



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Марија С. Јеремић

**СИНТЕЗА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ Rh(III)
КОМПЛЕКСА СА ЛИГАНДИМА
ПОЛИАМИНОПОЛИКАРБОКСИЛАТНОГ ТИПА**

Докторска дисертација

Ментор: др Зоран Д. Матовић, редовни професор

Крагујевац, 2019

<i>I. Аутор</i>	
Име и презиме:	Марија Јеремић
Датум и место рођења:	15.09.1984., Крагујевац
Садашње запослење:	Истраживач-сарадник
Наслов:	Синтеза и биолошка активност Rh(III) комплекса са лигандима полиаминополикарбоксилатног типа
<i>II. Докторска дисертација</i>	
Број страница:	122
Број слика:	49
Број библиографских података:	233
Установа и место где је рад израђен:	Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област (УДК):	Хемија(54) – Неорганска хемија(546)
Ментор:	Проф. др Зоран Д. Матовић
<i>III. Оцена и одбрана</i>	
Датум и пријава теме:	11. 10. 2017. године.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:	Наставно-научно веће Природно-математичког факултета: Веће за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу:
Комисија за оцену подобности теме и кандидата:	1. Др Зоран Д. Матовић, редовни професор Природно-математички факултет Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Неорганска хемија 2. Др Верица Јевтић, доцент Природно-математички факултет Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Неорганска хемија 3. Др Матија Златар, научни сарадник Институт за хемију, технологију и металургију Универзитет у Београду Научна област: Хемија
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:	1. Др Ратомир Јелић, редовни професор – председник комисије Факултет медицинских наука Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Неорганска хемија

	<p>2. Др Биљана Глишић, доцент Природно-математички факултет Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Неорганска хемија</p> <p>3. Др Матија Златар, виши научни сарадник Институт за хемију, технологију и металургију Универзитет у Београду Научна област: Хемија</p>
Датум одбране дисертације:	2019. године

Посвећено

тати и мами

ЗАХВАЛНИЦА

Ова докторска дисертација рађена је у Институту за хемију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу (део је пројекта који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Пројекат: III41010)) под менторским руководством др Зорана Д. Матовића, редовног професора, који је и предложио тему за овај рад. Искрено се захваљујем ментору на позиву да postanем део његове истраживачке групе, као и на идејама, саветима, указаној помоћи и подрици током писања свих радова, а напослетку и ове докторске дисертације.

Захваљујем се члановима комисије др Биљани Глишић, др Ратомиру Јелићу и др Матији Златару на доприносу који су дали својим сугестијама и саветима приликом писања ове дисертације.

Захваљујем сарадницама проф. Матовића, а мојим "ратним" друговима: др Емини Мркалић, др Марини Ђендић Серафимовић, Маји Ђукић и др Светлани Белошевић, које су својим присуством улепшале и олакшале мој рад у лабораторији. Хвала вам на помоћи, подрици, разговорима, јутарњим кафам и непрестаном смејању. Желим да знате да бих вас опет бирала за своје "цимерке". Такође, новим члановима "екипе" Марку Радовановићу и Игњату Филиповићу на другарству током ових неколико месеци.

Захваљујем се свим колегама Института за хемију на подрици и пријатељству.

Хвала мом пријатељу Слободану Николићу на искреном пријатељству, разговорима, заједничким журкама, кафанама и "рамену за плакање" када је било тешко.

Напослетку, највећу захвалност дугујем својој породици. Родитељима, јер су ми омогућили образовање, пружили неизмерну љубав, на васпитању које су ми усадили, на подрици и стрпљењу током свих ових година мог постојања и јер су ме научили да будем самостална и следим свој пут; извините ако сам некад била својеглава. Брату Миљану, мом највећем богатству, кога волим највише на свету. Мојим малим братанцима Вуку и Вањи, који су употпунили мој живот. Снајки, као неизоставном члану овог "клана". И наравно, мојим теткама, ујацима, браћи и сестрама који су оплеменили мој живот.

Ваша Марија

САДРЖАЈ

СКРАЋЕНИЦЕ

СПИСАК СЛИКА

СПИСАК ШЕМА

СПИСАК ТАБЕЛА

ИЗВОД

SUMMARY

1.	ОПШТИ ДЕО	1
1.1	Аминополикарбоксилатне киселине као лиганди	1
1.1.1	Аминополикарбоксилатне киселине у координационој хемији и медицини	1
1.1.2	Добијање аминокполикарбоксилатних лиганада	2
1.1.3	Структурне варијације аминокполикарбоксилатних лиганада	4
1.1.4	Геометријска изомерија хексадентатних аминокполикарбоксилатних комплекса	5
1.1.5	Геометријска изомерија пентадентатних аминокполикарбоксилатних комплекса	7
1.2	Стереохемија родијум(III) комплекса	9
1.3	Примена метала у медицини и лечењу туморских болести	11
1.4	Биолошка активност родијум(III) комплекса	15
1.5	Компјутерска хемија	21
1.5.1	Молекулска механика (ММ)	21
1.5.2	Квантна механика (QM)	24
1.5.2.1	Ab-initio	24

1.5.2.2	Теорија функционала густине (DFT = Density Functional Theory)	25
1.5.2.3	Семи-емпиријске методе	26
1.5.2.4	Мелер-Плесетове методе	27
1.5.3	Теорија природних везивних орбитала (Natural Bond Orbital Analysis - NBO)	27
2.	ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО	29
2.1	Хемикалије и реагенси	29
2.2	Синтезе комплекса	29
2.2.1	Добијање <i>cis</i> -equatorial-[аква(етилендиамин- <i>N,N,N'</i> -триацетато) родијум(III)] хидрата, [Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O (1)	30
2.2.2.	Добијање <i>cis</i> -equatorial-натријум[(етилендиамин- <i>N,N,N'</i> -триацетато) хлоридо родат(III)] хидрата, Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O (2)	30
2.2.3	Добијање <i>cis</i> -polar-[аква(1,3-пропандиамин- <i>N,N,N'</i> -триацетато) родијум(III)] дихидрата, [Rh(1,3-pd3a)(H ₂ O)]·2H ₂ O (3)	31
2.2.4	Добијање <i>cis</i> -polar-натријум[(етилендиамин- <i>N,N,N'</i> -триацетато) хлоридородат(III)] дихидрата, Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H ₂ O (4)	31
2.2.5	Добијање <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-натријум[(етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетато- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионато)родат(III)] тетрахидрата, Na[Rh(eddarp)]·4H ₂ O (5) ...	32
2.3	Елементална микроанализа	32
2.4	Тачка топљења	32
2.5	Инфрацрвени спектри	33
2.6	Електронски апсорпциони спектри	33
2.7	NMR спектри (¹ H и ¹³ C)	33
2.8	Мерења у растворима	33

2.8.1	Потенциометријске титрације	33
2.8.2	Спектрофотометријска мерења	35
2.9	Рендгенске структурне анализе	36
2.9.1	Рендгенска структурна анализа за <i>cis</i> -equatorial-[Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O комплекс (1)	36
2.9.2	Рендгенска структурна анализа за <i>cis</i> -equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O комплекс (2)	37
2.9.3	Рендгенска структурна анализа за <i>cis</i> -polar-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H ₂ O комплекс (4)	38
2.9.4	Рендгенска структурна анализа за <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-Na[Rh(eddadp)]·4H ₂ O (5)	38
2.10	Однос изомера хексадентатних комплекса у воденом раствору	39
2.11	Биолошки тестови	40
2.11.1	МТТ тест	40
2.11.2	Ћелијски третман за студију апоптозе	41
2.11.2.1	Annexin V-FITC/7-AAD и Annexin-V-FLUOS (Annexin V-FITC/PI) тестови проточне цитометрије	42
2.11.2.2	Акридин-оранж/етијидијум-бромид (АО/ЕВ) тест флуоресцентне микроскопије	43
2.11.2.3	Western blot анализа	43
2.11.2.4	Анализа ћелијског циклуса проточном цитометријом	44
2.12	Компјутерске методе	44
2.12.1	DFT прорачуни	44
2.12.2	NBO анализа	45

2.12.3	Докинг метода	46
3.	РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	49
3.1	Синтеза и молекулске структуре синтетисаних једињења	49
3.1.1	Добијање полиаминополикарбоксилатних лиганада и одговарајућих комплекса родијума(III)	49
3.1.2	Молекулска структура <i>cis</i> -equatorial-[Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O комплекса (1)	52
3.1.3	Молекулска структура <i>cis</i> -equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O комплекса (2)	54
3.1.4	Молекулска структура <i>cis</i> -polar-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H ₂ O комплекса (4)	56
3.1.5	Молекулска структура <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-Na[Rh(eddadp)]·4H ₂ O комплекса (5)	57
3.2	Спектрална анализа синтетисаних комплекса	59
3.3	Структурни параметри и анализа напона комплекса родијума(III) у односу на њихову геометрију	65
3.3.1	Анализа напона пентадентатних Rh(III) комплекса	66
3.3.2	Анализа напона хексадентатних Rh(III) комплекса	67
3.4	Испитивања у растворима	69
3.4.1	Константе протоновања лиганада	69
3.4.2	Константе формирања комплекса Rh ³⁺ са ed3a ³⁻ и 1,3-pd3a ³⁻ лигандима	71
3.4.2.1	Потенциометријске титрације	71
3.4.2.2	Спектрофотометријске титрације	72
3.5	<i>In vitro</i> антитуморска активност комплекса и лиганада	77

3.5.1	МТТ тест	77
3.5.2	Типови ћелијске смрти и начини одређивања	79
3.5.2.1	Детекција апоптозе Annexin-V тестовима проточне цитометрије	80
3.5.2.2	Акридин-оранж/етидијум-бромид (АО/ЕВ) тест флуоресцентне микроскопије	82
3.5.2.3	Western blot анализа	84
3.5.2.4	Анализа ћелијског циклуса проточном цитометријом	86
3.6	Компјутерске методе	88
3.6.1	Квантна механика (QM)	88
3.6.2	NBO анализа	94
3.6.3	Докинг молекулска симулација	100
4.	ЗАКЉУЧАК	103
5.	ЛИТЕРАТУРА	107
	БИОГРАФИЈА	122
	СПИСАК ОБЈАВЉЕНИХ РАДОВА	

СКРАЋЕНИЦЕ

Å	ангстрем
ALA	аланин
AM1	Austin Model 1
AO	акридин-оранж
GLN	глутамин
GLU	глутаминска киселина
G	хелатни прстенови у октаедарској равни
D_{4h}	тетрагонално лигандно поље
DMEM	Дулбеков модификовани игл медијум
DMPE	<i>bis</i> (1,2-диметил-фосфино)етан
ДНК	дезоксирибонуклеинска киселина
DOX	Доксорубицин
DFT	Density Functional Theory (Теорија функционала густине)
ЕВ	етидијум-бромид
IR	инфрацрвена спектроскопија
IC ₅₀	концентрацију једињења која је неопходна за 50% инхибиције <i>in vitro</i>
К	Келвин
КБ	координациони број
LCAO	Linear Combination of Atomic Orbitals (линеарна комбинација атомских орбитала)
LYS	лизин
ММ	молекулска механика
MTT	3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолијум бромид
NBO	Natural Bond Orbital (природна везивна орбитала)
NCE	Natural Coulomb Electrostatics (природна Кулонова енергетска анализа)
NLMO	Natural Localized Molecular Orbital (природна локализована молекулска орбитала)
NPA	Natural Population Analysis (Природна популациона анализа)
O_h	октаедарско кристално поље
PBS	phosphate-buffered saline (фосфатни пуфер)

PVDF	поливинилиден-дифлуорид
PDB	Protein Data Bank (Протеинска банка података)
PM6	параметријски метод 6
PI	пропидијум-јодид
PNBO	pre-orthogonal Natural Bond Orbital
PS	фосфатидил-серин
R	хелатни прстенови ван октаедарске равни
ROS	Reactive Oxygen Species
Spy	square pyramidal (квадратно-пирамидална геометрија)
TSP	триметил-силил пропанска киселина
UV-Vis	ултраљубичаста видљива спектроскопија
FBS	фетални говеђи серум
FITC	флуоресцеин-изотиоцијанат
HIV	Human Immunodeficiency Virus (вирус хумане имунодефицијенције)
HSA	хумани серум албумина
H ₂ edda	етилендиамин- <i>N,N'</i> -дисирћетна киселина
H ₂ edap	етилендиамин- <i>N</i> -ацетато- <i>N'</i> -3-пропионска киселина
H ₂ eddp	етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₂ 1,3-pdda	1,3-пропандиамин- <i>N,N'</i> -дисирћетна киселина
H ₃ ed3a	етилендиамин- <i>N,N,N'</i> -трисирћетна киселина
H ₃ eddap	етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетато- <i>N</i> -3-пропионска киселина
H ₃ edadp	етилендиамин- <i>N</i> -ацетато- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₃ ed3p	етилендиамин- <i>N,N,N'</i> -три-3-пропионска киселина
H ₃ 1,3-pd3a	1,3-пропандиамин- <i>N,N,N'</i> -трисирћетна киселина
H ₄ edta	етилендиамин- <i>N,N,N',N'</i> -тетрасирћетна киселина
H ₄ ed3ap	етилендиамин- <i>N,N,N'</i> -триацетато- <i>N'</i> -3-пропионска киселина
H ₄ eddadp	етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетато- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₄ - <i>u</i> -eddadp	несиметрична етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетато- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₄ eda3p	етилендиамин- <i>N</i> -ацетато- <i>N,N',N'</i> -три-3-пропионска киселина
H ₄ edtp	етилендиамин- <i>N,N,N',N'</i> -тетрапропионска киселина

H ₄ 1,3-pdta	1,3-пропандиамин- <i>N,N,N',N'</i> -тетрасирћетна киселина
H ₄ 1,3-pd3ap	1,3-пропандиамин- <i>N,N,N'</i> -триацетато- <i>N'</i> -3-пропионска киселина
H ₄ 1,3-pddadp	1,3-пропандиамин- <i>N,N'</i> -диацетато- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₄ - <i>u</i> -1,3-pddadp	несиметрична 1,3-пропандиамин- <i>N,N'</i> -диацетато- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₄ 1,3-pda3p	1,3-пропандиамин- <i>N</i> -ацетато- <i>N,N',N'</i> -три-3-пропионска киселина
H ₄ 1,3-pdtp	1,3-пропандиамин- <i>N,N,N',N'</i> -тетрапропионска киселина
QM	квантна механика
¹ HNMR	протонска нуклеарна магнетна резонанца
¹³ CNMR	зглѐеник-13 нуклеарна магнетна резонаца
7-AAD	7-аминоактиномицин D
ε	молски коефицијент апсорптивности (dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹)
λ	таласна дужина
ν	таласни број
Ĥ	Хамилтонијанов оператор
Ψ	таласна функција
∇	Laplas-ов оператор

СЛИКЕ

Слика 1.	Општа формула аминополикарбоксилатних киселина са датим могућим комбинацијама прстенова	2
Слика 2.	Приказ могућих хромофора аминополикарбоксилатних лиганата	5
Слика 3.	Геометријски изомеризам хексадентатних [M(edta-тип)] ⁿ⁺ комплекса.	6
Слика 4.	Могући геометријски изомери пентадентатних [M(edta-тип)X] комплекса	7
Слика 5.	Молекулске структуре H ₃ ed3a (a) и H ₃ 1,3-pd3a (b) киселина	8
Слика 6.	Вилијам Хајд Воластон и његово откриће изотоп родијума ¹⁰³ Rh	10
Слика 7.	Структуре комплекса платине са применом у медицини	13
Слика 8.	Структуре Ru(III) комплекса који су у фази клиничког испитивања	14
Слика 9.	Структуре димерних комплекса Rh(II)-карбоксилата и амидата	16
Слика 10.	Структура [Rh(I)(COD)X] комплекса: X = Cl, NH ₃ , асас, PMI, PEI, PIP	17
Слика 11.	Структуре антитуморских Rh(III) комплекса: <i>mer</i> , <i>cis</i> -[RhCl ₃ (DMSO) ₂ (NH ₃)] (a) и <i>mer</i> , <i>cis</i> -[RhCl ₃ (DMSO) ₂ (Im)] (b)	18
Слика 12.	Пиридински и терпиридински Rh(III) комплекси: <i>mer</i> , <i>cis</i> -[RhCl ₃ (DMSO)(py) ₂] (a) и <i>mer</i> -[RhCl ₃ (tpy)] (b)	19
Слика 13.	Структуре дихлоридородијум(III) комплексних катјона <i>cis</i> -[RhCl ₂ (3,4,7,8-Me ₄ Phen) ₂] ⁺ (a) и <i>cis</i> -[RhCl ₂ (dppz)(phen)] ⁺ (b)	20
Слика 14.	Молекулско-механичка презентација молекула (force field метода)	22
Слика 15.	Приказ доприноса везивних и невивних интеракција у молекулској механици поља силе: истезање веза, савијање углова, торзије и невивне интеракције	23
Слика 16.	Апаратура за потенциометријске титрације	34
Слика 17.	Валидација AutoDock доковања на примеру 1O9X	47

Слика 18.	Валидација AutoDock доковања на примеру 1HK1	48
Слика 19.	Синтеза родијум(III) комплекса (1)-(5)	50
Слика 20.	UV-Vis спектри и двоструки хроматограми термодинамичких смеша [M(eddadp)] ⁻ изомера (M = Rh(III), Co(III))	51
Слика 21.	Кристална структура <i>cis-equatorial</i> -[Rh(ed3a)(H ₂ O)] комплекса и кристално паковање дуж <i>a</i> осе	53
Слика 22.	Кристална структура <i>cis-equatorial</i> -[Rh(ed3a)Cl] ⁻ комплексног ањона и кристално паковање дуж <i>b</i> осе	55
Слика 23.	Кристална структура <i>cis-polar</i> -[Rh(1,3-pd3a)Cl] ⁻ комплексног ањона и кристално паковање дуж <i>b</i> осе	57
Слика 24.	Кристална структура <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-[Rh(eddadp)] ⁻ комплексног ањона и кристално паковање дуж <i>a</i> осе	58
Слика 25.	Инфрацрвени спектри пентадентатних Rh(III) комплекса: [Rh(ed3a)(H ₂ O)] (1) (а), [Rh(ed3a)Cl] ⁻ (2) (б), [Rh(1,3-pd3a)(H ₂ O)] (3) (в) и [Rh(1,3-pd3a)Cl] ⁻ (4) (г)	59
Слика 26.	Инфрацрвени спектар <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-[Rh(eddadp)] ⁻ комплекса	60
Слика 27.	Електронски апсорпциони спектри пентадентатних Rh(III) комплекса: [Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O (1) _____, Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O (2) _____, [Rh(1,3-pd3a)(H ₂ O)]·2H ₂ O (3) _____, Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H ₂ O (4) _____	61
Слика 28.	Електронски апсорпциони спектри хексадентатних Rh(III) комплекса: <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-Na[Rh(eddadp)]·4H ₂ O (5) _____, <i>trans</i> (O ₅)-Na[Rh(eddadp)]·2H ₂ O _____, <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-Na[Rh(1,3-pddap)]·3H ₂ O _____	63
Слика 29.	¹ H и ¹³ C NMR спектри комплекса [Rh(ed3a)(H ₂ O)] (1) (а), [Rh(ed3a)Cl] ⁻ (2) (б), [Rh(1,3-pd3a)(H ₂ O)] (3) (в) и [Rh(1,3-pd3a)Cl] ⁻ (4) (г)	64

Слика 30.	^1H и ^{13}C NMR спектри <i>trans</i> (O_5O_6)- $\text{Na}[\text{Rh}(\text{eddadp})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ комплекса (5)	65
Слика 31.	Дистрибуциони дијаграми протонованих облика лиганда: ed3a^{3-} (лево) и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ (десно). Концентрација оба лиганда је 2,0 mM	71
Слика 32.	Криве потенциометријских титрација испитиваних система: Rh^{3+} - ed3a^{3-} (лево), Rh^{3+} - $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ (десно)	72
Слика 33.	Дистрибуциони дијаграми Rh^{3+} - ed3a^{3-} врста у односу концентрација $[\text{Rh}^{3+}]:[\text{ed3a}^{3-}] = 1:3$ и са укупном концентрацијом родијума(III) од 2,0 mM добијени потенциометријски (лево) и спектрофотометријски (десно)	73
Слика 34.	Дистрибуциони дијаграми Rh^{3+} - $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ врста у односу концентрација $[\text{Rh}]:[1,3\text{-pd3a}] = 1:2$ и са укупном концентрацијом родијума(III) од 2,0 mM добијени потенциометријски (лево) и спектрофотометријски (десно)	76
Слика 35.	Анализа Annexin V-FITC/7-AAD бојеног теста проточне цитометрије $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})]\cdot \text{H}_2\text{O}$ (1) и $\text{Na}[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}]\cdot \text{H}_2\text{O}$ (2). Тачкице на дијаграму представљају проценат вијабилних Annexin V-7-AAD ⁻ (доњи леви квадрант), рано апоптотичних Annexin V ⁺ 7-AAD ⁻ (доњи десни квадрант), касно апоптотичних Annexin V ⁺ 7-AAD ⁺ (горњи десни квадрант) и некротичних ћелија Annexin V ⁻ 7-AAD ⁺ у нетретираним HeLa ћелијама (контрола) и HeLa ћелијама третираним $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})]\cdot \text{H}_2\text{O}$ (1) и $\text{Na}[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}]\cdot \text{H}_2\text{O}$ (2)	81
Слика 36.	Процент специфичне апоптозе HeLa ћелија изазване цисплатином (<i>cis</i> Pt) и тестираним супстанцама после 48 h терапије. Ћелије су обојене са Annexin-V-FLUOS и пропидиум јодидом и анализирани проточном цитометријом. Процент специфичне апоптозе цисплатине и тестираних једињења израчунава се према референци [181]	82

Слика 37.	Промене у морфологији HeLa ћелија након третмана визуализоване помоћу АО/ЕВ бојења. Оба комплекса (1) и (2) индуковали су промене типичне за апоптозу. Једра вијабилних ћелија су зелена са организованом структуром, док су једра рано апоптотичних ћелија светло зелена, а једра касно апоптотичних ћелија светло наранџаста до црвена са кондензованим хроматином. Некротичне ћелије имају нормалне морфологије и наранџаста до црвена једра са организованом структуром	83
Слика 38.	Експресија апоптотских протеина испитивана Western blot анализом: 1. Контролни узорак; 2. Доксорубицин; 3. Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O (2); 4. [Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O (1)	85
Слика 39.	Графичка представа дензитометријских података експресије протеина који су добијени Western blot анализом и обрађени помоћу ImageJ http://imagej.nih.gov [184]. Експресија протеина који припадају апоптотичком сигналном путу у узорцима упоређена је са нетретираним узорцима и представљена је као проценат контроле. Дензитометрија експресије актина, који служи као унутрашња контрола, приказана је као мерена: 1. Контролни узорак; 2. Доксорубицин; 3. Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O (2); 4. [Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O (1).	86
Слика 40.	Анализа ћелијског циклуса. Хистограми представљају дистрибуцију ћелијског циклуса у нетретираним HeLa ћелијама (А) и ћелијама третираним 48 h са комплексима (1) (Б) и (2) (В)	87
Слика 41.	Дистрибуција ћелијског циклуса дата као проценат [%] третираних HeLa ћелија кроз различите фазе ћелијског циклуса након 48 h изложености еквитоксичним дозама (IC ₅₀ концентрације) тестираних једињења (4), Na ₂ H _{1,3} -pd3a, Na ₂ Hed3a и цисплатине (<i>cis</i> -Pt) заједно са нетретираним контролним узорком (контрола)	88
Слика 42.	DFT оптимизована структура <i>cis</i> -polar-[Rh(1,3-pd3a)(H ₂ O)] (3) комплекса	90

Слика 43.	Поређење $\Sigma\Delta(O_h)$ вредности у зависности од метода на основу којих су добијене 3D структуре	92
Слика 44.	Корелациони дијаграм између DFT енергија (B3LYP/SDD) геометријских изомера $[M(eddadp)]^-$ комплекса ($M = Rh(III), Co(III)$) и њихових основних структурних параметара напона	93
Слика 45.	Корелациони дијаграм између DFT енергија (B3LYP/SDD) геометријских изомера $[M(1,3-pddadp)]^-$ комплекса ($M = Rh(III), Co(III)$) и њихових основних структурних параметара напона	94
Слика 46.	Најбоље рангиране резонантне структуре добијене NRT анализом на различитим изомерима: I-VI $[M(eddadp)]^-$; VII-XII $[M(1,3-pddadp)]^-$ комплексних анјона ($M = Rh(III), Co(III)$)	96
Слика 47.	PNBO (PNBO = pre-orthogonal Natural Bond Orbital) довор/акцептор орбитале које се односе на резонантну хибридную стабилизацију <i>trans</i> (O ₅ O ₆)- $[Rh(eddadp)]^-$ комплексног анјона	98
Слика 48.	Најстабилнији конформери докованих <i>cis</i> -equatorial- $[Rh(ed3a)(H_2O)]$ (1) (a) и <i>cis</i> -polar- $[Rh(1,3-pd3a)(H_2O)]$ (3) (b) комплекса на HSA макромолекулу	101
Слика 49.	2D дијаграм главних интеракција <i>cis</i> -polar- $[Rh(1,3-pd3a)(H_2O)]$ комплекса (3) и HSA макромолекула	102

ШЕМЕ

Шема 1.	Кондензациона метода добијања аминополикарбоксилатних киселина из монохлоркарбоксилне киселине	3
Шема 2.	Кондензациона метода добијања аминополикарбоксилатних киселина из аминокиселине	3
Шема 3.	Кондензациона метода добијања аминополикарбоксилатних киселина из акрилне киселине	4
Шема 4.	Трансформација МТТ соли у формазан	40
Шема 5.	Дисоцијација $[\text{Rh}(\text{Hed3a})\text{X}_3]^+$; $\text{X} = \text{H}_2\text{O}, \text{Cl}^-$	75
Шема 6.	Дисоцијација $[\text{Rh}(\text{H1,3-pd3a})\text{X}_3]^+$; $\text{X} = \text{H}_2\text{O}, \text{Cl}^-$	77

ТАБЕЛЕ

Табела 1	Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре <i>cis</i> -equatorial-[Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O комплекса (1)	36
Табела 2	Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре <i>cis</i> -equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O комплекса (2)	37
Табела 3	Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре <i>cis</i> -polar-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H ₂ O комплекса (4)	38
Табела 4	Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-Na[Rh(eddadb)]·4H ₂ O комплекса (5)	39
Табела 5	Однос изомера за [M(edta-тип)] ⁻ комплексе	52
Табела 6	Дужине (Å) и углови (°) веза <i>cis</i> -equatorial-[Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O комплекса (1)	54
Табела 7	Дужине (Å) и углови (°) веза <i>cis</i> -equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O комплекса (2)	55
Табела 8	Дужине (Å) и углови (°) веза <i>cis</i> -polar-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H ₂ O комплекса (4)	56
Табела 9	Дужине (Å) и углови (°) веза <i>trans</i> (O ₅ O ₆)-Na[Rh(eddadb)]·4H ₂ O комплекса (5)	58
Табела 10	Анализа напона пентадентатних родијум(III) комплекса са edta-типом лигананда	66
Табела 11	Анализа напона хексадентатних [M(edta-тип)] ⁻ комплекса	68
Табела 12	Константе протоновања (log K ₁ ^H) ed3a ³⁻ и 1,3-pd3a ³⁻ лигананда	70
Табела 13	Условне константе стабилности Rh ³⁺ -ed3a ³⁻ и Rh ³⁺ -1,3-pd3a ³⁻ комплекса формираних у 0.1 M NaCl јонском медијуму ^a	73
Табела 14	IC ₅₀ вредности (μM) тестираних лигананда и комплекса ^a	78

Табела 15	Поређење X-гау и DFT структурних параметара за [Rh(edta-тип)] комплексе са израчунатим енергијама ^a	89
Табела 16	Релативне енергије (kcal mol ⁻¹) за [M(edta-тип)] ⁻ комплексе ^{a, б} ..	91
Табела 17	NBO доворско-акцепторске енергије ^a 3-СНВ веза, стерно-измењиве интеракције спаривања E _{IJ} ^{pwx} ^a и природна Кулонова електростатичка анализа (NCE) комплекса [M(edta-тип)] ⁻	99
Табела 18	HSA-[Rh(L)(H ₂ O)] (L = ed3a и 1,3-pd3a) слободне енергије везивања најбољих AutoDock конформера ^a	101

ИЗВОД

У оквиру ове докторске дисертације синтетисани су и окарактерисани комплекси родијума(III) са хелатним полиаминополикарбоксилатним лигандима edta типа, међу којима су два неутрална: *cis-equatorial*-[Rh(ed3a)H₂O] и *cis-polar*-[Rh(1,3-pd3a)H₂O], као и три анјонска *cis-equatorial*-[Rh(ed3a)Cl]⁻, *cis-polar*-[Rh(1,3-pd3a)Cl]⁻ и *trans*(O₅O₆)-[Rh(eddap)]⁻. Сва добијена једињења окарактерисана су применом стандардних метода (елементална микроанализа, тачка топљења), као и савременим спектроскопским методама анализе (¹H и ¹³C NMR, IR и UV-Vis). Структуре синтетисаних комплекса су одређене применом рендгенске структурне анализе, осим у случају *cis-polar*-[Rh(1,3-pd3a)H₂O]·2H₂O комплекса где није изолован кристал погодан за дифрактометријску анализу. Његова геометрија је претпостављена на основу спектралне анализе, DFT прорачуна, као и поређењем са сличним комплексима који су структурно окарактерисани.

Константе протоновања лиганата H₃ed3a и H₃1,3-pd3a, константе стабилности комплекса и стехиометрија комплекса са овим лигандима проучаване су у воденом раствору, при чему је потврђено је постојање само мононуклеарних комплекса као што су [MHL] ([Rh(Hed3a)]⁺, [Rh(H1,3-pd3a)]⁺), [ML] ([Rh(ed3a)], [Rh(1,3-pd3a)]) и [MLH₋₁] ([RhOH(ed3a)]⁻, [RhOH(1,3-pd3a)]⁻).

Биолошка активност ових једињења *in vitro* је испитана применом МТТ теста цитотоксичности, као и методама за детекцију апоптозе. Највећу цитотоксичност је показао комплекс [Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O, док је најнеактивнији [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)]·2H₂O комплекс, а HeLa ћелијска линија је најсензитивнија. Резултати проточне цитометрије и Вестерн блот анализе указују на апоптозу као примаран начин ћелијске смрти и то на каспаза-завистан начин.

На крају, компјутерске методе су коришћене за интерпретацију структурних параметара експериментално добијених комплекса Rh(III), као и њихових могућих изомера. Утврђено је да је ВЗЛУР метода и бројчано и визуелно најприближнија експерименталним резултатима добијеним из X-гау структура. Детаљна анализа енергетске зависности геометријских изомера и уобичајених параметара деформације (ΣΔ(O_h), Δ(M-O-C), ΣΔ(N))

указује на немогућност формирања *trans*(O₆) изомера у случају [M(eddadp)]⁻ система. У случају [M(1,3-pddadp)]⁻ система низак енергетски профил омогућава формирање *trans*(O₆) изомера у случају комплекса родијума(III), док висока енергија у случају *trans*(O₅)-[Co(1,3-pddadp)]⁻ искључује могућност формирања овог комплекса. Гранична енергија, иза које је немогуће очекивати формирање геометријских изомера, могла би имати вредност око 6 kcal mol⁻¹ за [Rh(eddadp)]⁻ и [Rh(1,3-pddadp)]⁻ системе. NBO и NRT анализе система [M(eddadp)]⁻ и [M(1,3-pddadp)]⁻ (M = Rh(III), Co(III)) показују да сви изомери представљају снажно делокализоване структуре, а све добијене резонантне структуре показују да је јон метала три-координован преко N₂O или NO₂ хромофоре, осим Co(III) у *trans*(O₆)-[Co(eddadp)]⁻ комплексу који је ди-координован. Такође, ковалентност је више изражена у родијум(III) комплексима него у случају Co(III) комплекса.

Резултати компјутерски симулираног докинга између HSA и *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)] и *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] комплекса указују да четири водоничне везе чине родијумов комплекс чврсто везаним за HSA и сасвим безбедним за његов транспорт до циљних ћелија.

SUMMARY

Within this PhD dissertation, the complexes of rhodium(III) with chelate polyaminopolycarboxylate edta-type of ligands have been synthesized and characterized, among which are two neutral *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)] and *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)], as well as three anionic *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)Cl]⁻, *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)Cl]⁻ and *trans*(O₅O₆)-[Rh(eddadp)]⁻.

The synthesized rhodium(III) complexes were characterized by the use of standard methods (elemental microanalysis, melting point), as well as by modern spectroscopic analysis techniques (¹H and ¹³C NMR, IR and UV-Vis). Structures of the synthesized complexes were determined by X-ray structural analysis, except in the case of *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)]·2H₂O complex. Its geometry is assumed based on spectral analysis, DFT calculations, as well as by comparison with similar complexes that are structurally characterized.

The protonation constants of H₃ed3a и H₃1,3-pd3a ligands, the stability constants of the complexes and the stoichiometry of the complexes with these ligands were studied in aqueous solution, whereby only mononuclear complexes have been confirmed: [MHL] ([Rh(Hed3a)]⁺, [Rh(H1,3-pd3a)]⁺), [ML] ([Rh(ed3a)], [Rh(1,3-pd3a)]) и [MLH₁] ([RhOH(ed3a)]⁻, [RhOH(1,3-pd3a)]⁻).

The biological activity of these compounds *in vitro* was investigated using the MTT cytotoxicity test, as well as methods for the detection of apoptosis. The greatest cytotoxicity was demonstrated by the complex [Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O, while the most inactive was [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)]·2H₂O, and the HeLa cell line is the most sensitive. The results of flow cytometry and Western blot analysis suggest apoptosis as the primary mode of cell death, in a caspase-dependent manner.

Finally, computer methods were used to interpret the structural parameters of the experimentally obtained Rh(III) complexes, as well as their possible isomers. It was found that the B3LYP method is both numerically and visually most similar to experimental results obtained from X-ray structures. A detailed analysis of the energy dependence of geometric isomers on the usual deformation parameters ($\Sigma\Delta(O_h)$, $\Delta(M-O-C)$, $\Sigma\Delta(N)$) indicates the inability of the

formation of *trans*(O₆) isomer in the case of [M(eddadp)]⁻ system. In the case of [M(1,3-pddadp)]⁻ system low energy profile allows the formation of *trans*(O₆) isomer for rhodium(III) complexes, while high energy of *trans*(O₅)-[Co(1,3-pddadp)]⁻ exclude the possibility for these complex to be formed. The boundary energy, beyond which it is impossible to expect the formation of geometric isomers, could have a value of about 6 kcal mol⁻¹ for [Rh(eddadp)]⁻ and [Rh (1,3-pddadp)]⁻ systems. NBO and NRT analyzes of the [M(eddadp)]⁻ and [M(1,3-pddadp)]⁻ (M = Rh(III), Co(III)) systems show that all isomers are strongly delocalized structures, and all resulting resonant structures show that the metal ions are tri-coordinated through N2O or NO2 chromophores, except Co(III) in *trans*(O₆)-[Co(eddadp)]⁻ complex ion which adopts di-coordination in an octahedral surrounding. Also, covalency is more pronounced in the complexes of rhodium(III) than in the case of cobalt(III) complexes.

The results of a computer simulated docking between the HSA and *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)] and *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] complexes indicate that four hydrogen bonds make rhodium complex tightly bounded to HSA and quite safe for his transport to the target cells.

1. ОПШТИ ДЕО

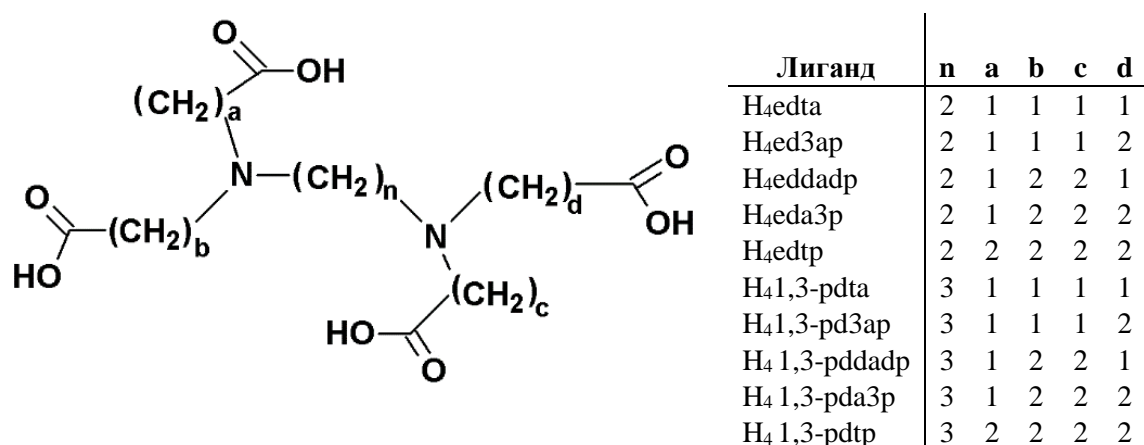
1.1 Аминополикарбоксилатне киселине као лиганди

1.1.1 Аминополикарбоксилатне киселине у координационој хемији и медицини

Аминополикарбоксилатне киселине су посебна група киселина која у свом саставу има два или више атома азота, као и две или више карбоксилних група (**Слика 1**). Атоми азота су угљоводоничним ланцима везани за карбоксилне групе, градећи на тај начин сложени молекул киселине. Оваква структура аминокполикарбоксилатних киселина омогућава њихово врло лако координовање за јоне различитих метала, при чему настају врло стабилни хелатни комплекси, а поменуте киселине називамо хелатима. Аминополикарбоксилатни лиганди имају широку примену у координационој хемији. Комплекси метала са овим лигандима се користе у области заштите животне средине [1-3], лабораторијама [4,5], индустријским процесима [6-8], биолошким системима [9-12] и у медицини [13-20]. Најпознатија и највише коришћена киселина из ове класе једињења је H_4edta (етилендиамин- N,N,N',N' -тетрасирћетна киселина). Ову киселину је први синтетисао Фердинанд Мунз (Ferdinand Münz) 1935. године [21]. H_4edta је најпре примењивана у текстилној индустрији за спречавање нечистоћа које потичу од јона метала које мењају боју обојених производа, али врло брзо је пронашла ширу примену. Тако се, H_4edta и слични лиганди користе за уклањање тешких метала из воде [22-25], као и из људског тела [26]. Комплекс Fe(II) са H_4edta има значајну улогу у процесу фотохемијског уклањања NO и процесима ослобађања NO_x [27]. Поред тога, Fe(II)-edta комплекс се користи за уништавање органских загађивача [28-30], као и за редукцију молекулског кисеоника у реактивне врсте кисеоника ($\text{ROS} = \text{Reactive oxygen species}$) [31-33].

Ови лиганди су нашли примену у медицини и фармакологији у лечењу тровања оловом [34] и живом [34], као и за уклањање других тешких метала, арсена, кадмијума, никла и гвожђа из организма [35]. Хелатна терапија се користи и за лечење таласемије, односно компликација које се јављају услед поновљених трансфузија крви. Комплекс хрома(III) (радиоактивни ^{51}Cr) $[\text{Cr(edta)}]^-$ се користи за процену функције бубрега, када се интравенски уноси у организам, при чему се прати брзина гломеруларне филтрације [36]. H_4edta се интензивно користи у анализи крви као антикоагулант при чему координативно

везује калцијум (Ca^{2+}) који је присутан у узорку крви, зауставља процес коагулације и чува морфологију крвних ћелија [37]. Болести крвотока, атеросклерозе [38], као и појава сенилности [39] у великој мери су лечене хелатним лигандима овог типа. Треба поменути значај ових киселина у лечењу Вилсонове (Wilson), Паркинсонове (Parkins) и Алцхајмерове (Alzheimer) болести, при чему је примећено значајно побољшање стања оболелих након терапије различитим хелатима [40], јер је узрок ових обољења нагомилавање јона метала са којима ове киселине граде врло стабилне комплексе. DMPE (*bis*-(1,2-диметил-фосфино)-етан комплексан са изотопом технецијума $^{99\text{m}}\text{Tc}$ у облику $[\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ се употребљава као замена за телур ^{201}Tl , који се користи као миокардијални агенс [41]. Међутим, подаци о антитуморском дејству ових киселина слободних или комплексаних са металима су врло оскудни.

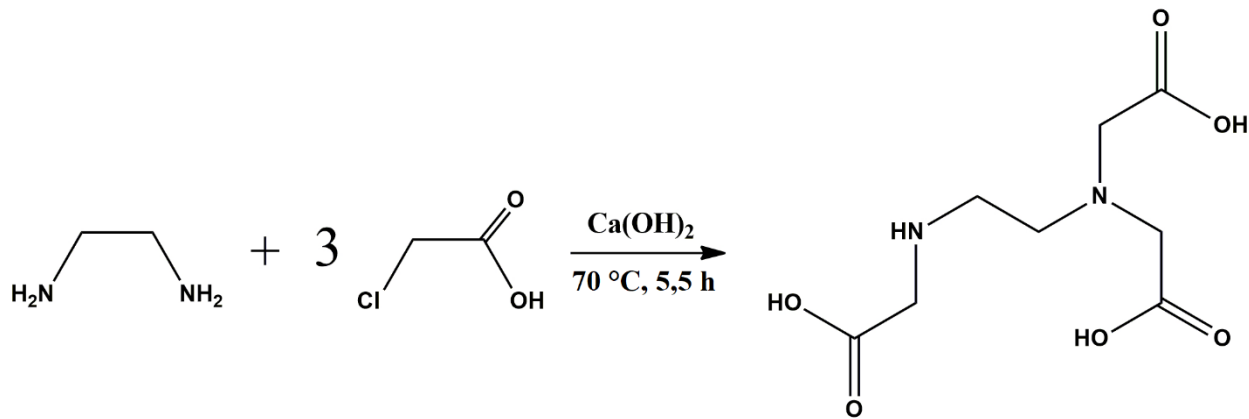


Слика 1. Општа формула аминополикарбоксилатних киселина са датим могућим комбинацијама прстенова.

1.1.2 Добијање аминополикарбоксилатних лиганата

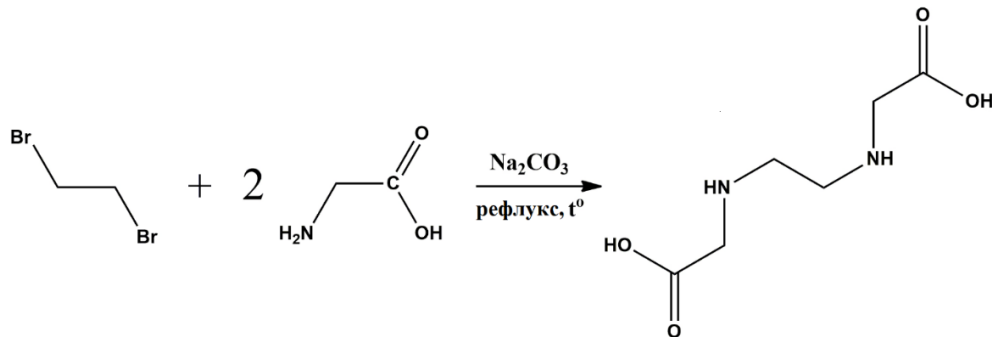
Аминополикарбоксилатне лиганде је могуће синтетисати на неколико начина, а најчешће коришћена метода је кондензација, било да се ради о кондензацији α - или β -монохалогенкарбоксилне киселине са одговарајућим алкилдиамином (Шема 1) или је у питању кондензација дихалоген деривата алкилдиамина са различитим аминокиселинама (Шема 2). Синтеза ових лиганата је процес који се одвија у више фаза, а колико ће фаза бити потребно зависи од сложености саме киселине, тј. од броја карбоксилатних ланаца

који се кондензују на диамин. Монохлоркарбоксилну киселину треба неутралисати у контролисаним условима (ниска температура), па додати диамин уз загревање и рефлуковање у трајању од неколико h (Шема 1):



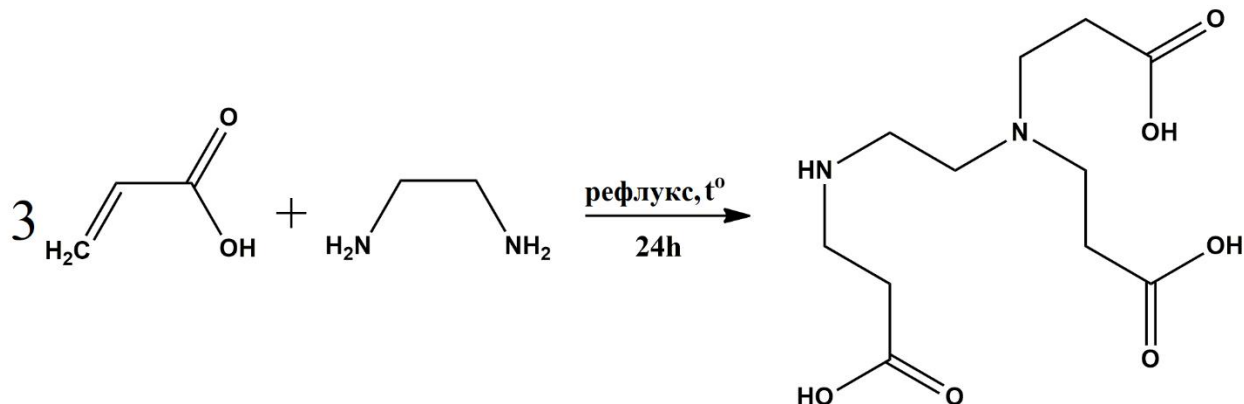
Шема 1. Кондензациона метода добијања аминополикарбоксилатних киселина из монохлоркарбоксилне киселине.

При томе, треба водити рачуна о температури, јер се на вишим температурама добијају симетрични хомолози, а на нижим несиметрични. Приноси су незавидни јер се добијају смеше киселина, а додатно су смањени у случају синтезе несиметричних киселина, као што су H₃ed3a (етилendiамин-*N,N,N'*-трисирћетна киселина) и H₃1,3-pd3a (1,3-пропандиамин-*N,N,N'*-трисирћетна киселина). Међутим, коришћењем Ca(OH)₂ у процесу неутрализације, долази до повећања приноса и до 90%, јер се гради калцијумова со лиганда, при чему се калцијум, након тога, врло успешно и лако одстрањује. Кондензација аминокиселина са етилендибромидом у присуству Na₂CO₃ се одвија коришћењем рефлукса пар сати, а коначан производ се добија хлађењем и подешавањем рН уз врло мали принос (Шема 2):



Шема 2. Кондензациона метода добијања аминополикарбоксилатних киселина из аминокиселине.

Реакција акрилне киселине и диаминa уз загревање и рефлукс у трајању од 24 h још једна је метода синтезе која је показала добре резултате (**Шема 3**):

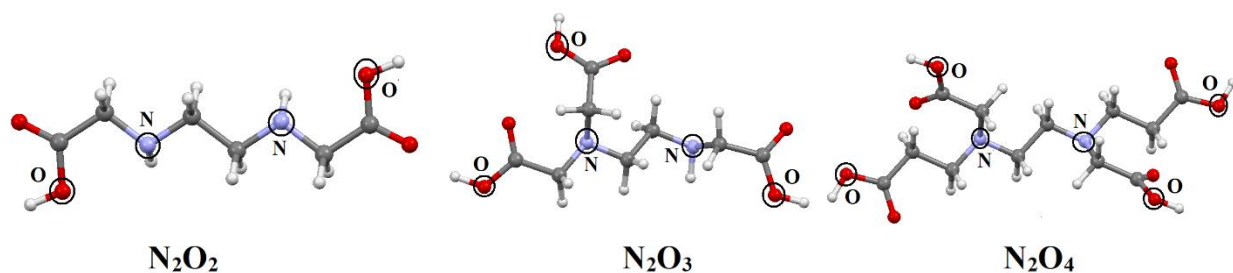


Шема 3. Кондензациона метода добијања аминополикарбоксилатних киселина из акрилне киселине.

1.1.3 Структурне варијације аминополикарбоксилатних лиганата

Аминополикарбоксилатни лиганди, као хелатни агенси, могу да граде комплексе са скоро свим јонима метала захваљујући присуству два атома азота и два атома кисеоника (N_2O_2 хромофора), три атома кисеоника (N_2O_3 хромофора) или четири атома кисеоника карбоксилних група (N_2O_4 хромофора) (**Слика 2**). У зависности од врсте хромофоре, аминополикарбоксилатни лиганди заузимају четири, пет или шест координационих места и могу се класификовати као тетрадентатни, пентадентатни и хексадентатни. Неки од ових лиганата су симетрични (H_2edda , $H_21,3-pdda$, H_4edta , $H_41,3-pdta$, $H_4eddadr...$), док је много већи број несиметричних лиганата које је теже и синтетисати, као што су H_3ed3a , $H_31,3-pd3a...$ Комбиновање карбоксилатних ланаца различитих дужина омогућава добијање великог броја различитих киселина са различитим распоредом и бројем група у оквиру једног молекула, па је због једноставнијег проучавања стереохемије хексадентатних комплекса аминополикарбоксилатног типа, извршена класификација лиганата у три велике групе:

- 1) N_4edta - N_4edtp група коју чине лиганди са структурним варијацијама у карбоксилатним ланцима и који при координацији за јон метала граде петочлани етилендиамински прстен: N_4edta , N_4ed3ap , $N_4eddadr$, $N_4-u-eddadr$, N_4eda3p , N_4edtp ;
- 2) $N_41,3-pdta$ - $N_41,3-pdtp$ група коју чине лиганди са структурним варијацијама у карбоксилатним ланцима и који приликом координацији за јон метала граде шесточлани 1,3-пропандиамински прстен: $N_41,3-pdta$, $N_41,3-pd3ap$, $N_41,3-pddadr$, $N_4-u-1,3-pddadr$, $N_41,3-pda3p$, $N_41,3-pdtp$;
- 3) Група лиганада аминополикарбоксилатног типа са структурним варијацијама у диаминским или карбоксилатним ланцима, где се убрајају N_2edda , N_2edap , N_2eddp , N_3ed3a , N_3eddap , N_3edadr , N_3ed3p , као и њихови 1,3-пропандиамински аналози.



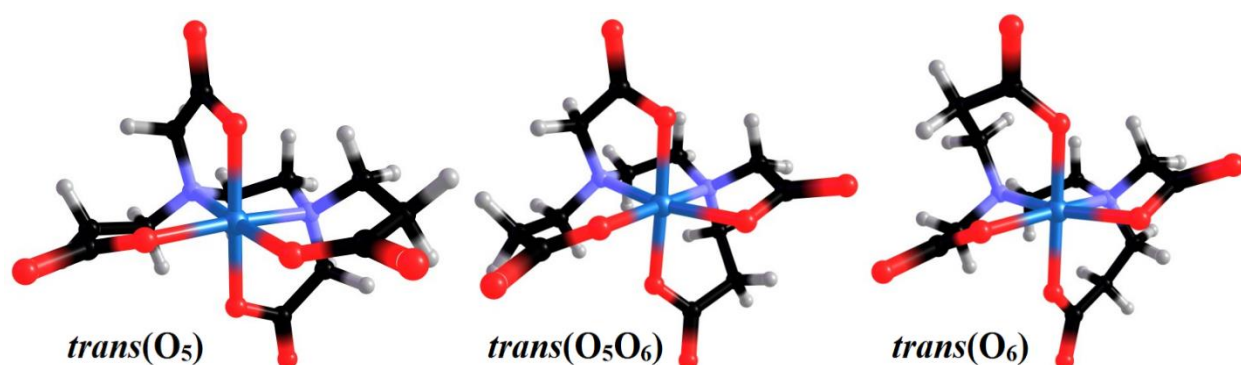
Слика 2. Приказ могућих хромофора аминополикарбоксилатних лиганада.

1.1.4 Геометријска изомерија хексадентатних аминополикарбоксилатних комплекса

Појам "хексадентатни комплекс" односи се на комплекс који садржи хексакоординоване лиганде $edta$ -типа, јер ови лиганди показују и друге могућности приликом координовања [42,43].

Различит просторни распоред лиганада, тј. његових донорских атома у односу на централни јон метала узрокује различиту геометријску изомерију комплекса. Код најпознатијег хексадентатног лиганда, N_4edta , могуће је формирање $trans(O_5)$ изомера, јер овај лиганд поседује само ацетатне групе и када се координује за метал може да награди искључиво петочлане прстенове. Међутим, када дође до замене карбоксилатних група тако да уместо свих ацетатних буду присутне и 3-пропионске групе, долази до формирања

неједнаких петочланих и шесточланих прстенова па је могуће формирање три изомера: $trans(O_5)$, $trans(O_5O_6)$ и $trans(O_6)$ (Слика 3).



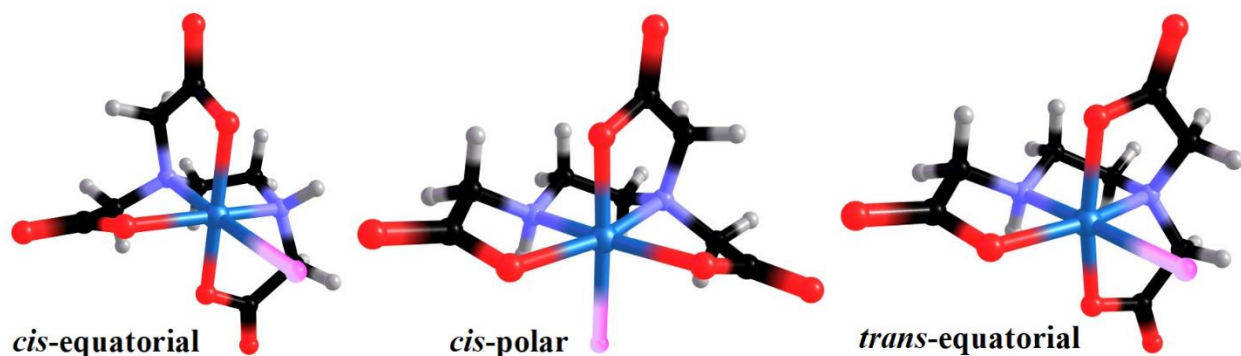
Слика 3. Геометријски изомеризам хексадентатних $[M(edta\text{-тип})]^n$ комплекса.

$H_4eddadr$ (етилендиамин- N,N' -диацетато- N,N' -ди-3-пропионска киселина) представља симетричан, хексадентатни лиганд из групе аминополикарбоксилатних лиганата. Добијена је 1972. године кондензацијом етилендиамин- N,N' -дисирћетне киселине и два пута веће количине 3-хлорпропионске киселине у воденом раствору КОН (Бајерсова метода (Byers) [43]). Изолована је у чистом стању. У односу на H_4edta , ова киселина има два дужа карбоксилатна 3-пропионска ланца и при свом координовању за јон метала формира три петочлана и два шесточлана хелатна прстена. Као што је већ наведено, очекивано је постојање три изомера који се међусобно разликују у распореду и броју прстенова у октаедарској равни (Слика 3). Литературни подаци показују да је фаворизован мање напет $trans(O_5)$ изомер у односу на преостала два [45-52], што је последица повољног распореда прстенова у равни 6-5-6. Фаворизована $trans(O_5)$ конфигурација захтева структуру у којој се флексибилнији 3-пропионски прстенови налазе у октаедарској равни. Прво су изоловани $trans(O_5)$ изомери комплекса Cr(III) [45] и Rh(III) [46], а врло брзо и комплекса Fe(III) [47]. Нешто касније су синтетисани комплекси Co(III) [48], Ni(II) [50], као и V(III) [51,52] чије су структуре потврђене X-ray анализом. Кристални облик $trans(O_5O_6)$ изомера комплекса који у свом саставу садржи овај лиганд изолован је у облику праха код Rh(III) [53] и Co(III) [54], док је X-ray структура $trans(O_6)$ изомера потврђена само у случају Ti(III) са присутном хексадентатном координацијом $H_4eddadr$ лиганда и водом у седмом координационом месту [55].

1.1.5 Геометријска изомерија пентадентатних аминополикарбоксилатних комплекса

Пентадентатни комплекси у свом саставу имају пентадентатне лиганде edta-типа, а шесто координационо место код октаедарских комплекса заузима неки монодентатни лиганд, најчешће хлорид или вода. Могући број изомера је три: *cis-equatorial*, *cis-polar* и *trans-equatorial* (Слика 4).

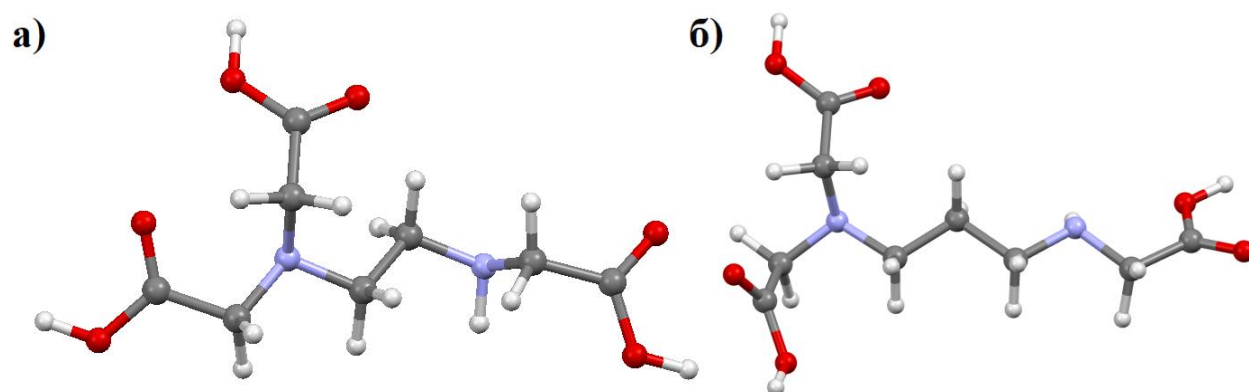
Пентадентатни лиганди су несиметрични јер не поседују ниједан елемент симетрије, немају центар симетрије, нису симетрични у односу на осу ротације за одређени угао, а немају ни раван која дели молекул на два једнака дела која се односе као предмет и лик у огледалу. Несиметричност код пентадентатних лиганада је последица структурних промена у диаминском или карбоксилатним ланцима.



Слика 4. Могући геометријски изомери пентадентатних $[M(\text{edta-тип})X]$ комплекса.

