

بررسی برهم کنش کمپلکس ضد تومور ۲ و ۳-بی پیریدین هگزیل گلايسیناتوپالادیوم (II) نیترات با سرم آلبومین

حسن منصوری ترشیزی^{۱*}، سمیرا جهانگیری^۲، محبوبه اسلامی مقدم^۳، مریم سعیدی فر^۴، علی حیدری^۵

- ۱- استاد شیمی معدنی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
- ۲- کارشناس ارشد شیمی معدنی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
- ۳- استادیار شیمی معدنی، مرکز تحقیقات شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران
- ۴- استادیار شیمی معدنی، دانشکده تکنولوژی نانو و مواد پیشرفته، مرکز تحقیقات انرژی مواد، کرج، ایران
- ۵- دانشجوی دکتری شیمی معدنی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

دریافت: فروردین ۱۳۹۶، بازنگری: اردیبهشت ۱۳۹۶، پذیرش: خرداد ۱۳۹۶

چکیده: کمپلکس جدید "۲ و ۳-بی پیریدین هگزیل گلايسیناتوپالادیوم (II) نیترات" از واکنش دی آکو ۲ و ۳-بی پیریدین پالادیوم (II) نیترات با محلول نمک سدیم هگزیل گلايسینات سنتز شد. این کمپلکس با روش‌های رسانی سنجی، تجزیه عنصری و روش‌های طیف سنجی UV-Vis، FT-IR و ¹H-NMR شناسایی شد. برهم کنش این کمپلکس با پروتئین سرم آلبومین گاوی با روش‌های طیف سنجی UV-Vis در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین و همچنین، کالوریمتری در دمای ۳۲۰ کلوین در محلول تریس بافر در pH برابر ۷ بررسی شد. این کمپلکس قادر است پروتئین را با یک فرایند متعادل و مثبت (برهم کنش یک مولکول با BSA باعث تسهیل برهم کنش مولکول بعدی می‌شود) غیرطبیعی کند. مقادیر $L_{1/2}$ (غلظت کمپلکس در نقطه میانی انتقال پروتئین از صورت بندی طبیعی به غیرطبیعی) در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین معادل ۰.۳ و ۰.۲۶ میلی مولار به دست آمد که بسیار پایین است. همچنین، در این مطالعه عامل‌های پیوندی g (تعداد جایگاه پیوندی)، K (ثابت تجمع پیوندی)، n (ضریب هیل که نشان دهنده تعاونی سامانه است) و m (مقدار توانایی کمپلکس فلزی برای غیرطبیعی کردن BSA) در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین هستند. همچنین، عامل‌های ترمودینامیکی $\Delta G_{(H_2O)}^\circ$ (پایداری ساختار پروتئین در عدم حضور کمپلکس فلزی) و $\Delta H_{(H_2O)}^\circ$ (گرما لازم برای غیرطبیعی شدن پروتئین در عدم حضور کمپلکس فلزی) به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: کمپلکس پالادیوم (II)، آلبومین سرم گاوی، عامل‌های پیوندی، عامل‌های ترمودینامیکی

مقدمه

اسکواموس، و انواع سارکوما استفاده می‌شود [۲]. به علت عوارض جانبی مشاهده شده در این دارو [۳] و حلالیت ضعیف آن در آب، مطالعات برای حل این مشکلات ادامه داشته است. در این زمینه کمپلکس‌هایی هم‌خانواده با سیس پلاتین و آنالوگ‌های پالادیومی آن‌ها تهیه و مطالعه شده‌اند. زیرا شیمی پالادیوم مشابه

در اواخر دهه ۱۹۶۰، کمپلکسی از پلاتین با فرمول $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ و نام تجاری سیس پلاتین برای نخستین بار به‌عنوان یک داروی ضدسرطان وارد بازار شد [۱]. این دارو به‌عنوان یک عامل ضدسرطان برای سرطان‌های بیضه، تخمدان،

در این زمینه کمپلکس جدید ۲ و ۲'-بی‌پیریدین هگزیل گلاسیسیناتوپالادیم (II) نیترات (شکل ۱) طراحی، سنتز و شناسایی شد. در این ترکیب، هر دو لیگاند ۲ و ۲'-بی‌پیریدین و مشتق اسید آمینه گلاسیسین به صورت دودندانه به یون پالادیم کوئوردینه شده‌اند. این شیوه کوئوردینه شدن باعث پایداری سینتیکی و ترمودینامیکی کافی می‌شود به طوری که کمپلکس تا قبل از رسیدن به هدف (تومور) دچار تغییرات ساختاری نشود. در این مولکول سه بخش بارز دیده می‌شود: الف) رشته هیدروکربنی که برقراری پیوند چربی‌دوست با بخش‌های آبگریز درشت مولکول‌های زیستی را امکان‌پذیر می‌کند. ب) یون فلز مرکزی که استخلاف موقت بین لیگاندهای متصل به آن و گروه‌های عاملی روی درشت‌مولکول‌ها مانند $-SH$ ، NH_2 و $-COOH$ و غیره را فراهم می‌سازد. در واقع یون فلز مرکزی قادر است مانند یون فلز موجود در جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها عمل کرده و واکنش‌های متعددی را در سلول سرطانی کاتالیز کند. در خیلی مواقع فراورده این واکنش‌ها سمی بوده و ممکن است باعث مرگ سلول سرطانی شود. ج) بخش آروماتیک مولکول که در این بخش دو حلقه آروماتیک مسطح وجود دارند که از آن طریق مولکول می‌تواند برهم‌کنش π - انباشته^۲ داشته باشد. برای مثال بین زوج بازهای اسیدهای نوکلئیک اینترکیلیت^۴ شود.

با توجه به این که مطالعات ضد تومور و برهم‌کنش کمپلکس پالادیم یادشده با DNA انجام و نتیجه‌های قابل توجهی از این ترکیب و ترکیبات هم‌خانواده با آن را مشاهده شده بود [۱۸]، در این پژوهش، مطالعات برهم‌کنش این کمپلکس با پروتئین BSA را نیز انجام شد. گزارش‌های بسیار کمی از این نوع مطالعات منتشر شده است. افزون بر آن، برهم‌کنش کمپلکس‌های ضدتومور با BSA راه را برای پیدا کردن علت عوارض جانبی آن‌ها هموار می‌کند. زیرا علت عوارض جانبی تعداد زیادی از داروها، برهم‌کنش آن‌ها با پروتئین‌ها و آنزیم‌های موجود در سامانه‌های فیزیولوژی است. این مطالعات با روش‌های طیف‌سنجی در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین و کالوریمتری تیتراسیون هم‌دما در دمای ۳۲۰ کلوین انجام شد.

