



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Марина Ћендић

**ХЕЛАТАЦИОНЕ ОСОБИНЕ ЛИГАНАДА ЕДТА-
ТИПА У ОДНОСУ НА БАКАР(II) - МОГУЋА
ПРИМЕНА КОД НЕУРОТОКСИЧНИХ
ПОРЕМЕЋАЈА**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2017

<i>I. Аутор</i>	
Име и презиме:	Марина Ћендић
Датум и место рођења:	04.03.1985., Крагујевац
Садашње запослење:	Истраживач-сарадник
Наслов:	Хелатационе особине лигананда ЕДТА-типа у односу на бакар(II) - могућа примена код неуротоксичних поремећаја
<i>II. Докторска дисертација</i>	
Број страница:	159
Број слика:	57
Број библиографских података:	240
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:	19. 10. 2016. године.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:	ННВ Природно-математичког факултета: 1220/ХП-1, 28. 12. 2016. године. Стручно Веће за природно-математичке науке: IV-01-66/8, 18. 01. 2017. године.
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 Срећко Трифуновић, редовни професор Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Неорганска хемија 3. Др Бранка Огњановић, редовни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија 4. Др Бранимир Јованчићевић, редовни професор, Хемијски факултет, Универзитет у Београду Научна област: Примењена хемија 5. 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 Срећко Трифуновић, редовни професор Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Неорганска хемија 2. Др Бранка Огњановић, редовни професор Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу Ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија 3. Др Матија Златар, виши научни сарадник Институт за хемију, технологију и металургију, Универзитет у Београду Научна област: Хемија
Датум одбране дисертације:	2017.

ПОСВЕЋЕНО
мојој непресушној инспирацији

Мајци

ЗАХВАЛНИЦА

Ова докторска дисертација резултат је тимског рада и улагања у мене од стране следећих институција и људи којима желим овом приликом да се захвалим.

Експериментални део ове дисертације урађен је у Институту за хемијске науке Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу (део је пројекта који финансира Министарство просвете и науке Републике Србије (Пројекат: III41010)) под стручним руководством професора др Зорана Матовића, редовног професора, који је предложио тему за овај рад. Искрено се захваљујем ментору на пруженој шанси да будем део истраживачке групе, идејама, визијама, стручним саветима, указаном поверењу, помоћи и подрици током израде и писања свих радова и напослетку овог рада.

Искрену захвалност дугујем и професору Роберт Диту са Универзитета Варик у Енглеској на пруженој могућности да део дисертације буде урађен у његовој истраживачкој групи, на несебичности, корисним саветима, примедбама и сугестијама током израде и писања заједничких радова. Уједно се захваљујем на невероватној војсњи авионом којим је баш он управљао, на хумору и примеру да су највећи управо они који поседују једноставност и приземност.

Посебно се захваљујем проф. др Бранки Огњановић као и њеним сарадницима а највише Бојану на свему што су ми пружили као колеге а пре свега као људи током практичног рада ове дисертације.

Захваљујем се проф. др Зорки Станић на изузетно корисним саветима, као и лепим речима.

Захваљујем сарадницима проф. Матовића које су оплениле мој живот: др Емини Мркалић, Марији Јеремић, Маји Ђукић и др Светлани Белошевић. Част ми је и привилегија што сте баш Ви моје колегинице. Количина смеха коју сте ми пружиле током свих ових година се не може мерити ни са чим и хвала Вам на томе. Колегиници др Весни Милетић која није више са нама захваљујем се што ме је увела у свет експерименталне хемије. Знам да ме видите и хвала Вам на свему.

Захваљујем се свим колегама Института за хемијске науке на помоћи и пруженој подрици. Без свих Вас све ово било би немогуће.

На крају највећу захвалности дугујем својој породици. Родитељима што су ми подарили живот и пружили љубав, васпитање, образовање, ширину и подрику да будем своја и да следим свој пут. Знам чега сте се све одрекли да бих данас била овде и надам се да сам оправдала Ваше поверење сада кад држите ове корице. Сестри коју обожавам хвала што ме толико воли и разуме. Хвала нани и деки који су улетиали моје детињство. Хвала пријатељима који су били уз мене без обзира на све. Где бих ја била да није било Вас и Ваше вере у мене.

СКРАЋЕНИЦЕ
СПИСАК СЛИКА
СПИСАК ТАБЕЛА
ИЗВОД
SUMMARY
1. ОПШТИ ДЕО.....

1. 1 АПК лиганди у медицини.....	3
1. 2 Методе добијања АПК лиганада.....	5
1. 3 Структурна модификација лиганада АПК-типа.....	6
1. 4 Геометријска изомерија хексаденатних АПК комплекса.....	8
1. 4. 1 Геометријска изомерија хексаденатних Е-АПК комплекса.....	9
1. 4. 2 Геометријска изомерија хексаденатних П-АПК комплекса.....	11
1. 5 Биолошки значај бакра.....	12
1. 6 Стереохемија Си(II) комплекса.....	15
1. 6. 1 Хексакоординовани бакар(II) јон.....	15
1. 6. 2 Пентакоординовани бакар(II) јон.....	18
1. 7 Тетракоординовани бакар(II) јон.....	19
1. 8 Енергетско стање Си(II) у солватном и хелатном окружењу.....	20
1. 9 Компјутерска хемија.....	22
1. 9. 1 QM.....	22
1. 9. 2 Семи-емпиријске методе.....	30
1. 9. 3 MM: Емпиријске Force Field Методе.....	31
1. 9. 4 Молекулска динамика (MD).....	43

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО.....

2.1 Хемикалије и реагенси.....	48
2. 2 Добијање 1,2-пропандиаминтетрасирћетне киселине, $H_41,2-pdta$	48
2. 3 Добијање 1,3-пропандиаминтетра-3-сирћетне киселине, $H_41,3-pdta$ из баријум(1,3-пропандиаминтетраацетата) дихидрата, $Ba_2(1,3-pdta) \cdot 2H_2O$	48
2. 4 Добијање етилендиамин- N,N' -дисирћетне- N,N' -ди-3- пропионске киселине, $H_4eddadp$	49
2. 5 Добијање 1,3-пропандиамин- N,N' -дисирћетне- N,N' -ди-3- пропионске киселине, $H_41,3-pddadp$	50
2. 6 Добијање (1,3-пропандиамин- N,N,N' -трисирћетне- N' -3- пропионске) киселине, $H_41,3-pd3ap$ (Кондензациона смеша).....	51
2. 7 Добијање (1,3-пропандиамин- N,N,N,N' -тетра-3- пропионске) киселине, $H_41,3-pdtp$ (Кондензациона смеша).....	52
2. 8 Добијање $trans(O_5)$ -баријум(етилендиамин- N,N' - диацетато- N,N' -ди-3-пропионато)купрат(II)тетрахидрата, $Ba[Cu(eddadp)] \cdot 4H_2O$	52
2. 9 Добијање баријум(етилендиамин- N -ацетато- N,N',N' - три-3- пропионато)купрат(II)октахидрата, $Ba[Cu(eda3p)] \cdot 8H_2O$	53
2. 10 Добијање $trans(O_6)$ -баријум(1,3-пропандиамин- N,N' - диацетато- N,N' -ди-3-пропионато)купрат(II)октахидрата, $Ba[Cu(1,3-pddadp)] \cdot 8H_2O$	54
2. 11 Добијање баријум(1,3-пропандиамин- N,N,N' - триацетато- N' -3- пропионато)купрат(II)хексахидрата, $Ba[Cu(1,3-pd3ap)] \cdot 6H_2O$	54
2. 12 Добијање баријум (1,3-пропандиамин- N,N,N,N' -тетра-3- пропионато)купрат(II)трихидрата, $Ba[Cu(1,3-pdtp)] \cdot 3H_2O$	55
2. 13 Елементарна микроанализа.....	56

САДРЖАЈ

2. 14 Електронски апсорпциони спектри.....	56
2. 15 Спектри електронске парамагнетне резонанце.....	56
2. 16 Инфрацрвени спектри.....	57
2. 17 Тачка топљења.....	57
2. 18 Рендгенска структурна анализа.....	57
2. 19 Рендгенска структурна анализа за <i>Va[Cu(1,3-pd3ap)]·6H₂O</i>	58
2. 20 Рендгенска структурна анализа за <i>Va[Cu(1,3-pddap)]·8H₂O</i>	59
2. 21 Спектрофотометријска мерења.....	60
2. 22 Електрохемијска мерења.....	60
2. 23 Биолошки <i>in vitro</i> експерименти.....	61
2. 23. 1 Изоловање ћелија и култура.....	61
2. 23. 2 МТТ оглед.....	61
2. 24 Биолошки <i>in vivo</i> експерименти.....	62
2. 24. 1 Животиње.....	62
2. 24. 2 Аналитичке процедуре за узорковање трансминаза...	63
2. 24. 3 Припрема ткива за одређивање церулоплазмина.....	63
2. 24. 4 Одређивање метала у јетри.....	63
2. 24. 5 Статистичке анализе.....	64
2. 25 Компјутерске методе.....	64
2. 25. 1 DFT прорачуни.....	64
2. 25. 2 Докинг методологија АПК---НАН1 система.....	65
2. 25. 3 Молекулско динамичке симулације.....	67

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....

<i>3. 1 Синтеза и молекулска структура лиганда АПК-типа са одговарајућим комплексима бакра(II).....</i>	71
<i>3. 1. 1 Добијање полиаминополикарбоксилатних етилендиаминских (Е-АПК) и пропандиаминских (П-АПК) лиганда и одговарајућих комплекса бакра(II).....</i>	71
<i>3. 1. 2 Молекулска структура $Va[Cu(1,3-pd3ar) \cdot 6H_2O$ комплекса.....</i>	72
<i>3. 1. 3 Молекулска структура $Va[Cu(1,3-pddadr) \cdot 8H_2O$ комплекса.....</i>	74
<i>3. 2 Структурни параметри комплекса бакра(II) са лигандима АПК-типа и њихове октаедарске дисторзије у односу на структуру лиганда и геометрију комплекса.....</i>	75
<i>3. 2. 1 Геометријска анализа бакар(II)-Е-АПК-комплекса.....</i>	75
<i>3. 2. 2 Структурна анализа бакар(II)-П-АПК-комплекса. Зависност бакар(II)-П-АПК геометрије у односу на структуру лиганда, геометрију комплекса и природу контра јона.....</i>	77
<i>3. 3 Спектрална анализа.....</i>	81
<i>3. 3. 1 Инфрацрвени спектри комплекса бакра(II) са лигандима Е-АПК и П-АПК-типа.....</i>	81
<i>3. 3. 2 Електронски апсорпциони спектри бакар(II)-Е-АПК и бакар(II)-П-АПК комплекса.....</i>	83
<i>3. 3. 2. 1 Бакар(II)-Е-АПК комплекси.....</i>	83
<i>3. 3. 2. 2 Бакар(II)-П-АПК комплекси у корелацији са TDDFT....</i>	84
<i>3. 3. 3 Спектри Електронске Парамагнетне Резонанце (EPR) комплекса бакра(II) са лигандима Е-АПК и П-АПК-типа.....</i>	90
<i>3. 4 Комјутерски експерименти.....</i>	95
<i>3. 4. 1 NBO анализа.....</i>	98

3. 4. 2 Метода Лигандног Поља Молекулске Механике (LFMM).....	98
3. 4. 3 Комјутерски експерименти у случају бакар(II)-II-АПК комплекса.....	117
3. 5 АПК хелати у лечењу неуротоксичних поремећаја.....	119
3. 5. 1 Спектрофотометријска мерења.....	120
3. 5. 2 Процена константе дисоцијације $Cu(I)/Vcs/АПК$ система.....	120
3. 5. 3 Електрохемијска испитивања.....	122
3. 5. 4 Биолошки експерименти.....	126
3. 5. 4. 1 Испитивања АПК хелатирајућих агенаса у <i>in vitro</i> условима.....	126
3. 5. 4. 2 Испитивања АПК хелатирајућих агенаса у <i>in vivo</i> условима.....	127
3. 5. 4. 3 Преглед резултата биолошких испитивања.....	135
3. 5. 4. 4 Теоријско испитивање механизма дејства АПК киселина молекулском динамиком.....	136
4. ЗАКЉУЧАК.....	
ЗАКЉУЧАК.....	143
5. ЛИТЕРАТУРА.....	
ЛИТЕРАТУРА.....	147
БИОГРАФИЈА	
СПИСАК ОБЈАВЉЕНИХ РАДОВА	

С К Р А Ћ Е Н И Ц Е

АПК	Полиаминополикарбоксилатне киселине
Å	Ангстрем
ADF	Амстердам функционал густине
АОМ	Ангуларни модел преклапања
AD	Алцхајмерова болест
Atox1(Nah1)	Транспортер бакра
ATP7A/ATP7B	Бакар унутарћелијске транспортујуће АТФ-азе
ALT	Аланин аминотрансаминаза
AST	Аспартат аминотрансаминаза
AMBER99	Помоћни модел изградње са рафинисаном енергијом
AM1	Аустин Модел 1
БАЛ	Димеркаптопропанол
Bcs	Батокупродисулфонатни лиганд
BDE	Дисоциона енергија везе
BS	Базни сет (функција)
CP	Церулоплазмин
CNDO	Комплетно занемаривање диференцијалног преклапања
CN	Координациони број
COSMO	Кондуктор скрининг модел
CFT	Теорија кристалног поља
DFT	Теорија функционала густине
D_{4h}	Тетрагонално лигандно поље
DommiMOE	d орбитална ММ у молекулској оперативној средини

С К Р А Ћ Е Н И Ц Е

ДПА	Д-пенициламин
EDA	Морокумине енергетске декомпозиционе анализе
Е	Етилендиамински прстен
ЕНМО	Проширена Hückel-ова молекулско орбитална теорија
EPR	Електронска парамагнетна резонанца
Е-АПК	Полиаминополикарбоксилатне киселине етилендиаминског типа
en	Етилендиамин
FF	Поље силе
GGA	Генерализовани градијент апроксимације
G	Хелатни прстенови у октаедарској равни
\hat{H}	Хамилтонијанов оператор
НОМО	Највиша окупирана молекулска орбитала
N_4edta	Етилендиаминтетрасирћетна киселина
N_4ed3ap	Етилендиамин- N,N,N' -трисирћетна- N' -3-пропионска киселина
N_3ed2ap	Етилендиамин- N,N' -дисирћетна- N' -3-пропионска киселина
$N_4eddadp$	Етилендиамин- N,N' -дисирћетна- N,N' -ди-3-пропионска киселина
$N_4u-eddadp$	Несиметрична етилендиамин- N,N -дисирћетна- N',N' -ди-3-пропионска киселина
N_4eda3p	Етилендиамин- N -сирћетна- N,N',N' -три-3-пропионска киселина
$N_{41,2}-pdta$	1,2-пропандиамин-тетрасирћетна киселина
$N_{41,3}-pdta$	1,3-пропандиамин-тетрасирћетна киселина
$N_{41,3}-pd3a$	1,3-пропандиамин- N,N,N' -трисирћетна киселина
$N_{41,3}-pd3ap$	1,3-пропандиамин- N,N,N' -трисирћетна- N' -3-пропионска киселина

С К Р А Ћ Е Н И Ц Е

H ₄ 1,3-pddadp	1,3-пропандиамин- <i>N,N'</i> -дисирћетна- <i>N,N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₄ 1,3-u-pddadp	Несиметрична 1,3-пропандиамин- <i>N,N'</i> -дисирћетна- <i>N',N'</i> -ди-3-пропионска киселина
H ₃ 1,3-pd3p	1,3-пропандиамин- <i>N,N,N'</i> -три-3-пропионска киселина
H ₄ 1,3-pdtp	1,3-пропандиамин- <i>N,N,N',N'</i> -тетра-3-пропионска киселина
IR	Инфрацрвени спектар
INDO	Средње занемаривање диференцијалног преклапања
<i>K_D</i>	Дисоцијационе константе
LFSE	Енергија стабилизације лигандног поља
LFMM	Молекулска механика лигандног поља
LFT	Теорија лигандног поља
LDH	Лактат дехидрогеназа
LUMO	Највећа неокупирана молекулска орбитала
LCAO	Линеарна комбинација атомских орбитала
LDA	Апроксимација локалне густине
LFS	Јачина лигандног поља
LMCT	Трансфер наелектрисања лиганд-метал
MMFF	Merck-ово молекулско поље силе
MINDO	Модификовани INDO
MNDO	Занемаривање диатомског преклапања
MM	Молекулска механика
MD	Молекулска динамика
MDS	Молекулско динамичке симулације
MO	Молекулско орбитална теорија

СКРАЋЕНИЦЕ

NPA	Mulliken-ова популациона анализа
NBO	Природна везна орбитала
NAO	Природне атомске орбитале
NVE	Микроканонски ансамбл
NVT	Канонски ансамбл
NPT	Изотермско-изобарски ансамбл
O_h	Октаедарско кристално поље
PM3	Параметријски метод 3
PPP	Pariser-Parr-Pople-ова молекулско орбитална теорија
PD	Паркинсонова болест
pn	Пропандиамин
PNAO	Пре-ортогоналне NAO орбитале
П-АПК	Полиаминополикарбоксилатне киселине пропандиаминског типа
QM	Квантно-механички пакет
R_L	Средња вредност дужина веза ван равни
R_S	Средња вредност дужине веза у равни
REMD	Реплика измене MD
R	Хелатни прстенови ван октаедарске равни
SOD	Супероксид-дисмутаза
Триен	Триетилтетраамин
T	Тетрагоналност
TDDFT	Временски зависан DFT

С К Р А Ћ Е Н И Ц Е

UV	Електронски апсорпциони спектар
VSEPR	Валентна љуска одбијања електронског пара
VMD	Визуелна молекулска динамика
WD	Вилсонова болест
XC	Изменљиво-корелациони функционал
ϵ	Молски коефицијент апсорптивности ($\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$)
ν	Таласни број (cm^{-1})
λ	Таласна дужина
∇	Laplas-ов оператор
Ψ	Таласна функција

С Л И К Е

Слика 1.	Аминополикарбоксилатни лиганди и метал хелатирајући агенси који се користе у терапеутске сврхе.....	4
Слика 2.	Најчешће методе добијања АПК хелатирајућих киселина.....	6
Слика 3.	Структурне варијације диаминског дела и карбоксилатних ланаца АПК киселина.....	7
Слика 4.	Могући геометријски изомери хексадентатних $[M(\text{АПК-тип})]^n$ комплекса: $\text{trans}(\text{O}_5)$, $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)$ и $\text{trans}(\text{O}_6)$	9
Слика 5.	Структурни изглед $\text{trans}(\text{O}_5)\text{-[Cu(eddadr)]}^{2-}$ комплексног анјона.....	10
Слика 6.	Структура $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-[Co(pddadr)]}$ комплексног анјона.....	11
Слика 7.	Церулоплазмин (атоми бакра су приказани у виду кугли).....	13
Слика 8.	Механизам хомеостазе бакра у организму на ћелијском нивоу.....	14
Слика 9.	Приказ Jahn-Teller-овог ефекта код Cu(II) јона у октаедарском пољу.....	17
Слика 10.	Пентадентатни квадратно-пирамидални комплексни $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3a})]^-$ анјон.....	19
Слика 11.	Оргелов дијаграм за Cu(II) -јон d^9 -систем у октаедарском и тетраедарском пољу.....	21
Слика 12.	Дијаграм разлагања енергетских нивоа Cu(II) -јона у октаедарском (O_h) и тетрагоналном (D_{4h}) лигандном пољу.....	21
Слика 13.	Молекуларно механички приказ молекула (force field метода).....	32
Слика 14.	Илустрација принципијелних доприноса у молекулској механици поља силе: истезање веза, савијање углова, торзије и невезујуће интеракције.....	35
Слика 15.	Валенциони углови на централном атому за различите стандардне геометрије	37
Слика 16.	Шематски приказ пет d орбитала.....	39
Слика 17.	Дефиниција АОМ параметара код локалног M-L везивања.....	40
Слика 18.	Шематски приказ поделе на координационе и лигандне области и чланови поља силе који обухватају те две области.....	42
Слика 19.	Конформација протеин-лиганд комплекса добијена молекулском динамиком..	47

Слика 20.	Почетне и доковане структуре холо-протеина у истраживањима MD: А и С одговарају рендгенским структурама са PDB кодовима 1fd8 и 1fee; В структура је мануално креирана полазећи од 1fd8 структуре и служећи се алатима VMD програма; D, Е и F представљају структурне системе одговарајућих АПК киселина докованих на поменуте протеи.....	66
Слика 21.	Општа шема параметризације металног центра MСРВ.ру методом.....	68
Слика 22.	Синтеза $[\text{Cu}(\text{II})(\text{АПК})]^{n-}$ комплекса.....	71
Слика 23.	Кристална структура $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ анјона и кристално паковање дуж а оса са водоничним везама. Водонични атоми су изостављени због једноставности.....	73
Слика 24.	Кристална структура $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ анјона и кристално паковање дуж а оса. Водонични атоми су изостављени због једноставности.....	74
Слика 25.	Поређење просечних N-Cu-O углова веза и број петочланих хелатних прстенова.....	76
Слика 26.	а) Ba^{2+} , б) Na^{+} и в) H^{+} контра јони у случају $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ комплекса.....	80
Слика 27.	Кристална структура $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]$ димера.....	81
Слика 28.	Инфрацрвени спектар $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса.....	82
Слика 29.	Корелација између тетрагоналности и експериментално добијеног d-d апсорпционог максимума ($\times 10^3 \text{ cm}^{-1}$) за бакар(II)-Е-АПК-типове комплекса.....	83
Слика 30.	Лево: Uv_Vis спектар $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ добијен из воденог раствора на pH~7; десно: главни МО прелази у оквиру Vis_Near_IR области у случају $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ јона.....	84
Слика 31.	(а) Gaussian облици TDDFT података за $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ јон израчунат различитим методама; (б) преклапање конволуираног B1LYP спектра и експерименталног спектра за $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ јон; (в) B1LYP и (г) експерименталне траке (видљива област) октаедарских $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta}\text{-тип})]^{2-}$ комплекса.....	88

- Слика 32. TDDFT спектри израчунати за различите изомере $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ и $\text{Cu}(1,3\text{-pda3p})^{2-}$ комплексних јона..... 89
- Слика 33. 1) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{edta})]$ комплекса у води (Cu(II) концентрација 1 mM): (a) pH 3.30; (b) pH 4.15 (спонтани pH) и (c) pH 10.45. **I** и **II** означавају прве паралелне резонанце пента (2N3COO^-) и хексакоординованих (2N4COO^-) комплекса. 2) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем $\text{K}_2[\text{Cu}(\text{edtp})]$ комплекса у води (Cu(II) концентрација 1 mM): (a) pH 3.60; (b) pH 6.10 (спонтани pH) и (c) pH 8.00. **I** представља прву паралелну резонанцу пентадентатних (2N3COO^-) комплекса. 3) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ комплекса у води (Cu(II) концентрација 1 mM): (a) pH 3.35, (b) pH 5.30 (спонтани pH) и (c) pH 9.75. **I** представља прву паралелну резонанцу хексадентатних комплекса (2N4COO^-)..... 91
- Слика 34. 1) Анизотропски EPR спектар X-траке поликристалног комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]$ снимљен на 77 K. 2) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]$ у води (Cu(II) концентрације 1 mM): (a) pH 5.90 (спонтани pH) и (b) pH 10.45. **I** представља прву паралелну резонанцу пентадентатних (2N3COO^-) комплекса. 3) Анизотропски EPR спектар X-траке поликристалног комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]$ снимљен на 77 K. 4) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]$ у води (Cu(II) концентрација 1 mM): (a) pH 5.80 (спонтани pH) и (b) pH 9.10-10.70. **I** представља прву паралелну резонанцу хексадентатних комплекса (2N4COO^-)..... 93
- Слика 35. 1) Анизотропски EPR спектар X-траке поликристалног комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})]$ снимљен на 77 K. 2) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})]$ у води (Cu(II) концентрација 1 mM): (a) pH 3.50, (b) pH 4.05, (c) pH 7.05 (спонтани pH) и (d) pH 9.50. **I**, **II** и **III** означавају прве паралелне резонанце комплекса са једним аминским азотом везаним за Cu(II) (**I** и **II**) и (**III**) одговара (2N2COO^-) координацији..... 94
- Слика 36. Хексакоординовани бакар(II)-АПК комплекс. У случају E-АПК комплекса $a = 1$, док је код П-АПК $a = 2$. Када су b , c , d и $e = 1$, комплекс садржи ацетатне прстенове а када им је вредност 2, комплекс садржи пропионске прстенове..... 99

- Слика 37. Шематски приказ и скраћенице 14 DFT оптимизованих комплекса у оквиру LFMM радног сета. $5s =$ пентакоординовани..... 100
- Слика 38. Процена октаедарског цепања за бакар(II) комплекс заснован на експерименталним d-d прелазима од 11.000 и 14.000 cm^{-1} . E_{JT} је приближна Jahn-Teller-ова стабилизациона енергија заснована на половини енергије нижег прелаза..... 103
- Слика 39. Структуре $trans(O_6)-[Cu(eda3p)]^{2-}$. Лево: почетна геометрија за ADF/TZ2P/COSMO оптимизацију. Средњи лево: завршна тачка за ADF BP86/TZ2P/COSMO оптимизацију/старт за ORCA BP86/def2-SVP/COSMO оптимизацију. Средњи десно: завршна тачка за ORCA BP86/def2-SVP/COSMO оптимизацију. Десно: преклопљене ADF оптимизована (плава) и коначна LFMM (жута) структура. Ова последња укључује члан напона Cu-O-C угла..... 105
- Слика 40. Рендгенске структуре N2O4 хромофоре са њиховим CSD референтним ознакама..... 108
- Слика 41. Кристалне структуре CSD-референтних ознака $[Cu(edta)]^{2-}$ комплекса где су приказане Cu-L дужине веза (\AA)..... 109
- Слика 42. Блиски контакти (циклама цилиндри) између Ba^{+2} јона и аксијалног ацетата $[Cu(edta)]^{2-}$ у $Ba_2[Cu(edta)](ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ комплексу (CSD референтна ознака LOHKOI)..... 110
- Слика 43. Мексичка капа, први ред Jahn-Teller-ове површине потенцијалне енергије за $d^9 \ ^2E_g$ систем је функција θ и ϵ компоненти e_g вибрационог мода ϕ која контролише мешање два нормална мода компоненти Q_θ и Q_ϵ 113
- Слика 44. Cu-L растојања (\AA) и релативне енергије (kcal mol^{-1}) за шест најнижих енергија LFMM конформација $[Cu(ed3ap)]^{2-}$ комплекса у поређењу са DFT (BP86/TZVPP/COSMO). За DFT оптимизацију коришћена је LFMM структура као полазна геометрија..... 114
- Слика 45. Cu-L растојања (\AA) и релативне енергије (kcal mol^{-1}) за четири енергетски најниже LFMM конформације $[Cu(eda3p)]^{2-}$ комплекса у поређењу са DFT (BP86/TZVPP/COSMO). За DFT оптимизацију коришћена је LFMM структура као полазна геометрија..... 115
- Слика 46. Корелација између експерименталних везујућих афинитета лиганда, $\log\beta$ и LFMM енергетске разлике између конформације најниже

	енергије депротонованог лиганда и одговарајућег комплекса бакра.....	116
Слика 47.	Преклапање LFMM израчунатих (жута) и кристалних структура (плава)	118
Слика 48.	Апсорпциони спектар у MOPS пуферу (50 mM; pH 7.3) за Cu(I)-Bcs-L у присуству различитих L концентрација (T = 298 K, pH = 7.3). [Cu(I)] = 50 μ M; [Bcs] = 125 μ M; [L] (a-e, a-и, a-ф) = 0.0-0.3 mM.....	121
Слика 49.	Циклични волтамограми за: (1) 3.3×10^{-3} M CuCl ₂ ·H ₂ O; (2) 1×10^{-3} Ba[Cu(eddap)]; (3) 1×10^{-3} M Ba[Cu(1,3-pdta)] и (4) 1×10^{-3} Ba[Cu(1,2-pdta)] у опсегу од -1.3 до +1 V; помоћни електролит 0.1M NaCl; брзина скенирања 100 mV/sec.....	123
Слика 50.	Одрживост RBMNC раста у току 24h у присуству растућих концентрација АПК киселина (1 = H ₄ 1,2-pdta, 2 = H ₄ 1,3-pdta, 3 = H ₄ eddap, 4 = H ₄ 1,3-pddap) која је одређена МТТ тестом (X средња \pm S.D.).....	126
Слика 51.	Концентрација церулоплазмина у серуму и јетри (mg/L) следећих група: 1 = Контрола, 2 = Cu, 3 = Cu + ДПА, 4 = Cu + Триен, 5 = Cu + H ₄ 1,2-pdta, 6 = Cu + H ₄ 1,3-pddap, 7 = Cu + H ₄ eddap, 8 = Cu + H ₄ 1,3-pdta, 9 = H ₄ 1,2-pdta, 10 = H ₄ 1,3-pdta.....	130
Слика 52.	Концентрације бакра (А) и гвожђа (В) у јетри (у ppm) мереним ICP методом.....	133
Слика 53.	Просечне конформационе структуре холо-протеин-[L] комплекса после 40 нано секунди NVT молекулске динамике.....	137
Слика 54.	RMSD шема тешких атома PCA лиганда и леђних N, CA и C атома у димеру дуж 4 трајекторије (_____ eddap; _____ 1,3-pddap; _____ 1,3-pdta; _____ 1,2-pdta)	138
Слика 55.	Могући механизам преноса бакра са Nah1 транспортера на MNK4 протеин.....	140
Слика 56.	Број водоничних веза између Nah1 протеина и АПК лиганда дуж 80 ns трајекторије; (а) H ₂ eddap ²⁻ , (б) H ₂ 1,3-pddap ²⁻ , (в) H ₂ 1,2-pdta ²⁻ и (г) H ₂ 1,3-pdta ²⁻	141
Слика 57.	Две узастопне конформације 80ns трајекторије Nah1--Cu-- Nah1--eddap система.....	142

Табела 1.	Кристалографски подаци за $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	58
Табела 2.	Кристалографски подаци за $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$	59
Табела 3.	Квантитативни и квалитативни показатељи параметризације система.....	69
Табела 4.	Анализа напона комплекса бакара(II) са Е-АПК-типом киселина са петочланим и/или шесточланим карбоксилатним прстеновима.....	75
Табела 5.	Анализа напона бакар(II) комплекса са 1,3-пропандиаминским лигандима са петочланим и шесточланим карбоксилатним прстеновима.....	78
Табела 6.	TDDFT и експериментални апсорпциони подаци у води за хексадентатне бакар(II)-П-АПК комплексе.....	86
Табела 7.	EPR параметри $[\text{Cu}(\text{II})(\text{Лиганд})]^{2-}$ комплекса образовани са АПК лигандима.....	90
Табела 8.	Поређење експерименталних и DFT података за бакар(II)-Е-АПК серију комплекса.....	96
Табела 9.	Поређење LFMM и DFT (BP86/TZ2P/COSMO) оптимизованих М-L дужина веза.....	106
Табела 10.	Поређење М-L дужина веза LFMM оптимизованих и кристалних структура.....	111
Табела 11.	Релативне енергије (kcal mol^{-1}) за геометријске изомере $[\text{Cu}(\text{eddadp})]^{2-}$ комплекса.....	112
Табела 12.	Поређење релативних енергија за $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ изомере израчунате помоћу DFT и LFMM метода.....	117
Табела 13.	Дисоцијационе константе K_D за $\text{Cu}(\text{I})$ везивања АПК у односу на реверсну једначину 40.....	121
Табела 14.	Вредности катодних и анодних пикова добијених из цикличних волтамограма на стационарној стакластој угљениковој електроди са потенцијалом скенирања од 100 mVsec^{-1} (бакар(II)-АПК на 50 mVsec^{-1}).....	125

ТАБЕЛЕ

Табела 15.	Концентрације АПК хелата које изазивају 50% опадања у опсталим РВМНС и МРС-5 ћелијама (IC50) након 24h третмана (X средња ± S.E.)	127
Табела 16.	Промена у тежинама, апсолутне и релативне тежине јетри, биохемијски параметри у серуму и концентрације церулоплазмина у серуму и јетри котролних и експерименталних група.....	131
Табела 17.	Концентрације бакра, гвожђа и цинка (у ppm) у јетри.....	134
Табела 18.	Слободне енергије везивања (kcal mol ⁻¹) израчунате ММГБСА и ММПБСА методама, заједно са експерименталним ΔG вредностима добијеним за [Cu(bcs) ₂]---АПС модел.....	139

ИЗВОД

Полиаминополикарбоксилатни хелати (АПК) последњих неколико година налазе изузетну примену у детоксификацији организма узрокованој тешким металима, у лечењу инфекција, кардиоваскуларних и нервних обољења. Поседовањем шест донорских атома АПК киселине остварују изузетну способност хелатације металних јона. Полазећи од ових чињеница за предмет ове дисертације предвиђена је синтеза АПК киселина етилендиаминског (Е-АПК) и пропандиаминског (П-АПК) типа као и њихове интеракције са јонима бакра(II) и бакра(I). Карактеризација синтетисаних једињења извршена је употребом најсавременијих метода као што су спектроскопија (UV-vis, IR), електронска парамагнетна резонанца (EPR), електрохемија као и компјутерска хемија. Структуре два комплекса: $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddap})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (тригонално-бипирамидална геометрија) и $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (октаедарска геометрија) су верификоване рендгенском структурном анализом. EPR спектрални резултати су у складу са добијеним геометријама $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddap})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ комплекса у воденом раствору и чврстом стању, где врста координовања $\text{Cu}(\text{II})$ јона зависи од броја шесточланих хелатних прстенова и рН вредности. Утврђен је утицај контра јона у случају бакар(II)-П-АПК комплекса заједно са осталим структурним параметрима. Показано је да различити катјони могу утицати на различито понашање образованих комплекса. DFT и TDDFT методе (B1LYP/6-311++G(d,p)) дале су добре резултате у израчунавању и предвиђању UV-Vis спектра у случају бакар(II)-П-АПК комплекса. Молекулска механика лигандног поља (LFMM) развијена је за d^9 бакар(II)-АПК-комплексе. Радни сет добијен је DFT методом за 14 комплекса који обухвата Е-АПК и П-АПК лиганде N_2O_4 хромофоре. DFT и LFMM методе предвиђају исти конформер најниже енергије где су структуре и енергије конформера виших енергија такође у разумном складу. Релативне интеракционе енергије израчунате молекулском механиком (ММ) су у корелацији са експерименталним $\log\beta$ вредностима. Показано је да $\log\beta$ опада са порастом броја шесточланих прстенова фаворизујући петочлане хелатне прстенове. Коначно су све претходне тврдње послужиле да се у циљу примене у терапији неуротоксичних поремећаја тестирају следећи хелати Е-АПК и П-АПК типа у *in vitro* и *in vivo* условима (H_4 1,2-pdta, H_4 1,3-pdta, H_4 eddadp, H_4 1,3-pddadp). На основу резултата уочене су две АПК под-групе: (I) H_4 1,2-pdta/ H_4 1,3-pdta

киселине комплементарне комерцијалним хелатирајућим агенсима и (II) $H_4\text{eddap}/H_{41,3}\text{-pddap}$ киселине које демонстрирају високу селективност према бакру. Теоријским експериментима молекулске динамике на системима који поред испитиваних АПК хелата садрже и добро познати Nah1 транспортер бакра (у различитим конформационим и структурним облицима) потврђено је да изражени афинитет према бакру поседују хелати са мешовитим карбоксилатним прстеновима. MMGBSA/MMPBSA+NMA резултати показују да ΔG вредности лиганд-Nah1(димер) следе $H_{21,3}\text{-pddap}^{2-} > H_2\text{eddap}^{2-} > H_{21,2}\text{-pdta}^{2-} > H_{21,3}\text{-pdta}^{2-}$ опадајући низ што је у складу са наведеним афинитетом АПК лиганада према јону бакра. Коришћењем исте компјутерске методологије показано је у одређеном смислу да токсичност симетричних хелата са мешовитим прстеновима може бити узрокована водоничним везама између хелата и нарочитих аминокиселинских остатака (Thr59) које доводе до конформационих промена Lys60 одговорног за иницијализацију трансфера бакра унутар ћелијског садржаја.