Од свих пентадентатних лиганада аминополикарбоксилатног типа, највише је проучаван $\text{H}_3\text{ed3a}$ (Слика 5а). Киселина је добијена у облику соли $\text{Ca}_3(\text{ed3a})_2$ кондензацијом етилендиаминa и хлорсирћетне киселине у воденом раствору $\text{Ca}(\text{OH})_2$ [56]. Поседује три карбоксилатне групе и приликом координације за јон метала гради четири хелатна петочлана прстена и то један етилендиамински и три ацетатна карбоксилатна. Сва три могућа геометријска изомера (Слика 4) имају C_1 молекулску симетрију. Прве комплексе, који су у свом саставу имали ed3a^{3-} лиганд, синтетисали су Лег (Legg) и сарадници 1969. године у облику серије комплекса кобалта(III) типа $[\text{Co}(\text{ed3a})X]$ ($X = \text{H}_2\text{O}$, Cl^- , NO_2^- , ONO^-) [57]. Уједно, први пут је кристална структура овог типа комплекса потврђена за $[\text{Co}(\text{ed3a})(\text{NO}_2)]^-$ 1973. године, при чему је овај комплекс означен као *cis-equatorial* изомер [58]. Након тога, наступа експанзија у синтезама ових комплекса па су

врло брзо синтетисани комплекси хрома(III), $[\text{Cr}(\text{ed3a})(\text{OAc})]^-$, $[\text{Cr}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})]^-$ [59] и $[\text{Cr}(\text{ed3a})(\text{NCS})]^-$ [60], али њихова структура тада није потврђена X-ray анализом. Сви поменути комплекси су означени као *cis-equatorial* изомери на основу анализе њихових NMR, IR и UV-Vis спектра, док су синтетисани комплекси кобалта(III) [61], бабра(II) [56], хрома(III) [62] и никла(II) [63] означени као *cis-equatorial* изомери са структурама потврђеним X-ray анализом. Једини *trans-equatorial* изомер је утврђен за $\text{K}[\text{Co}(\text{ed3a})(\text{CN})]$ комплекс [64] на основу анализе спектра. Такође, синтетисани су и окарактерисани црвени и љубичасти облици $[\text{Co}(\text{R-1,2-pd3a})(\text{NO}_2)]^-$ комплекса означени као *cis-equatorial* и *trans-equatorial* изомери [65]. У овом случају се $\text{H}_3\text{1,2-pd3a}$ (1,2-пропандиамин-*N,N,N'*-трисирћетна киселина) приликом координовања понаша аналогно $\text{H}_3\text{ed3a}$ киселини. Треба напоменути да су јако бројни комплекси типа $[\text{M}(\text{Hedta})\text{X}]$ који садрже хексадентатни H_4edta лиганд [42,66], али је координован пентадентатно па, на неки начин, ове комплексе можемо поистоветити.



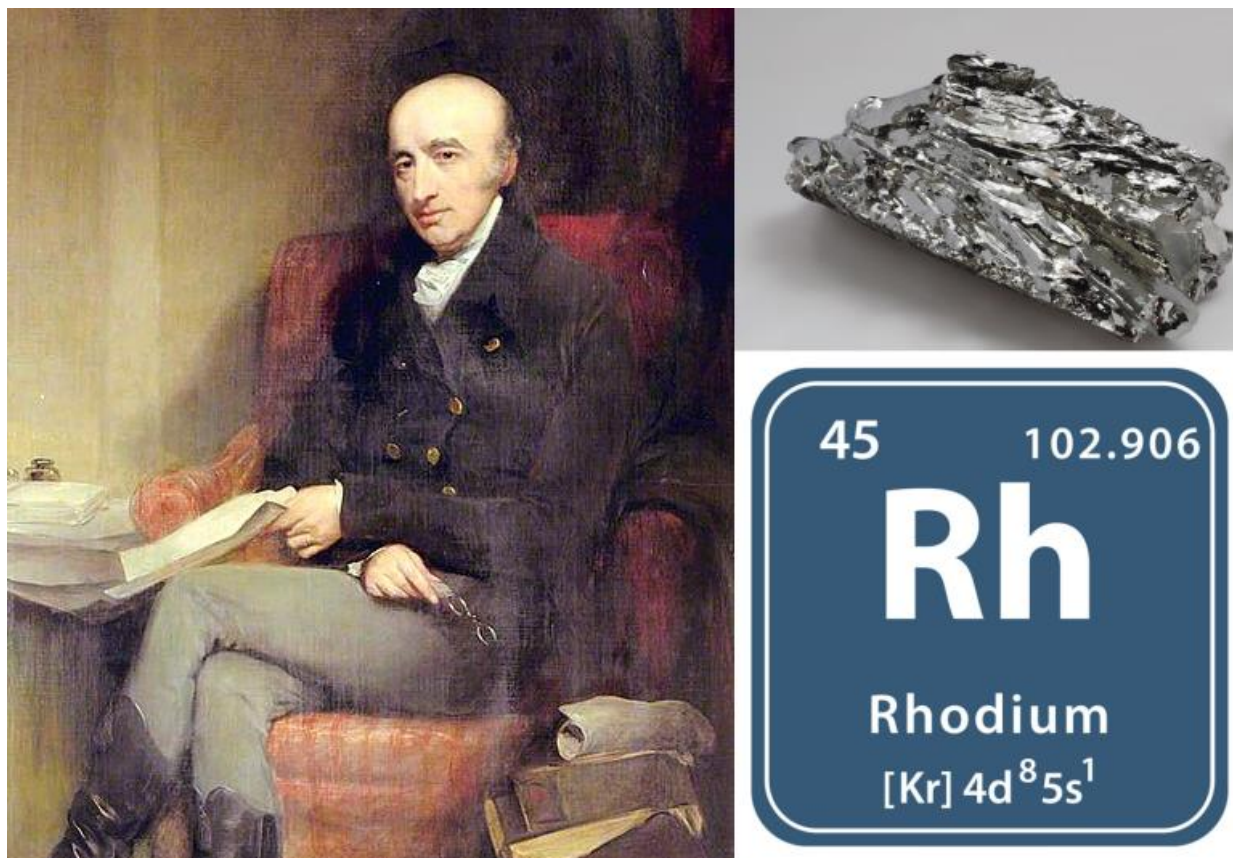
Слика 5. Молекулске структуре $\text{H}_3\text{ed3a}$ (а) и $\text{H}_3\text{1,3-pd3a}$ (б) киселина.

$\text{H}_3\text{1,3-pd3a}$ киселина припада истој серији као $\text{H}_3\text{ed3a}$, а разлика је само у диаминском ланцу који је овде продужен за један угљеников атом (Слика 5б). Добијена је кондензационом методом, али не као чиста, већ у облику кондензационе смеше која садржи 50% $\text{H}_3\text{1,3-pd3a}$, 23% $\text{H}_2\text{1,3-pdda}$ и 18% $\text{H}_4\text{1,3-pdta}$ [56]. Поседује три карбоксилатне групе и приликом координације за јон метала гради четири хелатна прстена и то један 1,3-пропандиамински и три ацетатна карбоксилатна. Сва три могућа геометријска изомера (Слика 4) имају C_1 молекулску симетрију. За разлику од $\text{H}_3\text{ed3a}$, овај лиганд није довољно проучен и коришћен у синтезама. Први комплекси ове врсте су синтетисани 1976. године од стране Фујите (Fujita) и сарадника [67] и то сва три изомера $[\text{Co}(\text{1,3-pd3a})(\text{H}_2\text{O})]$, $[\text{Co}(\text{1,3-}$

pd3a)(NH₃) и [Co(1,3-pd3a)Cl]⁻ комплекса, док је у случају [Co(1,3-pd3a)(CN)]⁻ синтетисан само *cis*-*polarg* изомер. Кристалне структуре нису добијене, већ само претпостављене на основу разлика у апсорпционим спектрима. Нешто касније је Даглас (Douglas) синтетисао прашкасти облик комплекса [Co(1,3-pd3a)(NO₂)]⁻ претпостављене *cis*-*equatorial* геометрије [68]. Ипак, неке структуре су потврђене X-гау анализом и то *cis*-*polarg* изомер комплекса [Ni(1,3-pd3a)(H₂O)]⁻ [69], док је једино у случају комплекса бакра(II) са овим лигандом изолован кристал [Cu(1,3-pd3a)]⁻ комплекса квадратно-пирамидалне геометрије (S_{py}, Square pyramidal) [56].

1.2 Стереохемија родијум(III) комплекса

Родијум је прелазни метал и један је од шест елемената платинске групе метала. Поред тога, племенити је метал, што значи да је отпоран према корозији и оксидацији, има високу тачку топљења (1964 °C), нетоксичан је и отпоран на хабање. Сматра се најређим металом на свету, па је скупљи од сребра, злата и платине. У Периодном систему лоциран је у 9. групи са 4d⁸5s¹ конфигурацијом. Открио га је енглески хемичар и физичар Вилијам Хајд Воластон (William Hyde Wollaston) 1803. године, врло брзо по открићу паладијума. Због боје својих соли, добио је име по грчком називу за ружу "rhodon". Откривена су 24 изотопа чије су масе у опсегу 94-117, али је постојан само изотоп ¹⁰³Rh који представља 100% природног састава изотопа родијума [70] (Слика 6). Око 80% светске производње родијума усмерена је на употребу у три-системским катализаторима у аутомобилима. Због своје велике отпорности према корозији и најагресивнијим хемикалијама, као и због своје реткости, обично се легира са платином или паладијумом и примењује у високо-температурним премазима који су отпорни на корозију.



Слика 6. Вилијам Хајд Воластон и његово откриће изотоп родијума ^{103}Rh .

Могућа оксидациона стања родијума су од -1 до +6 [71]. Комплекси родијума са оксидационим стањима -1 и 0 су врло ретки и то су карбонилни комплекси, као што је $[\text{Rh}(\text{CO})_4]^-$ [72] и кластерна једињења $[\text{Rh}_4(\text{CO})_{12}]$, $[\text{Rh}_6(\text{CO})_{16}]$ [73]. У овим комплексима координациони број износи 4, док је њихова геометрија тетраедарска и кластерна. Оксидационо стање +1 са конфигурацијом d^8 и координационим бројем 4 или 5 се јавља у комплексима родијума са терцијарним фосфинима (PPh_3), H^- јоном или са карбонилним лигандима (CO). То су комплекси квадратно-планарне геометрије (КБ = 4), $[\text{Rh}(\text{CO})_2\text{Cl}_2]^-$ [74] и тригонално-бипирамидалне геометрије (КБ = 5), $[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3]^+$ [75]. $\text{Rh}(\text{I})$ јон је значајан за процес оксидативне адиције до $\text{Rh}(\text{III})$. Комплекси родијума(II) су бројни, показују значајну биолошку активност и као такви су предмет интензивних проучавања. Геометрија комплекса, код којих је КБ = 4 је квадратно-планарна, а врло често су ти комплекси динуклеарни [76]. Геометрија комплекса у којима родијум има оксидациона стања +4, +5 и +6 је октаедарска (КБ = 6). Ипак, најдоминантије стање родијума је +3 (d^6 конфигурација последњег енергетског нивоа). Ова конфигурација је одговорна за формирање октаедарских

комплекса, у којима родијум(III) има координациони број 6. У воденом раствору родијум постоји као хексааква комплексни јон, $[\text{Rh}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$. Rh(III) јон је окарактерисан као тврдо-мека (прелазна) Луисова (Lewis) киселина и може градити стабилне комплексе са кисеоник- и азот-донорским лигандима (тврде Луисове базе), као што је случај са лигандима edta-типа. Први комплекс родијума са овим типом лиганда, $[\text{Rh}(\text{Hedta})(\text{H}_2\text{O})]$, синтетисали су Двајер и Гарван (Dwyer и Garvan) 1960. године [77], а његова структура је кристалографски потврђена 1973. године и указује на пентадентатну координацију лиганда [42]. Сем неутралног облика комплекса, његове амонијумове $\text{NH}_4[\text{Rh}(\text{edta})(\text{H}_2\text{O})]$ [77], калијумове $\text{K}[\text{Rh}(\text{edta})(\text{H}_2\text{O})]$ [77] и натријумове $\text{Na}[\text{Rh}(\text{edta})(\text{H}_2\text{O})]$ [78] соли су синтетисане и проучаване инфрацрвеним, спектрофотометријским, поларографским и потенциометријским техникама, као и X-рау анализом. Након ових комплекса, синтетисани су слични комплекси родијума са овим типом лиганда који имају структурне варијације у диаминском и карбоксилатним ланцима [37,42,43,46,53]. Пентадентатна координација лиганда примећена је само још код *cis-polar,trans(Cl,O₅)-Na₂[Rh(1,3-pddadp)Cl]* комплекса [43]. Комплекси родијума са пентадентатним лигандима edta типа нису проучавани.

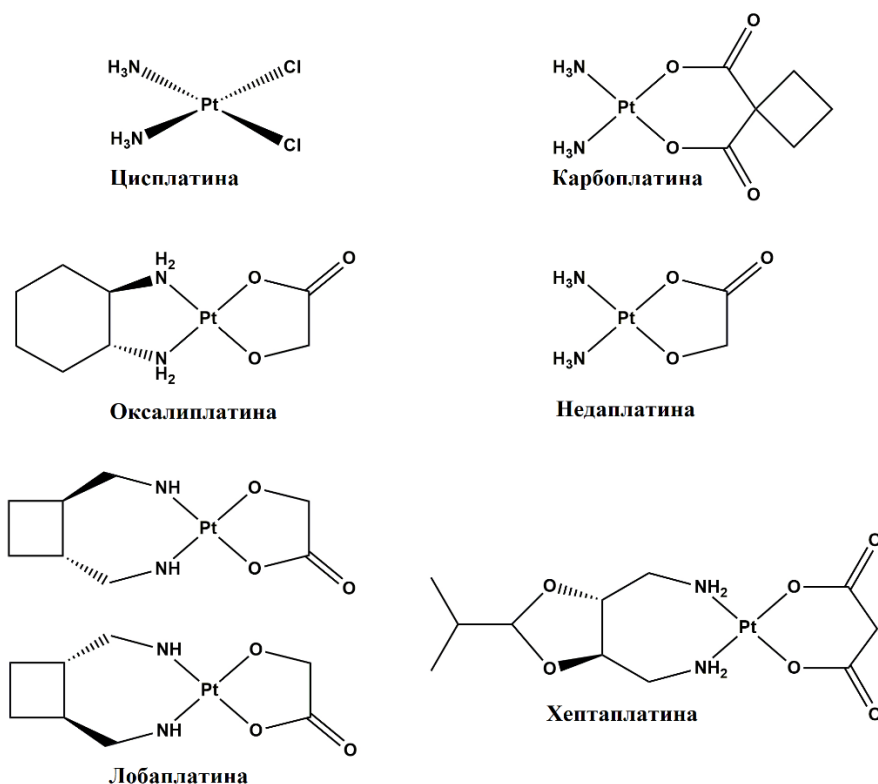
1.3 Примена метала у медицини и лечењу туморских болести

Лековита својства метала примећена су неколико хиљада година пре нове ере. Тако је суспензија рђе, тј. оксида гвожђа, коришћена за лечење импотенције још пре 3500 година, а друга једињења гвожђа као лек за анемију. Лековита својства злата и сребра су примећена још пре 2500 година за лечење инфекција, док су се за лечење сифилиса користила једињења арсена. Међутим, медицинска примена једињења метала дуго је била "под лупом" због њихових токсичних својстава. С друге стране, велики број јона метала је нормално присутан у организму и неопходан је за нормално функционисање организма (биоесенцијални метали), па поремећај њихових концентрација доводи до појаве разних болести. Ова чињеница сугерише да је неопходно успоставити равнотежу између терапијских бенефита и потенцијалних контраиндикација.

У савременом добу, ситуација је драстично промењена у корист једињења метала јер медицина данас подразумева примену великог броја агенаса на бази метала за лечење широког спектра обољења. Тако се једињења волфрама користе у терапији оболелих од

НIV-а [79], комплекси бабра са хелатима у лечењу Вилсонове болести [80], а цинк(II)-једињења у лечењу херпеса [81]. У лечењу реуматоидног артритиса се користе једињења злата(I) [82], код гастроинтестиналних поремећаја једињења бизмута(III), комплекси ванадијума за лечење дијабетеса, док се за успостављање равнотеже у организму користе додаци исхрани базирани на мангану, селену и калцијуму. Осим поменуте примене, једињења метала су важна и у дијагностици где се користе као контрастни реагенси, па се тако гадолинијум(III), гвожђе(II) и манган(II) комплекси примењују у спектроскопији магнетном резонанцом [83], док се једињења на бази радиоактивних изотопа ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{57}Co , ^{67}Ga , ^{97}Ru и ^{103}Ru детектују у γ -сцинтилационим камерама [84].

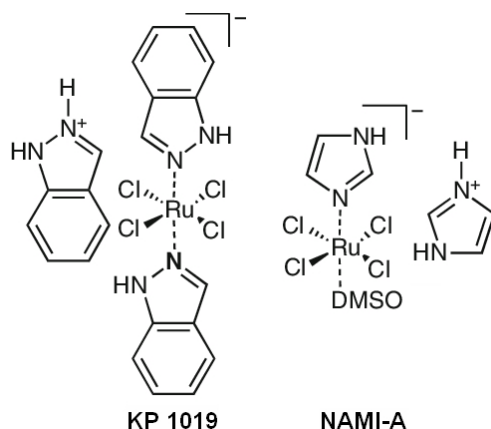
Примена једињења метала у терапеутске сврхе доживела је експанзију након случајног Розенберговог (Barnett Rosenberg) открића антитуморске активности цисплатине 1969. године [85]. Наиме, Розенберг је разматрао ефекте електричног поља на раст бактерије *Escherichia coli*, при чему је приметио да бактерије престају да се деле када се поставе у електрично поље. За ову појаву било је одговорно једињење *cis*-диамминдихлоридоплатина(II) (Слика 7) које је настало у реакцији између платинске електроде и амонијум-хлорида из пуфера. Механизам дејства се огледа у блокирању репликације ДНК, што за последицу има заустављање деобе ћелија. Цисплатина је откривена још 1845. године [85], али је њено антитуморско дејство објашњено тек 1970. године [85,86], а за медицинску употребу одобрена 1978/1979. Након 50 година од открића хемотерапеутског дејства, цисплатина је још увек један од најкомерцијалнијих антитуморских агенаса.



Слика 7. Структуре комплекса платине са применом у медицини.

Спектар деловања цисплатине је веома широк, користи се у лечењу тумора тестиса, главе и врата, јајника, бешике, грлића материце, лимфома, једњака, плућа, мозга и неуробластома [87]. Међутим, примена цисплатине је ограничена, јер многи тумори показују резистенцију која може бити унутрашња или стечена. Поред тога, цисплатина је веома токсична, изазива мучнину, супресију коштане сржи, проблеме са слухом и са бубрезима [88,89]. Друге озбиљне нуспојаве укључују укоченост, потешкоће у ходу, алергијске реакције, проблеме са електролитима и срчане болести. Ове нуспојаве су навеле научнике широм света да раде на проналажењу новог агенса који би показао мању токсичност, а већу ефикасност деловања. До сада је синтетисан велики број комплекса платине који су испитивани различитим ћелијским линијама и који су показали антитуморску активност, али је само њих неколико дошло до фазе клиничког испитивања, а поред цисплатине неколико њених аналога је одобрено за клиничку примену, карбоплатина (carboplatin), оксалиплатина (oxaliplatin) [90], недаплатина (nedaplatin) [91], хептаплатина (heptaplatin) [92] и лобаплатина (lobaplatin) [93] (Слика 7).

Сем лекова на бази платине, рађено је на синтези нових антитуморских агенаса, базираних на другим прелазним јонима метала, као што су осмијум(II), рутенијум(II), злато(I/III), родијум(II/III), паладијум(II) и многи други. Значајне резултате су показали комплекси рутенијума(III) са имидазолским лигандима: $[\text{HIm}]\{\text{trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Im})(\text{DMSO})]\}$ (NAMI-A, Im = имидазол) [94] и $[\text{HInd}]\{\text{trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Ind})_2]\}$ (KP1019, Ind = индазол) [95] који су у фази клиничког испитивања (Слика 8).



Слика 8. Структуре Ru(III) комплекса који су у фази клиничког испитивања.

Иако су комплекси злата(I) углавном применљиви као агенси за лечење реуматоидног артритиса, они се испитују и као потенцијални антитуморски агенси [96]. Тако су неки тетраедарски злато(I) комплекси са фосфор-донорским лигандима показали значајну антитуморску активност *in vivo* и *in vitro*, а посебно на неким ћелијским линијама које су резистентне на цисплатину [96]. Чињеница да су комплекси злата(III) изоелектронски и изоструктурни са платина(II) комплексима, довела је до експанзије у синтези ових једињења и до њиховог биолошког испитивања. Нестабилност и лака редукција ових комплекса у физиолошким условима представља ограничавајући фактор њихове примене [97]. Међутим, последњих година синтетисани су комплекси Au(III) са тетраарилпорфиринским лигандима који стабилизују Au(III) центар [98,99].

Комплекси паладијума(II) су посебно интересантни због своје сличности са комплексима платине(II) у погледу геометрије и процеса формирања. Комплекси паладијума са моноетилфосфонатним и диетилфосфонатним лигандима међу првима су показали су значајну активност када су комплекси овог метала у питању [100]. Значајни су и комплекси Pd(II) са пиридинским, анилинским, аминским лигандима, затим природним

производима [100], као и 1,10-фенантролином [101] показујући цитотоксичност која се може поредити са цисплатином. Комплекси паладијума са Шифовим базама и дитиокарбаматима [102], тиосемикарбазонима [102] и карбоксаимидима (деривати диамида оксалне и малонске киселине) [103,104] показали су значајне резултате антитуморских испитивања, а неки од њих чак и бољу селективност у односу на цисплатину.

Откриће цисплатине и њене активности довело је до развоја гране хемије која се зове медицинска неорганска хемија. Ова област данас привлачи велику пажњу с обзиром на све већи број људи оболелих од различитих врсти тумора [105]. Истраживања се заснивају на следећим принципима:

а) синтеза комплекса метала у сврху заштите лека од деградације коју могу изазвати ензими нормално присутни у организму;

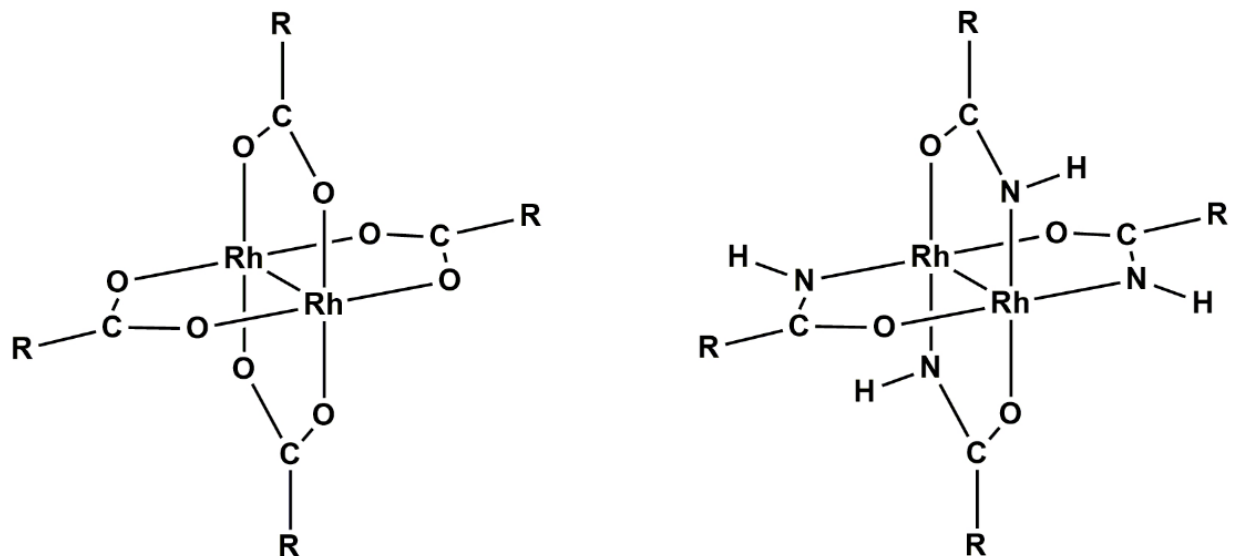
б) синтеза комплекса метала који ће показивати боље хидрофобне или хидрофилне особине у поређењу са слободним лигандом у циљу поспешивања транспорта кроз ткива;

в) синтеза потенцијалних лекова на бази комплекса метала који ослобађају активну супстанцу у циљаним органима, при чему се тежи да активност буде појачана комбиновањем особина лиганда и јона метала.

На овим принципима заснивају се вишедеценијски напори истраживачких група широм света да дизајнирају и синтетишу потенцијалне терапеутске и дијагностичке агенсе на бази јона метала [106].

1.4 Биолошка активност родијум(III) комплекса

Успех цисплатине као антитуморског агенса подстакао је многе истраживачке групе широм света да своје напоре усмере на синтезу других клинички важних комплекса метала [89,107,108]. Велика пажња је посвећена металима из платинске групе, тј. њиховим комплексима, укључујући и комплексе родијума. Електронске конфигурације родијум(I), родијум(II) и родијум(III) јона (d^8 , d^7 и d^6) говоре у прилог чињеници да су изоелектронски са рутенијум(II), платина(II) и платина(IV) јонима, чији комплекси показују значајну антитуморску активност [109,110]. Динуклеарни комплекси родијума(II) детаљно су испитивани, а њихова физичко-хемијска својства и реактивност су такви да припадају најперспективнијим антитуморским комплексима (Слика 9) [111-113].

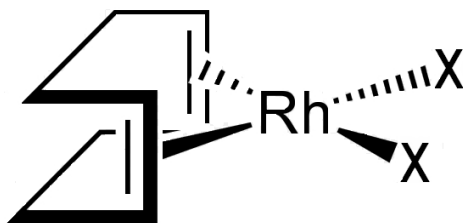


Слика 9. Структуре димерних комплекса Rh(II)-карбоксилата и амидата.

Бер (Bear) и сарадници први су показали да комплекси родијума(II) показују значајну цитостатичку активност против саркома и лимфоцитне леукемије у многим *in vitro* и *in vivo* испитивањима [114-119]. Системска анализа односа структура-активност серије динуклеарних родијум(II)-тетракарбоксилата сугерише да се антиканцерогена активност генерално повећава са липофилношћу као резултат продужавања карбоксилатног ланца, али се смањује када карбоксилат има више од 5 C атома [112]. Липофилнији молекули лакше пролазе кроз ћелијску мембрану и на тај начин лакше долазе до циља. Нешто касније су динуклеарни родијум(II)-тетракарбоксилатни комплекси (Слика 9) коришћени за даљу синтезу комплекса који би били растворни у води и то тако што је нови лиганд координан у *para* положају у односу на карбоксилат. Тако су добијени адукти са изоникотинском киселином, у којима је координан азот из пиридина у супротном положају у односу на једну карбоксилну групу [120]. Растворљивост родијум(II)-карбоксилата у води проистиче из интеракција између растварача и врста на аксијалним положајима. Ови комплекси и даље показују антитуморску активност, а изоникотинска киселина служи као транспортер комплекса метала до ћелије у случају присуства липида у крви. Касније је синтетисан велики број антитуморски активних деривата динуклеарних комплекса родијума(II) који у свом саставу имају додатне различите лиганде као што су нитроимидазоли [121] и фенантролини [122]... Карбоксилатни комплекси са лигандима који су деривати шећера, Rh(II) кето-глуконат ($C_6H_{10}O_7$) и глукуронат ($C_6H_9O_7$), као и њихови адукти

циклофосфамида су показали активност на К-562 ћелијама (хронична мијелоидна леукемија) [123]. Поред тога, синтетисани су и испитивани Rh(II)-амидати $[\text{Rh}_2(\text{CF}_3\text{CONH})_4]$ [124] и аденозински комплекси $[\text{Rh}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4(1\text{-метиладенозин})_2]$ [125]...

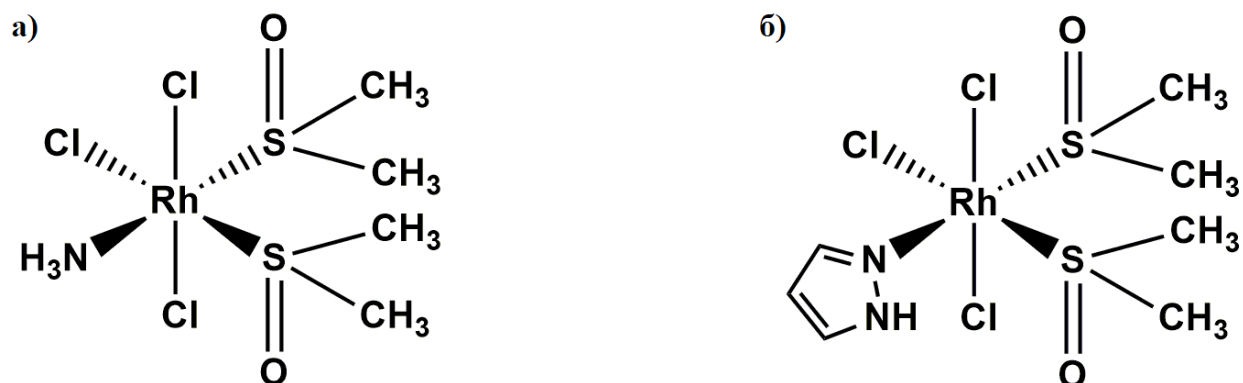
Родијум(I) комплекси су мање заступљени, али неки од њих показују значајну антитуморску активност. Треба поменути органометалне неутралне квадратно-планарне циклооктадиенске комплексе $[\text{RhCl}(\text{COD})(\text{NH}_3)]$ и $[\text{RhCl}(\text{COD})\text{-пиперидин}]$ (COD = *cis*-1,5-циклооктадиен) [126], квадратно-планарни ацетилацетонатни дериват $[\text{Rh}(\text{acac})(\text{COD})]$ [127], квадратно-планарни $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{PMI})]\text{Cl}$ (PMI = 2-пиридиналметилимин), $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{PEI})]\text{Cl}$ (PEI = 2-пиридиналетилимин), и $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{PIP})]\text{Cl}$ (PIP = 2-пиридинализопропилимин) [128] (Слика 10), $[\text{Rh}(\text{CO})_2\text{L}]$ (L = сулфонамидни деривати) [129] и $[\text{Rh}(\text{CO})_2(\text{DPA-dtc})]$ (dтс = дитиокарбамат и DPA = дифениламин) [130]...



Слика 10. Структура $[\text{Rh}(\text{COD})\text{X}]_2$ комплекса: X = Cl, NH_3 , acac, PMI, PEI, PIP...

Родијум(III) координациона једињења су изоелектронска са Ru(II) и Pt(IV) комплексима. Генерално, ови комплекси су октаедарски и инертни, али многи Rh(III) комплекси показују значајну антитуморску и антимицробну активност. Ранији недостатак интересовања за антитуморску активност родијум(III) комплекса често се приписује кинетичкој инертности нискоспинског $4d^6$ јона метала, али и високој општој токсичности и малој растворљивости [113]. Први подаци о антитуморској активности Rh(III) једињења појавили су се пре Розенберговог открића цисплатине и односили су се на со, $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [131]. Оксалил хомоцистеин тиолактон, један од *N*-супституисаних деривата хомоцистеин тиолактона, формира комплекс са родијум(III)-хлоридом (РОНТ) који, такође, показује антинеопластичну активност код мишева са трансплантираним рабдомиосаркомом (тумор скелетних мишића) [132]. Комплекси типа $[\text{RhL}_4\text{Cl}_2]\text{Cl}$ (L = сулфа-хиноксалин) се потенцијално могу применити у лечењу хиперпластичне нодулигенезе јетре [133]. Бројни

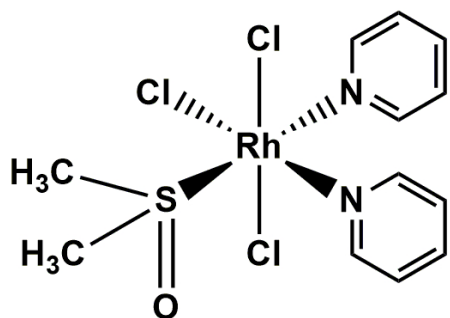
родијум(III) аналози антитуморских комплекса рутенијума(III), такође, показују антинеопластичну активност. Сматра се да се рутенијум(III) комплекси активирају њиховом редукцијом до рутенијума(II), што је мало вероватно када су у питању родијум(III) комплекси, што може објаснити њихову генерално мању активност [113]. Као и *fac*-[RuCl₃(NH₃)₃], *mer*-[RhCl₃(NH₃)₃] је такође активан, али нерастворан у води [134]. Комплекси *mer*, *cis*-[RhCl₃(DMSO)₂(NH₃)] и *mer*, *cis*-[RhCl₃(DMSO)₂(Im)] (Im = имидазол) [135] су антитуморски активни (Слика 11), док *mer*, *cis*-[RhCl₃(DMSO)(Im)₂], Na{*trans*-[RhCl₄(DMSO)(Im)]} и [HIm]{*trans*-[RhCl₄(Im)₂]} не показују активност [135].



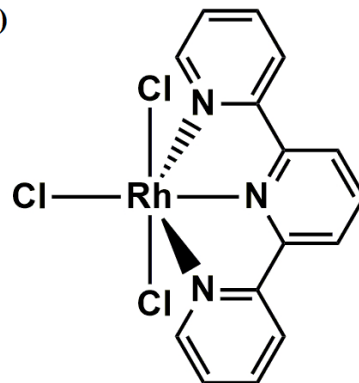
Слика 11. Структуре антитуморских Rh(III) комплекса: *mer*, *cis*-[RhCl₃(DMSO)₂(NH₃)] (а) и *mer*, *cis*-[RhCl₃(DMSO)₂(Im)] (б).

Комплекси Na{*trans*-[RhCl₄(DMSO)(Im)]} и Na{*trans*-[RhCl₄(DMSO)(Im)]}·2DMSO незнатно инхибирају раст примарног тумора дојке имплантираног код мишева при чему други комплекс може инхибирати метастазе овог тумора у плућима [135,136]. Значајна инхибиција раста ћелијске линије P388 леукемије код мишева постигнута је применом структурно аналогног пиридинског комплекса *mer*, *cis*-[RhCl₃(DMSO)(py)₂] [137] (Слика 12а), док меридионални комплекс *mer*-[RhCl₃(tpy)] (tpy = 2,2':6',2''-терпиридин) показује изражену цитотоксичност према ћелијама карцинома дојке и леукемије [138] (Слика 12б).

а)



б)

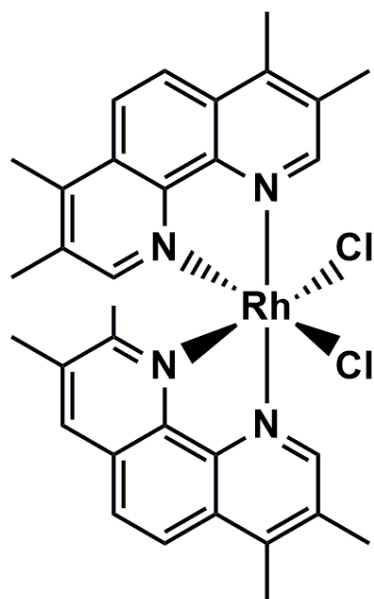


Слика 12. Пиридински и терпиридински Rh(III) комплекси: *mer, cis*-[RhCl₃(DMSO)(py)₂] (а) и *mer*-[RhCl₃(tpy)] (б).

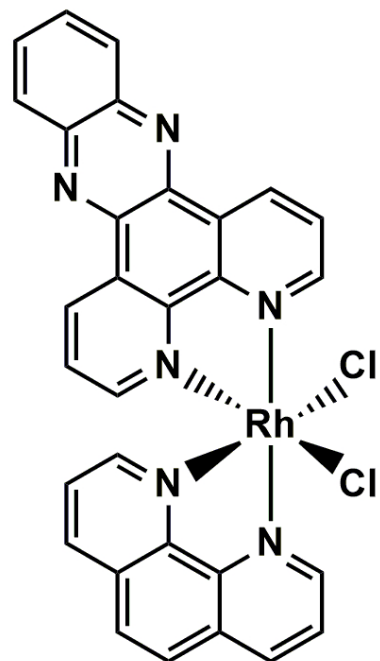
Међутим, на примеру комплекса *fac*-[RhCl₃([9]aneNS₂)] ([9]aneNS₂ = 1-aza-4,7-дителиациклононан) који је показао сличну активност као цисплатина на ћелијској линији тумора јајника NuTu-19, доказано је да меридионални распоред хлоридо лиганда није предуслов за антитуморску активност [139]. Тако је незанемарљива активност примећена код *fac*-[RhCl₃(DMSO)(bpy)] и *mer*-[RhCl₃(DMSO)(phen)] комплекса (bpy = 2,2'-бипиридин и phen = 1,10-фенантролин) на канцеру дебелог црева и канцеру плућа [140].

Bis(бипиридил)родијум(III) комплекси као што су *cis*-[RhCl₂(dppz)(phen)]Cl (dppz = дипиридофеназин) [141] и *cis*-[RhCl₂(3,4,7,8-Me₄phen)₂]Cl [142] детаљно су испитивани као потенцијални агенси у фототерапији туморских обољења (Слика 13). Фотоактивирани агенси нуде атрактивну терапеутску стратегију која смањује оштећење нормалног околног ткива омогућавањем временске и просторне контроле над токсичношћу. Дајсон (Dyson) је испитивао активност Rh(III) полу-сендвич комплекса [Rh(η⁵-C₅Me₅)Cl₂(PTA)] (PTA = 1,3,5-триаза-7-фосфатрицикло-[3.3.1.1]декан) [143] који су аналогни антиметагастатским једињењима Ru(II) [Ru(η⁶-супене)Cl₂(PTA)](RAPTA-C) [144], али који нису показали активност. Неактивност је утврђена и за монохлоридо комплекс [Rh(η⁵-C₅Me₅)Cl(PTA)]⁺. Комплекси родијума(III) са 8-хидроксихинолином и његовим дериватом, 5-бромо-8-хидроксихинолином, показали су завидну активност на Т-24 ћелијској линији (рак мокраћне бешике) [145].

а)



б)



Слика 13. Структуре дихлоридородијум(III) комплексних катјона $cis\text{-}[\text{RhCl}_2(3,4,7,8\text{-Me}_4\text{phen})_2]^+$ (а) и $cis\text{-}[\text{RhCl}_2(\text{dppz})(\text{phen})]^+$ (б).

Међутим, када су у питању комплекси родијума(III) са лигандима edta-типа, испитивања антитуморске активности практично и не постоје.

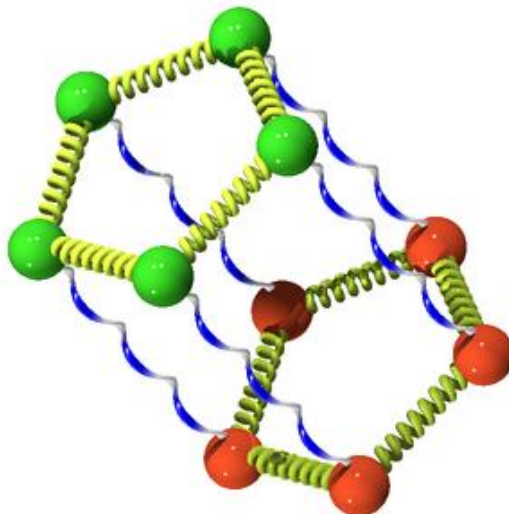
Иако су тек недавно добили значајну пажњу, комплекси Rh(III) показују различита својства која их чине занимљивим као потенцијалним антиканцерогеним агенсима. Њихова реактивност, преференције везивања и понашање према ћелијама, у великој мери, зависе од комбинације лиганда и координационе геометрије, што омогућава значајан опсег у дизајну лекова и развоју водећих супстанци. Понашање неких комплекса сугерише да интеркалација ДНК не мора нужно бити предуслов за изванредну цитотоксичност [146]. Коначно, већина досадашњих резултата иде "на руку" потенцијалној примени комплексних једињења родијума(III) у терапији туморских обољења. С тим у вези, највећи задатак је унапређење дизајнирања самих система. Комплекси би требали да буду добро растворни, стабилни, да буду веома липофилни у биолошким системима, али да, у исто време, изазивају што мање споредних ефеката. На крају, треба посебну пажњу посветити избору лиганда који представљају главне елементе који утичу на постизање наведених циљева.

1.5 Компјутерска хемија

Компјутерска хемија је грана науке која нам може дати податке који су у сагласности са подацима добијеним експерименталним путем, а који се односе на структурне карактеристике, особине супстанци, а могуће је добити информације о реакционом механизму саме реакције. Молекулским моделирањем могуће је креирати молекуле, манипулисати њима, израчунавати и предвиђати њихове реалне структуре, а на вишем нивоу могуће је симулирати различите биолошке процесе. Рачунарске методе хемије се могу поделити у две велике групе: молекулска механика [147] и квантна механика [148], а даље се квантна механика грана на: *ab initio*, семи-емпиријске методе и DFT (Density Functional Theory - Теорија функционала густине).

1.5.1 Молекулска механика (ММ)

У основи, молекулска механика се базира на законима класичне физике, па се може рећи да она занемарује утицај електрона. Молекулско-механичке методе спадају у емпиријске методе. ММ молекул третира као скуп кугли. Кугле представљају атоме различите величине у зависности од врсте атома (врста хемијског елемента). Атоми се међу собом држе заједно опругама, тј. везама (Слика 14) [149]. У оваквим системима везе сеprotиве процесу истезања или савијања у односу на њихове природне дужине и углове у самим молекулима, што се манифестује променом енергије у односу на промену геометрије. Поједностављено, ММ тежи да открије геометрију молекула који има минималну енергију (конформер у случају флексибилних молекула) и у ту сврху користи механички модел (Слика 14). Молекулска механика се врло често назива и force field метода или метода поља силе јер су и параметри и само математичко изражавање енергије одређени јачином поља.

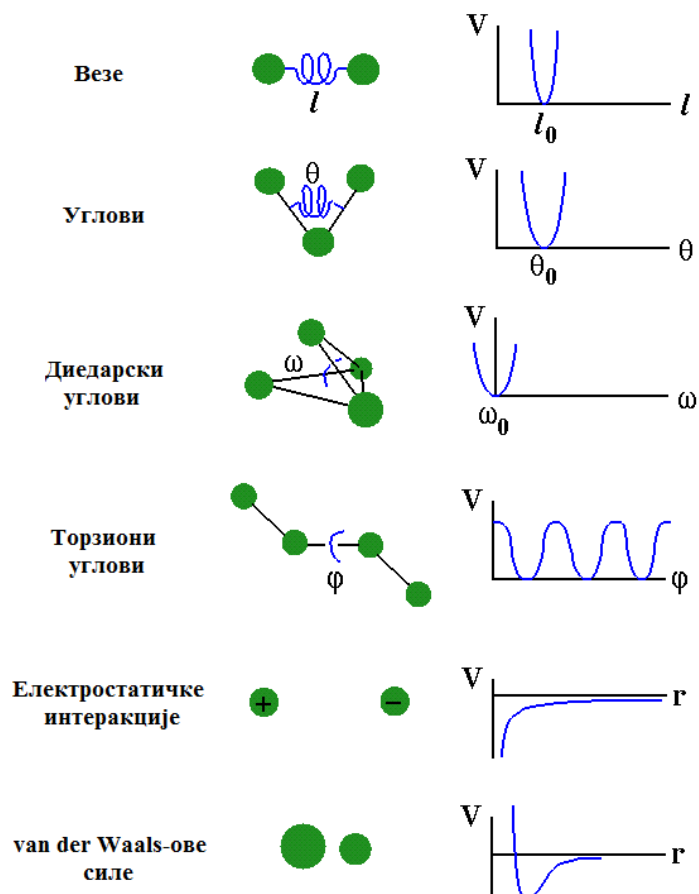


Слика 14. Молекулско-механичка презентација молекула (force field метода)

Укупна енергија система у молекулској механици се може приказати кроз прост математички израз (поље силе):

$$E(\mathbf{r}^N) = \sum_{bonds} \frac{k_{li}}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{angles} \frac{k_{\theta i}}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{torsions} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma)) + \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left(4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right) + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (1)$$

Из израза се може видети да је потенцијална енергија система једнака збиру различитих доприноса који се односе на везивне и неvezивне интеракције. Истеzaње или сабијање веза, савијање углова веза, увијање углова веза, тј. торзије (диедарски углови) спадају у везивне интеракције, док у неvezивне спадају Кулонове (Coulomb) и Ван дер Валсове (van der Waals) интеракције. Сви наведени доприноси приказани су на Слици 15.



Слика 15. Приказ доприноса везивних и неvezивних интеракција у молекулој механици поља силе: истезање веза, савијање углова, торзије и неvezивне интеракције.

Моделирање везе међу атомима диктира први члан једначине (1) и то тако што користи хармонијски потенцијал. Хармонијски потенцијал повећава енергију у зависности од одступања дужине везе l_i у односу на референтну вредност $l_{i,0}$. Други члан једначине је добијен простом хармонијском апроксимацијом и представља суму над сваким образованим валентним углом који граде три атома у случају да су два атома у молекулу међусобно повезана неким трећим (Слика 15). Следећи члан једначине се односи на диедарски, односно торзиони угао, где се промена енергије дешава у зависности од ротације везе. Ротација око просте везе може мењати торзиони угао од $0 - 360^\circ$, што за последицу има промену геометрије и енергије молекула. И на крају, последњи или четврти члан ове једначине је неvezујући и односи се на интеракције атомских парова (i и j) који нису директно везани нити су везани заједничким атомом (раздвојени са најмање три везе). Овај

члан користи Кулонов потенцијал за електростатичке интеракције, а за Ван дер Валсове интеракције користи Ленард-Џонсов (Lennard-Jones) потенцијал. Напреднија и финија поља силе могу имати додатне чланове, али и они сами у основи морају имати претходно наведена четири члана.

ММ се може применити за израчунавања геометрија, али и енергија малих и средњих молекула, затим за израчунавање полазних геометрија за даља израчунавања, ретко за израчунавање геометрија и енергија прелазних стања, за извођење функције потенцијалне енергије у случају кретања молекула у пољу молекулске динамике, за израчунавање геометрија и енергија полимера... Предности ММ су у томе што је брза метода, а у хардверском смислу могуће је извршити израчунавања и на средње опремљеним рачунарима, где се добијају задовољавајући резултати. Основна мана ММ-а је што не узима у обзир електроне, па не може дати информацију о облику и енергијама молекулских орбитала, нити о изгледу електронског спектра. Исто тако, параметризација поља која је урађена за једну врсту једињења не може бити примењена на неке друге класе, а то може довести до добијања погрешних геометрија и енергија. Овај проблем се може превазићи додатком молекула или јона растварача у систем који се испитује.

1.5.2 Квантна механика (QM)

1.5.2.1 Ab-initio

Ab-initio је метода која се заснива на есенцијалним квантно-механичким принципима (**Ab-initio** = *први принцип*). Шредингерова (Schrödinger) једначина представља базу квантно-механичких прорачуна:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (2)$$

где је \hat{H} - Хамилтонијанов оператор, E - енергија атома или молекула, а Ψ - таласна функција.

За било који молекул који садржи M нуклеуса и N електрона без присуства електричног и магнетног поља, Хамилтонијан се може изразити као:

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \frac{1}{2} \sum_{A=1}^M \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (3)$$

У претходном изразу (3) први и други члан се односе на кинетичку енергију језгара и електрона, а преостала три на потенцијалну енергију електростатичких интеракција међу језгрима и електронима. Лапласов (Laplas) оператор ∇^2 (nabla) изражен је као збир других извода функције (у координатама картезијана) (4):

$$\nabla^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \quad (4)$$

Међутим, када се ради о системима који се сложенији од водоника, неопходно је увести додатне апроксимације како би Шредингерова једначина била решена и то, Борн-Опенхајмерова (Born-Oppenheimer), Хартри-Фокова (Hartree-Fock) и Линеарна комбинација атомских орбитала (LCAO).

1.5.2.2 Теорија функционала густине (DFT = Density Functional Theory)

Почеци развоја DFT теорије везују се за радове Томаса и Фермија (Thomas и Fermi) из 1920. године [150]. У основи њихове теорије стоји да енергија основног стања система у коме се крећу електрони може бити директно изражена и то само у односу на густину електрона. Много касније су Хохенберг и Кон (Hohenberg и Kohn) [151] дошли до своје теореме (прва Хохенберг-Коновна теорема) из које се може видети да се енергија основног стања може одредити само одговарајућом густином електрона $\rho(\mathbf{r})$:

$$E = E[\rho(\mathbf{r})] \quad (5)$$

Друга теорема Хохенберга и Кона израчунава енергију покуравајући се варијационом DFT принципу: густина која минимизира укупну енергију $[\rho_{\text{trial}}]$ виша је или једнака густини основног стања:

$$E[\rho_{\text{trial}}] \geq E[\rho] \quad (6)$$

Из наведеног се може закључити да енергија електрона заједно са густином основног стања могу бити израчунате без примене Шредингерове једначине.

Међутим, у практичној употреби DFT-а користи се Кон-Шамов приступ (Kohn и Sham) [152]. DFT је егзактна теорија, али не даје практичан рецепт како се добија густина ако не знамо таласну функцију, а ни како се од густине добија енергија. То је због тога што се не зна форма универзалног функционала. Зато се уводе апроксимације за форму функционала, тзв. функционали измене и корелације, који су, нажалост, апроксимативни. У приступу Кона и Шама једначине које се решавају су јако сличне Хартри-Фок методи, али се уместо егзактног интеграла измене уводе апроксимативни функционали. Предност DFT методе је што, иако измена није егзактна, DFT укључује велики део првенствено динамичке корелације, који је у потпуности одсутан у Хартри-Фок теорији. Генерално, измењиво-корелациони функционали могу се поделити у три групе: 1) функционали засновани на апроксимацији локалне густине (LDA = Local Density Approximation) и локалне спинске густине (LSDA = Local Spin Density Approximation), 2) функционали засновани на апроксимацији генерализованог градијента (GGA = Generalized Gradient Approximation) и 3) хибридни функционали. У изради ове докторске дисертације коришћени су хибридни функционали M06 [153] и B3LYP [154].

1.5.2.3 Семи-емпиријске методе

Харти-Фокова (HF) теорија је полазна тачка за два типа прорачуна. Први је *ab initio*, укључујући HF прорачуне и пост-HF прорачуне. Они израчунавају све интеграле који се појављују у HF формулацији. Други је семи-емпиријски приступ који уводи додатне апроксимације. У семи-емпиријским методама неки од интеграла су постављени на нулу, а остали се третирају као параметри прилагођени неким експерименталним подацима, као што су геометрије или енергије. Ове методе су веома ефикасне у израчунавању, али очигледно имају ограничену применљивост, посебно за једињења прелазних метала. Могу се користити само за системе за које постоје параметри.

Централно место код семи-емпиријских модела заузима NDDO апроксимација (Neglect of Diatomic Differential Overlap). По овој апроксимацији нема преклапања међу орбиталама које припадају различитим атомима. Квантно-механички двоелектронски интеграл $J_{\mu\nu}$ и $K_{\mu\nu}$ се могу занемарити или заменити емпиријским параметрима. Емпиријски параметри служе за подешавање ових модела тако да добијени резултати показују што веће слагање са експерименталним, а понекад и са *ab initio* резултатима.

Употреба емпиријских параметара уводи ефекте корелације електрона у семи-емпиријске моделе (до одређене мере).

Семи-емпиријске методе које су највише коришћене су AM1 (Austin Model 1) и PM3 (Parametric Method 3), а у новије време RM1 (Recife Model 1) и PM6 (Parametric Method 6). Овим моделима могуће је израчунати термодинамичке особине, IR спектре, диполне моменте, паријална наелектрисања, молекулске орбитале, електростатичке потенцијале, прелазна стања, геометрије и енергије побуђених стања, као и различите особине кристала. Такође, могућа је и оптимизација гигантских система са преко 15000 атома. У изради ове дисертације коришћен је PM6 метод.

1.5.2.4 Мелер-Плесетове методе

Све пост-HF методе имају за циљ да исправе нетачност HF формулације тиме што уводе енергију која произилази из корелације електрона која није урачуната у оригиналној HF методи [155]. Мелер-Плесетова (Møller–Plesset) метода се заснива на коришћењу пертурбационе теорије зарад апроксимације ефеката које корелација електрона има на укупну енергију. Мелер-Плесетова метода која се заснива на конфигурацијама дублова зове се корекција другог реда (MP2) [156]. Овај модел је заснован на промоцији електрона који води до побољшања у односу на HF теорију. Први извод енергије се добија аналитички, па се оптимизација геометрије изводи рутински. Формулисани су и Мелер-Плесетови модели вишег реда, као што су MP3, MP4, MP5 и MP6. Сви ови модели, сем MP3, укључују конфигурације које су настале промоцијом већег броја електрона, док се MP3 модел заснива на конфигурацији дублова. Предност Мелер-Плесетових метода је у томе што су мање захтевне од метода интеракције конфигурација и сагласне су величини. С друге стране, ове методе се не поковавају варијационом принципу, а такође код MP метода вишег реда се не може гарантовати конвергенција система. У овој дисертацији коришћена је MP2 метода.

1.5.3 Теорија природних везивних орбитала (Natural Bond Orbital Analysis - NBO)

Природне орбитале (natural orbitals) добијају се дијагонализацијом матрица густине првог реда, а окупациони бројеви природних орбитала представљају својствене вредности.

NBO орбитале (Natural Bond Orbitals = природна везивна орбитала) омогућавају прецизно описивање електронске густине представљајући ортонормирани скуп локализованих природних орбитала [157]. Простим језиком, "природне орбитале" представљају јединствене орбитале којима је оптимално описана таласна функција, па се може рећи да таласна функција "сама бира" природне орбитале. Природне орбитале су по карактеру максимално окупиране орбитале и локализоване су у областима, са једним или два центра молекула [158]. Начин на који се орбитале приказују је сличан стандардном хемијском, односно Луисовом (Lewis) моделу слободних и везивних парова. Приликом цртања орбитала код ове анализе тражи се што оптималнији начин приказа двоцентричних веза и усамљених парова електрона (варијациона метода), а основни услов је да N природних везивних орбитала буде окупирано. Процедура генерисања NBO орбитала је врло важна, јер се много тачније могу добити наелектрисања атома и добијене вредности не зависе од избора базног сета. NBO анализом се могу испитати све могуће интеракције међу орбиталама, а квантификовање тих интеракција врши се применом пертурбационе теорије другог реда. Квантификовањем донорско-акцепторских интеракција (D/A) између NBO орбитала могу се добити информације о значају одређених веза и интеракција за стабилност молекула.

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

2.1 Хемикалије и реагенси

Све коришћене хемикалије су комерцијално доступне, аналитичког степена чистоће и нису пречишћаване пре употребе. Монохлорсирћетна киселина, етилендиамин, 1,3-пропандиамин, 3-хлорпропионска киселина, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO , NaOH , NaCl , HCl , D_2O и $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, набављени су од истог произвођача Sigma-Aldrich. Киселине $\text{H}_3\text{ed}_3\text{a}$, $\text{H}_3\text{l}_3\text{-pd}_3\text{a}$ и $\text{H}_4\text{edda}_3\text{p}$, које су коришћене у синтезама комплекса, синтетисане су раније и за потребе ове дисертације, њихова синтеза је поновљена коришћењем постојеће литературе [44,56].

Све ћелијске линије набављене су од American Type Culture Collection-ATCC. У овој дисертацији коришћено је пет ћелијских линија и то једна здрава и четири малигне: А-549 (хумани карцином плућа, ATCC CCL 185), MCF-7 (хумани аденокарцином дојке, ATCC HTB22), HT-29 (хумани аденокарцином дебелог црева, ATCC HTB38), HeLa (хумани аденокарцином грлића материце, ATCC CCL2) и MRC-5 (нормални хумани фетални фибробласти плућа, ATCC CCL 171). Ћелије су гајене у Dulbecco-вом модификованом Eagle-овом медијуму (DMEM, Sigma-Aldrich) са 4,5% глукозе, додато је 10% феталног говеђег серума (FBS, Sigma Aldrich), а медијум је обогаћен антибиотиком и антимикотиком (Sigma-Aldrich). Ћелије су гајене на 37 °C у атмосфери ваздуха који садржи 5% CO_2 и засићен је воденом паром (100%).

2.2 Синтезе комплекса

Све синтезе комплекса су рађене према раније описаном поступку Радановића и сарадника [159].

2.2.1 Добијање *cis-equatorial*-[аква(етилендиамин-*N,N,N'*-триацетато) родијум(III)] хидрата, $[Rh(ed3a)(H_2O)] \cdot H_2O$ (**1**)

Ca₃(ed3a)₂·12H₂O (1,99 g; 2,5 mmol) растворен је у 15,0 mL воде и овом раствору је додат раствор NaOH који је добијен растварањем 0,6 g (15,0 mmol) у 5,0 mL воде у циљу одвајања калцијума у облику Ca(OH)₂. Бели талог Ca(OH)₂ је процеђен на вакууму и одбачен, а преостали филтрат је коришћен за синтезу жељеног комплекса. У филтрат је додат раствор RhCl₃·3H₂O који је добијен растварањем 1,14 g (5,0 mmol) ове соли у 5,0 mL воде. Добијена смеша је мешана на 145 °C око 7 h у затвореном тјубу од Ругех стакла. Након хлађења до собне температуре, жути раствор је процеђен, а филтрат нанет на колону напуњену смолом типа Sephadex QAE A-25 у Cl⁻ облику. Колона је елуирана помоћу 0,1 M раствора NaCl, при чему су се издвојиле три траке различитог наелектрисања. Прва трака је упарена до мале запремине, а затим обесољена гел-филтрационом техником на Sephadex G-10 смоли. Трака је опет упарена до запремине од ~ 1,0 mL, додат је етанол (око 1,0 mL) и након три дана стајања у фрижидеру појавили су се кристали жуте боје, који су процеђени, испрани етанолом и осушени на ваздуху. Принос: 0,4 g (21,69%). Тачка топљења: > 305 °C (из EtOH). Израчунато за RhC₈H₁₅N₂O₈ (M=370,13 g mol⁻¹): C, 25,96; H, 4,08; N, 7,57 %; нађено: C, 25,37; H, 4,22; N, 7,36 %. IR (KBr, ν_{max} cm⁻¹): 1631 ν(COO⁻), 3435 ν(N-H). UV-Vis (H₂O, c = 10⁻³ M): λ_{max}/nm (ε/dm³ mol⁻¹ cm⁻¹): 294 (327), 353 (406). δ ¹H NMR (200 MHz, D₂O, TSP): 4,09 (AB пар, G прстен), 4,05 (s, R₁ прстен), 3,30 (AB пар, R₂ прстен); δ ¹³C NMR (50 MHz, D₂O/CD₃OD, TSP): 184,26, 182,84, 18,,26 (C=O), 67,30, 64,59, 62,70, 56,53, 56,17 (CH₂).

2.2.2 Добијање *cis-equatorial*-натријум[(етилендиамин-*N,N,N'*-триацетато) хлоридо родат(III)] хидрата, $Na[Rh(ed3a)Cl] \cdot H_2O$ (**2**)

Комплекс је добијен у истој синтези као и комплекс (**1**) и то као друга трака на хроматографској колони. Елуат је упарен на малу запремину, обесољен на исти начин као и претходни комплекс, затим упарен до ~ 3,0 mL, додата еквивалентна запремина етанола и остављен преко ноћи у фрижидеру. Кристали жуте боје су процеђени, испрани етанолом и осушени на ваздуху. Принос: 0,8 g (39,10%). Тачка топљења: > 305 °C (из EtOH). Израчунато за NaRhC₈H₁₃N₂O₇Cl (M=410,55 g mol⁻¹): C, 23,40; H, 3,19; N, 6,82%; нађено: C, 23,55; H, 3,39; N, 6,99 %. IR (KBr, ν_{max} cm⁻¹): 1630 и 1680 ν(COO⁻), 3426 ν(N-H). UV-Vis (H₂O,

$c = 10^{-3} \text{ M}$): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$): 307 (448), 373 (512). δ ^1H NMR (200 MHz, D_2O , TSP): 4,05 (AB пар, G прстен), 3,99 (s, R_1 прстен), 3,34 (AB пар, R_2 прстен); δ ^{13}C NMR (50 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$, TSP): 184,67, 183,71, 182,10 (C=O), 66,60, 63,72, 61,84, 57,37, 57,04 (CH_2).