شیمی پلاتین است. مطالعات نشان داده است که علت ضدتومور بودن این کمپلکس‌ها برهم‌کنش آن‌ها با DNA سلول سرطانی و جلوگیری از همانندسازی DNA سلول به دلیل تغییرات صورت‌بندی آن است [۴ تا ۵].

یکی از راه‌های کاهش عوارض جانبی، استفاده از آمینواسیدها به‌عنوان لیگاند متصل به فلز است. تعداد زیادی کمپلکس‌های فلزی پلاتینیوم و پالادیم محلول در آب با اسیدهای آمینه ضروری گزارش شده است [۶ تا ۱۱]. این کمپلکس‌ها فعالیت ضد سرطان قابل‌مقایسه یا بیشتری نسبت به سیس پلاتین نشان دادند. همچنین، اظهار شده است که کمپلکس‌های پالادیم برای درمان تومورهای معده و روده، که در آنجا سیس پلاتین مؤثر نیست، مفیدند [۱۲]. افزون بر این، تعویض لیگاند کلر در کمپلکس سیس پلاتین با مشتقات اسیدهای آمینه که در سامانه‌های زیستی قابل یافت است، نه تنها عوارض جانبی را کاهش داده، بلکه باعث افزایش غلظت دارو در داخل سلول سرطان و افزایش فعالیت‌های ضدتومور آن می‌شود [۱۳].

یکی از حوزه‌های پژوهشی جالب‌توجه در علوم زیستی، شیمی و پزشکی بالینی، تعامل بین دارو و درشت مولکول‌های زیستی، به‌ویژه پروتئین‌های پلاسما است [۱۴]. مطالعات برهم‌کنش بین مولکول‌های شیمیایی و آلبومین می‌تواند به‌عنوان مدلی برای یافتن بینش بنیادی در زمینه برهم‌کنش‌های دارو و پروتئین در نظر گرفته شود. از طرفی، محلول‌ترین پروتئین موجود در خون، سرم آلبومین است. نقش این پروتئین در سامانه‌های فیزیولوژی بسیار زیاد و با اهمیت است. سرم آلبومین قادر است به‌صورت غیر ویژه با بیشتر هورمون‌های استروئیدی آب‌گریز، هیمین $(C_{34}H_{32}N_4O_{11}FeCl)$ و اسیدهای چرب برهم‌کنش ضعیف داشته و آن‌ها را یک‌کش کند [۱۵]. سرم آلبومین گاوی، BSA^۱، (به‌عنوان نمونه‌ای از آلبومین پستانداران) به‌طور گسترده به دلیل پایداری، ارزان بودن و بیشترین شباهت به سرم آلبومین انسان (HSA)^۲ در بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۶ تا ۱۷].

1. Bovine Serom Albumine

2. Human Serom Albumine

3. π -stacking

4. Intercalation

بخش تجربی

مواد

تبخیر شد و سپس در استونیتریل حل و با کاغذ واتمن ۴۲ صاف شد. محلول زیر صافی تحت نفوذ دی اتیل اتر قرار گرفت تا بلورها به دست آید. بلورهای به دست آمده در دی کلرومتان هم زده شد. قسمت نامحلول در دی کلرومتان دوباره در استونیتریل حل و اتر دیفیوژن شد. پس از چند روز بلورهای کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ تشکیل شد. فراورده به دست آمده ۰٫۲۹۰ گرم و بازده واکنش ۲۰٪ بود.

روش انجام آزمایش‌های مربوط به برهم‌کنش کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ و پروتئین BSA روش غیرطبیعی کردن پروتئین BSA در حضور کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

به هر یک از دو سل نمونه و مرجع ۱٫۸ میلی لیتر بافر تریس افزوده و جذب دستگاه صفر شد. سپس سل نمونه با ۱٫۸ میلی لیتر محلول پروتئین BSA با غلظت ۰٫۷ میلی گرم بر میلی لیتر پر و جذب آن در طول موج ۲۸۰ نانومتر (برای پروتئین BSA) و ۶۴۰ نانومتر (برای تعیین مقدار کدورت در محتویات سل) ثبت شد. سپس به هر دو سل نمونه و مرجع، ۲۵ میکرولیتر از محلول کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ با غلظت $10^{-3} \times 1.3$ مولار افزوده و پس از گذشت ۲ دقیقه در ۳۱۰ کلون جذب آن در دو طول موج مذکور ثبت شد. افزایش محلول کمپلکس با همین حجم آن قدر تکرار شد تا تفاوت جذب‌ها یکسان شود. برای حذف اثر رقیق شدن پروتئین BSA بر تغییرات جذب، جذب در هر مرحله در ضرب رقت (حجم فعلی سل به حجم اولیه سل) ضرب شد. در نهایت منحنی جذب پروتئین BSA در مقابل غلظت‌های متفاوت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ رسم شد. این آزمایش به طور جداگانه در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلون انجام شد.

روش تیتراسیون کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ توسط پروتئین BSA

سه سری هشت‌تایی لوله آزمایش از ۱ تا ۸ آماده شد. الف) در سری اول به هر لوله ۰٫۳ میلی لیتر محلول کمپلکس

سدیم بیکربنات و حلال‌های استونیتریل، دی کلرومتان و اتر از شرکت مرک آلمان خریداری شد. در تمام آزمایش‌ها آب دو بار تقطیر استفاده شد. کمپلکس فلزی $[Pd(bpy)(H_2O)_2](NO_3)_2$ و لیگاند Hex-gly.HCl به عنوان پیش ماده به روشی که در گذشته گزارش کردیم تهیه شد [۱۸]. پروتئین سرم گاوی (BSA) با جرم مولکولی متوسط ۶۷۰۰۰ دالتون از شرکت Sigma و بافر (تریس هیدروکسی متیل آمینو متان) از شرکت آلدیج خریداری شد.