Потребно је рећи да будућа истраживања примене АПК хелатирајућих агенаса у медицини тек предстоје поготову на ћелијском и генетском нивоу. Резултати на којима почива ова докторска дисертација су увод у поменућу проблематику.

SUMMARY

The last few years aminopolycarboxylic chelates (APCs) have important application in metal detoxification, in treatment of infections, cardiovascular and neural diseases. Possession of six donor atoms gives them extraordinary chelation capacity to metal ions. Subject of this dissertation is synthesis of APC acids of ethanediamine (E-APC) and propanediamine (P-APC) type as well as their interaction with copper(II) and copper(I) ions. Characterization of the synthesized compounds was performed using various methods such as spectroscopy (UV-vis, IR), electron paramagnetic resonance (EPR), electrochemistry and computational chemistry. The structures of two complexes: $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{1,3-pd3ap})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (trigonal-bipyramid geometry) and $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-Ba}[\text{Cu}(\text{1,3-pddadp})]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (octahedral geometry) were verified by X-ray analysis. EPR spectral data are consistent with the obtained geometries of $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{1,3-pd3ap})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-Ba}[\text{Cu}(\text{1,3-pddadp})]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ complexes in solution and solid state, where type of Cu(II) ion coordination depends of number of six-membered chelate rings and pH value. The impact of counter-ions on the P-APC complexes is shown in detail together with the analysis of another strain parameters. It has been shown that different cations may affect the different behavior of formed complexes. On the basis of extensive DFT and TDDFT calculations the B1LYP/6-311++G(d,p) level has been seen as an accurate theory for calculating and predicting the UV-Vis spectra in case of copper(II)-P-APC compounds. A ligand field molecular mechanics (LFMM) force field (FF) has been developed for d^9 copper(II)-APC complexes. Training data were derived from density functional theory (DFT) geometry optimizations of 14 complexes comprising E-APC and P-APC ligands with N_2O_4 chromophore. DFT and LFMM methods predict the same lowest-energy conformer and the structures and energies of the higher-energy conformers are also in satisfactory agreement. The relative interaction energies computed by molecular mechanics (MM) correlate with the experimental $\log\beta$ binding affinities. It has been shown that $\log\beta$ decrease as the number of propionate arms increases favoring five-member chelate rings. Finally all previous claims served for the purpose of application in the treatment of neurotoxic disorders where E-APC and P-APC chelates were tested in *in vitro* and *in vivo* conditions ($\text{H}_{41,2}\text{-pdta}$, $\text{H}_{41,3}\text{-pdta}$, H_4eddadp , $\text{H}_{41,3}\text{-pddadp}$). Based on the results, two subgroups of chelates can be distinguished: (I) $\text{H}_{41,2}\text{-pdta}$ and $\text{H}_{41,3}\text{-pdta}$ ligands that clearly represent a complement chelating agents to commercial chelating drugs and (II) H_4eddadp and

SUMMARY

H₄1,3-pddadp which demonstrate high copper selectivity. Theoretical experiments by molecular dynamics on systems which, apart from the tested APCs include well-known Hah1 copper transporter (in different conformational and structural forms) confirmed that affinity toward copper possess chelates with a mixed carboxylate rings. MMGBSA/MMPBSA+NMA results show that ΔG values of ligand-Hah1(dimer) follow H₂1,3-pddadp²⁻ > H₂eddadp²⁻ > H₂1,2-pdta²⁻ > H₂1,3-pdta²⁻ descending order which is in accordance with the above mentioned affinity of APC ligands to copper(II) ion. Using the same computer methodology we showed that the toxicity of symmetrical chelate with mixed-rings can be caused by hydrogen bonds between chelates and particular amino-acid residues (Thr59) that lead to conformational changes of Lys60 responsible for initializing of copper transfer within cells.

It is necessary to point out that future research of APCs application as chelating agents in medicine are still ahead, especially at the cellular and genetic levels. Results that underlying this doctoral thesis are introduction in mentioned issues.

1. Општи део

У В О Д

Пола века истраживања способности неких аминополикарбоксилатних (АПК) хелата за формирање сталне, стабилне везе са металним јонима, претходило је брзом развоју (1930-1940) нове линије једињења, првобитно примењену на индустријску, а затим и медицинску корист. Прво у Немачкој, а потом и у САД-у, развијене су различите методе за производњу хелатних супстанци за специфичну употребу, попут елиминације калцијума из воде у текстилној производњи. Током Другог светског рата истраживања су вршена на натријумовим солима АПК хелата са циљем коришћења истих као противотров отровном гасу. Исте године утврђена је његова способност хелатирања олова када је ињектиран у крвоток без икаквих нежељених ефеката.¹ Њихова примена обухватала је и лечење у случају тровања живом¹ или при уклањању вишка гвожђа из тела.² Хелатација са овим типом лиганда има изузетан напредак у болестима атеросклерозе,³ крвотока као и код пацијената који имају неки облик сенилности.⁴ Друге неочекиване предности које хелатациона АПК терапија пружа јесу смањење концентрације инсулина код дијабетичара, као и знатна побољшања у случају многих пацијената са дисфункцијом бубрега.^{5,6} Ипак највеће изненађење представља функционално побољшање код пацијената са Alzheimer-овом (AD), Parkinson-овом (PD) и Wilson-овом болешћу (WD)⁷ употребом различитих хелата. Молекули хелатних агенаса формирају са металима хелатне комплексе. При комплексирању од великог је значаја пронаћи оптималне услове при којима се добија комплекс у коме иначе токсичан метал показује супротан ефекат. Хелатни агенси се користе за везивање са металима чије је повећано присуство токсично за организам, а након комплексирања се лако излучују из организма. При том хелатни агенси морају да представљају лиганде који имају велики афинитет према тачно одређеним металима, минималну токсичност, добру растворљивост и превасходно добру апсорпцију у људском организму.⁸ У ову сврху употребљавају се АПК киселине, као што је етилендиаминтетрасирћетна (H₂edta) киселина и њени хомолози. Координовањем молекула АПК лиганда са металним јоном неминовно долази до промена у структури првобитних молекула. Молекул идеалне геометрије (идеални валенциони или торзиони углови, дужине веза, van der Waals-ови радијуси) експериментално никада није добијен. Промене се јављају услед интеракција између атома у молекулу и доводе до дисторзије и дестабилизације тог молекула и до појаве напона. Структура координационог једињења је

резултат компромиса свих промена, укључујући и интеракције у самим лигандима, као и између молекула лиганата и централног металног јона. Степен слободне лиганата да прилагоде метални јон доводи до конформационе промене што има за последицу торзију углова. Координациона геометрија је условљена мноштвом веза стерно условљених супституената или система прстенова. Прилагодљивост металног јона као координационог центра је, у великој мери, резултат веза које формирају d-орбитале ових прелазних метала. Последица координације јесу промене и у термодинамичким, кинетичким и електростатичким особинама нових комплексних једињења, као и промене стабилности, реактивности и њихових спектроскопских особина.

Ова докторска дисертација представља допринос развоју бионеорганске хемије кроз испитивања лиганата АПК-типа као и одговарајућих комплекса бакра(II) са циљем примене истих у лечењу неуротоксичних поремећаја. Предмет истраживања односи се на синтезу, карактерисање и анализу структуре АПК лиганата и аналогних комплекса бакра(II) као и њихово међусобно поређење. Такође смо за предмет ове дисертације предвидели испитивања интеракција водених раствора АПК хелата са синтетисаним моделом комплекса бакра(I) S4 хромофоре. Биолошки експерименти ин виво и ин витро као и молекулско-динамичке симулације интеракција АПК хелата са важним протеинским транспортерима бакра су рађене са циљем сагледавања степена утицаја хелата на смањење концентрације бакра као и даљег одгонетања механизма деловања потенцијалних лекова на ћелијском нивоу.

У Оштем делу рада дат је приказ до сада награђених АПК киселина и комплекса бакра(II) са освртом на њихов медицински и биолошки значај. Поред тога дат је кратак преглед компјутационих метода које су комплементарне са експерименталним подацима за структуру и особине.

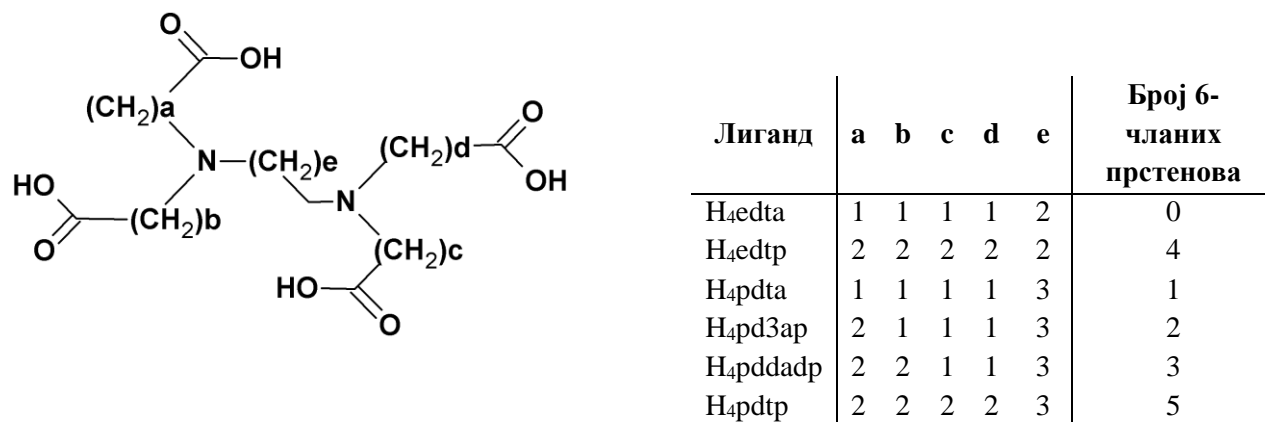
Експериментални део се односи на поступке за синтезу самих АПК лиганата и одговарајућих комплекса бакра(II). Поред тога дат је и приказ структурних инструменталних метода које су примењене за испитивање структуре ових комплекса.

У Резултатима и дискусији су дискутоване молекулске структуре награђених комплекса, приказане су геометријске и конфигурационе анализе комплекса бакра(II) са АПК

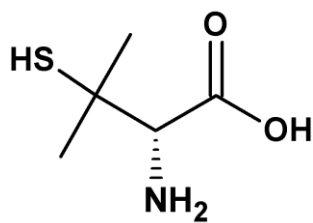
лигандима, преглед компјутационих истраживања, изградња јединственог поља силе за овај тип једињења (force field), као и биолошка *in vitro/in vivo* испитивања.

1. 1 АПК лиганди у медицини

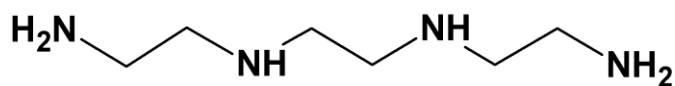
Први комплекси АПК хелата су комплекси са етилендиамин-*N,N,N',N'*-тетра-сирћетном киселином (H_4edta лигандом). Хелатни АПК лиганди се одавно користе у медицини и фармакологији, за одстрањивање токсичних метала⁹ из организма и то првенствено арсена (As), кадмијума (Cd), гвожђа (Fe), олова (Pb), живе (Hg) и никла (Ni). Ови метали са АПК киселинама граде стабилне комплексе. Врло често се хелатни АПК лиганди користе у дијагностичкој медицини. У нуклеарној медицини се користи изотоп технецијума ⁹⁹Tc чије је време полураспада $t_{1/2} = 6.02$ h. При комплексирању са *bis*-(1,2-диметил-фосфино)етаном (DMPE) као $[Tc(DMPE)_3]^+$ употребљава се као алтернатива телуру ²⁰¹Tl који се иначе користио као миокардијални агенс. Хелатни комплекси бакра мале молекулске масе (комплекси супероксид-дисмутазе) се користе као антиинфламаторни агенси. С обзиром да су АПК киселине различита серија мултидентатних лиганата са два и више координациона места, способна су да вежу бакар у облику различитих геометријских комплекса (слика 1). Третмански приступ са АПК хелатирајућим агенсима има пуно успеха у многим неурлошким али и кардиоваскуларним лечењима. Примена АПК киселина је евидентна и у хелатационој терапији неуролошких поремећаја попут АД-ове болести што се и очекује с обзиром да је један од узрока поменутог обољења нагомилавање металних јона с којим поменути агенси граде комплексе високе стабилности. У медицини неуротоксичних поремећаја најчешће терапијски програм укључује давање комерцијалних лекова који су структурно слични АПК киселинама и имају способност везивања бакра као што су Д-пенициламин (ДПА) или триетилтетрамин (Триен) (слика 1).¹⁰ Међутим, поменути агенси су често праћени са неколико нежељених ефеката на нервни и гастроинтестинални систем, везивно ткиво или хематопоезу, утичу на функцију Т лимфоцита и пад концентрације имуноглобулина у серуму. Лиганди попут АПК поред заузимања важног места у имобилизацији металних јона,² су значајни и у лечењу HIV инфекције¹¹ као и код кардиоваскуларних обољења.³ Такође су важни и у контролисању липидне пероксидације која се јавља као резултат слободно радикалске патологије.¹²



Општа формула АПК киселина



Д-Пенициламин (ДПА)



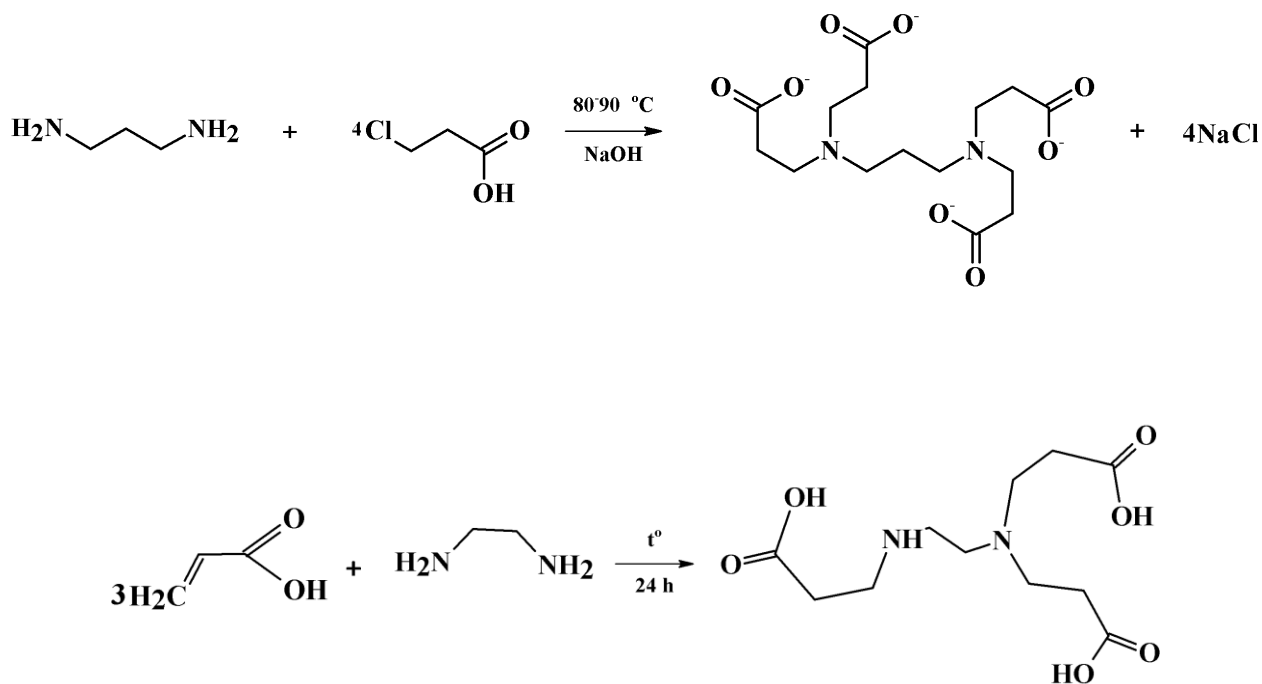
Триетилентетрамин (Триен)

Слика 1. Аминополикарбоксилатни лиганди и метал хелатирајући агенси који се користе у терапеутске сврхе

1. 2 Методе добијања АПК лиганата

Синтезу АПК-а прати неколико метода, а најчешће су: конdezација неутралне α - или β -монохалогенкарбоксилатне киселине и одговарајућег алкилдиаминa (слика 2) и конdezација дихалоген деривата алкилдиаминa са различитим аминокиселинама. Симетрични хомолози добијају се на вишим температурама, а несиметрични на нижим. Најчешће су лиганди АПК врсте до сада добијани конdezационом методом где се неутралисаној одговарајућој монохлоркарбоксилној киселини дода алкилдиамин уз рефлуктовање и загревање на одговарајућој температури у току неколико сати. При том се добијају смеше лиганата, а принос реакције није завидан. Симетрични хомолози као што је рецимо етилендиамин- N,N' -дисирћетна- N,N' -ди-3-пропионска киселина (H_4eddap), етилендиаминтетра-3-пропионска киселина (H_4edtp), 1,3-пропандиаминтетра-3-сирћетна киселина ($H_41,3-pdta$), $H_41,3-pdtp$ (1,3-пропандиаминтетра-3-пропионска киселина) или 1,3-пропандиамин- N,N' -дисирћетна- N,N' -ди-3-пропионска киселина ($H_41,3-pddap$) добијају се на вишој температури (80-90°C). За несиметричне АПК лиганде попут 1,3-пропандиамин- N,N,N' -трисирћетне- N' -3-пропионске киселине ($H_41,3-pd3ap$) конdezациона смеша се загрева на нижој температури (50-70°C) у току дужег временског периода. Приноси су код несиметричних лиганата драстично нижи и смеше могу да садрже и друге несиметричне, али и симетричне лиганде који се знатно лакше граде и у већем приносу. Трећи начин за добијање АПК-хомолога, који такође даје прилично мали принос, састоји се у томе да се из одговарајуће аминокиселине (на пример L-аланина или глицина) додатком етилендибромида и неутрализацијом у присуству натријум-карбоната, Na_2CO_3 смеша загрева и рефлуктује у току пар сати. Готов производ се добија хлађењем и подешавањем рН-вредности. Данас се за добијање лиганата АПК-типа, с обзиром на широку примену ових лиганата у индустријске сврхе, користе методе које су исплативије јер се лиганди добијају у много већем приносу и настају као потпуно чисти производи или у смеси у којој су у огромном вишку у односу на сличне лиганде из смеше. Једна од метода је слична конdezационој методи, само што се за неутрализацију користи калцијум-хидроксид, $Ca(OH)_2$ уместо натријум-хидроксида, $NaOH$ или натријум-хидрогенкарбоната, $NaHCO_3$ и као крајњи производ добија се калцијумова-со лиганда. Одстрањивање калцијума је веома лако и брзо. Принос оваквих реакција се креће и до

90%. Погодна реакција је и реакција етилендиамина или супституисаних етилендиамина са акрилном киселином (слика 2), уз рефлуктовање и загревање на високој температури у току 24 часа. Метода погодна за комерцијалне сврхе је и реакција хидролизе. Ако се неутралисаном моносупституисаном деривату етилендиамина дода раствор формалдехида у присуству цијановодоника уз контролу рН настаје полисупституисани дериват у приносу и до 70%.¹³

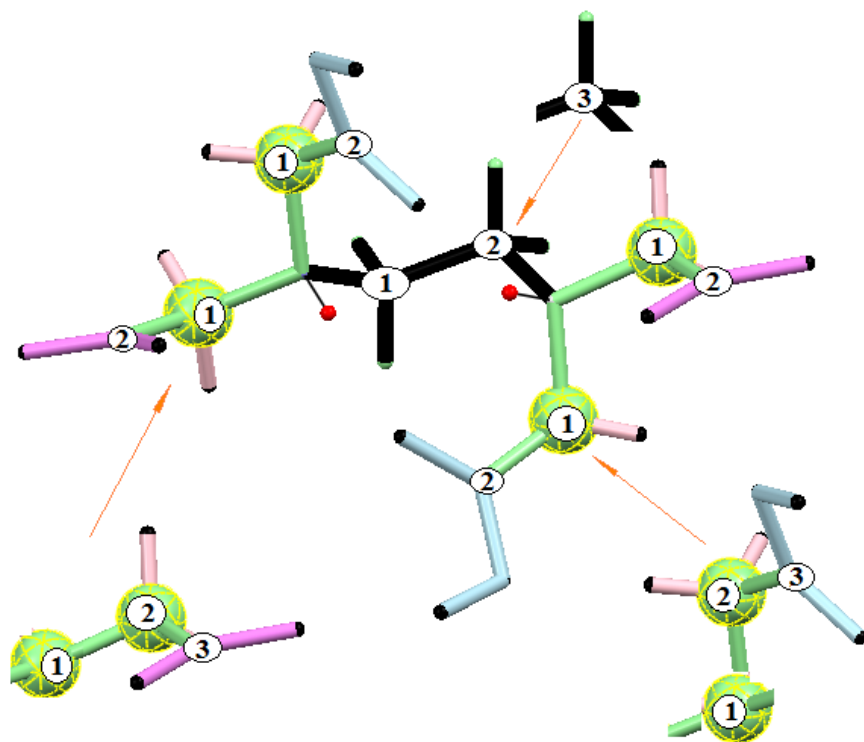


Слика 2. Најчешће методе добијања АПК хелатирајућих киселина

1. 3 Структурна модификација лиганата АПК-типа

Метални комплекси са АПК киселинама и њеним супституисаним дериватима су до данас највише истражени са гледишта стереохемије¹⁴⁻¹⁶ и њихове примене у области медицине⁹ и биолошке активности комплекса.^{17,18} Хелатирајући АПК агенси, захваљујући постојању два везујућа азотова атома и четири кисеоникова атома из карбоксилних група (N₂O₄

хромофора) граде комплексе са готово свим металним јонима, заузимају шест координационих места у комплексима и припадају групи хексадентатних лиганата (слика 3). Неки од тих лиганата су симетрични (H_4edta , $H_4eddadp$, H_4edtp , $H_{41,3-pdta}$, $H_{41,3-pddadp}$, $H_{41,3-pdtp}$) и знатно лакше их је синтетисати за разлику од несиметричних лиганата (етилендиамин- N,N,N' -трисирћетна- N' -монопропионска киселина (H_4ed3ap), несиметрична етилендиамин- N,N' -дисирћетна- N,N' -ди-3-пропионска киселина ($H_{4-u-eddadp}$), етилендиамин- N -моносирћетна- N,N',N' -три-3-пропионска киселина (H_4eda3p), $H_{41,3-pd3ap}$, несиметрична 1,3-пропандиамин- N,N' -дисирћетна- N,N' -ди-3-пропионска киселина ($H_{41,3-u-pddadp}$) или 1,3-пропандиамин- N -моносирћетна- N,N',N' -три-3-пропионска киселина ($H_{41,3-pda3p}$)).



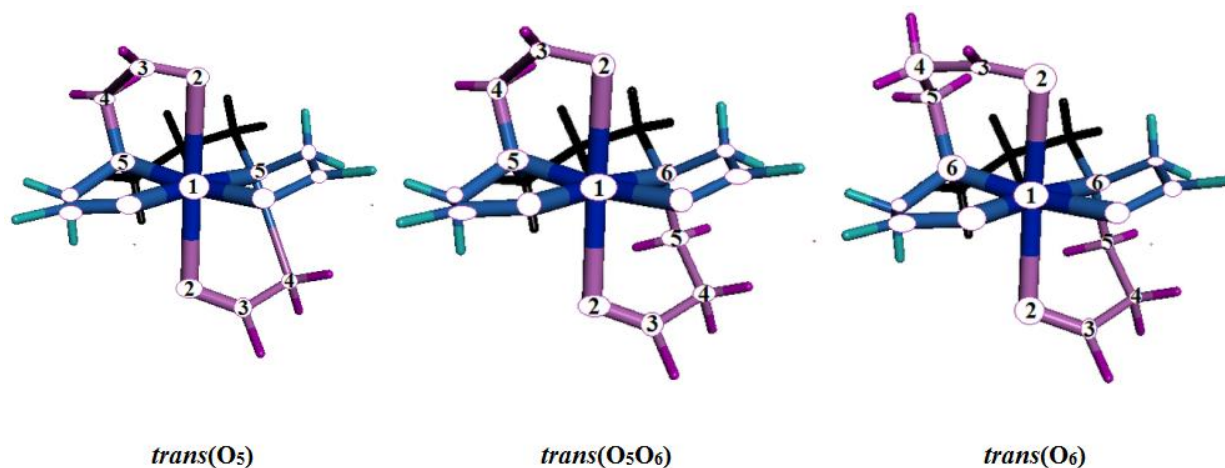
Слика 3. Структурне варијације диаминског дела и карбоксилатних ланаца АПК
киселина

Ради лакшег сагледавања стереохемијских односа и карактеристика АПК комплекса извршена је подела лиганада овог типа према структури на три групе (слика 3):

1. Серија $H_4edta-H_4edtp$ коју чине лиганди АПК-типа који имају структурне промене у карбоксилатним ланцима, који при координовању формирају петочлане диаминске прстенове (Е-АПК киселине: H_4edta , H_4ed3ap , $H_4eddadp$, $H_4-u-eddadp$, H_4eda3p и H_4edtp);
2. Серија $H_{41,3}pdta-H_{41,3}pdtp$ лиганада са структурним променама у карбоксилатним ланцима, који при координовању формирају шесточлани пропандиамински прстен (П-АПК киселине: $H_{41,3}pdta$, $H_{41,3}pd3ap$, $H_{41,3}pddadp$, $H_{41,3-u}pddadp$, $H_{41,3}pda3p$ и $H_{41,3}pdtp$);
3. Остали лиганди АПК-типа са структурним променама у диаминским или карбоксилатним ланцима као што су етилендиамин- N,N,N' -трисирћетна киселина (H_3ed3a), етилендиамин- N,N -дисирћетна- N' -пропионска киселина (H_3eddap), етилендиамин- N -моносирћетна- N,N' -дипропионска киселина (H_3edadp), етилендиамин- N,N,N' -три-3-пропионска киселина (H_3ed3p) и њихови аналози H_3pd3a -типа.

1. 4 Геометријска изомерија хексадентатних АПК комплекса

Геометријска изомерија проузрокована је различитом конформацијом лиганада и њихових доносних атома у односу на централни метални јон (слика 4). Код комплекса хексадентатних лиганада АПК типа код којих су карбоксилатне групе измењене тако да формирају неједнаке хелатне прстенове могућа је следећа изомерија: *trans*(O_5), *trans*(O_5O_6) и *trans*(O_6) геометрија (слика 4).

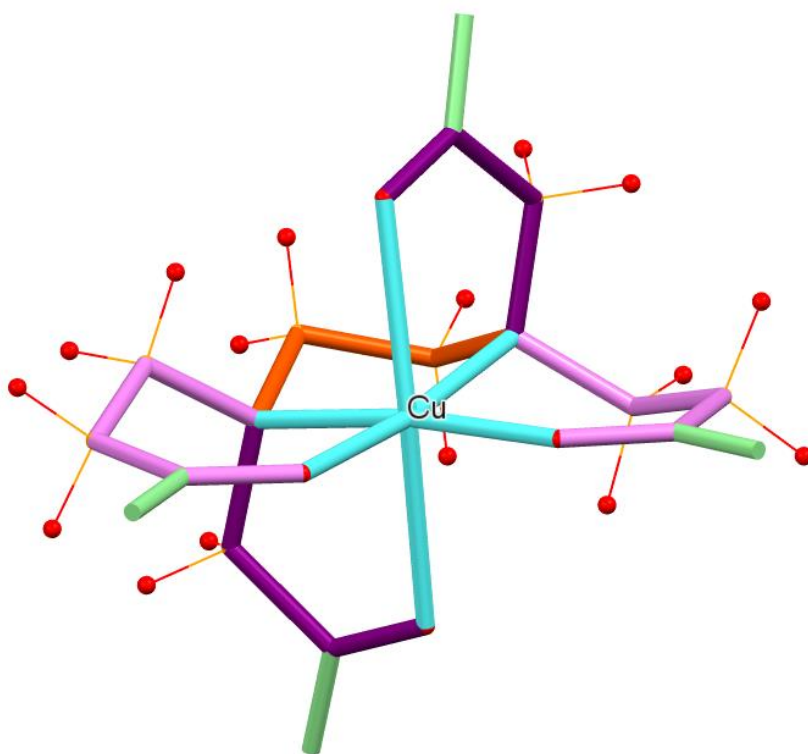


Слика 4. Могући геометријски изомери хексадентатних $[M(\text{II-АПК-тип})]^{n+}$ комплекса: *trans*(O₅), *trans*(O₅O₆) и *trans*(O₆)

1. 4. 1 Геометријска изомерија хексадентатних E-АПК комплекса

Киселина H₄eda3p је добијена кондензацијом етилендиамин-моносирћетне киселине и 3-хлорпропионске киселине у воденом раствору натријум-хидроксида.¹⁹ Под овим условима фаворизована је симетрична, термодинамички стабилнија H₄edtp киселина, која се гради у доминантном приносу (H₄edtp:H₄eda3p = 3:1). Киселина H₄eda3p је изолована и карактерисана у чистом стању.¹⁹ При свом хексадентатном координовању H₄eda3p лиганд формира два петочлана и три шесточлана хелатна прстена. Теоријски се могу очекивати два геометријска изомера: *trans*(O₅O₆) и *trans*(O₆) (слика 4). Изомер *trans*(O₅O₆), који поседује глицински прстен у аксијалном положају се лакше формира, имајући у виду да је напон глицинског прстена у екваторијалној равни нешто израженији. Код комплекса Co(III)¹⁹ и Cr(III),²⁰ су управо изоловани очекивани, стабилнији *trans*(O₅O₆) геометријски изомери у знатно већем приносу. Киселина H₄ed3ap представља несиметрични, хексадентатни лиганд, сличнији edta-лиганду, са једним продуженим карбоксилатним ланцем.²¹ При свом хексадентатном координовању овај лиганд формира три петочлана и један шесточлани хелатни прстен. С обзиром на различиту величину и дистрибуцију хелатних прстенова, теоријски се могу очекивати два геометријска изомера, која се

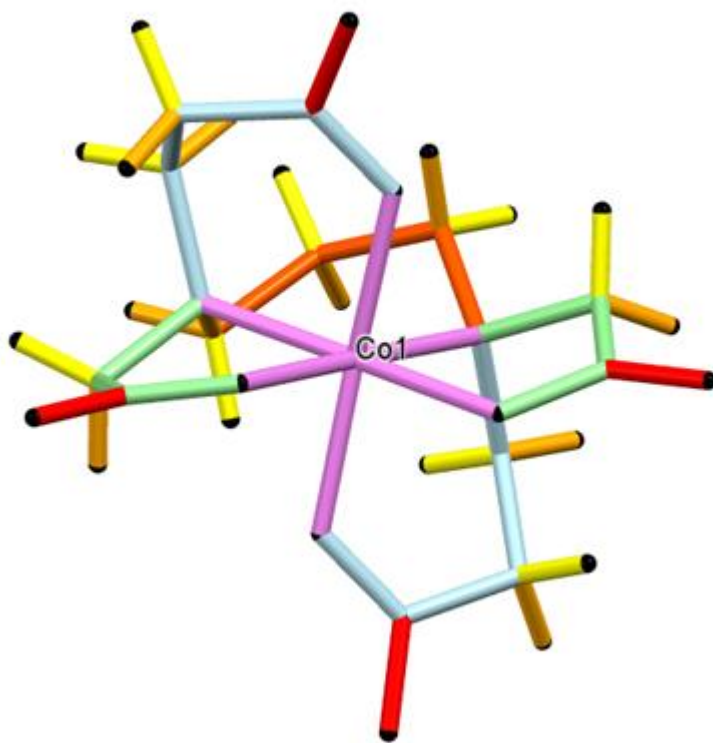
разликују по броју петочланих прстенова у октаедарској равни: $trans(O_5)$ (I) и $trans(O_5O_6)$ (II) (слика 4). Оба геометријска изомера имају C_1 молекулску симетрију. Лиганд је награђен кондензационом методом и добијен је у смеши са H_4edta , $H_{4u}eddap$ и H_4edtp лигандима. Прво су са овим лигандом награђени и карактерисани комплекси $Co(III)^{22}$ и $Cr(III)^{23}$ и у оба случаја је добијен само један, фаворизовани, мање напет систем, $trans(O_5)$ изомер. Затим је добијен комплекс $Mg[Cu(ed3ap)] \cdot 8H_2O$ и одређена је његова кристална структура и утврђено је да је награђен такође $trans(O_5)$ изомер.²¹ Шесточлани карбоксилатни прстенови етилендиамин- N,N' -диацетатног- N,N' -дипропионског јона $[eddap]^{4-}$ (слика 5), служе боље за образовање мање напетих G прстенова дајући предност $trans(O_5)$ изомеру $[M(eddap)]^{n-}$ комплекса када је $M = Co(III),^{24,25} Cr(III),^{26,27}$ и $Rh(III)$ или $Ni(II).^{16,28,29}$ Вредно је помена да је за $Co(III)$ и $Rh(III)$ мање стабилан $trans(O_5O_6)$ изомер такође пронађен и окарактерисан (слика 4).



Слика 5. Структурни изглед $trans(O_5)-[Cu(eddap)]^{2-}$ комплексног ањона

1. 4. 2 Геометријска изомерија хексадентатних П-АПК комплекса

У случају киселине $H_41,3\text{-pddadp}$ која садржи петочлане и шесточлане прстенове сва три могућа геометријска изомера хрома су изолована.³⁰ Међутим, у случају кобалта(III) добијени су и окарактерисани само $trans(O_5O_6)$ и $trans(O_6)$ изомери (слика 6).^{31,32} Синтетисани су $trans(O_5)$ и $trans(O_5O_6)$ изомери комплекса родијума(III) и никла(II) са истоименим хелатом.^{33,34} Када су у питању комплекси бабра(II) само је $trans(O_6)$ геометријски изомер добијен.^{35,36} У случају $H_41,3\text{-pdta}$ лиганда могућ је само један геометријски изомер који је и изолован.³⁷ Структурни подаци за АПК лиганде попут $H_41,3\text{-pdЗар}$ и $H_41,3\text{-pdтр}$ нису познати до сада у случају бакар(II) комплекса. Структурне варијације П-АПК киселина укључује повећање величине леђног и/или карбоксилатних прстенова тиме обезбеђујући мање напете системе. Геометријски изомеризам је могућ за П-АПК где су карбоксилатни ланци замењени тако да образују хелатне прстенове различитих величина.

