهایی با شدت متوسط تا قوی به ترتیب در محدوده  $1580-1416$   $\text{cm}^{-1}$  (شامل نوارهایی در اعداد موجی  $1416, 1453, 1558$  و  $1580$   $\text{cm}^{-1}$ ) برای bpy و در محدوده  $1617-1422$   $\text{cm}^{-1}$  (شامل نوارهایی در اعداد موجی  $1422, 1493, 1504, 1562, 1587$  و  $1617$   $\text{cm}^{-1}$ ) برای phen ظاهر شدند. این ارتعاشات در کمپلکس  $[\text{Cu}(\text{bpy})_2\text{Cl}]\text{Cl}$  در محدوده  $1650-1444$   $\text{cm}^{-1}$  (شامل نوارهایی در اعداد موجی  $1444, 1474, 1492, 1566, 1599$  و  $1650$   $\text{cm}^{-1}$ ) ظاهر شده‌اند که با الگوی طیف FT-IR این کمپلکس در منابع همخوانی دارد [۱۱]. در کمپلکس  $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{Cl}]\text{Cl}$  نوارهای مربوط به  $\nu(\text{C}=\text{C})$  و  $\nu(\text{C}=\text{N})$  آروماتیک در محدوده  $1625-1429$   $\text{cm}^{-1}$  (شامل نوارهایی در اعداد موجی  $1429, 1493, 1517, 1584, 1607$  و  $1625$   $\text{cm}^{-1}$ ) ظاهر شدند که برای این کمپلکس نیز الگوی مشاهده شده با الگوی طیف FT-IR این کمپلکس در منابع همخوانی دارد [۱۰، ۱۶، ۱۷]. برای کمپلکس  $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$  این ارتعاشات در محدوده  $1625-1426$   $\text{cm}^{-1}$  (شامل نوارهایی در اعداد موجی  $1426, 1444, 1474, 1494, 1517, 1567, 1599$  و  $1625$   $\text{cm}^{-1}$ ) مشاهده گردید. لازم به توضیح است که ارتعاشات کششی  $\nu(\text{C}=\text{C})$  و  $\nu(\text{C}=\text{N})$  آروماتیک مربوط به لیگاندهای bpy و phen قبل و بعد از کوئوردینه شدن به طور چشمگیری دستخوش تغییر قرار گرفته‌اند. این تغییرات شامل تغییر در الگوی نوارها و همچنین مکان و شدت نوارها است که نشان دهنده کوئوردینه شدن این لیگاندها از موقعیت N ایمنی خود به یون  $\text{Cu}(\text{II})$  می‌باشد و نیز مکان این ارتعاشات پس از کوئوردیناسیون به فرکانس‌های بیشتر جابجا شده است [۱۶]. ارتعاشات کششی C-H آروماتیک در لیگاندهای آزاد bpy و phen به ترتیب در محدوده  $3007-3086$  و  $3060$   $\text{cm}^{-1}$  ظاهر می‌شوند. این ارتعاشات در کمپلکس‌های  $[\text{Cu}(\text{bpy})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ ،  $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{Cl}]\text{Cl}$  و  $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$  به ترتیب در محدوده  $2977-3099$ ،  $2985$  و  $2984-3047$   $\text{cm}^{-1}$  مشاهده شدند. ارتعاشات خمشی C-H آروماتیک در لیگاندهای آزاد bpy و phen به ترتیب در  $757$  و  $739$   $\text{cm}^{-1}$  مشاهده می‌شوند. این ارتعاشات در کمپلکس‌های  $[\text{Cu}(\text{bpy})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ ،  $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{Cl}]\text{Cl}$  و  $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$  به ترتیب در محدوده  $775, 773$  و  $722-769$   $\text{cm}^{-1}$  ظاهر شدند. لازم به ذکر است که ارتعاشات کششی و خمشی C-H آروماتیک در این کمپلکس‌ها با الگوی طیف FT-IR کمپلکس‌های مربوطه در منابع همخوانی دارد [۱۰، ۱۱، ۱۶، ۱۷]. ارتعاشات کششی پیوندهای  $\text{Cu}-\text{Cl}$  و  $\text{Cu}-\text{N}$  در محدوده اسکن شده ( $400-400$   $\text{cm}^{-1}$ ) مشاهده نشدند که احتمالاً ناشی از محدودیت دستگاهی است.

انتقال در منحنی غیرطبیعی شدن BSA ( $L_{1/2}$ ) را با تکرار آزمایش در دو دمای ۲۹۶ و ۳۱۰ کلون به طور جداگانه محاسبه کرد. برای هر کمپلکس، یک مقدار ثابت است. به کمک مقادیر  $L_{1/2}$  می‌توان غلظتی از کمپلکس که باعث تبدیل نیمی از BSA ( $L_{1/2}$ ) موجود در محیط، از ساختار طبیعی به غیرطبیعی می‌شود را به دست آورد. در صورتی که کمپلکس در ساختار BSA تغییر حاصل نماید معمولاً منحنی دناتور سیگموئیدی (S-shaped) خواهد بود و باید یافته‌های تجربی به گونه‌ای باشد که سیگموئید کامل رسم شود زیرا منحنی کامل سیگموئیدی قابل تفسیر است.