لوازم و دستگاه‌ها

طیف فروسرخ کمپلکس‌ها به صورت قرص KBR در گستره ۴۰۰ تا 4000 cm^{-1} با دستگاه FT-IR (طیف سنجی تبدیل فوری)، شرکت شیمادزو، مدل ۴۶۰ ثبت شد. طیف رزونانس مغناطیسی هسته کمپلکس با دستگاه FT-NMR با قدرت ۴۰۰ MHz با استفاده از استاندارد داخلی تترامیل سیلان ثبت شد. طیف جذب الکترونی با دستگاه UV-Vis شرکت جاسکو، مدل ۸۵۰، رسانایی الکتریکی مولی کمپلکس با دستگاه رساناسنج WTW، F200 و تجزیه عنصری ترکیب با دستگاه تجزیه‌گر عنصری Herause CHNO-RAPID انجام شد. آزمایش میکروکالوریمتری توسط دستگاه میکروکالوریمتری تیتراسیونی هم‌دم (Thermal activity monitor 2277, Thermometric, Sweden) انجام شد.

روش‌ها

روش سنتز کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

۰٫۵۸۶ گرم (۳ میلی مول) لیگاند Hex-gly.HCl با ۰٫۵۰۴ گرم (۶ میلی مول) سدیم بیکربنات در ۳۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر ترکیب شدند. پس از تشکیل نمک هگزیل گلاسیسین، ۰٫۱۴۵ گرم (۳ میلی مول) $[Pd(bpy)(H_2O)_2](NO_3)_2$ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده شد. محلول زرد شفاف به دست آمده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد

1. Fourier Transform Infrared spectroscopy

2. Fourier Transfer Nuclear Magnetic Resonance

برای تکمیل برهم‌کنش نگهداری شد. سپس جذب هر کدام در بیشترین طول موج کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ (۳۱۴ نانومتر) ثبت شد. در این مرحله نیز مقادیر ΔA همانند آزمایش قبل محاسبه شد. سپس غلظت کمپلکس پیوند شده به پروتئین BSA، $[L]_b$ ، در هر مجموعه از معادله $[L]_b = \Delta A \times [L]_f / \Delta A_{max}$ که در آن $[L]_f$ غلظت کل کمپلکس در هر مجموعه برحسب میلی‌مولار و ΔA_{max} از آزمایش قبل است، به‌دست آمد. همچنین، $[L]_f$ غلظت کمپلکس آزاد در هر مجموعه، از معادله $[L]_f - [L]_b = \Delta A_{max} / [L]_f - [L]_b$ به‌دست آمد. از طرفی اسکاچرد \bar{v} تجربی را به‌صورت معادله $[L]_b \bar{v} = [BSA]_t$ تعریف کرد. با رسم نمودار مقادیر $[L]_f / \bar{v}$ برحسب مقادیر تجربی \bar{v} ، نمودار اسکاچارد تجربی به‌دست آمد [۱۹]. از روی نوع نمودار می‌توان به طبیعت برهم‌کنش پی برد. به این صورت که اگر گودی نمودار رو به پایین باشد، نشان‌دهنده این است که پیوند کمپلکس به یک جایگاه در پروتئین BSA، تمایل جایگاه‌های دیگر برای پیوند شدن را کاهش می‌دهد (ضد متعاون)، گودی رو به بالا، افزایش می‌دهد (متعاون) و خط راست، تغییری ایجاد نمی‌کند (غیرمتعاون).

با توجه به اهمیت \bar{v} و در ادامه مطالعات فوق، هیل [۲۲] وابستگی \bar{v} را به عامل‌های پیوندی متعدد در نظر گرفت و معادله معروف خود را به‌صورت $\bar{v} = g(K[L]_f)^n / (1 + (K[L]_f)^n)$ اثبات کرد. مقادیر \bar{v} در نمودار اسکاچارد مقادیر تجربی و مقادیر \bar{v} به‌دست آمده از معادله هیل مقادیر نظری می‌باشند (بدیهی است که هرچه این مقادیر همخوانی بیشتری داشته باشند، یکدیگر را بیشتر تأیید کرده یعنی نتایج تجربی ما صحیح‌ترند). در معادله هیل، n ضریب هیل، K ثابت پیوندی کمپلکس به BSA و g تعداد جایگاه‌های پیوندی است. ضریب هیل معرف کیفی مقدار تعاونی است. یعنی $n > 1$ ، سامانه متعاون، $n < 1$ ، سامانه ضد متعاون و $n = 1$ سامانه غیرمتعاون است. سپس با جایگزین کردن مقادیر تجربی \bar{v} و $[L]_f$ در معادله هیل معادلاتی شامل سه مجهول n ، K و g به‌دست آمد که با استفاده از نرم‌افزار یوریکا^۱ حل شد. این مقادیر، مقادیر نظری n ، K و g است. حال با قرار دادن مجدد آن‌ها و مقادیر $[L]_f$ در معادله هیل، مقادیر نظری \bar{v} به‌دست آمد که با مقادیر \bar{v} تجربی قابل مقایسه است. با رسم

$[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ با غلظت 7.4×10^{-4} مولار و ۲/۷ میلی‌لیتر بافر افزوده شد. ب) در سری دوم به ترتیب ۰/۵۲، ۰/۲۷، ۰/۰۷۷، ۰/۰۲، ۰/۱۲۷، ۰/۱۵۲، ۰/۱۷۷ و ۲/۰۲۷ میلی‌لیتر محلول پروتئین BSA با غلظت ۰/۸۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به لوله‌ها افزوده و تمام لوله‌ها با بافر به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. ج) در سری سوم مقدار پروتئین BSA همانند سری دوم با این تفاوت که به تمام لوله‌ها ۰/۳ میلی‌لیتر محلول کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ افزوده و سپس با بافر به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانیده شد. در لوله‌ها مسدود و به مدت ۳۰ دقیقه، در دمای ۳۱۰ کلون، برای تکمیل برهم‌کنش نگهداری شد. سپس جذب آن‌ها (A) در بیشترین طول موج کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ (۳۱۴ نانومتر) ثبت شد. تغییرات جذب (ΔA) برای لوله‌های هم شماره از سه سری، با استفاده از معادله $\Delta A_{A+B+C} = \Delta A_{A+B} + \Delta A_{A+C} + \Delta A_{B+C} / \Delta A$ برحسب $[BSA] / 1$ رسم شد. از برونیایی نمودار خطی (محل تقاطع نمودار با محور y)، ΔA_{max} (بیشترین جذب زمانی که بیشترین کمپلکس فلزی به پروتئین BSA پیوند شده یا جایگاه‌های پروتئین BSA از کمپلکس اشباع شده‌اند) به‌دست آمد. این آزمایش در دمای ۳۲۰ کلون تکرار شد.