Трећа трака, која се налазила на врху колоне, елуирана је концентрованим NaCl и сматрамо да је она смеша различитих хидрокси врста са наелектрисањем већим од -2. Трака није карактерисана.

2.2.3 Добијање *cis-polar*-[аква(1,3-пропандиамин-*N,N,N'*-триацетато) родијум(III)] дихидрата, $[\text{Rh}(1,3\text{-pd}3\text{a})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**3**)

Раствору 1,24 g $\text{H}_31,3\text{-pd}3\text{a}$ (5,0 mmol) у 10,0 mL воде додато је 0,6 g (15,0 mmol) NaOH. У овај раствор додат је раствор добијен растварањем 1,14 g (5,0 mmol) $\text{RhCl}_3\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ у 5,0 mL воде. Добијена смеша је даље третирана као у случају комплекса (**1**). На хроматографској колони уочено је пет трака. Прва трака је упарена на малу запремину, затим обесољена коришћењем Sephadex G-10 смоле, а затим упарена до $\sim 5,0$ mL и остављена у ексикатору изнад ацетона 2-3 дана. Прах жуте боје је филтриран, испран ацетоном и осушен на ваздуху. Принос: 0,25 g (12,43%). Тачка топљења: > 305 °C (из ацетона). Израчунато за $\text{RhC}_9\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_9$ ($M=402,16 \text{ g mol}^{-1}$): C, 26,88; H, 4,76; N, 6,97%; нађено: C, 26,99; H, 4,55; N, 7,07%. IR (KBr, $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$): 1632 $\nu(\text{COO}^-)$, 3429 $\nu(\text{N-H})$. UV-Vis (H_2O , $c = 10^{-3} \text{ M}$): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) = 336 (167), 402 (203). ^1H NMR δ (200 MHz, D_2O , TSP): 4,05 (AB пар, R прстен), 3,96 (AB пар, G прстенови); ^{13}C NMR δ (50 MHz, D_2O , TSP): 183,60, 179,87, 175,06 (C=O), 74,59, 69,97, 65,58, 58,03, 47,37, 22,39 (CH_2).

2.2.4 Добијање *cis-polar*-натријум[(етилендиамин-*N,N,N'*-триацетато) хлоридородат(III)] дихидрата, $\text{Na}[\text{Rh}(1,3\text{-pd}3\text{a})\text{Cl}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**4**)

Комплекс је добијен у истој синтези као и комплекс (**3**) у облику треће траке на хроматографској колони. Трака је упарена на малу запремину, обесољена на исти начин као и претходни комплекси, затим упарена до $\sim 5,0$ mL, остављена у ексикатору изнад ацетона 2-3 дана. Кристали жуте боје су филтрирани, испрани ацетоном и осушени на ваздуху. Принос: 0,45 g (20,36%). Тачка топљења: > 305 °C (из ацетона). Израчунато за $\text{NaRhC}_9\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_8\text{Cl}$ ($M=442,59 \text{ g mol}^{-1}$): C, 24,42; H, 3,87;

N, 6,33%; нађено: C, 24,22; H, 3,95; N, 6,47 %. IR (KBr, ν_{max} cm⁻¹): 1631 ν (COO⁻), 3497 ν (N-H). UV-Vis (H₂O, c = 10⁻³ M): λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) = 308 (217), 397 (159). ¹H NMR δ (200 MHz, D₂O, TSP): 3,99 (AB пар, R прстен), 3,93 (AB пар, G прстенови); ¹³C NMR δ (50 MHz, D₂O, TSP): 186,07, 185,09, 183,45 (C=O), 72,94, 67,51, 64,23, 59,57, 52,56, 28,75 (CH₂).

2.2.5 Добијање *trans*(O₅O₆)-натријум[(етилендиамин-*N,N'*-диацетато-*N,N'*-ди-3-пропионато)родат(III)] тетраhidрата, Na[Rh(eddadp)]·4H₂O (5)

Синтеза је потпуно поновљена по пропису из референце [159] где је комплекс раније синтетисан у облику праха. Након додатка етанола и стајања у фрижидеру пар дана, кристали жуте боје су процеђени, испрани етанолом и осушени на ваздуху. Принос: 0,4 g (11,68%). Тачка топљења: > 305 °C (из етанола). Израчунато за NaRhC₁₂H₂₄N₂O₁₂ (M=514,23 g mol⁻¹): C, 28,03; H, 4,70; N, 5,45%; нађено: C, 28,30; H, 4,55; N, 5,60%. IR (KBr, ν_{max} cm⁻¹): 1573, 1625, 1641_(m), 1667 ν (COO⁻). UV-Vis (H₂O, c = 10⁻³ M): λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) = 298_(m) (291), 344 (519), 380_(m) (319). ¹H NMR δ (200 MHz, D₂O, TSP): 3,92 (AB пар, R прстен), 3,92 (AB пар, G прстен); ¹³C NMR δ (50 MHz, D₂O, TSP): 186,64, 185,96, 183,45, 180,90 (C=O), 67,88, 66,20, 64,02, 62,83, 59,55, 58,79, 36,07 (CH₂).

2.3 Елементална микроанализа

За комплексе (1) и (2) микроанализе за C, H и N рађене су у Микроаналитичкој лабораторији Хемијског института Универзитета у Хајделбергу, а за комплексе (3-5) у Микроаналитичком одељењу Хемијског факултета, Универзитета у Београду.

2.4 Тачка топљења

Тачке топљење су мерене на Stuart апарату са тачношћу ± 1°C.

2.5 Инфрацрвени спектри

Инфрацрвени спектри комплекса (1) и (2) су снимљени на спектрофотометру Perkin–Elmer 16 PC FTIR (KBr-техника) у области $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, а за комплексе (3–5) је коришћен Perkin-Elmer FTIR спектрофотометар Spectrum One (KBr-техника).

2.6 Електронски апсорпциони спектри

Електронски апсорпциони спектри комплекса (1) и (2) су снимљени на помоћу Tidas II J&M спектрофотометру, док је за сва остала мерења коришћен UV-Vis спектрофотометар Cary 300 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Сви спектри су снимљени у води као растварачу у концентрацији $1 \cdot 10^{-3}\text{ M}$.

2.7 NMR спектри (^1H и ^{13}C)

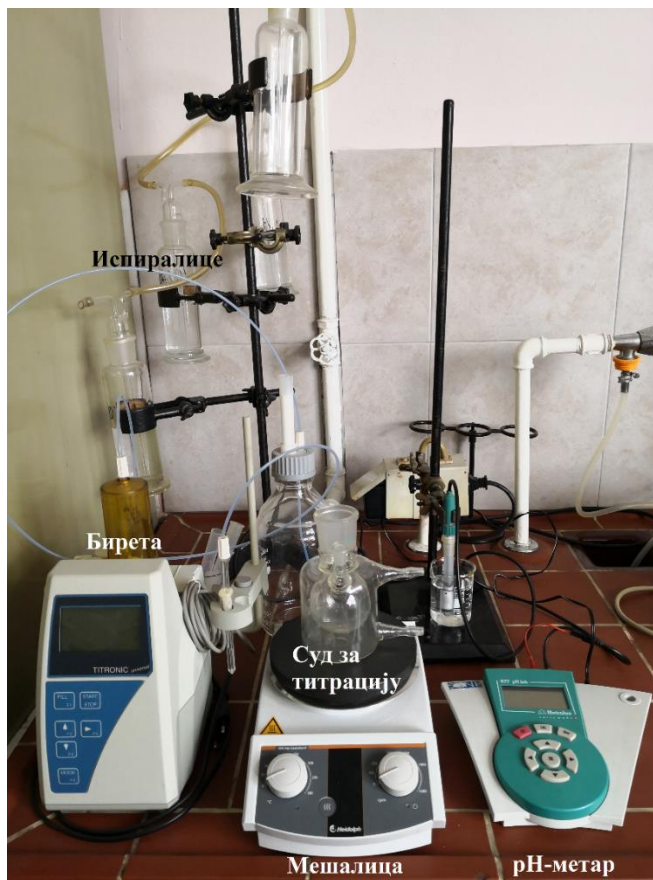
NMR спектри комплекса (1) и (2) добијени су помоћу Bruker Advance I 200 апарата, док је за снимање спектра комплекса (3–5) коришћен Varian Gemini 200 MHz NMR спектрометар. Као растварач коришћен је D_2O у присуству TSP као референтног стандарда, а положаји сигнала су изражени као δ (ppm).

2.8 Мерења у растворима

2.8.1 Потенциометријске титрације

Потенциометријска мерења су вршена помоћу Methrom 827 pH-метра са Titronic универзалном Piston биретом и комбинованом стакленом електродом (Слика 16). Калибрација електроде је извршена употребом стандардних пуферских раствора pH 4,0 и 7,0. У апаратуру за потенциометријска мерења спада pH-метар, комбинована стаклена електрода, титрациони суд, магнетна мешалица и систем за увођење гаса. Све титрације су вршене у титрационом суду са дуплим зидовима између којих протиче термостатирана вода у циљу одржавања константне температуре ($25,0 \pm 0,1\text{ }^\circ\text{C}$). У суд су биле урођене електрода и цевчица за довод азота како би се мерења извршила у инертној атмосфери без присуства

O₂ и CO₂. Почетна запремина раствора за титрацију била је 20,0 mL, у којима је јонска јачина раствора била константна и одржавана додатком 0,10 M NaCl. Као средство за титрацију коришћен је бескарбонатни раствор NaOH (c = 0,0733 M). У сваки испитивани раствор додавана је тачно одређена количина хлороводоничне киселине да би се одмах на почетку избегло комплексирање или хидролиза. Сви раствори су припремљени у бидестилованој води. За ова проучавања направљена је серија раствора Rh³⁺ и лиганда у којима је однос концентрација Rh³⁺/L следећи: 1:1,5 и 1:3 (L = H₃ed3a) и 1:0,9 и 1:2,4 (L = H₃1,3-pd3a). Концентрација Rh³⁺ била је 2,0 mM. Титрације су изведене у опсегу рН 1,9-8,0. Потенцијал је мерен након сваког додатка титрационог средства по постизању константе вредности. Обично су стабилни потенцијали за читавање добијани након 5-10 min на почетку титрације (рН < 4,0), 10-15 min на рН = 4,0-6,0, 20-30 min на рН = 6,0-7,0 и након 30 min на рН > 7,0. Титрације су завршаване након замућења раствора (рН > 8,0). Све титрације су изведене у дупликату.



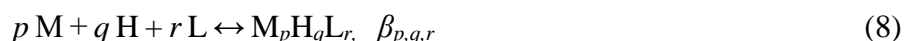
Слика 16. Апаратура за потенциометријске титрације.

Добијени експериментални резултати су приказани као зависност рН од титрационог параметра, а.

$$a = \frac{c_{\text{NaOH}}V_{\text{NaOH}} - V_0c_{\text{HCl}}}{V_0L} \quad (7)$$

где су c_{NaOH} и V_{NaOH} концентрација, односно запремина додате јаке базе (NaOH), а V_0 и L почетна запремина и концентрација титрованог раствора ($\text{H}_3\text{ed3a}$ или $\text{H}_31,3\text{-pd3a}$).

Образовање комплекса у испитиваном раствору се може приказати следећом реакцијом (због једноставности наелектрисања нису дата):



где су: $\text{M} = \text{Rh}^{3+}$, $\text{L} = \text{H}_3\text{ed3a}$ или, $\text{H}_31,3\text{-pd3a}$, док су одговарајуће константе дате изразом:

$$\beta_{p,q,r} = \frac{[\text{M}_p\text{H}_q\text{L}_r]}{[\text{M}]^p[\text{H}]^q[\text{L}]^r} \quad (9)$$

где су: $\beta_{p,q,r}$ константа стабилности комплекса, L је депротоновани облик лиганда (ed3a^{3-} или, $1,3\text{-pd3a}^{3-}$).

За израчунавање константи протоновања лиганда и константи стабилности комплекса коришћени су програми HYPERQUAD2006 [160] и НурСпец2014 [160,161]. Концентрациони дистрибуциони дијаграми врста присутних у раствору су добијени коришћењем програма HYSS2006 [162].

2.8.2 Спектрофотометријска мерења

Спектрофотометријска мерења су рађена у циљу одређивања условних константи стабилности комплекса и стехиометрије комплекса. У ову сврху коришћен је Cary 300 UV/Vis dual beam спектрофотометар. За припрему раствора $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{H}_3\text{ed3a}$, $\text{H}_31,3\text{-pd3a}$ и NaCl коришћена је бидестилована вода. Мерења су вршена у растворима узорака запремине 10,0 mL у којима је концентрација Rh^{3+} , NaCl и лиганда била константна, тј. $[\text{Rh}^{3+}] = 2,0 \text{ mM}$, 100,0 mM NaCl (за одржавање јонске јачине), $[\text{ed3a}^{3-}] = 3,1 \text{ mM}$ и 6,2 mM или $[1,3\text{-pd3a}^{3-}] = 3,6 \text{ mM}$. рН вредност испитиваних раствора је мерена помоћу Methrom 827 рН-метра и варирала је од 2,5-7,8 за $\text{H}_3\text{ed3a}$ лиганд, а за $\text{H}_31,3\text{-pd3a}$ лиганд рН вредности су биле у опсегу од 2,9-9,6. За подешавања потребних рН вредности коришћени су

стандардни раствори NaOH и HCl. Стабилне вредности рН од 0,02 јединице су постигнуте после 3 h загревања на 145 °C (затворена епрувета као и приликом синтезе) и остале су стабилне након 3 h. Uv-Vis спектри су снимани у опсегу од 250 до 600 nm.

2.9 Рендгенске структурне анализе

2.9.1 Рендгенска структурна анализа за *cis-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O* комплекс (**1**)

Рендгенска структурна анализа комплекса рађена је на Agilent Technologies Supernova-E CCD дифрактометру Мо-К α зрачењем ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) на 110 K. Подаци су кориговани за апсорпцију ваздуха и детектора, Лоренцове (Lorentz) и поларизационе ефекте [163], а апсорпција кристала је третирана нумерички (Гаусијанова (Gaussian) решетка) [163,164]. Структура је решена интринзично-фазном методом [165-167] и утачњавана full-matrix методом најмањих квадрата заснованом на F^2 према свим јединичним рефлексима [168-170]. Атоми различити од водоника су утачњавани анизотропно. Позиције водоникових атома су израчунате на стандардним растојањима и утачњаване употребом „riding” модела. Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања су дати у **Табели 1**.

Табела 1

Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре *cis-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O* комплекса (**1**).

Емпиријска формула	RhC ₈ H ₁₅ N ₂ O ₈	Запремина јединичне ћелије (\AA^3)	1201,22(2)
Молекулска маса	370,13	Z	4
Температура (K)	110(1)	Густина ($\text{Mg} \cdot \text{m}^{-3}$)	2,047
λ (\AA)	Мо-К α , 0,71073	μ (mm^{-1})	1,462
Кристални систем	моноклинични	F_{000}	744
Димензије кристала (mm^3)	0,1918 x 0,0712 x 0,0460	Број сакупљених рефлексја	66435
Просторна група	$P2_1/n$	Број независних рефлексја	3126
a (\AA)	6,94313(8)	R_{int}	0,0598
b (\AA)	15,71268(18)	Број употребљених рефлексја	2965
c (\AA)	11,09315(11)	$R(F)$, $wR(F^2)$	0,0358, 0,0527
β ($^\circ$)	96,9886(10)	Goof on F^2	1,276

2.9.2 Рендгенска структурна анализа за *cis-equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H₂O* комплекс (2)

Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања су дати у Табели 2. Рендгенска структурна анализа комплекса је рађена на Agilent Technologies Supernova-E CCD дифрактометру Cu-K α зрачењем ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) на 110 К.

Табела 2

Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре *cis-equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H₂O* комплекса (2).

Емпиријска формула	NaRhC ₈ H ₁₃ N ₂ O ₇ Cl	Запремина јединичне ћелије (\AA^3)	1257,62(12)
Молекулска маса	410,55	Z	4
Температура (К)	110(1)	Густина ($\text{Mg}\cdot\text{m}^{-3}$)	2,168
λ (\AA)	Cu-K α , 1,5418	μ (mm^{-1})	13,639
Кристални систем	моноклинични	F_{000}	816
Димензије кристала (mm^3)	0,1895 x 0,0717 x 0,0192	Број сакупљених рефлексија	24110
Просторна група	$P2_1/c$	Број независних рефлексија	2410
a (\AA)	13,4003(6)	R_{int}	0,0938
b (\AA)	6,9326(3)	Број употребљених рефлексија	1861
c (\AA)	14,9772(8)	$R(F)$, $wR(F^2)$	0,0511, 0,0810
β ($^\circ$)	115,328(6)	Goof on F^2	1,035

Подаци су кориговани за апсорпцију ваздуха и детектора, Лоренцове (Lorentz) и поларизационе ефекте [163], а апсорпција кристала је третирана нумерички (Гаусијанова (Gaussian) решетка) [163,164]. Структура је решена методом тешког атома у комбинацији са структурном експанзијом помоћу директних метода које се примењују на различите структурне факторе [171,172], а утачњавана је full-matrix методом најмањих квадрата заснованом на F^2 према свим јединичним рефлексијама [168-170]. Атоми различити од водоника су утачњавани анизотропно. Позиције водоникових атома су израчунате на стандардним растојањима и утачњаване употребом „riding” модела.

2.9.3 Рендгенска структурна анализа за *cis-polar-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H₂O* комплекс (4)

Жуто обојени кристали су анализирани на Bruker SMART APEX2 дифрактометру Мо-К α зрачењем ($\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$). Структура је решена директним методама SIR97 [173] и утачњавана применом SHELXL97 [174] програма имплементираног у WinGX [175]. За графичку презентацију добијених структура употребљен је програм ORTEP3 [176]. Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања су дати у Табели 3.

Табела 3

Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре *cis-polar-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H₂O* комплекса (4).

Емпиријска формула	NaRhC ₉ H ₁₇ N ₂ O ₈ Cl	Запремина јединичне ћелије (\AA^3)	1469,6(7)
Молекулска маса	442,59	Z	4
Температура (К)	298,15	Густина ($\text{Mg} \cdot \text{m}^{-3}$)	2,00
λ (\AA)	Мо- К α , 0,71073	μ (mm^{-1})	1,415
Кристални систем	моноклинични	F_{000}	888
Димензије кристала (mm^3)	0,20 x 0,20 x 0,70	h, k, l	16, 8, 16
Просторна група	$P2_1/c$	Број сакупљених рефлексиија	15632
a (\AA)	14,175(4)	Број независних рефлексиија	2572
b (\AA)	7,354(2)	$R(F)$, $wR(F^2)$	0,0389, 0,0846
c (\AA)	14,308(4)	Goof on F^2	1,044
β ($^\circ$)	99,850(4)	Анализа рез. густине: max, min ($e \cdot \text{\AA}^{-3}$)	0,60, -0,82

2.9.4 Рендгенска структурна анализа за *trans(O₅O₆)-Na[Rh(eddadp)]·4H₂O* комплекс (5)

Рендгенска структурна анализа је рађена на дифрактометру типа Bruker-Nonius Карра CCD Мо-К α зрачењем ($\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$). Подаци су кориговани за Лоренцове (Lorentz) и поларизационе ефекте, а семиемпиријске корекције апсорпције урађене су на основу вишеструких скенирања помоћу SADABS V2.06 [177]. Структура је решена директним методама на бази SHELXTL NT 6.12 програма [169], а за утачњавање структуре коришћен је SHELXL2016/6 [170]. Атоми различити од водоника су утачњавани

анизотропно. Положаји свих атома водоника изведени су из разлике Fourier-ове мапе и њихови позициони параметри су утачњавани. Изотропни параметри померања свих атома водоника везани су за оне који одговарају њиховим атомима носачима за фактор 1.2 или 1.5. Фиксна ограничења дужине примењена су на О-Н везе молекула воде који су координовани на катјон натријума. Основни кристалографски подаци су дати у **Табели 4**.

Табела 4

Основни кристалографски подаци и параметри утачњавања структуре *trans*(O₅O₆)-Na[Rh(eddap)]·4H₂O комплекса (**5**).

Емпиријска формула	NaRhC ₁₂ H ₂₄ N ₂ O ₁₂	γ (°)	84,116 (7)
Молекулска маса	514,23	Запремина јединичне ћелије (Å ³)	894,62 (11)
Температура (К)	200	Z	2
λ (Å)	Mo- K α , 0,71073	Густина (Mg·m ⁻³)	1.909
Кристални систем	триклинични	μ (mm ⁻¹)	1.05
Димензије кристала (mm ³)	0,23 x 0,06 x 0,04	F_{000}	524
Просторна група	P-1	h, k, l	8, 11, 21
a (Å)	6,3075 (3)	Број сакупљених рефлексја	23968
b (Å)	8,7637 (8)	Број независних рефлексја	4446
c (Å)	16,2724 (12)	$R(F)$, $wR(F^2)$	0,018, 0,042
α (°)	89,236 (8)	Goof on F^2	1,05
β (°)	89,299 (6)	Анализа рез. густине: max, min (e·Å ⁻³)	0,43, -0,51

2.10 Однос изомера хексаденатних комплекса у воденом раствору

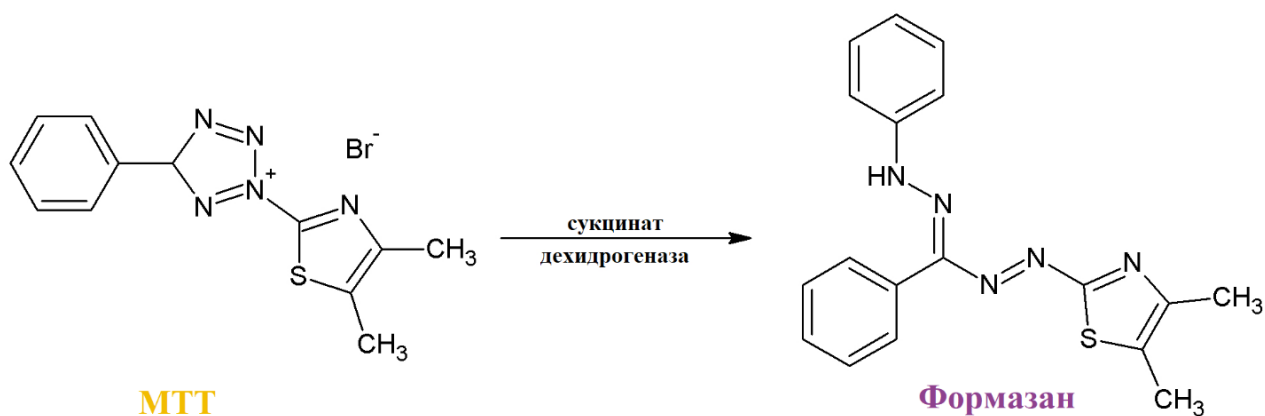
Процедура је у складу са раније објављеним радом Кина и Серла (Keene и Searle) [178]. Овај експеримент је рађен за Na[Rh(eddap)] и K[Co(eddap)] комплексе у циљу одређивања термодинамичке равнотеже реакционих смеша како би се одредио процентуални допринос сваког изомера. Комплекси су синтетисани по раније описаним процедурама [54,159]. Након завршених синтеза реакционе смеше оба комплекса су разблажене тако да концентрације комплексних анјона (-1 наелектрисања) буду мање од 0,1 М. Аликвоти су нанесени на по две колоне величине 20 x 1 cm. Колоне су биле напуњене смолом Sephadex QAE A-25 у Cl⁻ облику (у случају Rh) и Dowex 1-X8 (200-400 mesh) у NO₃⁻ облику (у случају Co). Комплекси су елуирани одговарајућим растворима и то 0,1 М NaCl (у случају Rh) и 0,1 М KNO₃ (у случају Co) у циљу одвајања *trans*(O₅) (први на колони) и

trans(O₅O₆) (други на колони) геометријских изомера. Одвојене траке изомера комплекса су сакупљене, квантитативно пренете у нормалне судове и разблажене до стандардних запремина (50,0 или 100,0 mL). Раствори су испитивани спектрофотометријски у кварцним киветама пречника 1 cm. Апсорбанце елуираних трака изомера мерене су и на првом и другом апсорпционом максимуму (за Rh на 296 и 344 nm и за Co на 389 и 539 nm) на UV-Vis спектрофотометру Cary 300 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) са водом као референтним стандардом.

2.11 Биолошки тестови

2.11.1 MTT тест

Инхибиција раста ћелија је процењена помоћу колориметријског MTT теста [179]. MTT (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолијум бромид) (Sigma Aldrich) је жута со тетразолијума која се редукује до нерастворног формазана љубичасте боје (**Шема 4**). Жута боја се везује за митохондрије, при чему проценат везивања служи за процену активности испитиваног једињења, односно као мера вијабилитета. Механизам дејства се огледа у дејству митохондријалног ензима сукцинат дехидрогеназе.



Шема 4. Трансформација MTT соли у формаза.

Експоненцијално растуће туморске ћелије су засејане у микротитар плоче са 96 бунарића (Costar) са оптималном густином засејавања од $5 \cdot 10^3$ (или $10 \cdot 10^3$) по бунарићу да би се осигурала логаритамска стопа раста током периода тестирања. Вијабилне ћелије су

пренете у запремини од 90,0 μL по бунарићу и пре-инкубирани у комплетном медијуму на 37 °C у времену од 24 h како би се омогућила стабилизација пре додавања тестираних супстанци. Тестиране ћелије и референтна једињења доксорубицин (DOX) и цисплатина (*cis*-Pt) су додати (10,0 μL /бунарић) у све бунариће осим у контролне у концентрацијама које су 10 пута веће од финалних, а затим су микротитар плоче инкубирани 48 h. Као контрола коришћени су бунарићи који садрже ћелије без тестираних узорака. Три h пре завршетка инкубације у бунариће је додато 10,0 μL раствора МТТ-а. МТТ је растворен у медијуму у концентрацији 5,0 mg/mL и филтриран да би се стерилисао и да би се уклониле мале количине заосталих нерастворних остатака МТТ-а. После завршетка инкубације, у све бунариће је додат кисели изопропанол (100,0 μL 0,04 N HCl у изопропанолу) и смеше су добро промешане како би се потпуно растворио љубичасти формазан. Количина формазана који се наградио је директно пропорционална броју вијабилних ћелија. Након неколико min стајања на собној температури мерена је апсорбанца на спектрофотометру на 540/690 nm (Multiscan MCC340, Labsystems). Слепе пробе су представљали бунарићи који нису садржавали ћелије већ само комплетан медијум и МТТ. Инхибиција раста изражена је као проценат контроле и цитотоксичност је израчуната помоћу формуле (10):

$$(1 - A \text{ узорка} / A \text{ контроле}) \times 100 \quad (10)$$

где А представља измерену апсорбанцу.

Активност супстанце изражена је као IC₅₀ вредност (50% инхибиторна концентрација). Ове вредности су добијене "Median effect" анализом [179]. Два независна експеримента су постављена у квадрипликату (у по 4 бунарића) за сваку концентрацију једињења.

2.11.2 Ћелијски третман за студију апоптозе

Ћелије су засејане у плочама са 6 бунарића у концентрацији од $5 \cdot 10^5$ ћелија у сваком бунарићу. Вијабилност је одређена помоћу *trypan blue* dye-exclusion теста [180]. Нетретиране ћелије су коришћене као контрола. Остале ћелије су третиране са доксорубицином и цисплатином као референтним једињењима и тестираним комплексима и лигандима током 48 h. Третиране вијабилне ћелије, као и контролни узорци коришћени

су за детекцију апоптозе методама проточне цитометрије, флуоресцентне микроскопије и Western blot анализе.

2.11.2.1 Annexin V-FITC/7-AAD и Annexin-V-FLUOS (Annexin V-FITC/PI) тестови проточне цитометрије

Тип ћелијске смрти, индуковане тестираним комплексима (1) и (2), одређен је помоћу Annexin V-FITC/7-AAD Kit према инструкцијама произвођача (Beckman Coulter, USA). У основи, HeLa ћелије су третиране контролним узорцима (само медијум) и комплексима у концентрацијама које су еквивалентне IC₅₀ вредностима. Након инкубације у времену од 48 h (37 °C, 5% CO₂ и апсолутна влажност) све ћелије су скупљене, испране са PBS пуфером (PBS = Phosphate-buffered saline, фосфатни пуфер) и суспендоване у леденом пуферу (1·10⁵ ћелија у 100,0 µL везујућег пуфера). Ћелије су обојене са 10,0 µL Annexin V-FITC и 20,0 µL 7-AAD и после 15 min инкубирања у мраку додато је 400,0 µL пуфера у сваку епрувету. Анализа узорака је вршена употребом проточног цитометра Cytomics FC500 (Beckman Coulter, USA), а проценат вијабилних, апоптотичних и некротичних ћелија израчунат је помоћу Flowing Software (<http://www.flowingsoftware.com/>). Резултати су приказани као dot plot-ови.

За анализу комплекса (4), као и лиганде H₃ed3a и 1,3-H₃pd3a коришћен је Annexin-V-FLUOS тест. Третиране ћелије из сваког узорка су сакупљене (800 rpm/5 min, Megafuge 1.0R, Heraeus, Thermo Fisher Scientific), испране два пута хладним PBS пуфером, а затим ресуспендоване у везујућем пуферу да би се постигла концентрација 1·10⁶ ћелија/mL. Ћелијска суспензија (100,0 µL) је пребачена у епрувете за културе и помешана са Annexin V-FITC (5,0 µL) и пропидијум-јодидом (5,0 µL). Ћелије су лагано вортексоване и инкубиране 15 min на 25 °C. Након инкубације, додато је 400,0 µL везујућег пуфера у сваку епрувету и суспензије су анализиране након 1 h помоћу проточног цитометра FACS Calibur E440 (Becton Dickinson). Резултати су представљени као проценат Annexin-V позитивних затворених ћелија. Процент специфичне апоптозе је израчунат према Бендер-у (Bender) [181].

2.11.2.2 Акридин-оранж/етидијум-бромид (АО/ЕВ) тест флуоресцентне микроскопије

Двоструко бојење флуоресцентним бојама АО/ЕВ [182] је метода која се користи за одређивање типа ћелијске смрти изазване тестираним супстанцама. Нетретиране, контролне HeLa ћелије, као и ћелије третиране комплексима (1) и (2) (у концентрацијама које су аналогне IC₅₀ вредностима) обојене су са 1,0 µL смеше боја АО/ЕВ (100,0 mg/mL етидијум бромида и 100,0 mg/mL акридин оранжа). Морфологија ћелија је анализирана флуоресцентним микроскопом (Leica DM1000, Germany) са увећањем од 400x. Фотографије су снимљене са Canon PC 1089 дигиталним апаратом.

2.11.2.3 Western blot анализа

Western blot анализа је аналитичка техника која служи за детекцију присуства специфичних протеина, као и за квантификацију њихових експресија у испитиваном узорку ткива или ћелија. Ово је гел-електрофоретска метода где се раздвајају нативни протеини у електричном пољу, а након тога детекцију је могуће извршити применом специфичних антитела. Визуелизација се врши додавањем супстрата при чему долази до хемилуминисценције.

Концентрација протеина у ћелијском лизату је одређена Брадфордним (Bradford) протеинским тестом [183] на микротитарској плочи са 96 бунарића (ThermoLab Systems, Multiscan Accent spectrophotometer). Као стандард је коришћен говеђи серум албумин. Маркери молекулске масе за протеине су добијени од Amersham Biosciences. За Western blot коришћено је 50,0 µg протеина по узорку и одвојено електрофорезом у електричном пољу и електро-трансферовано на поливинилиден-дифлуорид (PVDF) мембрану Hybond-P (Amersham Biosciences, Arlington Heights, IL), а потом инкубирани са примарним антителима (Bcl-2, PARP, Caspase-3 и Actin). Моноклонска антитела Bcl-2 и Caspase-3 су набављени од R&D Systems (Minneapolis, MN). Анти-поли (ADP-ribose) полимераза (PARP) набављена је од Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA), док су антитела α-, β- или γ-Actin купљена од Sigma Chemical (St. Louis, MO). Детекција протеина је вршена применом побољшаног хемилуминисцентог (ECL Plus) kit-а (Amersham Biosciences), који садржи магарећа анти-зечија и овчија анти-мишја секундарна антитела обележена пероксидазом. Блотови су визуелизовани помоћу ECL Plus детекционог kit-а. Хемилуминисцентни

сигнали су забележени на филмовима (Hyperfilm ECL, Amersham Biosciences). Филмови су развијани са Kodak EX-ОМАТ II развијачем и фотографисани на негатоскопу са Canon 1100D камером која се налазила на мини-троношцу. Сlike експресије протеина су анализирани дензитометријски помоћу ImageJ компјутерског програма (NIH Image, <http://imagej.nih.gov>) [184] са малим нивоом подешавања. Експресија апоптотичких протеина у третираним узорцима је упоређивана са контролним узорком. Резултати дензитометријског мерења су статистички обрађени у програму Microsoft Office Excel.

2.11.2.4 Анализа ћелијског циклуса проточном цитометријом

HeLa ћелије су третиране тестираним једињењима у концентрацијама које одговарају IC₅₀ вредностима или само у медијуму (контрола) током 48 h на 37 °C у атмосфери од 5% CO₂ и апсолутној влажности. После инкубационог периода, ћелије су сакупљене, испране у PBS пуферу и, на крају, суспендоване у 1,0 mL леденог хладног 70% етанола. Након инкубације на +4 °C преко ноћи, ћелије су испране у PBS-у и третиране са RNaseA (500,0 µg/mL PBS) током 30 min на 37 °C. У сваку епрувету је додато 5,0 µL пропиридијум јодида за бојење (10,0 mg/mL PBS) и након 15 min инкубирања у мрачној средини ћелије су анализирани употребом проточног цитометра Cytomics FC500 (Beckman Coulter, USA) и Flowing софтвер за комплексе (1) и (2), а за комплекс (4) и лиганде коришћен је FACS Calibur E440 (Becton Dickinson) и Cell Quest [185] софтвер.

2.12 Компјутерске методе

2.12.1 DFT прорачуни

Геометрије испитиваних родијум(III) комплекса су оптимизоване помоћу Gaussian 09 D.01 програмског пакета [186]. Полазне геометрије су преузете из експерименталних 3D структура (CSD база података водећи се њиховим CSD референтним ознакама) или су моделиране помоћу Hyperchem MM+ [187], док је конформација најниже енергије добијена конформационом претрагом додатно оптимизована коришћењем молекулско-механичких и семи-емпиријских метода (MOPAC PM6 [188a] користећи PM6-D3H4 Хамилтонијан [188b]). Добијене геометрије су потпуно оптимизоване користећи различите квантно-

механичке методе (QM): Молер-Плесет (Møller-Plesset) пертурбациона теорија другог реда (MP2) [155], M06 хибридни мета-измењиво-корелациони функционал [153], као и Бекеов (Becke) измењиви трифункционални параметар у комбинацији са Ли-Јанг-Пар (Lee-Yang-Parr) корелационим хибридним функционалом (B3LYP) [154]. Као базни сетови коришћени су Алриков (Ahlich) def2-TZVP [189] и SDD [190]. Сви прорачуни су изведени са H₂O као растварачем коришћењем PCM (Polarizable Continuum Model) солватационог модела који је имплементиран у Gaussian 09. Оптимизације су вршене у спин-ограниченом формализму без ограничења симетрије. Прорачуни фреквенци на истом нивоу теорије потврђују да оптимизоване структуре одговарају стварном локалном минимуму на површини потенцијалне енергије, тј. није било имагинарних фреквенција.

2.12.2 NBO анализа

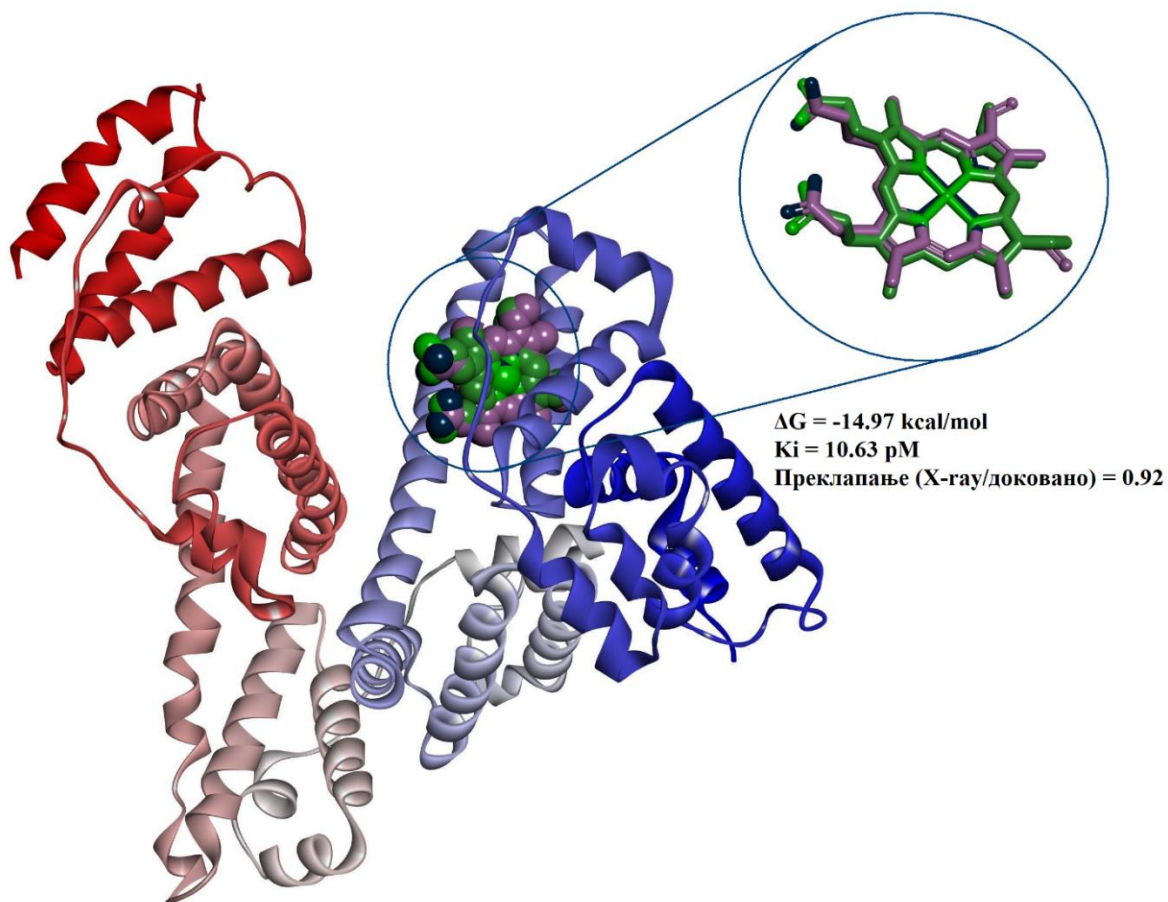
Природна орбитална анализа везе (NBO = Natural Bond Orbital Analysis) извршена је помоћу NBO 7.0 [191] софтверског пакета применом пертурбационе теорије другог реда. Овом методом се омогућава увид у доворско-акцепторски (D/A) механизам (флукуација наелектрисања везивне орбитале у антивезивну орбиталу). NBO излазни .47 документи су добијени из Gaussian 09 D.01 програмског пакета. За ова израчунавања коришћен је M06 хибридни мета-измењиво-корелациони функционал и SDD базни сет. Ова анализа је рађена за сва три могућа геометријска изомера хексадентатних комплекса [M(eddadp)]⁻ и [M(1,3-pddadp)]⁻ (M = Rh(III) и Co(III)). NBO потрага за најбољим Луисовим (Lewis) структурама дала је само један резонантни облик. Међутим, да би се могло да дискутовати о енергетским детаљима (орбиталне и доворско/акцепторске енергије) ових јако делокализованих структура, било је неопходно урадити анализу природне резонантне теорије (NRT = Natural Resonance Theory). Према томе, користећи \$NRT кључну реч, израчунат је сет различитих резонантних структура за сваку CHOOSE структуру предложену NBO претрагом (слике се налазе у прилогу ове дисертације). Такође, природна Кулонова електростатичка потенцијална енергија (NCE_{total}) је израчуната за наведене системе.

2.12.3 Докинг метода

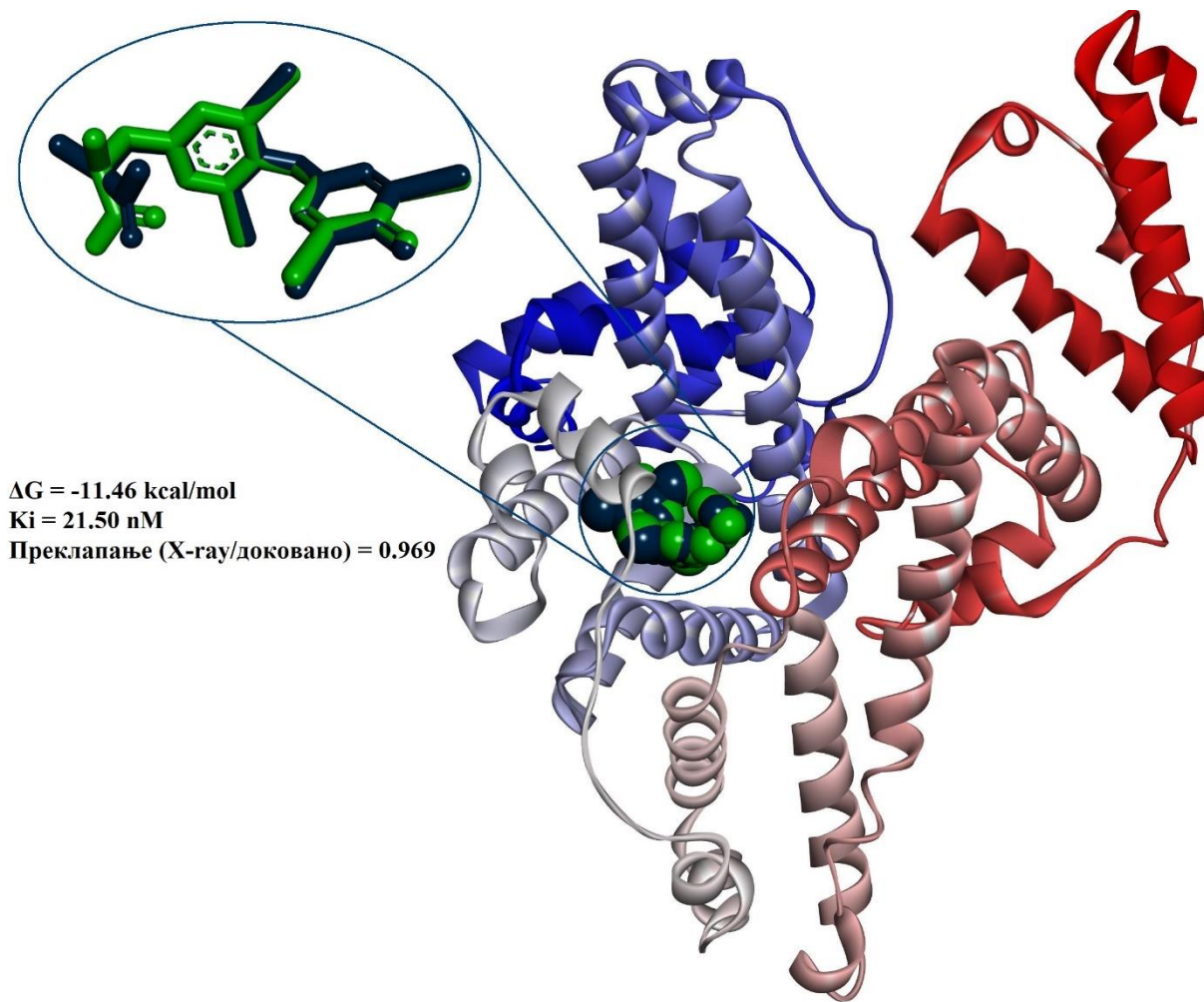
Молекулски докинг *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)] (1) and *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] (2) комплекса је симулиран на тродимензионалним рендгенским структурама албумина човечијег серума (HSA = Human serum albumin.), PDB (Protein data bank) код 1HK1 [192]. Процеси доковања су извршени помоћу AutoDock 4.2 софтвера опремљеним графичким интерфејсом (GUI) Auto-DockTools (ADT 1.5.6rc3) [193].

Процена докинга је потврђена преко две X-ray структуре, PDB код 1HK1 и 1O9X [194]. Први представља четири молекула тироксина ко-кристалисаног са HSA, а касније укључује HSA-хемин молекул који садржи гвожђе унутар хем центра. Докинг тироксина ограниченог унутар места везивања лека 1 од 1HK1 и хемина везаног унутар домена DIII од 1O9X је валидиран, при чему је припрема и докинг процедура за ове системе иста као за родијум(III) комплексе и дата је испод. Добијени резултати су показали да је AutoDock високо репродуктиван дајући најбоље преклапање са матичним X-ray структурама и то RMS = 0,92 у случају 1O9X и 0,969 у случају 1HK1 (Слике 17 и 18). AutoDock је употребљен за подешавање HSA и молекула комплекса, при чему су израчуната Гастајгерова (Gasteiger) наелектрисања, уклоњени су молекули воде и додати су водоникови атоми, док су неполарни водоникови атоми припојени угљениковим атомима. Сви лиганди који су коришћени за процес докинга узети су или из њихових рендгенских структура или из матичних макромолекула и оптимизовани на нивоу B3LYP/def2-TZVP/PCM (вода) прорачуна. Коначно, .mol2 3D лиганд фајле узете су из Гаусијанових излазних фајли (output), заједно са одговарајућим NPA наелектрисањима које су коришћене у сврху доковања. Будући да се атом родијума налази унутар хелатног оквира ed3a и 1,3-pd3a и да је додатно заштићен координованим молекулом воде, нема директног утицаја централног јона метала на процес доковања, осим његовог парцијалног наелектрисања које је већ инкорпорирано у молекуле лиганда. Из тог разлога, родијум је замењен гвожђем задржавајући оригинална парцијална наелектрисања родијума, јер је гвожђе параметризовано у AutoDock програму. У докинг експериментима коришћена је кутија величине 60 x 60 x 60 тачака (размак решетке 0,375 Å) са центром мапе у ко-кристализованим лигандима. Параметри генетског алгоритма су узети из подразумеваних вредности, осим вредности максималног броја евалуација од $2,5 \cdot 10^5$, док је 20 најбољих конформација докованих за ригидни макромолекул HSA добијено коришћењем свих

стандардних вредности доковања. Рецептор-лиганд интеракције су израчунате и визуализоване помоћу Discovery Studio Visualizer v17.2.0.16349 програма [195].



Слика 17. Валидација AutoDock доковања на примеру 1O9X.



Слика 18. Валидација AutoDock доковања на примеру 1HK1.

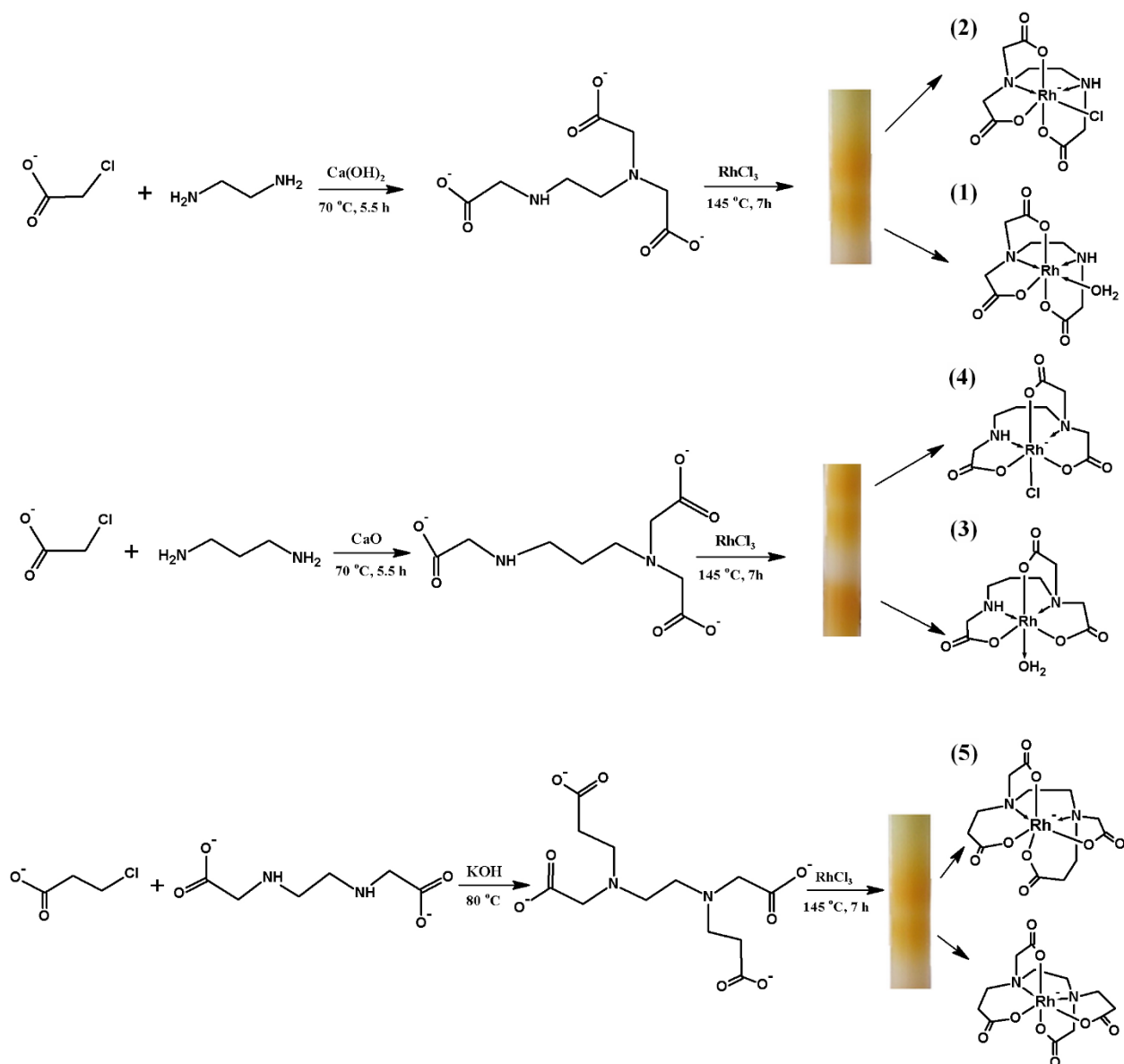
3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

3.1 Синтеза и молекулске структуре синтетисаних једињења

3.1.1 Добијање полиаминополикарбоксилатних лиганда и одговарајућих комплекса родијума(III)

Синтеза комплекса тровалентних метала (Cr(III), Co(III), Rh(III)...) са хелатним лигандима edta типа почиње од чисте киселине или смеше различитих киселина. Такође, у реакцију се могу укључити соли метала (CrCl₃, RhCl₃, Co(CH₃COO)₂, Co(NO₃)₂), хидроксиди (Co(OH)₃, Rh(OH)₃) или комплексне врсте ([Co(NO₂)₆]³⁻). Дистрибуција геометријских изомера зависи како од електронске конфигурације централног металног јона, тако и од конфигурације лиганда edta типа. Геометрија комплекса и његови структурни параметри и октаедарска дисторзија су обично међусобно зависни. Свакако, хемичар може да промени уобичајене експерименталне услове да допринесе различитој дистрибуцији изомера [178].

У овој дисертацији синтетисано је пет комплекса родијума(III) са лигандима полиаминополикарбоксилатног типа који у свом саставу имају петочлане и/или шесточлане карбоксилатне прстенове. За комплексирање су коришћена два пентадентатна лиганда у облику киселина (H₃ed3a, H₃1,3-pd3a) и један хексадентатни - H₄eddadp. Поменуте киселине нису нова једињења већ су синтетисане по раније описаним поступцима (видети Експериментални део). Киселине су припремљене кондензационом методом преко неутралисаних α-монохалогенкарбоксилних киселина и одговарајућег диаминa и добијене су у облику кондензационе смеше (H₃1,3-pd3a) или као чисте (H₃ed3a у облику Ca₃(ed3a)₂ и H₄eddadp). Сви комплекси су синтетисани по поступку описаном у Експерименталном делу и добијени у облику смеше изомера за чије је раздвајање коришћена хроматографија на Sephadex колони (Слика 19). Без обзира на врсту киселине, Rh(III) јон је хексакоординанан код свих синтетисаних комплекса где, у случају пентадентатних лиганда, шесто координационо место заузимају вода (1 и 3) или хлор (2 и 4). Изоловани су неутрални и ањонски облици комплекса пентадентатних лиганда, [Rh(ed3a)(H₂O)] (1), [Rh(ed3a)Cl]⁻ (2), [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] (3), [Rh(1,3-pd3a)Cl]⁻ (4), као и ањонски [Rh(eddadp)]⁻ (5) комплекс.

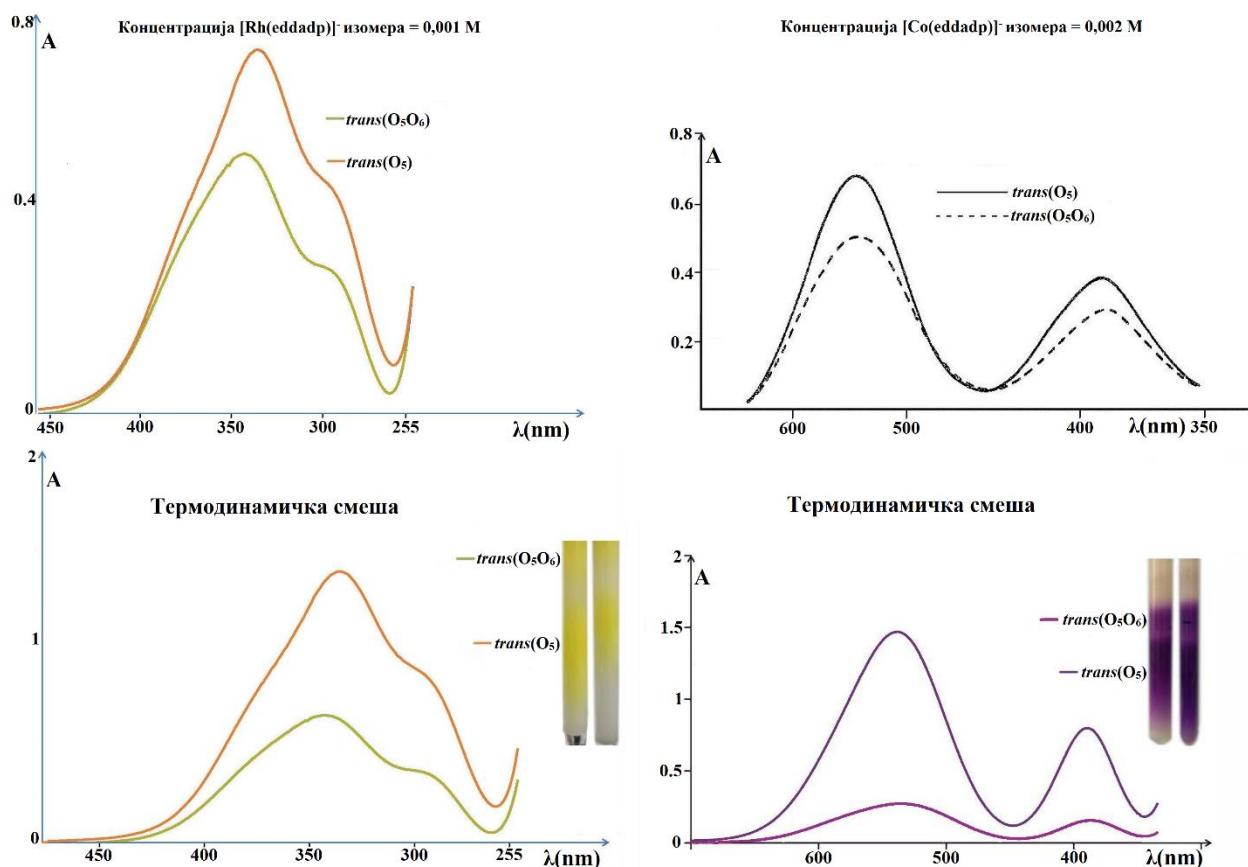


Слика 19. Синтеза родијум(III) комплекса (1)-(5).

Код свих комплекса установљена је очекивана геометријска изомерија. У молекулима комплекса (1) и (2) формирани су само петочлани прстенови и то по један леђни етилендиамински и још три ацетатна са очекиваним *cis*-equatorial распоредом у простору, док је код комплекса (3) и (4) ситуација слична, осим што је леђни прстен шесточлани 1,3-пропандиамински и распоред прстенова диктира *cis*-polar геометрију. Код сва четири комплекса присутна је N₂O₃ хромофора. Комплекс (5) има присутну N₂O₄ хромофору са два петочлана ацетатна, два шесточлана 3-пропионска и једним леђним петочланим етилендиаминским прстеном, који својим распоредом у простору дају *trans*(O₅O₆) изомер.

Све супстанце су окарактерисане спектроскопским методама (NMR, IR, UV-Vis), елементалном микроанализом, док су рендгенском структурном анализом потврђене структуре свих комплекса осим $[\text{Rh}(1,3\text{-pdd3a})(\text{H}_2\text{O})]$ (3).

Поред тога, процедуром Кина и Серла [178] утврђена је термодинамичка равнотежа реакционих смеша комплекса $\text{Na}[\text{Rh}(\text{edda}dp)]$ и $\text{K}[\text{Co}(\text{edda}dp)]$, на основу које је одређен процентуални допринос сваког изомера (видети Експериментални део). UV-Vis спектри термодинамичких смеша и слике њихових хроматографија на колони дати су на **Слици 20**, док су процентуални доприноси добијених изомера поменутих термодинамичких смеша испитиваних комплекса дати у **Табели 5**. Добијене вредности су у сагласности са моларним односима који су добијени овде и у претходним истраживањима. Уочљиво је одсуство $\text{trans}(\text{O}_6)$ изомера у случају $[\text{M}(\text{edda}dp)]^-$ комплекса и релативна заступљеност свих изомера $[\text{M}(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплекса у зависности од метала.



Слика 20. UV-Vis спектри и двоструки хроматограми термодинамичких смеша $[\text{M}(\text{edda}dp)]^-$ изомера ($\text{M} = \text{Rh}(\text{III}), \text{Co}(\text{III})$).

Ако је *trans*(O₅) изомер стабилизован мањим екваторијалним напоном са мањим Co(III) катјоном (Co(III) < Fe(III) < Cr(III) < Rh(III) < Ni(II) < Cu(II)) у извесној мери одређеног $\Delta G^0_{(trans(O_5))}$, онда је јасно да је *trans*(O₅O₆) изомер додатно стабилизован већим Rh(III) катјоном и већом реакционом температуром (145 °C у случају Rh(III) где се његов удео повећава у односу на *trans*(O₅) облик, Табела 5). Ова додатна стабилизација *trans*(O₅O₆) изомера може се проценити из дистрибуције изомера: $\Delta G^0_{(Rh_смеша)} - \Delta G^0_{(Co_смеша)} = -RT\ln(60/40) - RT\ln(79/21) = -1 \text{ kcal mol}^{-1}$.

Табела 5

Однос изомера за [M(edta-тип)]⁻ комплексе.