### تعیین پارامترهای ترمودینامیکی

با استفاده از مقادیر ثابت تجمع پیوندی (K) به دست آمده در برهم‌کنش هر یک از کمپلکس‌ها با BSA و معادله‌های ۲ و ۳، پارامترهای ترمودینامیکی محاسبه می‌شوند.

$$\ln\left(\frac{K_2}{K_1}\right) = \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right) \left(\frac{\Delta H^\circ}{R}\right) \quad (2)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ = -RT \ln K \quad (3)$$

در معادله ۲،  $K_1$  و  $K_2$  مقادیر ثابت پیوندی در دماهای  $T_1$  و  $T_2$  است. همچنین در این دو معادله،  $R$ ،  $T$ ،  $\Delta H^\circ$ ،  $\Delta S^\circ$  و  $\Delta G^\circ$  به ترتیب عبارتند از: ثابت عمومی گازها ( $8.314 \text{ J}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ )، دما بر حسب کلون، تغییر آنتروپی، تغییر آنتالپی و تغییر انرژی آزاد گیبس استاندارد [۱۵].

### بحث و نتیجه‌گیری

#### شناسایی کمپلکس‌های $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ ، $[\text{Cu}(\text{bpy})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ و $[\text{Cu}(\text{bpy})(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$

همانطوری که مطرح شد، این کمپلکس‌ها بر اساس روش گزارش شده [۱۰، ۱۱] تهیه و بررسی ساختار آنها به کمک طیف‌سنجی‌های FT-IR و جذب الکترونی و همچنین روش هدایت سنجی مولی انجام و با منابع تطبیق داده شد. نتایج این مطالعات در ادامه ارائه شده است.

#### طیف FT-IR

طیف‌های مادون قرمز لیگاندهای آزاد ۲، ۳-بی‌پیریدین، ۱، ۱۰-فانترولین و همچنین طیف‌های سه کمپلکس سنتز شده در محدوده  $400-4000$   $\text{cm}^{-1}$  در محیط KBr ثبت شدند. طیف FT-IR این سه کمپلکس به طور عمده شامل نوارهای ارتعاشی لیگاندهای bpy و phen است که غالباً از نوع ارتعاشات کششی  $\nu(\text{C}=\text{C})$  و  $\nu(\text{C}=\text{N})$  آروماتیک می‌باشد. برای لیگاندهای آزاد این ارتعاشات به صورت

### طیف جذب الکترونی (UV-Vis)

می‌دانیم که BSA در ناحیه فوق بنفش یک نوار پهن در ۲۸۰ نانومتر دارد. حال اگر در اثر برهم کنش با هر یک از کمپلکس‌های فوق، تغییرات کنفورماسیونی BSA به گونه‌ای باشد که گروه‌های R آمینو اسیدها به نور UV رو باز شوند، جذب افزایش و اگر کمتر در معرض پرتوهای UV قرار بگیرند (از معرض نور مخفی شوند)، جذب کاهش می‌یابد. مطابق شکل ۲، با افزایش محلول هر یک از کمپلکس‌ها به محلول BSA، جذب کاهش نشان داد. افزایش محلول کمپلکس آنقدر ادامه یافت تا تغییر در جذب BSA مشاهده نگردد. یعنی کلیه جایگاه‌های واکنش‌پذیر BSA با کمپلکس مورد نظر اشباع گردد (پایین‌ترین طیف در طیف‌هایی که روی هم ثبت شده‌اند). با استفاده از یافته‌های جذبی و معادله ۱، از رسم  $1/A - A_0$  بر حسب  $1/[complex]$  (شکل ۳) ثابت تجمع پیوندی (K) برای هر سه کمپلکس در دماهای مختلف محاسبه و در جدول ۱ جمع‌آوری شده‌اند. این مقادیر با آنچه برای ترکیبات مشابه در منابع گزارش شده است در توافق می‌باشند [۲۳، ۲۲]. لازم به توضیح است: روند تغییرات K در برهم‌کنش این سه کمپلکس با BSA با یافته‌های ترمودینامیکی در توافق است. زیرا در فرآیند برهم‌کنش کمپلکس‌های  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(phen)(bpy)Cl]Cl$  با BSA که گرماگیر است، با افزایش دما K افزایش یافته است. حال آنکه در برهم‌کنش کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  که فرآیند گرمازا است با افزایش دما K کاهش نشان می‌دهد.