روش تیتراسیون BSA توسط کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در این آزمایش نیز سه سری هشت‌تایی لوله آزمایش از ۱ تا ۸ تهیه شد. الف) در سری اول به هر لوله ۰/۸ میلی‌لیتر محلول پروتئین BSA با غلظت ۰/۸۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر افزوده و حجم آن با بافر به ۶ میلی‌لیتر رسانیده شد. ب) در سری دوم به ترتیب ۰/۰۸، ۰/۱۷، ۰/۰۲۶، ۰/۰۳۵، ۰/۰۴۴، ۰/۰۵۳، ۰/۰۶۲ و ۰/۰۸ میلی‌لیتر از محلول کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ با غلظت 7.5×10^{-4} مولار افزوده و حجم آن توسط بافر به ۶ میلی‌لیتر رسانده شد. ج) در سری سوم مقدار محلول کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ همانند سری دوم با این تفاوت که به تمام لوله‌ها ۰/۸ میلی‌لیتر محلول پروتئین BSA افزوده سپس حجم آن‌ها با بافر به ۶ میلی‌لیتر رسانیده شد. در لوله‌ها مسدود و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۱۰ کلون،

نمودار $[L]_f \bar{v}$ برحسب مقادیر \bar{v} نظری نمودار اسکاچارد نظری نیز به دست می آید. این دو نمودار (شکل ۶) یکدیگر را تأیید می کنند. این آزمایش در دمای ۳۲۰ کلوین تکرار شد.

روش کالوریمتری تیتراسیون هم‌دم

در این آزمایش ظرف تیتراسیون، که یک محفظه استیل است، با ۲ میلی لیتر محلول $10^{-3} \times 1/77$ میلی مولار پروتئین BSA پر شد. با استفاده از یک سوزن تزریقی متصل به یک سرنگ که توسط کامپیوتر کنترل می شد، در هر ۵۰ دقیقه ۲۰ میکرولیتر از محلول ۲ میلی مولار کمپلکس پالادیم (II) به درون محلول پروتئین BSA تزریق شد. گرمای به دست آمده از تزریق (که به وسیله دستگاه نشان داده می شد) یادداشت شد. این گرمای برهم کنش کمپلکس BSA و رقیق شدن کمپلکس پالادیم (II) در محلول پروتئین BSA با (Q_1) نشان داده می شود. گرمای به دست آمده از رقیق شدن کمپلکس نیز با تکرار آزمایش در غیاب پروتئین BSA اندازه گیری و ثبت و با (Q_2) نشان داده می شود. از آنتالپی رقیق شدن پروتئین BSA به دلیل کوچک بودن صرف نظر شد. با استفاده از مقادیر ثبت شده، گرمای خالص برهم کنش کمپلکس-پروتئین از معادله $\delta Q_{net} = Q_1 - Q_2$ محاسبه شد [۲۰ تا ۲۱]. با استفاده از معادله $10 \cdot \Delta H = -\delta Q_{net} \left(\frac{M}{m}\right) \times 10^{-6}$ که در آن M جرم مولکولی پروتئین (۶۷۰۰۰ دالتون) و m جرم پروتئین داخل سل $(10 \cdot 23 \times 10^{-3} g)$ است، ΔH محاسبه شد. سپس با قرار دادن مقادیر v تجربی که از معادله هیل به دست آمد در معادله $\Delta H_v = \frac{\Delta H}{v}$ مقادیر ΔH_v به دست آمد. با استفاده از معادله $[L]_f = [L]_f + v[BSA]_i$ مقادیر $[L]_i$ محاسبه شد. منحنی ΔH_v برحسب $[L]_i$ رسم شد. این آزمایش در دمای ۳۲۰ کلوین انجام شد.

$$(1) \lambda = \frac{(0.001 \times \text{ثابت سل} \times (\text{رسانایی آب مقطر} - \text{رسانایی کمپلکس}))}{\text{غلظت کمپلکس}} \quad (\text{cm}^2 \cdot \text{ohm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})$$

نتیجه‌های یافته‌های تجزیه عنصری در جدول ۱ آورده شده است. این نتیجه‌ها با ساختار پیشنهادی مطابقت دارند (شکل ۱).

جدول ۱ نتیجه‌های تجزیه عنصری کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

درصد کربن		درصد هیدروژن		درصد نیتروژن	
تجربی	نظری	تجربی	نظری	تجربی	نظری
۴۴.۶۷	۴۴.۶۳	۴.۹۶	۵.۰۴	۱۱.۵۸	۱۱.۶۳

در طیف فروسرخ کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ نوار مشاهده شده در 2950 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات N-H، در 1747 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات C=O و در گستره 2800 cm^{-1} تا 2900 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات C-H است که با آنچه در مورد ترکیبات مشابه گزارش شده مطابقت دارند [۲۵ تا ۲۶].