Слика 6. Структура $trans(O_6)\text{-[Co(pddadp)]}^-$ комплексног анијона

1. 5 Биолошки значај бакра

Бакар има веома важну улогу у биолошким процесима живих организама и то у везивању кисеоника, редокс процесима, електрон-трансфер процесима и улази у састав више од 15 ензима (кофактор многих попут: церулоплазмина (СР), моноамино-оксидазе, супероксид дисмутазе (SOD), цитохром-с-оксидазе). За ниже организме једињења бакра су отровна. Он има бактерицидно дејство јер као тежак метал иреверзибилно талочи протеине. Код нижих животињских организама, у процесу преноса кисеоника учествује пигмент хемоцијанин са $Cu(I)$ јоном као активним центром. Човек је утицају бакра изложен путем контакта са ваздухом, водом и земљиштем и то преко респираторног система удисањем, преко дигестивног тракта (храна и вода), као и преко коже. Бакар као есенцијални елемент у човековом организму налази се у различитим ћелијама и ткивима са највећом концентрацијом у јетри, бубрезима, срцу, слезини, плућима, желуцу, коси и ноктима.³⁸ Ресорбује се у желуцу и танком цреву, у комплексу са аминокиселинама (хистидин) или малим пептидима.³⁹ У ћелијама слузнице танког црева бакар се веже за нискомолекулски протеин металотионин, који везује метале. Потом бакар улази у плазму где се веже за аминокиселине, нарочито хистидин и серумски албумин.³⁸ Готово целокупна количина бакра у телу је везана за протеине, тако да је концентрација слободних бакарних јона веома ниска, осим ако нема неких других поремећаја у организму. Сматра се да чак 35% популације не уноси довољне количине бакра исхраном. Препоручен дневни унос бакра је око 2 mg.⁴⁰ Бакар се јавља у реактивним центрима многих ензима, као што је SOD, који учествује у процесу елиминације токсичних супероксида и пероксидних јона који настају у току аеробног метаболизма у ћелијама и узрокују деструкцију ћелијске мембране. Поред тога ензими који су одговорни за стварање везивног ткива протеина (колаген и еластин) захтевају бакар. Ензим каталаза је одговоран у процесу метаболизма кисеоника у организму. Активни центар у овом ензиму је бакар(II) комплекс квадратно-пирамидалне структуре. Бакар је неопходан за развој и одржавање везивног ткива, коже, костију и зглобова и крвних судова. Бакар је потребан такође и за стварање црвених крвних ћелија, има позитиван утицај на ћелијску мембрану нервних ћелија као и на слање нервних импулса. Неопходан је за синтезу фосфолипида ћелијске мембране и на тај начин одржава мијелински омотач који одваја нервне ћелије од околине и регулише ниво неуротрансмitera. Бакар је укључен и у метаболизам глукозе, масти и холестерола, као и

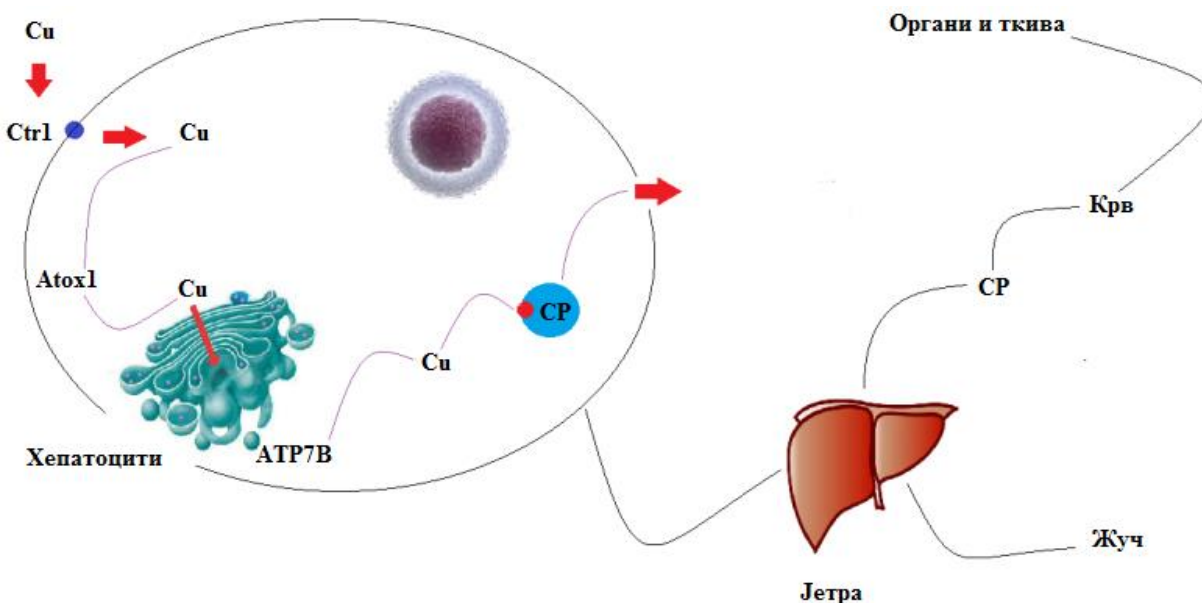
функционисање инсулина. Бакар игра важну улогу у стварању имуног одговора на инфекције. CP⁴¹⁻⁴³ (слика 7) је гликопротеин који се синтетише само у јетри. У њему се налази 95% укупног бакра плазме. CP садржи од 6-8 атома бакра, од тога се половина налази у купро (Cu^+), а половина у купри (Cu^{2+}) облику.



Слика 7. Церулоплазмин (атоми бакра су приказани у виду кугли)

Вишак бакра у исхрани изазива AD-ову болест јер висок ниво бакра отежава мозгу да се ослободи β -амилоид протеина који је повезан са деменцијом. Бета амилоид изазива неке од симптома AD-ове болести везујући се за инсулинске рецепторе чиме нарушава метаболизам глукозе у мозгу.⁴⁴ Такође, акумулација бакра у телу човека изазива WD болест⁴⁵ која је праћена оштећењем јетре⁴⁶ са присуством потпуног поремећаја хомеостазе поменутог метала (слика 8). Детаљнија истраживања показала су да кључ обољења лежи у генетској мутацији (на хромозому број 13 (ATP7B)).⁴⁷ Будући да је ресорпција бакра

очувана, а излучивање поремећено, долази до накупљања тог метала и у другим органима попут мозга, бубрега као и рожњаче (Keyser-Fleischer-ов прстен). Механизам хомеостазе бакра у организму на ћелијском нивоу се одвија преко следећих корака: транспортер који има велики афинитет према бакру CTR1 уводи бакар из екстраћелијског дела у цитосол, где се метал веже за цитосолне пратиоце и бива пребачен ка различитим циљним местима унутар ћелије (слика 8). Транспортер бакра Atox1(Nah1) преноси бакар до *trans*-Golgi-евог апарата, где га прихвата АТР7В ген, који допрема бакар новосинтетисаним купроензимима водећи га кроз секреторни пут (слика 8).⁴⁸ Мутације на АТР7В гену делују на активност и пут одговорног протеина чиме се блокира допремање бакра СР-у и излучује бакар из хепатоцита у жуч. Последица оваквог процеса је таложење бакра у јетри и токсикоza.



Слика 8. Механизам хомеостазе бакра у организму на ћелијском нивоу

1. 6 Стереохемија Cu(II) комплекса

Бакар припада XII групи елемената у периодном систему и има један неспарени електрон у задњем енергетском нивоу. Налази се у 3d серији прелазних метала. Његова тачка топљења (1083°C), која је у складу са вредностима за прелазне елементе, указује да у металној вези осим s-електрона учествује и d-електрон. Отуда му боље одговара $3d^9$ конфигурација. Бакар у комплексним једињењима може да има оксидациона стања +1, +2 и +3 и при томе гради комплексе са координационим бројем 4, 5, 6. Термодинамичка стабилност Cu(I) и Cu(II) -јона у воденим растворима зависи искључиво од природе лиганата у координационој сфери комплекса. Јон Cu(I) као мека Луис-ова киселина има изражен афинитет ка лигандима који садрже сумпор као донорски атом или рецимо хетероциклима (π -електронска шаржа). Комплекси Cu(I) и Cu(II) -јона обично имају различите геометрије. Комплекси у којима је бакар оксидационог стања +3 су нестабилни и најинтересантнији су комплекси овог типа са пептидима. Једињења у којима бакар има оксидационо стање +2 представљају најстабилније стање бакра и као такав он у воденим растворима егзистира као хексааква комплексни јон, $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Бакар(II)-јон у воденом раствору даје слабо киселу реакцију јер је као хидратисани катјон протондонор (киселина). У реакцији са водом као слабом базом он реагује на следећи начин:



Као и сви остали метал(II)-катјони који припадају 3d-серији прелазних елемената, бакар(II) најчешће гради комплексна једињења координационог броја четири, пет и шест. Позната су и комплексна једињења бакра са координационим бројем два, седам, осам и девет али су веома ретка.

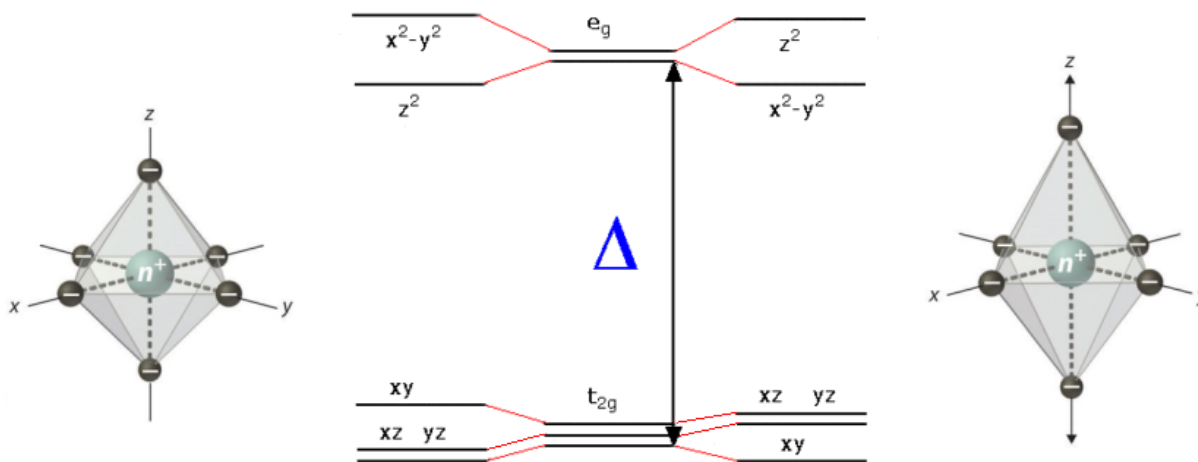
1. 6. 1 Хексакоординовани бакар(II) јон

Карактеристично за комплексна једињења бакар(II) јона са координационим бројем шест је да имају октаедарску геометрију, међутим правилан октаедар се среће само у случају CuL_6 хромофоре са шест еквивалентних лиганата, што се објашњава постојањем

кристалне решетке стабилизоване високим степеном симетрије ових комплекса. Једни од оваквих примера су комплекси $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]^{49}$ и $[Cu(OH_2)_6][BrO_3]^{50}$. Уместо октаедарске структуре најчешће постоји тетрагонална структура са четири везе једнаке дужине у истој равни (R_S) и две везе знатно дуже или краће нормалне на ту раван (R_L). Резултати рендгенске структурне анализе указују на то да је у хексадентатном комплексу $Mg[Cu(1,3-pdta)] \cdot 8H_2O$,³⁷ $Cu(II)$ -јон окружен са два азотова атома и четири кисеоникова атома лиганда градећи тетрагонално издужен октаедар. Mg^{2+} катјон је повезан октаедарски са шест молекула воде. Исте године је урађена и кристална структура комплекса $[Mn(H_2O)_6][Cu(1,3-pdta)] \cdot 2H_2O$ ⁵¹ и потврђена тетрагонално дисторгована CuN_2O_4 октаедарска структура. Такође и октаедарски комплекс бакар(II) са киселином $H_41,3-pddadp$ ^{35,36} који гради само један, доминантни *trans*(O_6) геометријски изомер (од могућа три геометријска изомера), има тетрагонално издужену октаедарску геометрију са C_2 молекулском осом симетрије. Свако одступање од правилне геометријске структуре одражава се на симетрију тако што симетрија више групе прелази у симетрију ниже групе.⁵² Од свих стереохемијских дисторзија бакар(II) комплекса најдоминантнији је издужени тетрагонални октаедар, са четири кратке везе у равни и две дугачке везе ван равни (Jahn-Teller-ов ефекат). У октаедарском лигандном пољу девет електрона $Cu(II)$ јона имају електронску конфигурацију $t_{2g}^6 e_g^3$. Електронска конфигурација у e_g нивоу може да буде:



У електронској конфигурацији типа А два лиганда која се налазе дуж “z” осе јаче су заштићена од наелектрисања језгра бакар(II) јона. Сем тога два електрона у d_{z^2} орбитали јаче одбијају два лиганда на оси “z” него што један електрон у $d_{x^2-y^2}$ орбитали одбија четири лиганда на осам “x” и “y”. Због тога су та два лиганда на оси “z” слабије везана и октаедарска структура се издужује у тетрагоналну са две дуже и четири краће екваторијалне везе. У електронској конфигурацији В лиганди који се налазе дуж “z” осе су слабије заштићени од наелектрисања језгра које их јаче привлачи. На тај начин се октаедарска структура искривљује у смислу настанка две краће аксијалне и четири дуже екваторијалне везе (слика 9).



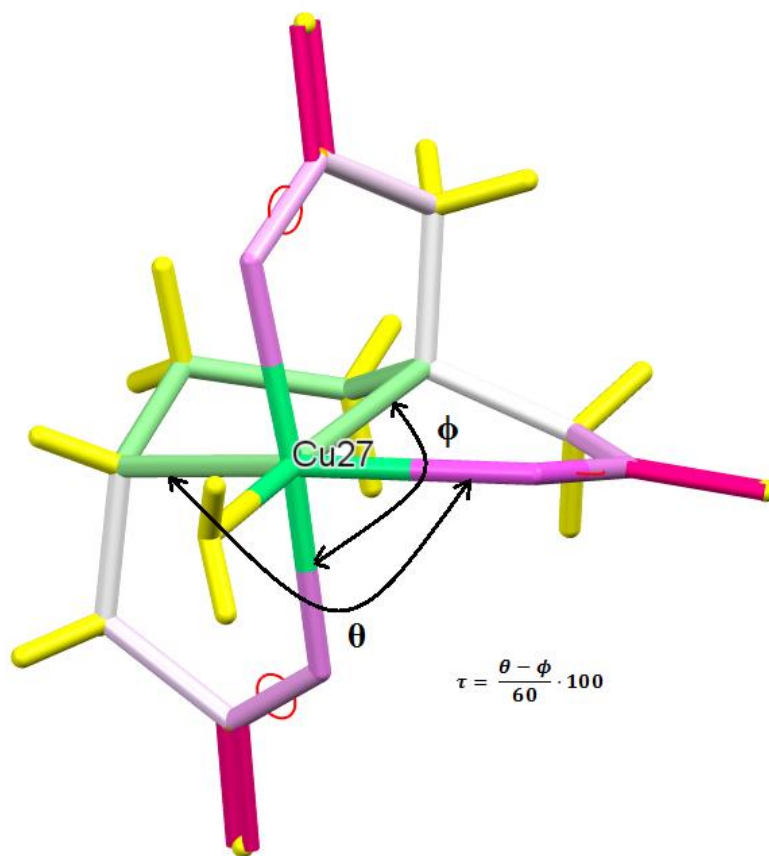
Слика 9. Приказ Jahn-Teller-овог ефекта код Cu(II) јона у октаедарском пољу

У случају комплекса са шест еквивалентних лиганата, као што је комплекс $[\text{NH}_4]_2[\text{Cu}(\text{OH}_2)_6][\text{SO}_4]_2$ ⁵³ уводи се појам тетрагоналности (T)⁵⁴ где је T средња вредност односа дужине веза у равни (R_S) и дужине веза ван равни (R_L) и углавном износи 0.8 ± 0.02 . Код комплекса са нееквивалентним лигандима јавља се ромбична октаедарска структура. Тако комплексни анјон $\text{trans}(\text{O}_5)\text{-}[\text{Cu}(\text{ed3ap})]^{2-}$ има структуру издуженог ромбичног октаедра.²¹ Четири копланарне везе овог комплексног анјона су готово еквивалентне дужине као у случају осталих АПК-типа Cu(II) комплекса.^{35-37,51} Две Cu-O везе у аксијалном положају су различитих дужина (2.26 Å и 2.34 Å) тако да глицинато прстенови у *trans* положају показују неочекивано одступање од уобичајене дисторзије. Вредност за тетрагоналност ($T = 0.859$ израчуната за кисеонике лиганда) је виша од очекиване вредности за тетрагоналне октаедарске комплексе (0.80 ± 0.02). Већи број тренутно доступних података добијених на основу рендгеноструктурне анализе указује да значајан број комплекса издужене ромбичне октаедарске геометрије има T вредности које су у опсегу 0.85-0.95. Један од разлога који условљава већу тетрагоналност су хелатни

прстенови који ограничавају аксијалну елонгацију, мада постоје и комплекси са монодентатним лигандима који имају T вредност реда величине 0.90.⁵³

1. 6. 2 Пентакоординовани бакар(II) јон

Бакар(II)-јон гради велики број комплекса са координационим бројем пет. Пентакоординовани бакар(II) комплекси могу да заузму квадратно пирамидалну (КП) или тригонално бипирамидалну геометрију (ТБП). Потпуно правилна КП геометрија се јавља у мањем броју бакар(II) комплекса са еквивалентним али и са нееквивалентним лигандима^{55,56} и подразумева четири везе у једној равни потпуно исте (нормалне) дужине која се креће око 2.0 Å за кисеоникове или азотове лиганд атоме (везе Cu-O и Cu-N). Код еквивалентних лиганада те везе су нешто дуже и износе око 2.3 Å (пример Cu-Cl везе). Пета веза, ван равни, је за 0.2 до 0.5 Å дужа од поменутих веза у равни. При том се бакар(II)-јон налази ван Cu-L равни за дужину ρ ($\rho = 0.1$ до 0.5 Å) што је у корелацији са дужином Cu-L₅ везе. Уколико је Cu-L веза краћа, ρ је дуже. Као последица свега овога је да су углови између *trans*-лиганада у равни у опсегу од 160-170° и готово никада нису линеарни.^{55,56} Правилна ТБП геометрија се такође јавља у ограниченом броју комплекса бакра(II).⁵⁷ Комплекс [Cu(1,3-pdda)(H₂O)]⁵⁸ који има 5-6-5 комбинацију прстенова у G-равни (Cu-O_{ax} = 2.293 Å; Cu-N = 1.991 Å; Cu-O = 1.954 Å) заузима правилну КП геометрију. Промену дужине веза описује тригоналност τ . Процент тригоналне дисторзије у КП структури представља ангуларну дисторзију τ (слика 10). За већ поменути комплекс [Cu(1,3-pdda)(H₂O)] она је једнака нули. Ипак највећи број структура пентакоординованих бакар(II) комплекса показује одступање од правилне КП и ТБП геометрије (слика 10). Уопштено, дисторзија је ограничена на тригоналну дисторзију квадратно-пирамидалне геометрије и квадратно-пирамидалну дисторзију тригонално-бипирамидалне геометрије.⁵⁹



Слика 10. Пентадентатни квадратно-пирамидални комплексни $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3a})]^-$ ањон⁶⁰

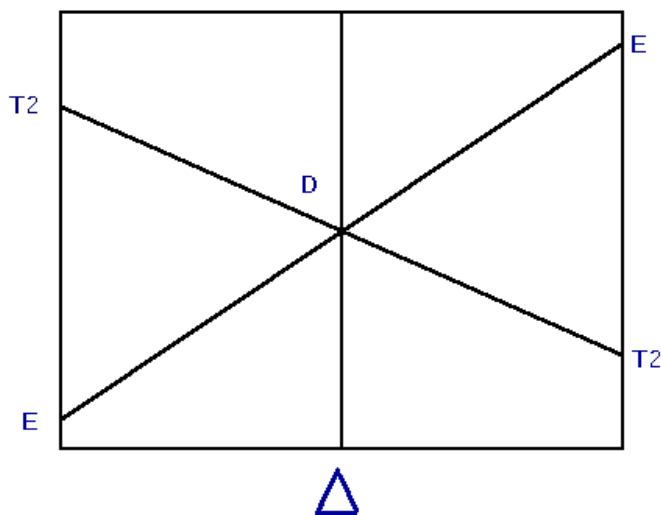
1. 7 Тетракоординовани бакар(II)-јон

Комплекси бакар(II) са координационим бројем четири могу заузети тетраедарску или квадратно-планарну геометрију. У случају тетраедарске координације лиганди се налазе између оса x , y и z , тако да лигандно поље максимално делује на d -орбитале које се простиру између ових оса (d_{xy} , d_{xz} , d_{yz}). У лигандном пољу тетраедарске координације енергетски ниво d -орбитала се цепа управо обратно него у октаедарском лигандном пољу (енергетски виши t_{2g} ниво са орбиталама d_{xy} , d_{xz} , d_{yz} и енергетски нижи ниво, e_g ниво са орбиталама $d_{x^2-y^2}$, d_z^2). Енергија цепања d -нивоа у тетраедарском лигандном пољу дата је односом: $\Delta_{\text{tet}} = -0,45 \Delta_{\text{окт}}$. Правилна тетраедарска геометрија бакар(II)-комплекса ($\theta \approx 109^\circ$) до сада није позната. Углавном се јавља спљоштена тетраедарска геометрија ($\theta < 109^\circ$)

која је присутна и у бакар(II) комплексима са монодентатним и са бидентатним хелатним лигандима.^{61,62} У случају квадратног распореда лиганда око централног металног јона два лиганда или два донорска атома у случају хелатног система се налазе на оси x, а два на оси y. Укупна енергија цепања d-орбитала код квадратно-планарне геометрије је већа него код октаедарске координације: $\Delta_{\text{kvadr}} = 1,3 \Delta_{\text{okt}}$. Квадратно-планарна структура бакар(II) комплекса укључује неке минорне интеракције дуж z-осе на растојању реда величине $>3,0 \text{ \AA}$ и јавља се код комплекса бакра(II) са монодентатним и бидентатним хелатним лигандима.⁶³ У зависности од природе лиганда, односно од његове поларизабилности која диктира јачину лигандног поља зависи и да ли ће неки тетракоординовани бакар(II)-јон да гради квадратно-планарне или тетраедарске комплексе.

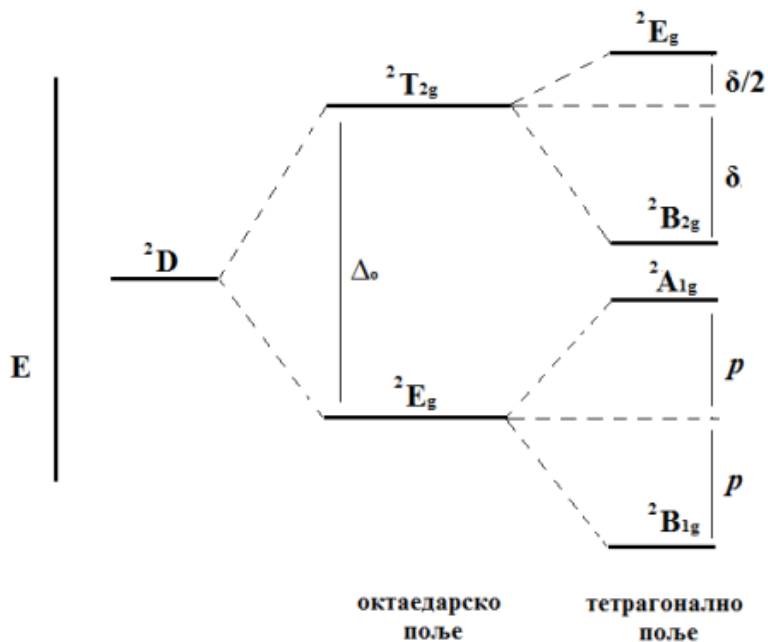
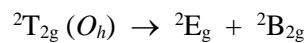
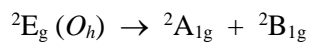
1. 8 Енергетско стање *Cu(II)* у солватном и хелатном окружењу

Апсорпциони спектри $[M(\text{АПК-тип})]^{n-}$ комплекса O_h и D_{4h} молекулске симетрије d-d електронски прелази су, на бази квантно-механичких селекционих правила, забрањени. Међутим ови се прелази у видљивом делу спектра ипак примећују због њиховог купловања са вибрационим прелазима који су анти-симетрични и имају исту симетрију као и оператор диполног момента. За D_{4h} модел, два прелаза у области прве апсорпционе траке и само један у области траке више енергије (E-компонента) су према магнетном диполу, дозвољена за оба, d^3 и d^6 -система. За нецентросиметричну C_2 групу сви очекивани прелази су, према електричном и магнетном диполу, дозвољени.^{64,65} Интерпретација електронских спектра бакар(II) јона је често компликована због ниже симетрије у којој се дати јон обично налази. Ангуларни момент је $L = 2$, а спински мултиплицитет $2s + 1 = 2$, из чега произилази основно стање бакар(II) јона 2D терм. Анализом Оргеловог дијаграма за d^9 систем (слика 11) се објашњава цепање терма у октаедарском и тетраедарском пољу. За правилну октаедарску симетрију електронски апсорпциони спектар одговара прелазу $^2E_g \rightarrow ^2T_{2g}$. Електронски спектар $[\text{Cu}(\text{edta})]^{2-}$ јона као и спектри осталих октаедарских Cu(II) комплекса поседују само једну широку несиметричну траку, а управо асиметричност указује на присуство више компонената. Симетрични квадريدентати дају такође само једну траку али је она симетрична.



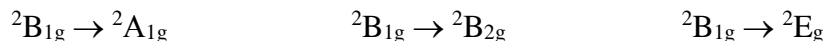
Слика 11. Оргелов дијаграм за Cu(II)-јон d^9 -систем у октаедарском и тетраедарском пољу

Код тетрагоналних комплекса бакра(II) 2E_g и ${}^2T_{2g}(O_h)$ се даље разлажу на по две компоненте (слика 12):



Слика 12. Дијаграм разлагања енергетских нивоа Cu(II)-јона у октаедарском (O_h) и тетрагоналном (D_{4h}) лигандном пољу

Какав ће бити однос енергија тетрагоналних компоненти зависи од тога да ли се ради о издуженој или спљоштеној октаедарској геометрији. Уместо једног ${}^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$ прелаза за случај правилног октаедра O_h симетрије, за тетрагонално дисторговани молекул очекују се три прелаза.



Дисторзија то јест њен облик је по природи тетрагоналан, тако да је издужење или скраћење две аксијалне везе релативно у односу на четири екваторијалне везе. По Jahn-Teller-овој теореме дисторзија се јавља увек када резултујућа подела енергетских нивоа доприноси додатној стабилизацији лигандног поља. Једна дисторгована форма је увек доминантна код статичког Jahn-Teller-овог ефекта. Статички смисао Jahn-Teller-овог ефекта подразумева да је енергија конверзије две или више форми које су претрпеле дисторзију (аксијално спљоштене или издужене) мала да би се оне могле брзо интерконвертовати (тј. да се врате у првобитно стање). Тада су главне димензије молекула сасвим приближне правилном октаедру.

1. 9 Компјутерска хемија

Компјутерска хемија нам даје информације које су комплементарне са експерименталним подацима за структуру, особине и реакције хемијских супстанци. Молекулско моделирање подразумева примену рачунарске хемије за стварање, манипулацију, израчунавање и предвиђање реалистичних молекулских структура, као и предвиђање и симулацију разних биолошких процеса. Рачунарски приступ је подељен у две широке категорије и то на: Квантну механику (QM) (у зависности од примене Шредингерове једначине QM се углавном користи у форми: *ab initio*, DFT (density functional theory) и семиемпиријских метода) и молекулску механику (MM).

1. 9. 1 QM

Ab-initio (lat. *ab initio*) преведено на наш језик значи *први принцип* односно да је метода заснована на основним принципима. У пракси то су принципи QM-а. Основ QM прорачуна лежи у решавању нерелативистичке Schrödinger-ове једначине:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi$$

Једначина 1

где је \hat{H} -Хамилтонијанов оператор, E -енергија атома или молекула а Ψ -таласна функција. Хамилтонијанов оператор за молекулски систем који се састоји од M нуклеуса и N електрона у одсуству магнетног или електричног поља може да се изрази као:

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

Једначина 2

Прва два члана представљају кинетичку енергију електрона и нуклеуса, док преостала три дефинишу потенцијалну енергију Хамилтонијана, односно електростатичке интеракције између нуклеуса и електрона и репулзивна енергија условљен интеракцијама електрон-електрон и нукелус-нукелус на растојањима r и R наелектрисања Z . ∇^2 (nabla) је Laplas-ов оператор и дефинише се као сума диференцијалних оператора (у картезијановим координатама):

$$\nabla^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}$$

Једначина 3

У циљу решења Schrödinger-ове једначине за било који систем сложенији од водоника уводе се различите апроксимације: Born-Oppenheimer-ова, Hartree-Fock-ова и Линеарна комбинација атомских орбитала (LCAO).

Теорија функционала густине (DFT)

Корени DFT теорије су у радовима Thomas-а и Fermi-ја из 1927. године⁶⁶ и у основи енергија основног стања система у коме се електрони крећу може да се изрази директно и само у односу на електронску густину. Hohenberg и Kohn,⁶⁷ су много касније (1964. год.) дошли до релације из које се види да је енергија основног стања одређена искључиво одговарајућом електронском густином $\rho(r)$ (прва Hohenberg-Kohn-ова теорема):

$$E = E[\rho(r)]$$

Једначина 4

друга Hohenberg-Kohn-ова теорема укључује израчунавање енергије следећи варијациони принцип за DFT, односно стање коме одговара енергија за било коју електронску густину у спољашњем потенцијалу, ρ_{trial} , тако да је израчуната енергија функционала виша или еквивалентна оној која одговара тачно одређеној густини основног стања:

$$E[\rho_{\text{trial}}] \geq E[\rho]$$

Једначина 5

На тај начин тачна електронска енергија и густина основног стања могу да се израчунају без примене Schrödinger-ове једначине.

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + v_{\text{eff}}(r) \right) \phi_i(r) = \varepsilon_i \phi_i(r)$$

$$\rho(r) = \sum_i^N |\phi_i(r)|^2$$

Једначине 6-7*Временски зависна теорија функционала густине (TDDFT)*

Временски зависна теорија функционала густине (TDDFT) проширује основно стање теорије функционала густине (DFT) у динамички опис атомских и молекулских електронских прелаза и представља ефикасан рачунски алат за проучавање молекулске спектроскопије.^{68,69} TDDFT може да се посматра као алтернативна формулација временски-зависне квантне механике, где основна променљива није више честична таласна функција већ једно честична електронска густина. Овом методом може се симулирати временски развој електронских система, што дозвољава промене у молекулским својствима током времена под утицајем примењених временски-зависних поља. Код TDDFT-и методе разликујемо два случаја: (1) Случај када је спољашњи временски-зависан потенцијал исувише јак (на пример када материја интерагује са интензивним ласерским пољима), где пуно решење временски зависних Kohn-Sham

једначина мора бити извршено и (2) случај када се за мале спољне потенцијале потпуно бројчано решење временски-зависних Kohn-Sham једначина може избећи коришћењем линеарне теорије одговора.

Основне једначине TDDFT-ија и линеарне теорије одговора

TDDFT линеарна теорија одговора је једна од најкоришћенијих електронски структурних метода за израчунавање вертикалних електронских побуђених енергија.⁷⁰ Тачност најбољих TDDFT метода за прелазне металне комплексе су такве да су грешке често од неколико десетина eV ниже него за једноставне молекуле попут N₂, CO и CH₂O, са грешкама од 0.1 - 0.2 eV. Према теорему Runge-а и Gross-а,⁷¹ време развијања електронске густине $\rho(\mathbf{r}_1, t)$ вишелектронског система у почетном тренутку $t=0$ може се представити одређеном таласном функцијом $\Psi(\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_N, t=0)$ (\mathbf{x}_i су електронске координате). То је, с обзиром на почетно стање таласне функције, густина $\rho(\mathbf{r}_1, t)$ која касније јединствено одређује потенцијал $v_{\text{ext}}(\mathbf{r}_1, t)$ до чисте временски-зависне функције. Са потенцијалом $v_{\text{ext}}(\mathbf{r}_1, t)$, таласна функција $\Psi(\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_N, t)$ развојног система може да постане функционал временски-зависне електронске густине, $\Psi(\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_N, t) = \Psi([\rho], t)$. Другим речима, постоји један-према-један кореспонденција између $\rho(\mathbf{r}_1, t)$, $v_{\text{ext}}(\mathbf{r}_1, t)$ и $\Psi(\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_N, t)$, представљена једначином:

$$\rho(\mathbf{r}_1, t) \leftrightarrow v_{\text{ext}}(\mathbf{r}_1, t) \leftrightarrow \Psi(\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_N, t)$$

Једначина 8

У Kohn-Sham-овом (KS) приступу TDDFT-ија,⁷² густина ρ може бити изражена у орбиталном облику једначином 9:

$$\rho(\mathbf{r}_1, t) = \sum_i^N |\phi_i(\mathbf{r}_1, t)|^2$$

Једначина 9

као збир густина KS орбитала ϕ_i , првих N решења временски зависних једно електронских KS једначина (у атомским јединицама):

$$\left\{ -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_s(\mathbf{r}_1, t) \right\} \phi_i(\mathbf{r}_1, t) = i \frac{\partial}{\partial t} \phi_i$$

Једначина 10

Орбитале $\phi_i(\mathbf{r}_1, t)$ укључују под утицајем KS потенцијал v_s , који се састоји од спољног потенцијала v_{ext} , стандардни Hartree-јев потенцијал v_{Coul} електростатичког одбијања електрона и изменљиво-корелациони (xc) потенцијал v_{xc} :

$$v_s(\mathbf{r}_1, t) = v_{ext}(\mathbf{r}_1, t) + v_{Coul}(\mathbf{r}_1, t) + v_{xc}(\mathbf{r}_1, t)$$

Једначина 11

Временски-зависна KS једначина може бити искоришћена да симулира пуно време развоја густине. Међутим, спољни потенцијал је мали, па понашање система може бити описано пертурбационом теоријом. Линеарни одговор подразумева линеарни одговор густине основног стања на спољну временски-зависну пертурбацију $\delta v_{ext}(\mathbf{r}_1, t)$, на пример, осцилирајуће електрично поље $\delta v_{ext}(\mathbf{r}_1, t)$ укључено у време t_0 :

$$\delta v_{ext}(\mathbf{r}_1, t) = \delta v_{ext}(\mathbf{r}_1) \cos(\omega t)$$

Једначина 12

Временски завијан KS систем ће се повиновати временски-зависној једноелектронској Schrödinger-овој једначини:

$$\left\{ -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_s(\mathbf{r}_1) + \delta v_s(\mathbf{r}_1, t) - i \frac{\partial}{\partial t} \right\} [\phi_i(\mathbf{r}_1) e^{-i\varepsilon_i t} + \delta \phi_i(\mathbf{r}_1, t)] = 0$$

Једначина 13

где орбиталне енергије одговарају KS молекулским орбиталама ϕ_i . Кроз Fourier-ову трансформацију, линеарна густина одговара за фреквенционо-зависан одговор густине $\delta \rho(\mathbf{r}_1, \omega)$ на потенцијалне промене $\delta v_s(\mathbf{r}_2, \omega)$ се може изразити преко једначина 14 и 15:

$$\delta \rho(\mathbf{r}_1, \omega) = \int \chi^s(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \omega) \delta v_s(\mathbf{r}_2, \omega) d\mathbf{r}_2$$

Једначина 14

$$\chi^s(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \omega) = \sum_i^N \sum_{j \neq i} \left\{ \frac{\phi_i^*(\mathbf{r}_1) \phi_j(\mathbf{r}_1) \phi_j^*(\mathbf{r}_2) \phi_i(\mathbf{r}_2)}{\omega - (\varepsilon_j - \varepsilon_i)} - \frac{\phi_i(\mathbf{r}_1) \phi_j^*(\mathbf{r}_1) \phi_j(\mathbf{r}_2) \phi_i^*(\mathbf{r}_2)}{\omega + (\varepsilon_j - \varepsilon_i)} \right\}$$

Једначина 15

ϕ_j и ϕ_i представљају Kohn-Sham-ове слободне и заузете молекулске орбитале које одговарају Kohn-Sham-овим енергијама ε_j и ε_i . Дефинисањем δP_{ij} као:

$$\delta P_{ij}(\omega) = \chi_{ij}^s \delta v_s^{ji}(\omega)$$

Једначина 16

$$\delta \rho(\mathbf{r}_1, \omega) = \sum_{i,j} \delta P_{i,j}(\omega) \phi_i^*(\mathbf{r}_1) \phi_j(\mathbf{r}_1)$$

Једначина 17

и са чланом χ^s једначина 17 се може изразити преко једначине 18:

$$\begin{aligned} \chi^s(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \omega) &= \sum_i^N \sum_a \phi_i(\mathbf{r}_1) \phi_a(\mathbf{r}_1) \phi_i(\mathbf{r}_2) \phi_a(\mathbf{r}_2) \left\{ \frac{1}{\varepsilon_i - \varepsilon_a + \omega} + \frac{1}{\varepsilon_i - \varepsilon_a - \omega} \right\} \\ &= \sum_i^N \sum_a \phi_i(\mathbf{r}_1) \phi_a(\mathbf{r}_1) \phi_i(\mathbf{r}_2) \phi_a(\mathbf{r}_2) \frac{2(\varepsilon_i - \varepsilon_a)}{(\varepsilon_i - \varepsilon_a)^2 - \omega^2} \end{aligned}$$

Једначина 18

(одавде користимо i и j за заузете орбитале, где су a и b узете као виртуелне). Онда елементи $\chi_{ia}^s(\omega)$ у одговору густине функција постају:

$$\chi_{ia}^s(\omega) = \frac{(\varepsilon_i - \varepsilon_a)}{(\varepsilon_i - \varepsilon_a)^2 - \omega^2}$$

Једначина 19

Увођењем промене екстерног, електрон-електрон интеракцијског, Hartree-јевог и хс потенцијала добија се детаљнија једначина 20:

$$\delta P_{ia}^{\sigma}(\omega) = \frac{(\varepsilon_{i\sigma} - \varepsilon_{a\sigma})}{(\varepsilon_{i\sigma} - \varepsilon_{a\sigma})^2 - \omega^2} [\delta v_{ext}^{ia\sigma}(\omega) + 2 \sum_{jb\tau} K_{ia\sigma,jb\tau}(\omega) \delta P_{jb}^{\tau}(\omega)]$$

Једначина 20

(сада су уведени индекси спина σ и τ) где се матрикс купловања састоји од Hartree-ја и хс чланова:

$$K_{ia\sigma,jb\tau}(\omega) = \int \phi_{i\sigma}^*(\mathbf{r}_1) \phi_{a\sigma}(\mathbf{r}_1) \left(\frac{1}{r_{12}} + f_{xc}^{\sigma\tau}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \omega) \right) \phi_{j\tau}(\mathbf{r}_2) \phi_{b\tau}^*(\mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2$$

Једначина 21

са хс потенцијалом језгро постаје функционални дериват од хс потенцијала $v_{xc\sigma}$ у односу на спинску-густину ρ_{τ} :

$$f_{xc}^{\sigma\tau}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, t - t') = \frac{\delta v_{xc\sigma}(\mathbf{r}_1, t)}{\delta \rho_{\tau}(\mathbf{r}_2, t')}$$

Једначина 22

Сређивањем једначина добијају се једначине 23, 24 и 25:

$$\sum_{jb\tau} [M_{ia\sigma,jb\tau}(\omega) + \omega^2 S_{ia\sigma,jb\tau}] \delta P_{jb}^{\tau}(\omega) = \delta v_{ext}^{ia\sigma}(\omega)$$

$$M_{ia\sigma,jb\tau}(\omega) = \delta_{\sigma\tau} \delta_{ab} \delta_{ij} \left((\varepsilon_{j\tau} - \varepsilon_{b\tau}) - 2K_{ia\sigma,jb\tau}(\omega) \right)$$

$$S_{ia\sigma,jb\tau} = \frac{(\delta_{\sigma\tau} \delta_{ab} \delta_{ij})}{\varepsilon_{j\tau} - \varepsilon_{b\tau}}$$

Једначине 23-25

Енергије побуђивања у теорији одговора су карактерисане као полови одговора функција. На правим енергијама побуђивања ω_k , коначна спољна пертурбација $v_{ext}(\mathbf{r}_1, \omega_k)$ доводи до бескрајне промене у густини. За прву једначину у низу матрица у заградама ω_k мора имати вредност нула. Следеће једначине 26 и 27 за ексцитационе енергије ω_k су:

$$\Omega \mathbf{F}_k = \omega_k^2 \mathbf{F}_k$$

$$\text{Где } \Omega = -\mathbf{S}^{-1/2} \mathbf{M} \mathbf{S}^{-1/2}$$

Једначине 26-27

тако да су елементи матрице изражени кроз једначину 28:

$$\Omega_{ia\sigma, jb\tau} = \delta_{\sigma\tau} \delta_{ab} \delta_{ij} (\varepsilon_{j\tau} - \varepsilon_{b\tau})^2 + 2\sqrt{(\varepsilon_{a\sigma} - \varepsilon_{i\sigma})} K_{ia\sigma, jb\tau} \sqrt{(\varepsilon_{j\tau} - \varepsilon_{b\tau})}$$

Једначина 28

Вредности вектора \mathbf{F}_k могу бити искоришћени за израчунавање осцилаторних јачина побуђивања.