همچنین یافته‌های جدول ۱ نشان می‌دهد که در دمای K ۳۱۰ (دمای محیط فیزیولوژی) توالی مقدار K به صورت:  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl > [Cu(phen)(bpy)Cl]Cl > [Cu(phen)_2Cl]Cl$  می‌باشد. این توالی وابستگی مقدار K به تعداد حلقه‌های آروماتیک را نشان می‌دهد. زیرا در کمپلکس  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  تعداد حلقه‌های آروماتیک ۴، در کمپلکس  $[Cu(phen)(bpy)Cl]Cl$  ۵ و در کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  شش حلقه آروماتیک وجود دارد که تعداد حلقه‌ها تنها تفاوت بین این کمپلکس‌ها است. بنابراین به نظر می‌آید که با افزایش تعداد حلقه، مقدار K کاهش می‌یابد. به بیان دیگر، جایگاه‌های روی BSA پذیرای بهتری برای کمپلکس‌های با تعداد حلقه کمتر می‌باشند. اضافه می‌شود که مقادیر K در دمای K ۲۹۶ توالی معنی‌داری را نشان نمی‌دهند که ممکن است به دلیل طبیعت ترمودینامیکی متفاوت این ترکیبات باشد.

### غیرطبیعی کردن BSA با افزایش غلظت کمپلکس‌ها

در این آزمایش، مقادیر  $A_{۲۸۰} - A_{۶۶۰}$  را بایستی در ضریب رقت (a) که عبارت است از حجم محلول داخل سل بعد از هر تریب به حجم اولیه محلول داخل سل، ضرب نموده و مقادیر به‌دست آمده را

طیف‌های جذب الکترونی کمپلکس‌های سنتز شده در حلال اتانول در محدوده ۱۱۰۰-۲۰۰ nm ثبت شدند. در ناحیه UV، هر سه کمپلکس دارای نوار(های) پرشدت در ۳۲۰ nm هستند. این نوار برای کمپلکس  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  در ۳۱۰ nm، برای کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  در ۳۱۵ و ۳۲۵ nm (به صورت شانه) و برای کمپلکس  $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$  در ۳۲۰ و ۳۴۵ nm (به صورت شانه) ظاهر شدند. این نوارها به انتقالات درون لیگاندی لیگاندیهای bpy و phen کوئوردینه شده و یا انتقالات بار نسبت داده می‌شوند [۱۸]. همچنین برای این سه کمپلکس در ناحیه مرئی، دو نوار پهن کم‌شدت مشاهده شد. این دو نوار برای کمپلکس  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  در ۶۳۰ و ۹۸۰ nm، برای کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  در ۶۴۰ و ۹۶۵ nm و برای کمپلکس  $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$  در ۶۶۵ و ۹۸۵ nm ظاهر شدند. این نوارها به انتقالات میدان لیگاند ( $d \rightarrow d$ ) یون مس (II) آرایش  $3d^9$  نسبت داده می‌شوند که با هندسه دوهرمی با قاعده مثلث برای این یون همخوانی دارد [۱۹، ۲۰].

### هدایت الکتریکی کمپلکس‌ها

هدایت الکتریکی محلول آبی ( $10^{-4}$  مولار) سه کمپلکس سنتز شده اندازه‌گیری و با جایگزین کردن در معادله (۴)، هدایت مولی آن‌ها محاسبه گردید. مقدار این کمیت برای کمپلکس‌های  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$ ،  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$  به ترتیب ۱۲۳، ۱۱۸ و  $119 \text{ cm}^2 \cdot \text{Ohm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$  به‌دست آمد [۲۱].

$$\lambda (\text{cm}^2 \cdot \text{Ohm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}) =$$

$$\frac{(0.001 \times \text{تایت سل} \times (\text{هدایت کمپلکس} - \text{هدایت آب مقطر}))}{\text{غلظت کمپلکس} \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right)} \quad (۴)$$

مقایسه هدایت‌های مولی به‌دست آمده با محدوده هدایت مولی ترکیبات گزارش شده [۲۱] نشان می‌دهد که تعداد یون‌های موجود در محلول با هدایت مولی الکترولیت‌های ۱:۱ (کاتیون:آنیون) مطابقت دارند. این مقادیر ساختار پیشنهادی کمپلکس‌ها را پشتیبانی می‌کند.