طیف 1H NMR کمپلکس در حلال D_2O با دستگاه MHz ۴۰۰ و TMS به عنوان استاندارد داخلی ثبت شد. سیگنال‌های رزونانس شده در نواحی ۰.۷ ppm (سه تایی)، ۱.۱۵ ppm (چندتایی)، ۱.۳۷ ppm (پنج تایی)، ۱.۸ ppm و ۲ ppm (چندتایی)، ۲.۹ ppm (چندتایی)، ۳.۳۵ ppm (یک تایی پهن) ۴.۲۵ ppm (دوتایی) به ترتیب به پروتون‌های $-CH_2-$ ، $-CH_2-$ ، $-CH_3$ ،

نتیجه‌ها و بحث

شناسایی کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

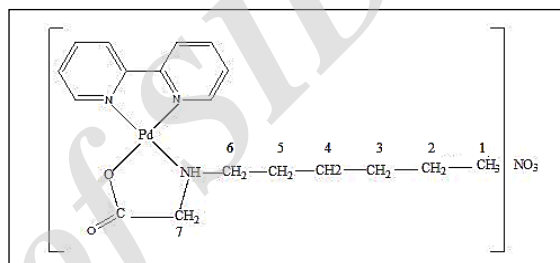
دمای تجزیه مشاهده شده کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ بین ۲۱۰ تا ۲۱۷ درجه سانتی گراد بود. در طیف جذب الکترونی این کمپلکس سه نوار جذبی مشاهده شد. نوار مشاهده شده در ۳۱۴ نانومتر ($\epsilon = 13866/6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) با تغییر حلال از قطبیت کمتر

همان‌طور که در منحنی شکل ۲ دیده می‌شود، با افزایش غلظت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ ، جذب محلول پروتئین BSA در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلون افزایش می‌یابد. این مشاهده نشان می‌دهد که در اثر این برهم‌کنش صورت‌بندی پروتئین BSA به‌گونه‌ای تغییر کرده که گروه‌های R اسیدهای آمینه موجود در زنجیر پروتئین بیشتر در معرض نور UV-Vis قرار گرفته و در نتیجه جذب بیشتری از خود نشان داده‌اند.

مقادیر $[L]_{1/2}$ ، غلظتی از کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ که باعث ۵۰ درصد تغییر صورت‌بندی در پروتئین BSA از ساختار طبیعی می‌شود، از منحنی‌های شکل ۲ در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلون به‌دست آمد (جدول ۲). همچنین، با افزایش دما $[L]_{1/2}$ کاهش یافته است. بنابراین، افزایش دما باعث افزایش قدرت غیرطبیعی‌کنندگی کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ شده است. از طرفی این مقادیر $[L]_{1/2}$ در مقایسه با مقادیر گزارش شده برای کمپلکس مشابه، $[Pd(bpy)(Oct-gly)]NO_3$ ، کوچک‌تراند [۱۱]. بنابراین، با کوتاه‌تر شدن دم آگریز در کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ ، قدرت غیرطبیعی‌کنندگی آن افزایش یافته است.

با استفاده از منحنی‌های غیرطبیعی کردن پروتئین BSA (شکل ۲) و روش پیس [۱۱ تا ۲۷]، K (ثابت برهم‌کنش بین پروتئین BSA و کمپلکس در فرایند غیرطبیعی شدن) قابل محاسبه است. به دنبال آن ΔG° (تغییرات انرژی آزاد گیبس) از معادله $\Delta G^\circ = -RT \ln K$ در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلون برای هر نقطه از منحنی غیرطبیعی شدن پروتئین BSA محاسبه شد. سپس منحنی ΔG° ها در برابر غلظت‌ها در ناحیه انتقال رسم شد (شکل ۳). نتیجه‌ها نشان داد با افزایش غلظت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ ، انرژی آزاد گیبس کاهش می‌یابد، این امر به دلیل کاهش پایداری پروتئین BSA در حضور کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ است. روند رو به کاهش ΔG° نشان می‌دهد که تغییرات صورت‌بندی القاء شده در پروتئین BSA با کمپلکس فلزی یک فرآیند خودبه‌خودی است.

شکل ۱). مجموعه سیگنال‌های رزونانس شده، در ناحیه ppm ۸٫۱۵ تا ۸٫۳۵ ppm به پروتون‌های ۲ و ۲'-بی‌پیریدین نسبت داده می‌شوند. مقادیر انتگرال‌گیری این نواحی با تعداد پروتون‌های موجود در ساختار کمپلکس هم‌خوانی داشته که ساختار پیشنهادی را پشتیبانی می‌کند. با توجه به یافته‌های UV-Vis، ^1H-NMR ، FT-IR و همچنین، رساناسنجی و تجزیه عنصری ساختار پیشنهادی کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در شکل ۱ نشان داده شده است.

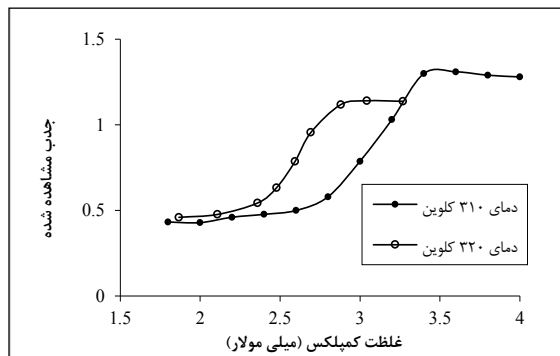


شکل ۱ ساختار پیشنهادی کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

بررسی نتیجه‌های آزمایش‌های برهم‌کنش کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ با پروتئین BSA

غیرطبیعی کردن پروتئین BSA

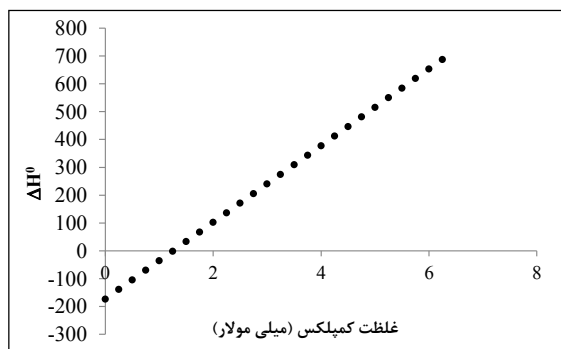
منحنی تغییرات جذب پروتئین BSA، در مقابل افزایش غلظت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلون رسم شد (شکل ۲).