Лиганд Метал/изомер	eddadp						реф.	1,3-pddadp						
	<i>trans</i> (O ₅)		<i>trans</i> (O ₅ O ₆)		<i>trans</i> (O ₆)			<i>trans</i> (O ₅)		<i>trans</i> (O ₅ O ₆)		<i>trans</i> (O ₆)		реф.
	mol ^a	% ^b	mol	%	mol	%		mol	% ^b	mol	%	mol	%	
Rh(III)	1.5		1		-		[159]	1	40	1.5	60	-	0	[196]
	2	60	1	40	-	0	овај рад							
Co(III)	6		1		-		[54]	-	0	1	29	2.5	71	[197]
	5	79	1	21	-	0	овај рад							

^a Моларни однос изолованих изомера;

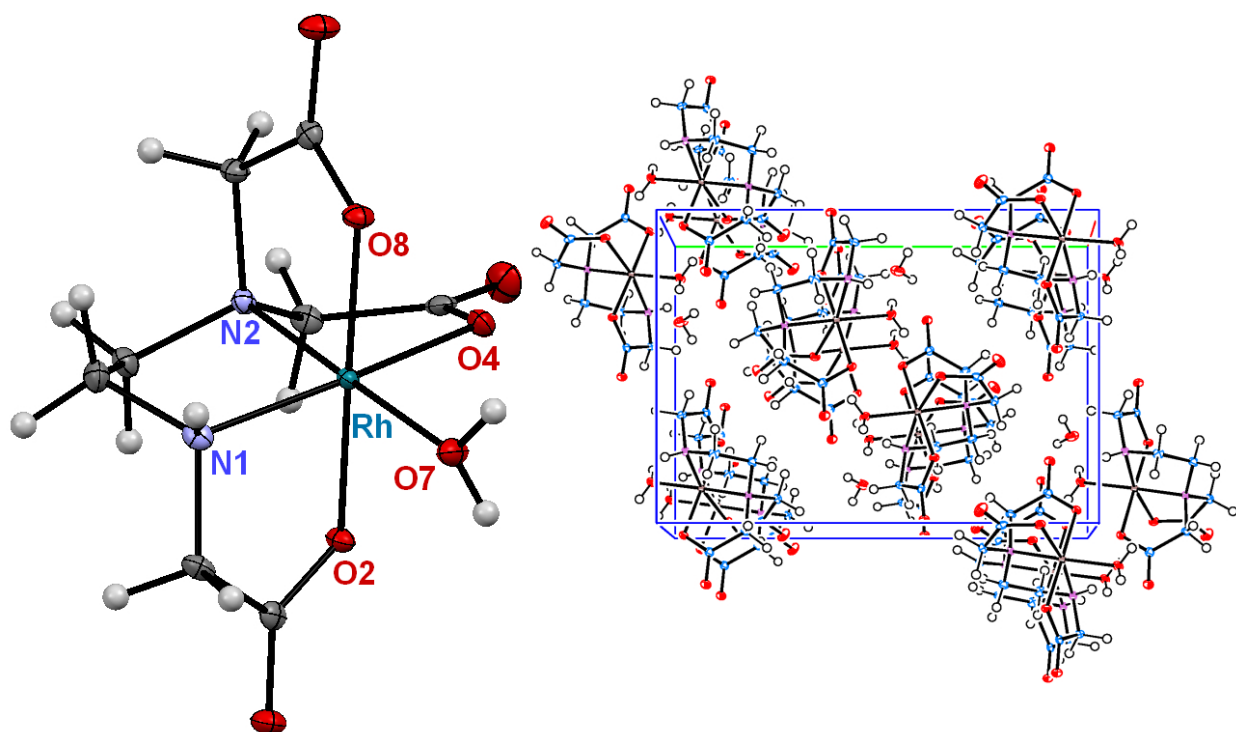
^b Равнотежни проценти геометријских изомера добијени у синтезама [M(eddadp)]⁻ комплекса на 85°C (M = Co) и 145°C (M = Rh);

^в Проценти геометријских изомера добијени у синтезама [M(1,3-pddadp)]⁻ комплекса и израчунати из раније објављених података.

3.1.2 Молекулска структура *cis-equatorial*-[Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O комплекса (I)

Структурни дијаграм *cis-equatorial*-[Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O са нумеричком шемом атома и кристалним паковањем је дат на **Слици 21**, док су дужине и углови веза дате у **Табели 6**. Моноклинична јединична ћелија садржи 8 јединица: 4 неутрална молекула [Rh(ed3a)(H₂O)] комплекса и 4 молекула воде. Свака асиметрична јединица се састоји од комплексне јединице и једног молекула воде. Лиганд ed3a³⁻ се понаша као пентадентат остварујући координацију преко два атома азота и три атома карбоксилатних кисеоника, док шесто координационо место заузима молекул воде, чиме се остварује октаедарска геометрија (**Слика 21**). У кристалима комплекса је формирана мрежа водоничних веза која укључује карбоксилатне и аминок групе ed3a³⁻ лиганда, као и молекуле координоване и солватне воде. Положаји карбоксилатних група говоре о *cis-equatorial* геометрији: два

ацетатна R прстена се налазе у аксијалном положају, док екваторијална раван укључује један ацетатни G прстен, петочлани етилендиамински E прстен и један молекул воде (Слика 21). Комплекс поседује једну дужу екваторијалну везу Rh-O(7) (2.072(2) Å, веза Rh-O из молекула воде). Све остале метал-лиганд везе налазе се у очекиваном распону 1,996(2) - 2,050(2) Å (Табела 6) и поредбене су са сличним комплексима Rh(III) [42,61,62]. Екваторијални E прстен је у конформацији коверте, док три петочлана ацетатна прстена имају увијену конформацију.



Слика 21. Кристална структура *cis-equatorial*-[Rh(ed3a)(H₂O)] комплекса и кристално паковање дуж *a* осе.

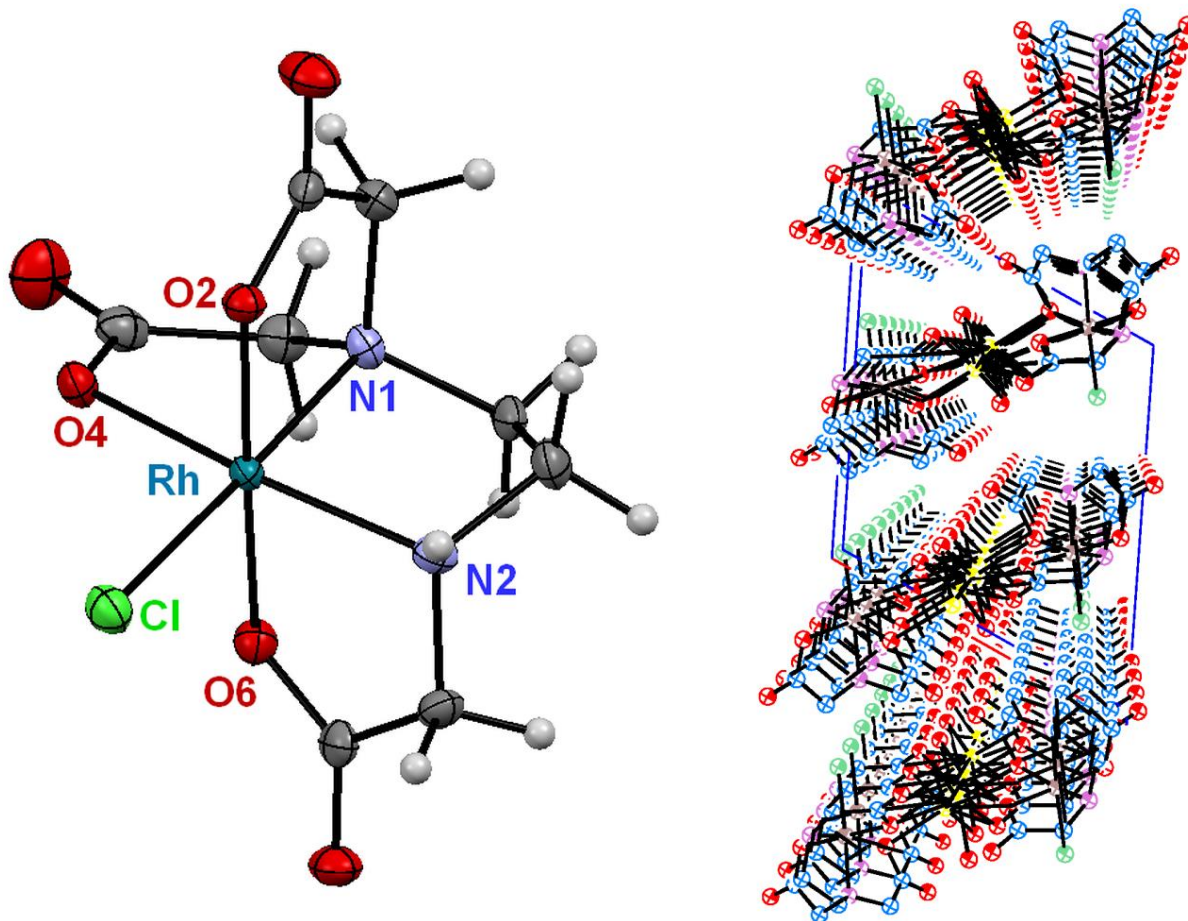
Табела 6

Дужине (Å) и углови (°) веза *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O комплекса (1).

Дужине веза		<i>cis</i> -углови				<i>trans</i> -углови	
Rh-O(7)	2,072(2)	O(2)-Rh-O(4)	92,01(7)	O(6)-Rh-N(1)	98,21(8)	O(6)-Rh-O(2)	178,62(7)
Rh-O(2)	2,018(2)	O(2)-Rh-O(7)	89,03(7)	N(1)-Rh-O(7)	91,14(8)	N(2)-Rh-O(7)	176,77(8)
Rh-O(4)	2,050(2)	O(2)-Rh-N(1)	83,06(7)	N(2)-Rh-O(2)	93,66(7)	N(1)-Rh-O(4)	169,01(8)
Rh-O(6)	2,010(2)	O(4)-Rh-O(7)	98,62(7)	N(2)-Rh-O(4)	83,09(7)		
Rh-N(1)	2,027(2)	O(6)-Rh-O(4)	86,64(7)	N(2)-Rh-O(6)	85,90(7)		
Rh-N(2)	1,996(2)	O(6)-Rh-O(7)	91,45(7)	N(2)-Rh-N(1)	87,42(8)		

3.1.3 Молекулска структура *cis*-equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H₂O комплекса (2)

Структурни дијаграм *cis*-equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H₂O са нумеричком шемом атома и кристалним паковањем дат је на **Слици 22**, док су дужине и углови веза дате у **Табели 7**. Моноклинична јединична ћелија садржи 12 јединица: 4 катјона, 4 анјона и 4 молекула воде. Свака асиметрична јединица састоји се од Na⁺ катјона, комплексног анјона [Rh(ed3a)Cl]⁻ и једног молекула воде. Јон Rh(III) је хексакоординован и остварује две везе са атомима азота, три везе са атомима кисеоника из карбоксилатних прстенова, док шесто координационо место заузима хлоридо лиганд. Комплекс има октаедарску геометрију, док положај прстенова говори о *cis*-equatorial изомеру (**Слика 22**). Код комплекса је формирана полимерна структура са две карбоксилатне групе које мостно спајају Rh(III) јон са Na⁺ јоном. Молекули воде су примарно укључени у Na-O-Na премошћавање преко својих кисеоникових атома, али се даље формирају водонични мостови са координованим хлоридним и карбоксилатним лигандима. Na⁺ јон је хептакоординован; интермолекулски водонични мостови се, такође, формирају између amino (Н донор) и карбоксилатних група (Н акцептор). Све Rh-L везе се налазе у опсегу 2,008(3) - 2,074(3) Å, сем једне дуже Rh-Cl везе (2,353(1) Å) (**Табела 7**). Етилендиамински прстен Е, екваторијални ацетатни прстен G и један аксијални R прстен налазе се у конформацији коверте, док је други аксијални прстен скоро планаран.



Слика 22. Кристална структура *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)Cl]⁻ комплексног анјона и кристално паковање дуж *b* осе.

Табела 7

Дужине (Å) и углови (°) веза *cis*-equatorial-Na[Rh(ed3a)Cl]·H₂O комплекса (2).

Дужине веза		<i>cis</i> -углови				<i>trans</i> -углови	
Rh-Cl	2,353(1)	O(2)-Rh-Cl	91,11(10)	O(6)-Rh-O(4)	91,05(12)	O(2)-Rh-O(6)	178,33(13)
Rh-O(2)	2,008(3)	O(2)-Rh-O(4)	90,05(12)	O(6)-Rh-N(2)	83,30(14)	N(1)-Rh-Cl	176,63(10)
Rh-O(4)	2,074(3)	O(2)-Rh-N(1)	85,55(14)	N(1)-Rh-O(4)	82,97(14)	N(2)-Rh-O(4)	168,09(14)
Rh-O(6)	2,013(3)	O(2)-Rh-N(2)	95,39(13)	N(1)-Rh-O(6)	93,34(14)		
Rh-N(1)	2,011(4)	O(4)-Rh-Cl	97,46(10)	N(1)-Rh-N(2)	86,90(16)		
Rh-N(2)	2,031(4)	O(6)-Rh-Cl	89,99(10)	N(2)-Rh-Cl	93,02(12)		

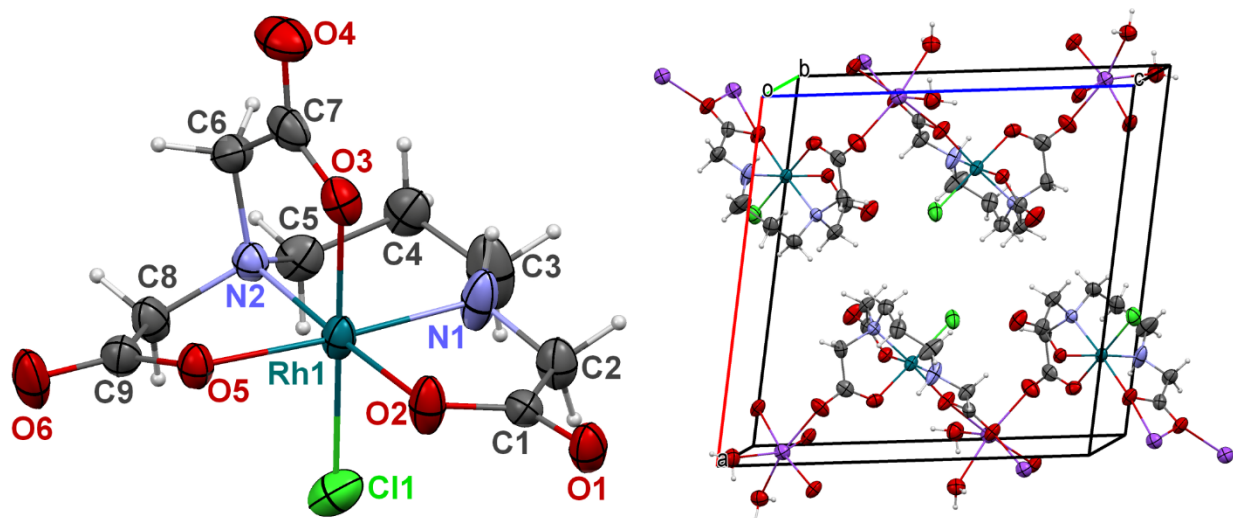
3.1.4 Молекулска структура *cis-polar*-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H₂O комплекса (4)

Дужине веза и углови између веза за *cis-polar*-[Rh(1,3-pd3a)Cl]⁻ комплекс су дати у Табели 8, док је његов структурни приказан на Слици 23. Моноклинична јединична ћелија садржи 16 јединица: 4 катјона, 4 анјона и 8 молекула воде. Асиметрична јединица кристала састоји се од Na⁺ катјона, комплексног [Rh(1,3-pd3a)Cl]⁻ анјона и два молекула воде (Слика 23). Комплекс садржи Rh(III) центар у октаедарској геометрији, окружен лигандом који се понаша као пентадентат, а шесту позицију заузима хлор. Положаји карбоксилатних група дефинишу *cis-polar* геометрију (Слика 23). Екваторијалне позиције октаедра заузимају два депротонувана карбоксилатна кисеоника (Rh-O2 2,044(4) Å, Rh-O5 2,054(4) Å) и два атома азота 1,3-pd3a лиганда (Rh-N1 2,020(5) Å, Rh-N2 2,030(4) Å). Аксијалне позиције заузимају хлоридни јон и један кисеоник трећег карбоксилата (Rh-Cl1 2,328(2) Å, Rh-O3 2,018(4) Å; O3-Rh-Cl1 178,8(2)°). Други атом кисеоника ове последње карбоксилне групе интерагује са натријумовим јоном (O4-Na1 2,360(5) Å). Комплекс укључује једну дужу аксијалну Rh-Cl везу (2,328(2) Å). Остале M-L везе су у очекиваном опсегу (2,018(4) Å - 2,054(4) Å; Табела 8) [42,61,62]. 1,3-Пропандиамински прстен има конформацију столице, два екваторијална ацетатна прстена су у конформацији коверте, док је аксијални ацетатни прстен скоро планаран. Јон натријума је окружен са два молекула воде и 4 карбоксилатна кисеоника у врло дисторгованој октаедарској геометрији. Један карбоксилатни кисеоник и један молекул воде заузимају аксијалне положаје, док је други молекул воде заједно са три карбоксилатна кисеоника (O1' и O2' у x, 1/2-y, -1/2+z и O1'' у 2-x, -y, 1-z положају) лоциран у екваторијалној равни.

Табела 8

Дужине (Å) и углови (°) веза *cis-polar*-Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H₂O комплекса (4).

Дужине веза		<i>cis</i> -углови				<i>trans</i> -углови	
Rh-Cl(1)	2,328(2)	O(2)-Rh-O(3)	91,2(2)	O(3)-Rh-O(5)	89,0(1)	O(2)-Rh-N(2)	176,2(2)
Rh-O(2)	2,044(4)	O(2)-Rh-O(5)	98,6(1)	O(5)-Rh-Cl(1)	91,5(3)	O(3)-Rh-Cl(1)	178,8(2)
Rh-O(3)	2,018(4)	O(2)-Rh-N(1)	81,7(2)	O(5)-Rh-N(2)	81,0(1)	O(5)-Rh-N(1)	176,2(2)
Rh-O(5)	2,054(4)	O(2)-Rh-Cl(1)	89,8(2)	N(1)-Rh-Cl(1)	92,2(2)		
Rh-N(2)	2,030(4)	O(3)-Rh-N(1)	87,2(2)	N(2)-Rh-Cl(1)	94,0(2)		
Rh-N(1)	2,020(5)	O(3)-Rh-N(2)	85,0(2)	N(1)-Rh-N(2)	98,4(2)		

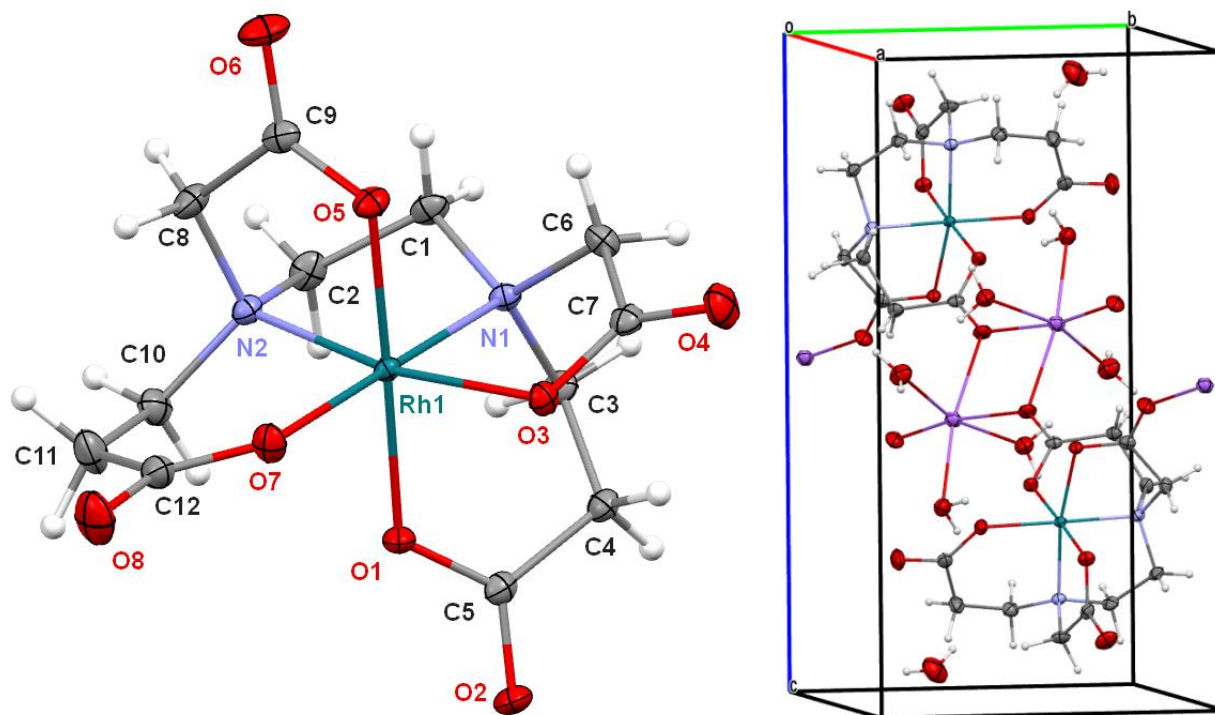


Слика 23. Кристална структура *cis-polar*-[Rh(1,3-pd3a)Cl]⁻ комплексног анјона и кристално паковање дуж *b* осе.

3.1.5 Молекулска структура *trans*(O₅O₆)-Na[Rh(*eddadp*)]·4H₂O комплекса (5)

Молекулска структура *trans*(O₅O₆)-[Rh(*eddadp*)]⁻ комплекса са нумеричком шемом атома и кристалним паковањем приказан је на Слици 24, док су дужине и углови веза дати у Табели 9. Триклинична јединична ћелија се састоји од шест јединица: два катјона, два анјона и два молекула воде. Свака асиметрична јединица садржи једну јединицу формуле која се састоји од: Na⁺ катјона који координује три молекула воде, комплексног [Rh(*eddadp*)]⁻ анјона и једног молекула кристалне воде. Родијум(III) јон координује шест доносних атома лиганда: четири депротонувана карбоксилатна кисеоника и два амино атома азота. Екваторијалну раван октаедра заузимају два депротонувана карбоксилатна кисеоника (Rh-O3 2,053(1) Å, Rh-O7 2,053(2) Å) и два азота лиганда (Rh-N1 2,015(2) Å, Rh-N2 2,026(2) Å). Аксијални положај заузимају два кисеоника треће и четврте карбоксилне групе (Rh-O5 2,017(2) Å, Rh-O1 2,032(2) Å). Овакав распоред карбоксилатних група говори о *trans*(O₅O₆) геометрији комплексног [Rh(*eddadp*)]⁻ анјона. Други кисеоников атом пропионске аксијалне карбоксилне групе интерагује са натријумовим јоном (O2-Na1 2,374(2) Å) (Слика 24). Дужине веза Rh-L и углови (Табела 9) су упоредиви са одговарајућим везама аналогних комплекса [42,43,46,53,196,198-201]. Етилендиамински (E) и два петочлана прстена (R и G) имају увијену конформацију, док су два шесточлана

прстена у конформацији увијене лађе. Два симетрична натријумова јона међусобно су повезана преко O2 мостног карбоксилатног кисеониковог атома две суседне комплексне јединице (које су, такође, повезане са кристалографским инверзионим центром). Заједно са O4 карбоксилатним атомом и три молекула воде, реализована је апроксимативна октаедарска координациона геометрија око јона натријума. Два молекула воде заузимају аксијалне положаје, док се у екваторијалној равни налазе један молекул воде и три карбоксилатна кисеоника.



Слика 24. Кристална структура $trans(O_5O_6)-[Rh(eddap)]^-$ комплексног анјона и кристално паковање дуж a осе.

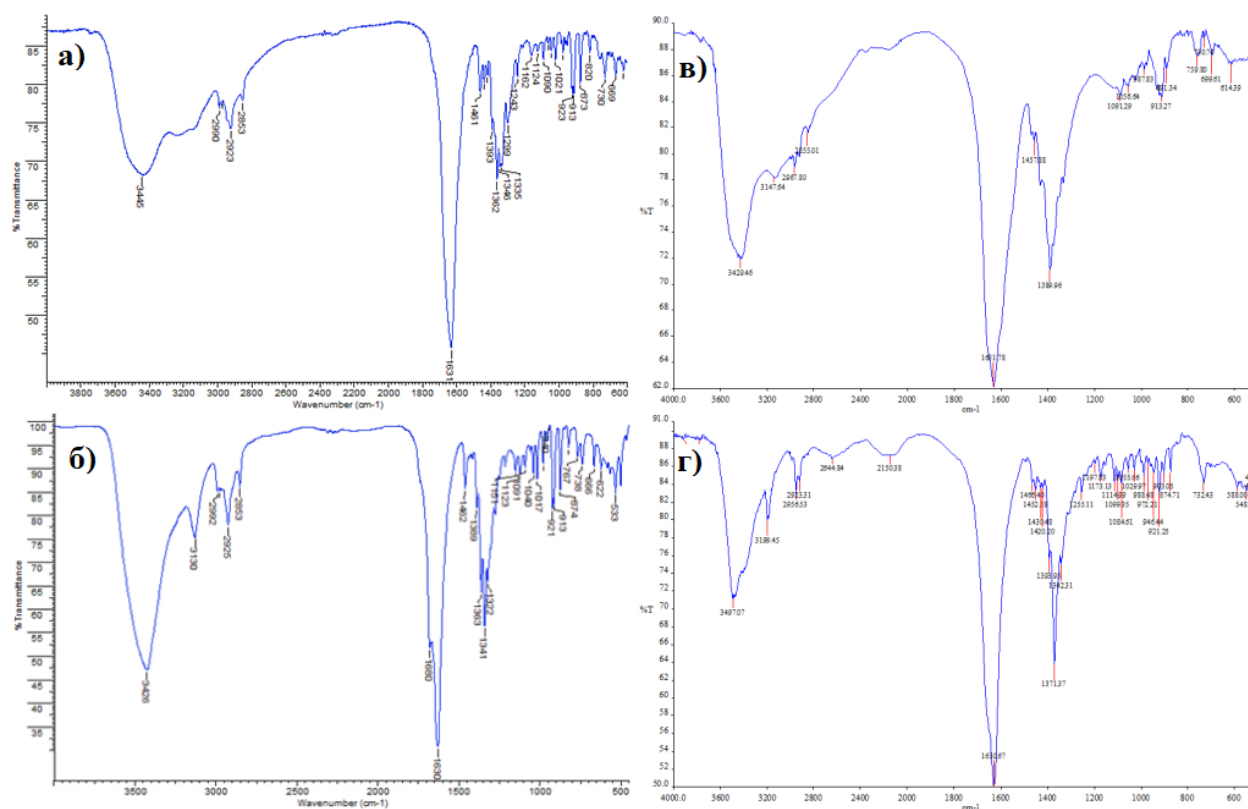
Табела 9

Дужине (Å) и углови (°) веза $trans(O_5O_6)-Na[Rh(eddap)] \cdot 4H_2O$ комплекса (5).

Дужине веза	<i>cis</i> -углови			<i>trans</i> -углови			
Rh-O(1)	2,032(2)	O(1)-Rh-O(3)	90,43(4)	N(1)-Rh-O(1)	93,61(5)	N(2)-Rh-O(3)	169,30(5)
Rh-O(3)	2,053(1)	O(1)-Rh-O(7)	86,48(4)	N(1)-Rh-O(3)	82,74(5)	O(5)-Rh-O(1)	177,73(4)
Rh-O(5)	2,017(2)	O(5)-Rh-O(3)	89,55(4)	N(1)-Rh-O(5)	88,64(5)	N(1)-Rh-O(7)	178,93(5)
Rh-O(7)	2,053(2)	O(5)-Rh-O(7)	91,27(4)	N(1)-Rh-N(2)	89,16(5)		
Rh-N(1)	2,015(2)	O(5)-Rh-N(2)	83,25(5)	N(2)-Rh-O(1)	97,08(5)		
Rh-N(2)	2,026(2)	O(7)-Rh-O(3)	96,19(4)	N(2)-Rh-O(7)	91,89(5)		

3.2 Спектрална анализа синтетисаних комплекса

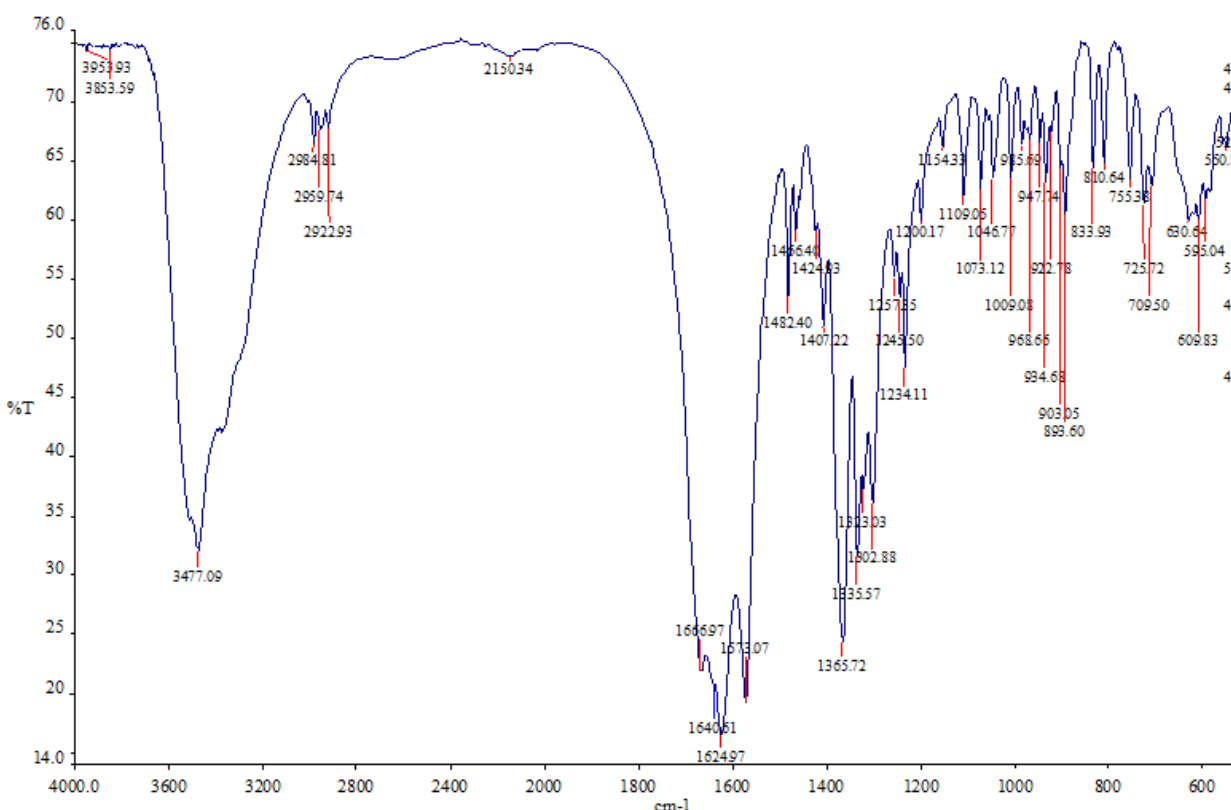
Синтетисани комплекси су додатно анализирани инфрацрвеном спектроскопијом. Карбоксилатна област спектра анализираних комплекса је у сагласности са молекулском структуром и симетријом комплекса. Комплекси са пентадентатним лигандима $[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{H}_2\text{O}]$ (**1**), $[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}]^-$ (**2**), $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})\text{H}_2\text{O}]$ (**3**) и $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})\text{Cl}]^-$ (**4**) показују врло интензивне, оштре траке у опсегу $1631\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ (Слика 25) које одговарају асиметричним валенционим вибрацијама петочланих ацетатних прстенова [63,69].



Слика 25. Инфрацрвени спектри пентадентатних Rh(III) комплекса: $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})]$ (**1**), $[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}]^-$ (**2**), $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})(\text{H}_2\text{O})]$ (**3**) и $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})\text{Cl}]^-$ (**4**).

Комплекс (**2**) показује и мали превој на 1680 cm^{-1} , што указује на *cis*-*equatorial* изомер. Сви наведени комплекси су C_1 симетрије. $[\text{Rh}(\text{eddadp})]^-$ (**5**) комплекс у свом саставу има четири нееквивалентна прстена због чега карбоксилатна област његовог IR спектра показује четири траке и то две на вишим фреквенцама (1641 и 1667 cm^{-1}) које потичу од вибрација

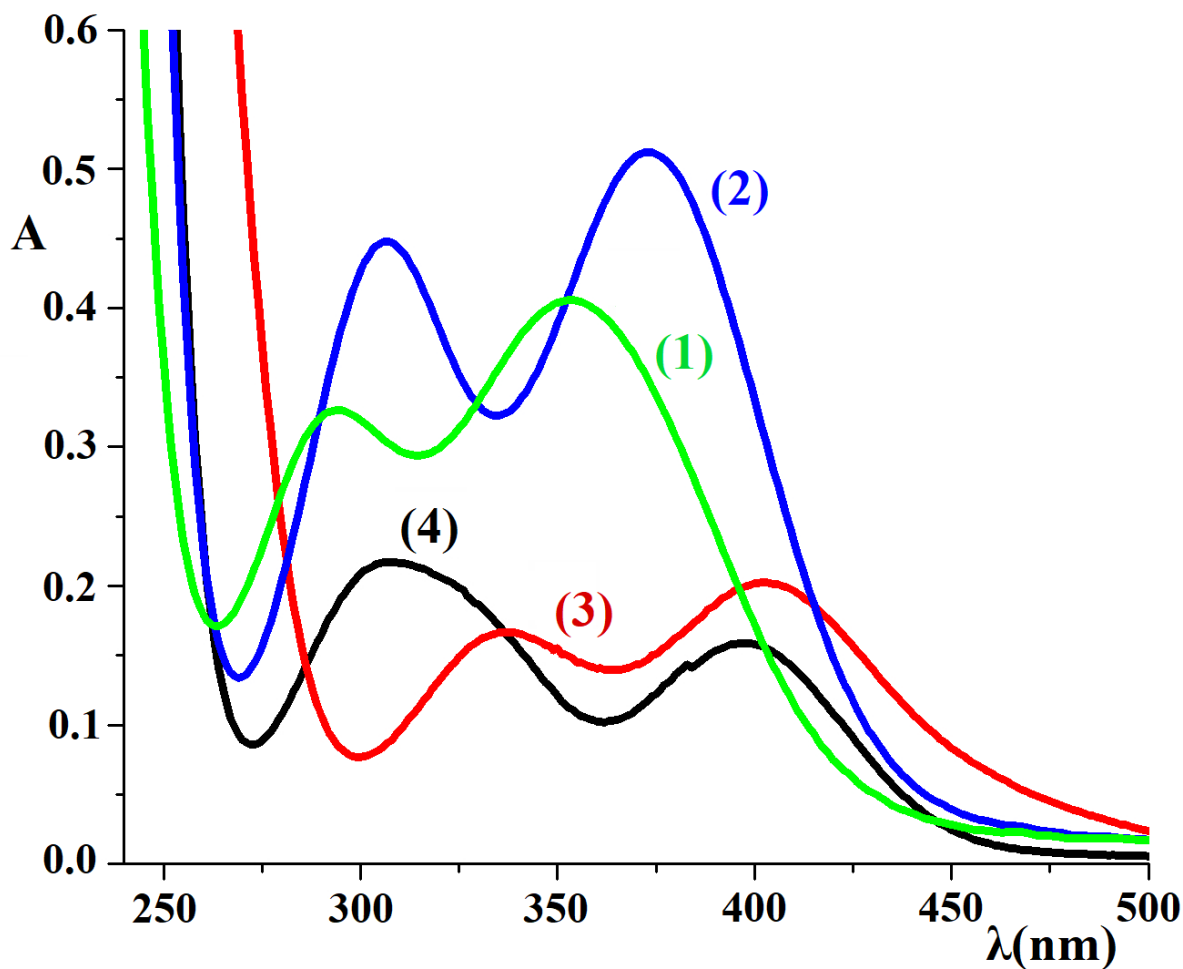
карбоксилатних група петочланих прстенова и две на нижим фреквенцијама (1573 и 1625 cm^{-1}) које потичу од вибрација карбоксилатних група шесточланих прстенова (Слика 26). Овакав изглед спектра указује на *trans*(O_5O_6) геометрију. Одсуство сигнала у области 1700 - 1750 cm^{-1} говори да су све карбоксилатне групе депротоноване, тј. координоване. Оваква интерпретација се базира на општеприхваћеном правилу да се фреквенце карбоксилних група за петочлане прстенове налазе на вишој енергији [202] у односу на одговарајуће фреквенције шесточланих хелатних прстенова [203]. Асиметричне валенционе вибрације некоординованих карбоксилатних група се налазе у области 1700 - 1750 cm^{-1} , док су координоване групе у нижој области енергије (1560 - 1650 cm^{-1}) [204-206].



Слика 26. Инфрацрвени спектар *trans*(O_5O_6)-[Rh(eddap)] комплекса.

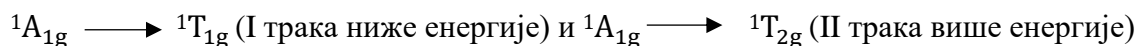
Електронски апсорпциони спектри структурно сличних комплекса су дати у референцама [207,208]. Сви синтетисани комплекси су жуте боје, дијамагнетични и октаедарске геометрије. Спектри комплекса (1)-(4), који у свом саставу имају пентадентатне лиганде, по облику су мало другачији од свих до сада испитиваних. Наиме, иако су комплекси C_1 симетрије, спектри показују две скоро симетричне траке које потичу од спин

дозвољених d-d прелаза (Слика 27), тј. имају само једну компоненту у области ниже енергије (${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1T_{1g}$) и једну компоненту у области више енергије (${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1T_{2g}$). Нема додатног цепања у области ниже енергије спински дозвољених d-d прелаза, што је било уобичајено код свих осталих до сад испитиваних комплекса родијума [207,208], па је интерпетација ових спектра у складу са O_h моделом. Комплекси (3) и (4) показују ниже моларне апсорптивности (ϵ) у поређењу са комплексима (1) и (2), због присуства флексибилнијег (мање ригидног) леђног 1,3-пропандиаминског прстена.



Слика 27. Електронски апсорпциони спектри пентадентатних Rh(III) комплекса: $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1) —, $\text{Na}[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2) —, $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3) —, $\text{Na}[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})\text{Cl}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4) —.

Међутим, комплекс (5) показује нешто другачији изглед спектра који је у сагласности са раније испитиваним комплексима (Слика 28). Спектри сличних комплекса *trans*(O₅)-Na[Rh(eddadp)]·2H₂O [46] и *trans*(O₅O₆)-Na[Rh(1,3-pddadp)]·3H₂O [196] дати су ради поређења. У октаедарском (O_h) пољу нискоспинског d⁶ система, можемо очекивати два спински дозвољена прелаза и то:

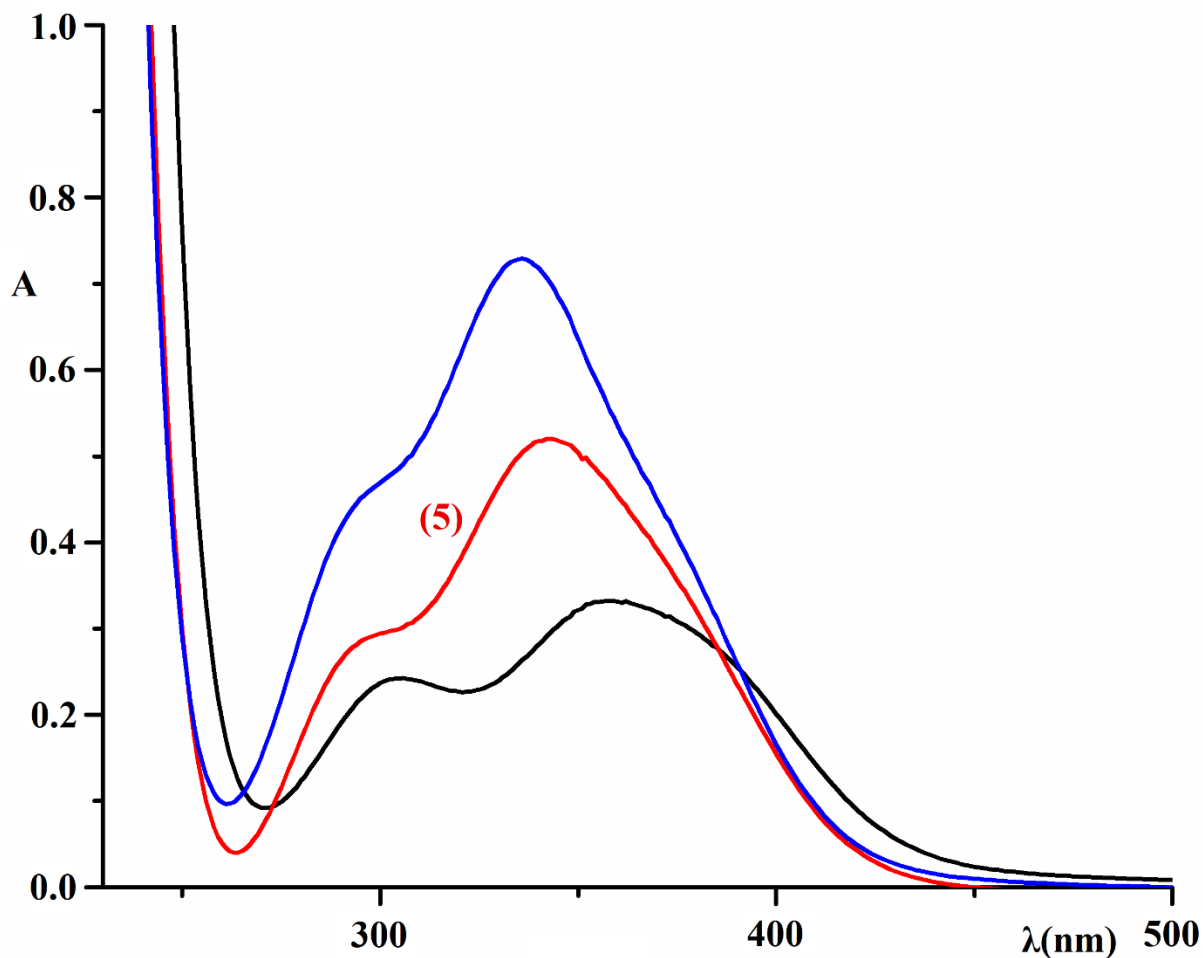


У тетрагоналном D_{4h} пољу октаедарска стања ¹T_{1g} и ¹T_{2g} се даље могу разложити на по још две компоненте:

$${}^1T_{1g} = {}^1A_{2g} + {}^1E_g^a \quad \text{и} \quad {}^1T_{2g} = {}^1B_{2g} + {}^1E_g^b$$

Ако би се метал-диаминска раван испитиваног родијум(III) комплекса дефинисала као ху раван, онда би дуж x и y оса донорски атоми били N и O. Даље, ако бисмо N и O атоме у овој равни заменили са хипотетичким X атомима, онда би добијени комплекс припадао *trans*-[MX₄O₂]-типу комплекса где су X екваторијални донорски атоми, а јачина лигандног поља у октаедарској равни је таква да се налази између N и O атома. Имајући у виду да су екваторијални X атоми виши у спектрохемијској серији од аксијалних O атома, а следећи разматрања Вентворта (Wentworth) и Пипера (Piper) у случају Co(III) комплекса [209], стање ¹E_g^a које деривира из ¹T_{1g} ће бити ниже енергије у односу на стање ¹A_{2g} које је истог порекла. Такође, стање ¹B_{2g} ће енергетски бити ниже од ¹E_g^b стања, иако деривирају из истог стања (¹T_{2g}). Комплекс (5) је C₁ симетрије и показује две компоненте у области ниже енергије ¹T_{1g} (O_h) прелаза и само једну компоненту у области више енергије ¹T_{2g} (O_h), па би интерпетација овог спектра била у сагласности са D_{4h} моделом. Очекиване су четири траке, али се јављају само три као последица лошег разлагања у области више енергије. I трака потиче од ¹A_{1g} → ¹E_g^a прелаза и лоцирана је на 380 nm (26310 cm⁻¹) у облику превоја, II трака потиче од ¹A_{1g} → ¹A_{2g} прелаза и лоцирана је на 344 nm (29070 cm⁻¹) у облику добро дефинисане најинтезивније траке, а III трака потиче од енергетски блиских ¹A_{1g} → ¹B_{2g} и ¹A_{1g} → ¹E_g^b прелаза, па је уочљива у виду слабо дефинисаног превоја на 298 nm (33550 cm⁻¹). Вредности моларних екстинционих коефицијената (ε) опадају са опадањем напона у хелатним системима. Тако, моларне апсорптивности комплекса (5) су ниже у односу на поредбени *trans*(O₅) изомер истог комплекса, али су више у односу на исти *trans*(O₅O₆) изомер

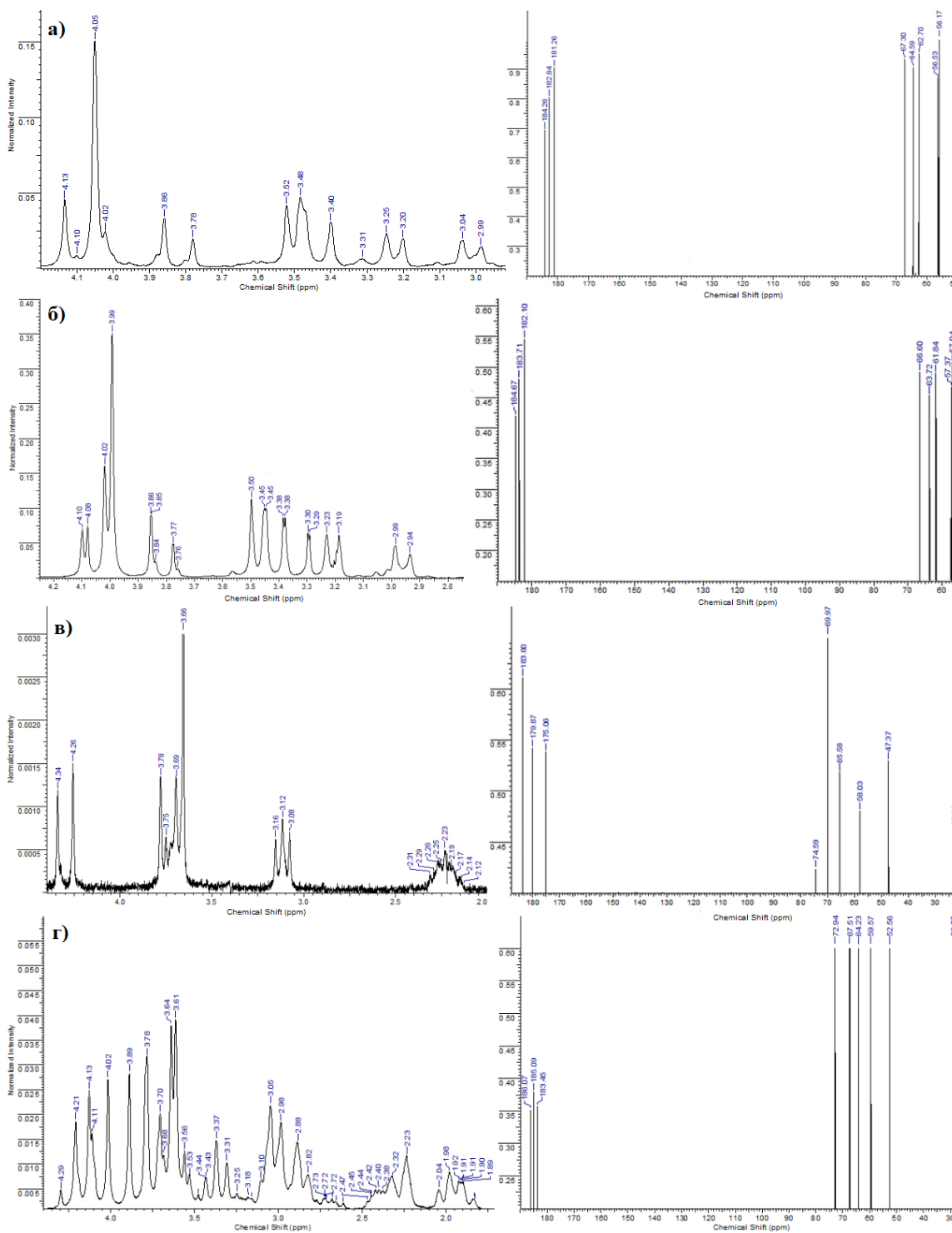
комплекса $\text{Na}[\text{Rh}(1,3\text{-pddadp})]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Слика 28). Ова појава се приписује присуству мање ригидног (флексибилнијег) 1,3-пропандиаминог прстена у поредбеном комплексу.



Слика 28. Електронски апсорпциони спектри хексадентатних Rh(III) комплекса: $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)\text{-Na}[\text{Rh}(\text{eddadp})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5) —, $\text{trans}(\text{O}_5)\text{-Na}[\text{Rh}(\text{eddadp})]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ —, $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)\text{-Na}[\text{Rh}(1,3\text{-pddadp})]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ —.

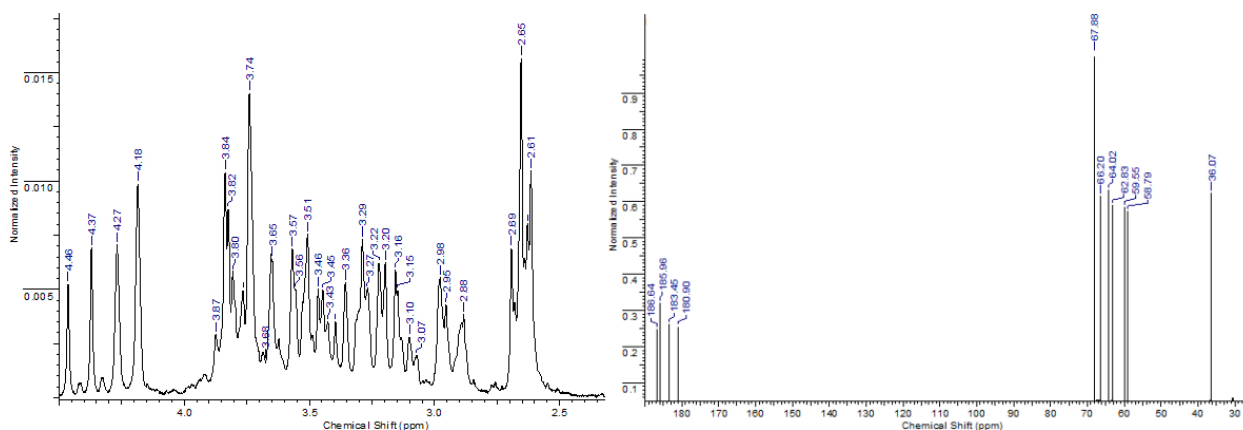
^1H и ^{13}C NMR спектри дају поврду структура комплекса (1)-(4) (Слика 29). Сигнали (видети Експериментални део дисертације) су у сагласности са претходно испитиваним комплексима [207-211]. ^1H NMR спектри показују присуство АБ парова насталих купловањем метилених протона глицинских прстенова. У случају комплекса (1) и (2), јавља се један синглет на 4,05 (1) и 3,99 ppm (2) који се приписује петочланим прстеновима ван октаедарске равни, као и два АБ пара на 4,09 и 3,30 ppm (1) и 4,05 и 3,34 ppm (2), који

указују на присуство два глицинска прстена и то једног у равни и другог ван октаедарске равни.



Слика 29. ^1H и ^{13}C NMR спектри комплекса [Rh(ed3a)(H₂O)] (1) (а), [Rh(ed3a)Cl]⁻ (2) (б), [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] (3) (в) и [Rh(1,3-pd3a)Cl]⁻ (4) (г).

У случају 1,3-пропандиаминских комплекса (3) и (4), јављају се два АБ пара на 4,05 и 3,96 ppm (3) и 3,99 и 3,93 ppm (4) који се приписују глицинским прстеновима у равни и ван равни. ¹H NMR спектар комплекса (5) показује два АБ пара лоцирана на 3,89 ppm (R прстен) и 3,92 ppm (G прстен) (Слика 30). Детаљна интерпретација NMR спектра за прах комплекса (5) је дата у дисертацији Милоша И. Ђурана [207]. ¹³C NMR спектри свих комплекса дају очекивани број сигнала који одговарају броју угљеникових атома у одговарајућим положајима. Сигнали на вишим енергијама приписани су карбоксилним угљеницима, док су сигнали на нижим енергијама приписани метиленским угљеницима [207].



Слика 30. ¹H и ¹³C NMR спектри *trans*(O₅O₆)-Na[Rh(eddap)]·4H₂O комплекса (5).

3.3 Структурни параметри и анализа напона комплекса родијума(III) у односу на њихову геометрију

Да би смо анализирали напон у комплексима, а на основу напона и њихову геометрију, морали смо узети у обзир неколико параметара:

- а) *cis* и *trans* углове лоциране око јона метала,
- б) збир углова веза различитих прстенова,
- в) Rh-O-C углови веза и
- г) углови веза око атома азота.

3.3.1 Анализа напона пентадентатних Rh(III) комплекса

У овој дисертацији извршена је анализа напона пентадентатних Rh(III) комплекса који садрже $ed3a^{3-}$ и $1,3-pd3a^{3-}$ лиганде. Структурни подаци који корелирају са стереохемијом комплекса родијума(III) су дати у **Табели 10**. Анализа напона је дискутована за комплексе (1)-(4), као и за структурно слични $[Rh(1,3-pddadp)Cl]^{2-}$ комплекс. Такође, структура комплекса (3) није потврђена X-рау анализом, па је употребљена DFT израчуната структура.

Табела 10

Анализа напона пентадентатних родијум(III) комплекса са edta-типом лиганада.

Комплекс	$\Sigma\Delta(O_h)^a$	$\Delta\Sigma(\text{прстен})^b$			$\Delta(\text{Rh-O-C})^c$		$\Sigma\Delta(N)^d$	Реф.
		E(T)	R	G	R	G		
<i>cis-eq</i> -[Rh(ed3a)(H ₂ O)]	(1) 50	-10	-2	-13	+4	+1	17	Овај рад
<i>cis-eq</i> -[Rh(ed3a)Cl] ⁻	(2) 42	-12	-2	-12	+4	+1	14	Овај рад
<i>cis-pol</i> -[Rh(1,3-pd3a)H ₂ O] ^a	(3) 61	+32	+1	-7	+7	+6	18	Овај рад
<i>cis-pol</i> -[Rh(1,3-pd3a)Cl] ⁻	(4) 52	+44	+1	-7	+5	+5	11(46)	Овај рад
<i>cis-pol,trans</i> (Cl,O ₅)-[Rh(1,3-pddadp)Cl] ²⁻	51	+29	0	-11(+38)	+6	+3(+20)	15	[43]

^a $\Sigma\Delta(O_h)$: збир апсолутних вредности одступања дванаест октаедарских углова од 90°;

^b $\Delta\Sigma(\text{прстен})$: одступање суме углова веза појединачних прстенова (E, T, R, G) од идеалне вредности (идеалне вредности: E = 528°, T = 637,5°, R и G петочлани = 538,5°, R и G шесточлани = 648°), вредност у загради се односи на 3-пропионски прстен;

^c $\Delta(\text{Rh-O-C})$: одступање угла Rh-O-C од идеалне вредности 109,5° (дата је средња вредност за R и G прстенове, сем код *cis-pol,trans*(Cl,O₅)-[Rh(1,3-pddadp)Cl]²⁻ где се вредност у загради односи на 3-пропионски прстен);

^d $\Sigma\Delta(N)$ збир апсолутних девијација шест углова око азота у односу на идеалну вредност 109,5°. Дата је средња вредност добијена за оба азота, осим у случају када се вредности драстично разликују;

^a DFT израчуната структура.

Код свих испитиваних комплекса (**Табела 10**) видимо да је јон родијума(III) хексакоординован са октаедарском геометријом, при чему је степен дисторзије ($\Sigma\Delta(O_h)$ вредност) различит. Комплекси (1), (2), (4) и поредбени $[Rh(1,3-pddadp)Cl]^{2-}$ показују умерену дисторзију (42-52°). Већа октаедарска дисторзија је примећена код до сада неизолованог комплекса (3) и износи 61°. Што се тиче ($\Delta\Sigma(\text{прстен})$ вредности, етилендиамински (E) прстенови показују очекивано негативне вредности (-10 и -12°) за разлику од 1,3-пропандиаминских прстенова који су мање напети (+29 и +44°). Петочлани ацетатни прстенови у екваторијалној равни (G) су мањи од идеалних (538,5°) па им је девијација негативна. Изузетак је поредбени комплекс $[Rh(1,3-pddadp)Cl]^{2-}$ који у

екваторијалној равни има шесточлани 3-пропионски прстен, па му је девијација позитивна и износи $+38^\circ$. Примећене су нешто мање девијације R и G прстенова код комплекса (3) и (4) у односу на комплексе (1) и (2) што се може приписати присуству флексибилнијег 1,3-пропандиаминоског прстена. Углови Rh-O-C веза одступају минимално од идеалне вредности која износи $109,5^\circ$ и варирају у опсегу $+1$ до $+7$, осим када је у питању шесточлани 3-пропионски прстен, чије је одступање веће ($+20$). У случају тетраедарске дисторзије око аминског азота ($\Sigma\Delta(N)$ вредност), највише одступа комплекс (4) са вредностима 11° (азот без протона) и 46° (азот који садржи протон). Поред тога, у овом комплексу, девијација 1,3-пропандиаминоског прстена је велика и износи $+44^\circ$, па се може закључити да је нестабилан и да лако подлеже хидролизи у супституционим реакцијама.

3.3.2 Анализа напона хексадентатних Rh(III) комплекса

Када су у питању хексадентатни комплекси родијума(III), структурни подаци корелирани са њиховом стереохемијом су дати у Табели 11. Анализа напона дискутована је за комплекс (5), као и за структурно сличне комплексе родијума(III) и кобалта(III) (6)-(16), од којих су неки са потврђеном X-гау структуром, а за неке су употребљене DFT израчунате структуре.

Код свих испитиваних комплекса (Табела 11) видимо да је јон метала хексакоординанан са октаедарском геометријом, при чему је степен дисторзије ($\Sigma\Delta(O_h)$ вредност) различит и зависи од распореда карбоксилатних прстенова у екваторијалној равни. Као што је и очекивано, девијација октаедарских углова је већа код Rh(III) комплекса у односу на групу поредбених Co(III) комплекса (Табела 11). Комплекс *trans*(O₅O₆)-[Rh(eddadp)]⁻ (5), показује умерену дисторзију (41°), што је у сагласности са његовом *trans*(O₅O₆) геометријом и распоредом прстенова у екваторијалној равни (5-5-6), док сличан Co(III) комплекс (9) са истим распоредом прстенова показује мање одступање (31°), што се може приписати величини централног јона метала (Co(III) < Rh(III)). Раније синтетисани комплекси (6) и (8) показују мању дисторзију у односу на комплекс (5) (34 и 31°) због повољнијег распореда прстенова у равни (6-5-6) [46,48]. Узимајући у обзир само етилендиаминске комплексе, може се видети да (7) и (10) показују највеће одступање од октаедра, јер је распоред прстенова у равни веома неповољан (5-5-5). Ова

два комплекса нису изолована. 1,3-Пропандиамински комплекси (**11-16**) показују очекивану дисторзију у опсегу 36-55°. Ако поредимо исте изомере који се разликују само у величини диаминског прстена ((**5** и **12**); (**6** и **11**); (**8** и **14**); (**9** и **15**); (**10** и **16**)), може се приметити веће одступање код 1,3-пропандиаминских комплекса. Осим тога, вредност екваторијалног *cis* угла О-М-О опада са повећањем броја шесточланих прстенова у екваторијалној равни (108,2 ° за **7** (5-5-5), 97,9 ° за **13** (5-6-5), 96,2 ° за **5** (6-5-5), 87,5 ° за **6** (6-5-6), 87,5 ° за **12** (5-6-6), 83,4 ° за **11** (6-6-6)). Исти тренд је примећен и код Со(III) комплекса.