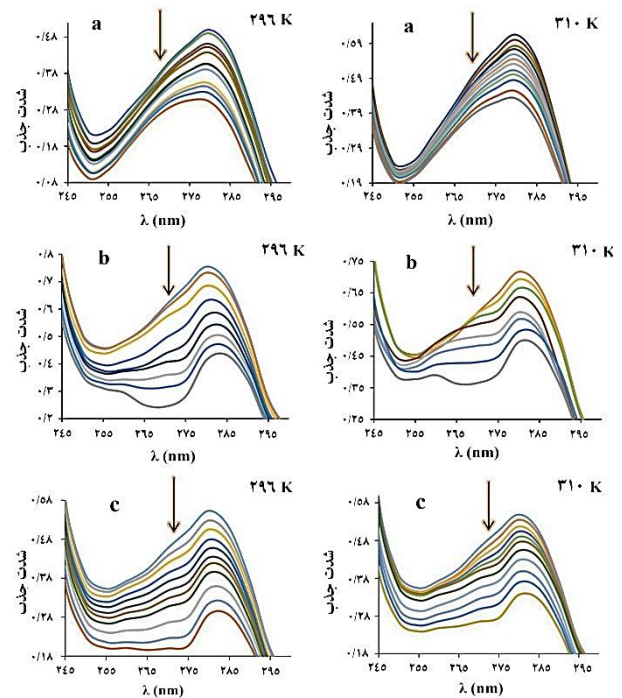
### مطالعه برهم کنش کمپلکس‌های $[Cu(phen)_2Cl]Cl$ ، $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$ و $[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl$ با آلبومین سرم گاوی (BSA) به کمک طیف سنجی جذب الکترونی

برهم‌کنش محلول این کمپلکس‌ها در غلظت  $10^{-4}$  مولار با BSA بر اساس روش گفته شده در بخش تجربی انجام شد. این بخش از مطالعات در این قسمت بحث و بررسی می‌شود:

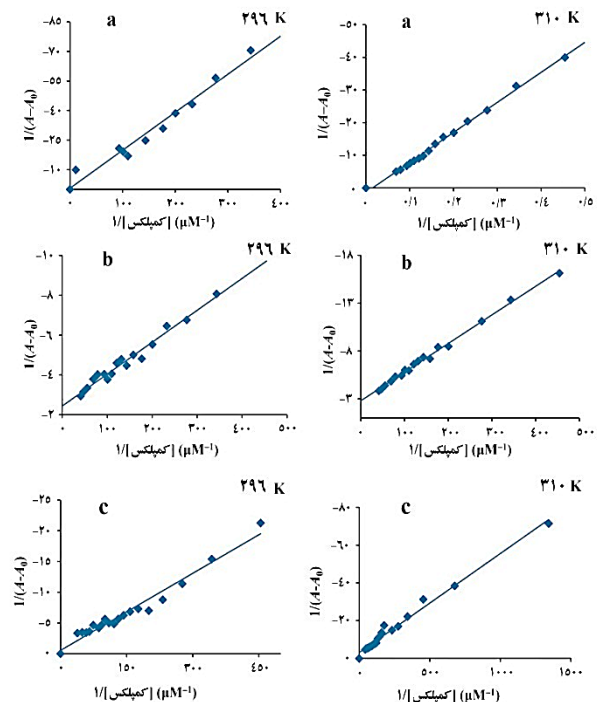
جدول ۱- یافته‌های مربوط به برهم‌کنش کمپلکس‌های سنتز شده با BSA برای تعیین ثابت پیوندی (K) و  $L_{1/2}$

کمپلکس	T (K)	K (M <sup>-1</sup> )	L <sub>1/2</sub> (μM)
[Cu(bpy) <sub>2</sub> Cl]Cl	۲۹۶	۳/۴۷ × ۱۰ <sup>۵</sup>	۶/۴
	۳۱۰	۶/۵۷ × ۱۰ <sup>۵</sup>	۷/۹
[Cu(phen) <sub>2</sub> Cl]Cl	۲۹۶	۶/۲۲ × ۱۰ <sup>۵</sup>	۳/۹
	۳۱۰	۱/۰۶ × ۱۰ <sup>۵</sup>	۵/۰
[Cu(bpy)(phen)Cl]Cl	۲۹۶	۲/۰۸ × ۱۰ <sup>۴</sup>	۶/۸
	۳۱۰	۱/۷۳ × ۱۰ <sup>۵</sup>	۷/۰