ХС Потенцијал

Из једначина описаних у претходном одељку, евидентно је да су KS орбиталне енергије и МО облици важни за хс потенцијал и енергије побуђивања. Будући да тачан облик $v_{xc\sigma}$ потенцијала није познат, разне апроксимације су у употреби. LDA функционал и уопштени градијент функционала (GGA) су стандардне апроксимације у TDDFT-ију. Међутим, LDA и GGA Kohn-Sham-ови функционали имају две велике мане. Прво, сувише су површни у молекулској области. Тако, енергије слободних орбитала које су близу нулте енергије не могу много померити побуђења ових нивоа и теже да буду мање од оних у LDA или GGA функционалима. Друго, KS потенцијали за LDA и GGA немају тачне Coulombic-ве асимпоте $-1/r$. Пребрзи експоненцијални распад ових приближних потенцијала деформише облик дифузних слободних орбитала, и стога даје грешке у интензитетима.

Нови приближан хс потенцијал, v_{xc}^{SAOP} , конструисан статистичким просеком (модела) орбиталних потенцијала (SAOP)⁷³ доноси значајан напредак у израчунатим молекулским статичким изотропским поларизабилностима ($v_{xc}^{LDA} < v_{xc}^{BP} < v_{xc}^{SAOP} < v_{xc}$).⁷⁴ У софистициранији SAOP потенцијал v_{xc}^{SAOP} улази модификован van Leeuwen-ов и Baerends-ов потенцијал, $v_{xc\sigma}^{LBa}$, као један од његових компоненти,⁷³ који користи различите потенцијале модела, $v_{xc\sigma}^{mod}$, за

различито окупиране KS орбитале, $\phi_{i\sigma}$, где их комбинује у $x\sigma$ потенцијал са статистичким просеком преко орбитала:

$$v_{x\sigma}^{\text{SAOP}}(\mathbf{r}_1) = \sum_i^N v_{x\sigma i}^{\text{mod}}(\mathbf{r}_1) \left[\frac{|\phi_{i\sigma}(\mathbf{r}_1)|^2}{\rho_{\sigma}(\mathbf{r}_1)} \right]$$

Једначина 29

Орбитални потенцијали $v_{x\sigma i}^{\text{mod}}$ су добијени следећом једначином 30:

$$v_{x\sigma i}^{\text{mod}}(\mathbf{r}_1) = e^{-2(\varepsilon_{N\sigma} - \varepsilon_{i\sigma})^2} v_{x\sigma i}^{\text{LBa}}(\mathbf{r}_1) + [1 - e^{-2(\varepsilon_{N\sigma} - \varepsilon_{i\sigma})^2}] v_{x\sigma i}^{\text{GLLB}}(\mathbf{r}_1)$$

Једначина 30

$v_{x\sigma i}^{\text{LBa}}$ има одговарајуће Coulombic-ве асимпоте (нпр. $-1/r$) у спољној области и потенцијал $v_{x\sigma i}^{\text{GLLB}}$ од стране Gritsenko-a, van Leeuwen-a, van Lenthe-a и Baerends-a (GLLB)⁷⁵ и тачно описује атомске структурне љуске у унутрашњим областима. Стога, $v_{x\sigma i}^{\text{SAOP}}$ обезбеђује уравнотежену апроксимацију KS потенцијалу $v_{x\sigma}$ у свим областима.

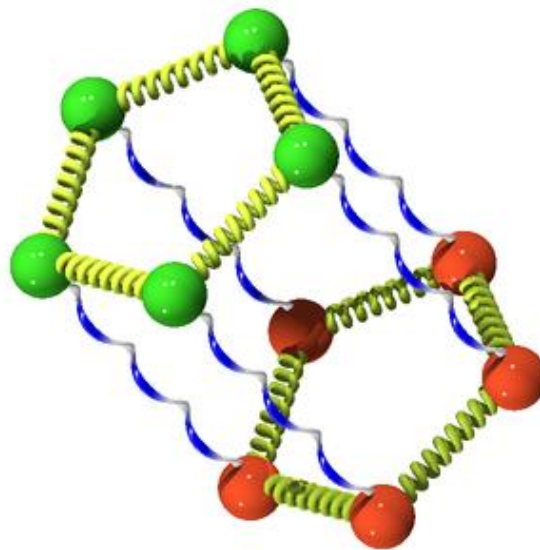
1. 9. 2 Семи-емпиријске методе

Данас се на различите начине, на основу упрошћене Hartree-Fock-ове апроксимације, дефинишу различите семиемпиријске методе: уводи се компјутационо време приликом решавања N^4 интеграла; користе се апроксимације за лакше израчунавање корелационе енергије; узимају се у обзир само валентни електрони; занемарују се неки интеграл; користи се минимални базни сет и слично. На тај начин долази до промене Хамилтонијана тако да коришћена параметризација репродукује експерименталне податке. Најчешће коришћене семиемпиријске методе су: Austin Model 1 (**AM1**) и Parametric Method 3 (**PM3**). Тренутно највећу примену имају SAM1 и MOPAC (**PM6**) методе. Различито одређени Хамилтонијани углавном се разликују у домену зависности од коришћених e^-/e^- репулзија. Семиемпиријске методе су врло брзе, погодне за велике молекуле, а дају добре квалитативне а често и квантитативне резултате. Најчешће су погодне за израчунавања у растворима (најпогоднији су водени раствори). Једна од непогодности је што је немогуће

извршити параметризацију свих атома. Такође постоје ограничења у односу на основно стање равнотежних геометрија.

1. 9. 3 ММ: Емпиријске Force Field Metode

ММ рачуна енергију система само као функцију положаја језгара без узимања у обзир електронских кретања, и као таква се обично користи да обавља прорачуне на биолошким системима који обично укључују макромолекуле у њиховом кондензованом окружењу. Додатно, да проуче својствену динамичку природу биомолекула и мобилност њихових окружења, захтева се израчунавање енергија значајног броја конформација. ММ је заснована на емпиријским енергетским функцијама са релативно једноставним условима да опише основне физичке интеракције које усмеравају структуру и динамичке карактеристике молекула и због тога може да испуни захтеве тражене компјутерским истраживањима биолошких система. ММ, у неким случајевима, може дати карактеристике које су тачне колико и квантно-механичке калкулације највишег нивоа, на рачун компјутерских трошкова. Међутим, да би моделирали молекулска својства која зависе од електронске расподеле, неопходна је пажљива параметризација. ММ⁷⁶ се базира на математичком моделу молекула као скупа кугли, које одговарају атомима а држе се међусобно опругама, које представљају везе (слика 13). Унутар система овог модела енергија молекула се мења са променом геометрије зато што се везе опирају истезању или савијању у односу на природну дужину веза и углова у молекулу, као што се кугле опирају када су сувише близу једне других. На тај начин је математички модел врло близак енергетски молекулским моделима од пластике или метала: модели се опирају дисторзији (могу се поломити) у односу на природну геометрију која одговара правим дужинама веза и угловима. ММ модел је дакле класична механика примењена на молекул тако да потпуно игнорише присуство електрона и наравно орбиталне интеракције, а атоми су сфере одређене масе међусобно повезани везама одређених дужина и углова, диједарским угловима, Van der Waals-ових силама, електростатичким интеракцијама и сл.



Слика 13. Молекуларно механички приказ молекула (force field метода)

У принципу ММ тежи да изрази енергију молекула као функцију његовог опирања истезању молекула и његовом савијању и да искористи ову енергетску једначину да одреди дужине веза и углове за геометрију минималне енергије. Другим речима, ММ користи механички модел молекула да пронађе геометрију минималне енергије (за флексибилне молекуле то су геометрије различитих конформера) (слика 13). Облик математичког изражавања енергије и параметри су одређени јачином поља тако да се често ММ назива и **force field** метода или метода поља силе. Концепт везе у ММ који не сагледава електронске особине молекула ипак је веома користан и за израчунавања везана за електронску структуру. Историјски ММ има почетке у покушајима да се добију квантитативне информације о хемијским реакцијама у доба када је могућност квантитативних израчунавања квантне механике на нивоу не вишем од молекула водоника. Битан допринос развоју ММ су дали Schleyer⁷⁷ и Allinger⁷⁶ шездесетих година прошлог века серијом ММ програма (од ММ1 до ММ4). ММ се користи углавном за израчунавања геометрија и енергија за мале (C1 до C10) и средње (C11 до C100) органске молекуле. **Sybyl** ММ програм је несумњиво једна од највише коришћених метода за компјутерско одређивање конформација и енергија биолошких молекула као што су протеини и нуклеинске киселине. ММ се користи да се одреди логична полазна структура (награди се молекул у графичком едитору) и даље се оптимизује ММ-ом. Добијена

структура може да послужи као основа за израчунавања *ab initio*, DFT и SE методама. Када су у питању ММ прорачуни за мале и средње молекуле за њих је карактеристично да су брзи и могу да буду веома прецизни. Такав је Merck Molecular Force Field (MMFF) који је имплементиран у софтверским пакетима SPARTAN и MOE. Комерцијални програм AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement) се користи не само за израчунавања геометрија и енергија, већ и за симулацију молекуларног кретања (област молекуларне динамике (MD))⁷⁸ и израчунавања везана за различите конформације и геометрије (нпр. утицај молекула растварача и других малих молекула на макро молекуле) биолошких полимера уз могућност моделирања протеина, нуклеинских киселина и угљених хидрата.

Примена ММ-а

ММ има широку примену и представља неопходан софтверски алат како у раду истраживача у академским институцијама тако и у индустрији а пре свега фармацеутској и хемијској органској. Начелно примену ММ-а можемо пронаћи у: израчунавању геометрија (и можда енергија) малих до средњих (неполимерних) молекула, врло често да би се одредила полазна геометрија за неки други тип израчунавања (*ab initio*);⁷⁹ израчунавању геометрија и енергија полимера (углавном протеина и нуклеинских киселина); израчунавању геометрија и енергија прелазних стања (ретко); помоћи (подршци) органским синтезама; за извођење функције потенцијалне енергије у случају кретања молекула у пољу MD. Све ове примене нису независне. На пример, када хемичар планира синтезу може да користи ММ да одреди вероватну геометрију. Употреба ММ у синтезама је до те мере уобичајена тако да се и не помиње у литератури.

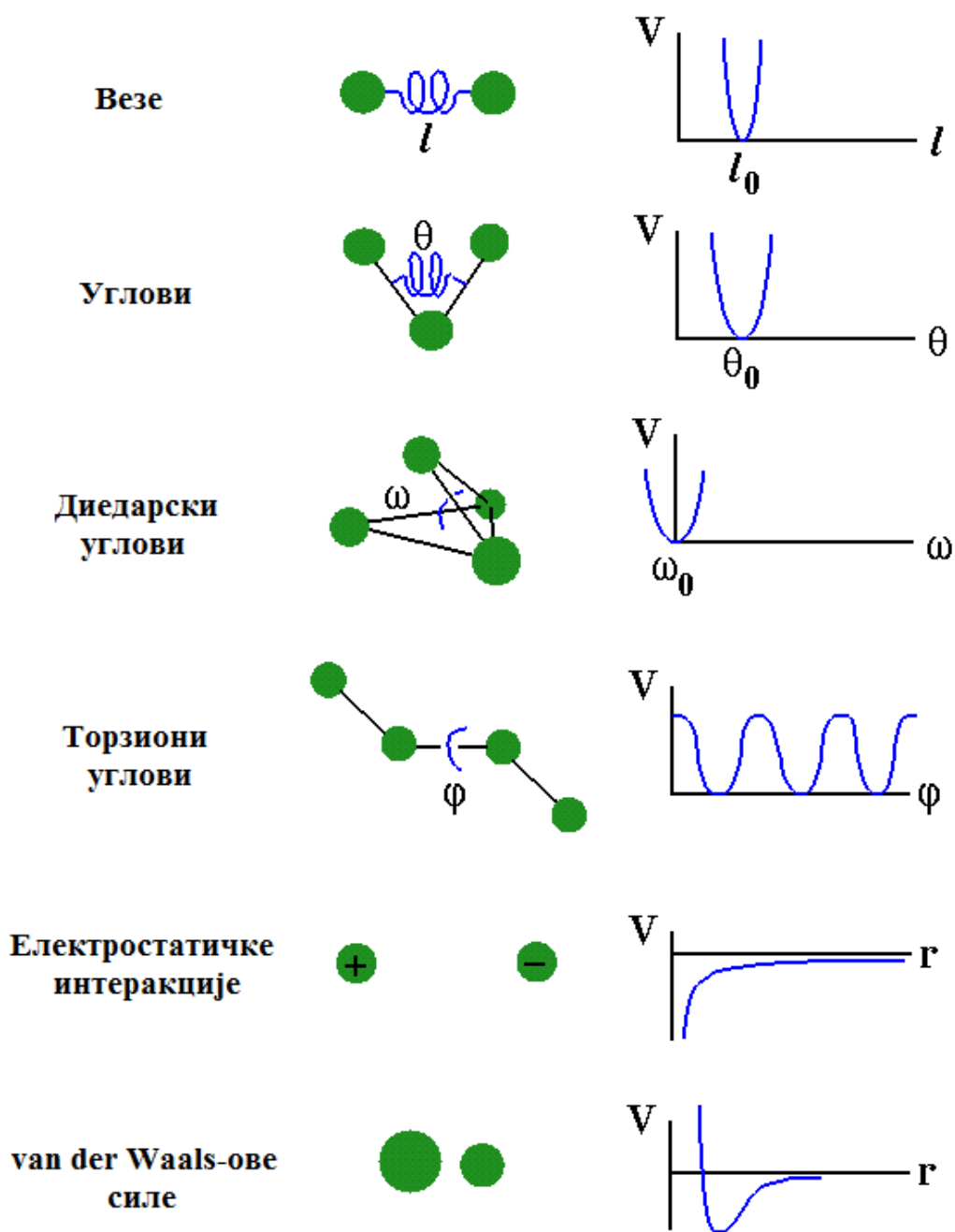
Предности и слабости ММ-а

Као што је већ раније речено ММ је брза, по времену које је потребно за оптимизацију. Међутим брзина није једина предност ММ-а: за ону врсту молекула за коју се врши параметризација ММ може да буде упоредни или одлучујући експеримент у поузданости резултата. Предност ММ је у њеним хардверским захтевима: изузев рада на великим биополимерима, ММ израчунавања на средње опремљеним персоналним рачунарима су

сасвим задовољавајућа. Карактеристика брзине, (фреквенција) прецизност и скромни компјутерски захтеви чине да је ММ веома често метода избора. Због брзине и могућности одређивања параметара за скоро све елементе, ММ чак и када не предвиђа тачну геометрију даје веома добре полазне геометрије (*inpute*) приликом *ab initio*⁷⁹ или DFT израчунавања што се сматра још једном од њених главних предности. Најновија примена ММ програма за израчунавање IR спектра са доста великом тачношћу^{80,81} је важна апликација ове методе, поготову што квантно механичка израчунавања обично изискују много више времена. У основи кључна слабост ММ је што не узима у обзир електроне. Она не може да да информацију о облику и енергијама молекулских орбитала нити изгледу електронског спектра. Такође, параметризација поља урађена за једну врсту једињења не може се применити и на друге класе једињења. Како су молекулско механички програми одређени емпиријским факторима приближно 80% познатих једињења нема потребне параметризационе податке. За поларне молекуле (биомолекули) употреба *in vacuo* структуре може да одведе до погрешних геометрија и енергија. Начин да се превазиђе овај проблем јесте да се додају молекули или јони растварача у испитивани систем.

Једноставно поље силе (Force Field) у молекулској механици

Већина поља силе дизајнирана је да моделира укупну потенцијалну енергију и могу бити представљена релативно једноставном сликом интра- и интер-молекулских сила у систему.⁸² Интра-молекулски чланови су повезани са ковалентно повезаним атомима а интер-молекулски чланови представљају нековалентне или невезивне интеракције између атома (слика 14).



Слика 14. Илустрација принципијелних доприноса у молекулској механици поља силе: истезање веза, савијање угла, торзије и невезујуће интеракције

Укупна потенцијална енергија хемијског система представљена је једначином 31:

$$E(\mathbf{r}^N) = \sum_{\text{везе}} \frac{k_{li}}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{углови}} \frac{k_{\theta i}}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{\text{торзије}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma)) \\ + \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left(4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right) + \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0 r_{ij}}$$

Једначина 31

Различити доприноси су приказани на слици 14. Први члан у једначини моделира везу између два атома користећи хармонијски потенцијал који даје повећање енергије како дужина везе l_i одступа од референтне вредности $l_{i,0}$. Други члан је сума изнад сваког образованог валентног угла који образују три атома где су у молекулу два атома заједнички повезана са трећим, и овде је моделиран једноставном хармонијском апроксимацијом (слика 14). Трећи члан представља торзиони потенцијал који моделира промену енергије у зависности од ротације везе. Четврти допринос је невезујући члан који описује интеракције између свих парова атома (i и j) који су у различитим молекулима или који су у истом молекулу али раздвојени са најмање три везе. Основни израз поља силе обично моделира невезујући члан користећи Coulomb-ов потенцијал за електростатичке интеракције и Lennard-Jones-ов потенцијал за van der Waals-ове интеракције. Софистициранија поља силе могу имати број додатних компоненти, али и она увек садрже ова четири енергетска члана. Предност оваквог представљања лежи у лакшем разумевању утицаја промене параметара у пољу силе на његов учинак. Ово је корисно за параметризацију где се различити чланови могу приписати променама у специфичним унутрашњим координатама као што су дужине веза, углови веза, ротације око веза или кретање атома.

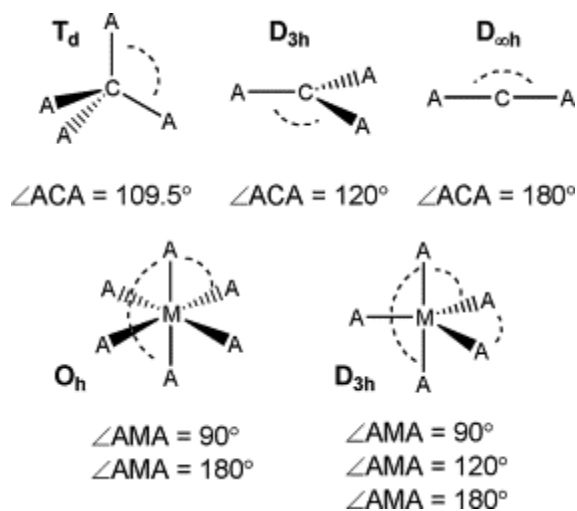
Параметризација поља силе

Параметризација поља није нимало лак задатак. Поље силе може садржати велику колекцију функционалних облика и сродних константи, чак и у израчунавањима када је у питању мали молекулски систем. Може бити компликован и временски дуготрајан процес

чак и моделирање нове класе молекула додавањем неколико параметара у постојеће поље силе. Важно је напоменути да је рад поља често посебно осетљив на неколико параметара, тако да је мудро највише времена потрошити на оптимизацију истих. Први корак у процесу параметризације је селектовање података (нпр. конформације и вибрационе фреквенције). У случају када експериментални податак није доступан или га је тешко добити, квантно механичка израчунавања се често користе да би се добили подаци за параметризацију поља силе. Ово значајно проширује спектар хемијских система који се могу моделирати применом методе поља силе.⁸²

Поља силе код металних комплекса

Различитост геометрија и присуство високо делокализованих веза чине неорганске молекуле тежим за моделирање него што је то случај код органских.



Слика 15. Валенциони углови на централном атому за различите стандардне геометрије⁸³

Најчешће структуре металних комплекса су тетраедарска и квадратно-планарна геометрија код тетра координације, квадратна и тригонална бипирамида код пента координације, и октаедарска и тригонално призматична геометрија код хекса координације. Координациона хемија угљеника је једноставна. Три најчешће геометрије су: тетраедарска, тригонално планарна и

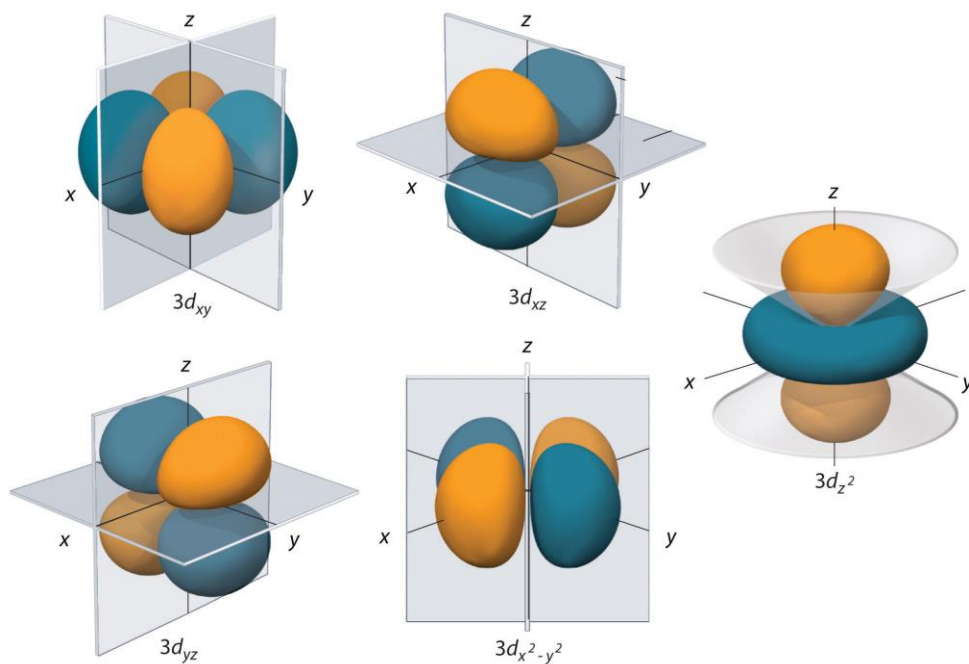
линеарна где свакој одговара један угао: 109.5° , 120° и 180° . Референтна вредност, $\theta_{i,o}$, у једначини која одговара члану угла везе је јасна. Супротно овоме, за уобичајене координационе геометрије попут ОКТ и ТБП, постоји више референтних углова за исту А-М-А тријаду (слика 15). Повећани број лиганда у комбинацији са мноштвом могућих геометрија значајно повећавају проблем додељивања погодних функционалних облика за сваки енергетски члан. Стога, прва препрека на коју се наилази у молекулској механици код система прелазних метала је како описати ангуларну геометрију на металном центру користећи израз за поље силе попут горе поменуте једначине. Ситуација може бити много већи изазов у случају неправилних тетра, пента и хекса координационих комплекса нарочито када валенциони електронски ефекти попут Jahn-Teller-овог ефекта имају значајну улогу у одређивању молекулске структуре.⁸⁴ Поступак везивања око метала од стране Urey-Bradley-ија⁸⁵ може често дати разумне геометрије јер овде нема чланова попут угаоног савијања око метала али постоје услови због парова атома везаних за метал. Стога ММ лигандог поља (LFMM)⁸⁶ представља много префињенији приступ који експлицитно укључује ефекте d-електрона и успешно је примењен у моделирању различитих комплекса прелазних метала.

Молекулска механика лигандног поља (LFMM)

LFMM^{83,84-88} је дизајнирана да моделира електронске ефекте валенционих d и s електрона у једињењима прелазних метала. Ови ефекти могу довести до озбиљних дисторзија који су далеко од идеалних геометрија предвиђених једноставном VSEPR (Valence shell electron pair repulsion) теоријом. Стереохемијска активност d електрона се манифестује у опсегу структурних дисторзија јонских координационих комплекса типичних код Jahn-Teller-овог издужења хекса-координационих d^9 Cu^{2+} једињења. Моделирање ових ефеката захтева додатни члан у потенцијалној енергији који описује стабилизацију енергије лигандног поља (LFSE). LFSE је експлицитно уведен у LFMM методу која је примењена за низ комплекса Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{3+} , Ru^{2+} и Pt^{2+} . Један сет LFMM параметара за дате метал-лиганд интеракције је у стању да моделира различите координационе бројеве и геометрије, спинска стања и дужине веза.^{83,84,87,89}

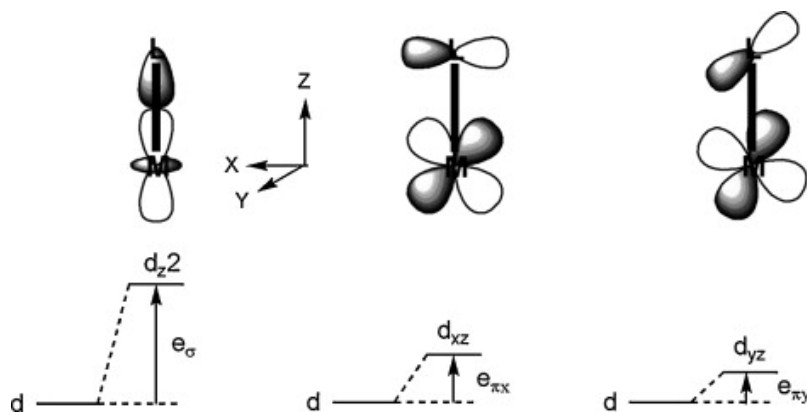
Угаони модел преклапања (АОМ)

Облици d-орбитала су кључни за квалитативне и квантитативне аспекте теорије лигандног поља (Ligand Field Theory = LFT) (слика 16). Одређене магнетне и спектроскопске карактеристике произилазе из електрона у d-љусци које имају круцијалну улогу у хемији прелазних елемената.



Слика 16. Шематски приказ пет d орбитала

Иако теорија валентне везе и теорија кристалног поља (Crystal Field Theory = CFT) адекватно укључују велики број функција, оне имају озбиљна ограничења када описују везивање у координационим једињењима и рационализацији и предвиђању њихових карактеристика.⁹⁰



Слика 17. Дефиниција AOM параметара код локалног M-L везивања⁸³

Концепт који се сада највише користи ради испитивања хемије прелазних метала је једноставан молекулско орбитални (МО) приступ, често називан теоријом лигандног поља (LFT). Појмови који су својствени у једноставном МО приступу формирају основу моћне методе за описивање метал-лиганд везивања у смислу локалних σ и π везујућих интеракција уз задржавање емпиризма у приступу лигандног поља. Поменути концепт познат је под називом угаони модел преклапања (angular overlap model = AOM).⁹¹ AOM дефинише укупни потенцијал лигандног поља као збир појединачних, локалних M-L σ и π везујућих доприноса као што је приказано на слици 17, више него у смислу симетрије комплекса у целини. AOM параметри e_σ , $e_{\pi x}$ и $e_{\pi y}$ могу бити изведени из спектроскопских мерења или подешени помоћу резултата добијених квантномеханичким прорачунима.⁸⁷

LFMM Методологија

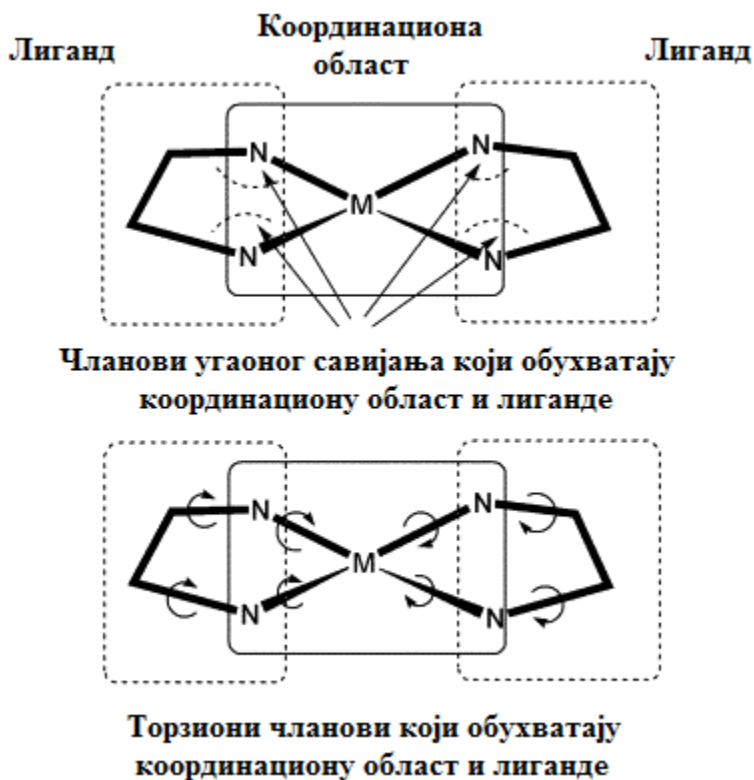
LFMM користи уопштено израчунавање лигандног поља d-орбиталних енергија у циљу процене енергије стабилизације лигандног поља (LFSE). LFSE зависи од комплекса, d конфигурације и спинског стања и може имати значајан ефекат на структурне и термодинамичке карактеристике металних комплекса. С обзиром да је ММ суштински центриран на везу, најпогоднији облик модела лигандног поља је угаони модел преклапања (AOM) који је горе наведен.⁹¹ Свака M-L интеракција је параметризована у смислу локалних везујућих модалитета σ или π симетрије, где сваки модул има додељени сопствени параметар (слика 17).⁸⁷ Укупни потенцијал лигандног поља

је затим конструисан збиром доприноса из сваког везујућег модалитета према свим лигандима и дијагонализацијом резултујуће матрице. LFSE и његови градијенти су тада спојени са мање или више конвенционалном ММ шемом. Укупна потенцијална енергија, $E(\mathbf{r}^N)$, може бити моделирана једноставним доприносом истезања везе, $E_{\text{истезање}}$, савијања угла, $E_{\text{савијање}}$, торзија, $E_{\text{торзије}}$, и невезујућих интеракција, $E_{\text{ни}}$, уколико могу укључивати van der Waals-ове и електростатичке чланове. Основни концепт LFMM-а је укључивање новог члана у израз конвенционалне потенцијалне енергије посебно дизајниран за описивање ефеката LFSE-а:

$$E(\mathbf{r}^N) = \sum E_{\text{истезање}} + \sum E_{\text{савијање}} + \sum E_{\text{торзија}} + \sum E_{\text{ни}} + \text{LFSE}$$

Једначина 32

Другим речима, LFMM спаја конвенционални ММ приступ за органске делове прелазних комплекса са АОМ поступком са LFSE за метални центар. Сваки молекул је подељен на два преклапајућа дела као што је приказано на слици 18 за $[\text{M}(\text{en})_2]^{n+}$ комплекс (en = етилендиамин). Координациона област садржи метал и за њега везане донорске атоме (нпр. MN_4 јединица) и област лиганда који укључује све осим металног атома (нпр. етилендиамински лиганди). LFMM модел се фокусира на координациону област и користи се за разматрање LFSE, М-Л истезања везе (преко Morse-ове функције, једначина 33) и Л-М-Л угла савијања (преко експлицитног L-L члана одбијања). Програм DommiMOE (d orbital molecular mechanics in the Molecular Operating Environment),^{88,92} је дизајниран да искористи постојећа поља силе имплементираних у МОЕ-у, нпр., MMFF,^{93,94,80,95,96} AMBER⁹⁷ и CHARMM⁹⁸ који узимају у обзир све интеракције у лигандној области.



Слика 18. Шематски приказ поделе на координационе и лигандне области и чланови поља силе који обухватају те две области⁸³

Morse-ова функција потенцијалне енергије има облик према једначини 33:

$$V(r) = D_e(1 - e^{-a(r-r_e)})^2$$

Једначина 33

Величина r представља растојање између атома, r_e је равнотежно растојање везе, члан D_e у једначини 33 означава дисоциону енергију.