شکل ۲ منحنی تغییرات جذب پروتئین BSA در برهم‌کنش با کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در pH برابر با ۷

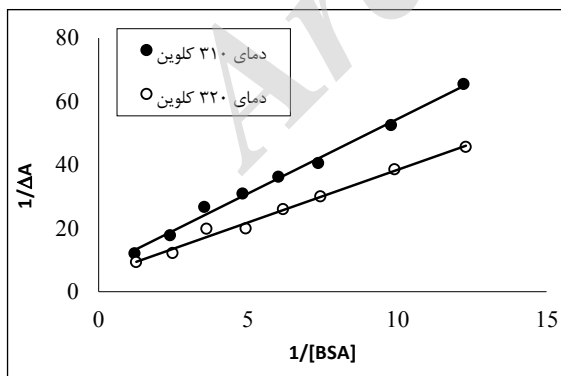
جدول ۲ نتیجه‌های آزمایش غیرطبیعی کردن پروتئین BSA توسط کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

دما (کلوین)	$\Delta H^\circ_{Conformation}$	m	$\Delta G^\circ_{(H_2O)}$	[L] ^{1/2} (میلی مولار)
۳۱۰	-۱۷۴,۳۱۵	۶۰,۲۳۷	-۲۱,۲۴۷	۰,۳
۳۲۰		۶۸,۳۱۶	-۲۶,۷۸۷	۰,۲۶



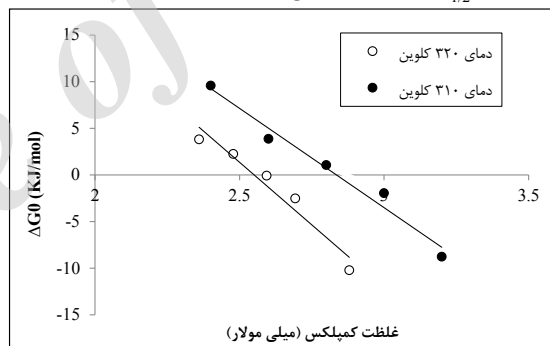
شکل ۴ منحنی ΔH° در مقابل غلظت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در pH برابر با ۷

تیتراسیون کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ با پروتئین BSA نمودار $1/\Delta A$ برحسب $1/[BSA]$ رسم شد (شکل ۵). مقادیر ΔA_{max} (بیشترین تفاوت جذب در طیف UV-Vis در حالتی که حداکثر مقدار ممکن کمپلکس با پروتئین BSA در پیوند داشته باشد) در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین (جدول ۳) به دست آمد.



شکل ۵ نمودار $1/\Delta A$ برحسب $1/[BSA]$ برای تیتراسیون کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ با BSA در pH برابر با ۷

معادله خط این منحنی‌ها به صورت $\Delta G^\circ = -m[L] + \Delta G^\circ_{(H_2O)}$ است، که در آن m شیب منحنی (قدرت کمپلکس برای غیرطبیعی کردن پروتئین BSA) $\Delta G^\circ_{(H_2O)}$ (نشان‌دهنده پایداری پروتئین BSA در عدم حضور کمپلکس) این منحنی است. مقادیر $\Delta G^\circ_{(H_2O)}$ و m در جدول ۲ گزارش شده است. از مقادیر بالاتر m در دمای بیشتر نتیجه می‌شود که با افزایش دما، قدرت غیرطبیعی کنندگی کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ نیز افزایش می‌یابد. مقادیر m در مقایسه با مقادیر گزارش شده [۱۱] برای کمپلکس مشابه، $[Pd(bpy)(Oct-gly)]NO_3$ ، افزایش یافته است. از این مشاهدات نیز نتیجه می‌شود که با کوتاه‌تر شدن دم آبریز در کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ ، قدرت غیرطبیعی کنندگی آن افزایش یافته است. این مشاهدات با نتیجه‌های $[L]^{1/2}$ مطابقت کامل دارند.



شکل ۳ منحنی ΔG° در برابر غلظت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در pH برابر با ۷

عامل ترمودینامیکی مهم دیگر که در فرایند غیرطبیعی کردن پروتئین BSA می‌توان به دست آورد، ΔH (انرژی لازم برای غیرطبیعی کردن پروتئین BSA) است. برای محاسبه این مقدار از معادله گیبس-هلمهولتز^۱ استفاده شد [۲۸]. سپس نمودار ΔH (در مقابل غلظت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در گستره دمایی ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین رسم شد (شکل ۴). این نمودار صعودی است که نشان‌دهنده گرماگیر بودن واکنش است. با برون‌یابی منحنی‌ها (محل تقاطع منحنی با محور y) مقادیر $\Delta H^\circ_{(H_2O)}$ به دست آمد (جدول ۲).

1. Gibbs-Helmholtz

جدول ۳ نتیجه‌های به‌دست آمده از آزمایش تیتراسیون پروتئین BSA با

کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

دما (کلوین)	n	K_{app}	g	ΔA_{max}
۳۱۰	۱٫۲	۳۱٫۵	۱۸	۰٫۱۸
۳۲۰	۱٫۳	۲۸٫۹	۱۸	۰٫۲

تیتراسیون پروتئین BSA با کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$

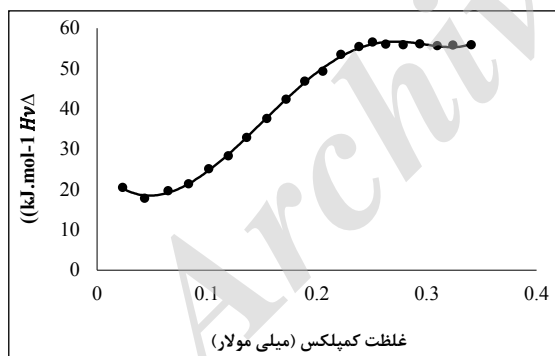
و رسم نمودار اسکچارد

منحنی اسکچارد تجربی و نظری، برای کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین رسم شد (شکل ۶). این منحنی‌ها نشان می‌دهند که یافته‌های به‌دست آمده از مطالعات تجربی (نقاط) و نظری (خطوط) تطابق داشته و یکدیگر را تأیید می‌کنند. همچنین، برهم‌کنش با پروتئین BSA به‌صورت متعاون انجام می‌شود. یعنی اتصال یک مولکول از کمپلکس به یک جایگاه پروتئین BSA، موجب تسهیل در پیوند مولکول دوم به جایگاه‌های مجاور می‌شود [۱۱].