بر حسب غلظت کل کمپلکس [L]<sub>t</sub> رسم کنیم. عدم تغییرات شدید جذب در یک دمای معین نشان دهنده عدم غیرطبیعی شدن پروتئین در این دما می‌باشد. از طرفی، با اضافه کردن تدریجی محلول هر یک از کمپلکس‌ها در دو دمای ۲۹۶ و ۳۱۰ کلون، جذب‌ها کاهش نشان دادند که این به معنی غیرطبیعی شدن پروتئین در این دما می‌باشد. منحنی تغییرات جذب در برابر غلظت کل کمپلکس [L]<sub>t</sub> در این دو دما رسم شد. این منحنی‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است. در این منحنی‌ها،  $L_{1/2}$  غلظت کمپلکس در نقطه میانی ناحیه انتقال منحنی غیر طبیعی شدن BSA (یعنی ناحیه‌ای که تبدیل BSA از حالت طبیعی به حالت غیرطبیعی صورت می‌گیرد) را نشان می‌دهد. توسط پارامتر  $L_{1/2}$  غلظتی از کمپلکس که باعث می‌شود ۵۰ درصد از BSA موجود در محیط واکنش، از ساختار طبیعی به ساختار غیرطبیعی تبدیل شود را می‌توان محاسبه کرد. مقادیر  $L_{1/2}$  در دمای ۲۹۶ و ۳۱۰ کلون برای این کمپلکس‌ها در جدول ۱ گردآوری شدند. کوچک بودن مقادیر  $L_{1/2}$  نشان دهنده فعالیت بالای این کمپلکس‌ها است. یعنی BSA قادر است حتی در غلظت‌های بسیار پایین، با کمپلکس‌ها برهم‌کنش و آن‌ها را در محیط فیزیولوژی حمل نماید.  $L_{1/2}$  نقطه شروع بسیار مهمی در بحث فارماکولوژی یا داروسازی می‌باشد، زیرا در همین محدوده است که داروساز بایستی دوز مؤثر با عوارض جانبی کمتر را تعیین کند. بدیهی است هر چه مقدار دوز دارو کمتر باشد انتظار عوارض منفی آن در سیستم فیزیولوژی نیز کمتر است. همانطوری که جدول ۱ نشان می‌دهد توالی مقادیر  $L_{1/2}$  برای کمپلکس‌ها در دمای ۳۱۰ K (دمای سیستم فیزیولوژی) به صورت [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl < [Cu(bpy)(phen)Cl]Cl < [Cu(bpy)<sub>2</sub>Cl]Cl است که این توالی عکس آن چیزی است که بر اساس توالی مقادیر K (که در فوق بحث شد) می‌باشد. علت آن احتمالاً به این صورت است که ثابت تجمع (K) در مرحله ای که واکنش به تعادل رسیده محاسبه می‌شود و نه ضرورتاً در نیمه راه واکنش.



شکل ۲- طیف‌های جذب الکترونی در فرآیند تیتراسیون BSA با کمپلکس‌های: [Cu(bpy)(phen)Cl]Cl (c) و [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl (b) و [Cu(bpy)<sub>2</sub>Cl]Cl (a) در دو دمای ۲۹۶ K و ۳۱۰ K.



شکل ۳- نمودارهای  $1/(A-A_0)$  بر حسب  $1/[complex]$  در برهم‌کنش BSA با: [Cu(phen)(bpy)Cl]Cl (c) و [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl (b) و [Cu(bpy)<sub>2</sub>Cl]Cl (a) در دو دمای ۲۹۶ K و ۳۱۰ K.

جدول ۲- پارامترهای ترمودینامیکی سه کمپلکس سنتز شده در برهمکنش با BSA

کمپلکس	T (K)	$\Delta H^\circ$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S^\circ$ (kJ·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> )	$\Delta G^\circ$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )
[Cu(bpy) <sub>2</sub> Cl]Cl	۲۹۶	۳۴/۷۷	۰/۲۲۴	-۳۱/۴۰
	۳۱۰			-۳۴/۵۳
[Cu(phen) <sub>2</sub> Cl]Cl	۲۹۶	-۹۶/۴۳	-۰/۲۱۵	-۳۲/۸۳
	۳۱۰			-۲۹/۸۲
[Cu(phen)(bpy)Cl]Cl	۲۹۶	۱۱۵/۴۴	۰/۴۷۳	-۲۴/۴۷
	۳۱۰			-۳۱/۰۹

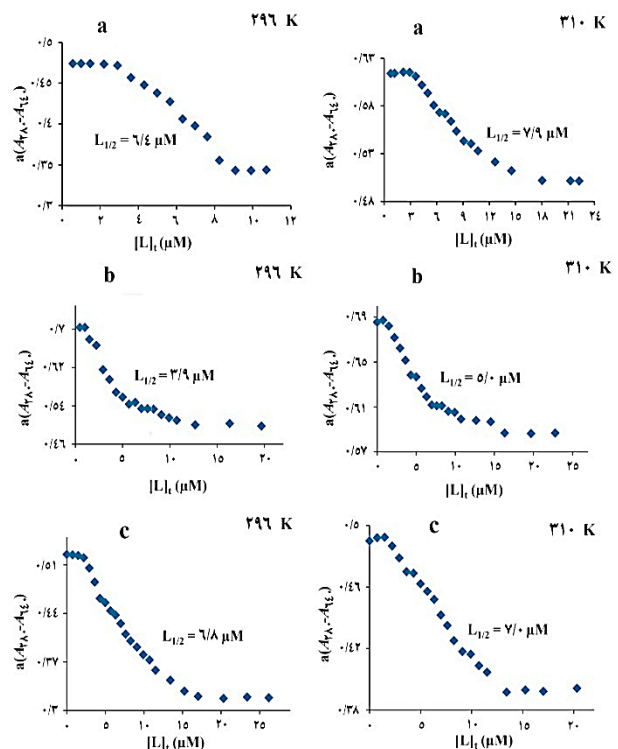
$$R = ۸/۳۱۴۴۷۲ \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$$

(۲) گرمازا بودن برهم کنش (آنتالپی محصولات کمتر از ترکیب شونده‌ها است) و گرماگیر بودن برهم کنش (آنتالپی محصولات بیشتر از واکنش دهنده‌ها است) را می‌توان به ترتیب از روی مقادیر منفی و مثبت  $\Delta H^\circ$  تخمین زد.