Табела 11

Анализа напона хексадентатних [M(edta-тип)]⁻ комплекса.

Комплекс	ΣΔ(O _h) ^a	ΔΣ(прстен) ^b			Δ(М-О-С) ^b		ΣΔ(N) ^c	Реф.
		Е(Т)	Р	Г	Р	Г		
<i>trans</i> (O ₅)-[Rh(eddadp)] ⁻	(6) 34	-12	-1	+41	+5	+18	12	[46]
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)-[Rh(eddadp)] ^{-b}	(5) 41	-13	-4(+32)	-14(+43)	+6(+14)	+1(+17)	13/24	Овај рад
<i>trans</i> (O ₆)-[Rh(eddadp)] ^{-a}	(7) 64	-10	+37	-19	+20	+1	30	Овај рад
<i>trans</i> (O ₅)-[Co(eddadp)] ⁻	(8) 31	-11	-1	+38	+6	+18	13	[48]
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)-[Co(eddadp)] ^{-a,b}	(9) 31	-10	-5(+33)	-12(+33)	+7(+17)	+4(+18)	12	Овај рад
<i>trans</i> (O ₆)-[Co(eddadp)] ^{-a}	(10) 45	-15	+31	-17	+18	+2	33	Овај рад
<i>trans</i> (O ₅)-[Rh(1,3-pddadp)] ⁻	(11) 55	+37	-6	+27	+5	+14	17	[196]
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)-[Rh1,3-pddadp] ^{-b}	(12) 42	+33	+1(+32)	-10(+41)	+5(+14)	+4(+21)	13	[196]
<i>trans</i> (O ₆)-[Rh1,3-pddadp] ^{-a}	(13) 53	+35	+40	-15	+20	+4	16	Овај рад
<i>trans</i> (O ₅)-[Co(1,3-pddadp)] ^{-a}	(14) 42	+39	-6	+27	+7	+17	18	Овај рад
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)-[Co(1,3-pddadp)] ^{-b}	(15) 36	+34	0(+36)	-9(+44)	+6(+19)	+5(+24)	16	[197б]
<i>trans</i> (O ₆)-[Co(1,3-pddadp)] ⁻	(16) 38	+28	+33	-11	+17	+4	16	[197а]

^a ΣΔ(O_h): збир апсолутних вредности одступања дванаест октаедарских углова од 90°;

^b ΔΣ(прстен): одступање суме углова веза појединачних прстенова (Е, Т, Р, Г) од идеалне вредности (идеалне вредности: Е = 528°, Т = 637.5°, Р и Г петочлани = 538.5°, Р и Г шесточлани = 648°);

^c Δ(М-О-С): средња вредност одступања углова М-О-С од идеалне вредности 109.5°;

^d ΣΔ(N) збир апсолутних девијација шест углова око азота у односу на идеалну вредност 109.5°, дата је средња вредност добијена за оба азота, осим у случају када се вредности драстично разликују;

^e DFT израчуната структура;

^f вредности у загради се односе на 3-пропионске прстенове.

Етилендиамински (Е) прстенови показују очекивано негативне вредности одступања, насупротив 1,3-пропандиаминским (Т) прстеновима, који су флексибилнији.

Вредности $\Delta\Sigma$ (прстен R) код свих комплекса су ниже у поређењу са вредностима за G прстенове, што говори о томе да су мање напети због мањег присуства других прстенова у свом окружењу. Петочлани ацетатни прстенови у екваторијалној равни (G) су мањи од идеалних ($538,5^\circ$), па им је девијација негативна што није случај код шесточланих 3-пропионских прстенова у окружењу чије су девијације позитивне. Сви комплекси показују позитивне вредности одступања углова M-O-C(R, G) веза. Комплекси (7) и (10), који никада нису изоловани, показују највећу тетраедарску дисторзију око аминског азота ($\Sigma\Delta(N)$ вредност) (30 и 33°).

Из свега наведеног, може се закључити да су комплекси (7) и (10) најнестабилнији од свих испитиваних комплекса са нестабилним распоредом прстенова у равни (5-5-5).

3.4 Испитивања у растворима

Константе протоновања лигананда добијене су анализом резултата потенциометријских титрација. Комплексирање Rh(III) јона са $ed3a^{3-}$ и $1,3-pd3a^{3-}$ проучавано је потенциометријским и спектрофотометријским мерењима у $0,1$ M натријум-хлоридној средини на 25 °C. Обрадом добијених резултата одређене су врсте насталих комплекса у раствору, као и њихове константе стабилности.

3.4.1 Константе протоновања лигананда

Константе протоновања лигананда $ed3a^{3-}$ и $1,3-pd3a^{3-}$ су добијене из резултата добијених потенциометријским титрацијама. Оба лигананда су изолована у неутралним облицима H_3ed3a и $H_31,3-pd3a$, док њихове потпуно протоноване форме садрже пет одлазећих протона: H_5ed3a^{2+} и $H_51,3-pd3a^{2+}$. Експериментално добијене константе протоновања ($\log K_i^H$) приказане су у Табели 12 заједно са раније добијеним вредностима за структурно сличне лиганде $edta^{4-}$ и $1,3-pdta^{4-}$. Вредности стандардних девијација су дате у заградама. Константе протоновања су дефинисане једначином (11):

$$K_i^H = \frac{[H_iL]}{[LH_{i-1}][H^+]}; i = 1, 2, 3, \dots \quad (11)$$

Табела 12

Константе протоновања ($\log K_1^H$) ed3a^{3-} и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ лиганада.

лиганд	ed3a^{3-}	$1,3\text{-pd3a}^{3-}$	edta^{4-} ^a	$1,3\text{-pdta}^{4-}$ ^b
јонска јачина	0,1 М NaCl	0,1 М NaCl	0,1 М KCl	0,1 М KCl
$\log K_1^H$	9,72(2)	9,82(3)	10,19	10,29
$\log K_2^H$	5,81(3)	7,70(4)	6,16	7,94
$\log K_3^H$	2,89(3)	2,63(6)	2,69	2,70

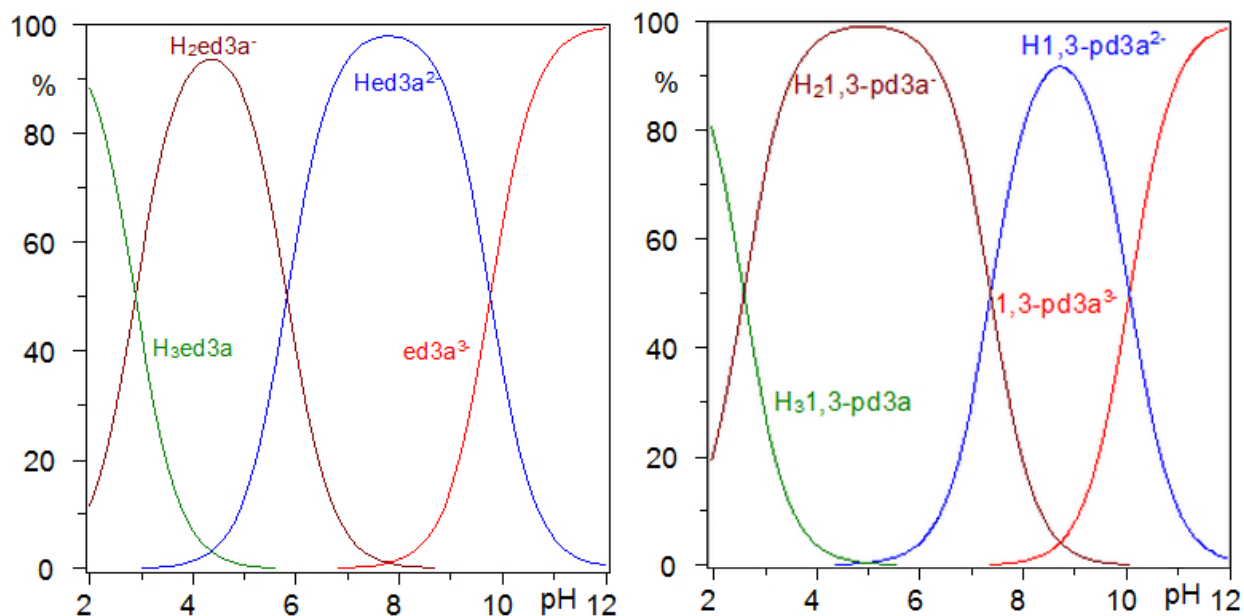
^a [212];
^b [213].

Анализом израчунатих константи протоновања за оба лиганда утврђено је да се прве две константе односе на протоновање атома азота, где су вредности $\log K_1^H$ и $\log K_2^H$ за ed3a^{3-} лиганд 9,72 и 5,81, а за лиганд $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ 9,82 и 7,70. Вредност $\log K_3^H$ је за оба лиганда ниска, одговара протоновању једног карбоксилата и износи 2,89 за ed3a^{3-} и 2,63 за $1,3\text{-pd3a}^{3-}$. Вредности за $\log K_4^H$ и $\log K_5^H$ се приписују протоновању преостале две карбоксилне групе, њихове вредности су ниже од 2, па нису могле бити одређене потенциометријски. Ови резултати су у сагласности са константама протоновања добијеним за њихове аналоге дате у Табели 12.

Поређење константи протоновања наших трикарбоксилних (ed3a^{3-} и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$) и поредбених тетракарбоксилних (edta^{4-} и $1,3\text{-pdta}^{4-}$) лиганада, које су добијене у сличним условима, открива да су вредности $\log K_3^H$ међусобно сличне (разлика ≤ 0.20). Међутим, прва и друга константа $\log K_1^H$ и $\log K_2^H$ показују ниже вредности код испитиваних трикарбоксилних лиганада у односу на тетракарбоксилне и то за 0,47 и 0,35 $\log K$ јединица код ed3a^{3-} лиганда и 0,47 и 0,24 $\log K$ јединице код $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ лиганда (Табела 12) што се може објаснити присуством једне додатне ацетатне групе. Ацетатна група са својим позитивним индуктивним ефектом смањује киселост протона на атому аминског азота. Такође, друга константа протоновања $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ лиганда је за 1,89 $\log K$ јединица већа него код ed3a^{3-} , што може бити последица електростатичког одбијања између два протонована атома азота.

Дистрибуциони дијаграми ed3a^{3-} и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ лиганада дати су на Слици 31. Анализа дистрибуционих дијаграма показује да потпуно депротоноване врсте ed3a^{3-} и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$

постоје у раствору у рН области већој од 8,0. Протоноване врсте Hed3a^{2-} , $\text{H}_2\text{ed3a}^-$, $\text{H}_3\text{ed3a}$, $\text{H}_1,3\text{-pd3a}^{2-}$, $\text{H}_2,3\text{-pd3a}^-$ и $\text{H}_3,3\text{-pd3a}$ присутне су у области рН = 2,0-12,0.



Слика 31. Дистрибуциони дијаграми протонованих облика лиганда: ed3a^{3-} (лево) и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ (десно). Концентрација оба лиганда је 2,0 mM.

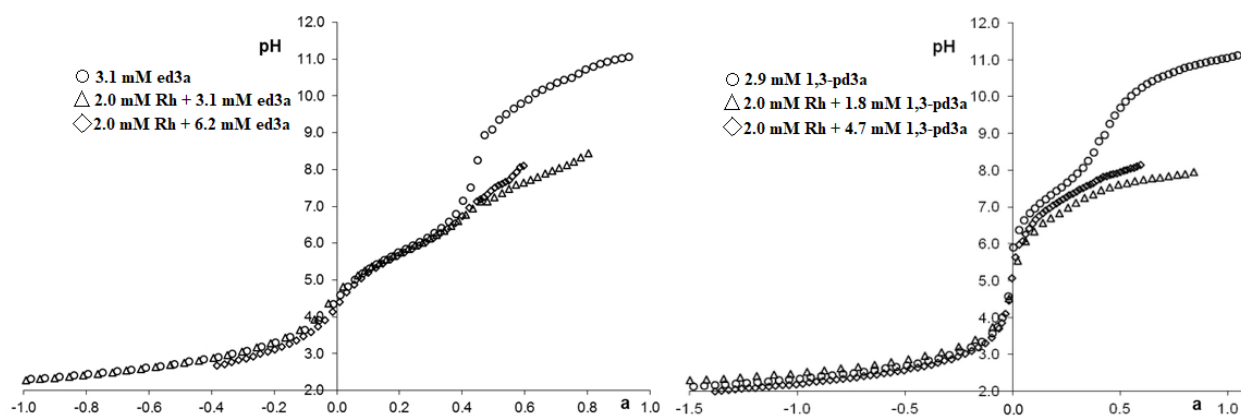
3.4.2 Константе формирања комплекса Rh^{3+} са ed3a^{3-} и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ лигандима

Способност комплексирања ed3a^{3-} и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ лиганда са Rh^{3+} јоном проучавана је у раствору одређивањем константи стабилности комплекса, што омогућава процену дистрибуције врста на различитим рН вредностима. Ове студије укључују комбинацију рН потенциометријских титрација и UV-Vis спектроскопије са накнадном анализом експерименталних података употребом Нурquad2006 и НурSpec2014 програма.

3.4.2.1 Потенциометријске титрације

Комплексирање јона родијума(III) урађено је пратећи процедуру описану у Експерименталном делу. Експериментални подаци приказани су на Слици 32. Титрационе криве ed3a^{3-} и $1,3\text{-pd3a}^{3-}$ у присуству Rh^{3+} су померене удесно у односу на титрациону криву самог лиганда указујући на формирање комплекса у систему. Титрационе криве се

преклапају на ниским рН вредностима, што указује да нема реакција комплексирања на рН вредностима које су ниже од 6,0.



Слика 32. Криве потенциометријских титрација испитиваних система: Rh³⁺ - ed₃a³⁻ (лево), Rh³⁺ - 1,3-pd₃a³⁻ (десно).

Компјутерски програм Hyperquad2006 је коришћен за одређивање стехиометрије комплекса и израчунавање условних константи стабилности. Стандардна девијација узорка, *s* и Пирсонов χ^2 -тест коришћени су као критеријум за избор одговарајућих комплекса. Добијени резултати приказани су у Табели 13. Потврђено је постојање само моноклеарних комплекса као што су [MHL] ([Rh(Hed₃a)]⁺, [Rh(H1,3-pd₃a)]⁺), [ML] ([Rh(ed₃a)], [Rh(1,3-pd₃a)]) и [MLH₋₁] ([RhOH(ed₃a)]⁻, [RhOH(1,3-pd₃a)]⁻).

3.4.2.2 Спектрофотометријске титрације

Спектрофотометријски подаци су добијени из раствора Rh³⁺ - ed₃a³⁻ и Rh³⁺ - 1,3-pd₃a³⁻ који су кувани, затим охлађени на 25 °C, при чему су концентрације Rh³⁺ и лиганда одржаване константним, а рН вредности варирале додавањем стандардних раствора NaOH и HCl (по потреби). Спектроскопски подаци су обрађени НурSpec2014 програмом, а као почетни модел при израчунавању узети су комплекси који су добијени обрадом потенциометријских резултата и њихове одговарајуће условне константе стабилности су оптимизоване. Добијени резултати прорачуна су дати у Табели 13. Дистрибуциони дијаграми испитиваних система су приказани на Сликама 33 и 34 (концентрациони односи: [Rh³⁺]:[ed₃a³⁻] = 1:3, [Rh³⁺]:[1,3-pd₃a³⁻] = 1:2, [Rh³⁺] = 2,0 mM).

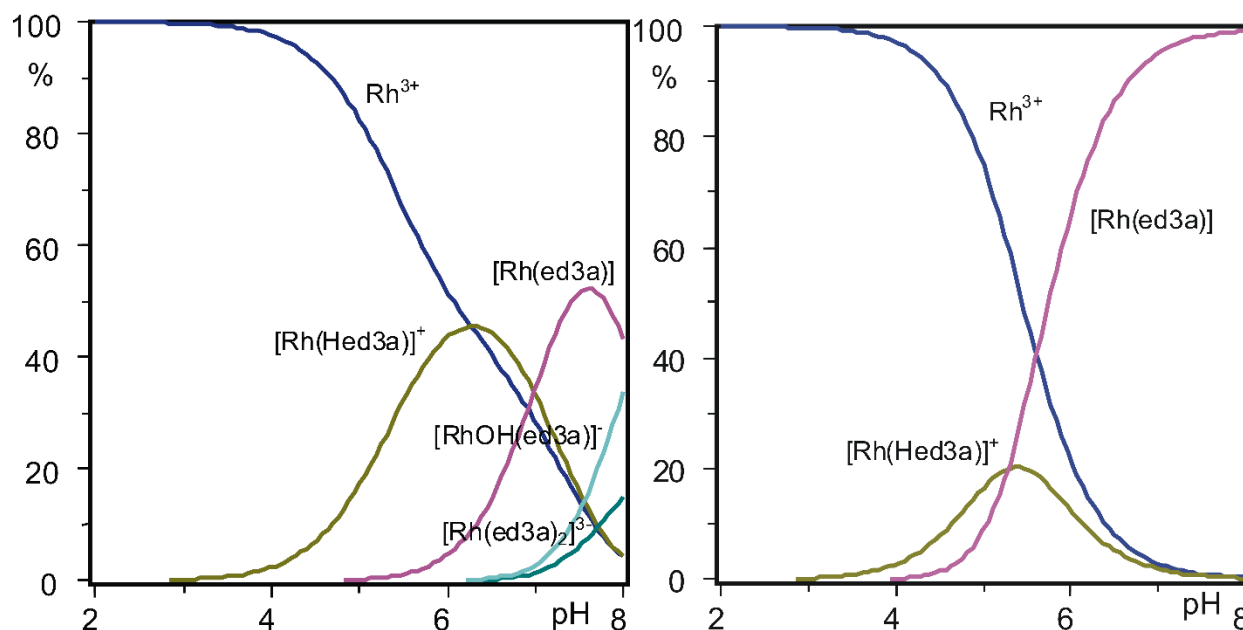
Табела 13

Условне константе стабилности Rh^{3+} - $ed3a^{3-}$ и Rh^{3+} -1,3-pd3a³⁻ комплекса формираних у 0.1 М NaCl јонском медијуму ^a.

Комплекси	$\log \beta_{p,q,r} \pm \sigma$	
	Потенциометрија	Спектрофотометрија
	25 °C	145 °C
$[Rh(Hed3a)]^+$	12,16(4)	12,54(9)
$[Rh(ed3a)]$	5,18(3) ^b	7,26(3)
$[Rh(ed3a)_2]^{3-}$	8,87(8)	-
$[RhOH(ed3a)]^-$	-2,93(5)	-
$[Rh(H1,3-pd3a)]^+$	13,45(4)	13,51(8)
$[Rh(1,3-pd3a)]$	5,59(5) ^b	7,38(2)
$[Rh(1,3-pd3a)_2]^{3-}$	-	11,45(8)
$[RhOH(1,3-pd3a)]^-$	-2,29(4)	-
Статистика	$\chi^2 = 11,28, s = 1,50$	$s = 0,024$
	$\chi^2 = 12,88, s = 1,56$	$s = 0,034$

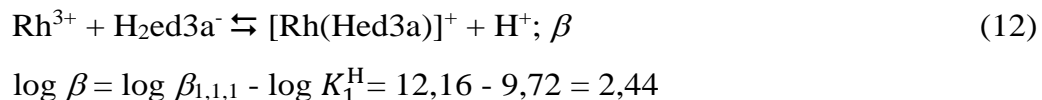
^a Могућа је измена H_2O/Cl^- у $Rh(III)$ комплексу [214,215], па су монодентатни лиганди H_2O и Cl^- изостављени;

^b Вредности се односе на комплексе где је једна карбоксилна група депротонувана и слободна, тј. лиганд је тетрадентат.



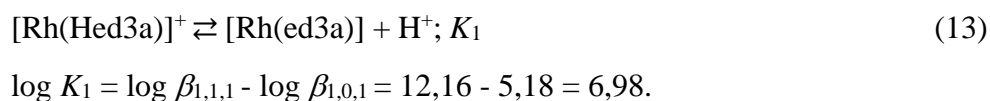
Слика 33. Дистрибуциони дијаграми Rh^{3+} - $ed3a^{3-}$ врста у односу концентрација $[Rh^{3+}]:[ed3a^{3-}] = 1:3$ и са укупном концентрацијом родијума(III) од 2,0 mM, добијени потенциометријски (лево) и спектрофотометријски (десно).

У систему $Rh^{3+} - ed3a^{3-}$, види се (Слика 33) да је на нижим рН вредностима доминантна врста $[Rh(Hed3a)]^+$ са максимумом концентрације од 45% на рН = 6,3. Ако се претпостави да се комплекс $[Rh(Hed3a)]^+$ формира по реакцији:

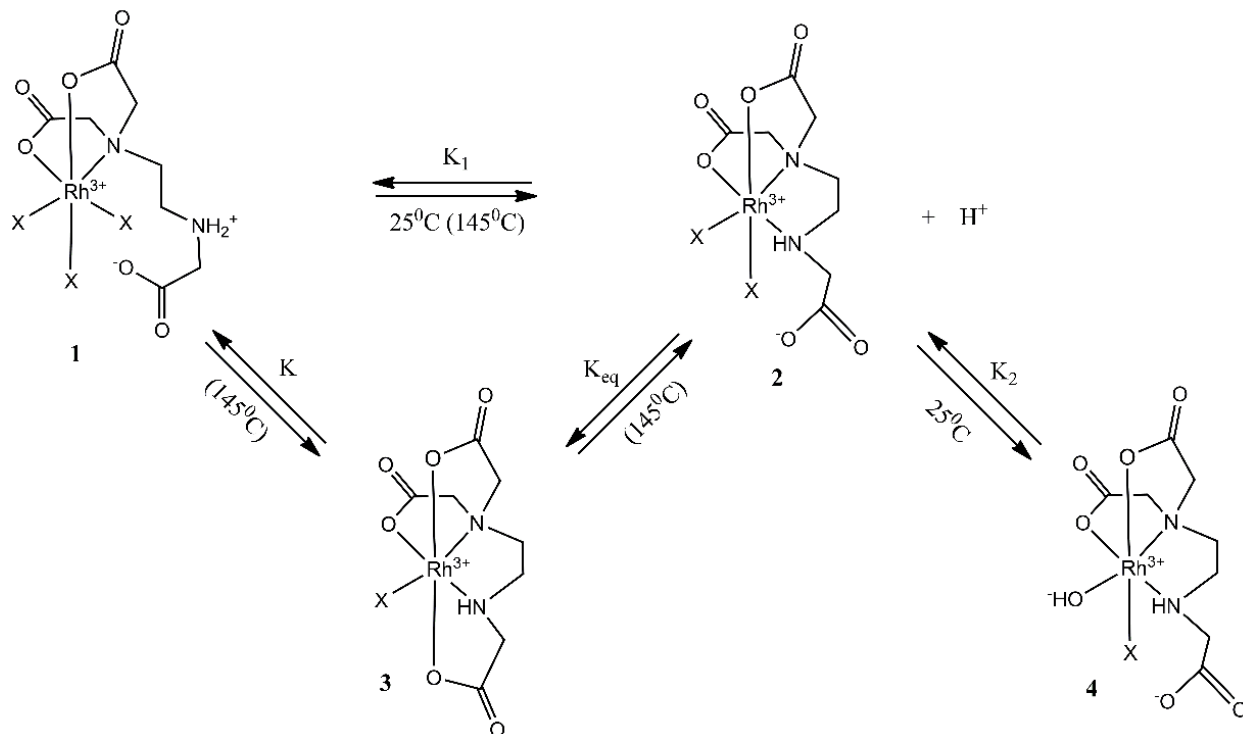


мала вредност појединачне условне константе стабилности ($\log \beta = 2,44$) указује да није дошло до потпуне координације јона метала са лигандом, и да један азот и један карбоксилни кисеоник, највероватније, нису координовани за родијум у комплексу $[Rh(Hed3a)]^+$ (Шема 5, комплекс 1). На Шема 5 су предложена два могућа пута за формирање комплекса у раствору: $1 \rightleftharpoons 2 \rightleftharpoons 4$ и $1 \rightleftharpoons 2 \rightleftharpoons 3$. Први пут проистиче из резултата потенциометријске титрације, док други пут описује резултате спектрофотометријских титрација након грејања у затвореном систему на 145 °С.

Са порастом рН вредности, $[Rh(Hed3a)]^+$ губи протон (равнотежа $1 \rightleftharpoons 2 \rightleftharpoons 4$) и формира се $[Rh(ed3a)]$ комплекс у коме је $ed3a^{3-}$ потпуно депротонван са максимумом концентрације 52% при рН вредности 7,6 (Слика 33 и Шема 5). Равнотежна константа за ову реакцију, K_1 , може се израчунати из укупних условних константи стабилности комплекса $[Rh(Hed3a)]^+$ и $[Rh(ed3a)]$:

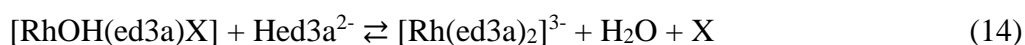


Ова вредност је слична константи протоновања азота у лиганду, $\log K_2^H$, па се може закључити да амино азот губи протон и да се координује за родијум(III). С обзиром да је стабилност $[Rh(ed3a)]$ комплекса мала ($\log \beta_{1,0,1} = 5,18$), преостала слободна карбоксилна група лиганда $ed3a^{3-}$ је врло лабаво координована за родијум(III). Равнотежна константа, $\log K$, за равнотежу $1 \rightleftharpoons 3$ износи 5,28, што је слично вредности константе $\log K_2^H$ (Табела 12). Након загревања раствора комплекса 2 (Шема 5), монодентатни дозор X замењује се COO^- групом и долази до формирања пентадентатног комплекса родијума(III) и лиганда. Константа равнотеже $\log K_{eq} = 2,08$ (равнотежа $2 \rightleftharpoons 3$) може се упоредити са константом формирања хексакоординованог комплекса између родијума(III) и $edta^{4-}$ [216].



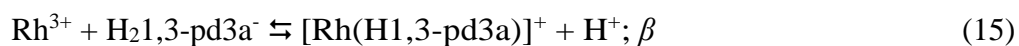
Шема 5. Дисоцијација $[\text{Rh}(\text{Hed3a})\text{X}_3]^+$; $\text{X} = \text{H}_2\text{O}, \text{Cl}^-$.

Након пораста рН вредности (модел $1 \rightleftharpoons 2 \rightleftharpoons 4$), комплекс $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})\text{X}]$ губи протон и формира хидролитички комплекс $[\text{RhOH}(\text{ed3a})\text{X}]$, чије формирање почиње на рН = 6,2 и његова концентрација расте са даљим порастом рН. Комплекс $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})\text{X}]$, након пораста рН, везује још један Hed3a^{2-} лиганд и формира $[\text{Rh}(\text{ed3a})_2]^{3-}$ (Слике 31 и 33):

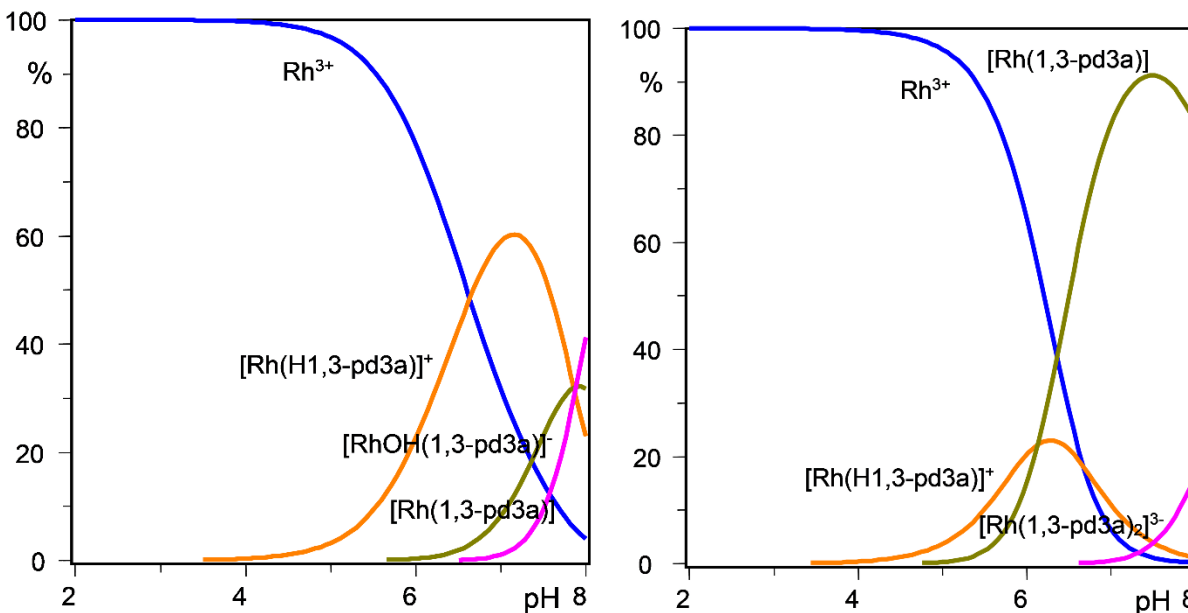


Формирање комплекса $[\text{Rh}(\text{ed3a})_2]^{3-}$ почиње на рН = 6,5 при чему комплекс достиже своју максималну концентрацију на рН = 9.

Врло слична ситуација је у случају система $\text{Rh}^{3+} - 1,3\text{-pd3a}^{3-}$ (Слика 34). Формирање $[\text{Rh}(\text{H}1,3\text{-pd3a})]^+$ комплекса се јасно види у киселом опсегу рН и преовладава у области рН = 4,0-8,0. Овај комплекс се може формирати у реакцији између Rh^{3+} аква јона и $\text{H}_21,3\text{-pd3a}^-$ јона, имајући у виду да ове врсте преовладавају у области рН = 3,0-7,0, као што се може видети на Слици 31.



$$\log \beta = \log \beta_{1,1,1} - \log K_1^{\text{H}} = 3,63$$



Слика 34. Дистрибуциони дијаграми Rh^{3+} - $1,3-pd3a^{3-}$ врста у односу концентрација $[Rh^{3+}]:[1,3-pd3a^{3-}] = 1:2$ и са укупном концентрацијом родијума(III) од $2,0 \text{ mM}$, добијени потенциометријски (лево) и спектрофотометријски (десно).

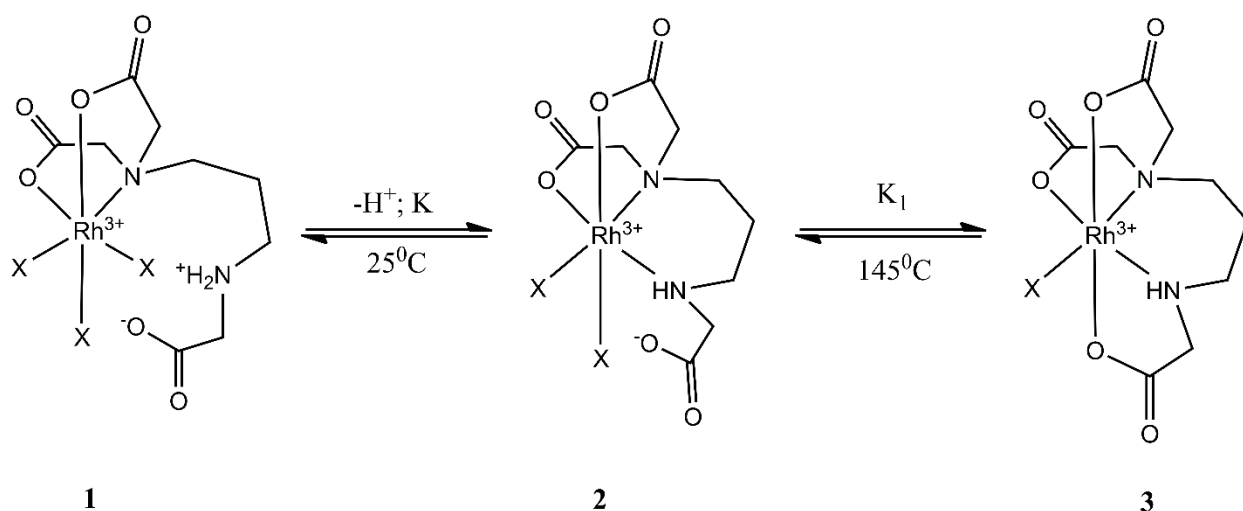
Условна константа стабилности ($\log \beta = 3,63$) указује да азот и карбоксилни кисеоник нису координовани за родијум(III) у комплексу $[Rh(H1,3-pd3a)]^+$ (**Шема 6**, комплекс 1). Са порастом рН (на $25 \text{ }^\circ\text{C}$), комплекс $[Rh(H1,3-pd3a)]^+$ (монодентатни лиганд је изостављен) губи протон и формира $[Rh(1,3-pd3a)]$ (**Шема 6**, комплекс 2) где је $1,3-pd3a^{3-}$ потпуно депротонван. Константа равнотеже за ову реакцију, K , може се израчунати из укупних условних константи стабилности комплекса $[Rh(H1,3-pd3a)]^+$ и $[Rh(1,3-pd3a)]$:



$$\log K = \log \beta_{1,1,1} - \log \beta_{1,0,1} = 13,45 - 5,59 = 7,86$$

Израчуната вредност за $[Rh(1,3-pd3a)]$ ($\log K = 7,86$) прилично је блиска одговарајућој вредности за константу протоновања $\log K_2^H = 7,70$ (**Табела 12**), што указује на то да азот амино групе губи протон и координује се за родијум(III). Слободна карбоксилна група није координована за родијум (**Шема 6**, комплекс 2) што се може закључити на основу мале стабилности комплекса $[Rh(1,3-pd3a)]$ ($\log \beta_{1,0,1} = 5,59$).

Након загревања раствора комплекса 2 (**Шема 6**), монодентатни доворски лиганд X се замењује карбоксилном групом, где долази до формирања пентадентатног комплекса Rh(III) са 1,3-pd3a³⁻. Равнотежна константа комплекса $\log K_1 = 1,79$ може се упоредити са константом формирања комплекса ($\log K_{eq} = 2,08$) између родијума(III) и ed3a³⁻ лиганда (видети изнад).



Шема 6. Дисоцијација $[\text{Rh}(\text{H}1,3\text{-pd}3\text{a})\text{X}_3]^+$; X = H₂O, Cl⁻.

Након пораста рН, на 25 °C, $[\text{Rh}(1,3\text{-pd}3\text{a})(\text{H}_2\text{O})\text{X}]$ (**Шема 6**, комплекс 2) губи протон и формира хидролитички комплекс, $[\text{RhOH}(1,3\text{-pd}3\text{a})\text{X}]$. Формирање овог комплекса почиње на рН = 6,5 при чему његова концентрација расте са даљим порастом рН. Комплекс $[\text{Rh}(1,3\text{-pd}3\text{a})\text{X}_2]$ (**Шема 6**, комплекс 2) на температури 145 °C, а након пораста рН, везује други Н1,3-pd3a лиганд и формира $[\text{Rh}(1,3\text{-pd}3\text{a})_2]^{3-}$ (**Слике 31** и **34**). Формирање овог комплекса почиње на рН = 6,5 при чему његова концентрација расте са порастом рН (**Слика 34**, десно).

3.5 *In vitro* антитуморска активност комплекса и лиганда

3.5.1 МТТ тест

Овај део је дисертације посвећен испитивању антипролиферативне активности (цитотоксичности) синтетисаних једињења. Цитотоксичност је испитивана *in vitro* применом колориметријског МТТ теста. Испитивање је вршено на четири туморске

ћелијске линије, као и на једној здравој ћелији како би се утврдило да ли једињења показују селективну цитотоксичност. У тесту су коришћене следеће ћелијске линије: хумани карцином плућа (А-549), хумани аденокарцином дојке (MCF-7), хумани аденокарцином дебелог црева (HT-29), хумани аденокарцином грлића материце (HeLa) и нормални хумани фетални фибробласти плућа (MRC-5). Измерена цитотоксичност испитиваних једињења је поређена са контролним узорцима нетретираних ћелија. Као референтна једињења коришћени су цисплатина (*cis*-Pt) и доксорубицин (DOX). Лиганди су преведени у своје натријумове соли. Резултати испитивања су приказани у Табели 14 као IC₅₀ вредности.

Табела 14

IC₅₀ вредности (μM) тестираних лиганата и комплекса ^a.

једињење	ћелијске линије				
	MRC-5	A-549	MCF-7	HeLa	HT-29
[Rh(ed3a)(H ₂ O)]·H ₂ O (1)	>100	16,83	>100	1,10	1,96
Na[Rh(ed3a)Cl]·H ₂ O (2)	>100	24,28	>100	20,54	37,64
[Rh(1,3-pd3a)(H ₂ O)]·2H ₂ O (3)	>100	37,55	10,7	38,48	>100
Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H ₂ O (4)	>100	>100	51,71	12,15	>100
Na ₂ Hed3a	>100	18,01	>100	13,86	>100
Na ₂ H1,3-pd3a	>100	26,44	>100	4,97	>100
доксорубицин (DOX)	0,12	0,75	7,86	0,32	1,17
цисплатина (<i>cis</i> -Pt)	1,48	6,75	11,6	1,77	15,9

^a IC₅₀ концентрација једињења која спречава раст ћелије за 50% у поређењу са нетретираним контролом. Вредности су одређене „median effect“ анализом и потичу од 2 независна експеримента.

Испитивана једињења су показала различиту цитотоксичност према третираним ћелијама (Табела 14). Антипролиферативни ефекти су били линеарно зависни од концентрације. HeLa ћелијска линија показала је највећу сензитивност према свим једињењима сем према [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)]·2H₂O (3) комплексу, док је линија MCF-7 показала осетљивост само на [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)]·2H₂O (3) и референтна једињења. Комплекс [Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O (1) је показао снажно дејство према HT-29 и HeLa ћелијама (8 пута активнији од цисплатине када је у питању HT-29 и 1,5 пута активнији у случају HeLa), мада се његова активност ни према A-549 не може занемарити, док је потпуно неактиван на MCF-7 и MRC-5 ћелијским линијама. Комплекс [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)]·2H₂O (3)

је показао добру активност према MCF-7 ћелијама слично референтним једињењима и умерену активност према HeLa и A-549. Оба испитивана лиганда показују завидну активност према HeLa ћелијама, а H₃ed3a и према A-549. Треба истаћи да су сва испитивана једињења показала селективност између туморских и здравих ћелија јер ни комплекси ни лиганди не показују дејство према здравим ћелијама па их можемо сматрати добрим кандидатима за потенцијалне антитуморске лекове. Највећу цитотоксичност је показао комплекс [Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O, док је најосетљивија ћелијска линија била HeLa. За даље тестове коришћена су једињења која су показала добру активност на HeLa ћелијама, а то су [Rh(ed3a)(H₂O)]·H₂O (1), Na[Rh(ed3a)Cl]·H₂O (2), Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H₂O (4), Na₂Hed3a и Na₂H1,3-pd3a.

3.5.2 Типови ћелијске смрти и начини одређивања

Ћелијска смрт може настати дејством различитих чинилаца, као што су микроорганизми, физички и хемијски агенси или услед недостатка есенцијалних животних материја, где долази до неповратног оштећења ћелије. На основу морфолошких карактеристика, разликује се неколико типова ћелијске смрти: апоптоза, некроза, аутофагија, корнификација, аноиксис, митотичка катастрофа и друге [217-221]. Карактеристично за некрозу је то да се јавља у екстремно нефизиолошким условима, док се апоптоза јавља и у патолошким и физиолошким условима. Некроза је пасиван тип ћелијске смрти за коју није потребна енергија, а карактерише се бубрењем ћелије, руптуром мембране, разарањем цитоплазме и једра, а на крају долази и до запаљенске реакције услед доспевања интрацелуларног садржаја у ванћелијски простор. Насупрот свему наведеном, апоптоза је "програмирана ћелијска смрт", где ћелија користи енергију и активно учествује у самом процесу. Другим речима, у питању је ћелијско самоубиство, које је уређено и генетски регулисано, где ћелија пролази кроз низ морфолошких промена по чему се и разликује од некрозе: кондензација хроматина у једру, смањење запремине целе ћелије, мембрана остаје целовита па нема ни запаљенског одговора услед изливања интрацелуларног садржаја. Такође, долази до фрагментације ћелије резултујући стварање апоптотских тела која су оивичена мембраном и која се брзо фагоцитишу од стране околних ћелија и макрофага. Целовитост и функционалност мембране је врло значајна, јер је

праћење могуће на основу морфолошких промена. Породица протеина Bcl-2 је кључна у регулацији апоптотских процеса. Апоптоза зависи од равнотеже између про- и анти-апоптотских Bcl-2 протеина. Анти-апоптотски протеин Bcl-2 игра кључну улогу у апоптози. Његова супресивна активност у апоптотском процесу може допринети отпорности туморских ћелија на лекове [222-226]. Имајући у виду све наведено, ми смо за детекцију апоптозе користили методе проточне цитометрије, флуоресцентне микроскопије и Western blot анализу.

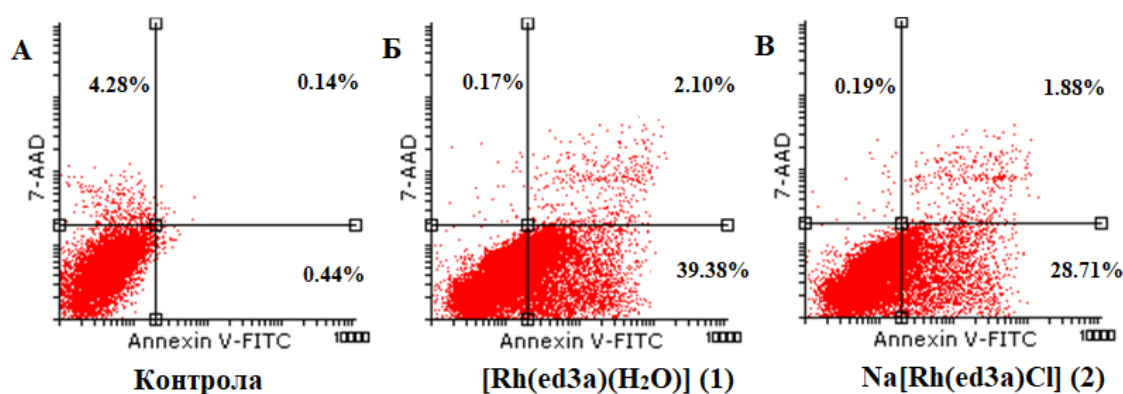
3.5.2.1 Детекција апоптозе Annexin-V тестовима проточне цитометрије

Анализа типа ћелијске смрти је вршена на основу резултата добијених применом Annexin-V бојеног теста. Рана фаза апоптозе је карактерисана променама на површини ћелије, односно на нивоу мембране. Једна од првих промена која се дешава је прелазак фосфатидил-серина (PS) са унутрашње на спољашњу страну ћелијске мембране. Због чињенице да Annexin-V (Ca^{2+} -зависни фосфолипид-везујући протеин) показује афинитет да се веже на ћелијску мембрану, овај молекул је коришћен за детекцију апоптотских ћелија [227]. У случају комплекса (1) и (2), примењено је истовремено бојење ћелија Annexin-ом V конјугованим са флуоресцеин-изотиоцијанатом (FITC) и 7-аминоактиномицин D (7-AAD) (двоструко бојење). Наиме, PS излази на спољашњу страну мембране и код апоптотичних и некротичних ћелија, па је комбинација бојења неопходна јер 7-AAD боји само касно-апоптотичне и некротичне ћелије. Зато се сматра да је проточна цитометрија Annexin V-FITC/7-AAD бојених ћелија златни стандард у детекцији апоптозе. Наши резултати показују да комплекси (1) и (2) индукују апоптозу HeLa ћелија са занемарљивим процентом некротичних ћелија (Слика 35). Већина ћелија је била рано апоптотична (39,38 и 28,71%), мали проценат ћелија је био у касној апоптози (2,1 и 1,88%), док је најмањи проценат ћелија некротичан (0,17 и 0,19%).

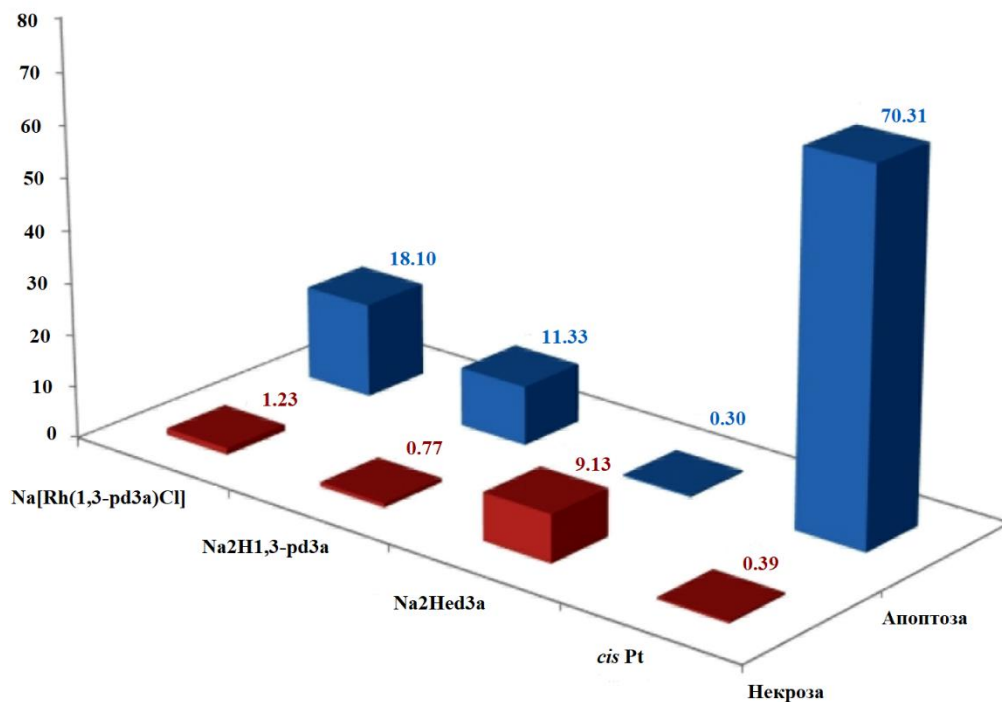
Када су у питању комплекс $\text{Na}[\text{Rh}(1,3\text{-pd}3\text{a})\text{Cl}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4) и оба лиганда, такође је коришћена метода двоструког бојења Annexin-V, али овог пута је уместо 7-AAD коришћен пропидијум-јодид (PI) који боји само некротичне ћелије. Апоптотички одговор, представљен као проценат специфичне апоптозе (Слика 35) показује да цисплатина (*cis*-Pt) умножава проценат Annexin-V позитивних HeLa ћелија у односу на тестирана једињења. Комплекс (4) и лиганд $\text{Na}_2\text{H}1,3\text{-pd}3\text{a}$ повећавају проценат специфичне апоптозе у поређењу

са $\text{Na}_2\text{Hed3a}$. Ови резултати су у корелацији са резултатима анализе ћелијског циклуса (видети ниже). Процент специфичне некрозе након 48 h био је 9,13% за $\text{Na}_2\text{Hed3a}$ док је за друга два једињења нижи (0,3 - 1,2%) (Слика 36).

Анализом резултата можемо закључити да је апоптоза примарни начин смрти HeLa ћелија код свих тестираних супстанци, док је занемарљив проценат некрозе, осим у случају лиганда $\text{Na}_2\text{Hed3a}$ који показује не баш занемарљиво учешће некрозе у ћелијској смрти. У поређењу са контролом, сва једињења су увећала удео апоптозе, пре свега ране, при чему је опет овај проценат најмањи код лиганда $\text{Na}_2\text{Hed3a}$.



Слика 35. Анализа Annexin V-FITC/7-AAD бојеног теста проточне цитометрије $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1) и $\text{Na}[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2). Тачкице на дијаграму представљају проценат вијабилних Annexin V⁻7-AAD⁻ (доњи леви квадрант), рано апоптотичних Annexin V⁺7-AAD⁻ (доњи десни квадрант), касно апоптотичних Annexin V⁺7-AAD⁺ (горњи десни квадрант) и некротичних ћелија Annexin V⁻7-AAD⁺ у нетретираним HeLa ћелијама (контрола) и HeLa ћелијама третираним $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1) и $\text{Na}[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2).



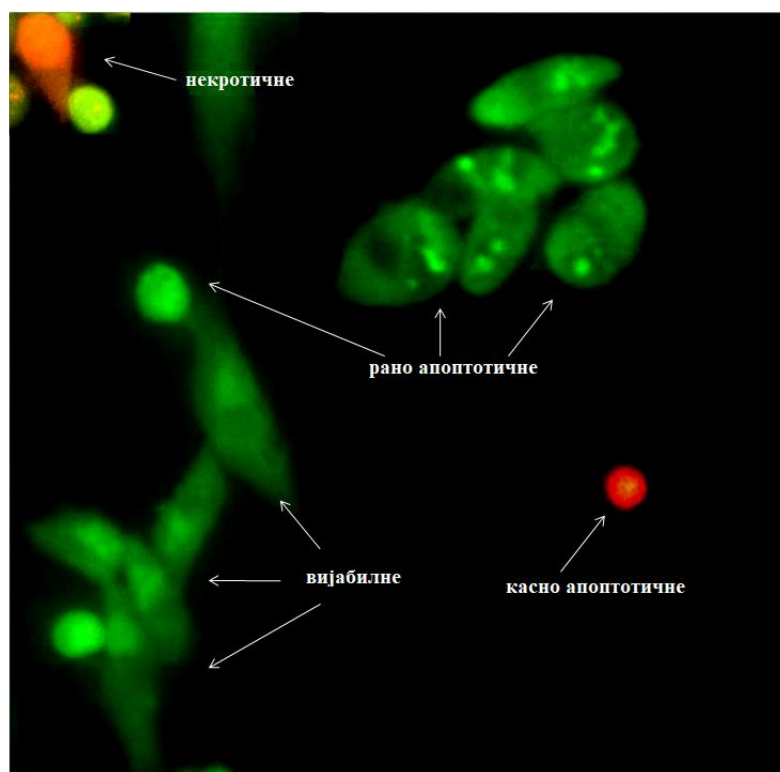
Слика 36. Процент специфичне апоптозе HeLa ћелија изазване цисплатином (*cis Pt*) и тестираним супстанцама после 48 h терапије. Ћелије су обојене са Annexin-V-FLUOS и пропидијум-јодидом и анализирани проточном цитометријом. Процент специфичне апоптозе цисплатине и тестираних једињења израчунава се према референци [181].

3.5.2.2 Акридин-оранж/етидијум-бромид (АО/ЕВ) тест флуоресцентне микроскопије

Иако се транслокација фосфатидил-серина (PS) са унутрашње на спољашњу страну ћелијске мембране сматра обележјем апоптозе, може се јавити и код других типова ћелијске смрти [228]. Због тога се мора користити више од једне методе за верификацију апоптозе. Процена морфологије ћелија може бити најпоузданија метода за потврду апоптозе [182]. Метода двоструког бојења флуоресцентним бојама акридин-оранж и етидијум-бромид се заснива на особини акридин-оранжа да улази и у вијабилне и невијабилне ћелије, при чему се интеркалира у дволанчану ДНК и флуоресцира зелено. Етидијум-бромид је ДНК-интеркалирајућа боја која флуоресцира наранџасто, не може да прође кроз интактну ћелијску мембрану и акумулира се само у невијабилне, некротичне ћелије [229]. На основу флуоресценције која се емитује, ћелијске морфологије и изгледа једра, разликују се четири врсте ћелија: вијабилне (ћелије са нормалном морфологијом и зеленим једром које имају

организовану структуру), рано апоптотичне ћелије (мале, округле ћелије, где је хроматин скупљен па је једро светло-зелено), касно апоптотичне ћелије (једро је светло-наранџасте до црвене боје са кондензованим хроматином) и некротичне ћелије са нормалном морфологијом и наранџастим до црвеним једром које има организовану структуру.

Користећи АО/ЕВ бојење, потврдили смо да HeLa ћелије третиране тестираним комплексима (1) и (2) показују све морфолошке промене типичне за апоптозу (Слика 37). АО/ЕВ бојење је омогућило уочавање разлике између одрживих, рано апоптотичних, касно апоптотичних и некротичних ћелија након 24 h третмана са испитиваним једињењима. Напомињемо да за остала једињења није рађен овај тест.

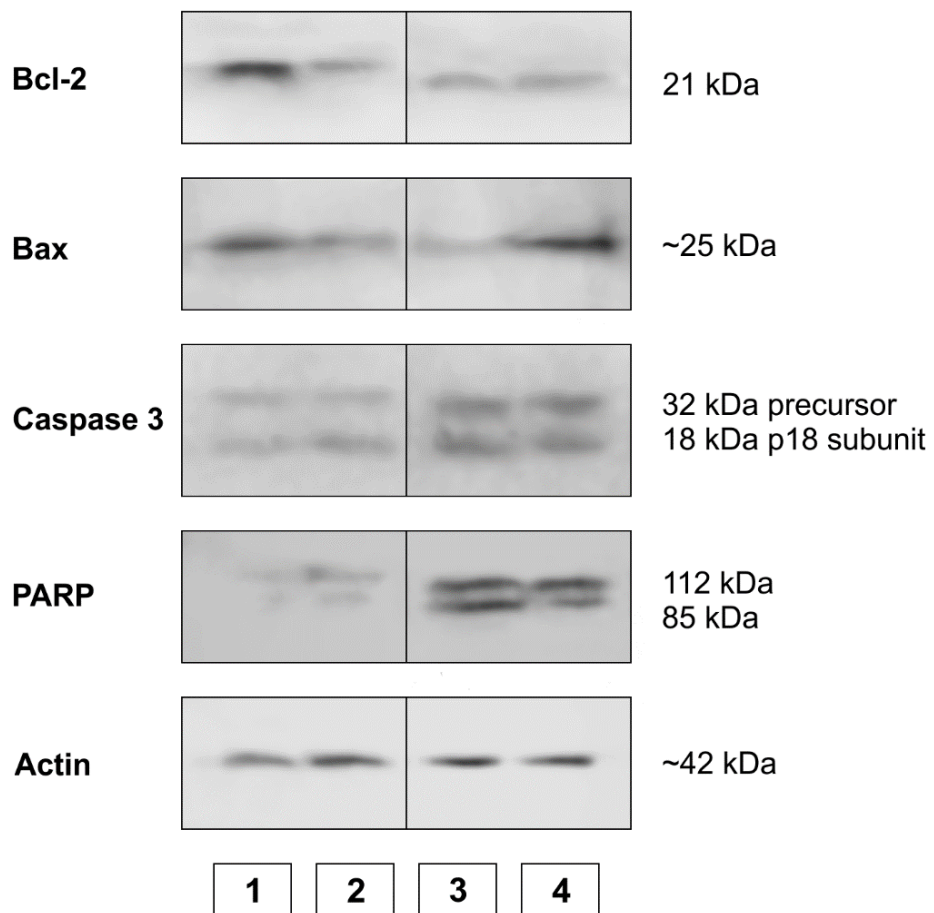


Слика 37. Промене у морфологији HeLa ћелија након третмана визуализоване помоћу АО/ЕВ бојења. Оба комплекса (1) и (2) су индуковала промене типичне за апоптозу. Једра вијабилних ћелија су зелена са организованом структуром, док су једра рано апоптотичних ћелија светло-зелена, а једра касно апоптотичних ћелија светло-наранџаста до црвена са кондензованим хроматином. Некротичне ћелије имају нормалне морфологије и наранџаста до црвена једра са организованом структуром.

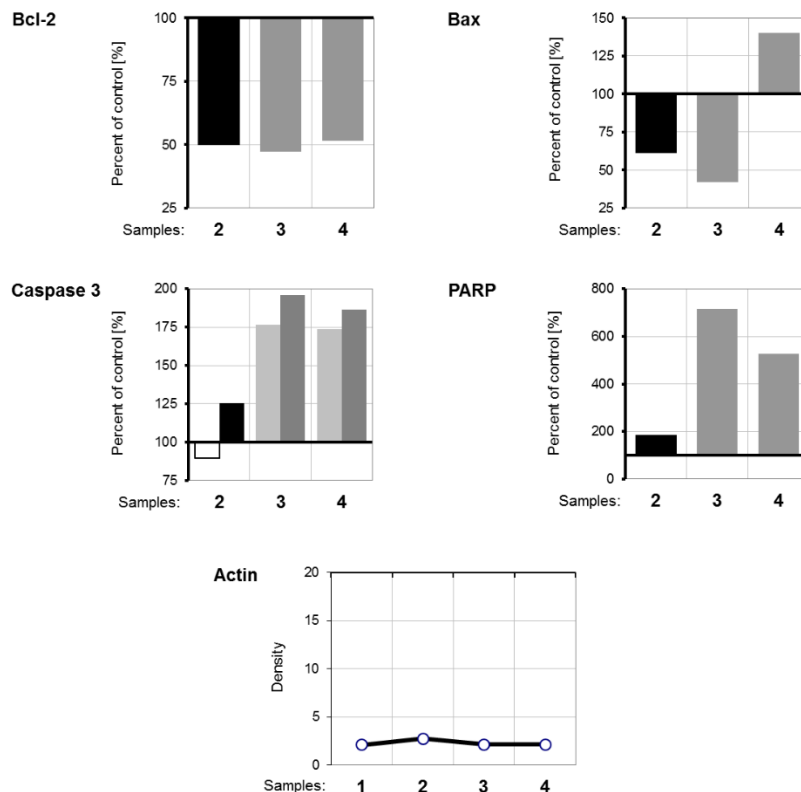
3.5.2.3 Western blot анализа

Семи-квантитативна Western blot анализа је коришћена за испитивање механизма апоптозе. Испитивање се заснива на праћењу промене нивоа про-апоптотских и анти-апоптотских протеина (Bcl-2, Вах, каспаза-3 и поли-(ADP-рибоза) полимеразе, PARP) у третираним ћелијама.