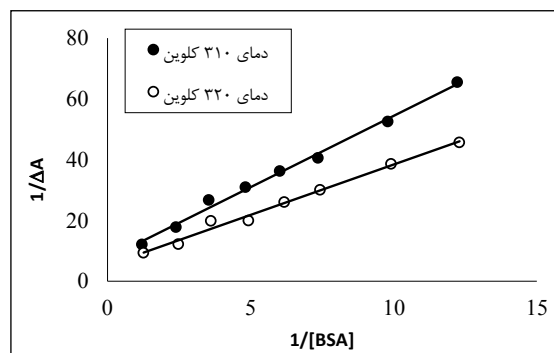
با افزایش دما کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده کاهش سرعت برهم‌کنش با افزایش دماست. اما در مقایسه با مقادیر گزارش شده [۱۱] برای کمپلکس مشابه، $[Pd(bpy)(Oct-gly)]NO_3$ ، افزایش یافته است. همچنین، g (تعداد جایگاه‌های پیوندی موجود در پروتئین BSA برای کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین برابر با ۱۸ و مقدار n (ضریب هیل) در دو دمای ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین بزرگ‌تر از واحد است که نشان‌دهنده تعاونی مثبت سامانه است. یعنی یک اتصال، اتصال‌های بعدی به پروتئین BSA را تسهیل می‌کند. این مشاهدات، منحنی اسکچارد تجربی را تأیید می‌کند. زیرا منحنی‌های اسکچارد نیز از نوع گودی رو به بالا بود که با تعاونی مثبت سامانه منطبق است.

کالوریمتری تیتراسیون هم‌دما

رسم منحنی ΔH_v برحسب $[L]_1$ در دمای ۳۲۰ کلوین (شکل ۷) روند تغییرات انرژی برهم‌کنش در دمای ثابت با افزایش مقدار غلظت کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ را نمایش داده و گرمازا بودن واکنش را پشتیبانی می‌کند.



شکل ۷ منحنی ΔH_v برحسب $[L]_1$ در دمای ۳۲۰ کلوین و در pH برابر با ۷



شکل ۶ منحنی اسکچارد تجربی (نقاط) و نظری (خطوط) در برهم‌کنش

کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ با پروتئین BSA.

نتیجه‌گیری

در این کار پژوهشی نخست کمپلکس جدید ۲ و ۲'-بی‌پیریدین هگزیل‌گلايسیناتوپالادیم (II) نیترات سنتز و شناسایی شد. یافته‌های طیف سنجی و غیر طیف سنجی، ساختار پیشنهادی

در این آزمایش عامل‌های پیوندی K_{app} ، g و n، که مقادیر نظری بودند، برای کمپلکس $[Pd(bpy)(Hex-gly)]NO_3$ محاسبه شد (جدول ۳) [۲۰]. همان‌گونه که مشاهده می‌شود؛ K_{app} (ثابت ظاهری برهم‌کنش کمپلکس با پروتئین BSA)

برهم‌کنش داشته و می‌تواند آن را در غلظت‌های بسیار پایین به صورت متعاون غیرطبیعی کند. در این مطالعات عامل‌های ترمودینامیکی ($\Delta S_{(H_2O)}^\circ$ و $\Delta H_{(H_2O)}^\circ$ ، $\Delta G_{(H_2O)}^\circ$) و عامل‌های پیوندی (n و K_{app} ، g) نیز تعیین شدند.

را تأیید می‌کنند. سپس برهم‌کنش این کمپلکس با پروتئین BSA توسط طیف‌سنجی UV-Vis و کالوریمتری تیتراسیون هم‌دما مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. یافته‌های به‌دست آمده نشان می‌دهند که کمپلکس سنتز شده با پروتئین BSA

مراجع

- [1] Rosenberg, B.; VanCamp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H.; Nature. 222, 385-386, 1969.
- [2] Hollis, A. R.; Amundsen, E. W.; J. Med. Chem. 32, 128-136, 1989.
- [3] Florea, A. M.; Büsselberg, D.; Cancers. 3, 1351-1371, 2011.
- [4] Barton, J. K.; Lippard, S. J.; "Metal Ions in Biology", New York, USA. 31-114, 1980.
- [5] Abu-Surrah, A. S.; Al-Sadoni, H. H.; Abdalla, M. Y.; JCT. 6, 1-10, 2008.
- [6] Marques, M. P. M.; ISRN. Spectroscopy. 32, 1-29, 2013.
- [7] Jin, V. X.; Ranford, J. D.; Inorg. Chim. Acta.. 304, 38-44, 2000.
- [8] Anzellotti, A. I.; Sabat, M.; Farrell, N.; Inorg. Chem. 45, 1638-1345, 2006.
- [9] Saboury, A. A.; Shamsaei, A. A.; Mosavi Movahedi, A. A.; Mansouri-Torshizi, H.; J.CHIN.CHEM.SOC. 46, 917-922, 1999.
- [10] Agostinelli, E.; M. Marques, M. P.; Calheiros, R.; Gil, F. P. S. C.; Tempera, G.; Viceconte, N.; Battaglia, V.; Grancara, S.; Toninello, A.; Amino Acids. 38, 393-403, 2010.
- [11] Mansouri-Torshizi, H.; Islami-Moghaddam, M.; Saboury, A. A.; Acta.Biochim.Biophys. Sinica. 35, 886-890, 2003.
- [12] Abu-Surrah, A. S.; Kettunen, v.; Curr. Med. Chem. 13. 1337-1357, 2006.
- [13] Mylonas, S.; Valavanidis, A.; Voukouvalidis, V.; Inorg. Chim. Acta. 55, 125-128, 1981.
- [14] Lu, Y.; Feng, Q. Q.; Cui, F. L.; Xing, W.W.; Zhang, G. S.; Yao, X. J.; Bioorg. Med. Chem. Lett. 20, 6899-6904, 2010.
- [15] Zunszain, P. A.; Ghuman, J.; Komatsu, T.; Tsuchida, E.; Curry, S.; BMC Struct. Biol. 3, 3-6, 2003.
- [16] Peters, T. J.; Adv. Protein Chem. 37, 161-245, 1985.
- [17] Tarushi, C.; Raptopoulou, P.; Psycharis, V.; Terzis, A.; Psomas, G.; Kessissoglou, D. P.; Bioorg. Med. Chem. 18, 2678-2685, 2010.
- [18] Eslami-Moghadama, M.; Saidifar, M.; Divsalarc, A.; Mansouri-Torshizid, H.; Sabourye, A. A.; Farhangiana, H.; Ghadamgahif, M.; J.Biomol.Struct.Dyn. 34, 206-222, 2016.
- [19] Scatchard, G.; "The attractions of proteins for small molecules and ions", Ann. N. Y. Acad. Sci. 51, 660-672, 1949.
- [20] Hill A.V., Physil. 40, 4-7, 1910.
- [21] Saboury, A. A.; Shamsaei, A. A Moosavi-movahedi.; Mansori-Torshizi, H.; J. Chem. Soc. 6, 917-922, 1999.
- [22] Kieft, J.A.; Nakamoto, K.; J. Inorg.Nucl. Chem. 29, 2561-2565, 1967.
- [23] Mansuri-Torshizi, H.; Srivastava, T.S.; J. Inorg. Biochem. 45, 135-148, 1992.
- [24] Angelici, R.J.; "Synthesis and Technique in Inorganic Chemistry", Saunders, Philadelphia. 1991.
- [۲۵] سیلور اشتاین (مترجم مجید میر محمد صادقی و محمد