(۳) بی‌نظمی (پایداری) و نظم (ناپایداری) ماکرومولکول را به ترتیب می‌توان از روی مقادیر مثبت و منفی  $\Delta S^\circ$  تخمین زد.

در برهم کنش هر یک از کمپلکس‌های مورد مطالعه در این تحقیق با BSA، ابتدا K ثابت تجمع کمپلکس‌ها که در جدول ۱ درج گردیده است) به دست آمد. به کمک مقادیر این پارامتر در دو دمای ۲۹۶ و ۳۱۰ کلون و معادله‌های ۲ و ۳، پارامترهای ترمودینامیکی ( $\Delta G^\circ$ ،  $\Delta H^\circ$  و  $\Delta S^\circ$ ) محاسبه و در جدول ۲ گردآوری شده‌اند.

همانطوری که یافته‌های جدول ۲ نشان می‌دهد: (۱) منفی بودن مقادیر  $\Delta G^\circ$ ، خودبخودی بودن برهم کنش بین BSA با هر یک از سه کمپلکس را نشان می‌دهد، (۲) منفی بودن  $\Delta H^\circ$  برای کمپلکس [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl و مثبت بودن این پارامتر برای کمپلکس‌های [Cu(bpy)<sub>2</sub>Cl]Cl و [Cu(phen)(bpy)Cl]Cl به ترتیب نشان دهنده گرمازا و گرماگیر بودن این واکنش‌ها است و (۳) مثبت بودن  $\Delta S^\circ$  برای کمپلکس‌های [Cu(bpy)<sub>2</sub>Cl]Cl و [Cu(phen)(bpy)Cl]Cl و منفی بودن آن برای کمپلکس [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl به ترتیب نشان دهنده بی‌نظمی و نظم BSA در برهمکنش با کمپلکس‌ها می‌باشد. نکته شایان توجه در یافته‌های ترمودینامیکی این تحقیق، عدم تاثیر تعداد حلقه‌های آروماتیک بر علامت  $\Delta G^\circ$  (خودبخودی بودن) و وابستگی مقادیر  $\Delta H^\circ$  و  $\Delta S^\circ$  به تعداد حلقه‌ها است. بدین صورت که: مطابق جدول ۲، علائم مقادیر  $\Delta H^\circ$  و  $\Delta S^\circ$  در کمپلکس‌های [Cu(bpy)<sub>2</sub>Cl]Cl و [Cu(phen)(bpy)Cl]Cl که به ترتیب دارای ۴ و ۵ حلقه آروماتیک می‌باشند مثبت و در کمپلکس [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl با ۶ حلقه آروماتیک منفی شده است. در مورد  $\Delta H^\circ$ ، کمپلکس‌های دارای ۴ و ۵ حلقه آروماتیک به طریق گرماگیر و کمپلکس دارای ۶ حلقه به طریق گرمازا با BSA



شکل ۴- منحنی‌های سیگموئیدی غیر طبیعی شدن BSA در حضور: [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl (b)، [Cu(bpy)<sub>2</sub>Cl]Cl (a) و [Cu(phen)(bpy)Cl]Cl (c)

#### محاسبه و توصیف پارامترهای ترمودینامیکی در برهم کنش بین هر یک از کمپلکس‌های سنتز شده و BSA

از کاربرد پارامترهای ترمودینامیکی در بحث برهم کنش کمپلکس‌های معدنی با ماکرومولکول‌ها به روش جذب الکترونی، می‌توان به نتایج زیر دست یافت.

(۱) غیر خودبخودی بودن (پایداری ماکرومولکول در حالت طبیعی)، تعادل و خودبخودی بودن (پایداری ماکرومولکول در حالت غیر طبیعی) به ترتیب از روی مقادیر مثبت، صفر و منفی  $\Delta G^\circ$  قابل تخمین است.

ب) محدوده مقادیر به دست آمده برای ثابت برهمکنش هر یک از کمپلکس‌ها با BSA برهمکنش بین آن‌ها را تأیید می‌کند و نیز با ترکیبات گزارش شده در منابع مطابقت دارد.