Резултати Western blot анализе су показали да тестирана једињења (1) и (2) утичу на експресију протеина (Слике 37 и 38). Експресија Bcl-2 протеина је мања у испитиваним узорцима, као и у случају доксорубина. Експресија Вах протеина расте само у случају ћелија третираним комплексом (1). Оба испитивана комплекса повећавају експресију каспазе-3 (Слике 38 и 39), што указује на укључивање каспазе-3 у апоптотске процесе испитиване ћелијске линије. Такође, Western blot показује протеолитичко цепање поли-(ADP-рибоза) полимеразе (PARP) у HeLa ћелијама након третмана испитиваним комплексима (Слике 37 и 38). Актин је коришћен као интерни стандард и показује униформну експресију протеина код свих узорка. Варијације су биле у распону $\pm 5\%$ у поређењу са контролом. Образац експресије испитиваних протеина, који припадају апоптотском сигналном путу најугроженије туморске ћелијске линије HeLa, открива да је спроведена апоптоза. Ово је потврђено детекцијом цепања PARP протеина у узорцима третираним са оба комплекса (1) и (2), смањењем експресије Bcl-2 и повећањем експресије Вах протеина. Bcl-2 и Вах протеини су важни чланови породице Bcl протеина и налазе се на почетку апоптотског сигналног пута [230,231]. Фактори који могу утицати на њихову равнотежу могу иницирати преживљавање или смрт. Анти-апоптотски Bcl-2 протеини блокирају интринзични пут апоптозе. Њихова концентрација је повећана у ћелијама карцинома ћелија и она су важна мета за нове терапије [230,231]. Стога, опажено смањење експресије Bcl-2 као резултат дејства оба комплекса (1) и (2), као и повећање експресије Вах протеина од фармаколошке су важности. Анализа протеинских експресија, такође, даје слику о повећању активности каспазе-3, што указује на то да је апоптоза зависна од каспазе-3, односно да је дошло до ћелијске смрти на каспаза-зависан начин.



Слика 38. Експресија апоптотских протеина испитивана Western blot анализом: 1. Контролни узорак; 2. Доксорубицин; 3. $\text{Na}[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (2); 4. $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1).



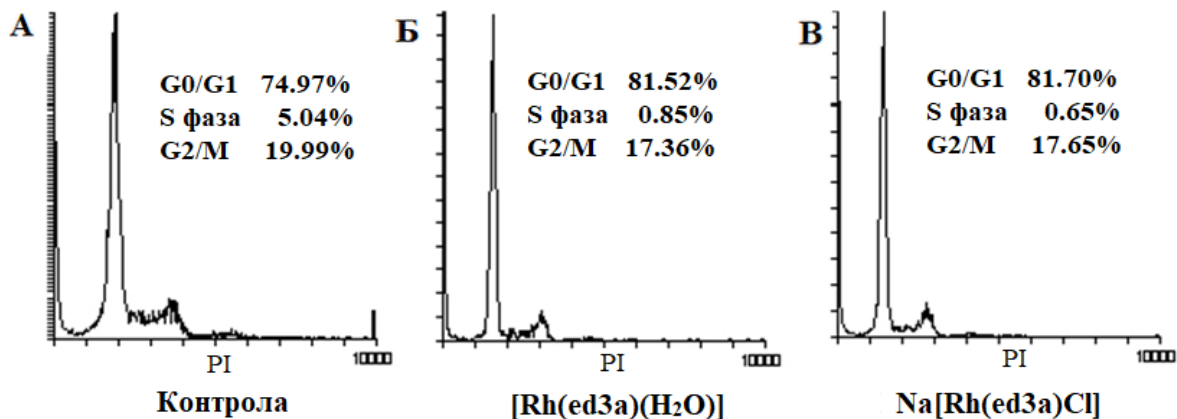
Слика 39. Графичка представа дензитометријских података експресије протеина који су добијени Western blot анализом и обрађени помоћу ImageJ <http://imagej.nih.gov> [184]. Експресија протеина који припадају апоптотичком сигналном путу у узорцима упоређена је са нетретираним узорцима и представљена је као проценат контроле. Дензитометрија експресије актина, који служи као унутрашња контрола, приказана је као мерена: 1. Контролни узорак; 2. Доксорубицин; 3. $\text{Na}[\text{Rh}(\text{ed}3\text{a})\text{Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (2); 4. $[\text{Rh}(\text{ed}3\text{a})(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1).

3.5.2.4 Анализа ћелијског циклуса проточном цитометријом

Прогресија ћелијског циклуса и апоптоза су кључни за одржавање хомеостазе ткива. Ова два процеса су спојена и деле одређене регулаторске молекуле. Ћелијска оштећења и стресни сигнали резултирају завршетком ћелијског циклуса који обезбеђује ћелији време за поправку оштећења. Ако се ћелија не може опоравити онда то значи да је активиран апоптотички програм.

Анализа ћелијског циклуса у HeLa ћелијама које су третиране комплексима (1) и (2) (Слика 40) показује да обе супстанце индукују G0/G1 застој ћелијског циклуса (од 74,97%

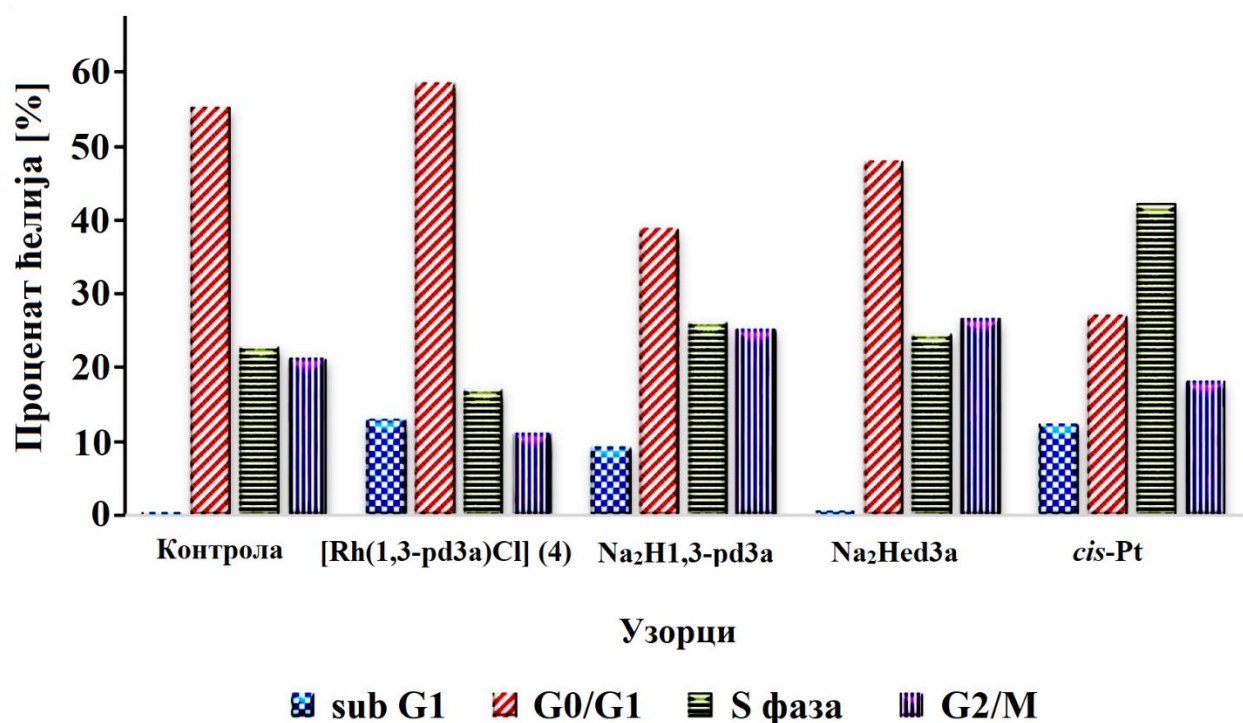
у нетретираним ћелијама до 81,70% у ћелијама третираним комплексом (1) и 81,52% у случају коришћења комплекса (2)). Истовремено, проценат ћелија у S фази смањен је са 5,04% на 0,65% и 0,85%, респективно. Промене у G2/M фази нису биле много значајне. Ови резултати указују на то да је блокада синтезе ДНК, која је изазвана испитиваним супстанцама, могући покретач апоптозе.



Слика 40. Анализа ћелијског циклуса. Хистограми представљају дистрибуцију ћелијског циклуса у нетретираним HeLa ћелијама (А) и ћелијама третираним 48 h са комплексима (1) (Б) и (2) (В).

Комплекс (4) и цисплатина (*cis*-Pt) као референтно једињење, након 48 h третмана, смањили су проценат ћелија у G2/M фази за 50 и 15% у поређењу са контролом, респективно. Лиганд Na₂H_{1,3}-pd3a и референтно једињење су смањили проценат ћелија у G0/G1 фази. Само цисплатина је повећала проценат ћелија у S фази у поређењу са контролним узорком. Након излагања HeLa ћелија комплексу (4) и лигандима током 48 h, утврђено је да (4), Na₂H_{1,3}-pd3a и цисплатина повећавају проценат апоптотских ћелија (subG1 пик, **Слика 41**).

Ови резултати указују да су испитивана једињења селективнија од референтних, тако да могу бити кандидати за развој антитуморских лекова.



Слика 41. Дистрибуција ћелијског циклуса дата као проценат [%] третираних HeLa ћелија кроз различите фазе ћелијског циклуса након 48 h изложености еквитоксичним дозама (IC₅₀ концентрације) тестираних једињења (4), Na₂H1,3-pd3a, Na₂Hed3a и цисплатине (*cis*-Pt) заједно са нетретираним контролним узорком (контрола).

3.6 Компјутерске методе

3.6.1 Квантна механика (QM)

Компјутерске методе су коришћене за интерпретацију структурних параметара експериментално добијених комплекса Rh(III), као и њихових могућих изомера. Стога, извршена је оптимизација геометрија експериментално потврђених и потенцијалних изомера комплекса користећи DFT (имплементиран у Gaussian 09) употребом различитих теоријских модела: B3LYP/def2-TZVP за комплексе (1)-(4), док су за комплекс (5) коришћене MP2, M06 и B3LYP методе у комбинацији са SDD базним сетом. Добијени подаци налазе се у Табели 15.

Табела 15

Поређење X-гау и DFT структурних параметара за [Rh(edta-тип)] комплексе са израчунатим енергијама ^а.

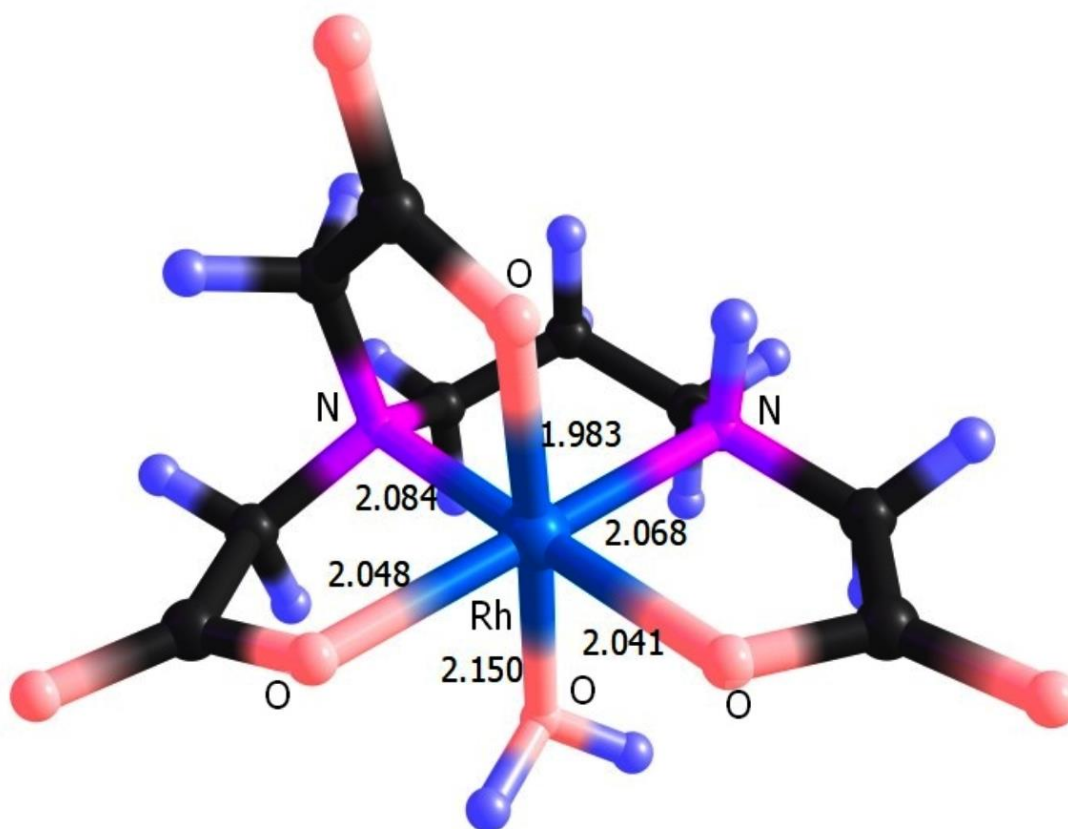
	X-ray:DFT				
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Rh-N (Å)	1,996 : 2,015	2,011 : 2,055	/: 2,068	2,020 : 2,064	2,015 : 2,074
екваторијално	2,027 : 2,084	2,033 : 2,075	/: 2,084	2,030 : 2,084	2,026 : 2,075
Rh-O (Å)	2,050 : 2,043	2,074 : 2,063	/: 2,041	2,044 : 2,054	2,053 : 2,077
екваторијално	2,072 : 2,143 ^б	/	/: 2,048	2,054 : 2,062	2,053 : 2,058
Rh-O (Å)	2,018 : 2,039	2,008 : 2,046	/: 1,983	2,018 : 2,031	2,032 : 2,051
аксијално	2,010 : 2,020	2,013 : 2,035	/: 2,150 ^б		2,017 : 2,050
Rh-Cl (Å)	/	2,353 : 2,399	/	2,328 : 2,397	/
Rh-O-C (°) ^в	112,7 : 114,3	112,8 : 114,5	/: 115,8	114,3 : 115,3	119,1 : 119,9
<i>cis</i> -углови (°) ^в	90,0 : 90,0	90,0 : 90,0	/: 90,0	90,0 : 90,0	90,0 : 90,0
<i>trans</i> -углови (°)	178,6 : 178,0	178,3 : 176,2	/: 178,7	178,8 : 178,7	178,9 : 179,5
	176,8 : 177,4	176,6 : 176,9	/: 176,9	176,2 : 175,0	177,7 : 177,0
	169,0 : 168,1	168,2 : 166,8	/: 176,9	176,2 : 177,1	169,3 : 168,4
RMSD (Å) ^г	0,1098	0,1009	/	0,0770	0,1384
Израчунате енергије ^а					
Геометријски изомери	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
<i>cis</i> -equatorial	0	0	1,9	5,4	/
<i>cis</i> -polar	8	5,2	0	0	/
<i>trans</i> -equatorial	3,2	3,5	6,1	9,8	/
<i>trans</i> (O ₅)	/	/	/	/	0
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	/	/	/	/	2,28
<i>trans</i> (O ₆)	/	/	/	/	10,44

^а B3LYP/def2-TZVP за комплексе (1-4), B3LYP/SDD за комплекс (5);
^б Молекул воде;
^в Средња вредност;
^г Вредности израчунате на тешким атомима из преклопљених X-гау и DFT оптимизованих геометрија;
^а Изомер који је показао глобални минимум означен је са 0 kcal mol⁻¹.

Добијени резултати говоре о поклапању експерименталних са израчунатим подацима, тј. у случају комплекса (1) и (2) потврђена је *cis*-equatorial геометрија која је DFT прорачунима показала највећу енергетску стабилност у односу на друга два изомера где су разлике у енергијама у опсегу 3,2-8 kcal mol⁻¹ (Табела 15); комплекс (3) је изолован у облику праха, али његова X-гау структура није потврђена, а теоријски прорачуни показују да је *cis*-polar најстабилнији изомер, што је у сагласности са аналогним комплексом (4) где се

експериментални и теоријски подаци поклапају. Никаквих несугласица нема ни у случају комплекса (5), где је *trans*(O₅) означен као изомер најниже енергије и његова кристална структура раније је и потврђена, а у овој дисертацији и кристална структура *trans*(O₅O₆) изомера који представља поменути комплекс (5). По енергији је он други по реду, док енергетски најнестабилнији *trans*(O₆) изомер никада није синтетисан.

Поред тога, упоредили смо основне структурне параметре комплекса (дужине веза, *cis* и *trans* углови, углови Rh-O-C) са онима добијеним помоћу DFT прорачуна. Уочљиво је да се посматрани параметри добро слажу са рендгенском структуром. Нажалост, за комплекс (3) нисмо успели да изолујемо кристал прикладан за рендгенску анализу како бисмо потврдили предложену геометрију, тако да нисмо могли направити поређење између експерименталне и израчунате структуре (Слика 42). Међутим, добијени параметри су у сагласности са параметрима добијеним за остале комплексе.



Слика 42. DFT оптимизована структура *cis-polar*-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] (3) комплекса.

Да би се интерпретирала стабилност различитих геометријских изомера хексадентатних $[M(\text{edta-тип})]^-$ комплекса ($M = \text{Co(III)}, \text{Rh(III)}$), спроведена су израчунавања њихових енергија различитим DFT теоријским моделима (B3LYP/SDD, M06/SDD, MP2/SDD). Почетне геометрије су узете из рендгенских структура или су урађене конформационе анализе за различите изомере чије структуре нису одређене рендгенском анализом (Табела 16). У циљу избора највалидније DFT методе, направљено је поређење укупног одступања октаедарских углова $\Sigma\Delta(O_h)$ која су израчуната из 3D и DFT оптимизованих структура (Слика 43). На слици се види да је B3LYP метода и бројчано и визуелно најприближнија експерименталним резултатима добијеним из X-ray структура. Сходно томе, у даљој дискусији коришћени су резултати добијени овом методом.

Табела 16

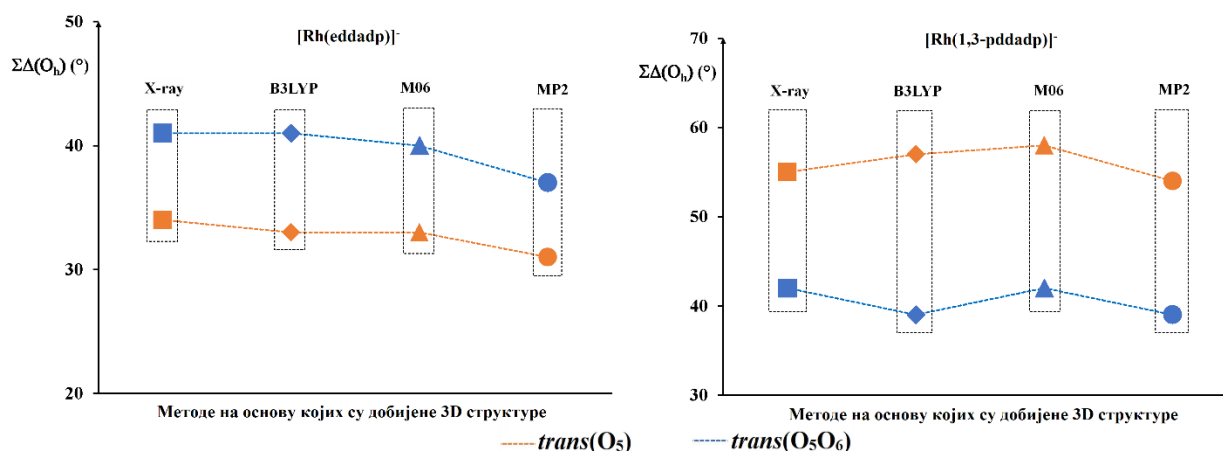
Релативне енергије (kcal mol^{-1}) за $[M(\text{edta-тип})]^-$ комплексе ^{a, b}.

лиганд	eddadp			1,3-pddadp		
метод /изомер	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)
Rh(III)						
B3LYP	0	2.28	10.44	5.75	0	2.14
M06	0	1.07	8.66	5.94	0	1.46
MP2	0	0.05	7.45	4.74	0	0.70
Co(III)						
B3LYP	0	1.12	7.56	7.94	2.81	0
M06	0	0.45	6.54	10.44	3.67	0
MP2	0	0.25	5.77	12.59	6.17	0

^a Изомер који је показао глобални минимум означен је са 0 kcal mol^{-1} ;^b SDD базни сет је коришћен у свим израчунавањима.

Увидом у Табелу 16, примарно се може утврдити енергетска зависност од структуре геометријског изомера. Добијени резултати показују да је *trans*(O₅) изомер $[M(\text{eddadp})]^-$ комплекса најстабилнији без обзира на то који је модел израчунавања коришћен: *trans*(O₅) < *trans*(O₅O₆) < *trans*(O₆). Мала енергетска разлика између прва два изомера $[M(\text{eddadp})]^-$ комплекса (Табела 16) указује на истовремено постојање *trans*(O₅) и *trans*(O₅O₆) изомера у реакционој смеси. Такође, исти прорачуни су извршени за структурно сличне $[M(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплексе, где је ситуација мало другачија. У случају израчунавања родијум(III) комплекса, сви модели су показали исте резултате: најстабилнији изомер је *trans*(O₅O₆) са малом разликом у односу на *trans*(O₆) (никад изолован). Сасвим неуобичајено, нађено је да *trans*(O₅) изомер (изолован и X-ray потврђен [196]) заузима енергетски најнеповољнији

положај: $trans(O_5O_6) < trans(O_6) < trans(O_5)$. Када се узму у обзир резултати добијени за комплексе кобалта(III), добијен је логичнији редослед: $trans(O_6) < trans(O_5O_6) < trans(O_5)$. Овом резултату иде у прилог чињеница да су оба енергетски повољнија изомера $trans(O_6)$ и $trans(O_5O_6)$ изолована са X-ray потврђеном структуром [197]. Нађено је да је енергетски најнеповољнији изомер $trans(O_5)$, који се од најстабилнијег $trans(O_6)$ изомера разликује за око 8 kcal mol^{-1} (Табела 16). Енергетска анализа (Табела 16) дала је очекиване резултате који се слажу са стабилношћу ових комплекса интерпретираних са аспекта анализе напона (Табела 11). Сви DFT модели коришћени за израчунавања су у међусобној сагласности и дају исти редослед енергетске стабилности изомера $[M(eddadp)]^-$ и $[M(1,3-pddadp)]^-$ комплекса.

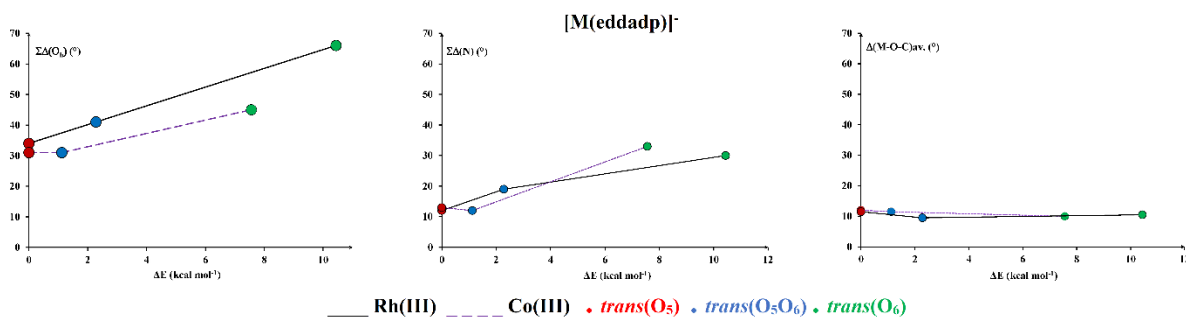


Слика 43. Поређење $\Sigma\Delta(O_h)$ вредности у зависности од метода на основу којих су добијене 3D структуре.

Основни корелациони дијаграми између израчунатих енергија изомера и вредности параметара напона (Табела 11) (укупна девијација октаедарских углова, $\Sigma\Delta(O_h)$, средња вредност девијације М-О-С углова веза одговарајућег прстена, $\Delta(M-O-C)$ и сума апсолутних вредности девијација шест октаедарских углова око азота, $\Sigma\Delta(N)$) дати су на Сликама 44 и 45. Ова поређења су извршена и за $[M(eddadp)]^-$ и $[M(1,3-pddadp)]^-$ системе.

Пажљивим проучавањем компонената дијаграма, може се закључити да не постоји очигледна зависност М-О-С углова од енергија изомера. Изомери варирају у опсегу од неколико степени без обзира на енергетску вредност (Слике 44 и 45,

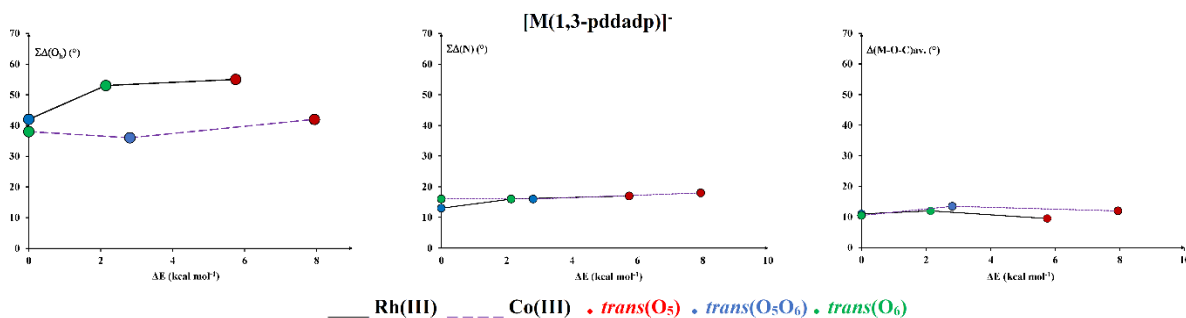
десно). Слично понашање примећено је код енергетске зависности од $\Sigma\Delta(N)$ девијације $[M(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплекса. У случају $[M(\text{eddadp})]^-$ комплекса, девијација $\text{trans}(O_6)$ изомера корелира са порастом енергије и достиже вредности 10-20°. Чини се да је детерминациони параметар напона, заправо, октаедарска девијација $\Sigma\Delta(O_h)$, која, према дијаграму (лева страна), указује на добру корелацију са енергетским вредностима. Ова појава је израженија код $[M(\text{eddadp})]^-$ у односу на $[M(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплексе где се уочава варирање (Слике 44 и 45). $[M(\text{eddadp})]^-$ комплекси показују растућу линеарну зависност $\Sigma\Delta(O_h)$ од енергије система. У случају $[M(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплекса није било могуће утврдити потпуну корелацију ове две вредности. Вредности су скоро у корелацији за Rh(III) комплексе са 1,3-pddadp⁴⁻ лигандом, што се не може рећи за сличне комплексе Co(III), $[Co(1,3\text{-pddadp})]^-$ (Слика 45).



Слика 44. Корелациони дијаграм између DFT енергија (B3LYP/SDD) геометријских изомера $[M(\text{eddadp})]^-$ комплекса ($M = \text{Rh(III)}, \text{Co(III)}$) и њихових основних структурних параметара напона.

Разматрањем $[M(\text{eddadp})]^-$ система, односно вредности сва три њихова параметра, енергетски (Табела 16), $\Sigma\Delta(O_h)$ и $\Sigma\Delta(N)$ (Табела 11), недвосмислено се може закључити да је формирање $\text{trans}(O_6)$ изомера овог система практично немогуће. Поред тога, низак енергетски профил у случају $\text{trans}(O_6)$ - $[Rh(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплекса ($E = 2,14 \text{ kcal mol}^{-1}$) (Табела 16) омогућава његово формирање, за разлику од високоенергетског $\text{trans}(O_5)$ - $[Co(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплекса ($E = 7,94 \text{ kcal mol}^{-1}$) чије формирање није могуће у уобичајеним реакционим условима. Можда је највеће изненађење одсуство $\text{trans}(O_6)$ - $[Rh(1,3\text{-pddadp})]^-$ комплекса у експерименталним условима (хроматографија на колони). Постоји могућност да се овај изомер може

наћи у четвртој траци хроматографије (која се даље дели на две траке) како су навели Радановић и сарадници [196].



Слика 45. Корелациони дијаграм између DFT енергија (B3LYP/SDD) геометријских изомера $[M(1,3-pddadp)]^-$ комплекса ($M = Rh(III), Co(III)$) и њихових основних структурних параметара напона.

Из свега наведеног, укључујући пажљиву анализу дијаграма (Слике 43-45), може се закључити да би гранична енергија, иза које је немогуће очекивати формирање геометријских изомера, могла имати вредност око 6 kcal mol⁻¹ за $[Rh(eddadp)]^-$ и $[Rh(1,3-pddadp)]^-$ системе.

3.6.2 NBO анализа

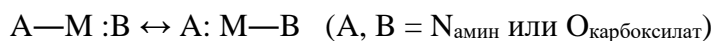
Природна орбитална анализа везе (NBO = Natural Bond Orbital Analysis) извршена је помоћу NBO 7.0 [191] софтверског пакета применом пертурбационе теорије другог реда. Овом методом се омогућава увид у доворско-акцепторски (D/A) механизам (флукуација наелектрисања везивне орбитале у антивезивну орбиталу).

Ова анализа је рађена за сва три могућа геометријска изомера хексадентатног комплекса $[Rh(eddadp)]^-$, као и за изомере структурно сличних комплекса Co(III) и 1,3-пропандиаминских комплекса Rh(III) и Co(III). Генерално, сви изомери представљају снажно делокализоване структуре. NBO потрага за најбољим Луисовим (Lewis) структурама, добијена из Gaussian-ових излазних докумената (file.47), дала је само један резонантни облик. Међутим, да би се могло дискутовати о енергетским детаљима (орбиталне и доворско/акцепторске енергије) ових јако делокализованих структура, било је неопходно урадити анализу природне резонантне теорије (NRT = Natural Resonance Theory).

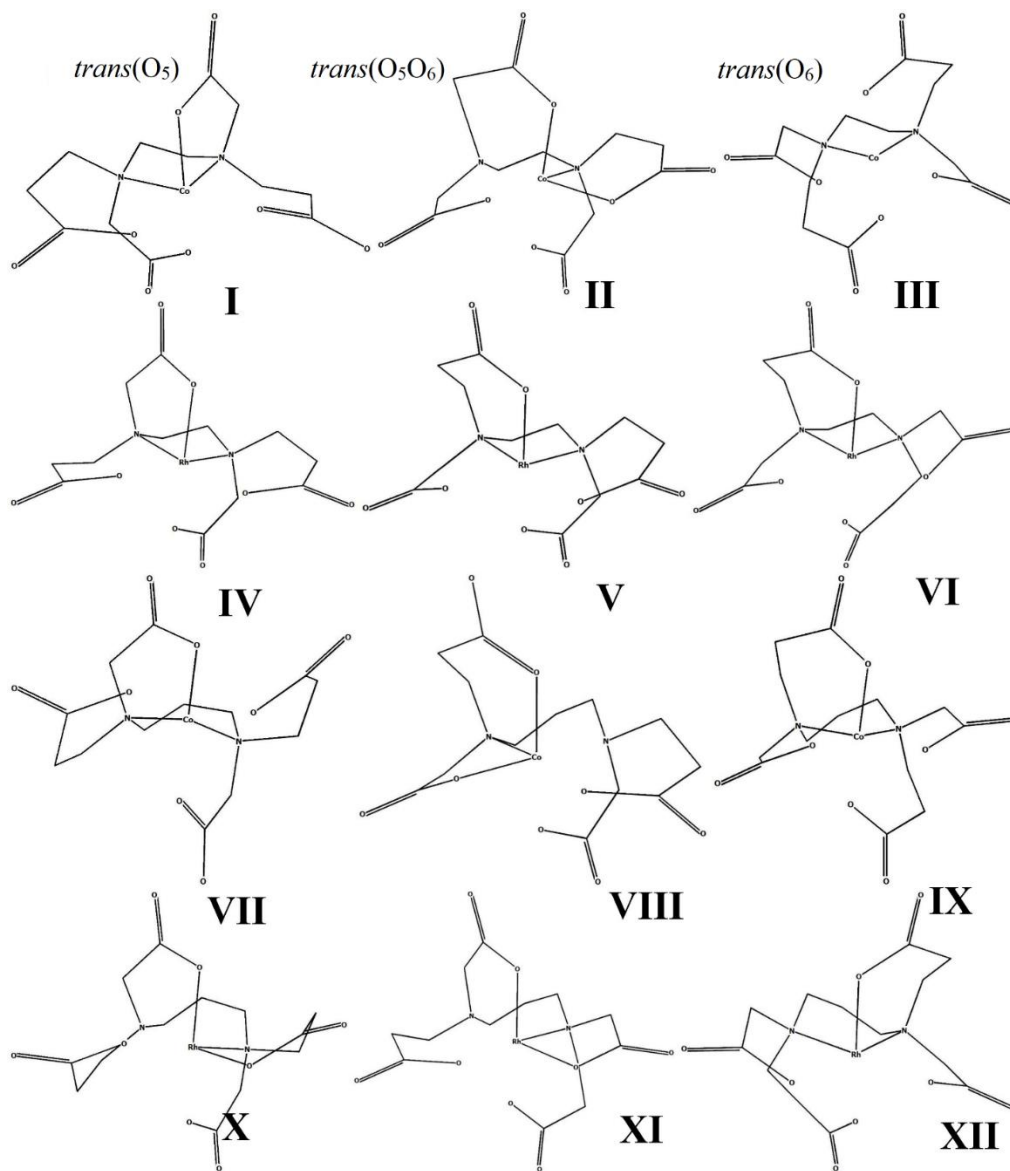
Према томе, користећи \$NRT\$ кључну реч, израчунат је сет различитих резонантних структура (за сваку CHOOSE структуру предложену NBO претрагом), а анализа резонантних структура ранжираних по њиховој тежини урађена је коришћењем NBO 7.0 (слике се налазе у прилогу ове дисертације). 3D структуре најбоље ранжираних резонанција за сваки изомер приказане су на **Слици 46**. Све приказане резонантне структуре показују да су оба јона метала три-координована осим Co(III) у *trans*(O₆)-[Co(eddadp)]⁻ комплексу (резонантна структура **III**), **Слика 46**) који је ди-координован преко два азота у октаедарском окружењу. Све остале резонантне структуре показују три-координацију преко N₂O или NO₂ хромофоре.

Генерално, природни ред везе комплекса, који садрже Co(III)-јон, креће се у опсегу 2,5-3. На пример, резултати за *trans*(O₆)-[Co(1,3-pddadp)]⁻ комплекс показују да је у Co—N вези удео ковалентног карактера 27%, а удео јонског карактера износи 73%, док је Co—O веза укључује око 20% ковалентног и 80% јонског карактера. У другу руку, ред везе комплекса који садрже родијум(III) је око 3,1 и одговарајући комплекс *trans*(O₆)-[Rh(1,3-pddadp)]⁻ показује 10% више ковалентног карактера у везама Rh—O и Rh—N, па је ковалентност више изражена у родијум(III) комплексима него у случају Co(III) комплекса.

Сви изомери показују око 98,1% окупираниости Лусиових (L = Lewis) орбитала и 1,7% валентних не-Луисових (NL = non-Lewis) орбитала. Остатак од ~0,2% окупираниости припада Ридберговим (Rydberg) и орбиталама језгра (Core). Постоје три M—N или M—O везе (M = Co(III) или Rh(III)) које су описане са три L везујуће орбитале (BD = bond, two-center) праћене са три високоенергетске валентне NL антивезујуће (BD*) орбитале. Даље, NBO претрага је нашла две, три или четири 3-центричне 4-електронске A:—M—:B (A, B = N_{амин} или O_{карбоксилат}) хипервезе (ω везе) заједно са O:—C—:O карбоксилатним тријадама. Ове 3-центричне металне везе, које су сачињене од A(N_{амин} или O_{карбоксилат}), M и B(N_{амин} или O_{карбоксилат}) атома, са снажним интеракционим валентним хибридима h_A , h_M , h_B , описане су као јаки резонанциони хибриди две локализоване L структуре:



Ове тријадне резонанце рачунају на интеракције између LP $n_{B(A)}$ (LP = Lone Pair, усамљени пар) и BD $\sigma_{MA(B)}$ орбитала (BD = везивне).



Слика 46. Најбоље рангиране резонантне структуре добијене NRT анализом на различитим изомерима: I-VI [M(eddap)]; VII-XII [M(1,3-pddap)]⁻ комплексних анјона (M = Rh(III), Co(III)).

Свака A:—M—:B тријада одговара снажној $n_B \rightarrow \sigma_{MA}^*$ делокализацији у A—M :B Луисовој структури, или еквивалентно, снажној $n_A \rightarrow \sigma_{MB}^*$ делокализацији у алтернативној A: M—B Луисовој структури, што доводи до скоро једнаких NRT тежина ових структура ($w_{A-M :B} \approx w_{A: M-B}$) [232]. Антивезивне BD* (NL орбитале валентне љуске) обично играју примарну улогу у одласцима (делокализација) из идеалне Луисове структуре. У основи NBO теорије су пертурбативне процене другог реда, донорско(D)-акцепторска (A) (веза-

антивеза) теорија, анализа Фокове матрице, интеракције. Испитивања обухватају све могуће интеракције између “попуњених” (донор, L) природних везивних орбитала и “непопуњених” (акцептор, NL) природних везивних орбитала и процену њихове енергетске важности помоћу пертурбационе теорије другог реда. Већ је поменуто да стабилизација молекула долази од делокализације узроковане $p_A \rightarrow \sigma_{MB}^*$ или $p_B \rightarrow \sigma_{MA}^*$ преносом наелектрисања. NBO је заиста нашао три (или две у случају $trans(O_6)-[Co(eddadp)]^-$, **Слика 46**, структура **III**) високо енергетске валентне NL BD^* орбитале, које садрже метал, за сваку изомерну структуру. У случају $trans(O_5O_6)-[Rh(eddadp)]^-$ комплекса, ове валентне NL BD^* орбитале су 93. (0.33044) $BD^*Rh1-N2$, 94. (0.32594) $BD^*Rh1-N3$ и 95. (0.35539) $BD^*Rh1-O4$ (**Слика 47**-Акцептор). Може се видети (бројеви у заградама) значајно велика NL окупираност (око 0,33 електрона) за сваку антивезивну орбиталу. Свака од ових орбитала очекује донацију електронске густине од симетричних Луисових неvezујућих усамљених парова (LP)- sp^n орбитале. Ове орбитале су приказане на **Слици 47** (Донор): $sp^{5.71}$ (O6), $sp^{3.40}$ (O8) and $sp^{7.01}$ (O10). Према томе, према D/A механизму процењена су три трансфера електронске густине (**Слика 47**):

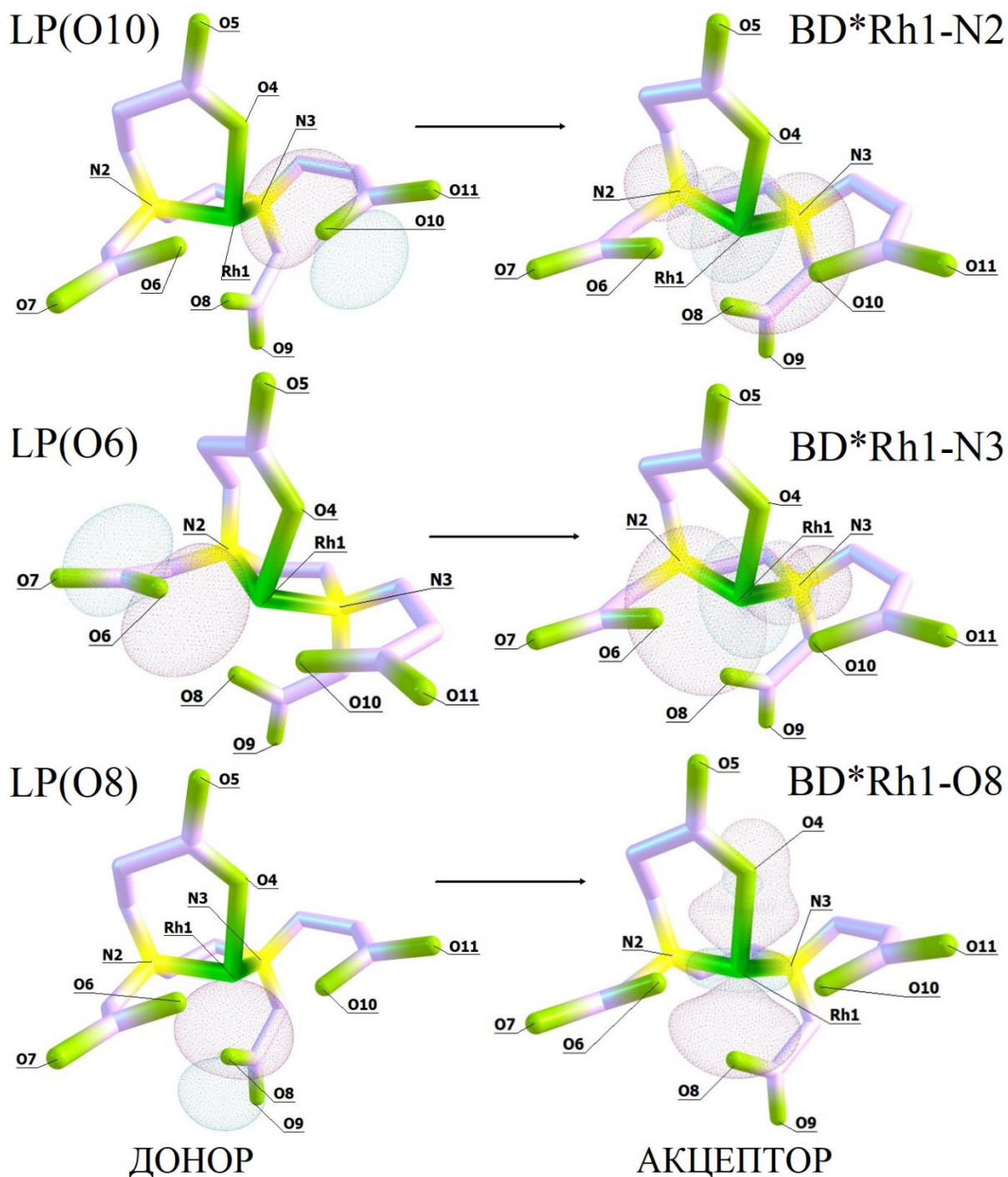
1. LP (O10) \rightarrow $BD^* (Rh1)^{sd2.13} - (N2)^{sp5.06}$ екваторијална донација
2. LP (O6) \rightarrow $BD^* (Rh1)^{sd2} - (N3)^{sp5.05}$ екваторијална донација
3. LP (O8) \rightarrow $BD^* (Rh1)^{sd1.73} - (O4)^{sp8.65}$ аксијална донација

Тако, поређењем енергија које потичу од трансфера електронске густине различитих изомера (**Табела 17**), утврђен је следећи ред:

$$trans(O_5) : trans(O_5O_6) : trans(O_6) = 379,11 : 362,40 : 355,09 \text{ kcal mol}^{-1}$$

Такав однос енергије говори да је стабилизација хибридне структуре највећа у случају $trans(O_5)$ изомера и износи $\sim 12 \text{ kcal mol}^{-1}$. Ово би могло бити рационално објашњење зашто су $trans(O_5)$ и $trans(O_5O_6)$ изомери нађени у реакционој смеси, што је у потпуној сагласности са успостављеним редоследом њихових електронских енергија (**Табела 17**). Слично томе, донорско-акцепторске енергије изомера $[Rh(eddadp)]^-$ комплекса прате редослед QM електронских стања (**Табела 16**). Донорско-акцепторске енергије изомера $[Rh(1,3-pddadp)]^-$ комплекса, такође, сугеришу постојање $trans(O_6)$ геометрије (**Табеле 16** и **17**). Једино одступање се може видети за изомере $[Co(1,3-pddadp)]^-$ комплекса (**Табела 17**).

Наиме, оба симетрична изомера *trans*(O₅) и *trans*(O₆) показују интензивније донорско-акцепторске интеракције него *trans*(O₅O₆) изомер.



Слика 47. PNBO (PNBO = pre-orthogonal Natural Bond Orbital) донор/акцептор орбитале које се односе на резонантну хибридную стабилизацију *trans*(O₅O₆)-[Rh(eddadp)]⁻ комплексног аниона.

Будући да је у оквиру [Co(1,3-pddadp)]⁻ јединице установљен нешто већи карактер јонске везе, урађена је природна Кулонова енергетска анализа (NCE = Natural Coulomb Electrostatics) за све испитиване изомере Rh(III) и Co(III) комплекса (Табела 17). Може се видети да не постоји промена у укупној природној Кулоновој електростатичкој потенцијалној енергији (NCE_{total}) за све комплексе сем за [Co(1,3-pddadp)]⁻ комплекс (Табела 17). Овде се укупна NCE потенцијална енергија мења према следећем распореду:

$$trans(O_6) : trans(O_5O_6) : trans(O_5) = -2,99415 < -2,97840 < -2,96305 \text{ a.u.}$$

Ово значи да карактер јонског везивања унутар [Co(1,3-pddadp)]⁻ доминира над ковалентним (или полу-ковалентним - какве би, иначе, координационе везе требале бити). Ово је у складу са изомерима који су до сада били фаворизовани у реакцији између Co³⁺ и 1,3-pddadp⁴⁻ под уобичајеним реакционим условима.

Табела 17

NBO донорско-акцепторске енергије ^a 3-СНВ веза, стерно-измењиве интеракције спаривања E_{LI}^{pwx} ^a и природна Кулонова електростатичка анализа (NCE) комплекса [M(edta-тип)]⁻.

Акцептор	eddadp			Донор	1,3-pddadp		
	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)	
Rh(III)	379.11	362.40	355.09	335.19	346.77	358.30	
Co(III)	341.29	327.03	277.50	365.99	328.36	382.70	
Rh(III)_E _{LI} ^{pwx}	1026.48	1057.80	1072.23	1151.44	1096.85	1103.96	
Co(III)_E _{LI} ^{pwx}	1079.54	1149.04	1177.37	1171.51	1144.48	1151.16	
NCE потенцијална енергија ^b	[Rh(eddadp)] ⁻			[Rh(1,3-pddadp)] ⁻			
	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)	
Луис (Lewis)	-4.87451	-4.91143	-4.88222	-5.03605	-5.05614	-5.00669	
не-Луис (Non-Lewis)	2.18730	2.22420	2.18872	2.28615	2.29314	2.24761	
укупно	-2.68721	-2.68723	-2.69351	-2.74990	-2.76300	-2.75908	
	[Co(eddadp)] ⁻			[Co(1,3-pddadp)] ⁻			
	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)	<i>trans</i> (O ₅)	<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	<i>trans</i> (O ₆)	
Луис (Lewis)	-5.61248	-5.32442	-5.52337	-5.61861	-5.63819	-5.37922	
не-Луис (Non-Lewis)	2.70975	2.41792	2.62078	2.65556	2.65979	2.38507	
укупно	-2.90273	-2.90650	-2.90258	-2.96305	-2.97840	-2.99415	

^a kcal mol⁻¹;

^b a.u.

Природна стерна анализа изражава стерне измењиве репулзије као енергетске разлике услед орбиталне ортогонализације. Замена природних везујућих орбитала (NBO) са природним локализованим молекулским орбиталама (NLMO = Natural Localized Molecular Orbital) значајно побољшава опис стерних ефеката у снажно локализованим врстама, као што су комплекси прелазних метала. Такође, природна стерна анализа апроксимира важну стерно-измењиву интеракцију спаривања E_{IJ}^{pwx} између две полулокализоване I и J NLMO орбитале [232]. Ове интеракције сумирају парно-адитивну процену E_{IJ}^{pwx} унутар различитих геометријских изомера $[M(eddadt)]^-$ и $[M(1,3-pddadt)]^-$ комплексних јона (Табела 17). Ова процена је заснована на парцијалној ортогоналности, која укључује само два пара истовремено. Овај параметар је мање прецизан, али је у блиској вези са концептом стерног "контакта" између индивидуалних електронских парова. E_{IJ}^{pwx} резултати, који су добијени за најбоље рангиране резонанце различитих изомера, у одличном су слагању са фаворизованим геометријама које су до сада проучавали различити аутори. То значи да изомери $trans(O_5)$ и $trans(O_5O_6)$, у случају $[M(eddadt)]^-$ комплексног анјона, показују ниже стерно-измењиве репулзије у односу на $trans(O_6)$ изомер. Главна разлика у стерним интеракцијама унутар $trans(O_5)$ и $trans(O_6)$ изомера огледа се у одбијању NLMO орбитала које укључују атоме кисеоника координоване у екваторијалној равни. Суме E_{IJ}^{pwx} енергија које укључују екваторијалне кисеоникове атоме стоје у односу $trans(O_5) : trans(O_6) = 117,38 : 186,14 \text{ kcal mol}^{-1}$.

Када је у питању $[M(1,3-pddadt)]^-$ јон, опет ниске стерне измењиве интеракције за усамљене парове (**disjoint** парови = усамљени парови који не деле суседни атом међусобно) NLMO орбитала $trans(O_6)$ и $trans(O_5O_6)$ изомера указују на већу стабилност и релативну лакоћу њихове синтезе.

3.6.3 Докинг молекулска симулација

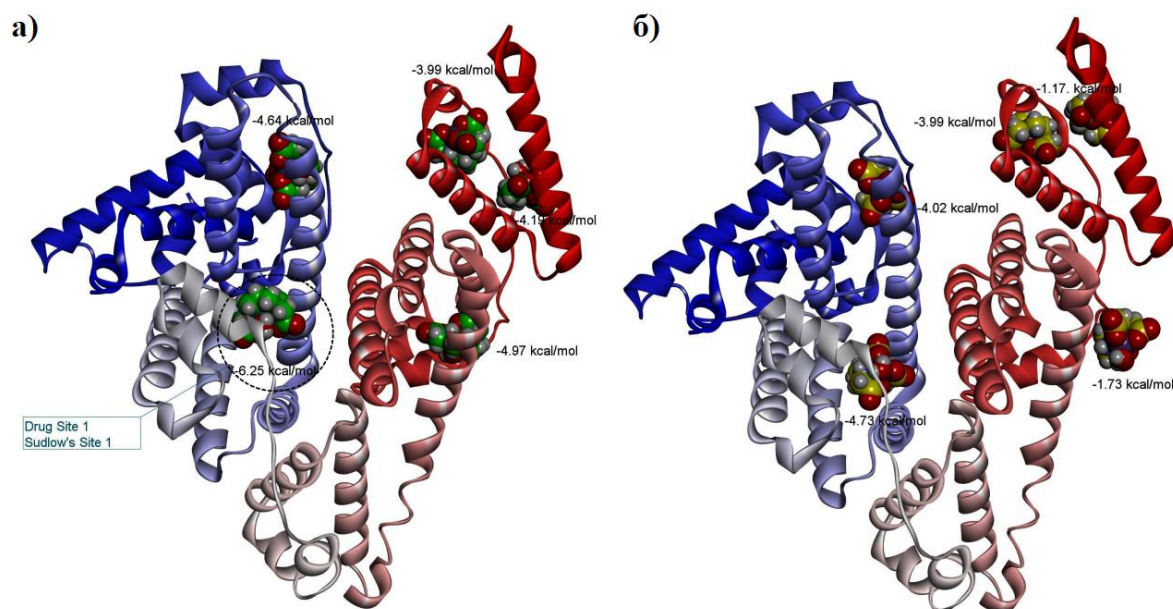
Компјутерски симулирани докинг коришћен је да би се испитале интеракције између HSA (Human Serum Albumin - албумин човечијег серума) и cis -equatorial- $[Rh(ed3a)(H_2O)]$ (**1**) и cis -polar- $[Rh(1,3-pd3a)(H_2O)]$ (**3**) комплекса. Због тога је урађен докинг у случају ова два комплекса за свих пет заједничких места везивања који су до сада утврђени [233].

Резултати најбољих конформера дати су у Табели 18, а на Слици 48 приказани су најбољи конформери докованих комплекса на HSA макромолекулу.

Табела 18
HSA-[Rh(L)(H₂O)] (L = ed3a и 1,3-pd3a) слободне енергије везивања најбољих AutoDock конформера^a.

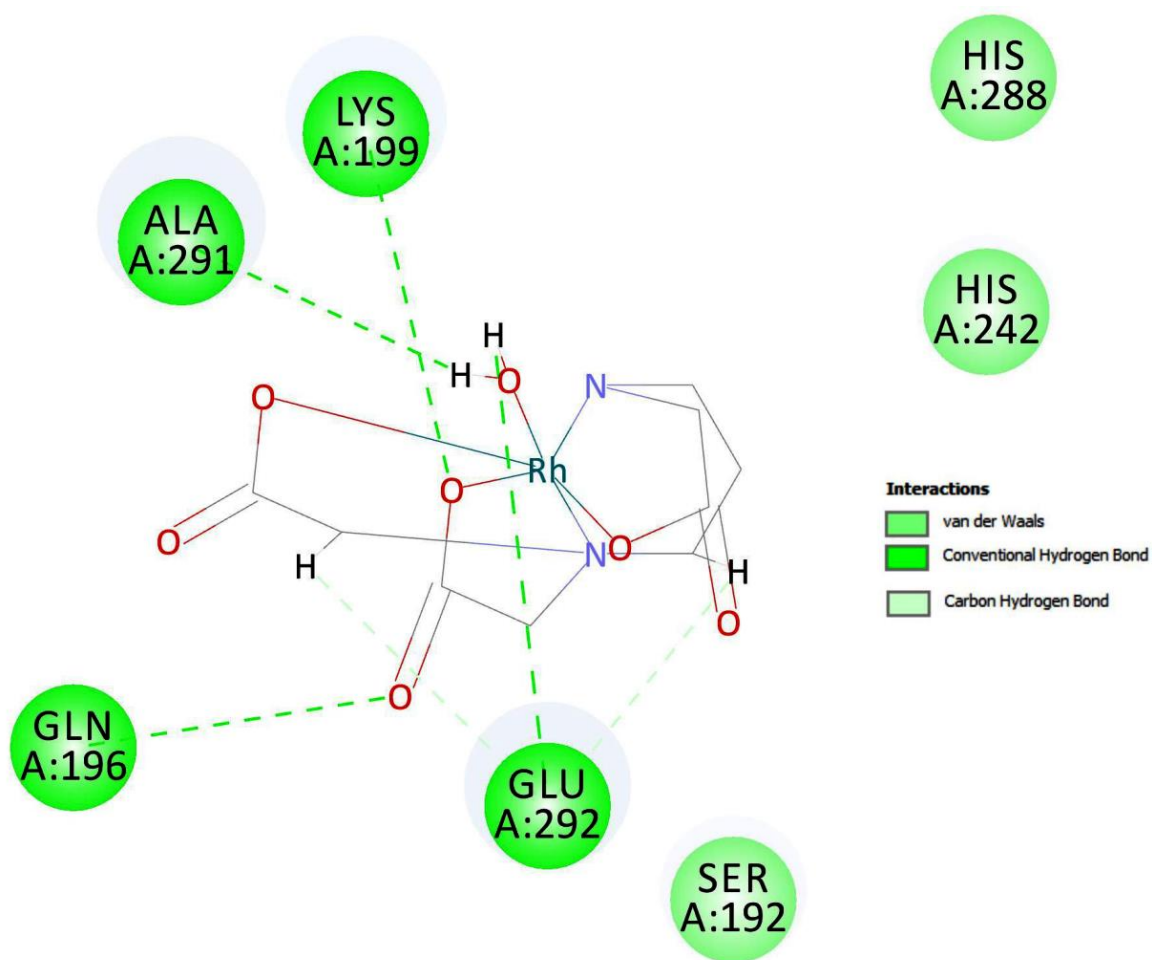
Комплекс	Место везивања лека 1	Место везивања лека 2	Тироксин 1	Тироксин 2	Место везивања лека 3
<i>cis</i> -equatorial-[Rh(ed3a)(H ₂ O)] (1)	-4,73	-1,73	-4,01	-1,17	-4,02
<i>cis</i> -polar-[Rh(1,3-pd3a)(H ₂ O)] (3)	-6,25	-4,97	-4,19	-3,99	-4,64

^a Слободне енергије везивања ΔG (kcal mol⁻¹).



Слика 48. Најстабилнији конформери докованих *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)] (1) (а) и *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] (3) (б) комплекса на HSA макромолекулу.

Комплекс *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] (3) који је докован унутар места везивања лека 1 има најбољу вредност слободне енергије везивања од -6,25 kcal mol⁻¹ ($K_i = 26,19 \mu\text{mol L}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$) дајући нам разумну претпоставку да се овај комплекс може лако транспортовати до циљних ћелија кроз крвоток. Главне интеракције Rh(1,3-pd3a)-HSA су процењене и дате на Слици 49.



Слика 49. 2D дијаграм главних интеракција *cis-polar*-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] комплекса (3) и HSA макромолекула.

Електростатичко привлачење између комплекса родијума(III) и HSA подразумева водоничне везе на OH₂—GLU292, OH₂—ALA291, CO (карбонил, прстен R)—GLN196 и COO(R прстен)—LYS199. Остатак интеракција укључује Ван дер Валсове (Van der Walls) интеракције између комплекса метала и остатака макромолекула HSA (Слика 49). Према томе, четири водоничне везе чине родијум(III) комплекс чврсто везаним за HSA и сасвим безбедним за његов транспорт до циљних ћелија.

4. ЗАКЉУЧАК

У оквиру ове дисертације синтетисано је пет нових комплекса родијума(III) са лигандима полиаминополикарбоксилатног типа који у свом саставу имају петочлане и/или шесточлане карбоксилатне прстенове: $[\text{Rh}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})]$ (1), $[\text{Rh}(\text{ed3a})\text{Cl}]^-$ (2), $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})(\text{H}_2\text{O})]$ (3), $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})\text{Cl}]^-$ (4), као и $[\text{Rh}(\text{eddadp})]^-$ (5). За комплексирање су коришћена два пентадентатна лиганда у облику киселина ($\text{H}_3\text{ed3a}$, $\text{H}_31,3\text{-pd3a}$) и један хексадентатни - H_4eddadp . Добијени пентадентатни комплекси представљају прве синтетисане родијум(III) комплексе ове врсте, будући да су досадашња истраживања била усмерена на хексадентате. Сва добијена једињења окарактерисана су применом стандардних метода (елементална микроанализа, тачка топљења), као и савременим спектроскопским методама анализе (^1H и ^{13}C NMR, IR и UV-Vis). Резултати елементалних микроанализа су у сагласности са претпостављеним саставом комплекса. Број, положај и изглед сигнала у ^1H и ^{13}C NMR спектрима потврђују структуру добијених родијум(III) комплекса. Анализом IR спектра утврђено је да се лиганди координују пентадентатно (у случају ed3a и $1,3\text{-pd3a}$) и хексадентатно у случају eddadp лиганда. UV-Vis спектри синтетисаних комплекса потврђују њихову октаедарску геометрију. Структуре синтетисаних комплекса су одређене применом рендгенске структурне анализе, осим у случају *cis-polar*- $[\text{Rh}(1,3\text{-pd3a})\text{H}_2\text{O}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3) комплекса где није изолован кристал погодан за дифрактометријску анализу. Његова геометрија је претпостављена на основу спектралне анализе, као и поређењем са сличним комплексима који су структурно окарактерисани. У случају комплекса (1) и (2) потврђена је *cis-equatorial* геометрија, а комплекс (4) својим распоредом прстенова у простору показује *cis-polar* геометрију, што је у сагласности са сличним комплексима који у свом саставу имају неки други метални јон (Cu(II) , Ni(II) , Cr(III) , Co(III)). Комплекс (5), као једини хексадентатни комплекс, има присутну N_2O_4 хромофору са два петочлана ацетатна, два шесточлана 3-пропионска и једним леђним петочланим етилендиаминским прстеном, који својим распоредом у простору дају *trans*(O_5O_6) изомер.