Недостаји LFMM методе

- 1) Док Morse-ова функција потенцијала може да се апроксимира кроз Taylor-ову серију на постојећим пољима силе, 1,3 L-L интеракције морају да се укључе као спољни SVL (Scientific Vector Language) модул, што захтева употребу спољашњих

параметара. Уместо да L-M-L параметре врате на нулу у докуметима поља силе, развијена је рутина одузимања што омогућава елиминацију M-L и L-M-L доприноса енергије у области поља силе из укупне енергије и градијената и замена праве Morse-ове функције као и погодног 1,3 Van der Vals-овог потенцијала за L-L интеракције; 2) Неколико параметара прелазних метала као и одговарајућих типова атома већ су постојали у оригиналним пољима сила. Због ове чињенице морала су се обезбедити одговарајућа правила везана за погодно означавање и препознавање атома како би се предупредила употреба већ постојећих параметара атома метала за торзионе и невезивне делове. Коришћењем SMILES скрипта који се заснива на повезаности атома уведени су типови атома са експлицитним именом чијим се уношењем обезбеђује најпоузданији приступ рада; 3) Док МОЕ програм омогућава комплетан опис параметара молекула као и опис параметара који недостају стиче се утисак да MMFF94 поље сила не захтева унос параметара истезања и савијања у његовом оквиру пошто МОЕ не пријављује недостајуће параметре а истих нема ни у MMFF94 опису. Заменом квадратног потенцијала истезања везе са Morse-овом функцијом установљена је значајна промена енергије истезања и савијања. Имајући ово у виду делови скрипта поља силе који се односе на параметре истезања и савијања везаних за прелазне метале су избачени док се у разматрање узимају само доприноси истезања и савијања заснованих на молекулу лиганда.

Предности МОЕ програма

МОЕ може послужити за израчунавања енергије комплекса као и LFMM оптимизацију комплекса прелазних метала од d^0 до d^{10} електронског стања (координациони бројеви метала 3-7) ниског и високог спина. Даље, могуће је извршити стохастичку конформациону претрагу, молекулску динамику уз употребу одговарајућег поља силе као и приказ LFMM доприноса орбиталних енергија.

1. 9. 4 Молекулска динамика (MD)

MD је облик рачунарске симулације где атоми и молекули могу да интерагују у одређеном временском интервалу, покоравајући се познатим законима физике. Молекулски системи се генерално састоје од великог броја честица, стога је немогуће аналитички пронаћи

особине тако сложених система. MD превазилази овај проблем користећи нумеричке методе. Чинећи везу између лабораторијских експеримената и теорије, можемо је посматрати као виртуелни експеримент. Компјутерске симулационе методе нам омогућавају моделирање биолошких система у лабораторијским условима и предвиђање њихових особина кроз стварање репрезентативних конфигурација ових малих репликација на такав начин да се могу добити вредности структурних и термодинамичких својстава.^{99,100} Симулација омогућава испитивање понашања атомских и молекулских система од временске зависности, обезбеђујући на тај начин детаљну слику о начину конформационих промена система (слика 19). MD је област рачунарске хемије која путем молекулско динамичких симулација (MDS) омогућава проучавање комплекса и динамичке процесе који се дешавају у биолошким системима. Заснива се на примени MM-а, QM-а као и комбиновањем поменутих метода. MDS представљају одличну апроксимацију за широк спектар система, стога су моћно средство у хемији, физици, биологији и науци о материјалима. Молекулска динамика је корисна и у испитивањима стабилности протеина, конформационих промена, савијања протеина, транспорта јона у биолошким системима и другим процесима који се одвијају у живим системима. Такође, значајно доприносе унапређењу у области дизајна лекова што је од посебне важности у настојањима да се дизајнирају нова једињења побољшаних терапеутских својстава, а смањених нежељених ефеката. Ова техника омогућава природну временску еволуцију система што омогућава предвиђања структурних, динамичких и термодинамичких својстава супстанци директно из основних интеракција између молекула, који пружају сваки детаљ о томе како се систем, сачињен од више делова, мења од једне до друге конформације.^{101,102,82} MD је мултидисциплинарног карактера. Базира се на примени математичких алгоритама и информационе теорије (дисциплина примењене информатике). Настала је у оквиру теоријске физике 1950. године, док се данас углавном примењује у науци материјала и у раду са биомолекулима. MD је специјална дисциплина молекулског моделирања и рачунарске симулације базирана на статистичкој механици. MD полази од *Ергодске хипотезе*¹⁰³ према којој ансамбл конформација добијена праћењем једног молекула током довољно дугог раздобља, одговара расподели конформација у систему с великим бројем молекула. Под појмом ансамбл подразумевамо велики број микроскопски дефинисаних стања система с одређеним константим макроскопским својствима. Ергодска теорија је

праћена ергодским трансформацијама. Нека $T : X \rightarrow X$ представља мерљиво-одрживу трансформацију на мерљивом простору (X, Σ, μ) и претпоставимо да је f μ -интеграбилна функција, нпр. $f \in L^1(\mu)$. Онда се могу извести следеће дефиниције:

Просечно време: које се дефинише као просек итерација T полазећи од неке иницијалне тачке x :

$$f(x) = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \sum_{k=0}^{n-1} f(T^k x)$$

Једначина 34

Просечни простор: ако је $\mu(X)$ ограничен и има вредност нула, можемо узети у обзир простор или фазни просек од f . За простор вероватноће, $\mu(X) = 1$ биће:

$$f(x) = \frac{1}{\mu(X)} \int f d\mu$$

Једначина 35

У принципу величине просечног времена и простора могу бити различите. Али уколико је трансформација ергодска, и мерење инваријантно, онда је просек времена једнако просеку простора скоро у свим случајевима. Први корак у процесу MDS-а представља избор модела који ће се користити за описивање интеракција унутар система и дефинисање услова (на пример, број честица, почетна температура). Друго, неопходно је покренути интеграцију одабиром почетних вредности система (обично су то почетне координате $\{r(0)\}$ и скуп почетних брзина $\{v(0)\}$). Полазећи од задате конфигурације следи фаза уравнотежења, током које систем еволуира од почетне конфигурације. Термодинамичке и структурне особине се морају пажљиво пратити током ове фазе, све док се не постигне стабилност. На крају уравнотежења долази финална фаза, током које може да се израчуна просечна вредност симулације. Коначно, динамички процес симулације се детаљно анализира у конформационом смислу као и зарад добијања жељених термодинамичких параметара.

Микроканонски ансамбл (NVE)

У микроканонском ансамблу не долази до промене броја честица (N), запремине (V) ни енергије (E). Овоме одговара адијабатска промена, без размене топлоте. Динамичка путања молекула одговара промени потенцијалне и кинетичке енергије, док укупна енергија остаје константна.

Канонски ансамбл (NVT)

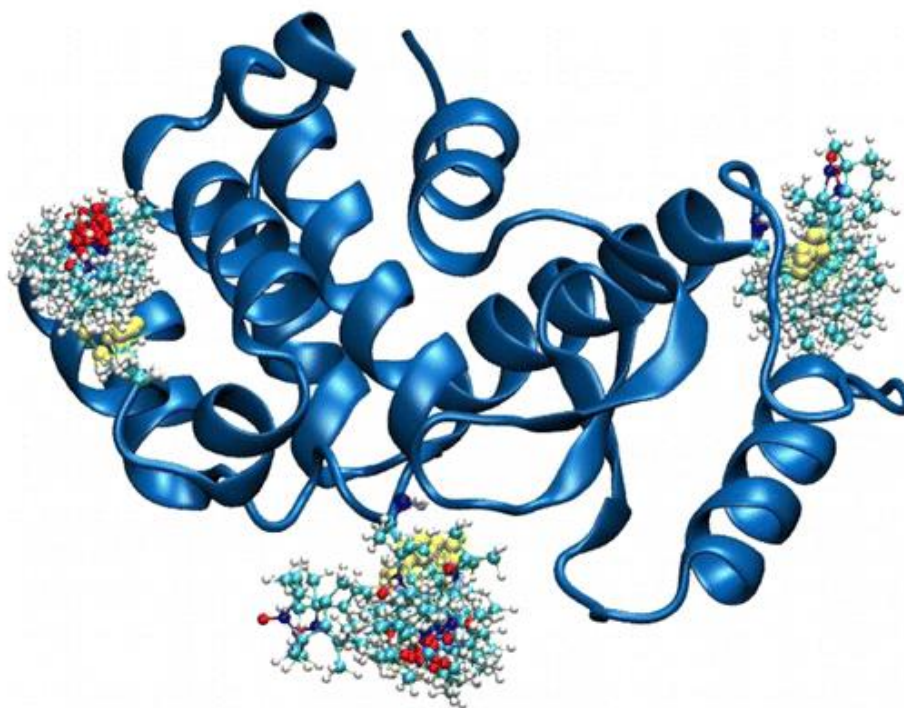
У канонском ансамблу количина супстанце N , запремина V и температура T су константни. Канонски ансамбл се понекад назива MD на константној температури (CTMD). У NVT-у енергија ендотермног и егзотермног процеса размењује се са термостатом.

Изотермско-изобарски (NPT) ансамбл

У NPT ансамблу количина супстанце N , притисак P и температура T су константни. При употреби термостата потребно је користити и баростат. Овакво стање највише одговара лабораторијским условима, отвореног суда на собној температури и притиску.

Генерализовани ансамбли

Метод *replica* измене представља уопштени ансамбл. Првобитно је овај метод био креиран за коришћење система који захтевају спору динамику као и неуређених спинских система. Овај метод се још зове и паралелно усклађивање. Изменом температуре неинтерагујућих реплика система при раду на више различитих температура, реплика измене MD (REMD)¹⁰⁴ на тај начин покушава да превазиђе проблем вишеструких минимума.



Слика 19. Конформација протеин-лиганд комплекса добијена молекулском динамиком

2. Експериментални део

2. 1 Хемикалије и реагенси

Сви комерцијално доступни реагенси били су аналитичког степена чистоће и коришћени су без претходног пречишћавања. Етандиамин, 1,3-пропандиамин, 1,2-пропандиамин, 3-хлорпропионска и 3-хлорсирћетна киселина, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CuCl , МОРS пуфер, динатријумова со батокупродисулфонске (Вс) киселине, азотна и сумпорна киселина (п. а.) добијена су од Fluka-е, Merck-а, Sigma-Aldrich Chemical Co и Panreac-а. Би-дестилована вода је коришћена за припремање раствора.

2. 2 Добијање 1,2-пропандиаминтетрасирћетне киселине, $\text{H}_4\text{1,2-pdta}$

Добијање $\text{H}_4\text{1,2-pdta}$ лиганда заснована је на претходно објављеној процедури.¹⁰⁵ Рацемска смеша $\text{H}_4\text{1,2-pdta}$ киселине или аналогне соли је добијена у добром приносу кондензацијом *dl* 1,2-пропандиамина са натријум хлор ацетатом на 20 °C. IR: $\nu(\text{N-H})$: 2991 cm^{-1} , $\nu_{\text{as}}(\text{COO})$: 1706 cm^{-1} , 1634 cm^{-1} ; $\nu_{\text{s}}(\text{COO})$: 1447 cm^{-1} . Тачка топљења: 254 °C.

Анализа:

За $\text{H}_4\text{1,2-pdta}$; $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_8$ (Mr = 306.26)

<i>Израчунато:</i>	C, 43.14;	H, 5.92;	N, 9.15;
<i>Нађено:</i>	C, 43.06;	H, 5.87;	N, 9.02%.

2. 3 Добијање 1,3-пропандиаминтетра-3-сирћетне киселине, $\text{H}_4\text{1,3-pdta}$ из баријум(1,3-пропандиаминтетраацетата) дихидрата, $\text{Ba}_2(1,3-pdta) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Баријумова со $\text{H}_4\text{1,3-pdta}$ ³⁷ киселине добијена је према процедури Wayh-а и Hamm-а,¹⁰⁶ са минималном модификацијом. Кондензациона смеша 1,3-пропандиамина (15 g, 0.20 mol) и хлорсирћетне киселине (96 g, 0.91 mol) добијена је у воденом раствору калијум-хидроксида, КОН. Награђени калијум-хлорид, KCl уклоњен је цеђењем. Загрејан раствор

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

баријум-хлорида дихидрата, $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (98 g, 0.40 mol у 200 ml H_2O) додат је у смешу, уз мешање на 90°C у трајању од 2 h. Бели талог $\text{Ba}_2(1,3\text{-pdta}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, који је практично у води нерастворљив, одвојен је цеђењем, испран врелом водом и осушен на ваздуху (≈ 100 g). Резултујућа со је ослобођена баријумовог јона додатком еквимоларне количине сумпорне киселине, H_2SO_4 . IR: $\nu(\text{N-H})$: 3017 cm^{-1} , $\nu_{\text{as}}(\text{COO})$: 1733 cm^{-1} , $\nu_{\text{s}}(\text{COO})$: 1630 cm^{-1} . Тачка топљења: 300°C .

Анализа:

За $\text{Ba}_2(1,3\text{-pdta}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ba}_2\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_{10}$ ($M_r = 612.93$)

Израчунато: C, 21.55; H, 2.96; N, 4.57; Ba, 44.81; H_2O , 5.88;

Нађено: C, 21.04; H, 2.63; N, 4.53; Ba, 44.74; H_2O , 5.90%.

2. 4 Добијање етилендиамин-*N,N'*-дисирћетне-*N,N'*-ди-3-пропионске киселине, H_4eddadr

Киселина H_4eddadr добијена је према раније утврђеној процедури.²⁴ 3-хлорпропионска киселина (54 g, 0.50 mol) растворена је у 40 ml воде и охлађена у леду. Охлађен раствор (40 ml) калијум-хидроксида, KOH (28 g, 0.50 mol) додаван је у капима тако да температура не прелази 20°C . Етилендиамин-*N,N'*-дисирћетна киселина (42 g, 0.25 mol) растворена је у 40 ml воде која садржи калијум-хидроксид, KOH (28 g, 0.50 mol) и целокупни раствор додат је изнад описаном раствору. Целокупна смеша загревана је на воденом купатилу на 80°C и додатних 28 g калијум-хидроксида, KOH раствореног у 50 ml воде додато је ради одржавања рН близу 8. Раствор је упарен на 100 ml и охлађен на 0°C . Награђени калијум-хлорид, KCl одвојен је цеђењем. Филтрат је разблажен на 150 ml и рН вредност редукована на 3-4 додатком концентроване хлороводоничне киселине, HCl. Након хлађења образовао се бели талог. Талог је рекристалисан из кључале воде, испран етанолом и ацетоном а затим осушен на 80°C . Принос 25-30%. IR: $\nu(\text{N-H})$: 3024 cm^{-1} , $\nu_{\text{as}}(\text{COO})$: 1706 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} ; $\nu_{\text{s}}(\text{COO})$: 1471 cm^{-1} . Тачка топљења: 169°C .

Анализа:

За $H_4eddadr$; $C_{12}H_{20}N_2O_8$ ($M_r = 320.29$)

Израчунато:	C, 45.0;	H, 6.3;	N, 8.74;
Нађено:	C, 44.9;	H, 6.2;	N, 8.65%.

2. 5 Добијање 1,3-пропандиамин- N,N' -дисирћетне- N,N' -ди-3-пропионске киселине, $H_4l,3-pddadr$

Добијање $H_4l,3-pddadr$ лиганда заснована је на претходно објављеној процедури.³¹ У 40 ml воде раствори се 3-хлорпропионска киселина (60.00 g, 0.55 mol) и хлађена је у леденом купатилу. Охлађени раствор калијум-хидроксида, КОН (30.85 g, 0.55 mol) додат је у капима у 40 ml воде, при чему се води рачуна да температура не пређе 15 °C (раствор I). Раствор II је припремљен додавањем 40 ml воденог раствора калијум-хидроксида, КОН (56.10 g, 1.00 mol) у 40 ml воденог раствора 1,3-пропандиамин- N,N' -дисирћетне киселине ($H_2l,3-pdda \cdot 2HCl$; 65.80 g, 0.25 mol). Раствори I и II су помешани и добијена смеша је рефлуктована на 60 °C уз мешање у трајању од 8 h. Током трајања реакције додаван је у капима раствор калијум-хидроксида, КОН (28.10 g, 0.50 mol) у 80 ml воде како би се рН одржао у опсегу 7-8. Запремина добијеног раствора је упарена на воденом купатилу на 180 ml и остављена да одстоји у фрижидеру преко ноћи. Наталожени калијум-хлорид, КСл је одвојен филтрирањем. У филтрат који се загрева на 80 °C уз енергично мешање дода се топли раствор баријум-хлорида дихидрата, $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ (124.60 g, 0.51 mol у 200 ml воде). Мешање и одржавање температуре на 80 °C се наставило још 30 минута. Смеша се остави да стоји у фрижидеру преко ноћи, а затим се бели талог $Ba_2l,3-pddadr \cdot 8H_2O$ сакупи филтрирањем и испира прво етанолом, а потом етром. Испрани талог се осуши на ваздуху. Принос: 150 g (80.1% у односу на 1,3-pdda лиганд). Овај производ је рекристализован из кључале воде (105 g). $Ba_2l,3-pddadr \cdot 8H_2O$ (105 g) је растворен у врућој води и у њега је у капима додавана еквивалентна количина 2М сумпорне киселине, H_2SO_4 све док се стварао талог баријум-сулфата, $BaSO_4$. Талог баријум-сулфата, $BaSO_4$ је одвојен филтрацијом, а запремина филтрата је упарена на воденом купатилу на запремину од 70 ml и филтрат је остављен да стоји преко ноћи на собној температури. Бели талог је сакупљен

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

филтрацијом, испран етанолом, а затим етром и осушен на ваздуху (30 g). Преостали филтрат је упарен до запремине од 35 ml и остављен да одстоји на собној температури како би се сакупило још талога (10 g). Укупан принос: 40 g $H_41,3\text{-pddadp}$. Овај производ је рекристализован из воде да би се добила чиста киселина. Тачка топљења: 184 °C.

Анализа:

За $H_41,3\text{-pddadp}$; $C_{13}H_{22}N_2O_8$ ($M_r = 334.32$)

Израчунато: C, 46.70; H, 6.63; N, 8.38;

Нађено: C, 46.36; H, 6.55; N, 8.63%.

2. 6 Добијање (1,3-пропандиамин- N,N,N' -трисирћетне- N' -3-пропионске) киселине, $H_41,3\text{-pdЗар}$ (Кондензациона смеша)

Раствор А: Монохлорсирћетна киселина (11.50 g, 0.12 mol) се раствори у 42 ml дестиловане воде и (4.70 g, 0.08 mol) калцијум оксид, CaO се дода раствору. Вредност рН расте од 1.0 до 11.2. Раствор 1,3-пропандиамина (3.11 g, 0.04 mol) је додаван у току 10 минута. Температура је одржавана на 50 °C без додатног загревања. Након 1 h температура је повећана до 70 °C и резултујућа смеша остављена је наредних 5.5 h. Током трајања реакције рН вредност је одржавана на константној вредности (7.5-8.0) додатком калцијум оксида, CaO. На крају реакције, целокупна количина (1.90 g, 0.03 mol) калцијум оксида, CaO је додата. Реакциона смеша се процеди док је још топла да би се уклонио вишак калцијум хидроксида, $Ca(OH)_2$. Реакциона смеша (запремина 50 ml) се састоји од $H_31,3\text{-pdЗa}$ (50%), $H_41,3\text{-pdta}$ (18%) и $H_21,3\text{-pdDa}$ (23%) лиганада. Реакционој смеси додат је натријум-хидроксид, NaOH (9.44 g, 0.23 mol) који је растворен у 15 ml воде. Наталожени калцијум хидроксид, $Ca(OH)_2$ одвоји се цеђењем на вакууму. Раствор добијен растварањем 4.53 g (0.04 mol) 3-хлорпропионске киселине у 10 ml воде охлађен је и пажљиво неутралисан са хладним раствором натријум-хидроксида, NaOH (1.68 g, 0.04 mol) раствореног у 5 ml воде, водећи рачуна да температура раствора не пређе 15 °C. Добијени раствор је потом додат раствору А (рН ~ 7.5). Реакциона смеша се постепено

загревала на 55 °C током 5 часова (pH је одржаван на ~ 8 помоћу натријум-хидроксида, NaOH (1.68 g, 0.04 mol у 5 ml воде). Запремина раствора је одржавана на 50 ml.

2. 7 Добијање (1,3-пропандиамин-*N,N,N'*-тетра-3-пропионске) киселине, *H₄1,3-pdtp* (Кондензациона смеша)

Раствор добијен растварањем 3-хлорпропионске киселине (23.87g, 0.20 mol у 50 ml воде) охлади се у леденом купатилу и пажљиво неутралише хладним раствором натријум-хидроксида, NaOH, (8g, 0.20 mol у 20 ml воде) водећи рачуна при томе да температура не пређе 5 °C. Добијеном раствору се затим дода потребна количина 1,3-пропандиамина (3g, 0.04 mol). Целокупна реакциона смеша се постепено загрева до температуре од 50 °C (док не почне да опада pH вредност смеше) уз мешање и укапавање раствора натријум-хидроксида, NaOH (8g, 0.20 mol у 20 ml воде). При томе се врши контрола pH вредности у интервалу 7-8 у трајању од два дана.

2. 8 Добијање *trans(O₅)-баријум(етилендиамин-*N,N'*-диацетато-*N,N'*-ди-3-пропионато)купрат(II)тетрахидрата, Ba[Cu(eddadp)]·4H₂O*

Комплекс је добијен по поступку описаним у референци.¹⁰⁷ Раствор бакар(II)-хлорида дихидрата, CuCl₂·2H₂O (3.41 g, 0.02 mol у 30 ml воде) се дода у водени раствор H₄eddadp (6.41g, 0.02 mola у 50 ml воде) неутралисаног натријум-хидроген карбонатом, NaHCO₃ (3.36 g, 0.04 mola у 30 ml воде) уз загревање на 65 °C и мешање у току 1 h. Вредност pH смеше се подеси постепеним додавањем натријум-хидроген карбоната, NaHCO₃ на 7 и раствор плаве боје се загрева додатно наредних сат времена. Раствор се затим упари на запремину од 10 ml, обесоли на колони напуњеној Sephadex-ом G-10, а затим нанесе на колону са Dowex 1-X8 (200-400 меша) анјонским измењивачем у Cl⁻ облику (5x60 cm). Колона се испира водом, а затим елуирање настави 0.1 M раствором баријум хлорида, BaCl₂ (брзина: 0.3 ml/min). Елуат плаве боје се упари на 10 ml, обесоли, концентрује на око 3 ml и остави изнад метанола неколико дана. Принос Ba[Cu(eddadp)]·4H₂O: 0.95 g.

Анализа:

За $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddap})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{C}_{12}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{16}\text{BaCu}$ ($M_r = 661.27$)

Изрaчунато: C, 23.22; H, 4.49; N, 4.62;

Нађено: C, 21.80; H, 4.90; N, 4.20%.

2. 9 Добијање баријум(етилендиамин-*N*-ацетато-*N,N',N'*-три-3-пропионато)купрат(II)октахидрата, $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eda3p})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$

Комплекс је добијен по поступку описаним у референци.¹⁰⁷ Киселина $\text{H}_4\text{eda3p}$ је добијена према раније описаном поступку.¹⁹ Бакар(II)-хлорид, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2.56 g, 0.01 mol) се раствори у 15 ml воде и дода у раствор добијен растварањем (5.01 g, 0.01 mol) $\text{H}_4\text{eda3p}$ у 40 ml воде претходно неутралисаног раствором натријум-хидроген карбоната, NaHCO_3 (2.52 g, 0.03 mol у 40 ml воде). Реакциона смеша се загрева на 65 °C уз мешање у току 1 h. Потом се у порцијама додаје чврсти натријум-хидроген карбонат, NaHCO_3 док рН смеше не достигне вредност ~7. Загревање и мешање реакционе смеше на истој температури се продужи још један час. За то време запремина реакционе смеше се одржава повременим додавањем топле воде. Добијена смеша плаве боје се потом процеди. Филтрат се затим упари на малу запремину а потом обесоли техником гел-филтрације (Sephadex G-10). Добијени елуат се нанесе на колону димензија 5x60 cm која садржи Dowex 1-X8 (200-400 меша) анјонски измењивач у Cl^- облику. Колона се потом добро испира дестилованом водом. Након испирања елуирање се настави 0.1 M раствором баријум-хлорида, BaCl_2 (брзина: 0.3 ml/min). Добијене су две траке. Елуати сваке траке понаособ се испаре на мању запремину а потом обесоле и поново концентрују на око 3 ml и оставе у ексикатору изнад метанола неколико дана. Плави кристали друге траке се одвоје и осуше. Принос $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eda3p})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$: 1.1 g (11%).

Анализа:

За $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eda3p})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$; $\text{C}_{13}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{16}\text{BaCu}$ ($M_r = 675.29$)

Изрaчунато: C, 23.20; H, 4.50; N, 4.60;

Нађено: C, 23.20; H, 5.10; N, 4.20%.

2. 10 Добијање *trans(O₆)-баријум(1,3-пропандиамин-N,N'-диацетато-N,N'-ди-3-пропионато)купрат(II)октахидрата, Ba[Cu(1,3-pddadp)]·8H₂O*

Комплекс је добијен према претходно утврђеном поступку коришћењем раствора баријум-хлорида, BaCl₂ као елуента за анијонску хроматографију.³⁵ Раствор бакар(II)хлорид дихидрата, CuCl₂·2H₂O (3.41g, 0.02 mol у 50 ml воде) се раствори (Раствор А). Раствор Б се припреми растварањем киселине H₄1,3-pddadp (6.68g, 0.02 mol у 50 ml воде) која се помеша са раствором натријум-карбоната, Na₂CO₃ (2.12 g, 0.02 mol у 50 ml воде). Раствори А и Б су помешани, а добијена смеша је потом загревана на 65-70 °С уз мешање у току 1 часа. Раствор се остави да одстоји и након тога се подеси рН постепеним додавањем раствора натријум-хидрогенкарбоната на 7. Смеша се затим опет загрева наредна 2 часа. Добијени плави раствор је упарен на запремину од 20 ml, а потом пропуштан кроз колону димензија 5x60 cm која садржи Dowex 1-X8 (200-400 меша) анијон измењивачку смолу у Cl⁻ облику. Колона је затим испрана водом и елуирана 0.05 M раствором баријум-хлорида, BaCl₂ (0.5 ml·min⁻¹). Добијена је само једна трака. Плави елуат се након тога упари на запремину од 8 ml и обесоли проласком кроз Sepadex колону G-10. Као елуент се употребљава дестилована вода. Елуат је упарен на запремину од 5 ml и чуван у фрижидеру неколико дана. Добијени су плави кристали комплекса Ba[Cu(1,3-pddadp)]·8H₂O. Тачка топљења: 234 °С.

Анализа:

За Ba[Cu(pddadp)]·8H₂O; C₁₃H₃₄N₂O₁₆CuBa (Mr = 675.29)

<i>Израчунато:</i>	C, 23.12;	H, 5.07;	N, 4.15;
<i>Нађено:</i>	C, 23.08;	H, 4.98;	N, 4.20%.

2. 11 Добијање *баријум(1,3-пропандиамин-N,N,N'-триацетато-N'-3-пропионато)купрат(II)хексахидрата, Ba[Cu(1,3-pd3ap)]·6H₂O*

Количина од 6.84 g (0.042 mol) бакар(II)-хлорида, CuCl₂·2H₂O је растворена у 15 ml воде и додата је еквивалентној количини смеше П-АПК киселина уз мешање и загревање на 65 °С у трајању од 1 h. Вредност рН се одржавала на 7, додатком раствора натријум-хидроген

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

карбоната, NaHCO_3 у малим аликвотима. Запремина је одржавана додатком вруће воде. Плава синтетисана смеша је потом процеђена. Филтрат је упарен на малу запремину и обесољен техником гел-филтрације (Sephadex G-10 је искоришћен у ту сврху). Резултујући плави раствор се нанесе на колону (5×60 cm) која садржи Dowex 1-X8 (200-400 меша) анјон измењивачку смолу у Cl^- облику. Колона је потом испрана водом и елуирана са 0.1 М раствором баријум-хлорида, BaCl_2 . Добијене су три траке. Елуати су упарени на малу запремину и обесољени проласком кроз G-10 Sephadex колону, са дестилованом водом као елуентом. Прва и трећа трака одговарају $[\text{Cu}(1,3\text{-pddap})]^{2-}$ и $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ комплексима. Друга трака је упарена на запремину од 3 mL и остављена изнад етанола неколико дана. Плави кристали су сакупљени и осушени на ваздуху. Принос: 5.1 g (19.5%) $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Тачка топљења: 217 °C.

Анализа:

За $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{CuBa}$ ($M_r = 625.23$)

Израчунато: C, 23.05; H, 4.51; N, 4.48;

Нађено: C, 23.26; H, 4.54; N, 4.50%.

2. 12 Добијање баријум (1,3-пропандиамин-*N,N,N',N'*-тетра-3-пропионато) купрат(II)трихидрата, $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

У смешу киселина која садржи $\text{H}_21,3\text{-pddp}$, $\text{H}_31,3\text{-pd3p}$, $\text{H}_41,3\text{-pdtp}$ киселине (0.040 mol, 50 ml) додаје се бакар(II)-хлорид дихидрат, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (6.80 g, 0.040 mol). Добија се раствор тегет плаве боје. Вредност рН се регулише натријум-хидроксидом, NaOH , у интервалу између 7 и 8. Раствор се загрева 1h, на 65-70 °C и по завршетку реакције процеди од исталоженог натријум-хлорида, NaCl . Затим се врши обесољавање техником гел-филтрације и у ту сврху се употребљава Sephadex G-10. Добијени елуат се нанесе на колону димензија 5x60 cm која садржи Dowex 1-X8 (200-400 меша) анјонски измењивач у Cl^- облику. Колона се потом добро испере дестилованом водом. Након испирања елуирање се наставља са 0.05 М BaCl_2 (брзина 0.3 ml/мин.). Добијају се две траке. Друга тамно плава трака наелектрисања -2 упарена је на малу запремину и обесољена проласком

кроз G-10 Sephadex колону где се као елуент користи дестилована вода. Елуент је упарен на малу запремину и остављен изнад етанола неколико дана. Добијен је светло плави талог комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdtpr})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Принос: 3.69g (15%). Тачка топљења: 206 °C.

Анализа:

За $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdtpr})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{CuBa}$ ($M_w = 613.26$)

Израчунато: C, 31.64; H, 5.09; N, 6.15;

Нађено: C, 31.54; H, 5.20; N, 6.04%.

2. 13 Елементарна микроанализа

Елементарне микроанализе за C, H и N параметре су рађене у Микроаналитичком одељењу Хемијског факултета, Универзитета у Београду.

2. 14 Електронски апсорпциони спектри

Електронски апсорпциони спектри снимљени су помоћу Perkin-Elmer Lambda double-beam UV-VIS спектрофотометра. За снимање спектра су коришћени водени раствори концентрације $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ са pH вредности приближно 7.

2. 15 Спектри електронске парамагнетне резонанце

Анизотропски EPR спектри снимљени су од 2000 до 4000 G на 120 K са X-траком (9.4 GHz) BrukerEMX спектрометру опремљеним са HP 53150A микроталасним фреквенционим бројачем. Концентрације Cu(II) комплекса које су коришћене за снимање EPR-а у воденом раствору су $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ и раствори су добијени растварањем поликристалних узорака у води. EPR спектри на чврстим поликристалним једињењима снимљени су на 77 K. Модулациона фреквенција износила је 100 kHz а амплитуда 4 Gauss-а.

2. 16 Инфрацрвени спектри

Помоћу спектрофотометра Perkin-Elmer Lambda FTIR 31725K (КВг-техника) су снимљени инфрацрвени спектри у области 400-4000 cm^{-1} .

2. 17 Тачка топљења

Тачка топљења одређена је помоћу Stuart апарата за одређивање тачке топљења са тачношћу ± 1 °C.

2. 18 Рендгенска структурна анализа

Рендгенска структурна анализа комплекса рађена је на дифрактометру типа Bruker SMART APEX CCD применом графитно-монохроматске MoK_α радијације ($\lambda = 0.71073$ Å) на 100 К. Параметри јединичне ћелије одређени су методом најмањих квадрата. Мерени интензитети су кориговани Lorenzov-им поларизационим фактором. Атоми у молекулу тежи од водоника су одређени на бази анизотропних супституисаних параметара. Дефинитивна означавања су урађена на бази SHELXL¹⁰⁸ програма. Обрада дифракционих података и решење кристалне структуре урађено је на Универзитету у Гронингену, у Холандији. За ову сврху употребљени су програми PLUTO,¹⁰⁹ PLATON¹¹⁰ и ORTEP.¹¹⁰

2. 19 Рендгенска структурна анализа за $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdЗар})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Комплекс $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdЗар})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ кристалише у просторној групи $P-1$ трицикличног кристалног система. За одређивање параметара јединичне ћелије употребљено је 6710 измерених рефлексија у области $2.55 < \Theta < 29.47^\circ$. Остали кристалографски подаци и експериментални детаљи дати су у Табели 1.

Табела 1. Кристалографски подаци за $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdЗар})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Емпиријска формула	$\text{Ba}^{2+} \cdot [\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{CuN}_2\text{O}_8]^{2-} \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$
Молекулска тежина	625.23
Кристални систем	триклинични
Просторна група	$P-1$, 2
Параметри ћелије:	
a , Å	7.6461(9)
b , Å	9.013(1)
c , Å	15.459(2)
α , deg	85.607(2)
β , deg	88.547(2)
γ , deg	83.251(2)
V , Å ³	1054.7(2)
Број рефлексија за параметре	6710
Ћелије (2Θ област) (°)	2.55, 29.47
Z	2
ρ_{calc} , g.cm ⁻³	1.969
$F(000)$	622
μ (cm ⁻¹)	29.35
Димензије кристала, mm	0.45 x 0.19 x 0.12
Радијација λ (Mo K α), Å	0.71073
Температура, K	100(1)
$2\theta_{\text{max}}$ (°)	2.64-28.28
Број сакупљених рефлексија	9342
Број употребљених рефлексија	4965
Data with criterion: ($F_o \geq 4.0 \sigma(F_o)$)	4599
$wR(F^2) = [\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]]^{1/2}$	0.0672
$\text{Goof} = S = [\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n-p)]^{1/2}$	1.082
Максимална и минимална висина у коначној ΔF мапи (e ⁻ Å ³)	-1.0, 2.1(1)

2. 20 Рендгенска структурна анализа за $Ba[Cu(1,3-pddadp)] \cdot 8H_2O$

Кристали, зелено-плаве боје, добијени су рекристализацијом из воде. Детаљни кристалографски подаци и експериментални детаљи дати су у Табели 2.

Табела 2. Кристалографски подаци за $Ba[Cu(1,3-pddadp)] \cdot 8H_2O$

Емпиријска формула	$Ba^{2+} \cdot [C_{13}H_{18}BaCuN_2O_8]^{2-} \cdot 8(H_2O)$
Молекулска тежина	675.29
Кристални систем	триклинични
Просторна група	$P-1$, 2
Параметри ћелије:	
a , Å	9.0654(4)
b , Å	12.0273(6)
c , Å	12.0390(6)
α , deg	101.482(1)
β , deg	109.042(1)
γ , deg	95.582(1)
V , Å ³	1197.19(10)
Број рефлексија за параметре	8046
Ћелије (2θ област) (°)	2.41, 29.69
Z	2
ρ_{calc} , g·cm ⁻³	1.873
$F(000)$	678
μ (cm ⁻¹)	25.99
Димензије кристала, mm	0.31 x 0.21 x 0.17
Радијација λ (Mo K α), Å	0.71073
Температура, K	100(1)
$2\theta_{max}$ (°)	2.21-28.28
Број сакупљених рефлексија	10976
Број употребљених рефлексија	5689
Data with criterion: ($F_o \geq 4.0 \sigma(F_o)$)	5418
$wR(F2) = [\sum [w(F_o2 - F_c2)^2] / \sum [w(F_o2)^2]]^{1/2}$	0.0887
$Goof = S = [\sum [w(F_o2 - F_c2)^2] / (n-p)]^{1/2}$	1.061
Максимална и минимална висина у коначној ΔF мапи (e ⁻ Å ³)	-2.1, 2.3(1)

2. 21 Спектрофотометријска мерења

Раствори АПК и Cu(I) припремљени су у MOPS пуферу (pH 7.30; 0.05M) који садрже 0.1 M NaCl који одржава pH вредност и јонску јачину раствора. Бидестилована вода је коришћена за припрему свих раствора. Серије раствора који садрже $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Vcs})_2]^{3-}$ су припремљени мешањем Cu(I)Cl и Na₂Vcs у молском односу 1:2-1:2.5 праћено квантитативним додавањем лиганда. Сваки раствор је разблажен до исте укупне концентрације Cu(I) (100 или 50 μM) и Vcs (200 или 125 μM) са варирајућим укупним концентрацијама лиганда. Кроз растворе је пропуштен азот ради уклањања кисеоника пре мерења у херметички затвореним бочицама у циљу спречавања евентуалних редокс реакција. Апсорпција је праћена у опсегу 380-800 nm. Компетиција за Cu(I) је процењена опадањем апсорбанце на 483 nm у односу на контролни раствор без лиганда. Концентрација Vcs у раствору Cu(I) и Vcs, је увек у ≥ 2 -пута више у односу на Cu(I), осигуравајући да је само $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Vcs})_2]^{3-}$ комплекс формиран. АПК хелат је додат овом раствору у молском односу Cu(I) : L = 1 : 1-6. Раствори су остављени преко ноћи како би се постигла равнотежа. Апсорпциона спектроскопија снимљена је помоћу Cary 300 UV/Vis dual-beam спектрофотометра.