ج) کوچک بودن مقادیر  $L_{1/2}$  (غلظتی از کمپلکس که باعث می‌شود ۵۰ درصد BSA موجود در محیط وارد واکنش شود) نشان‌دهنده فعالیت بالای این ترکیبات است. مقادیر این پارامتر در داروسازی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا این پارامتر با تعیین دوزی از دارو که عوارض جانبی آن اندک باشد، در ارتباط است.

د) بررسی پارامترهای ترمودینامیکی نوع پیوند بین کمپلکس‌های پلی‌پیریدیلی مورد مطالعه را هیدروفوب، هیدروژنی و واندروالس یا احتمالاً ترکیبی از این سه نشان می‌دهد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این تحقیق به خاطر پشتیبانی مالی، مساعدت و همکاری‌های لازم از دانشگاه سیستان و بلوچستان قدردانی می‌کنند.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۵

برهمکنش دارند. در خصوص  $\Delta S^\circ$ ، برهمکنش کمپلکس‌هایی که دارای ۴ و ۵ حلقه آروماتیک هستند پیش‌برنده با آنتروپی ( $\Delta S^\circ$  مثبت)، حال آنکه کمپلکس با ۶ حلقه آروماتیک دارای  $\Delta S^\circ$  منفی است. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که درهمکنش کمپلکس‌های با ۴ و ۵ حلقه آروماتیک با BSA نسبت به کمپلکس با ۶ حلقه آروماتیک متفاوت است. این تفاوت خود را در نتایج حاصل از مطالعات ترمودینامیکی نشان می‌دهد. زیرا کمپلکس‌های  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(phen)(bpy)Cl]Cl$  دارای  $\Delta H^\circ$  و  $\Delta S^\circ$  مثبت (یعنی برهمکنش هیدروفوب) در حالی که کمپلکس  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  که  $\Delta H^\circ$  و  $\Delta S^\circ$  منفی دارد احتمالاً برهمکنش آن از نوع پیوند هیدروژنی و واندروالس می‌باشد [۲۴].

### نتیجه گیری

سه کمپلکس پلی‌پیریدیلی محلول در آب از مس (II) با فرمول‌های  $[Cu(phen)(bpy)Cl]Cl$ ،  $[Cu(phen)_2Cl]Cl$  و  $[Cu(bpy)_2Cl]Cl$  به روش‌های ذکر شده در منابع تهیه و شناسایی آن‌ها به کمک طیف‌سنجی‌های FT-IR و جذب الکترونی و روش هدایت‌سنجی انجام و نتایج با منابع مربوطه مقایسه شد. در برهمکنش هر یک از این کمپلکس‌ها با BSA، نتایج مشروحه زیر حاصل گردید.

الف) کاهش در طیف جذب الکترونی محلول BSA در طول موج ۲۸۰ نانومتر در اثر افزایش محلول هر یک از کمپلکس‌ها نشان‌دهنده برهمکنش بین آن‌هاست.

### مراجع

- [1] Loehrer P.J., Einhorn L.H., *Cisplatin*, *Ann. Intern. Med.*, **100**(5): 704–713 (1984).
- [2] Dasari S., Tchounwou P.B., *Cisplatin in Cancer Therapy: Molecular Mechanisms of Action*, *Eur. J. Pharmacol.* **740**: 364–378 (2014).
- [3] Psalti I.S.M., Ward R.J., Crichton R.R., Lallemand F., "Biological Inorganic Chemistry: An Introduction", Elsevier Science Limited, (2008).
- [4] Constable E.C., Housecroft C.E., *The Early Years of 2,2'-Bipyridine-a Ligand in Its Own Lifetime*, *Molecules*, **24**(21): 3951 (2019).
- [5] Liu H., Shi X., Xu M., Li Z., Huang L., Bai D., Zeng Z., *Transition Metal Complexes of 2,6-di((Phenazonyl-4-Imino)Methyl)-4-Methylphenol: Structure and Biological Evaluation*, *Eur. J. Med. Chem.*, **46**(5): 1638–1647 (2011).
- [6] Sanna D., Buglyó P., Tomaz A.I., Pessoa J.C., Borović S., Micera G., Garribba E., *V<sup>IV</sup> O and Cu<sup>II</sup> Complexation by Ligands Based on Pyridine Nitrogen Donors*, *Dalton Trans.*, **41**(41): 12824–12838 (2012).