Детаљна анализа напона синтетисаних и сличних поредбених комплекса показала је да највећу октаедарску дисторзију $\Sigma\Delta(\text{O}_h)$ показује комплекс (3) чија структура није потврђена, а највећу тетраедарску дисторзију око аминског азота ($\Sigma\Delta(\text{N})$ вредност) показује

комплекс (4) са вредностима 11° (азот без протона) и 46° (азот који садржи протон). Поред тога, девијација његовог 1,3-пропандиаминоског прстена је велика и износи $+44^\circ$, па се може закључити да је нестабилан и да лако подлеже хидролизи у супституционим реакцијама. Када су у питању хексадентатни комплекс, комплекс (5) показује умерену дисторзију због погодног распореда прстенова у екваторијалној равни 5-5-6. Анализа напона недвосмислено показује везу између стабилности комплекса и природе окружења у екваторијалној равни, односно распореда прстенова.

Константе протоновања лиганда H_3ed3a и $H_31,3-pd3a$, константе стабилности комплекса и стехиометрија комплекса са овим лигандима проучаване су у воденом раствору са акцентом на најпоузданије врсте које су се појавиле на физиолошком рН ($[Rh(ed3a)]^+$, $[Rh(ed3a)]$, $[Rh(H1,3-pd3a)]^+$, $[Rh(1,3-pd3a)]$). Стехиометрија ових врста, као и њихова стабилност, од великог је значаја за разумевање њихове антипролиферативне улоге у малигним ћелијама.

У циљу одређивања терапеутског потенцијала ових комплекса, испитивана је њихова антипролиферативна активност према нормалној ћелијској линији фибробласта плућа (MRC-5), као и према четири туморске ћелијске линије: хумани карцином плућа (A-549), хумани аденокарцином дојке (MCF-7), хумани аденокарцином дебелог црева (HT-29), хумани аденокарцином грлића материце (HeLa). Такође, испитивани су и H_3ed3a и $H_31,3-pd3a$ лиганди. Тестирана једињења су показала различиту цитотоксичност према третираним ћелијама. Највећу цитотоксичност је показао комплекс $[Rh(ed3a)(H_2O)] \cdot H_2O$, док је најнеактивнији $[Rh(1,3-pd3a)(H_2O)] \cdot 2H_2O$ комплекс. Битно је истаћи да ниједно тестирано једињење није показало цитотоксичност према здравим ћелијама MRC-5, чиме је показана њихова селективност у односу на туморске и здраве ћелије, за разлику од референтних једињења (цисплатина, доксорубицин), па их можемо сматрати потенцијално добрим антитуморским лековима. Од свих испитиваних ћелијских линија, HeLa је показала највећу сензитивност, па је анализа ћелијског циклуса методом проточне цитометрије и Вестерн блот анализе рађена управо на овој ћелији. Анализа резултата показала је да је апоптоза примарни начин смрти HeLa ћелија код свих тестираних супстанци, док је занемарљив проценат некрозе, осим у случају лиганда H_3ed3a који показује значајно учешће некрозе у ћелијској смрти.

Компјутерске методе су коришћене за интерпретацију структурних параметара експериментално добијених комплекса Rh(III), као и њихових могућих изомера. Добијени резултати говоре о поклапању експерименталних са израчунатим подацима, тј. у случају комплекса (1) и (2) потврђена је *cis*-equatorial геометрија која је DFT прорачунима показала највећу енергетску стабилност у односу на друга два. Комплекс (3) је изолован у облику праха, али његова X-ray структура није потврђена, а теоријски прорачуни показују да је *cis*-*rolar* најстабилнији изомер, што је у сагласности са аналогним комплексом (4) где се експериментални и теоријски подаци поклапају. Поклапање је евидентно и код изомера комплекса [Rh(eddadp)]⁻, где је *trans*(O₅) означен као изомер најниже енергије и његова кристална структура раније је и потврђена, а у овој дисертацији и кристална структура *trans*(O₅O₆) изомера који представља поменути комплекс (5). По енергији је он други по реду, док енергетски најнестабилнији *trans*(O₆) изомер никада није синтетисан. Такође, извршена је детаљна анализа енергетске зависности геометријских изомера и уобичајених параметара деформације ($\Sigma\Delta(O_h)$, $\Delta(M-O-C)$, $\Sigma\Delta(N)$). Ова испитивања су извршена за системе [M(eddadp)]⁻ и [M(1,3-pddadp)]⁻ (M = Rh(III), Co(III)). Уочено је да је детерминациони параметар напона, заправо, октаедарска девијација $\Sigma\Delta(O_h)$, која, према дијаграму указује на добру корелацију са енергетским вредностима. Ова појава је израженија код [M(eddadp)]⁻ у односу [M(1,3-pddadp)]⁻ комплексе. У случају [M(eddadp)]⁻ система, недвосмислено је потврђена немогућност формирања *trans*(O₆) изомера, док у случају [M(1,3-pddadp)]⁻ система низак енергетски профил омогућава формирање *trans*(O₆) изомера у случају комплекса родијума(III). Висока енергија у случају *trans*(O₅)-[Co(1,3-pddadp)]⁻ искључује могућност формирања овог комплекса. Из свега наведеног се може закључити да би гранична енергија, иза које је немогуће очекивати формирање геометријских изомера, могла имати вредност око 6 kcal mol⁻¹ за [Rh(eddadp)]⁻ и [Rh(1,3-pddadp)]⁻ системе.

Природна орбитална анализа везе (NBO = Natural Bond Orbital Analysis) извршена је у за све могуће изомере комплекса [M(eddadp)]⁻ и [M(1,3-pddadp)]⁻ (M = Rh(III), Co(III)) циљу испитивања доворско-акцепторског (D/A) механизма. Међутим, да би се могло да дискутовати о енергетским детаљима (орбиталне и доворско/акцепторске енергије) ових јако делокализованих структура, урађена је анализа природне резонантне теорије (NRT). Све добијене резонантне структуре показују да је јон метала три-координанан преко N₂O

или NO₂ хромофоре, осим Co(III) у *trans*(O₆)-[Co(eddadp)]⁻ комплексу који је ди-координован. Природни ред везе комплекса, који садрже Co(III)-јон, креће се у опсегу 2,5-3. Резултати за *trans*(O₆)-[Co(1,3-pddadp)]⁻ комплекс показују да је у Co—N вези удео ковалентног карактера 27%, а удео јонског карактера износи 73%, док је Co—O веза укључује око 20% ковалентног и 80% јонског карактера. Насупрот томе, ред везе комплекса који садрже родијум(III) је око 3,1 и одговарајући комплекс *trans*(O₆)-[Rh(1,3-pddadp)]⁻ показује 10% више ковалентног карактера у везама Rh—O и Rh—N, па је ковалентност више изражена у родијум(III) комплексима него у случају Co(III) комплекса. Поређењем енергија које потичу од трансфера електронске густине различитих изомера, у случају [Rh(eddadp)]⁻ комплекса, утврђено је да је стабилизација хибридне структуре највећа у случају *trans*(O₅) изомера, што је у сагласности са QM енергијама. Такође, доворско-акцепторске енергије изомера [Rh(1,3-pddadp)]⁻ комплекса сугеришу постојање *trans*(O₆) геометрије. Једино одступање се може видети за изомере [Co(1,3-pddadp)]⁻ комплекса где оба симетрична изомера *trans*(O₅) и *trans*(O₆) показују интензивније довор-акцепторске интеракције него *trans*(O₅O₆) изомер. Природна стерна анализа говори да изомери *trans*(O₅) и *trans*(O₅O₆), у случају [M(eddadp)]⁻ комплексног аниона, показују ниже стерне измењиве репулзије у односу на *trans*(O₆) изомер, а када је у питању [M(1,3-pddadp)]⁻ јон, опет ниске стерне измењиве интеракције за усамљене (**disjoint**) парове NLMO орбитала *trans*(O₆) и *trans*(O₅O₆) изомера указују на већу стабилност и релативну лакоћу њихове синтезе.

Компјутерски симулирани докинг коришћен је да би се откриле интеракције између HSA и *cis*-equatorial-[Rh(ed3a)(H₂O)] и *cis*-polar-[Rh(1,3-pd3a)(H₂O)] комплекса, а резултати су показали да четири водоничне везе чине родијумов комплекс чврсто везаним за HSA и сасвим безбедним за његов транспорт до циљних ћелија.

Добијени резултати у оквиру ове докторске дисертације могу допринети синтези нових комплекса, који ће показати бољу активност и мању токсичност у односу на клинички коришћене агенсе. Посебно треба истаћи да су у овој дисертацији први пут испитивани родијум(III) комплекси са лигандима edta типа са антитуморског аспекта, па дисертација представља значајан допринос овој области.

5. ЛИТЕРАТУРА

- [1] G. Chauhan, K.K. Pant, K. D. P. Nigam, *Ind. Eng. Chem. Res.* **52** (2013) 16724-16736.
- [2] F. G. Kari, W. Giger, *Environ. Sci. Technol.* **29** (1995) 2814-2827.
- [3] H. Xue, L. Sigg, F. G. Kari, *Environ. Sci. Technol.* **29** (1995) 59-68.
- [4] C. Drouza, M. Vlasiou, A. D. Keramidas, *Dalton Trans.* **42** (2013) 11831-11840.
- [5] M. Vlasiou, C. Drouza, T. A. Kabanos, A. D. Keramidas, *J. Inorg. Biochem.* **147** (2015) 39-43.
- [6] E. Repo, J. K. Warchoł, A. Bhatnagar, M. Sillanpää, *J. Colloid Interf. Sci.* **358** (2011) 261-267.
- [7] A. Naeem, P. Westerhoff, S. Mustafa, *Water Res.* **41** (2007) 1596-1602.
- [8] J. D. Ostergen, G. E. Brown, G. A. Parks, T. N. Tingle, *Environ. Sci. Technol.* **33** (1999) 1627-1636.
- [9] J. Porath, J. Carlsson, I. Olsson, G. Belfrage, *Nature* **258** (1975) 598-599.
- [10] J. Carrasco-Castilla, A. J. Hernández-Álvarez, C. Jiménez-Martínez, C. Jacinto-Hernández, M. Alaiz, J. Girón-Calle, J. Vioque, G. Dávila-Ortiz, *Food Chem.* **135** (2012) 1789-1795.
- [11] C. C. Mclauchlan, B. J. Peters, G. R. Willsky, D. C. Crans, *Coord. Chem. Rev.* **163** (2015) 301-302.
- [12] T. Jakusch, J. Costa Pessoa, T. Kiss, *Coord. Chem. Rev.* **255** (2011) 2218-2226.
- [13] V. Prachayasittikul, S. Prachayasittikul, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul, *Drug Des. Dev. Ther.* **7** (2013) 1157-1178.
- [14] H. Faneca, V. A. Figueiredo, I. Tomaz, G. Gonçalves, F. Avecilla, M. C. Pedroso de Lima, F. G. C. Geraldos Carlos, J. C. Pessoa, M. M. C. A. Castro, *J. Inorg. Biochem.* **103** (2009) 601-608.
- [15] D. C. Crans, *J. Org. Chem.* **80** (2015) 11899-11915.
- [16] K. H. Thompson, J. Lichter, C. LeBel, M. C. Scaife, J. H. McNeill, C. Orvig, *J. Inorg. Biochem.* **103** (2009) 554-558.

- [17] J. C. Pessoa, S. Etcheverry, D. Gambino, *Coord. Chem. Rev.* **24** (2015) 301-302.
- [18] A. Zorzano, M. Palacín, L. Marti, S. García-Vicente, *J. Inorg. Biochem.* **103** (2009) 559-566.
- [19] D. Rehder, G. Santoni, G. M. Licini, C. Schulzke, B. Meier, *Coord. Chem. Rev.* **237** (2003) 53-63.
- [20] C. C. McLaughlan, J. D. Hooker, M. A. Jones, Z. Dymon, E. A. Backhus, B. A. Greiner, N. A. Dorner, M. A. Youkhana, L. M. Manus, *J. Inorg. Biochem.* **104** (2010) 274-281.
- [21] M. Paolieri, "Ferdinand Münz: EDTA and 40 years of inventions", *Bulletin for the History of Chemistry* **42** (2017) 133-140
- [22] E. Repo, T. A. Kurniawan, J. K. Warchol, M. E. Sillanpää, *J. Hazard. Mater.* **171** (2009) 1071-1080.
- [23] J. C. Friedly, D. B. Kent, J. A. Davis, *Environ. Sci. Technol.* **36** (2002) 355-363.
- [24] W. Zhang, D. C. W. Tsang, I. M. C. Lo, *Chemosphere* **66** (2007) 2025-2034.
- [25] F. Balaska, M. Bencheikh-Lehocine, M. Chikhi, A.-H. Meniai, A. Bouledjoudja, *Energy Procedia* **19** (2012) 249-258.
- [26] R. A. Yokel, *Coord. Chem. Rev.* **228** (2002) 97-113.
- [27] M. Jaworska, G. Stopa, Z. Stasicka, *Nitric Oxide* **23** (2010) 227-233.
- [28] C. Noradoun, M. D. Engelmann, M. McLaughlin, R. Hutcheson, K. Breen, A. Paszczynski, I. F. Cheng, *Ind. Eng. Chem. Res.* **42** (2003) 5024-5030.
- [29] C. Noradoun, C. S. Mekmaysy, R. M. Hutcheson, I. F. Cheng, *Green Chem.* **7** (2005) 426-430.
- [30] C. E. Noradoun, I. F. Cheng, *Environ. Sci. Technol.* **39** (2005) 7158-7163.
- [31] V. Zang, R. van Eldik, *Inorg. Chem.* **29** (1990) 1705-1711.
- [32] S. Piche, F. Larachi, *Chem. Eng. Sci.* **61** (2006) 3452-3463.
- [33] D. F. Laine, S. D. McAllister, I. Francis Cheng, *J. Electroanal. Chem.* **608** (2007) 111-116.
- [34] R. De Busk, et al. "Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)". University of Maryland Medical Center (2002).
- [35] J. Swaran, S. Flora, V. Pachauri, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **7** (2010) 2745-2788.

- [36] I. Soveri, U. B. Berg, J. Björk, C.-G. Elinder, A. Grubb, I. Mejare, G. Sterner, S.-E. Bäck, *Am. J. Kidney Dis.* **64** (2014) 411-424.
- [37] G. Banfi, G. L. Salvagno, G. Lippi, *Clin. Chem. Lab. Med.* **45** (2007) 565-576.
- [38] G. A. Lamas, R. Boineau, C. Goertz, D. B. Mark, Y. Rosenberg, M. Stylianou, T. Rozema, R. L. Nahin, L. T. Chappell, L. Lindblad, E. F. Lewis, J. Drisko, K. L. Lee, *Amer. Heart J.* **168** (2014) 37-44.
- [39] Z. Cui, W. Bu, W. Fan, J. Zhang, D. Ni, Y. Liu, J. Wang, J. Liu, Z. Yao, J. Shi, *Biomaterials* **104** (2016) 158-167.
- [40] Z. Cui, P. R. Lockman, C. S. Atwood, C. Hsu, A. Gupte, D. D. Allen, R. J. Mumper, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **59** (2005) 263-272.
- [41] P. Angelberger, M. Wagner-Löffler, E. Hruby, R. Dudeczak, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **89** (1985) 409-421.
- [42] G. H. Y. Lin, J. D. Leggett, R. M. Wing, *Acta Crystallogr. Sect. B* **29** (1973) 1023-1030.
- [43] U. Rychlewska, M. I. Djuran, B. Waržajtis, D. D. Radanović, M. M. Vasojević, D. J. Radanović, *Polyhedron* **22** (2003) 3265-3276.
- [44] W. Byers, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **11** (1972) 1470-1473.
- [45] F. T. Helm, W. H. Watson, D. J. Radanović, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **16** (1977) 2351-2354.
- [46] R. Herak, Lj. Manojlović-Muir, M. I. Djuran, D. J. Radanović, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1985) 861-864.
- [47] T. Yamamoto, K. Mikata, K. Miyoshi, H. Yoneda, *Inorg. Chim. Acta* **150** (1988) 237-244.
- [48] T. Mizuta, T. Yamamoto, N. Shibata, K. Miyoshi, *Inorg. Chim. Acta* **169** (1990) 257-263.
- [49] A. S. Antsyshkina, G. G. Sadikov, L. M. Shkol'nikova, A. L. Poznyak, V. S. Sergienko, *Zh. Neorg. Khim.* **41** (1996) 1463-1469.
- [50] D. J. Radanović, S. Ianelli, G. Pelosi, Z. D. Matović, S. Tasić-Stojanović, B. E. Douglas, *Inorg. Chim. Acta* **278** (1998) 66-75.
- [51] K. Kanamori, J. Kumada, M. Yamamoto, T. Okayasu, K. Okamoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **68** (1995) 3445-3451.
- [52] R. Meier, S. Mitzenheim, H. Pritzkow, R. van Eldik, *Inorg. Chem.* **50** (2011) 1005-1013.
- [53] K. D. Gailey, D. J. Radanović, M. Djuran, B. E. Douglas, *J. Coord. Chem.* **8** (1978) 161-167.

- [54] D. J. Radanović, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **14** (1975) 6-10.
- [55] K. Miyoshi, J. Wang, T. Mizuta, *Chem. Lett.* (1995) 721-722.
- [56] Z. D. Matović, A. Meetsma, V. D. Miletić, P. J. van Koningsbruggen, *Inorg. Chim. Acta* **360** (2007) 2420-2431.
- [57] G. L. Blackmer, R. E. Hamm, J. I. Legg, *J. Am. Chem. Soc.* **91** (1969) 6632-6637.
- [58] J. D. Bell, G. L. Blackmer, *Inorg. Chem.* **12** (1973) 836-840.
- [59] a) H. Ogino, T. Watanabe, N. Tanaka, *Chem. Lett.* (1974) 91-94;
б) H. Ogino, T. Watanabe, N. Tanaka, *Inorg. Chem.* **14** (1975) 2093-2097;
в) H. Ogino, M. Shimura, A. Masuko, N. Tanaka, *Chem. Lett.* (1979) 71-72.
- [60] H. Ogino, M. Shimura, N. Tanaka, *Inorg. Chem.* **18** (1979) 2497-2501.
- [61] C. Maricondi, S. Utsuno, D. J. Radanović, S. R. Trifunović, J. E. Abola, B. Douglas, *Inorg. Chim. Acta* **142** (1988) 135-149.
- [62] S. Grubišić, M. Gruden-Pavlović, S. R. Niketić, S. Kaizaki, N. Sakagami-Yoshida, *Inorg. Chem. Commun.* **6** (2003) 1180-1184.
- [63] S. Belošević, M. Ćendić, A. Meetsma, Z. D. Matović, *Polyhedron* **50** (2013) 473-480.
- [64] D. J. Radanović, S. R. Trifunović, D. E. Bause, C. Maricondi, J. E. Abóla, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **26** (1987) 3994-3999.
- [65] C. W. Maricondi, C. Maricondi, *Inor. Chem.* **13** (1974) 1110-1114.
- [66] a) S. J. Lippard, H. Schugar, C. Walling, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 1825-1831;
б) L. E. Gerdorn, N. A. Baenziger, H. M. Goff, *Inorg. Chem.* **20** (1981) 1606-1609;
в) H. Okazaki, K. Tomioka, H. Yoneda, *Inorg. Chim. Acta* **74** (1983) 169-178;
г) T. Mizuta, T. Yamamoto, K. Miyoshi, Y. Kushi, *Inorg. Chim. Acta* **175** (1990) 121-126.
- [67] M.-K. Doh, H. Ogino, J. Fujita, K. Saito, *Bull. Chem. Soc. Jap.* **49** (1976) 469-471.
- [68] C. A. Chang, B. E. Douglas, *J. Coord Chem.* **10** (1980) 131-134.
- [69] S. Belošević, M. Ćendić, M. Djukić, M. Vasojević, A. Meetsma, Z. D. Matovic, *Inorg. Chim. Acta* **399** (2013) 146-153.
- [70] C. E. Housecroft, A. G. Sharpe, *Inorg. Chem.* (2008) (3. изд.). Prentice Hall.

- [71] A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, (1985). Lehrbuch der Anorganischen Chemie (91-100 изд), Walter de Gruyter. pp. 1056–1057.
- [72] L. Garlaschelli, R. della Pergola, S. Martinengo, *Inorg. Synth.* **28** (1989) 211–215.
- [73] B. F. G. Johnson, *Dalton Trans.* **44** (2015) 16602-16610.
- [74] L. M. Vallarino, *Inorg. Chem.* **4** (1965) 161-165.
- [75] J. A. Osborn, F. H. Jordine, J. F. Young, G. Wilkinson, *J. Chem. Soc. A* **0** (1966) 1711-1732.
- [76] а) D. G. DeWit, *Coord. Chem. Rev.* **147** (1996) 209-246;
б) C. E. Housecroft, *Coord. Chem. Rev.* **15** (1996) 107-139;
в) B. Pannia Espósito, R. Najjar, *Coord. Chem. Rev.* **232** (2002) 137-149.
- [77] F. P. Dwyer, F. L. Garvan, *J. Amer. Chem. Soc.* **82** (1960) 4823-4826.
- [78] а) K. Sugiura, K. Yamasaki, *Naturwissenschaften* **48** (1961) 552-553;
б) K. Sugiura, K. Yamasaki, *Nippon Kagaku Zasshi* **88** (1967) 948-952.
- [79] G. -S. Kim, D. A. Judd, C. L. Hill, R. F. Schinazi, *J. Med. Chem.* **37** (1994) 816-820.
- [80] S. Lutsenko, *Curr. Opin. In Chem. Biol.* **14** (2010) 211-217.
- [81] D. W. Hutchinson, *Antivir. Res.* **5** (1985) 193-205.
- [82] The research sub-committee of the Empire Rheumatism Council, *Ann. Rheum. Dis.* **19** (1960) 95-117.
- [83] R. C. Gamble, P. G. Schmidt, Contrast agents for NMR imaging, U. S. Patent 4728575 (1988).
- [84] C. -Y. Ke, C. J. Mathias, M. A. Green, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **56** (2004) 1143-1160.
- [85] а) B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature* **205** (1965) 698-699;
б) B. Rosenberg, L. Van Camp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **222** (1969) 385-386.
- [86] R. J. Kociba, S. D. Sleight, B. Rosenberg, *Cancer Chemoter. Rep.* **54** (1970) 325-328.
- [87] а) P. J. Loehrer, L. H. Einhorn, *Ann. Intern. Med.* **100** (1984) 704-713;
б) M. Morris, P. J. Eifel, J. Lu, P. W. Grigsby, C. Levenback, R. E. Stevens, M. Rotman, D. M. Gershenson, D. G. Mutch, *N. Engl. J. Med.* **340** (1999) 1137-1143;

- b) P. G. Rose, B. N. Bundy, E. B. Watkins, J. T. Thigpen, G. Deppe, M. A. Maiman, D. L. Clarke-Pearson, S. Insalaco, *N. Engl. J. Med.* **340** (1999) 1144-1153;
- r) H. M. Keys, B. N. Bundy, F. B. Stehman, L. I. Muderspach, W. E. Chafe, C. L. Suggs, J. L. Walker, D. Gersell, *N. Engl. J. Med.* **340** (1999) 1154-1161.
- [88] R. Oun, Y. E. Moussa, N. J. Wheate, *Dalton Transactions.* **47** (2018) 6645-6653.
- [89] E. Wong, C. M. Giandomenico, *Chem. Rev.* **99** (1999) 2451-2466.
- [90] L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer* **7** (2007) 573-584.
- [91] S. Mabuchi, T. Kimura, *Chemother. Res. Pract.* **2011** (2011) 1-10.
- [92] C. -H. Choi, Y. -J. Cha, C. -S. An, K. -J. Kim, K. -C. Kim, S. -P. Moon, Z. H. Lee, Y. -D. Min, *Cancer Cell. Int.* **4** (2004) 6-17.
- [93] M. J. McKegae, *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **10** (2001) 119-128.
- [94] J. M. Rademaker-Lakhai, D. van den Bongard, D. Pluim, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellens, *Clin. Cancer Res.* **10** (2004) 3717-3727.
- [95] M. A. Jakupec, V. B. Arion, S. Kapitza, E. Reisner, A. Eichinger, M. Pongratz, B. Marian, N. Graf v. Keyserlingk, B. K. Keppler, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **43** (2005) 595-596.
- [96] P. J. Barndard, S. J. Berners-Price, *Coord. Chem. Rev.* **251** (2007) 1889-1902.
- [97] C. F. Shaw, *Chem. Rev.* **99** (1999) 2589-2600.
- [98] C.-M. Che, R. W.-Y. Sun, W.-Y. Yu, C.-B. Ko, N. Zhu, H. Sun, *Chem. Commun.* (2003) 1718-1719.
- [99] C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, A. Guerri, M. A. Cinellu, G. Minghetti, M. Corsini, C. Rosani, P. Zanello, M. Arca, *Inorg. Chem.* **47** (2008) 2368-2379.
- [100] A. R. Kapdi, I. J. S. Fairlamb, *Chem. Soc. Rev.* **43** (2014) 4751-4777.
- [101] E. Gao, C. Liu, M. Zhu, H. Lin, Q. Wu, L. Liu, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **9** (2009) 356-368.
- [102] A. Garoufis, S. K. Hadjidakou, H. Hadjiliadis, *Coord. Chem. Rev.* **253** (2009) 1384-1397.
- [103] Z. D. Matović, E. Mrkalić, G. Bogdanović, V. Kojić, A. Meetsma, R. Jelić, *J. Inorg. Biochem.* **121** (2013) 134-144.
- [104] E. M. Mrkalić, R. M. Jelić, O. R. Klisurić, Z. D. Matović, *Dalton Trans.* **43** (2014) 15126-15137.

- [105] N. P. Farrell, "Uses of Inorganic Chemistry in Medicine", The Royal Society of Chemistry, London, Uk (1999).
- [106] a) Q. Zhou, T. W. Hambley, B. J. Kennedy, P. A. Lay, P. Turner, B. Warwick, J. R. Biffin, H. L. Regtop, *Inorg. Chem.* **39** (2000) 3742-3748;
б) E. Weder, T. W. Hambley, B. J. Kennedy, P. A. Lay, G. J. Foran, A. M. Rich, *Inorg. Chem.* **40** (2001) 1295-1302.
- [107] a) R. B. Weiss, M. C. Christian, *Drugs* **46** (1993) 360-377;
б) G. Giaccone, *Drugs* **59** (2000) 9-17.
- [108] Y. P. Ho, S. C. F. Au-Yeung, K. K. W. To, *Med. Res. Rev.* **23** (2003) 633-655.
- [109] L. Ronconi, P. J. Sadler, *Coord. Chem. Rev.* **251** (2007) 1633-1648.
- [110] K. D. Mjos, C. Orvig, *Chem. Rev.* **114** (2014) 4540-4563.
- [111] F. A. Cotton, R. A. Walton, Multiple Bonds Between Metal Atoms, Clarendon Press, Oxford, (1993).
- [112] R. A. Howard, E. Sherwood, A. Erck, A. P. Kimball, J. L. Bear, *J. Med. Chem.* **20** (1977) 943-946.
- [113] N. Katsaros, A. Anagnostopoulou, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **42** (2002) 297-308.
- [114] A. Erck, L. Rainen, J. Whileyman, I. M. Chang, A. P. Kimball, J. Bear, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **145** (1974) 1278-1283.
- [115] A. Erck, E. Sherwood, J. L. Bear, A. P. Kimball, *Cancer Res.* **36** (1976) 2404-2409.
- [116] R. A. Howard, A. P. Kimball, J. L. Bear, *Cancer Res.* **39** (1979) 2568-2573.
- [117] P. N. Rao, M. L. Smith, S. Pathak, R. A. Howard, J. L. Bear, *J. Natl. Cancer Inst.* **64** (1980) 905-912.
- [118] J. L. Bear, H. B. Gray, Jr., L. Rainen, I. M. Chang, R. Howard, G. Serio, A. P. Kimball, *Cancer Chemother. Rep.* **59** (1975) 611-620.
- [119] R. A. Howard, T. G. Spring, J. L. Bear, *Cancer Res.* **36** (1976) 4402-4405.
- [120] A. R. de Souza, R. Najjar, S. Glikmanas, S. B. Zyngier, *J. Inorg. Biochem.* **64** (1996) 1-5.
- [121] M. S. Nothenberg, G. Kazuko Funayama, Renato Najjar, *J. Inorg. Biochem.* **42** (1991) 217-229.

- [122] F. P. Pruchnik, G. Kluczevska, A. Wilczok, U. Mazurek, T. Wilczok, *J. Inorg. Biochem.* **65** (1997) 25-34.
- [123] E. de Souza Gil, M. I. de Almeida Gonçalves, E. I. Ferreira, S. B. Zyngier, R. Najjar, *Met. Based Drugs* **6** (1999) 19-24.
- [124] a) B. P. Espósito, S. B. Zyngier, R. Najjar, R. P. Paes, S. M. Ykko Ueda, J. C. A. Barros, *Met. Based Drugs* **6** (1999) 17-18;
б) B. P. Espósito, S. B. Zyngier, A. R. De Souza, R. Najjar, *Met. Based Drugs* **4** (1997) 333-338.
- [125] J. R. Rubin, T. P. Haromy, M. Sundaralingam, *Acta Crystallogr. C* **47** (1991) 1712-1714.
- [126] T. Giraldi, G. Zassinovich, G. Mestroni, *Chem. Biol. Interact.* **9** (1974) 389-394.
- [127] a) T. Giraldi, G. Sava, G. Bertoli, G. Mestroni, G. Zassinovich, *Cancer Res.* **37** (1977) 2662-2666;
б) T. Giraldi, G. Sava, G. Mestroni, G. Zassinovich, D. Stolfa, *Chem. Biol. Interact.* **22** (1978) 231-238.
- [128] G. Sava, S. Zorzet, S. Pacor, G. Mestroni, G. Zassinovich, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **24** (1989) 302-306.
- [129] G. Craciunescu, V. Scarcia, A. Furlani, E. P. Inglesias, C. Ghirvu, A. Papaioannou, *Anticancer Res.* **9** (1989) 781-785.
- [130] D. G. Craciunescu, V. Scarcia, A. Furlani, A. Papaioannou, E. Parrondo Iglesias, M. P. Alonso, *In Vivo* **5** (1991) 329-332.
- [131] A. Taylor, N. Carmichael, *Cancer Studies* **2** (1953) 36-79.
- [132] K. S. McCully, M. P. Vezeridis, *Cancer Invest.* **5** (1987) 25-30.
- [133] a) P. Martin-Sanz, C. Cascales, A. Gomez, D. N. Brindley, M. Cascales, *Carcinogenesis* **8** (1987) 1685-1690;
б) C. Cascales, P. Martin-Sanz, R. A. Pittner, R. Hopewell, D. N. Brindley, M. Cascales, *Biochem. Pharmacol.* **35** (1986) 2655-2661.
- [134] M. J. Cleare, P.C. Hydes, *Met. Ions Biol. Syst.* **11** (1980) 1-62.
- [135] G. Mestroni, E. Alessio, A. Sessanta o Santi, S. Geremia, A. Bergamo, G. Sava, A. Boccarelli, A. Schettino, M. Coluccia, *Inorg. Chim. Acta* **273** (1998) 62-71.
- [136] S. Pacor, G. Sava, G. Mestroni, E. Alessio, *Pharmacol. Res.* **25** (1992) 73-74.

- [137] P. Colamarino, P. Sliwinska Orioli, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1976) 845-848.
- [138] F. P. Pruchnik, P. Jakimowicz, Z. Ciunik, J. Zakrewska-Czerwinska, A. Oplolski, J. Wietrzyk, E. Wojdat, *Inorg. Chim. Acta* **334** (2002) 59-66.
- [139] D. A. Medvetz, K. D. Satkleff, T. Schreiber, P. D. Custer, K. Hindi, M. D. Panzner, D. D. Blanco, M. J. Taschner, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 1703-1706.
- [140] U. Sliwinska, F.P. Pruchnik, I. Pelinska, S. Ulaszewski, A. Wilczok, A. Zajdel, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 347-358.
- [141] E. L. Menon, R. Perera, M. Navarro, R. J. Kuhn, H. Morrison, *Inorg. Chem.* **43** (2004) 5373-5381.
- [142] a) D. Loganathan, H. Morrison, *Photochem. Photobiol.* **82** (2006) 237-247;
b) M. R. Kim, H. Morrison, S. I. Mohammed, *Anti-Cancer Drugs* **22** (2011) 896-904.
- [143] a) A. Dorcier, W. H. Ang, S. Bolano, L. Gonsalvi, L. Juillerat-Jeannerat, G. Laurency, M. Peruzzini, A. D. Phillips, F. Zanobini, P. J. Dyson, *Organometallics* **25** (2006) 4090-4096;
b) A. Casini, F. Edafe, M. Erlandsson, L. Gonsalvi, A. Ciancetta, N. Re, A. Ienco, L. Messori, M. Peruzzini, P. J. Dyson, *Dalton Trans.* **39** (2010) 5556-5563.
- [144] C. Scolaro, A. Bergamo, L. Brescacin, R. Delfino, M. Cocchietto, G. Laurency, T. J. Geldbach, G. Sava, P. J. Dyson, *J. Med. Chem.* **48** (2005) 4161-4171.
- [145] H.-R. Zhang, Y.-C. Liu, Z.-F. Chen, T. Meng, B.-Q. Zou, Y.-N. Liu, H. Liang, *New J. Chem.* **40** (2016) 6005-6014.
- [146] Y. Geldmacher, M. Oleszak, W. S. Sheldrick, *Inorg. Chim. Acta* **393** (2012) 84-102.
- [147] U. Berkert, N. L. Allinger, *Amer. Chem. Soc.* (1982) 339.
- [148] W. J. Hehre, L. Radom, R. Schleyer, J. A. Pople, "Ab initio molecular orbital theory", Wiley, New York (1986).
- [149] a) A. K. Rappe, C. L. Casewit, "Molecular mechanics across chemistry", University Science Books, Sausalito, CA (1997), website <http://www.chm.colostate.edu/mmac>;
b) A. R. Leach, "Molecular Modelling, Principles and Applications", Addison Wesley Longman, Essex (UK) (1996), chapter 3;
b) U. Burkert, N. L. Allinger, "Molecular Mechanics", *ACS Monograph 177*, American Chemical Society, Washington, DC (1982);

- г) N. L. Allinger, "Calculation of Molecular Structures and Energy by Force Methods", in *Advances in Physical Organic Chemistry*, 13, V. Gold, D Bethell, Eds., Academic Press, New York (1976);
- д) T. Clark, "A Handbook of Computational Chemistry", Wiley, New York (1985);
- ђ) I. N. Levine, "Quantum Chemistry", 4th edn, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey (1991), pp. 583-587;
- е) Conformational energies: I. Pettersson, T. Liljefors, in *Reviews in Computational Chemistry* (1996) 9;
- ж) Inorganic and organometallic compounds; C. R. Landis, D. M. Root, T. Cleveland, in *Reviews in Computational Chemistry* (1995) 6;
- з) Parameterization: J. P. Bowen, N. L. Allinger, *Reviews in Computational Chemistry* (1991) 2.
- [150] а) L. H. Thomas, *Proc. Camb. Phil. Soc.* **23** (1927) 542-548;
- б) E. Y. Fermi, *Y. Phys.* **48** (1928) 73-79.
- [151] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev.* **B 136** (1964) 864-871.
- [152] W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev.* **140** (1965) A1133-A1138.
- [153] Y. Zhao, D.G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc.* **120** (2008) 215-241.
- [154] а) A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **98** (1993) 5648-5652;
- б) C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **37** (1988) 785-789;
- в) B. Miehlich, A. Savin, H. Stoll, H. Preuss, *Chem. Phys. Lett.* **157** (1989) 200-206.
- [155] а) J. S. Griffith, *The Theory of Transition-Metal Ions*; Cambridge University Press (1964);
- б) I. N. Levine, *Quantum Chemistry*; Pearson Education (2013);
- в) R. G. Parr, Y. Weitao, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules (International Series of Monographs on Chemistry)*; Oxford University Press (1994).
- [156] C. Møller, M. S. Plesset, *Phys. Rev.* **46** (1934) 618-622.
- [157] M. Milovanović, *Teorijska istraživanja geometrije, stabilnosti i hemijskih veza u malim klasterima litijuma sa halogenima, doktorska teza*, Univerzitet u Beogradu (2015).
- [158] F. Weinhold, C. R. Landis, *Chem. Educ. Res. Pract.* **2** (2001) 91-104.

- [159] D. J. Radanović, K. D. Gailey, M. I. Djuran, B. E. Douglas, *J. Coord. Chem.* **10** (1980) 115-123.
- [160] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **43** (1996) 1739-1753.
- [161] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Ann. Chim.* **89** (1999) 45-49.
- [162] L. Alderighi, P. Gans, A. Lenco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.* **184** (1999) 311-318.
- [163] CrysAlisPro, Agilent Technologies UK Ltd., Oxford, UK (2011-2014).
- [164] W. R. Busing, H. A. Levy, *Acta Cryst.* **10** (1957) 180-182.
- [165] G. M. Sheldrick, SHELXT, University of Göttingen and Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany (2012-2014).
- [166] M. Ruf, B. C. Noll, Application Note SC-XRD 503, Bruker AXS GmbH Karlsruhe, Germany (2014).
- [167] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst. A* **71** (2015) 3-8.
- [168] G. M. Sheldrick, SHELXL-20xx, University of Göttingen and Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany (2012-2014).
- [169] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst. A* **64** (2008) 112-122.
- [170] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst. C* **71** (2015) 3-8.
- [171] P. T. Beurskens, G. Beurskens, R. de Gelder, J. M. M. Smits, S. Garcia-Granda, R. O. Gould, DIRDIF-(2008), Radboud University Nijmegen, The Netherlands (2008).
- [172] P. T. Beurskens in *Crystallographic Computing 3*, (Eds.: G. M. Sheldrick, C. Krüger, R. Goddard), Clarendon Press, Oxford, UK (1985) pp. 216-266.
- [173] A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. L. Casciarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.* **32** (1999) 115-119.
- [174] G. Sheldrick, SHELXL97 A Program for Structure Refinement, University of Göttingen, Göttingen (1997).
- [175] L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* **32** (1999) 837-838.
- [176] L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* **45** (2012) 849-854.
- [177] SADABS v. 2.06 (2002) Bruker AXS, Inc., Madison, WI.

- [178] F. R. Keene, G. H. Searle, *Inorg. Chem.* **13** (1974) 2173-2180.
- [179] T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* **65** (1983) 55-63.
- [180] A. Doyle, J. B. Griffiths, D. G. Newell, *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures*, Ed. John Wiley & Sons, Inc., Chichester, England (1995).
- [181] A. Bender, D. Opel, I. Naumann, R. Kappler, L. Friedman, D. Von Schweinitz, K.-M. Debatin, S. Fulda, *Oncogene* **30** (2011) 494-503.
- [182] D. Baskić, S. Popović, P. Ristić, N. N. Arsenijević, *Cell Biol. Int.* **30(11)** (2006) 924-932.
- [183] M. M. Bradford, *Anal. Biochem.* **72** (1976) 248-254.
- [184] ImageJ, компјутерски програм. NIH Image, <http://imagej.nih.gov>
- [185] BD CellQuest Pro Software; Becton, Dickinson and Company: San Hose, USA (2002).
- [186] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearmark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 09, Revision D.01; Gaussian, Inc., Wallingford CT (2013).
- [187] HyperChem(TM), Hypercube, Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, Florida 32601, USA.
- [188] a) MOPAC2016, J. J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) (2016);
 b) J. Řezáč, P. Hobza, *J. Chem. Theory Comput.* **8** (2012) 141-151.
- [189] F. Weigend, R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7** (2005) 3297-3305.
- [190] a) A. Bergner, M. Dolg, W. Kuechle, H. Stoll, H. Preuss, *Mol. Phys.* **80** (1993) 1431-1441;
 б) M. Kaupp, P. V. R. Schleyer, H. Stoll, H. Preuss, *J. Chem. Phys.* **94** (1991) 1360-1366;
 в) M. Dolg, H. Stoll, H. Preuss, R.M. Pitzer, *J. Phys. Chem.* **97** (1993) 5852-5859.

- [191] NBO 7.0. E. D. Glendening, J.K. Badenhoop, A.E. Reed, J.E. Carpenter, J.A. Bohmann, C.M. Morales, P. Karafiloglou, C.R. Landis, F. Weinhold, Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, Madison, WI (2018); <http://nbo7.chem.wisc.edu/>
- [192] I. Petitpas, C. E. Petersen, C.-E. Ha, A. A. Bhattacharya, P. A. Zunszain, J. Ghuman, N. V. Bhagavan, S. Curry, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100** (2003) 6440-6445.
- [193] a) G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, A. J. Olson, *J. Comput. Chem.* **30** (2009) 2785-2791;
- б) M. F. Sanner, *J. Mol. Graph. Model.* **17** (1999) 57-61.
- [194] P. A Zunszain, J. Ghuman, T. Komatsu, E. Tsuchida, S. Curry, *BMC Struct. Biol.* **3** (2003) 6-14.
- [195] Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio, v.17.2.0 (2016).
- [196] U. Rychlewska, M. I. Djuran, M. M. Vasojević, D. D. Radanović, V. M. Ristanović, D. J. Radanović, *Inorg. Chim. Acta* **328** (2002) 218-228.
- [197] a) M. Parvez, C. Maricondi, D. J. Radanović, S. R. Trifunović, V. D. Miletić, B. E. Douglas, *Inorg. Chim. Acta* **248** (1996) 89-92;
- б) S. Grubišić, S. R. Niketić, D. D. Radanović, U. Rychlewska, B. Warzajtis, *Polyhedron* **24** (2005) 1701-1709.
- [198] D. J. Radanović, M. I. Djuran, *J. Coord. Chem.* **11** (1982) 247-250.
- [199] R. Herak, G. Srdanov, M. I. Djuran, D. J. Radanović, M. Bruvo, *Inorg. Chim. Acta* **83** (1984) 55-64.
- [200] D. J. Radanović, M. I. Djuran, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **24** (1985) 4239-4241.
- [201] D. J. Radanović, M. I. Djuran, R. S. Kostić, B. E. Douglas, *Inorg. Chim. Acta* **211** (1993) 149-154.
- [202] K. Nakamoto, Y. Morimoto, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* **83** (1961) 4528-4532.
- [203] M. B. Čelap, S. R. Niketić, T. J. Janjić, V. N. Nikolić, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 2063-2065.
- [204] D. H. Busch, J. C. Bailar Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **75** (1953) 4574-4575.
- [205] M. L. Morris, D. H. Busch, *J. Am. Chem. Soc.* **78** (1956) 5178-5181.
- [206] K. Nakamoto, *Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, Wiley, New York, (1963).

- [207] Докторска дисертација Милош И. Ђуран "Циркуларни дихроизам родијум(III)-комплекса едта-типа", Крагујевац (1985).
- [208] Докторска дисертација Миорад М. Васојевић "Структура родијум(III) комплекса са неким аминополикарбоксилатним лигандима", Крагујевац (2005).
- [209] R. A. D. Wentworth, T. S. Piper, *Inorg. Chem.* **4** (1965) 709-714.
- [210] D. J. Radanović, *Coord. Chem. Rev.* **54** (1984) 159-261.
- [211] B. E. Douglas, D. J. Radanović, *Coord. Chem. Rev.* **128** (1993) 139-165.
- [212] A. E. Martell, R. M. Smith, *Critical Stability Constants*, vol. 1-4, Plenum Press, New York (1974).
- [213] A. Forgács, G. B. Giovenzana, M. Botta, E. Brücher, I. Tóth, Z. Baranyai, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2012) 2074-2086.
- [214] É.A. Enyedy, O. Dömötör, C. M. Hackl, A. Roller, M. S. Novak, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, W. Kandioller, *J. Coord. Chem.* **68(9)** (2015) 1583-1601.
- [215] O. Dömötör, S. Aicher, M. Schmidlehner, M. S. Novak, A. Roller, M. A. Jakupec, W. Kandioller, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, É. A. Enyedy, *J. Inorg. Biochem.* **134** (2014) 57-65.
- [216] S. I. Bezzubov, V. D. Dolzhenko, Yu. M. Kiselev, *Zh. Anal. Khim.* **67(2)** (2012) 176-179.
- [217] L. Galluzzi, M. C. Maiuri, I. Vitale, H. Zischka, M. Castedo, L. Zitvogel, G. Kroemer, *Cell Death Differ.* **14** (2007) 1237-1243.
- [218] G. Kroemer, L. Galluzzi, P. Vandenabeele, J. Abrams, E. S. Alnemri, E. H. Baehrecke, M. V. Blagosklonny, W. S. El-Deiry, P. Golstein, D. R. Green, M. Hengartner, R. A. Knight, S. Kumar, S. A. Lipton, W. Malorni, G. Nuñez, M. E. Peter, J. Tschopp, J. Yuan, M. Piacentini, B. Zhivotovsky, G. Melino, *Cell Death Differ.* **16** (2009) 3-11.
- [219] D. A. Nelson, E. White, *Genes & Dev.* **18** (2004) 1223-1226.
- [220] M. Leist, M. Jäättelä, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2** (2001) 589-598.
- [221] G. Kroemer, W. S. El-Deiry, P. Golstein, M. E. Peter, D. Vaux, P. Vandenabeele, B. Zhivotovsky, M. V. Blagosklonny, W. Malorni, R. A. Knight, M. Piacentini, S. Nagata, G. Melino, *Cell Death Differ.* **12** (2005) 1463-1467.
- [222] S. Kumar, *Cell Death Differ.* **14** (2007) 32-43.
- [223] M. Vogler, D. Dinsdale, M. J. S. Dyer, G. M. Cohen, *Cell Death Differ.* **16** (2009) 360-367.

- [224] C. Adrain, S. J. Martin, *Sci. Signal.* **2** (2009) Article No. pe62.
- [225] S. E. Logue, S. J. Martin, *Biochem. Soc. Trans.* **36** (2008) 1-9.
- [226] R. Kim, M. Emi, K. Tanabe, Y. Uchida, K. Arihiro, *Eur. J. Surg. Oncol.* **32** (2006) 269-277.
- [227] G. Koopman, C. P. Reutelingsperger, G. A. Kuijten, R. M. Keehnen, S. T. Pals, M. H. van Oers, *Blood* **84** (1994) 1415-1420.
- [228] H. Lecoœur, M. C. Prévost, M. L. Gougeon, *Cytometry* **44** (2001) 65-72.
- [229] G. Sava, S. Pacor, A. Bergamo, M. Cocchietto, G. Mestroni, E. Alessio, *Chem. Biol. Interact.* **95** (1995) 109-126.
- [230] L. Galluzzi, I. Vitale, J. M. Abrams, E. S. Alnemri, E. H. Baehrecke, M. V. Blagosklonny, T. M. Dawson, V. L. Dawson, W. S. El-Deiry, S. Fulda, E. Gottlieb, D. R. Green, M. O. Hengartner, O. Kepp, R. A. Knight, S. Kumar, S. A. Lipton, X. Lu, F. Madeo, W. Malorni, P. Mehlen, G. Nuñez, M. E. Peter, M. Piacentini, D. C. Rubinsztein, Y. Shi, H. -U. Simon, P. Vandenabeele, E. White, J. Yuan, B. Zhivotovsky, G. Melino, G. Kroemer, *Cell Death Differ.* **19** (2012) 107-120.
- [231] S. Fulda, K. M. Debatin, *Oncogene* **25** (2006) 4798-4811.
- [232] F. Weinhold, C. R. Landis, *Valency and Bonding: A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective*, Cambridge University Press (2005).
- [233] K. M. Knudsen Sand, M. Bern, J. Nilsen, H. T. Noordzij, I. Sandlie, J. T. Andersen, *Front. Immunol.* **5** (2015) Article 682.

БИОГРАФИЈА



Марија С. Јермић је рођена 15.09.1984. године у Крагујевцу. Основну школу и средњу медицинску школу са домом ученика "Сестре Нинковић" завршила је у Крагујевцу. На Природно-математички факултет у Крагујевцу, група Хемија, смер заштита животне средине, уписала се школске 2004/2005. године, где је и дипломирала 2010. године са просечном оценом 9,09. Дипломски рад под називом *"Синтеза и карактеризација Ni(II) комплекса са несиметричним пентадентатним 1,3-пропандиамин-N,N,N'-триацетато лигандом"* одбранила је 2010. године код професора др Зорана Матовића са оценом 10. Докторске академске студије, модул Неорганска хемија, уписала је школске 2010/2011. године. Од 1. јануара 2011. године учествује као истраживач-приправник, а од маја 2013. као истраживач-сарадник на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије "Преклиничка испитивања биоактивних супстанци". У периоду од октобра 2013. до априла 2014. боравила је на Универзитету у Хајделбергу у Немачкој у групи професора Петера Комбе.

СПИСАК ОБЈАВЉЕНИХ РАДОВА

1. Списак научних радова из докторске дисертације објављених у часописима са SCI-листе:

1.1 Marija S. Jeremić, Hubert Wadepohl, Vesna V. Kojić, Dimitar S. Jakimov, Ratimir Jelić, Suzana Popović, Zoran D. Matović, Peter Comba, „Synthesis, structural analysis, solution equilibria and biological activity of rhodium(III) complexes with a quinquedentate polyaminopolycarboxylate“, *RSC Advances* **7** (2017) 5282-5296.

DOI: 10.1039/c6ra26199j;

ISSN: 2046-2069

(IF = 2,936 за 2017. годину; 71/171; категорија: **M22**; област: Chemistry, Multidisciplinary).

1.2 Marija S. Jeremić, Marko D. Radovanović, Franco Bisceglie, Vesna V. Kojić, Ratimir Jelić, Zoran D. Matović, „Rhodium(III) in a cage of the 1,3-propanediamine-*N,N,N'*-triacetate chelate: X-ray structure, solution equilibria, computational study and biological behavior“ *Polyhedron* **156** (2018) 19-30.

DOI: 10.1016/j.poly.2018.08.075;

ISSN: 0277-5387

(IF = 2,067 за 2017. годину; 18/45; категорија: **M22**; област: Chemistry, Inorganic & Nuclear).

1.3 Marija S. Jeremić, Marko D. Radovanović, Frank W. Heinemann, Miorad M. Vasojević, Zoran D. Matović, „Structural and theoretical investigations of the Rh(III) and Co(III) complexes containing symmetrical edta-type ligands with mixed carboxylate and diamine rings: Quantum-mechanical/NBO insight into stability of geometrical isomers“, *Polyhedron* **169** (2019) 89-101.

DOI: 10.1016/j.poly.2019.04.053;

ISSN: 0277-5387

(IF = 2,067 за 2017. годину; 18/45; категорија: **M22**; област: Chemistry, Inorganic & Nuclear).

2. Списак саопштења на националним (M64) конференцијама објављени у оквиру ове докторске дисертације:

2.1. Marija S. Jeremić, Peter Comba, Hubert Wadepohl, “Synthesis and crystal structure of *cis*-equatorial-sodium (ethylenediamine-*N,N,N'*-triacetato)chloridorhodate(III) monohydrate, Na[RhCl(ed3a)]·H₂O”, *XXI Конференција СКД - 21st CONFERENCE OF THE SERBIAN CRYSTALLOGRAPHIC SOCIETY, 2014. Užice, Serbia*, p76-77.

2.2. Marija Jeremić, Zoran Matović, Emina Mrkalić, Peter Comba, Hubert Wadepohl, “Synthesis and crystal structure of *cis*-equatorial-aquaethylenediamine-N,N,N'-triacetatorhodium(III) monohydrate, [Rh(ed3a)H₂O]xH₂O”, *XXII Konferencija SKD - 22nd CONFERENCE OF THE SERBIAN CRYSTALLOGRAPHIC SOCIETY, 2015. Smederevo, Serbia*, p52-53.

3. Spisak ostalih radova objavljenih u međunarodnim časopisima sa SCI-liste:

3.1. Zoran D. Matović, Marija S. Jeremić, Ratomir M. Jelić, Matija Zlatar, Ivan Ž. Jakovljević “Configurational, LFDFT and NBO analysis of chromium(III) complexes of edta-type ligands” *Polyhedron* **55** (2013) 131-143.

DOI: 10.1016/j.poly.2013.02.079;

ISSN: 0277-5387

(IF = 2,047 za 2013. godinu; 19/45; kategorija: **M22**; oblast: Chemistry, Inorganic & Nuclear).

3.2. Svetlana Belošević, Miorad M. Vasojević, Marija S. Jeremić, Auke Meetsma, Zoran D. Matović, “Preparation, configurational and DFT-NBO analysis of nickel(II) complexes with edta-type ligands containing six-membered backbone ring: Crystal structure of [Ni(H₂O)₆][Ni(1,3-pdta)]·2H₂O” *Journal of Coordination Chemistry* **66** (2013) 1730-1745.

DOI: 10.1080/00958972.2013.789104;

ISSN: 0095-8972

(IF = 2,212 za 2013. godinu; 15/45; kategorija: **M22**; oblast: Chemistry, Inorganic & Nuclear).

3.3. Maja Djukić, Marija S. Jeremić, Ratomir Jelić, Olivera Klisurić, Vesna Kojić, Dimitar Jakimov, Predrag Djurdjević, Zoran D. Matović “Further insights into ruthenium(II) piano-stool complexes with *N*-alkyl imidazoles”, *Inorganica Chimica Acta* **483** (2018) 359-370.

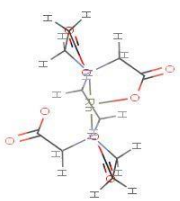
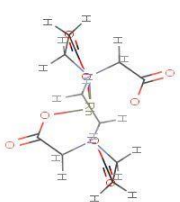
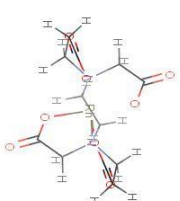
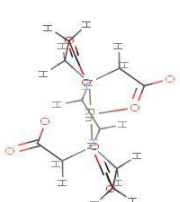
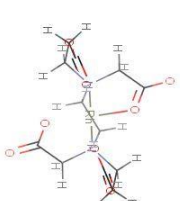
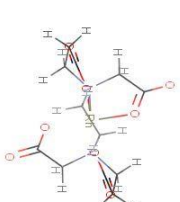
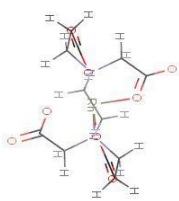
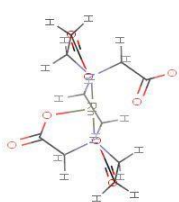
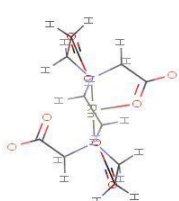
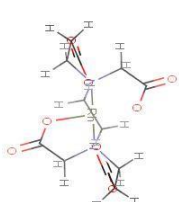
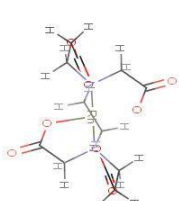
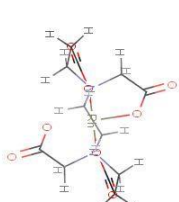
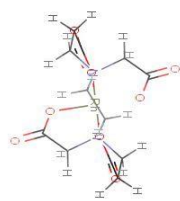
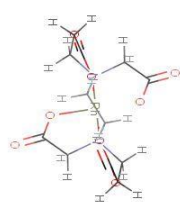
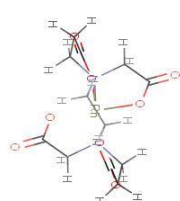
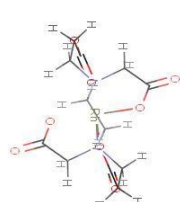
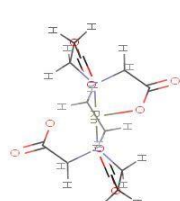
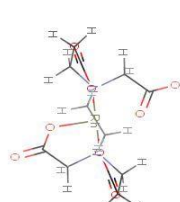
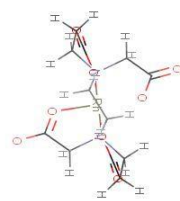
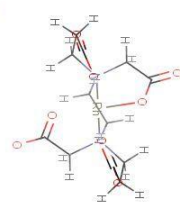
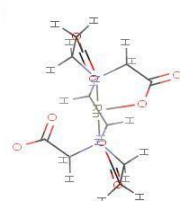
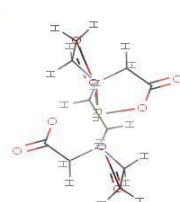
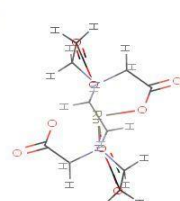

DOI: 10.1016/j.ica.2018.08.031;

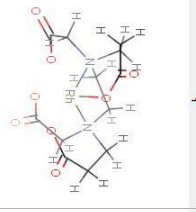
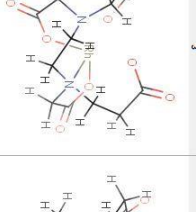
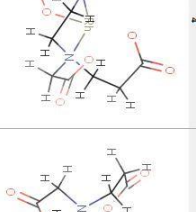
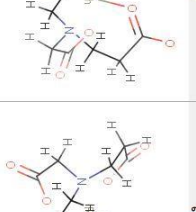
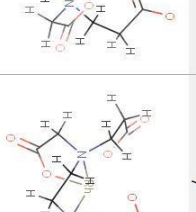
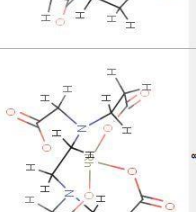
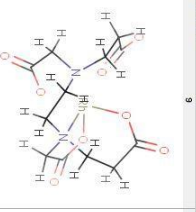
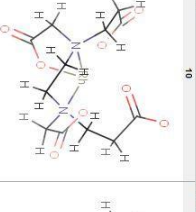
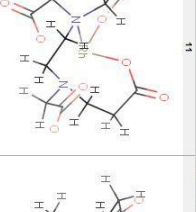
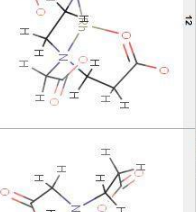
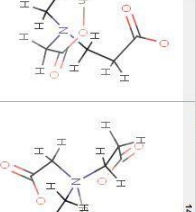
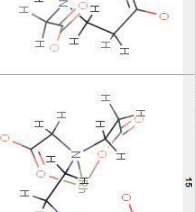
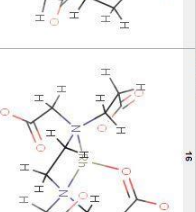
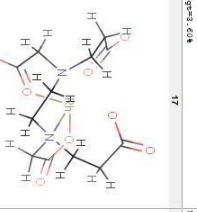
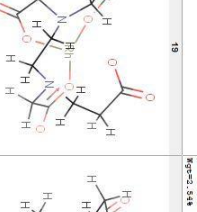
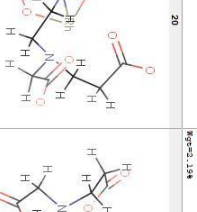
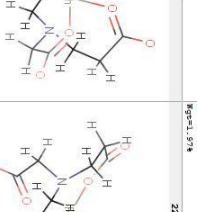
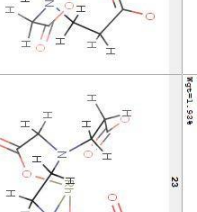
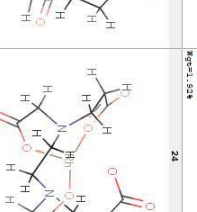
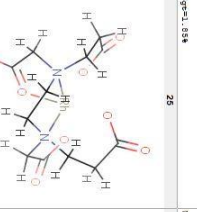
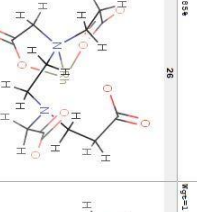
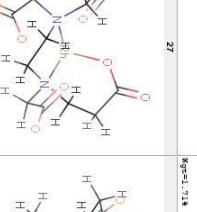
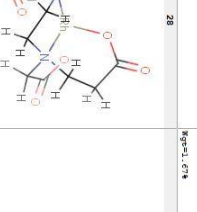
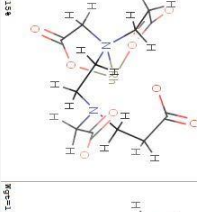
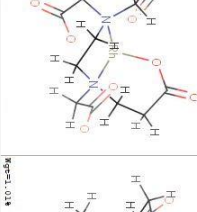
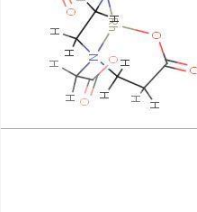
ISSN: 0020-1693

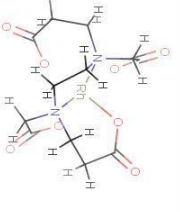
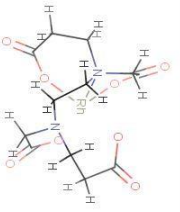

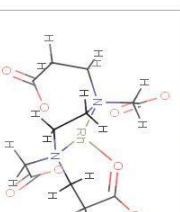
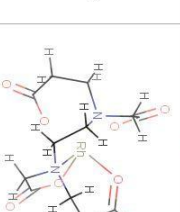
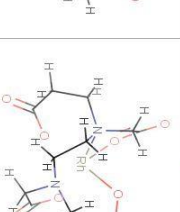
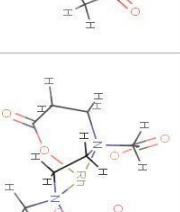
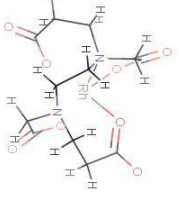


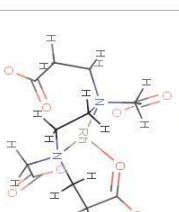
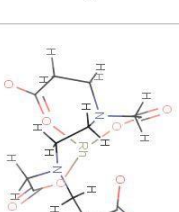

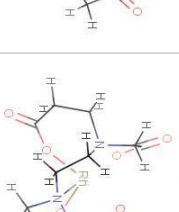
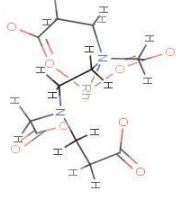

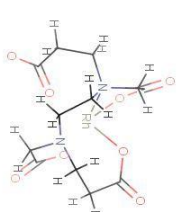
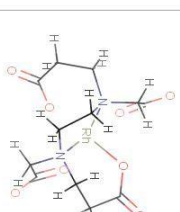

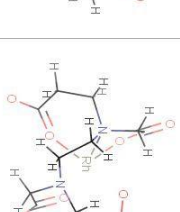
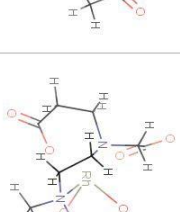

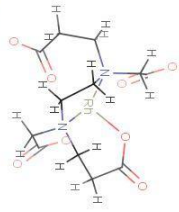
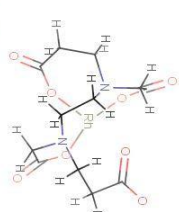
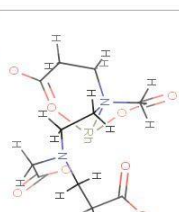
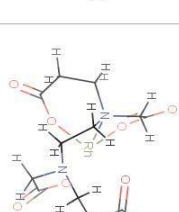
(IF = 2,264 za 2017. godinu; 16/45; kategorija: **M22**; oblast: Chemistry, Inorganic & Nuclear).