2. 22 Електрохемијска мерења

Мерења цикличне волтаметрије снимљена су помоћу Autolab potentiostat (PGSTAT 302 N). Као радна електрода за мерења цикличне волтаметрије коришћен је стакласти угљеник (GC) са 3 mm унутар и 9 mm спољашњег пречника PTFE рукава. Као референтна електрода коришћена је zasiћена каломелова електрода типа 401 (Radiometer, Copenhagen) и као помоћна електрода коришћена је платинова жица. Радни раствори CuCl₂·2H₂O соли, Ba[Cu(1,3-pdta)],³⁷ Ba[Cu(1,2-pdta)], Ba[Cu(eddadp)]¹⁰⁷ и Ba[Cu(1,3-pddadp)] комплекси су припремљени неколико минута пре коришћења растварањем у 0.1M NaCl. Сва једињења су коришћена у концентрацијама од $1 \cdot 10^{-3}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L. Подаци су сакупљени и анализирани коришћењем Origin 8.1 програма.

2. 23 Биолошки *in vitro* експерименти

2. 23. 1 Изоловање ћелија и култура

Мононуклеарне ћелије (PBMNC) су изоловане из периферне крви три здрава добровољца. Институционални етички одбор је одобрио студију и пре иницијације, добијен је писмени информисани пристанак из свих предмета према Декларацији Хелсинки. Ћелије су изоловане из периферне крви центрифугирањем, 10 минута на $1.000 \times g$, испране три пута и коначно суспендоване у допуњеном медијуму културе RPMI 1640. Ћелијски број и одрживост су одређени коришћењем акридин оранџ/етидијум бромид бојења. Ћелијска линија такође коришћена у овом раду је MRC-5 (здраве ћелије плућа). Ћелије су гајене у Dulbессо-овом модификованом Eagle's-овом медијуму (DMEM) са високим садржајем глукозе (4.5%), допуњене са 10% феталним говеђим серумом, антибиотичким и антимицотским растворима. Све ћелије су одржаване у фласковима (Sarstedt, 25 cm²) на 37 °C, у влажној, стандардној атмосфери од 100% и са 5% CO₂.

2. 23. 2 МТТ оглед

Ефекат АПК хелата на свеже изолованим PBMNC и MRC-5 ћелијским линијама је процењен тетразолијум колориметријским МТТ огледом према упутству произвођача. Ћелије су гајене у микротитар плочи са 96 бунарића ($0.2 \cdot 10^6$ ћелије/бунарић) у присуству различитих концентрација испитиваних супстанци (двострука разблажења из 500 до 8 µg/ml) или у самом медијуму (контрола). Након 24h инкубације на 37 °C у атмосфери од 5% CO₂ и апсолутне влажности, МТТ (5 mg/ml PBS) је додат у сваки бунарић. Ради одрживости, метаболички активних ћелија, тетразолијум соли су редуковане до формазана митохондријалном дехидрогеназом. Након 4h инкубације, 150 µl DMSO је додат у сваки бунарић микротитар плоче, у којима су засејане ћелије, у циљу растварања формазанских кристала. Апсорбанца је мерена на 550 nm помоћу multiplate читача (Zenith 3100, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria). Одрживост је израчуната према формули: $A_{\text{test}}/A_{\text{control}} \times 100$. IC50 вредности (концентрација једињења која узрокује 50%

цитотоксичности) су израчунате не-линеарним регресионим анализама података са ED50plus v1.0 Software-ом.

2. 24 Биолошки *in vivo* експерименти

2. 24. 1 Животиње

За експерименте коришћени су пацови (*Rattus norvegicus*), мужјаци соја *Wistar albino* (2 месеца стари, тежине 210 ± 20 g). Животиње су чуване под стандардним лабораторијским условима (12 h светлост, 12 h мрак и 21 ± 2 °C) у виваријуму Природно-математичког факултета у Крагујевцу. Све животиње су чуване у појединачним пластичним кавезима и добијале су стандардну брикетiranу храну (Ветеринарски завод Земун) и воду *ad libitum*. Експерименти су изведени у складу са Законом о добробити животиња („Службени гласник РС“, број: 41/09) донетим од стране Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде 2009. године, на основу Директиве 86/609 Европске конвенције о заштити кичмењака намењених у огледне и друге научне сврхе (ETS 123). Животиње су подељене у десет група ($n = 5$ по групи) контрола и третиране животиње са бакар(II)-хлоридом раствореним у води за пиће концентрације 560 ppm/L, у трајању од 5 недеља (орално конзумирање). Контролним животињама је давана вода са чесме у истом временском периоду. Све животиње су биле здраве и није било уинулих животиња током експеримента. Концентрација бакар(II)-хлорида у води за пиће која је понуђена животињама утврђена је на основу оралне средње леталне дозе (LD50) за пацове (WHO). Количина воде и раствора бакар(II)-хлорида коју су животиње попиле мерена је сваког трећег дана. Последње три недеље третмана на крају експерименталног периода од пет недеља измерене животиње експерименталних група примиле су комерцијалне лекове (ДПА и Триен) и АПК интраперитоналном ињекцијом (и. п.). Животиње су опијене етром и жртвоване су након 48 h од последњег третмана. Животиње су дисековане на леду, одвојено ткиво јетре испрано је у хладном физиолошком раствору и даље припремано за одређивање концентрације бакра и СР-а.

2. 24. 2 Аналитичке процедуре за узорковање трансминаза

Узорци крви су сакупљени у епрувете без антикоагуланата. Биохемијски параметри одређени су на дан жртвовања животиња. Серум је издвојен центрифугирањем за 10 мин на 4000 rpm. Биохемијска анализа обухватила је одређивање следећих параметара у серуму: активности ензима аланин аминотрансминазе (ALT), аспартат аминотрансминазе (AST) и лактат дехидрогеназе (LDH), као и концентрације CP-а. Активност серумских трансминаза је мерена помоћу autoanalyzer-а коришћењем дијагностичких китова и концентрације церулоплазмине одређене су помоћу analyzer-а Roche Hitachi 911.

2. 24. 3 Припрема ткива за одређивање церулоплазмине

Ткива јетре су уситњена и хомогенизована са Thomas Sci Co. стакленим хомогенизером (Teflon тучак) на 0-4 °C (10% w/v) коришћењем 0.25 M сахарозе, 1 mM EDTA и 0.05 M Tris-HCl раствора и pH 7.4. Хомогенати су центрифугирани (90 мин на 4 °C, 10 000 g) и супернатант је коришћен за CP огледе (analyzer Roche Hitachi 911, Swiss).

2. 24. 4 Одређивање метала у јетри

Да би припремили узорак за анализу свежа јетра (просечна тежина 1.3 g) се пренесе у балон по Kjeldal-у и прелије смешом азотне и сумпорне киселине (1:1). Узорак се остави да одстоји како би се главна оксидација одиграла. Затим се узорак загрева у балону док излазе тамне паре азотних оксида у дигестору. Након тога додаје се поново смеша поменутих киселина у вишку и понови се оксидација. Балон са узорком се охлади и исти прелије троструком количином воде у односу на коришћену смешу киселина. Узорак се поново загреје на пламенику до кључања како би се евентуално ослободили тамних пара азотних оксида. Када престане издвајање тамних пара, охлади се балон и процеди у нормални суд од 25 ml кроз густи филтер папир и допуни водом до црте. Детекција концентрације метала је одређена помоћу ICAP 6500 duo Termo Scientific.

2. 24. 5 Статистичке анализе

Сви подаци су статистички процењени са SPSS/13 software-ом. Резултати су изражени као средња \pm S.E.M. и анализирани факторијалним анализама варијације (ANOVA) коришћењем post hoc Bonferroni/Dunnett's вишеструких анализа, или непараметарским Kruskal-Wallis тестом, где је $p < 0.05$ сматран статистички значајним.

2. 25 Компјутерске методе

2. 25. 1 DFT прорачуни

Сва DFT израчунавања су извођена коришћењем програма Amsterdam Density Functional code version ADF2007.01¹¹¹⁻¹¹³ или ORCA^{114,115} програм система, верзије 2.9. из 2012. године. Након тестирања различитих комбинација функција и базних сетова геометрије бакар(II) комплекса су оптимизоване коришћењем Becke-Perdew (BP86) функционала у спин-неограниченом формализму без ограничења симетрије на структури. Спин-неограничен Kohn-Sham метод је коришћен за све отворене љуске d^9 бакар комплексе у спрези са LDA, Becke-Perdew (BP86) или B3LYP функционалом, Slater-овим типом орбиталних базних сетова ADF (TZ2P) са замрзнутим језгром бакра или Ahlrichs-овим орбиталним базним сетовима (за Gaussian-ове функције свих електрона) за случај ORCA пакета def2-SVP¹¹⁶ или def2-TZVPP.¹¹⁷ За C, H, N и O атоме, Slater-тип орбитални (STO) базни сетови дублетног или триплетног- ζ квалитета са поларизационим функцијама (DZP, TZP, TZ2P) су коришћени. Полазне геометрије су узете из експерименталних рендгенских структура или су преоптимизоване коришћењем MM+ поља силе уграђеним у Hyperchem 7.01 програм,¹¹⁸ са каснијим доприносом веома грубе полазне тачке за DFT оптимизацију геометрија. За C, H, N и O атоме, Slater-ов тип орбиталних базних сетова троструког- ζ квалитета са поларизационим функцијама (TZP) је коришћен. Троструки- ζ са две поларизационе функције TZ2P+ базни сет је коришћен за Cu центар. Овај базни сет је доступан за само прелазне метале Sc-Zn ($Z = 21-30$) и близу је идентичан TZ2P осим за бољи опис d простора (четири радијалне функције за d орбитале осим за три). Ефекти кондензоване фазе су постигнути коришћењем солватационог модела (COSMO, vide infra) зато што су добијене геометрије далеко реалистичније од оних које су добијене у in vacuo оптимизацији.¹¹⁹ Диелектрична константа $\epsilon = 78.4$ (најприближнија води као растварачу) је узета заједно са радијусом растварача од 1.4 Å. Ниво поделе је повећан до ND = 4. ADF-

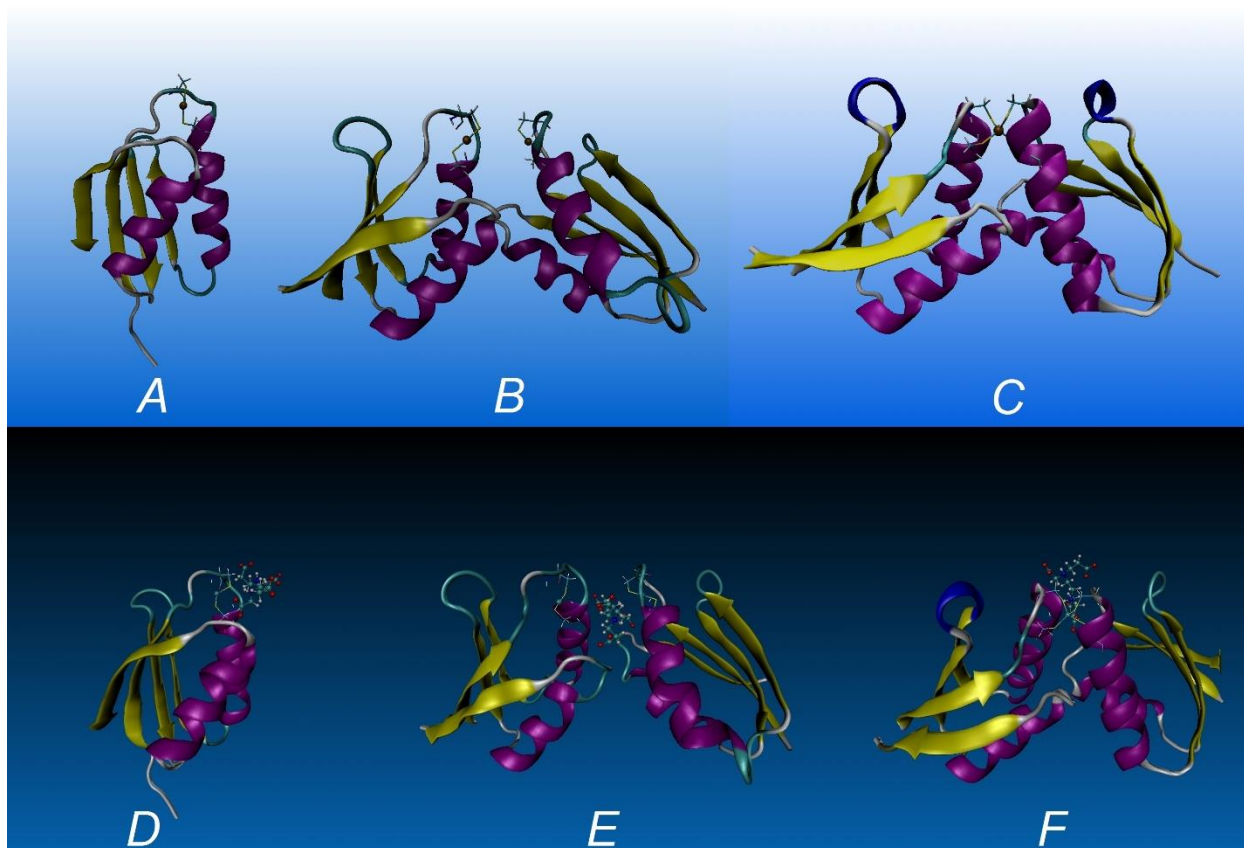
ови параметри су коришћени за све COSMO солватационе параметре, заједно са неоптимизованим Cu(II) атомским радијусом од 2.33 Å. Зато што је Cu(II) окружен са пет или шест лиганата, не очекује се његов утицај на доступној потенцијалној површини услед недостатка растварача.¹²⁰⁻¹²² Унутрашње љуске атома су представљене замрзнутом апроксимацијом (1s за C, N и O и 1s2p за Cu). Фреквенциона израчунавања на истом нивоу теорије потврђује да оптимизоване структуре одговарају стварном локалном минимуму на површини потенцијалне енергије, тј. није било имагинарних фреквенција. Временски завијан DFT (TDDFT) метод за електронске прелазе и NBO излазни file.47 документи су добијени Gaussian09 Rev D.01 програмом.¹²³ За ова израчунавања, коришћен је неограничени B3LYP хибридни функционал и Ahlrich's TZVP базни сет.¹²⁴ За молекулске орбиталне анализе, коришћен је NBO 5.0.¹²⁵ За LFMM израчунавања се користио DommiMOE програм⁸⁸ (додатак MOE програму, верзија 2011.10 и 2013.0801).⁹² Детаљи DommiMOE кода су дати у референци.⁸⁸ LFMM параметри су коришћени у спрези са Merck молекулским FF-ом који је у оквиру MOE-у програма дат као MMFF94x. За конформациону претрагу молекулске динамике некоординованих у потпуности депротонваних лиганата коришћен је LowModeMD¹²⁶ модул имплементиран у MOE програму са уобичајеним параметарским подешавањима. Рендгенске структуре су узете из CSD базе података водећи се њиховим CSD референтним ознакама.

2. 25. 2 Докинг методологија АПК--НАН1 система

Молекулски докинг АПК лиганата симулиран је на различито моделираним тродимензионалним структурама холо-Nah1 протеина. Мономерни холо(бакар)-НАН1 протеин чија је структура одређена у раствору НМР спектроскопијом (PDB код 1fd8),¹²⁷ искоришћен је за моделирање прва два система (слика 20, D и E). За моделирање трећег холо-Nah1 система узета је 3D структура одређена рендгенском структурном анализом (PDB код 1fee) у којој је однос бакар:протеин = 1:2 (слика 20, F). Докинг процеси су спроведени применом Autodock 4.2 софтвера опремљеним графичким интерфејсом (GUI) Auto-DockTools (ADT 1.5.6rc3).¹²⁸ ADT је искоришћен за подешавање холо-протеина и молекула АПК хелата. У случају протеина сви молекули воде су уклоњени и након тога су израчунате Gasteiger-ове шарже тешких атома. Затим су поларни атоми водоника додати а неполарни атоми водоника припојени атомима угљеника. Фаворизоване

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

конформације АПК лигананда (у облику $H_2edta-tip^{2-}$ zwitter јона) добијене су конформационом претрагом користећи за ту сврху молекулску динамику ниског степена МОЕ програма. Оптимизоване 3D структуре и Millikan-ове атомске шарже фаворизованих конформација АПК лигананда добијене су на нивоу B3LYP/6-31G*/PCM(вода) прорачуна. Pdbqt структурна документа лигананда су генерисана коришћењем Rascoon софтвера¹²⁹ како би задржале оригиналне NPA шарже. ADT је такође употребљен за генерисање докинг инпут докумената.



Слика 20. Почетне и доковане структуре холо-протеина у истраживањима MD: А и С одговарају рендгенским структурама са PDB кодовима 1fd8 и 1fee; В структура је мануално креирана полазећи од 1fd8 структуре и служећи се алатима VMD¹³⁰ програма; D, E и F представљају структурне системе одговарајућих АПК киселина докованих на поменуте протеине

У свим докинг експериментима је коришћена кутија величине $60 \times 60 \times 60$ тачака у x , y и z правцима, а за центар мапе је узиман атом(и) бабра. Размак решетке од 0.375 \AA (приближно четвртина дужине угљеник-угљеник ковалентне везе) и функција удаљености

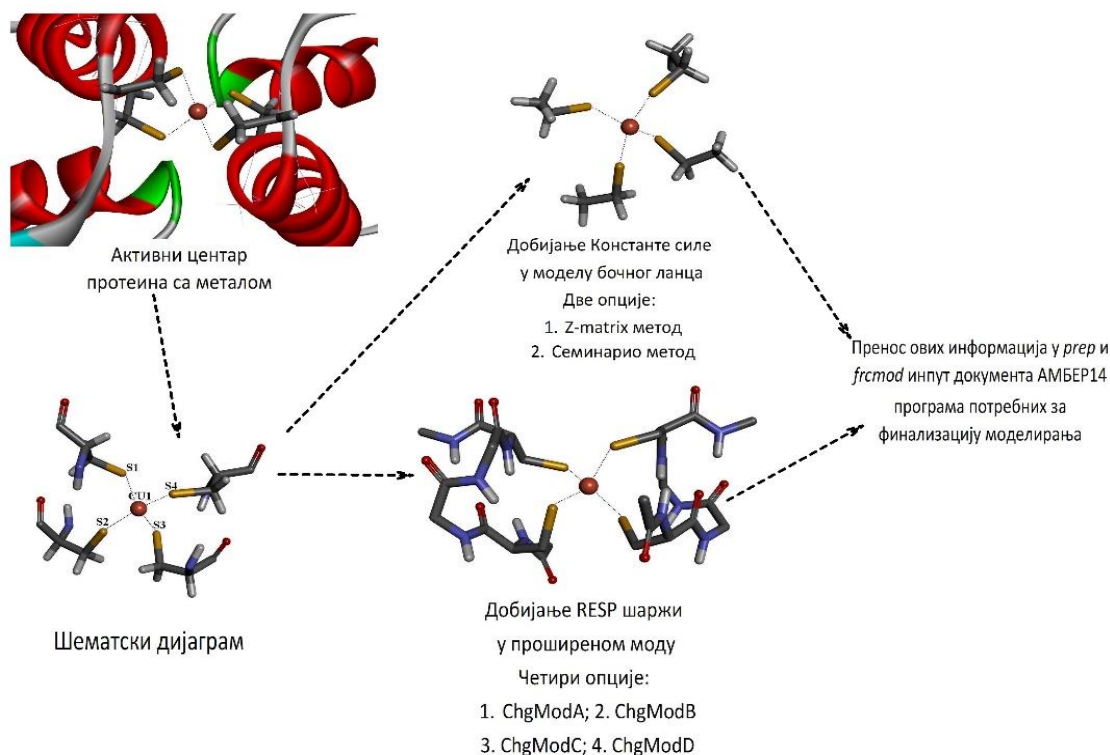
диелектричне константе су коришћени за израчунавање енергетских мапа. Педесет рачуна генерисано је употребом Lamarckian Genetic Algorithm претраживача. Уобичајена подешавања су коришћена са почетном популацијом од 150 насумично постављених јединица, са максималним бројем од $2.5 \cdot 10^5$ енергетских евалуација и максималним бројем $2.7 \cdot 10^4$ симулација. Одабране су стопе мутације од 0.02 и 0.8. Слободне торзије су примењене за све АПК zwitter јоне. За сваку доковану АПК киселину узете су 3D позиције са најбољим резултатом слободних енергија везивања (ΔG) вишеструког доковања истих једињења.

2. 25. 3 Молекулско динамичке симулације

AmberTools15¹³¹ је коришћен за структурна моделирања и анализирање података док је pmemd.cuda^{132,133} у AMBER14¹³⁴ коришћен у MD симулацији. Полазне структуре система (слика 20, D-F) холо-НАН1---АПК су узете полазећи од енергетски фаворизованих структура добијених горе описаним поступком доковања. МСРВ.ру приступ¹³⁵ је коришћен у циљу параметризације протеина који садрже бакар(I). Одговарајући холо-НАН1-[L], холо-НАН1-[L]-холо-НАН1 и холо-НАН1(димер)-[L] (L = 1,2-pdta, 1,3-pdta, 1,3-pddadp и eddap) системи су параметризовани и симулирани у MM/MM режиму. Промене слободне енергије протеин-лиганд везивања ΔG (употребом MMGBSA и MMPBSA методе) одређене на начин као што је описано у даљем тексту. За QM прорачуне у процесу параметризације коришћен је Gaussian09 Rev D.01.¹²³ Уско језгро протеина који садржи метални центар оптимизован је користећи B3LYP функционал. У овом смислу сви прорачуни су рађени у синглетном мултициплитету. Употребљен је базни сет дељене-валенце 6-311++G** за C, H, и S атоме док је у случају Cu(I) примењен у пракси проверен унапређени двоструки-зета Ryde-ов DZpdf базни сет.¹³⁶ Након тога је МСРВ.ру (Metal Center Parameter Builder), програм, заснован на python програмском језику, у оквиру AmberTools15 пакета коришћен за добијање параметара поља силе веза и углова које се односе на централни Cu^+ јон на основу QM прорачуна. Равнотежна растојања везе и вредности углова су добијени на основу оптимизоване структуре, док су константе силе добијене на основу Cartesian-ових Hessian матрица применом Seminario методе (слика 21).¹³⁷ Торзиони параметри који се односе на централни јон метала су третирано као нулти. Merz-Kollman-ова популациона анализа¹³⁸ је извршена да би се добио

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

електростатички потенцијал на основу оптимизоване структуре, током које је VDW радијус Cu(I) јона третиран са вредношћу 1.214 Å, преузет из јонског сета параметара за TIP3P модел воде¹³⁹ од Li-ија и сарадника.¹⁴⁰



Слика 21. Општа шема параметризације металног центра MCPB.py методом

Сви АПК лиганди параметризовани су коришћењем алата садржаних у AmberTools15 програмском пакету. Antechamber програм¹⁴¹ је коришћен за RESP (restrained electrostatic potential) подешавање шарже хелатних лиганата употребом AM1-BCC семи-емпиријског метода. Атоми су били третирани коришћењем Општег Амбер Поља Силе (GAFF, верзија 1.8).¹²⁸ Софтверски алат AmberTools15 parmchk2 је употребљен за израчунавања параметара веза, углава и торзија. Протеински систем је симулиран уз употребу параметара ff14SB поља силе. Квалитет добијеног поља силе за центре који садрже бакар као и за лиганде тестиран је на основу прорачуна RMSD вредности између QM оптимизоване и MM минимизиране структуре. MM минимизирање је извршено помоћу НАБ (Nucleic Acid Builder (NAB)) модула у оквиру AmberTools15 програма. Прва минимизација је изведена употребом кођугованог алгоритма минимизације са

Е К С П Е Р И М Е Н Т А Л Н И Д Е О

критеријумом конвергенције енергетског градијента од $5 \cdot 10^{-5} \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-1}$ и максимално 20000 корака, затим још једно минимизирање извршено помоћу Newton-Raphson алгоритма са критеријумом конвергенције енергетског градијента од $2 \cdot 10^{-12} \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-1}$ и максимално 50 корака. На основу параметризације активних центара протеина 1fd8 и 1fee као и АПК лигананда, RMSD вредности ММ минимизираних система и R2 фактори линеарног слагања дати су у Табели 3. Из Табеле се може видети да су оба показатеља у опсегу вредности које указују на веома добру параметризацију испитиваних система.

Табела 3. Квантитативни и квалитативни показатељи параметризације система

Систем		RMSD(Å)	R2
1fd8-L	1fd8	0.2062	0.9973
	12-pdta	0.1704	0.9963
	1fd8	0.3938	0.9778
	eddadp	0.1417	0.9978
	1fd8	0.3446	0.9835
	1,3-pdta	0.4281	0.9795
	1fd8	0.3131	0.9874
	1,3-pddadp	0.1193	0.9989
1fee-L	1fee	0.2835	0.9945
	12-pdta	0.2000	0.9944
	1fee	0.1765	0.9938
	eddadp	0.1331	0.9978
	1fee	0.2707	0.9991
	1,3-pdta	0.1511	0.9971
	1fee	0.4445	0.9831
	1,3-pddadp	0.4611	0.9768

Молекулско Динамичке Симулације. Правоугаона кутија TIP3P34 са водом као растварачем (D:60.320 Å x 81.908 Å x 65.657 Å; E: 72.964 Å x 80.529 Å x 70.400 Å; F: 87.298 Å x 75.097 Å x 62.331 Å) се користила за солватацију система молекулима воде најмање 1.5 Å удаљеним од протеина. Негативно наелектрисање F система неутралисано је присуством 4Na^+ јона са VDW параметрима преузетим од Li-ија.¹⁴² Геометрија солватисаног протеин-лиганд комплексног система оптимизована је кроз четири фазе минимизације. Извршено је 1000 корака најригорозније минимизације, као и 1000 корака коњуговане минимизације за сваку од прве три фазе. Ограничење од $200 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-2}$ је додато свим атомима у протеин-лиганд комплексу у првој фази, тешким атомима у протеин-лиганд комплексу у другој фази, а леђним C, CA и N атомима у протеину и тешки атоми у комплексу у трећој фази. Четврта фаза минимизирања извршена је у 2000 корака најригорозније

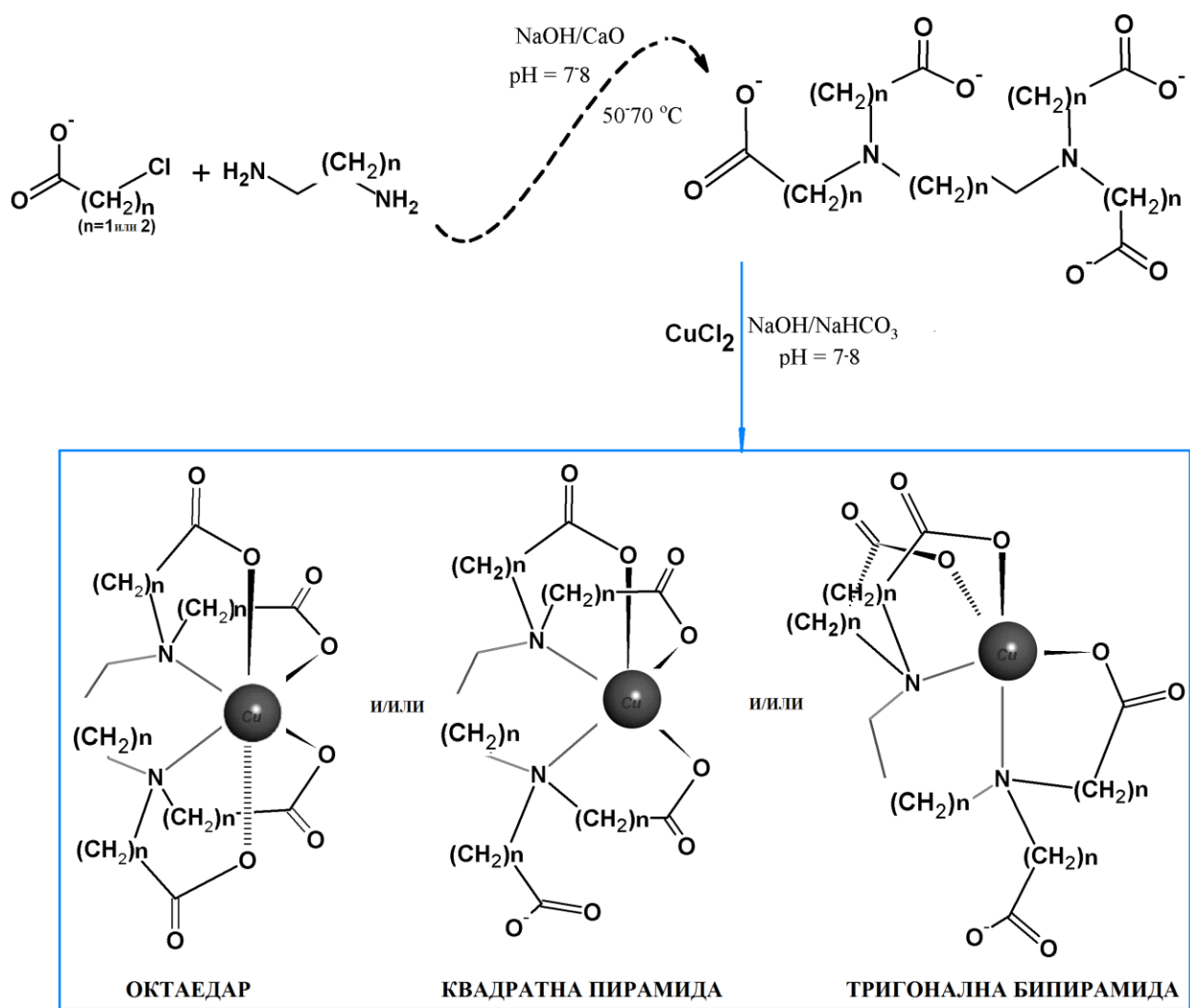
минимизације и после тога 3000 корака коњугованог минимизирања са $20 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-2}$ ограничења леђних N, CA и C атома, као и тешких атома у лигандима. Након тога MDS у трајању од 1 ns је изведена у NVT условима како би се систем загрејао од 0 до 300,00; затим је систем уравнотежен за време од 1 ns на 300,00 K, такође у NVT условима. Да би се урадила корекција густине и даље уравнотежење система додатна 1 ns MDS је изведена на 300,00 K и притиску од 1 атмосфере у NPT условима. Ове MDS су урађене са ограничењима од $10 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-2}$ на бочним N, CA и C атомима протеина као и тешким атомима комплекса, у односу на почетне структуре сваке фазе. На крају, 40 ns молекулске динамике извршено је на 300,00 K у NVT условима без икаквих ограничења. За даљу анализу сачувани су конформациони резултати за сваких 10 ps динамике са укупно прикупљених 2000 узорака. Резултати претходних истраживања¹⁴³ указују да би више независних узорковања могли понудити боље резултате. Овде смо поставили 8 независних рачуна за сваки комплекс. За време од 160 ns динамике прикупљено је укупно 16000 узорака за сваки комплекс. За електростатичке интеракције ширег домета коришћен је Евалдов (Ewald) приступ умрежених честица (PME),¹⁴⁴⁻¹⁴⁶ уз периодични гранични услов и уз границу домета интеракција од 12 Å током трајања симулације. SHAKE¹⁴⁷ је коришћен да би смо ограничили дужине веза тешких атома и атома водоника са толеранцијом од 10^{-5} Å, док је алгоритам три тачке коришћен за молекуле воде.¹⁴⁸ Температура је контролисана Langevin-овим алгоритмом са фреквенцијом судара од $1,0 \text{ ps}^{-1}$ у свим MDS. Притисак је контролисан помоћу Berendsen-овог баростата¹⁴⁹ са временом релаксације притиска од 1,0 ps у NPT кораку постизања равнотеже. Применом Генерализованог Born и Poisson-Boltzmann-овог модела солвент-доступној површини у MM-у (MMGBSA и MMPBSA) израчунате су промене енталпија везивања лиганата а затим на основу 2000 корака израчунате су слободне енергије везивања. Промена ентропије везивања добијена је применом нормализованог метода анализе лиганата на основу 1/10 од 2000 корака. Анализа MMGBSA вршена је применом модификованог GB модела Onufriev-ева и сарадника¹⁵⁰ са концентрацијом соли од 0,1 M. MMPBSA анализа је изведена у условима 0,1 M јонске силе, $0.005 \text{ kcal/mol}\cdot\text{\AA}^2$ површинског напона и без корекције доприноса слободне енергије из неполарних интеракција. Нормализован метод анализе је изведен у условима 0,1 M јонске силе на 300,00 K са GB моделом Hawkins-са и сарадника.¹⁵¹

3. Резултати и дискусија

3. 1 Синтеза и молекулска структура лигананда АПК-типа са одговарајућим комплексима бакара(II)

3. 1. 1 Добијање полиаминополикарбоксилатних етилендиаминских (Е-АПК) и пропандиаминских (П-АПК) лигананда и одговарајућих комплекса бакара(II)

У овом раду дата је серија бакар(II) комплекса са хексадентатним АПК-типом лигананда који садрже петочлане и/или шесточлане карбоксилатне ланце. Такође, у оквиру ове дисертације приказан је утицај структурних и електронских ефеката на понашање различитих чланова поменуте серије са N_2O_4 хромофором. Следеће киселине: $H_41,3$ - pd_3ar , $H_41,3$ - pd_3adr и $H_41,3$ - pd_3tr су искоришћене за комплексирање бакар(II) јона.