- [7] Sleep D., Belfield G.P., Goodey A.R., *The Secretion of Human Serum Albumin from the Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* Using Five Different Leader Sequences*, *Biotechnology*, **8(1)**: 42–46 (1990).
- [8] Ni Y., Lin D., Kokot S., *Synchronous Fluorescence and UV–Vis Spectrometric Study of the Competitive Interaction of Chlorpromazine Hydrochloride and Neutral Red with DNA Using Chemometrics Approaches*, *Talanta*, **65(5)**: 1295–1302 (2005).
- [9] Chakrabarty A., Mallick A., Haldar B., Das P., Chattopadhyay N., *Binding Interaction of a Biological Photosensitizer with Serum Albumins: A Biophysical Study*, *Biomacromolecules*, **8(3)**: 920–927 (2007).
- [10] Detoni C., Carvalho N.M.F., Aranda D.A.G., Louis B., Antunes O.A.C., *Cyclohexane and Toluene Oxidation Catalyzed by 1,10-Phenanthroline Cu(II) Complexes*, *Appl. Catal. A-Gen.*, **365(2)**: 281–286 (2009).
- [11] Canhota F.P., Salomão G.C., Carvalho N.M.F., Antunes O.A.C., *Cyclohexane Oxidation Catalyzed by 2,2'-Bipyridil Cu(II) Complexes*, *Catal. Commun.*, **9(1)**: 182–185 (2008).
- [12] Stephens F.S., Tucker P.A., *Crystal and Molecular Structure of Chlorobis (2,2'-Bipyridyl) Copper (II) Chloride Hexahydrate*, *J. Chem. Soc. Dalton*, **21**: 2293–2297 (1973).
- [13] Murphy G., Nagle P., Murphy B., Hathaway B., *Crystal Structures, Electronic Properties and Structural Pathways of Four [Cu(Phen)<sub>2</sub>Cl][Y] Complexes (Phen = 1,10-Phenanthroline; Y = BF<sub>4</sub><sup>-</sup>·0.5H<sub>2</sub>O, PF<sub>6</sub><sup>-</sup>, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>·H<sub>2</sub>O or BPh<sub>4</sub><sup>-</sup>)*, *J. Chem. Soc. Dalton*, **15**: 2645–2652 (1997).
- [14] Sohn J.R., Lee, S. II, *Adsorption Study of Acetylacetone on Cation-Exchanged Montmorillonite by Infrared Spectroscopy*, *Langmuir*, **16(11)**: 5024–5028 (2000).
- [15] Chi Z., Liu R., *Phenotypic Characterization of the Binding of Tetracycline to Human Serum Albumin*, *Biomacromolecules*, **12(1)**: 203–209 (2011).
- [16] Campos-Vallette M.M., Clavijo R.E., Mendizabal F., Zamudio W., Baraona R., Diaz G., *Infrared Spectrum of the Bis-(1,10-Phenanthroline) Cu(I) and Cu(II) Perchlorate Complexes*, *Vib. Spectrosc.*, **12(1)**: 37–44 (1996).
- [17] Onawumi O.O., Adekunle F.A., Ibrahim A.O., Rajasekharan M. V, Odunola O.A., *Synthesis, Characterization, and Crystal Structures of [Cu(phen)<sub>2</sub>Cl]Cl·6.5H<sub>2</sub>O and [Cu(phen)<sub>2</sub>Br]Br*, *Synth. React. Inorg. M.*, **40(2)**: 78–83 (2010).
- [18] Kim Y., Jeong J.H., Kang M., *Rapid Synthesis of Bis(2,2'-Bipyridine)Nitratocopper (II) Nitrate Using a Hydrothermal Method and Its Application to Dye-Sensitized Solar Cells*, *Inorg. Chim. Acta.*, **365(1)**: 400–407 (2011).
- [19] Abdi K., Hadadzadeh H., Weil M., Salimi M., *Mononuclear Copper (II) Complex with Terpyridine and an Extended Phenanthroline Base, [Cu(tpy)(dppz)]<sup>2+</sup>: Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding and Cytotoxicity Activity*, *Polyhedron*, **31(1)**: 638–648 (2012).
- [20] Kashanian S., Khodaei M.M., Roshanfekar H., Shahabadi N., Rezvani A., Mansouri G., *DNA Binding, DNA Cleavage, and Cytotoxicity Studies of Two New Copper (II) Complexes*, *DNA Cell Biol.*, **30(5)**: 287–296 (2011).

- [21] Kauffman G.B., "[Synthesis and Technique in Inorganic Chemistry \(Angelici, Robert J.\)](#)", ACS Publications (1970).
- [22] Jain S., Bhar K., Kumar S., Bandyopadhyaya S., Tapryal S., Mandal C.C., Sharma A.K., [Homo- and Heteroleptic Trimethoxy Terpyridine–Cu\(II\) Complexes: Synthesis, Characterization, DNA/BSA Binding, DNA Cleavage and Cytotoxicity Studies](#), Dalton T., **49(13)**: 4100–4113 (2020).
- [23] Vignesh G., Arunachalam S., Vignesh S., James R.A., [BSA Binding and Antimicrobial Studies of Branched Polyethyleneimine–Copper\(II\) Bipyridine/Phenanthroline Complexes](#), Spectrochim Acta A., **96**: 108–116 (2012).
- [24] Ross P.D., Subramanian S., [Thermodynamics of Protein Association Reactions: Forces Contributing to Stability](#), *Biochemistry*, **20(11)**: 3096–3102 (1981).