- رضا سعیدی)، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۴۵، ۱۳۷۳.
- [۲۶] پاویا و دیگران (مترجم برهمن موثق علمی و فنی)، تهران، ۱۰۶، ۱۳۶۶.
- [27] Mansoori-Torshizi, H.; Islami-Moghadam, M.; Sabory, A. A.; *Acta.Biochim.Biophys.Sinica*. 35, 886-890, 2003.
- [28] Greene, R.F.; Pace, C.N.; *Biol. Chem.* 249, 5388-5393, 1974.
- [29] Mansouri-Torshizi, H.; Islami-Moghaddam, M.; Saboury, A.A.; *Acta.Biochim.Biophys.Sinica*. 35, 886-890, 2003.
- [30] Barrow, G.M., "Physical Chemistry". McGraw-Hill, New York. 1988.
- [20] Liu, C., Liu, Z., Li, Y., Ya, J., E, L., An, L., *Applied Surface Science*, 257, 7041-7046, 2011.
- [21] Lv, J., Wang, H., Gao, H., Xu, G., Wang, D., Chen, Z., Zhang, X., Zheng, Z., Wu, Y., *Surface and Coatings Technology*, 261, 356-363, 2015.
- [22] Li, W., Cui, X., Wang, P., Shao, Y., Li, D., Teng, F., *Materials Research Bulletin*, 48, 3025-3031, 2013.
- [23] Thirumala Rao, G., Babu, B., Joyce Stella, R., Pushpa Manjari, V., Venkata Reddy, C., Shim, J., Ravikumar, R.V.S.S.N., *Journal of Molecular Structure*, 1081, 254-259, 2015.
- [24] Abbasi, Z., Haghghi, M., Fatehifar, E., Saedy, S., *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 9, 2011.
- [25] Mahmoud, H.R., *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 392, 216-222, 2014.
- [26] Rezaee, L., Haghghi, M., *RSC Advances*, 6, 34055-34065, 2016.
- [27] Mohammadkhani, B., Haghghi, M., Sadeghpour, P., *RSC Advances*, 6, 25460-25471, 2016.
- [28] Asghari, E., Haghghi, M., Rahmani, F., *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 418-419, 115-124, 2016.
- [29] Ajamein, H., Haghghi, M., *Energy Conversion and Management*, 118, 231-242, 2016.
- [30] Aghaei, E., Haghghi, M., Pazhohniya, Z., Aghamohammadi, S., *Microporous and Mesoporous Materials*, 226, 331-343, 2016.
- [31] Spasiano, D., Marotta, R., Malato, S., Fernandez-Ibañez, P., Di Somma, I., *Applied Catalysis B: Environmental*, 170-171, 90-123, 2015.
- [32] Senthilraja, A., Subash, B., Dhatshanamurthi, P., Swaminathan, M., Shanthi, M., *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 138, 31-37, 2015.
- [33] Velmurugan, R., Swaminathan, M., *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 95, 942-950, 2011.
- [34] Sobana, N., Swaminathan, M., *Separation and Purification Technology*, 56, 101-107, 2007.

Investigation of the interaction between 2,2'-bipyridinehexylglycinatopalladium(II) nitrate antitumor complex and serum albumin

H. Mansouri-Torshizi^{1,*}, S. Jahangiry², M. Islami-Moghadam³, M. Saidifar⁴ and A. Heydari⁵

1. Prof. of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
2. MSc in Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
3. Assistant Prof. of Inorganic Chemistry, Chemistry & Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran
4. Assistant Prof. of Inorganic Chemistry, Faculty of Nanotechnology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran
5. PhD student of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

Received: April 2017, Revised: May 2017, Accepted: June 2017

Abstract: A new antitumor complex, “2,2'-bipyridinehexylglycinatopalladium(II) nitrate”, has been synthesized by reaction between diaqua-2,2'-bipyridinepalladium(II) nitrate and sodium salt of hexylglycinate. This complex has been characterized by conductivity measurement, elemental analysis and spectroscopic methods like FT-IR, ¹H-NMR and UV-Vis. Interaction of this complex with Bovine Serum Albumin (BSA) at pH=7 has been carried out using UV-Vis spectrophotometry at 310 and 320 K and microcalorimetry at 320 K. This complex can denature the protein with positive cooperativity in binding (interaction of a molecule with BSA facilitate the interaction of second molecule) and its concentration in the midpoint of transition from native to denature, $L_{1/2}$, 0.3 and 0.26 mM at 310 and 320 K, is quite low. In these studies, binding parameters: g (number of binding sites per BSA molecule equals 18), K_{app} (apparent binding constant) 31.5 and 28.9 (mmol/L)⁻¹, n (Hill coefficient, showing cooperativity of the system) are 1.2 and 1.3, and m (a measure of the metal complex strength for BSA denaturation) are 60.24 and 68.32 kJ/mol were found at 310 and 320 K, respectively. Thermodynamic parameters: $\Delta G_{(H_2O)}^\circ$ (conformational stability of BSA in absence of metal complex) -21.247 (at 310 K) and -26.787 (at 320 K) kJ/mol and $\Delta H_{(H_2O)}^\circ$ kJ/mol (enthalpy of BSA denaturation by the metal complex between 310 and 320 K) have been determined -174.315.

Keywords: Palladium (II) complex, Bovine Serum Albumin, Binding parameters, Thermodynamic parameters