Слика 22. Синтеза $[Cu(II)(APK)]^n$ комплекса

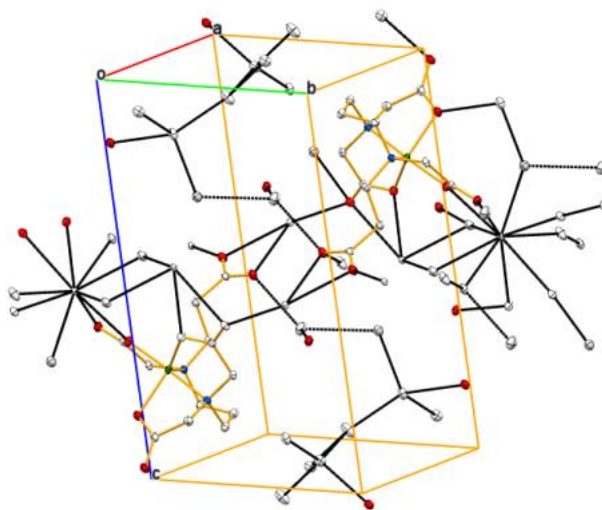
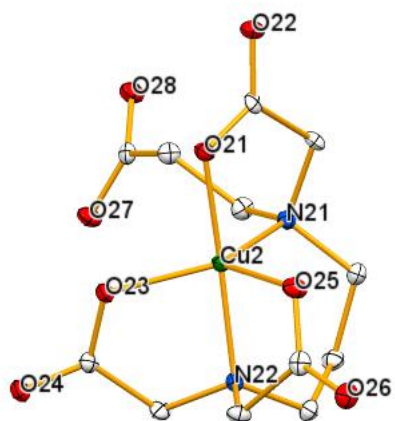
Синтезу АПК киселина могу пратити неколико метода: кондензација преко неутралисаних α - или β -монохалогенкарбоксилних киселина и одговарајућег алкилдиаминa (слика 22), кондензација преко акрилне киселине и алкилдиаминa и кондензација дихалогенских деривата алкилдиаминa са различитим аминокиселинама. Овде су хексадентатни П-АПК лиганди припремљени или као кондензациона смеша или чиста киселина полазећи од неутралисаних α или β хлоро-алифатичне киселине и 1,3-пропандиаминa. У зависности од П-АПК киселина, може се очекивати пентадентатни облик, као у случају ТБП $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса, или хексадентатни са симетричним $\text{H}_41,3\text{-pddadp}$ и $\text{H}_41,3\text{-pdtp}$ лигандима (ОКТ). Структурне варијације П-АПК серије укључују повећање величине леђних и/или карбоксилатних прстенова ради образовања мање напетих система. Геометријски изомеризам је могућ за комплексе П-АПК где су карбоксилатни ланци замењени тако да образују хелатне прстенове различите величине (слика 22). У случају $\text{H}_41,3\text{-pd3ap}$ киселине, образује се смеша пентадентатних и хексадентатних $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса. Дакле, постоји деликатна равнотежа између геометрија као што је приказано на слици 22. Ово зависи од многих фактора попут: структуре П-АПК лиганда, рН (видети касније) и природе контра јона. У овом раду изолован је, хроматографски, пентадентатни облик $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса са једним шесточланим хелатним прстеном, који је одвојен од металног центра бакра (ТБП геометрија). Истом методом, добијени су октаедарски $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ и $[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})]^{2-}$ комплекси. Све синтетисане супстанце карактерисане су свим доступним методама (IR, EPR, UV-vis итд.). Структуре два добијена комплекса: $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})\cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ и $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})\cdot 8\text{H}_2\text{O}]$ верификоване су рендгенском структурном анализом.

3. 1. 2 Молекулска структура $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ комплекса

Структурни дијаграм $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ анјона, са својом нумеричком шемом атома дат је на слици 23. Асиметрична јединица се састоји од осам делова: Ba^{2+} катјона, $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ анјона и шест молекула воде. Триклинична јединична ћелија се састоји од две асиметричне јединице, два катјона, два анјона и дванаест молекула воде (слика 23). Анјон $1,3\text{-pd3ap}^{4-}$ се понаша као пентадентатни хелат са једним откаченим аксијалним ланцем образујући ТБП комплекс. Дужине веза Cu-L су у оспегу од 1.9329(17) до 2.1269(18) Å и поредбена су са сродним бакар(II)-АПК-типом комплекса.¹⁵² Аксијална Cu-O вредност

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

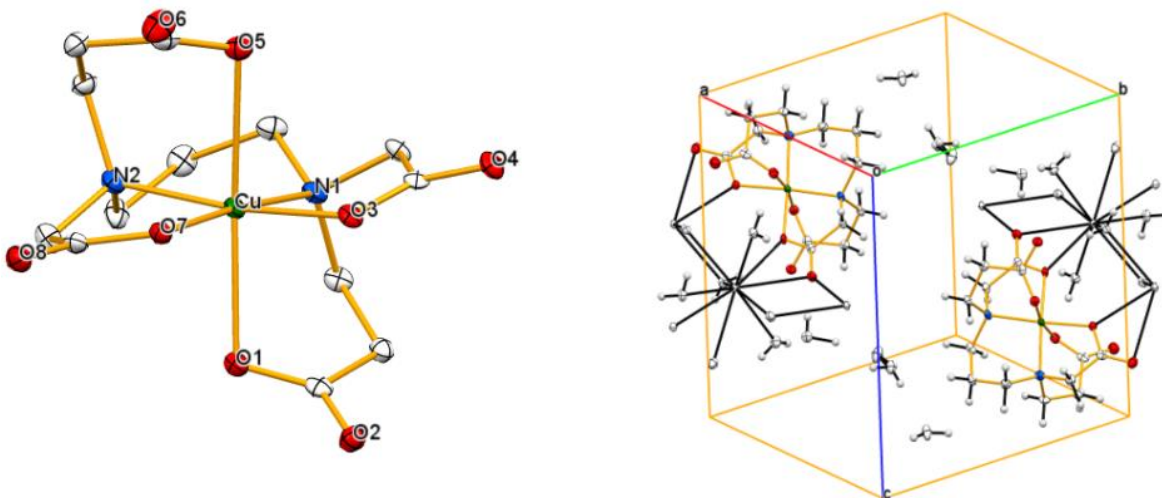
дужине везе ($\text{Cu2-O25} = 2.1269(18) \text{ \AA}$) је мало краћа него у сличном КБ $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3a})]^-$ комплексном анијону ($\text{Cu-O} = 2.18; 2.23 \text{ \AA}$).⁶⁰ Шесточлани леђни прстен 1,3-пропандиамин поседује конформацију полустолице док у и ван равни (G) ацетатни прстенови имају увијене конформације. Чињеница да је β -аланинатни прстен откачен резултује као последица дисторговане ТБП геометрије. Самим тим пратећа асиметрија у аксијалним везама може бити последица просторних захтева у равни координованог ацетатног прстена или као последица велике стабилности бакар(II)- N_2O_3 хромофоре која је већ виђена у $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3a})]^-$ комплексу. Претходно истраживање показало је да већи број шесточланих прстенова доводи до наглашеније тригоналности.⁶⁰ Тригоналност¹⁵³ τ за $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекс износи 73% што указује на то да ова структура поседује дисторговану ТБП геометрију.



Слика 23. Кристална структура $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ анијона и кристално паковање дуж а оса са водоничним везама. Водонични атоми су изостављени због једноставности

3. 1. 3 Молекулска структура $Ba[Cu(1,3-pddadp) \cdot 8H_2O]$ комплекса

Структурни дијаграм $trans(O_6)-[Cu(1,3-pddadp)]^{2-}$ комплекса је приказан на слици 24. Свака асиметрична јединица садржи једну формалну јединицу, која се састоји од десет делова: Ba^{2+} катјона, $[Cu(1,3-pddadp)]^{2-}$ анјона и осам молекула воде. Триклинична јединична ћелија садржи двадесет јединица, два катјона, два анјона и шеснаест молекула воде. Анјон $1,3-pddadp^{4-}$ (слика 24) се понаша као хексадентатни лиганд са шест координованих веза образујући дисторговани октаедарски комплекс. Дужине веза Cu-L су у опсегу од 1.971(2) до 2.459(2) Å и поредбене су са сродним бакар(II)-АПК системима.¹⁵² Постоје две дуже асиметричне аксијалне везе (Cu-O1 = 2.334(2)) и Cu-O5 = 2.459(2)). Шесточлани леђни 1,3-пропандиамински прстен поседује конформацију лађе, ацетатни (G) прстенови у равни имају квази планарну конформацију и аксијални хелатни прстен (R) има благо увијени облик лађе.



Слика 24. Кристална структура $trans(O_6)-[Cu(1,3-pddadp)]^{2-}$ анјона и кристално паковање дуж а оса. Водонични атоми су изостављени због једноставности

3. 2 Структурни параметри комплекса бакра(II) са лигандима АПК-типа и њихове октаедарске дисторзије у односу на структуру лиганда и геометрију комплекса

3. 2. 1 Геометријска анализа бакар(II)-Е-АПК-комплекса

Да би се извршила карактеризација бакар(II)-АПК-типа комплекса, следећи критеријуми се узимају у обзир: (а) *cis* и *trans* углови око централног јона, (б) укупни збир углова различитих прстенова, (ц) Cu-O-C или Cu-N-C углови веза и (д) углови веза око азотовог атома. Геометријски подаци бакар(II)-Е-АПК комплекса дати су у табели 4.

Табела 4. Анализа напона комплекса бакра(II) са Е-АПК-типом киселина са петочланим и/или шесточланим карбоксилатним прстеновима

Комплекс	$\Sigma\Delta(O_h)^a$	$\Delta(M-O-C)^b$		T^c	Реф.
		R	G		
<i>trans</i> (O_5)-[Cu(edta)] ²⁻	83	+1	+3	0.884 (0.859)	(154) (54)
<i>trans</i> (O_5)-[Cu(ed3ap)] ²⁻	67	+2	+12	0.859	(21)
<i>trans</i> (O_5)-[Cu(eddarp)] ^{2-d}	54	+0.5	+21	0.832	(107)
<i>trans</i> (O_6)-[Cu(eda3p)] ²⁻	61	+11	+5	0.823	(107)

^a $\Sigma\Delta(O_h)$: Сума апсолутних вредности девијација 12 октаедарских углова од идеалне вредности (90°). Вредности дате у табели су заокружене на најближу вредност.

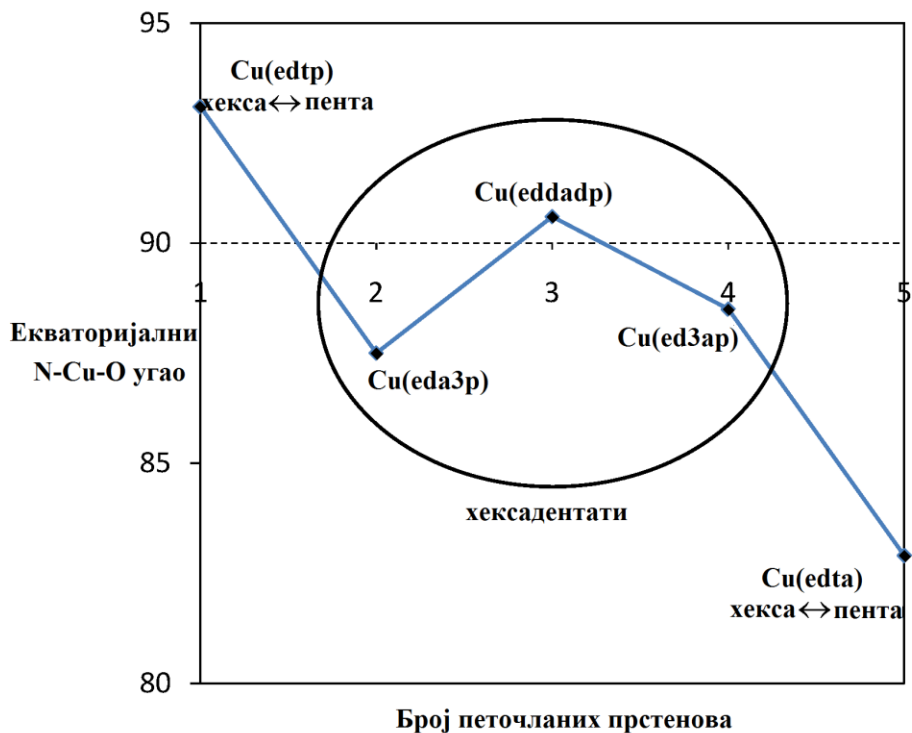
^b $\Delta(M-O-C)$: Дато је одступање М-О-С углова (средња вредност за **G** или **R** прстенове) у односу на идеалну вредност (109.5°).

^cТетрагоналност, изражена односом средње дужине веза у равни са средњом дужином веза у аксијалном положају.

^dМоделирана структура у ADF-у.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Обим дисторзија је ограничена хелатацијом мултидентатног лиганда и зависи од његове структуре, као и геометрије комплекса. Тетрагоналност⁵⁴ T опада у следећем реду $\text{Cu}(\text{edta}) > \text{Cu}(\text{ed3ap}) > \text{Cu}(\text{eddadp}) > \text{Cu}(\text{eda3p}) > \text{Cu}(\text{edtp})$. Иако је овај редослед у корелацији са бројем петочланих прстенова (што је већи број петочланих прстенова, то је виша тетрагоналност), рационализација је компликована јер T зависи и од аксијалних и од екваторијалних веза тако да ће T опадати уколико екваторијалне везе буду краће или уколико аксијалне везе буду релативно дуже. У докторској дисертацији В. Милетић дат је детаљан преглед структурне анализе бакар(II)-Е-АПК-комплекса као и зависност параметра тетрагоналности од броја петочланих прстенова.¹⁰⁷ У овом раду дата су даља одређивања одступања од идеалне вредности октаедарске координације као зависност просечних екваторијалних N-Cu-O углова (слика 25) од броја петочланих прстенова.



Слика 25. Поређење просечних N-Cu-O углова веза и број петочланих хелатних прстенова

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Комплекс $trans(O_5)-[Cu(eddarp)]^{2-}$ достиже најближу вредност од 90° . Сличан резултат добијен је у гвожђе(III) комплексима, у којима су шесточлани пропионски хелати у MN_2O_2 равни у корелацији са аксијалним петочланим ацетатним хелатним прстеновима. Лиганд на тај начин достиже приближну октаедарску координацију у екваторијалној равни. Интересантно је да за бакар(II) добијена дисоцијациона енергија везе указује на чињеницу да ова геометријска карактеристика не доводи до стабилнијег, мање напетог система у целини. Међутим, могле би бити важне последице за селективност када су у питању други метални центри који показују различите тенденције према октаедарској координацији.

3. 2. 2 Структурна анализа бакар(II)-II-АПК-комплекса. Зависност бакар(II)-II-АПК геометрије у односу на структуру лиганда, геометрију комплекса и природу контра јона

Структурни подаци за бакар(II)-II-АПК комплексе дати су у табели 5. Ови подаци дају детаљне анализе о утицају контра јона на структуру и стереохемију $[Cu(1,3-pddarp)]^{2-}$ комплекса. У случају квази симетричног $trans(O_6)-[Cu(1,3-pddarp)]^{2-}$ комплексног анијона поредили смо утицај Na^+ , Ba^{2+} и H^+ контра јона. Различити јони доводе до промена у параметрима напона II-АПК система (табела 5). Параметар $\Sigma\Delta(O_h)$ (сума апсолутних вредности девијација 12 октаедарских углова од идеалне вредности 90°) је за све хексадентатне комплексе сличан. У случају $\Sigma\Delta$ (прстен) параметра напона (девијација од идеалне суме углова одговарајућих хелатних прстенова) ситуација је другачија. Вредности $\Delta\Sigma$ (прстен R) се крећу од +7 у случају Ba^{2+} комплекса до +25 за H^+ комплекс (плава колона). За Cu-O-C фрагмент карбоксилатних прстенова је очекивано да даје вредност углова везе између 109.5 и 120° у зависности од степена коваленције M-O везе. Углови веза Cu-O-C издужених бакар(II) комплекса треба да одступају минимално када нису приступни 3-пропионски прстенови (показано за бакар(II)-E-АПК).¹⁰⁷ Углови Cu-O-C за аксијалне β -аланинатне прстенове издуженог $[Cu(1,3-pddarp)]^{2-}$ (са Ba^{2+} , Na^+ и H^+ катјонима) комплекса одступају минимално од идеалног 109.5° угла. У комплексу са Ba^{2+} катјоном ова девијација је негативна (-5°) и за Na^+ и H^+ комплексе је позитивна и варира од 0 до $+5^\circ$ (плава колона).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Табела 5. Анализа напона бакар(II) комплекса са 1,3-пропандиаминским лигандима са петочланим и шесточланим карбоксилатним прстеновима

Комплекс	$\Sigma\Delta(O_h)^a$	T	$\Delta\Sigma(\text{прстен})^b$			$\Delta(\text{Cu-O-C})^c$		$\Sigma\Delta(\text{N})^d$	T^e	Реф.
			R	G	R	G				
<i>trans</i> (O ₆)-Ba[Cu(pddadp)]	51	+27	+7	-9	-5	+4	13	0.823	Овај рад	
<i>trans</i> (O ₆)-Na ₂ [Cu(pddadp)]	43	+27	+14	-11	0	+5	17	0.799	(35)	
<i>trans</i> (O ₆)-H ₂ [Cu(pddadp)]	44	+23	+25	-11	+5	+4	20	0.798	(36)	
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)-Ba[Cu(pd3ap)] ^f	51	+26	+5(0)	-12	-6(+1)	+3	16	0.839	Овај рад	
<i>trans</i> (O ₅)-Ba[Cu(pd3ap)] ^f	66	+23	0	+31(-18)	+2	+17(+3)	17(16)	0.870	Овај рад	
[Cu(pd3ap)] ^g	91	+33	-20	-10	+2	+5	20	0.924	Овај рад	

^a $\Sigma\Delta(O_h)$: Сума апсолутних вредности девијација 12 октаедарских углова од идеалне вредности (90°). Вредности дате у табели су заокружене на најближу вредност.

^b $\Delta\Sigma(\text{прстен})$: Сума углова веза појединих прстенова (**E**, **G**, **R**) изражена у односу на суму идеалних вредности одговарајућих прстенова.

^c $\Delta(\text{M-O-C})$: Дато је одступање М-О-С углова (средња вредност за **G** или **R** прстенове) у односу на идеалну вредност (109.5°).

^d $\Sigma\Delta(\text{N})$: Тотална девијација шест углова веза око азота представља суму апсолутних девијација шест углова у односу на идеалну вредност (109.5°). За комплексе C₂ молекулске симетрије узета је средња вредност за два координована азота.

^eТетрагоналност, изражена односом средње дужине веза у равни са средњом дужином веза у аксијалном положају.

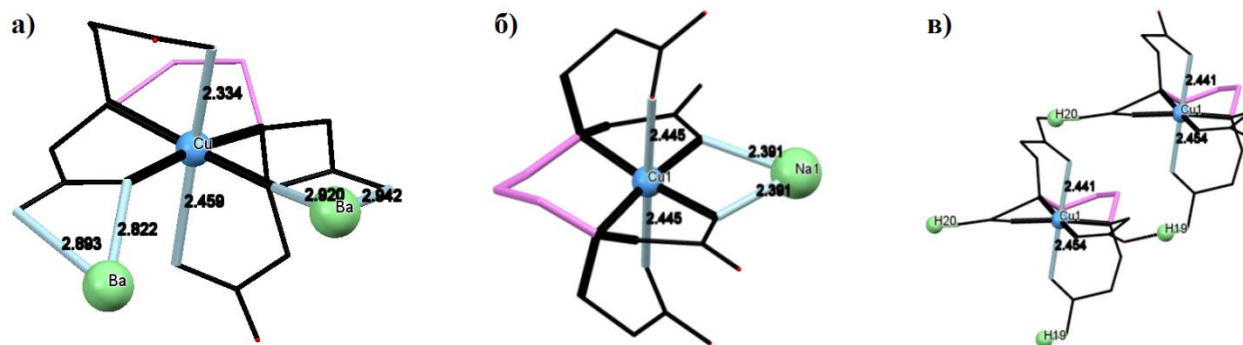
^fDFT структуре: LDA/DZP.

^gТБП комплекс (рендгенска кристална структура).

Укупне девијације око збира N атома (табела 5) су 13 и 17° за Ba²⁺ и Na⁺ комплексе а највећа девијација (20°) нађена је за H⁺ комплекс (плава колона). Обим девијације ограничен је хелатацијом мултидентатног лиганда и зависи од његове структуре као и од геометрије комплекса. Захваљујући присуству Jahn-Teller-овог ефекта (стабилизација лигандног поља), АПК првенствено координују у екваторијалној равни и таква

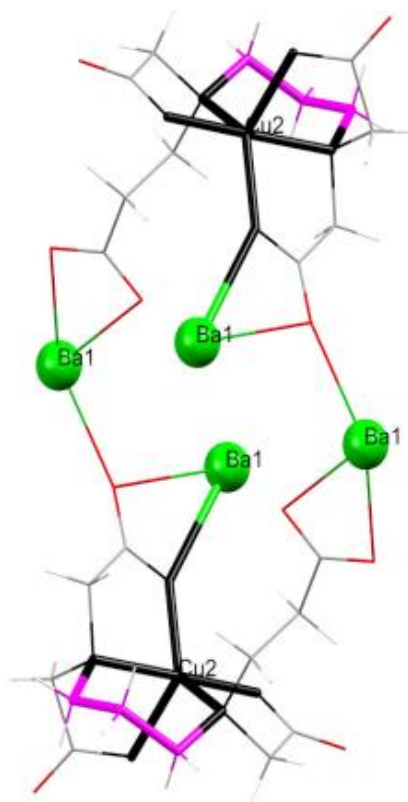
РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

координација може образовати тетрагонално издужене октаедарске комплексе. Параметар тетрагоналности T^{54} опада у реду: $\text{Ba}^{2+} > \text{Na}^+ \geq \text{H}^+$ комплекса (табела 5). Исте вредности добијене су за тетрагоналне октаедарске комплексе.^{63,155} Установљено је да варијација у тетрагоналности и аксијалној асиметрији Cu-O везе (табела 5) зависи од природе контра јона и његове ковалентне интеракције са координованим карбоксилатним групама. Комплекс са Ba^{2+} јоном показује умерену дисторзију ($T = 0.823$). Jahn-Teller-ов ефекат је најизраженији за више дисторгован Na^+ ($T = 0.799$) и H^+ комплекс ($T = 0.798$). У случају квази симетричног комплекса $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ јона, асиметрија аксијалних O-Cu-O веза се увећава не само због интрамолекулских везивања већ преваходно због ковалентно/електростатичких интеракција контра јона и комплексног анијона. Асиметрија у везивању Ba^{2+} катјона са екваторијалним атомима кисеоника (слика 26 а)) резултује у асиметричном јачању аксијалних Cu-O веза (2.459 и 2.334 Å). Интеракција Ba^{2+} јона са ближим карбоксилатним кисеоником (2.822 Å) слаби екваторијално поље и појачава ефекат везивања одговарајућег аксијалног кисеоника (скраћење везе од 2.334 Å) (слика 26 а)). Промена смера везивања преко другог кисеоничног пара резултује супротно (дужа веза од 2.459 Å). Квази симетричне структуре Na^+ и H^+ комплекса произилазе из уравнотежених електростатичких и ковалентних утицаја Na^+ и H^+ јона (слика 26 б) и в)). Посматрана симетрија јединице кристалног паковања у Na^+ комплексу је резултат одсуства било којих водоничних веза и других кратких електростатичких контаката. Натријумов јон поседује симетрични утицај на оба екваторијална прстена што доводи до једнаког јачања аксијалног поља резултујући у једнаким дужинама аксијалних Cu-O веза (2.445 Å). Водоничне везе H^+ комплекса су, у целисти, симетричне (слика 26 в)) у смислу да постоји идентични утицај водоничних веза и атома у екваторијалним и аксијалним положајима и сходно томе добијене су регуларне издужене октаедарске геометрије. Коначно, утицај контра јона на геометрију комплекса може бити од примарног и секундарног значаја. Када је утицај јона на екваторијалну или аксијалну раван превише јак, као у случају Ba^{2+} комплекса, већ продужена аксијална веза шесточланог прстена присутвом петочланог прстена у екваторијалној равни је даље ослабљена јаким утицајем Ba^{2+} јона у G равни.



Слика 26. а) Ba^{2+} , б) Na^+ и в) H^+ контра јони у случају $\text{trans}(\text{O}_6)\text{-}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ комплекса

Може се закључити да природа контра јона може имати утицај на конфигурацију комплекса а у овом случају се то одражава кроз асиметричне дужине веза. Параметри истезања $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса (табела 5) добијени су из DFT оптимизованих $\text{trans}(\text{O}_5)$ и $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)$ изомера који су упоређени са експерименталним вредностима ТБП $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса. Геометријски $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)$ изомер не даје велика одступања што се повезује са релативном стабилношћу овог изомера у раствору. Међутим, $\text{trans}(\text{O}_5)$ изомер показује разлику, примарно у β -аланинатном прстену ($\Delta\Sigma(\text{прстен G}) = +31$ и $\Delta(\text{Cu-O-C})$ (прстен G) = +17 (жуте колоне у табели 5). Ово узрокује велику девијацију у равни $\text{trans}(\text{O}_5)$ шесточланог прстена (DFT даје предност $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)$ изомеру са енергетском разликом од 1.21 kcal/mol). Дакле, види се да је $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)$ изомер потенцијално стабилнији молекул у раствору и стога је у стању да се конвертује. Дивалентни баријум као контра јон не игра само улогу у наелектрисувању и паковању ћелије кристала већ може допринети значајној промени комплексне геометрије (слика 27).



Слика 27. Кристална структура $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]$ димера

Као што се може уочити на слици 27 баријумови катјони скраћују аксијалне О-Сu-О осе G ацетатног прстена и тако доприносе одвајању β -пропионског кисеоника синхронизованим ефектима $\text{Ba}^{2+} \cdots \text{OOC}$ привлачења и стерним сметњама.

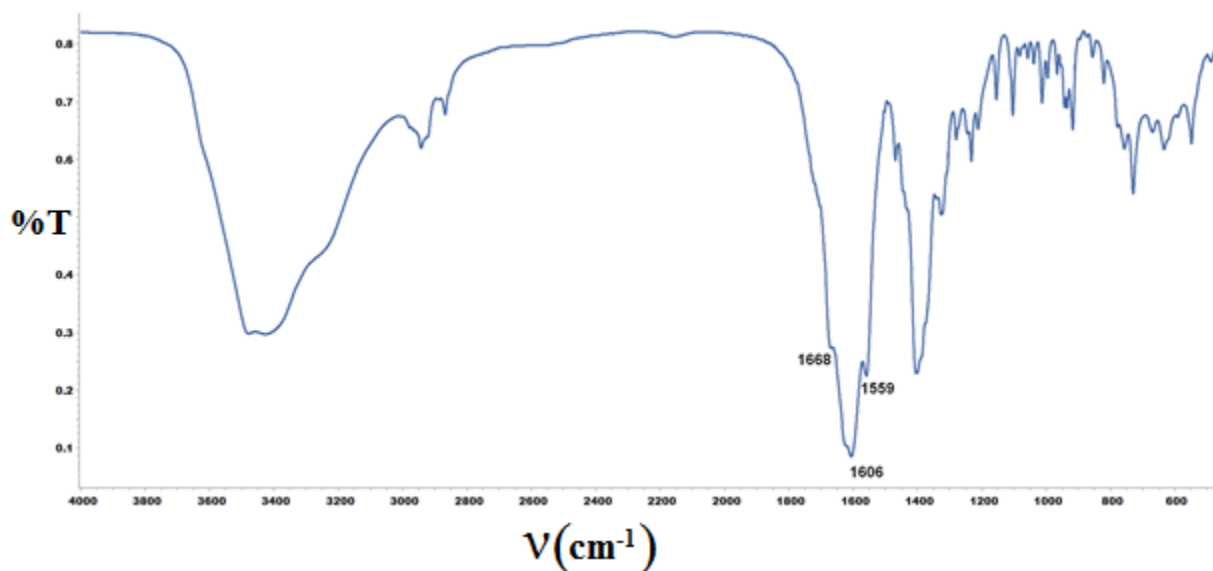
3. 3 Спектрална анализа

3. 3. 1 Инфрацрвени спектри комплекса бакра(II) са лигандима Е-АПК и П-АПК-типа

Комплекси бакра(II) са лигандима АПК-типа су додатно анализирани применом инфрацрвене IR спектроскопије. IR спектри (карбоксилатна област) су у сагласности са структурама и молекулском симетријом комплекса. У овом раду приказана је анализа

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

результата добијених IR спектроскопијом бакар(II)-II-АПК серије. Комплекси C_1 и C_2 симетрије дају две интензивне и одвојене траке у асиметричном вибрационом карбоксилатном опсегу ($\approx 1640 \text{ cm}^{-1}$ = виша енергија петочланог прстена и $\approx 1570 \text{ cm}^{-1}$ = нижа енергија шесточланог прстена). Тако траке на 1630 cm^{-1} и 1564 cm^{-1} одговарају комплексу $trans(O_6)-[Cu(1,3-pddadp)]^{2-}$. Асиметричне валенционе вибрације петочланих глицинских прстенова, у случају $[Cu(1,3-pdta)]^{2-}$,³⁷ су на 1601 cm^{-1} . Исте вибрације $[Cu(1,3-pd3ap)]^{2-}$ комплекса су у складу са присуством три ацетатна прстена и једног пропионског прстена где вредности од 1668 и 1606 cm^{-1} одговарају глицинским прстеновима а 1559 cm^{-1} одговара β -аланинатном прстену (слика 28). Очекивано, $[Cu(1,3-pdtp)]^{2-}$ комплекс даје једну интензивну траку на 1575 cm^{-1} која потиче од четири карбоксилатна шесточлана прстена. Ова интерпретација је у сагласности са генерално прихваћеним правилом да фреквенције које потичу од петочланих прстенова леже на вишој енергији од одговарајућих фреквенција шесточланих прстенова.^{156,157} За протонване карбоксилатне групе ($1700-1750 \text{ cm}^{-1}$) и за координоване карбоксилатне групе ($1600-1650 \text{ cm}^{-1}$) фреквенције су већ устаљене.^{158,159} Стога, одсуство траке у области од 1700 до 1750 cm^{-1} представља потврду депротонације свих карбоксилатних група.

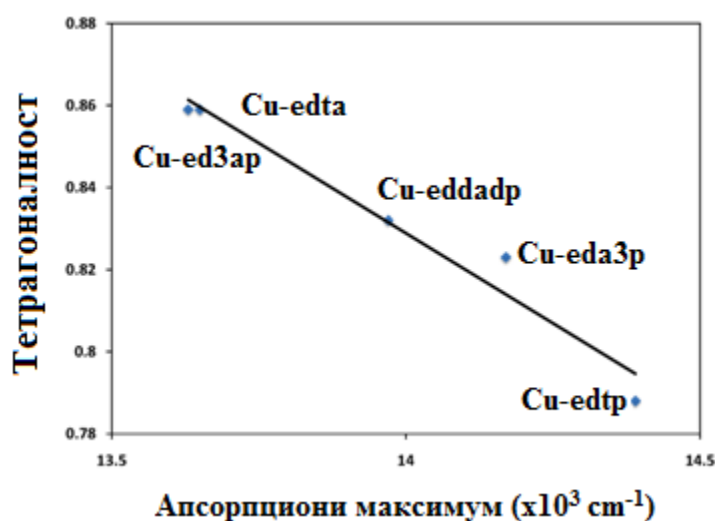


Слика 28. Инфрацрвени спектар $[Cu(1,3-pd3ap)]^{2-}$ комплекса

3. 3. 2 Електронски апсорпциони спектри бакар(II)-Е-АПК и бакар(II)-II-АПК комплекса

3. 3. 2. 1 Бакар(II)-Е-АПК комплекси

Електронски апсорпциони спектри познате структуре за све испитиване бакар(II)-Е-АПК комплексе су дати у референци.¹⁰⁷ Сви комплекси су плаве боје било да су C_2 или C_1 симетрије и показују једну асиметричну апсорпциону траку. Корелација између тетрагоналности и експериментално добијеног апсорпционог максимума дата је на слици 29.

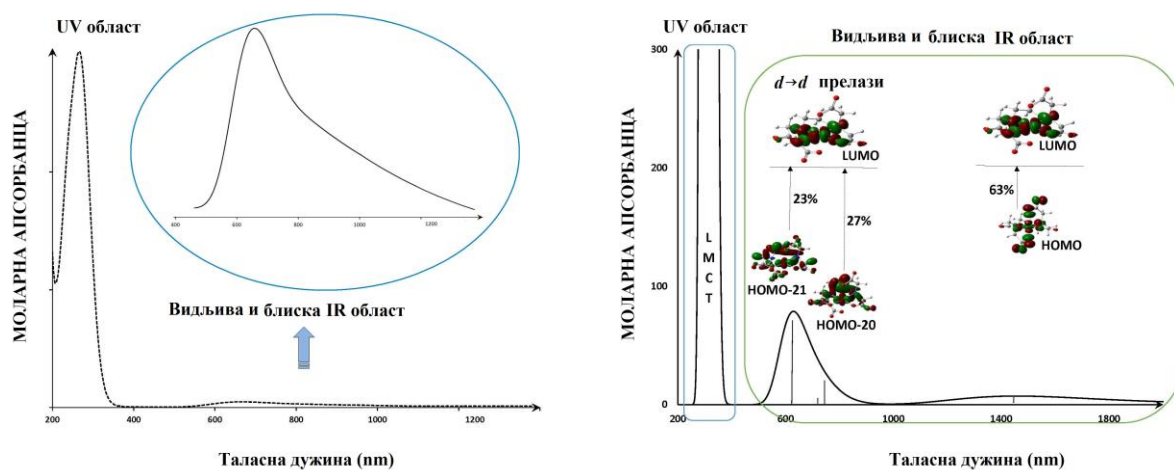


Слика 29. Корелација између тетрагоналности и експериментално добијеног d-d апсорпционог максимума ($\times 10^3 \text{ cm}^{-1}$) за бакар(II)-Е-АПК-типове комплекса

Ово указује на то да више шесточланих прстенова у равни повећава јачину лигандног поља (LFS = ligand field strength) што је приказано померањем енергија. Комплекси са аксијалним петочланим глицинским прстеновима поседују јачу аксијалну интеракцију повишавајући d_z^2 и снижавајући d_{xy} орбиталну енергију што доводи до генералног снижавања енергија d-d прелаза. Као што је већ утврђено ранијим истраживањима у случају бакар(II)-Е-АПК серије комплекса не добија се јасна корелација тетрагоналности и експеримента.¹⁰⁷

3. 3. 2. 2 Бакар(II)-П-АПК комплекси у корелацији са TDDFT

Типичан електронски апсорпциони спектар октаедарског $[\text{Cu}(\text{II-APK})]^{2-}$ комплекса приказан је на слици 30. Може се уочити да се цео спектрални опсег може поделити на два дела: UV и Vis/Near_IR опсеге. Облик спектара је такав да главна (енергија и апсорптивност) област припада UV опсегу. Једна оштра трака је честа појава за све П-АПК комплексе (слика 30). Енергетска позиција ових трака није битно другачија и установљена је у области од 2-5 nm. Поменути регион није био предмет интересовања у овој дисертацији. Од значаја је видљива област која одражава уобичајену геометријску конфигурацију и LFS у односу на бакар(II) комплексе. Блиска IR област је обично окарактерисана једном слабом траком ниске апсорбанције која се ретко открива услед прекривености од стране трака виших интензитета (слика 30). Сви комплекси су плаве боје и експериментално показују једну асиметричну апсорпциону траку без обзира на основну приближну C_1 или C_2 симетрију.