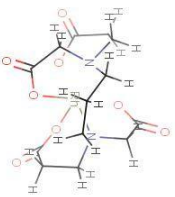
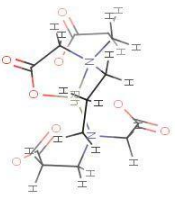
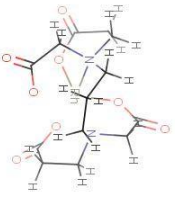
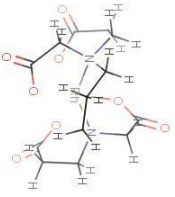
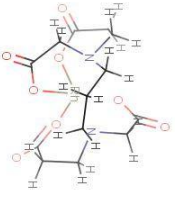
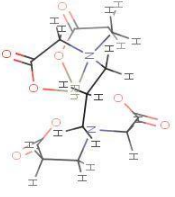
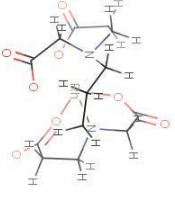
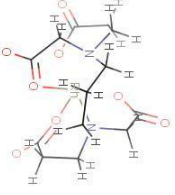
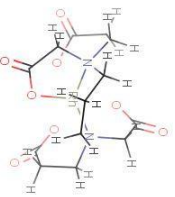
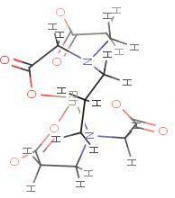
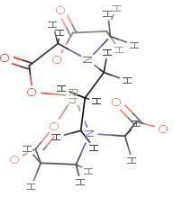
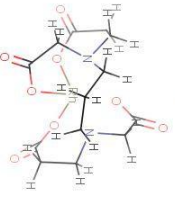
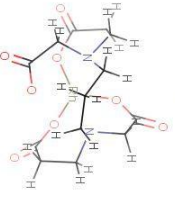
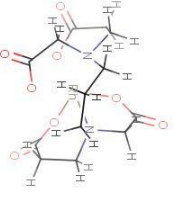
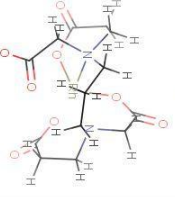
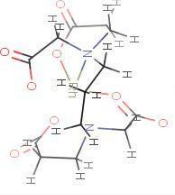
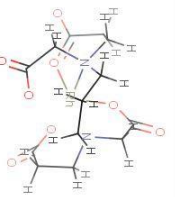
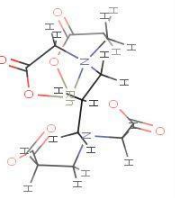
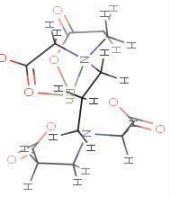
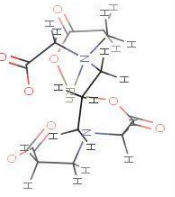
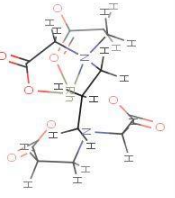
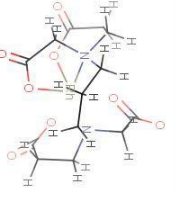
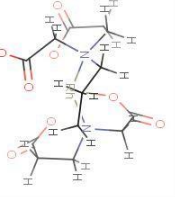
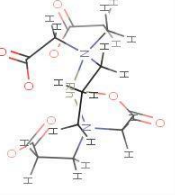
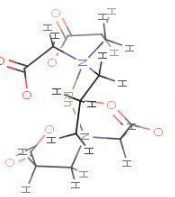
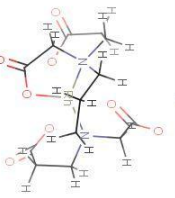
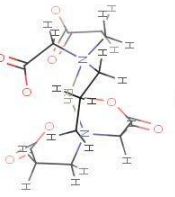
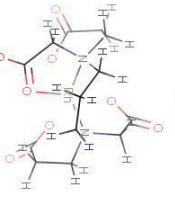
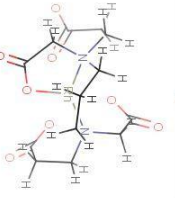




4. Spisak ostalih saopšteња na međunarodnim (M34) konferencijama štampanim u izvodu:

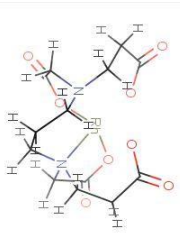
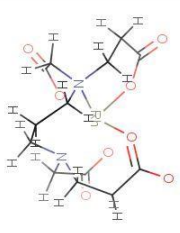
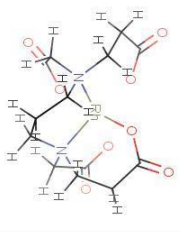
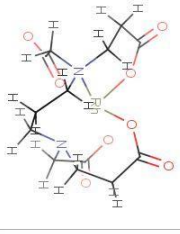
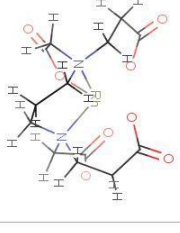
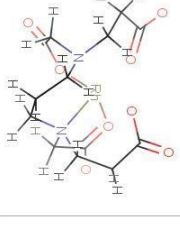
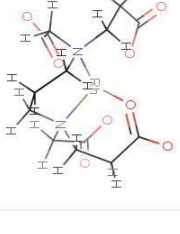
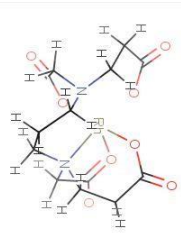
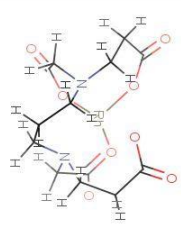
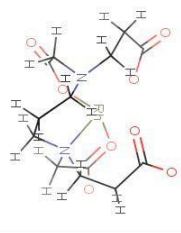
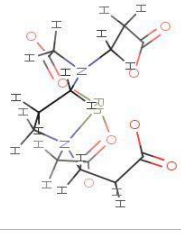
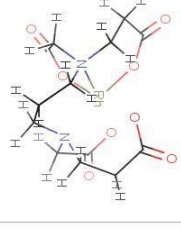
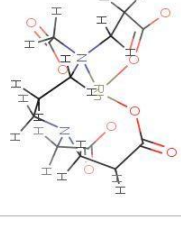
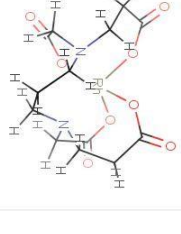
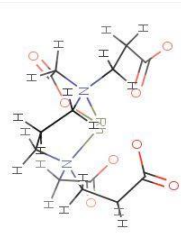
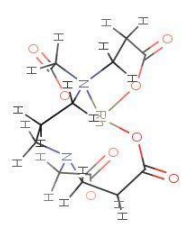
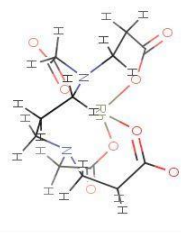
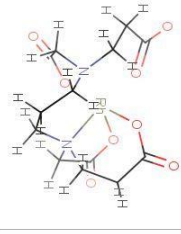
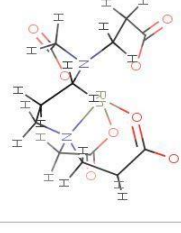
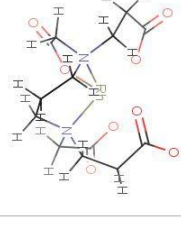
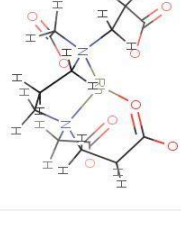
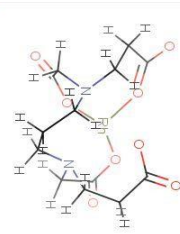
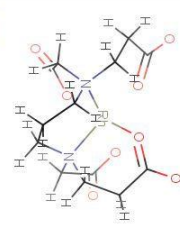
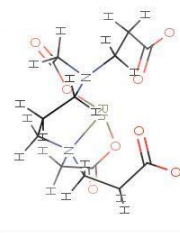
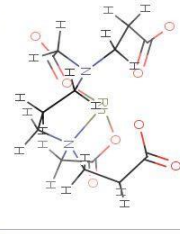
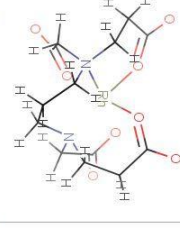
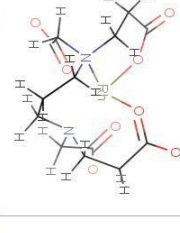
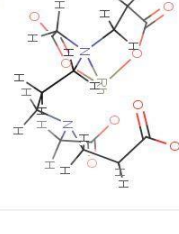
4.1. Marina Ćendić, Maja B. Đukić, Emina M. Mrkalić, Marija S. Jeremić, Zoran D. Matović, “Upravljanje komunalnim i industrijskim otpadom na teritoriji grada Kragujevca“ THE 6TH SYMPOSIUM CHEMISTRY AND ENVIRONMENTAL PROTECTION – ENVIROCHEM 2013 Vršac, Serbia, p154-155.

 1 Rf=0.12, 0.24	 2 Rf=0.4, 0.44	 3 Rf=0.4, 0.54	 4 Rf=0.4, 0.24	 5 Rf=0.4, 0.24	 6 Rf=0.4, 0.24
 7 Rf=0.12, 0.24	 8 Rf=0.4, 0.44	 9 Rf=0.4, 0.54	 10 Rf=0.4, 0.24	 11 Rf=0.4, 0.24	 12 Rf=0.4, 0.24
 13 Rf=0.4, 0.44	 14 Rf=0.4, 0.44	 15 Rf=0.4, 0.24	 16 Rf=0.4, 0.44	 17 Rf=0.4, 0.24	 18 Rf=0.4, 0.24
 19 Rf=0.4, 0.54	 20 Rf=0.4, 0.54	 21 Rf=0.4, 0.74	 22 Rf=0.4, 0.24	 23 Rf=0.4, 0.54	 24 Rf=0.4, 0.24

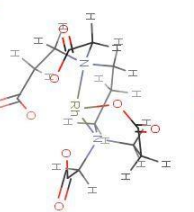
1	2	3	4	5	6	7	8
 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_634	 KqpsL_604	 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_634	 KqpsL_674
9	10	11	12	13	14	15	16
 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_614	 KqpsL_604	 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_634	 KqpsL_674
17	18	19	20	21	22	23	24
 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_614	 KqpsL_614	 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_614	 KqpsL_674
25	26	27	28				
 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_614	 KqpsL_614				
29	30	31	32	33	34	35	36
 KqpsL_614	 KqpsL_624	 KqpsL_614	 KqpsL_614				

 Kqsm12_0794	 Kqsm10_0794	 Kqsm1_0544	 Kqsm1_7234	 Kqsm1_0334	 Kqsm1_7234	 Kqsm1_0794
 Kqsm12_0794	 Kqsm10_0794	 Kqsm1_0544	 Kqsm1_7234	 Kqsm1_0334	 Kqsm1_0334	 Kqsm1_0794
 Kqsm1_0544	 Kqsm1_0544	 Kqsm1_0794	 Kqsm1_0544	 Kqsm1_7234	 Kqsm1_7234	 Kqsm1_0544
 Kqsm1_0544	 Kqsm1_0544	 Kqsm1_0544	 Kqsm1_0544	 Kqsm1_0544		

1	2	3	4	5	6	7	8
 Kgpw1_014	 Kgpw1_714	 Kgpw1_024	 Kgpw1_034	 Kgpw1_044	 Kgpw1_214	 Kgpw1_054	 Kgpw1_244
9	10	11	12	13	14	15	16
 Kgpw1_014	 Kgpw1_714	 Kgpw1_024	 Kgpw1_034	 Kgpw1_044	 Kgpw1_214	 Kgpw1_054	 Kgpw1_024
17	18	19	20	21	22	23	24
 Kgpw1_014	 Kgpw1_214	 Kgpw1_014	 Kgpw1_014	 Kgpw1_714	 Kgpw1_214	 Kgpw1_184	 Kgpw1_244
25	26	27	28	29			
 Kgpw1_044	 Kgpw1_034	 Kgpw1_014	 Kgpw1_714	 Kgpw1_714			
31	32	33	34	35			
 Kgpw1_134	 Kgpw1_114	 Kgpw1_054	 Kgpw1_074	 Kgpw1_034			

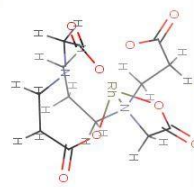
 1	 2	 3	 4	 5	 6	 7
 8	 9	 10	 11	 12	 13	 14
 15	 16	 17	 18	 19	 20	 21
 22	 23	 24	 25	 26	 27	 28

1



Reps=10, 77%

2



Reps=10, 58%

3



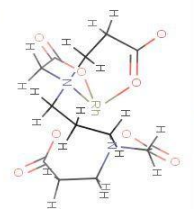
Reps=10, 42%

4



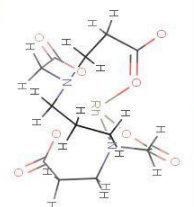
Reps=10, 32%

5



Reps=10, 22%

6



Reps=10, 58%

7



Reps=10, 17%

8



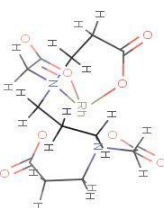
Reps=10, 59%

9



Reps=10, 56%

10



Reps=10, 14%

11



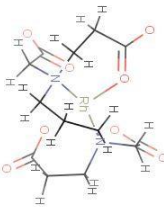
Reps=10, 20%

12



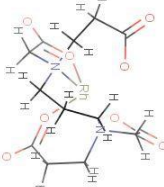
Reps=10, 76%

13



Reps=10, 64%

14



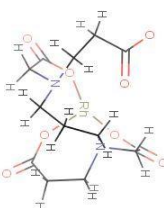
Reps=10, 56%

15



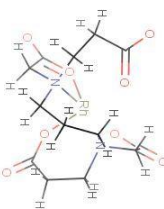
Reps=10, 55%

16



Reps=10, 30%

17



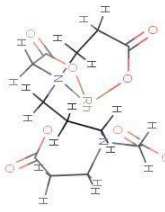
Reps=10, 26%

18



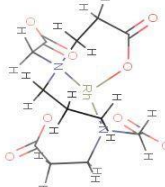
Reps=10, 15%

19



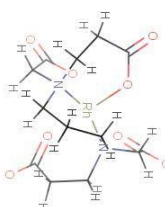
Reps=10, 10%

20



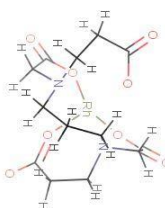
Reps=10, 63%

21



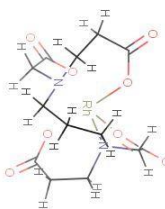
Reps=10, 71%

22



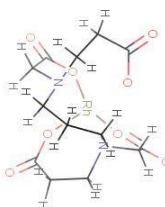
Reps=10, 51%

23



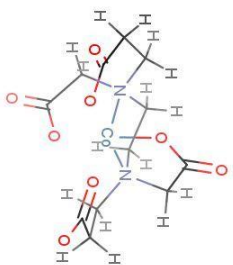
Reps=10, 51%

24



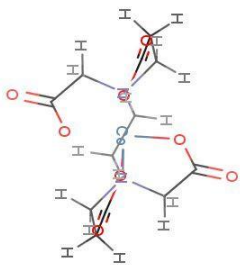
Reps=10, 45%

1



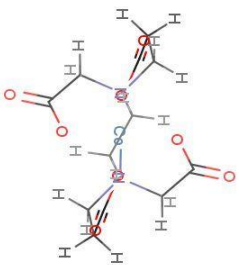
Page=16, 424

7



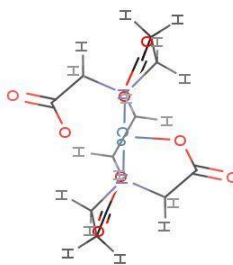
Page=16, 424

13



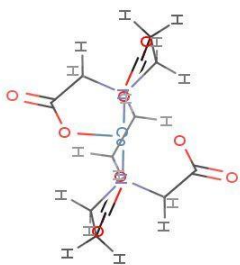
Page=1, 274

2



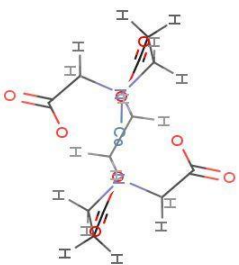
Page=16, 474

8



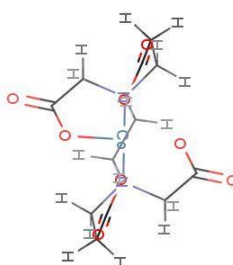
Page=16, 474

14



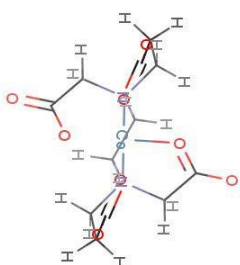
Page=1, 284

3



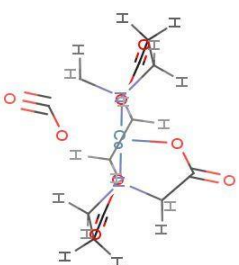
Page=16, 424

9



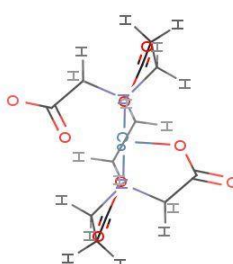
Page=16, 424

15



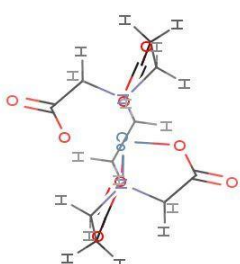
Page=1, 254

4



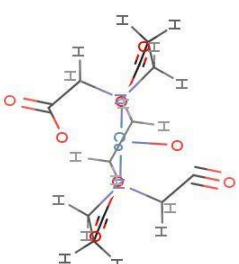
Page=17, 114

10



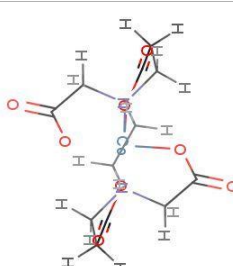
Page=16, 114

16



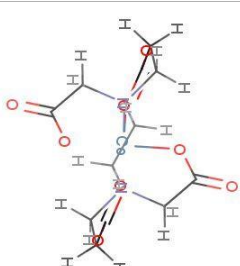
Page=1, 284

5



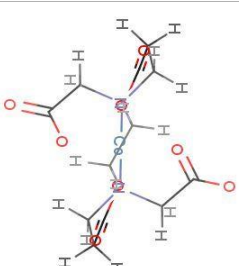
Page=16, 424

11



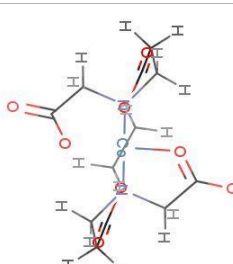
Page=16, 424

17



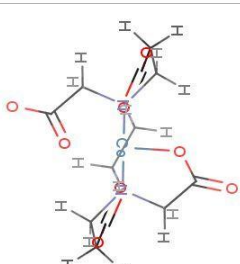
Page=1, 254

6



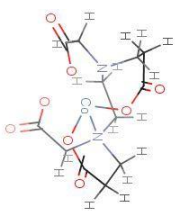
Page=16, 424

12

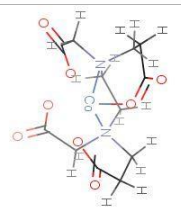


Page=16, 424

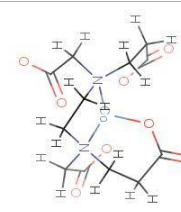
1



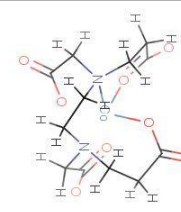
2



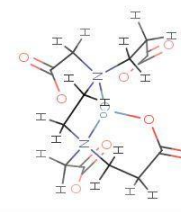
3



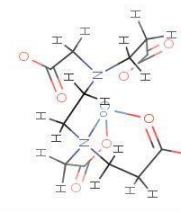
4



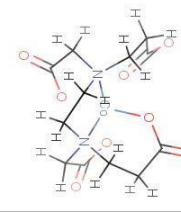
5



6



7



8

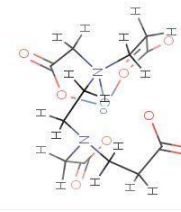


Figure 1, 274

9



Figure 1, 284

10

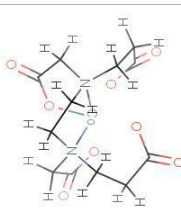


Figure 1, 294

11

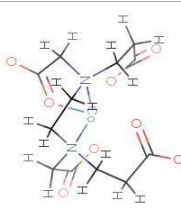


Figure 1, 304

12

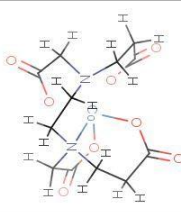


Figure 1, 314

13

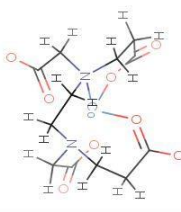


Figure 1, 324

14

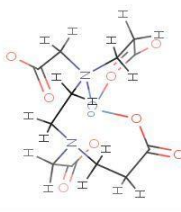


Figure 1, 334

15

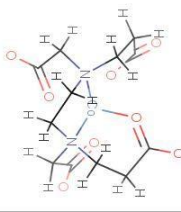


Figure 1, 344

16

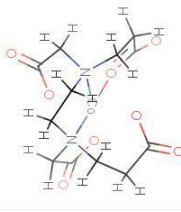


Figure 1, 354

17

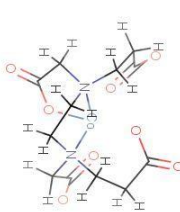


Figure 1, 364

18

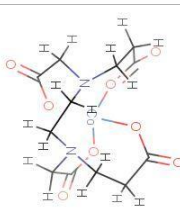


Figure 1, 374

19



Figure 1, 384

20

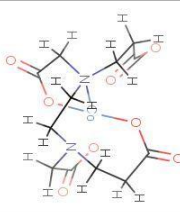


Figure 1, 394

21

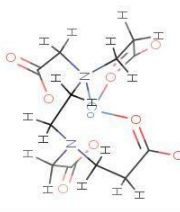


Figure 1, 404

22

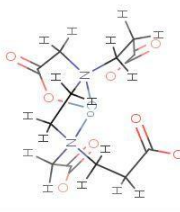


Figure 1, 414

23

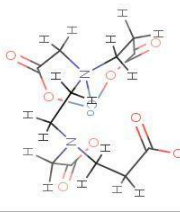


Figure 1, 424

24

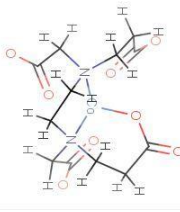


Figure 1, 434

25

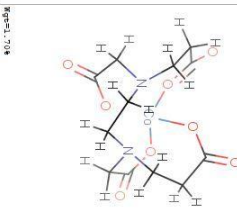


Figure 1, 444

26

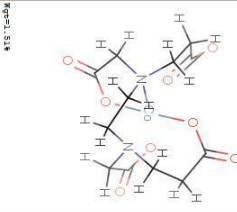


Figure 1, 454

27

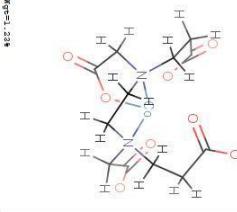
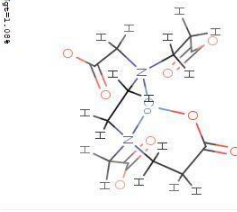

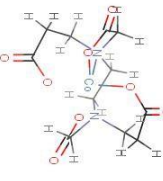
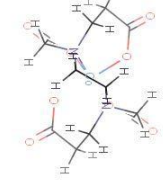

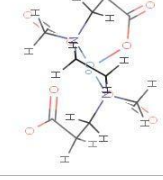

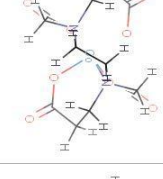
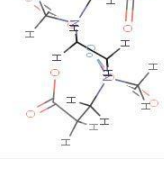
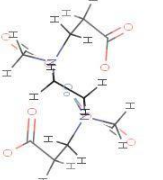
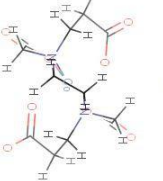
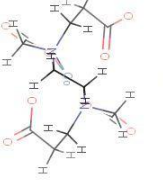

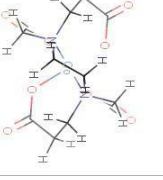
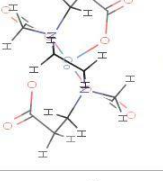
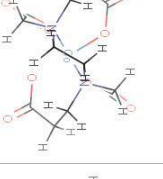
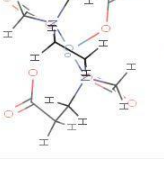
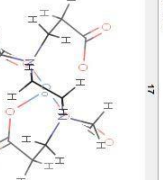
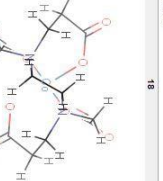
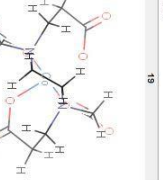
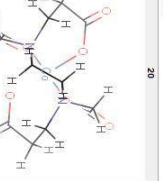
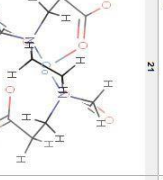
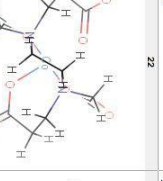
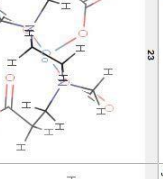
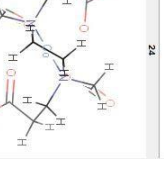
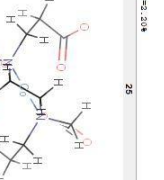
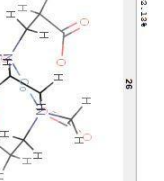
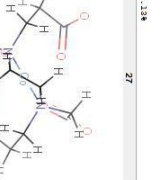
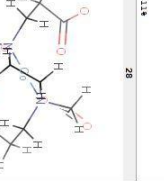
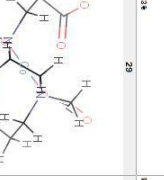
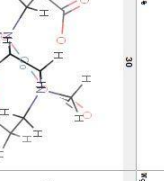
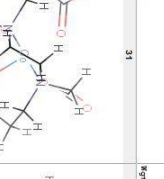
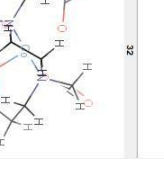

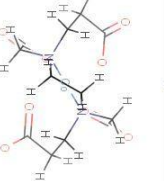
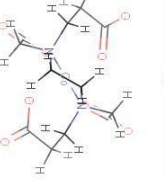


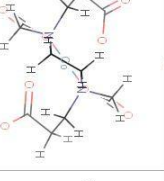
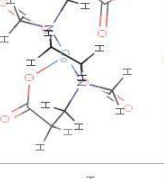
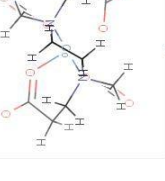
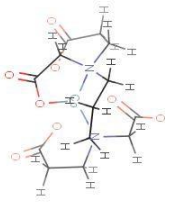
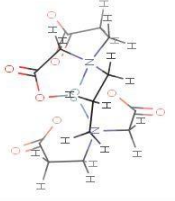
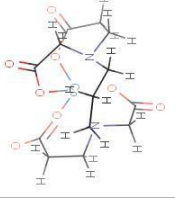
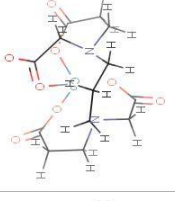
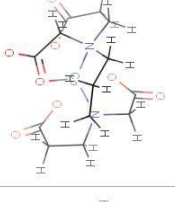
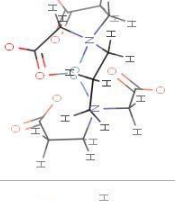
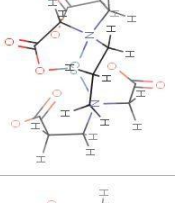
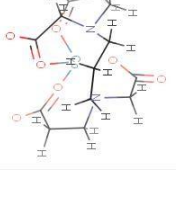
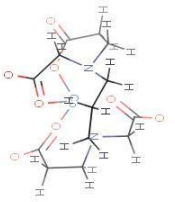
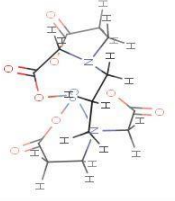
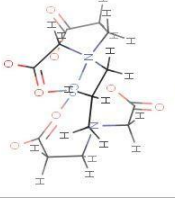
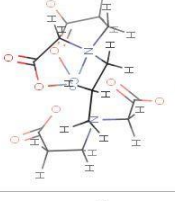
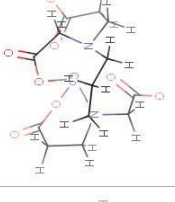
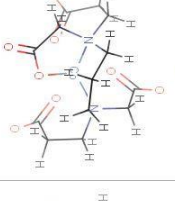
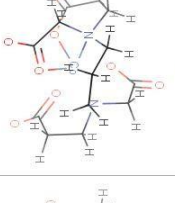
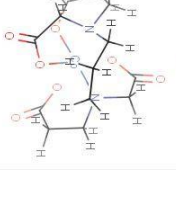
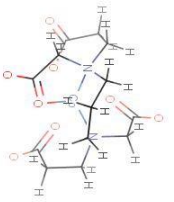
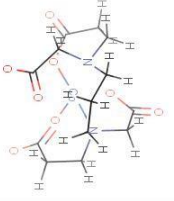
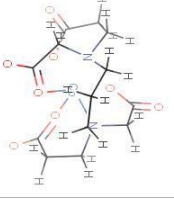
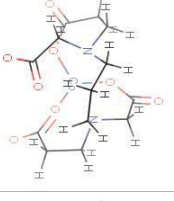
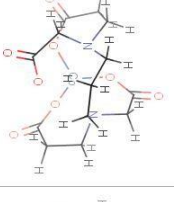
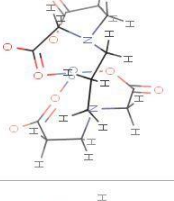
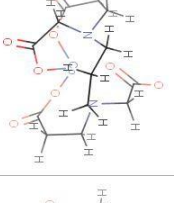
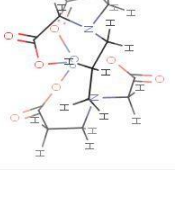
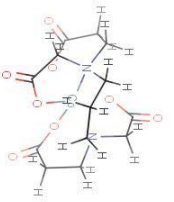
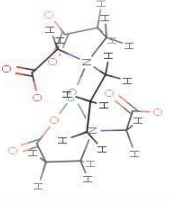
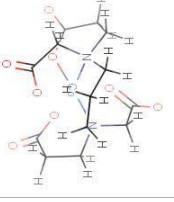
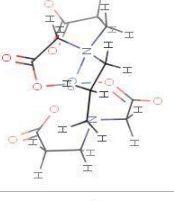
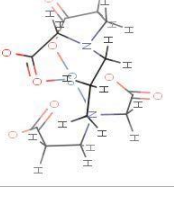
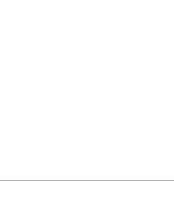
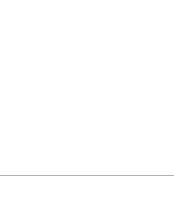
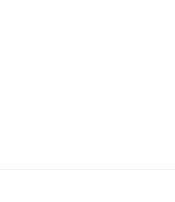


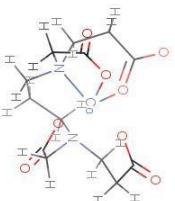
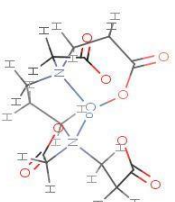
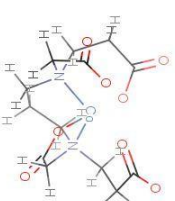
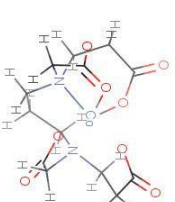
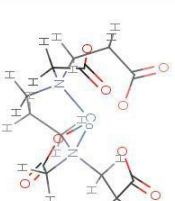
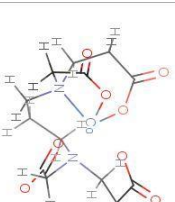
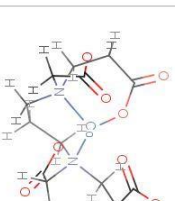
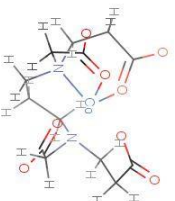
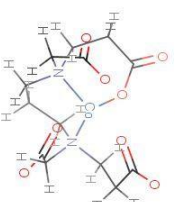
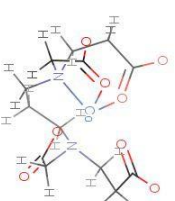
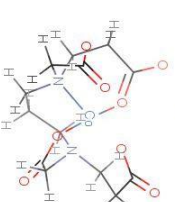
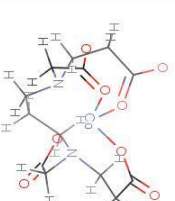
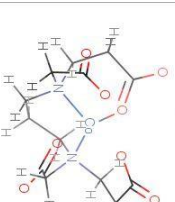
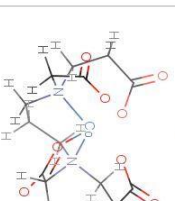
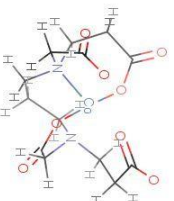
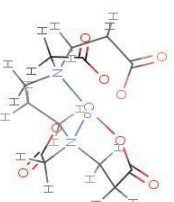
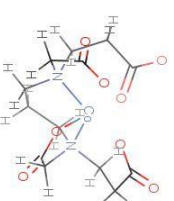
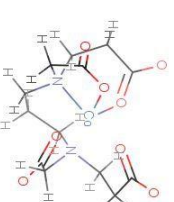
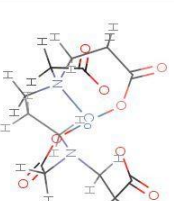
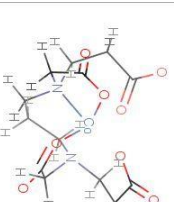
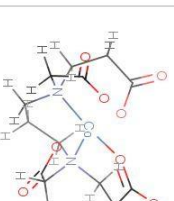
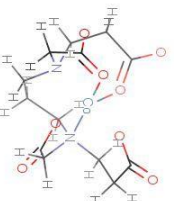
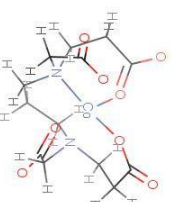
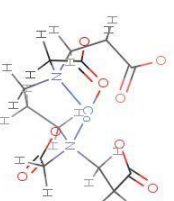
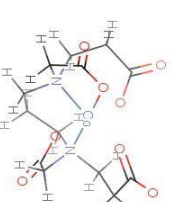
Figure 1, 464

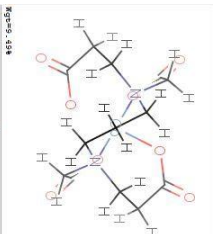
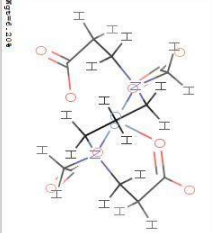
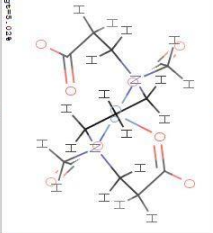
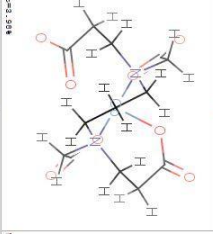
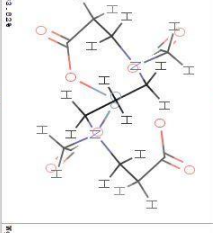
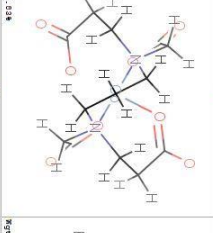
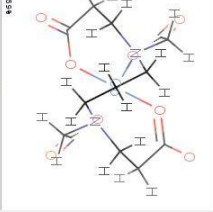
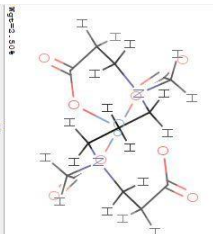
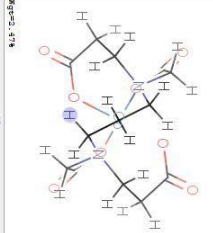
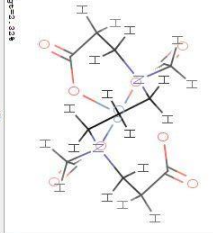
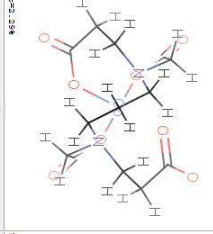
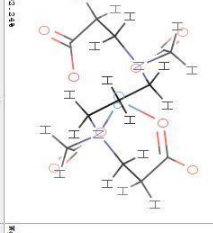
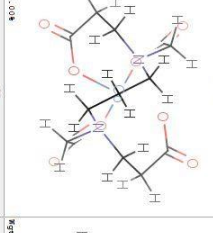
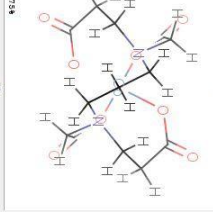
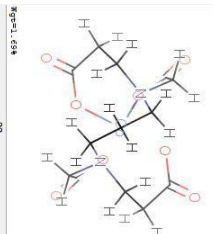
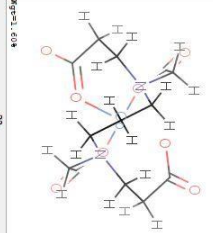
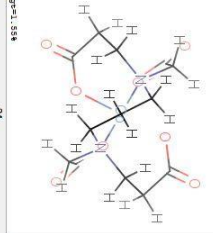
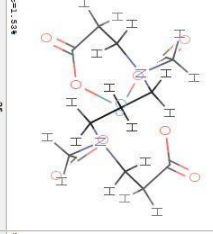
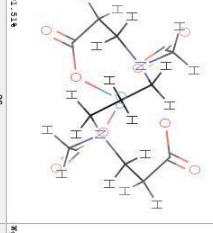
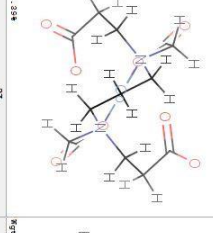
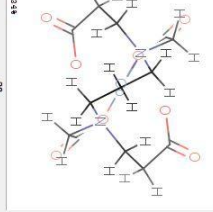
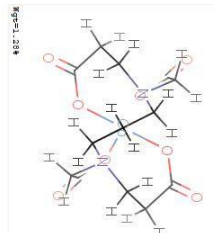
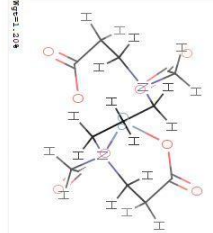
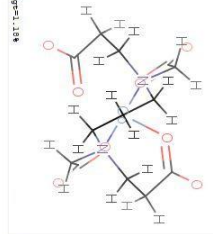
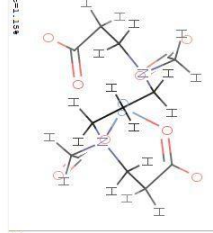
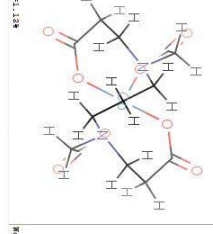
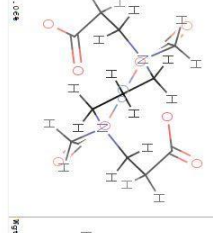
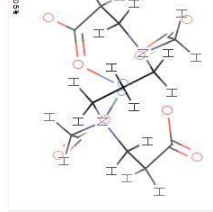
28



 Rg=02_424	 Rg=02_454	 Rg=02_214	 Rg=02_254	 Rg=02_234	 Rg=02_034	 Rg=02_564	 Rg=02_264
 Rg=02_514	 Rg=02_544	 Rg=02_534	 Rg=02_494	 Rg=02_474	 Rg=02_414	 Rg=02_414	 Rg=02_274
 Rg=02_514	 Rg=02_244	 Rg=02_534	 Rg=02_454	 Rg=02_474	 Rg=02_414	 Rg=02_414	 Rg=02_274
 Rg=02_204	 Rg=02_134	 Rg=02_134	 Rg=02_134	 Rg=02_034	 Rg=02_034	 Rg=02_564	 Rg=02_074
 Rg=02_664	 Rg=02_664	 Rg=02_664	 Rg=02_664	 Rg=02_614	 Rg=02_234	 Rg=02_244	 Rg=02_124

 Kqpa-L0_038	 Kqpa-L1_038	 Kqpa-L2_038	 Kqpa-L3_038	 Kqpa-L4_038	 Kqpa-L5_038	 Kqpa-L6_038	 Kqpa-L7_038
 Kqpa-L0_038	 Kqpa-L1_038	 Kqpa-L2_038	 Kqpa-L3_038	 Kqpa-L4_038	 Kqpa-L5_038	 Kqpa-L6_038	 Kqpa-L7_038
 Kqpa-L0_038	 Kqpa-L1_038	 Kqpa-L2_038	 Kqpa-L3_038	 Kqpa-L4_038	 Kqpa-L5_038	 Kqpa-L6_038	 Kqpa-L7_038
 Kqpa-L0_038	 Kqpa-L1_038	 Kqpa-L2_038	 Kqpa-L3_038	 Kqpa-L4_038	 Kqpa-L5_038	 Kqpa-L6_038	 Kqpa-L7_038

 Rg=0.774	 Rg=0.544	 Rg=0.034	 Rg=0.544	 Rg=0.424	 Rg=0.524	 Rg=0.524
 Rg=0.574	 Rg=0.544	 Rg=0.274	 Rg=0.024	 Rg=0.424	 Rg=0.524	 Rg=0.514
 Rg=0.434	 Rg=0.424	 Rg=0.424	 Rg=0.424	 Rg=0.544	 Rg=0.174	 Rg=0.514
 Rg=0.134	 Rg=0.134	 Rg=0.024	 Rg=0.024			

 8 Rg=1.654	 9 Rg=1.209	 10 Rg=1.024	 11 Rg=1.354	 12 Rg=1.324	 13 Rg=1.024	 14 Rg=1.354
 15 Rg=1.504	 16 Rg=1.474	 17 Rg=1.224	 18 Rg=1.254	 19 Rg=1.244	 20 Rg=1.024	 21 Rg=1.754
 22 Rg=1.654	 23 Rg=1.604	 24 Rg=1.554	 25 Rg=1.554	 26 Rg=1.514	 27 Rg=1.524	 28 Rg=1.544
 29 Rg=1.254	 30 Rg=1.204	 31 Rg=1.124	 32 Rg=1.124	 33 Rg=1.134	 34 Rg=1.054	 35 Rg=1.054

PAPER

Cite this: *RSC Adv.*, 2017, 7, 5282

Synthesis, structural analysis, solution equilibria and biological activity of rhodium(III) complexes with a quinquedentate polyaminopolycarboxylate†

 Marija S. Jeremić,^a Hubert Wadepohl,^b Vesna V. Kojić,^c Dimitar S. Jakimov,^c Ratomir Jelić,^d Suzana Popović,^d Zoran D. Matović^{*a} and Peter Comba^{*b}

Two rhodium(III) complexes [Rh(ed3a)(OH₂)]·H₂O (1) and Na[Rh(ed3a)Cl]·H₂O (2) with ethylenediamine-*N,N,N'*-triacetate (ed3a) have been synthesized and characterized by elemental, spectroscopic and structural analyses. The crystal structure of (1) and (2) and the spectroscopic analysis of the two rhodium(III)–ed3a complexes are discussed in detail. The protonation constants of H₃ed3a and the conditional stability constants of its Rh^{III} complexes have been determined in aqueous solution by pH potentiometry and UV-Vis spectrophotometry. Molecular mechanics (MM) and density functional theory (DFT) have been used to model all possible geometric isomers, determine the global energy minimum and compare the computed with the experimentally observed structures. The cytotoxic activity of the new Rh^{III} complexes was evaluated by an MTT assay against four human cancer lines (MCF-7, A549, HT-29 and HeLa) and a normal human cell line (MRC-5). A549, HT-29 and HeLa cells were sensitive to all compounds tested, while the breast carcinoma cell line MCF-7 was only sensitive to the reference compounds (doxorubicin and cisplatin). Western blot (WB) analysis of the effects of the tested compounds indicates that both complexes increase the expression of caspase 3 and consequently the involvement of this enzyme in apoptotic processes of the treated cells. WB also demonstrates proteolytic cleavage of poly-(ADP-ribose) polymerase (PARP) in HeLa cells after treatment with both tested substances. Flow cytometry confirmed apoptotic cell death and showed the induction of cell cycle termination as a possible promoter of apoptosis.

 Received 2nd November 2016
 Accepted 23rd December 2016

DOI: 10.1039/c6ra26199j

www.rsc.org/advances

Introduction

For a multitude of reasons, transition metal complexes with edta-type aminopolycarboxylate ligands have attracted considerable attention and have been extensively investigated and reviewed.^{1,2} The best studied quinquedentate ligand system is ethylenediamine-*N,N,N'*-triacetate (ed3a) and its derivatives. For octahedral metal complexes with pentadentate coordinated symmetrical edta- (ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetate) or ed3a-type ligands three possible geometric isomers, *cis*-equatorial, *trans*-equatorial and *cis*-polar are possible

(Fig. 1). Most of the reported [M(ed3a-type)X] complexes (M = Co^{III}, Cr^{III}, Cu^{II}, Ni^{II} and X = monodentate ligand) have the *cis*-equatorial configuration.^{3–5}

The success of cisplatin as antitumor agent has stimulated enormous efforts to designing and preparing other clinically useful metal complexes.^{6–10} Rh^{III} coordination compounds are isoelectronic with Ru^{II} and Pt^{IV} complexes, which provide a range of active antitumor agents.^{11,12} Generally, they are octahedral and inert but many Rh^{III} complexes show considerable antitumor and antimicrobial activities.^{11,12} The first report of an antitumor active Rh^{III} complex, RhCl₃·3H₂O,¹³ appeared before Rosenberg's discovery of cisplatin.^{6,7} Simple complexes

^aUniversity of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia. E-mail: zmatovic@kg.ac.rs

^bUniversität Heidelberg, Anorganisch-Chemisches Institut and Interdisciplinary Center for Scientific Computing (IWR), Im Neuenheimer Feld 270, D-69120, Heidelberg, Germany. E-mail: Peter.Comba@aci.uni-heidelberg.de

^cOncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Dr Goldmana 4, 21204 Sremska Kamenica, Serbia

^dUniversity of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, S. Markovića 69, 34000 Kragujevac, Serbia

† Electronic supplementary information (ESI) available: Further solution study details, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR data. CCDC 1412103 and 1412104 for the new compounds are included. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c6ra26199j

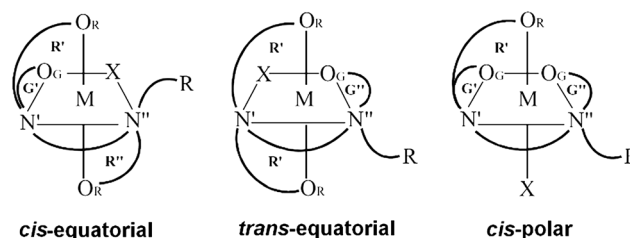
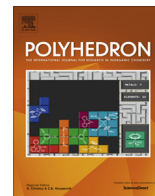


Fig. 1 Geometrical isomerism of six-coordinate [M(ed3a-type)X]_n complexes: n = 1.



Rhodium(III) in a cage of the 1,3-propanediamine-*N,N,N'*-triacetate chelate: X-ray structure, solution equilibria, computational study and biological behavior

Marija S. Jeremić^a, Marko D. Radovanović^a, Franco Bisceglie^b, Vesna V. Kojić^c, Ratimir Jelić^d, Zoran D. Matović^{a,*}

^a University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

^b Department of Chemistry, Life Sciences and Environmental Sustainability, University of Parma, Parco Area delle Scienze 17A, 43124 Parma, Italy

^c Oncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Put Doktora Goldmana 4, 21204 Sremska Kamenica, Serbia

^d University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Pharmacy, Svetozara Markovića 69, 34000 Kragujevac, Serbia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 June 2018

Accepted 31 August 2018

Available online 13 September 2018

Keywords:

Rhodium(III) complexes

Aminopolycarboxylates

Stability constants

Docking

Antiproliferation

ABSTRACT

Two new octahedral Rh(III) complexes that are potential chemotherapeutic agents have been synthesized from the 1,3-propanediamine-*N,N,N'*-triacetate ligand (1,3-pd3a): [Rh(1,3-pd3a)(H₂O)]·2H₂O (**1**) and Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H₂O (**2**). Both complexes were characterized by IR, UV–Vis and NMR spectroscopy, as well as elemental analysis. Only the structure of **2** was determined by a single crystal X-ray diffraction study. The asymmetric unit contains the negatively charged rhodium complex, a sodium ion and two water molecules. The positions of the carboxylate groups define the *cis*-polar geometry. DFT calculations on **1** and **2** have also been done to confirm experimental results. In order to determine the protonation constants of 1,3-H₃pd3a, stability constants and the stoichiometry of the complexes in aqueous solution, pH-potentiometry and UV–Vis spectrophotometry were used. Docking of **1** to human serum albumin (HSA) gives the reasonable assumption that this complex can be easily transported to the target cells. The complexes, as well as the 1,3-pd3a and ed3a ligands, were tested against various cancer and one normal human cell lines. Complex **2** and both ligands display significant cytotoxicity against the HeLa cancer cell line, while **1** shows good antitumor activity against MCF-7. Flow cytometry analysis showed the apoptotic death of the cells with cell cycle arrest in the G₂/M phase (Na[Rh(1,3-pd3a)Cl]·2H₂O) and G₀/G₁ phase (1,3-pd3a).

© 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

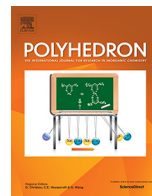
The sensational success of cisplatin in the treatment of cancer has prompted the design and production of many clinically useful metal complexes [1–4]. Cisplatin, as well as a series of platinum-based drugs (oxaliplatin, carboplatin) continue to be used to treat various malignancies, such as ovarian, bladder, lung, testicular, head and neck cancers [5,6]. However, the undesirable effect of these drugs, such as neurotoxicity, nephrotoxicity and hepatotoxicity, has become a motivation for continuing the research and synthesis of new drugs that will demonstrate maximum antitumor properties along with minimal undesired effects. As an alternative to platinum-based drugs, other compounds with new mechanisms of action have been synthesized [7]. A large number of non-plat-

inum-based complexes have been investigated in the search for new drugs with improved cytotoxicity: Ru(II) [8], Ru(III) [9], Cu(II) [10], Ni(II) [11], Zn(II) [10,11], Co(III) [12], Pd(II) [13], Rh(III) [14]. Rhodium complexes are recognized as an important alternative to platinum-based complexes. Even the simple rhodium salt RhCl₃·3H₂O [15] showed antitumor activity long before Rosenberg's serendipitous discovery of cisplatin [1]. Nevertheless, the cellular effects of biological active Rh(III) complexes have been systematically investigated only in the last few years. In the past decade, numerous half-sandwich complexes of Rh have been reported with promising results [16], as well as octahedral rhodium complexes [17].

However, there is insufficient data on the antitumor activity of rhodium complexes containing the edta type of ligand (edta = ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetate) [18]. Polyaminopolycarboxylate ligands have long been used in medicine and pharmacology to remove toxic metals from the body

* Corresponding author.

E-mail address: zmatovic@kg.ac.rs (Z.D. Matović).



Structural and theoretical investigations of the Rh(III) and Co(III) complexes containing symmetrical edta-type ligands with mixed carboxylate and diamine rings: Quantum-mechanical/NBO insight into stability of geometrical isomers

Marija S. Jeremić^a, Marko D. Radovanović^a, Frank W. Heinemann^b, Miorad M. Vasojević^a, Zoran D. Matović^{a,*}

^a University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

^b Department of Chemistry and Pharmacy, Inorganic Chemistry, Friedrich-Alexander University Erlangen-Nürnberg (FAU), Egerlandstraße 1, 91058 Erlangen, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 April 2019

Accepted 28 April 2019

Available online 9 May 2019

Keywords:

Rhodium(III)

Polyaminopolycarboxylates

X-ray

DFT

NBO

ABSTRACT

The *trans*(O₅O₆) isomer of the Na[Rh(eddadh)]·4H₂O and the K[Co(eddadh)]·3H₂O (eddadh = ethylenediamine-*N,N'*-diacetate-*N,N'*-di-3-propionate) were synthesized and Na[Rh(eddadh)]·4H₂O structure was confirmed by X-ray diffraction analysis. The percentage of particular isomers found in reaction equilibrium mixtures of [M(eddadh)][−] complex has been reported. Single crystal X-ray diffraction of the complex revealed an octahedral geometry of the Rh(III) centre. Improved structural distortion analysis of M(III) (M = Rh, Co) complexes with symmetric edta-type of ligands containing mixed carboxylate and diamine rings was made. Structural distortion analysis has determined high values of total deviation of the octahedral angles ($\Delta(O_h)$) for both existing *trans*(O₅) (34°) and *trans*(O₅O₆) (41°) isomers of [Rh(eddadh)][−] complex, while in the case of a similar Co(III) complex, relatively low value (31°) for *trans*(O₅) has been established. Extensive QM/NBO calculations were made for both systems [M(eddadh)][−] and [M(1,3-pddadh)][−] using different DFT methods (B3LYP/SDD, M06/SDD, MP2/SDD). By correlating the structural parameters obtained from X-ray and DFT optimized 3D structures, the B3LYP/SDD method was used as the method of choice. Based on the correlation between the energies of the optimized systems and the strain parameters, the existence of the *trans*(O₆) isomer of the [Rh(1,3-pddadh)][−] complex was predicted. NRT (Natural Resonance Theory) analysis gave the best resonances for each isomer. Here the stability of particular isomer has been described in terms of 3-CHB bonds involving metal ions and Second Order Perturbation Theory analysis using Donor/Acceptor energies. Further, to explain the bonding nature of M-edta-type complexes the Natural Coulomb Electrostatics (NCE) analysis has been done as well. The pairwise steric exchange interaction $E_{ij}^{P_{\text{max}}}$ results obtained for the best-ranked resonances of different isomers are in excellent agreement with favored isomers reported so far. For the energy limit of the possibility of forming geometric isomers, a value of about 6 kcal mol^{−1} is proposed.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The cobalt(III) and rhodium(III) and their coordination chemistry have been extensively investigated for many decades. Special attention is devoted to its complexes with edta-type ligands (edta = ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetate) which are largely studied [1–11]. Polyaminopolycarboxylate chelate ligands have a wide application in coordination chemistry. Metal complexes with

these ligands are used in environmental field [12–14], laboratory settings [15,16], industrial processes [17–19], biological systems [20–23], in medicine [24–31]. Of all known chelators, edta is the most commonly used [32–38]. Edta and similar ligands are used to remove heavy metals from the soil and water [39,40], as well as from the human body [41], as antioxidants for food preservation [42]. [M(edta-type)] complexes usually exist as biological redox reagents and there is a series of such complexes (M = Al, Sc, V-Co) [43].

In the case of edta-type ligands with variations in the length of the carboxylate chains, the eddadh (ethylenediamine-*N,N'*-diacetate-*N,N'*-di-3-propionate) is one of the most distinguished [2,6].

* Corresponding author.

E-mail address: zmatovic@kg.ac.rs (Z.D. Matović).

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Марија С. Јеремић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Синтеза и биолошка активност Rh(III) комплекса са лигандима полиаминополикарбоксилатног типа”

која је одбрањена на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 20.5.2019. године,

Марија С. Јеремић
потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Марија С. Јеремић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

„Синтеза и биолошка активност Rh(III) комплекса са лигандима
полиаминополикарбоксилатног типа”

која је одбрањена на Природно-математичком факултету

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам


не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 20.5.2019. године,


_____ потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>