Слика 30. Лево: Uv_Vis спектар $trans(\text{O}_6)\text{-}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ добијен из воденог раствора на pH~7; десно: главни MO прелази у оквиру Vis_Near_IR области у случају $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ јона

Ако се погледа табела 6, добијене су апсорпционе траке највише енергије у случају $trans(\text{O}_6)\text{-}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ комплекса (658 nm) и најниже енергије за $[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})]^{2-}$ комплекс (752 nm). Примећено је да у одсуству глицинских прстенова у аксијалним положајима трака комплекса са већим бројем глицинских ланаца у екваторијалној равни је

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

померена ка вишој енергији. Према томе, очекивано је да $[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})]^{2-}$ комплекс (без иједног глицинског прстена) покаже траку најниже енергије. Друга два комплекса $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ и $[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})]^{2-}$ показују по једну асиметричну апсорпциону траку са превојима, посебно у случају $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса. Показано је за бакар(II) комплексе да је видљива трака са превојем на страни више енергије показатељ ТБП стереохемије док је апсорпциони максимум са превојем ниже енергије карактеристичан за КП геометрију.¹⁶⁰ Комплекс $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ показује видљиву траку са очигледним превојем на страни више енергије што је у складу са горе наведеном ТБП геометријом и резултатима рендгенске структурне анализе. Као пример TDDFT прелаза у овој дисертацији дата је симулација комплетног UV-vis спектралног подручја $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ комплексног јона (слика 30). Молекулско орбитална анализа TDDFT показује да главни UV прелази потичу од лиганд-метал трансфера наелектрисања (LMCT). У оквиру видљиве области TDDFT даје три прелаза: један на вишој енергији и вишој осцилаторној јачини праћеним са два додатна прелаза много нижег интензитета. Најинтензивнији прелаз генерално одређује положај превоја траке. Ова линија побуђивања је последица d-d прелазног микса: 27% HOMO-20→LUMO и 23% HOMO-21→LUMO. Блиска IR област је обично карактерисана једном линијом побуђивања ниже осцилаторне јачине који је покривен од стране 63% HOMO→LUMO прелаза (слика 30, десно). Основно стање у свим случајевима је $d_x^2-y^2$ и главни процентуални орбитални допринос синглетном прелазу приписује се d_z^2 , d_{xy} , d_{xz} и d_{yz} орбиталама. Неколико стратегија предложено је за објашњење феномена, користећи QM, то јест информације о побуђеном стању из података електронске густине основног стања. Најперспективнији од свих је временски завистан TDDFT дизајниран од стране Runge-a и Gross-a.⁷¹ TDDFT израчунава фреквенцију-зависног линеарног одговора густине наелектрисања у односу на временски зависну пертурбацију у електронском пољу.¹⁶¹ Резултати укључују израчунавања побуђених енергија ω_I и осцилаторних јачина f_I за прелазе између основних и побуђених стања I система.¹⁶² Тешкоће у вези са израчунавањем побуђених стања су превазиђене описивањем ових екситација у смислу карактеристика основног стања као што су молекулско орбитални (МО) доприноси.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Табела 6. TDDFT и експериментални апсорпциони подаци у води за хексадентатне бакар(II)-II-АПК комплексе

КОМПЛЕКС	Апсорпција ^[1]	TDDFT ^[2]						Реф.
		B1LYP		B3LYP		BP86		
		λ (nm)/ ϵ (mol ⁻¹ dm ³ cm ⁻¹)	$\lambda\epsilon$	E_{sf} ^[3]	$\lambda\epsilon$	E_{sf}	$\lambda\epsilon$	
[Cu(1,3-pdta)] ²⁻	704/84	640/80	1.100	613/78	1.148	535/3325	1.318	(37), Овај рад
[Cu(1,3-pddadp)] ²⁻	658/68	613/68	1.073	592/86	1.111	590/2130	1.115	Овај рад
[Cu(1,3-pdtp)] ²⁻	752/106	690/112	1.089	654/186	1.150	578/3140	1.301	Овај рад
[Cu(1,3-pd3ap)] ²⁻ ^[4]	680 sh 838/69	917/7401020/ 416 (sh)	0.914	909/9851010/ 557 (sh)	0.922	905/28801020/ 1490 (sh)	0.926	Овај рад
[Cu(1,3-pda3p)] ²⁻ ^[5]	715/90 <i>предв.</i>	655 / 90	1.090					Овај рад

[1] Апсорпциони спектар снимљен на рН~7.

[2] Симулирана UV-Vis апсорпциона трака (блиска видљива IR област) из Gaussian TDDFT израчунавања. Полу-таласне дужине, $\Delta_{1/2,1}$, су узете да су једнаке 3000 cm⁻¹.

[3] Енергетски фактор скалирања.

[4] ТБП комплекс.

[5] Симулиран и предвиђен апсорпциони видљиви положај пика несинтетисаног *trans*(O₆)-[Cu(pda3p)]²⁻ комплексног анјона.

Holland и Green су поредили 41 различит XC функционал и њихову способност да предвиде UV/vis спектар бакар и цинк бис(тиосемикарбазонато) комплекса.¹⁶³ За хибридне DFT методе је утврђено да надмашују све чисте DFT функционале. Од свих тестираних функционала, B1LYP је дао најтачније резултате у случају свих параметара за бакар(II) комплексе.¹⁶³ Полазећи од њихових резултата урађена су временски-зависна израчунавања теорије функционала густине користећи оптимизоване геометрије комплекса трима различитим методама, BP86, B1LYP и B3LYP где је коришћен исти базни сет 6-311++G(d,p), попут Holland-а и Green-а, у циљу даље провере одрживости TDDFT резултата. У сваком примеру, израчунате су осцилаторне јачине и енергије побуђивања за

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

прелаз између основног стања и првих 10 побуђених стања. АОМих програм¹⁶⁴ је коришћен како би се извршила симулација Gaussian UV/vis спектра заснована на TDDFT израчунавањима. Сваки израчунат прелаз између основних и побуђених стања I , може бити моделиран једном Gaussian функцијом према једначини 36.

$$\varepsilon(\omega) = 2.174 \times 10^8 \sum_I \frac{f_I}{\Delta_{1/2,I}^2} \exp\left(-2.773 \frac{(\omega - \omega_I)^2}{\Delta_{1/2,I}^2}\right)$$

Једначина 36

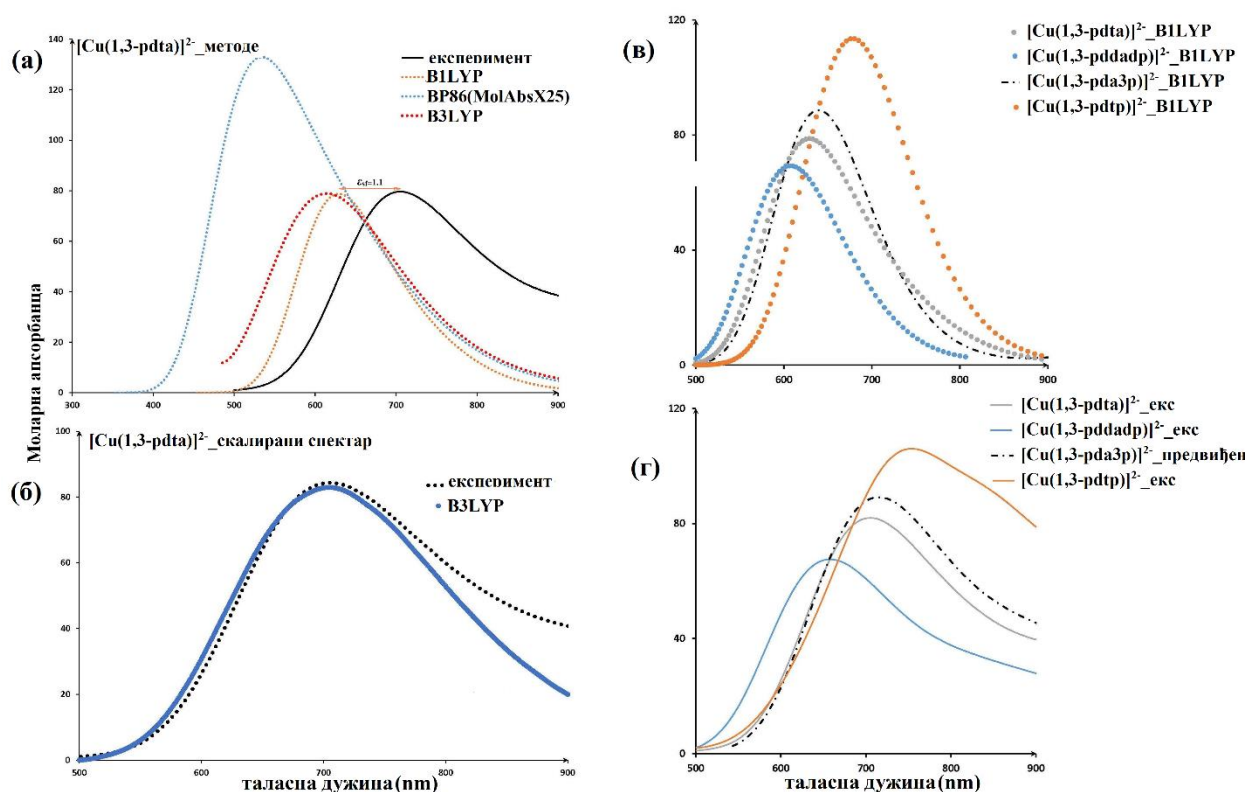
$$\sum_I f(I) = 4.319 \times 10^{-9} \int \varepsilon(\omega) d(\omega)$$

Једначина 37

Где ε означава моларну апсорптивност (моларни апсорпциони коефицијент), ω_I TDDFT израчунате енергије побуђивања, (u cm^{-1}), f_I прелазну осцилаторну јачину (бездимензиона величина) и $\Delta_{1/2,I}$ ширину полу-траке (u cm^{-1}). Укупни интегрисани интезитет испод апсорпционог профила је једнак збиру осцилаторних јачина и дат је једначином 37. У овој дисертацији вршена је континуирана промена ширине полу-траке $\Delta_{1/2,I}$ током конволуције спектра. Gaussian конволуирани TDDFT подаци су такође поређени са експерименталним вредностима (табела 6 и слика 30). За ниску резолуциону спектроскопију, показано је да су Gaussian функције погодне за тачну симулацију експерименталних облика траке.¹⁶⁵ Експерименталне ширине полу-траке су генерално непознате, и тешко их је постићи због њихове високе зависности од солватације и/или виброничних купловања у систему. Након што су коришћене различите вредности за овај параметар током конволуционог процеса како би минимизирали разлику између експерименталног и симулираног UV/vis спектра, АОМих почетна вредност од 3000 cm^{-1} је узета као заједничка вредност у свим случајевима. Израчунате енергије су често скалиране посебно у вибрационој фреквенционој анализи. Стога, енергетски фактор скалирања, E_{SF} , је такође примењен после сваке симулације. Очигледно се може приметити из табеле 6 и слике 31 (а-б) да су наши резултати у сагласности са закључцима Holland-а и Green-а.¹⁶³ Параметри од посебног значаја су положај енергетске траке заједно са својом ε вредношћу и E_{SF} . Другим

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

речима, B1LYP и B3LYP су далеко прецизније методе од BP86. Штавише B1LYP изгледа да је метода избора када је у питању израчунавање TDDFT података за бакар(II)-АПК комплексе не само због доброг фитовања облика трака и енергија већ и због веома упоредивих моларно апсорпционих коефицијената са експерименталним ϵ подацима табела 6, слика 31(в-г)). Сличност међусобних положаја трака и њихових облика са експерименталним спектрима (слика 31(в-г)) је више него очигледна. Морамо рећи да је већа ϵ вредност на страни ниже енергије сваке траке само последица већ поменутог утицаја околине (растварача, контра-јона итд.) и/или вибрационог купловања у систему.

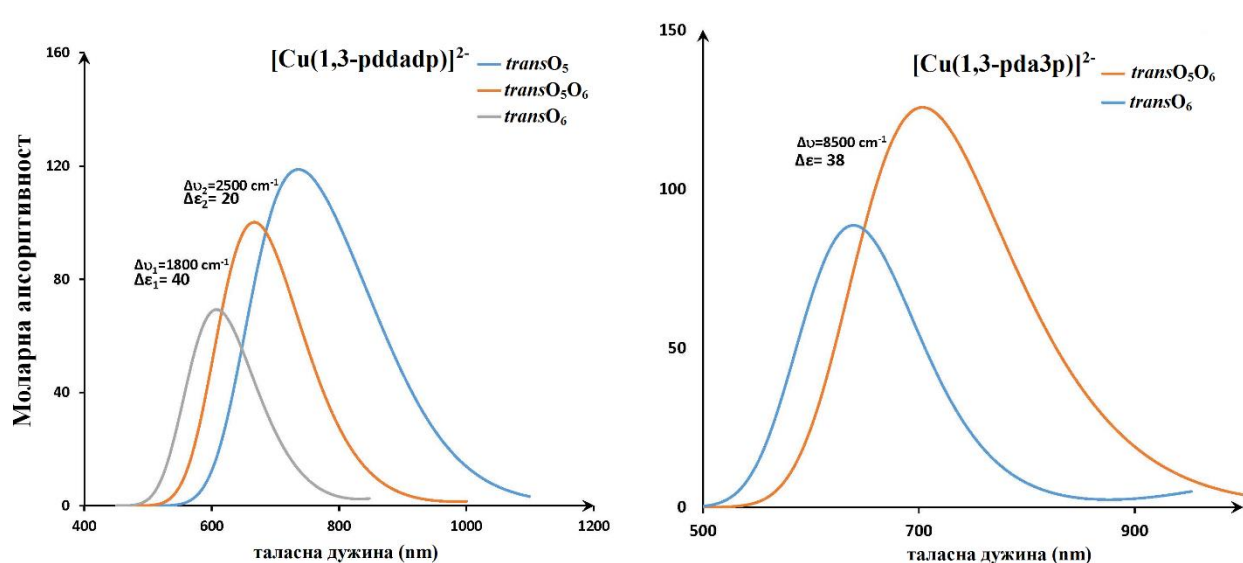


Слика 31. (а) Gaussian облици TDDFT података за $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ јон израчунат различитим методама; (б) преклапање конволуираног B1LYP спектра и експерименталног спектра за $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ јон; (в) B1LYP спектри и (г) експерименталне траке (видљива област) октаедарских $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta}\text{-тип})]^{2-}$ комплекса

У овој дисертацији додатно је показано како видљиви спектар непознатог једињења може бити предвиђен користећи поступак који је овде описан. За ту сврху узет је још увек

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

несинтетисани $[\text{Cu}(1,3\text{-pda3p})]^{2-}$ комплексни јон. Теоријски гледано овај лиганд може дати два различита геометријска изомера: $\text{trans}(\text{O}_6)$ и $\text{trans}(\text{O}_5\text{O}_6)$. Поменути изомери моделирани су LFMM конформационим анализама где су узете конформације најниже енергије. Затим је извршена оптимизација молекула користећи B1LYP/6-311++G(d,p) ниво. Показано је да је $\text{trans}(\text{O}_6)$ изомер стабилнији за приближно 4 kcal/mol. TDDFT је израчунат и подаци конволуирани користећи исти ниво теорије и конволуционе процедуре за оба изомера. Видљиви део спектра за најстабилнији $\text{trans}(\text{O}_6)$ изомер приказан је на слици 32 заједно са спектром приказаним у овом раду. Може се уочити очигледна разлика између спектра различитих изомера $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ и $[\text{Cu}(1,3\text{-pda3p})]^{2-}$ комплекса (слика 32).



Слика 32. TDDFT спектри израчунати за различите изомере $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ и $[\text{Cu}(1,3\text{-pda3p})]^{2-}$ комплексних јона

Симптоматично је да спектри најстабилнијих конформера имају тенденцију ка нижој моларној апсорптивности. То је разумно узимајући у обзир да се очекује нижа апсорптивност за мање напет систем који садржи 1,3-пропандиамински леђни прстен. Стога, енергетска разлика и разлике моларне апсорптивности (слика 32) у случају различитих изомера су довољно демонстративне како би се разликовали спектри приликом практичног рада.

3. 3. 3 Спектри Електронске Парамагнетне Резонанце (EPR) комплекса бакра(II) са лигандима Е-АПК и П-АПК-типа

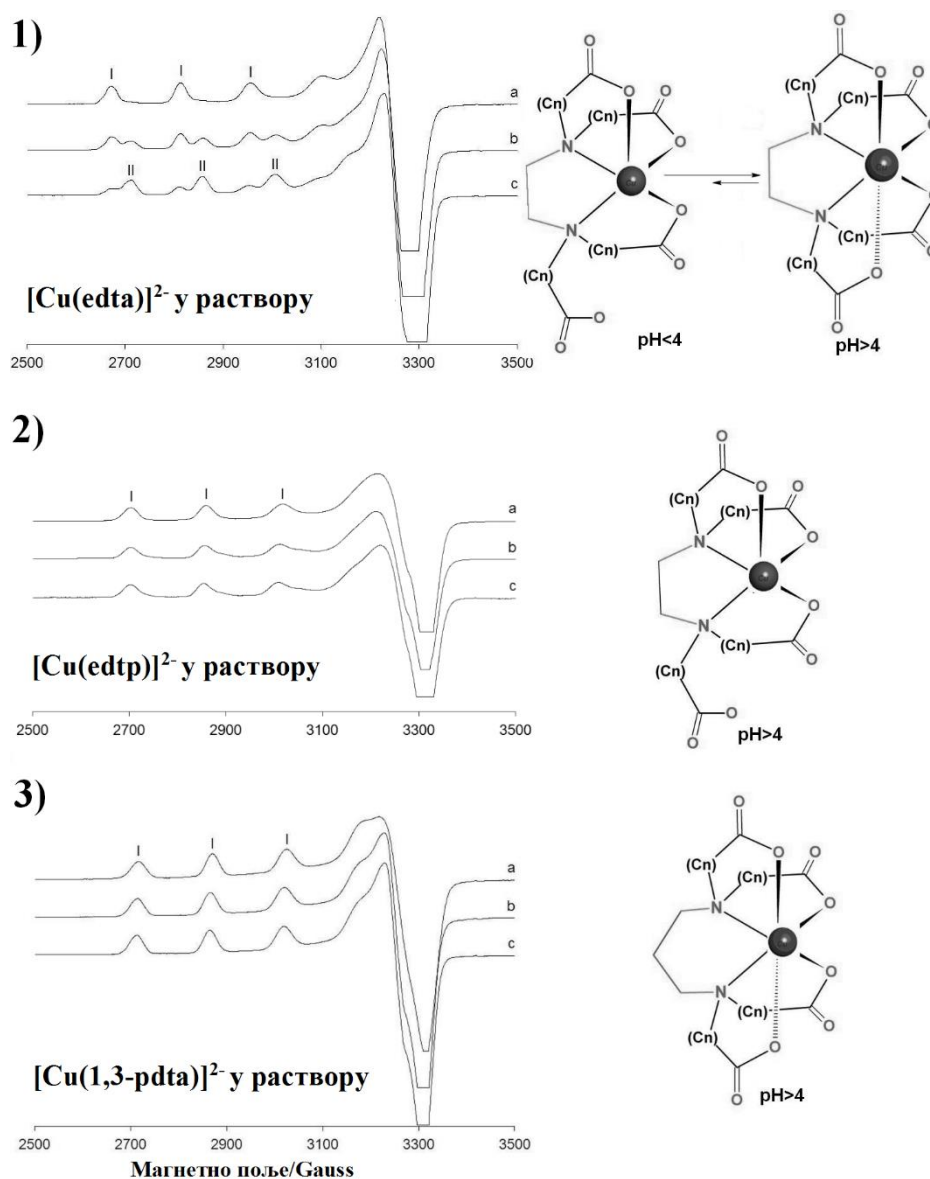
У складу са претходно објављеним резултатима,¹⁶⁶ H₄edta киселина формира са Cu(II) јоном два комплекса, пентакоординован (2N3COO⁻) на киселој рН вредности (рН < 4, g_z 2.330, A_z $154.6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, **I** на слици 33 (1)) и хексакоординован (2N4COO⁻) на рН 4 (g_z 2.292, A_z $160.5 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, **II** на слици 33 (1)). Комплетни EPR параметри комплекса бакра(II) образовани са АПК лигандима су дати у табели 7.

Табела 7. EPR параметри [Cu(II)(Лиганд)]²⁻ комплекса образовани са АПК лигандима^[a]

Лиганд	g_z	A_z	g_z/A_z	Врста координације
H ₄ edta	2.330	154.6	151	2N3COO ⁻
H ₄ edta	2.292	160.5	143	2N4COO ⁻
H ₄ 1,3-pdta	2.283	165.1	138	2N4COO ⁻
H ₄ edtp	2.287	168.5	136	2N3COO ⁻
H ₄ 1,3-pd3ap	2.272	180.8	126	2N3COO ⁻
H ₄ 1,3-pddadp	2.265	176.4	128	2N4COO ⁻
H ₄ 1,3-pdtp	2.307	181.3	127	2N3COO ⁻
H ₄ 1,3-pdtp	~ 2.26	~ 175	~ 130	2N4COO ⁻

[a] Вредности за A_z су изражене у 10^{-4} cm^{-1} .

Лиганд H₄edtp образује (6,5,6) хелатне прстенове у екваторијалној равни. Тако да је КП геометрија (2N3COO⁻) утврђена у чврстом стању. Пентакоординовани комплекс за исти лиганд пронађен је и у раствору. EPR параметри, g_z 2.287, A_z $168.5 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (**I** слика 33 (2)), су веома слични онима који одговарају хексадентатном комплексу (2N4COO⁻) који бакар(II) јон образује са H₄1,3-pdta киселином где су (5,6,5) хелатни прстенови затворени у екваторијалној равни. За разлику од [Cu(edta)]²⁻ комплекса, на основу EPR параметара (g_z 2.283, A_z $165.1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, **I** на слици 33 (3)), H₄1,3-pdta киселина образује у рН опсегу од 3 до 10 само ОКТ геометрију (2N4COO⁻), што је у складу са рендгенском структурном анализом комплекса [Cu(1,3-pdta)]²⁻.³⁷ Поредешњи спектроскопске податке мерене за H₄edta и H₄1,3-pdta киселине могуће је посматрати благи пад g_z и благи раст A_z тензора што је у складу са мање напетом структуром због веће величине хелатног прстена коју образују два азота (шесточлани наспрам петочланог *N,N* хелатног прстена).¹⁶⁷



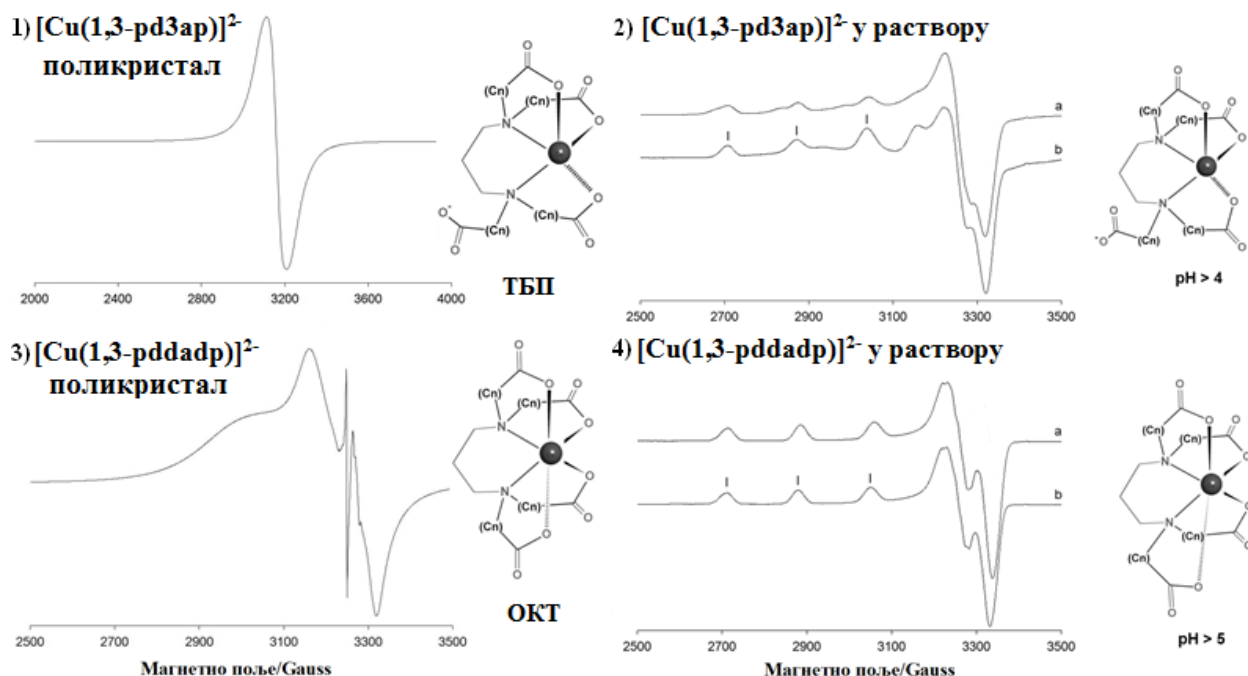
Слика 33. 1) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{edta})]$ комплекса у води ($\text{Cu}(\text{II})$ концентрација 1 mM): (a) pH 3.30; (b) pH 4.15 (спонтани pH) и (c) pH 10.45. **I** и **II** означавају прве паралелне резонанце пента ($2\text{N}3\text{COO}^-$) и хексакоординованих ($2\text{N}4\text{COO}^-$) комплекса. 2) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем $\text{K}_2[\text{Cu}(\text{edtp})]$ комплекса у води ($\text{Cu}(\text{II})$ концентрација 1 mM): (a) pH 3.60; (b) pH 6.10 (спонтани pH) и (c) pH 8.00. **I** представља прву паралелну резонанцу пентадентатних ($2\text{N}3\text{COO}^-$) комплекса. 3) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ комплекса у води ($\text{Cu}(\text{II})$ концентрација 1 mM): (a) pH 3.35, (b) pH 5.30 (спонтани pH) и (c) pH 9.75. **I** представља прву паралелну резонанцу хексадентатних комплекса ($2\text{N}4\text{COO}^-$)

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Повећање величине екваторијалног прстена из (5,5,5) хелатације у случају H_4edta киселине до (5,6,5) хелатације у случају $\text{H}_4\text{1,3-pdta}$ лиганда (два аксијална положаја заузимају COO^- групе) доводи до благог пада g_z и повећања A_z параметара што је и очекивано,¹⁶⁷ и у складу је са добијеним експерименталним резултатима. Дobar показатељ који мери степен дисторзије екваторијалне равни Cu(II) комплекса је однос g_z/A_z параметара¹⁶⁸ и износи 106 за комплекс са високим степеном планарности као у случају $[\text{Cu}(\text{GlyGlyGlyGlyH}_3)]^{2-}$ комплекса са (NH_2 , N^- , N^- , N) хромофором¹⁶⁷ и 143 и 138 за комплексе са хексадентатним H_4edta и $\text{H}_4\text{1,3-pdta}$ киселинама. EPR спектри поликристалног комплекса $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$, снимљени на 77 K, приказани су на слици 34 (1). Спектар је изотропски са g вредношћу од 2.131. Широки и неразложен сигнал је последица диполне интеракције која увећава спектралне линије и заклања хиперфину структуру. Ширина линије износи 98.1 G. У раствору преовлађује пентадентатни (2N3COO^-) комплекс у опсегу рН вредности од 4 до 11 (g_z 2.272, A_z $180.8 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (g_z/A_z 126)). Ако се ови параметри пореде са параметрима хексакоординованог комплекса $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ (2N4COO^-), ($\text{H}_4\text{1,3-pdta}$ образује исте (5,6,5) прстенове у екваторијалној равни)), пад g_z и раст A_z параметара се могу уочити тако да ова промена потврђује одсуство COO^- групе у једном од два аксијална положаја. Спектар ($g_z > g_x \sim g_y$) указује на тетрагоналну симетрију са неспареним електроном у $d_x^2-y^2$ орбитали и дисторговану КП геометрију.¹⁶⁹ Пентакоординована структура комплекса $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ посматрана је у чврстом стању и у води, где се у овом растварачу уочава прелазна структурна геометрија између КП и ТБП која се ипак приближава ТБП граници. Може се закључити да ефекти присутни у чврстом стању нису исти као у раствору стабилизујући при томе структуру $[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]^{2-}$ комплекса. EPR спектар поликристалног комплекса $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ снимљен је на 77 K (слика 34 (3)). Три широка и један оштар сигнал уочени су у опсегу 2900-3400 G. Резонанције на $g = 2.214$, 2.052 и 2.022 могу се приписати Cu(II) јону у ОКТ геометрији са ромбичном симетријом, за који је спектар са три g вредности очекиван.^{169,170} Редослед $g_z \gg g_y > g_x > g_e$ указује да се основно стање базира углавном на $d_x^2-y^2$ орбитали.¹⁶⁹⁻¹⁷¹ Резонанција на вредности g од 2.078 је карактерисана са врло малом ширином линије (2.4 Gauss). Најприхватљивији пренос је прелаз двоструког кванта (DQ) који укључује брзу узастопну апсорпцију од два одвојена кванта. Основ за овакво означавање су следећи услови: 1) када је фаза резонанције компатибилна са појединачним

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

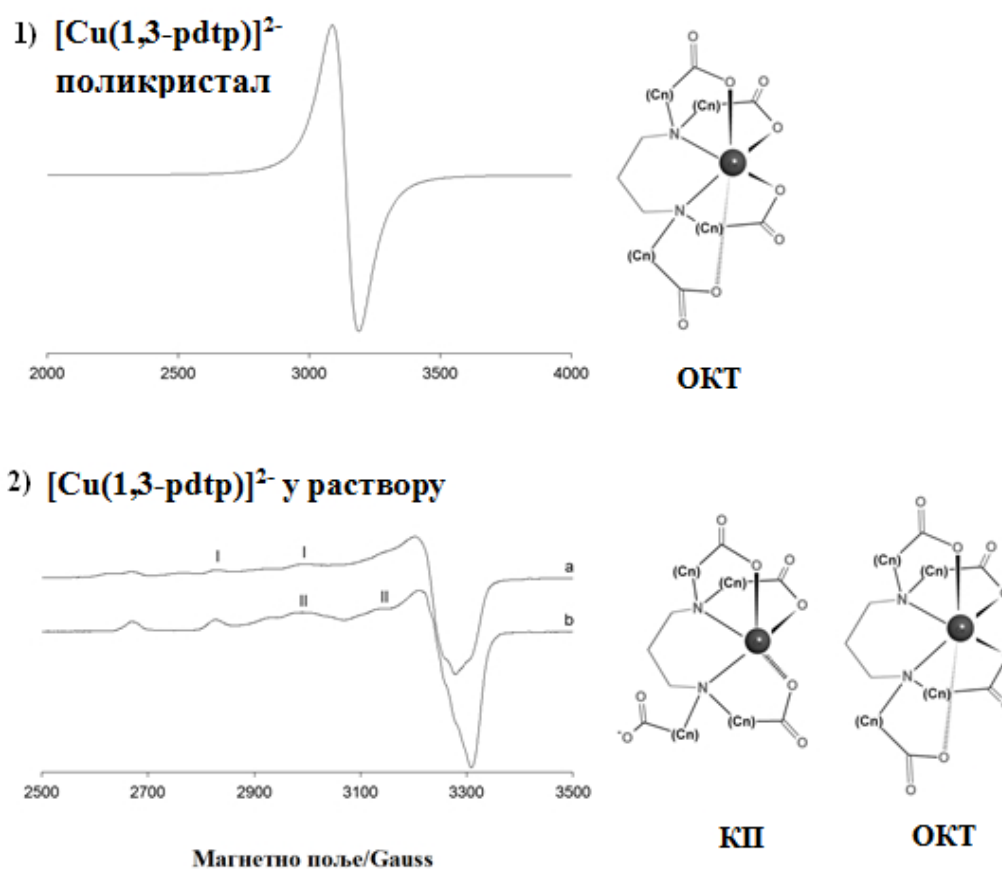
квантним прелазима, 2) када је g фактор (2.078) близу просека три g вредности од појединачних квантних прелаза (2.096), 3) када апсорпција не може бити симулирана користећи само појединачне квантне прелазе и 4) када је ширина линије групе (2.4 Gauss) знатно мања од мерених за појединачне квантне прелазе (> 50 Gauss).¹⁷² Ови прелазу су одређени за Fe(II),¹⁷³ Mn(II),¹⁷⁴ Ni(II),¹⁷⁵ Cu(II)^{176,177} металне јоне и указују на јаку интеракцију у чврстом стању између два суседна Cu(II) јона дајући спинско стање $S = 1$. Када је $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ комплекс растворен у води настаје хексакоординовани комплекс (2N4COO^- , g_z 2.265, A_z $176.4 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, **I** на слици 34 (4)) на вредности $\text{pH} > 5$.



Слика 34. 1) Анизотропски EPR спектар X-траке поликристалног комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]$ снимљен на 77 K. 2) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})]$ у води (Cu(II) концентрације 1 mM): (a) pH 5.90 (спонтани pH) и (b) pH 10.45. **I** представља прву паралелну резонанцу пентадентатних (2N3COO^-) комплекса. 3) Анизотропски EPR спектар X-траке поликристалног комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]$ снимљен на 77 K. 4) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]$ у води (Cu(II) концентрација 1 mM): (a) pH 5.80 (спонтани pH) и (b) pH 9.10-10.70. **I** представља прву паралелну резонанцу хексадентатних комплекса (2N4COO^-)

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

EPR спектар поликристалног комплекса $[\text{Cu}(1,3\text{-pdt})]^{2-}$ снимљен је на 77 K (слика 35 (1)). Спектар је изотропски са g вредношћу од 2.146. И у овом случају широка апсорпција настаје услед диполне интеракције. Пентадентатна $[\text{Cu}(1,3\text{-pdt})]^{2-}$ структура комплекса ($2\text{N}3\text{COO}^-$) нађена је на неутралној рН вредности (I слика 35 (2)), док је хексакоординована структура ($2\text{N}4\text{COO}^-$) (аналогно чврстом стању једињења) одређена на вредности рН > 9 (II слика 35 (2)) и коегзистира са првом (спектралне резонанције постају велике и нејасне). Резултати показују да када су сви хелатни прстенови шесточлани комплекси су мање стабилни.



Слика 35. 1) Анизотропски EPR спектар X-траке поликристалног комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdt})]$ снимљен на 77 K. 2) Анизотропски EPR спектар X-траке (120 K) снимљен у раствору који је добијен растварањем комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdt})]$ у води ($\text{Cu}(\text{II})$ концентрација 1 mM): (a) рН 3.50, (b) рН 4.05, (c) рН 7.05 (спонтани рН) и (d) рН 9.50. I, II и III означавају прве паралелне резонанце комплекса са једним аминским азотом везаним за $\text{Cu}(\text{II})$ (I и II) и (III) одговара ($2\text{N}2\text{COO}^-$) координацији

Може се закључити да у воденом раствору H_4edta и сродних лиганата Cu(II) комплекса различитих геометрија преовладава хексакоординација и то у случајевима када су аксијални хелатни прстенови петочлани (H_4edta , $\text{H}_4\text{1,3-pdta}$). Када се величина аксијалних хелатних прстенова повећава хексакоординовани облик је мање стабилан и потребно је посматрати више рН вредности ($2\text{N}_4\text{COO}^-$). Поредиши кристалне структуре комплекса $[\text{Cu(1,3-pd3ap)}]^{2-}$ и $[\text{Cu(1,3-pddadp)}]^{2-}$ са EPR спектрима снимљеним у води, нађено је да пента и хексакоординовани облици постоје и у раствору.

3.4 *Компјутерски експерименти*

Након припреме серије лиганата АПК-типа и аналогних комплекса бакра(II) са петочланим и шесточланим карбоксилатним прстеновима, поређена су њихова експериментална спектроскопска и геометријска својства са DFT резултатима. Геометрије могућих геометријских изомера су оптимизоване у смислу природе аксијалног донора (слика 4). QM израчунавања анјона често доводе до окупираних орбитала која имају физички нелогичне позитивне енергије. Показано је од стране Deeth-a и Feу-a¹⁷⁸ да се јонизација и/или дисоцијација лиганда спречава коначном величином базног сета. Због ове чињенице укључено је континуално диелектрично солватационо поље (COSMO) као погодан начин ублажавања структурних ефеката изазваних вишком наелектрисања на комплексима прелазних метала као што су предуге M-L везе. Табела 8 пореди теоријске и експерименталне дужине веза, углове и торзионе углове за целу бакар(II)-Е-АПК серију. Релативне енергије добијене су из укупних израчунатих енергија без корекција за грешку базног сета која у DFT није велика, а нарочито не са великим TZV2P базним сетом. Генерално, слагање теорије и експеримента је прилично добро. Метода BP86/COSMO даје систематски дуже Cu-L везе од оних које одговарају чврстом стању за 0.05 Å за екваторијалну раван и до 0.3 Å за дужине аксијалних веза. Ово последње се може очекивати с обзиром да их слабост аксијалних интеракција чини много осетљивијим у односу на средину или неке друге ефекте. Међутим, енергетске последице услед промена аксијалних веза чак и за неколико десетих делова Å су минималне. Добијени прорачуни показују да кристалографски посматрано Jahn-Teller-ова оса одговара DFT структури најниже енергије, иако истезање других оса даје структуре врло блиских енергија.

Табела 8. Поређење експерименталних и DFT података за бакар(II)-Е-АПК серију комплекса

Лиганд	edta ^a		ed3ap ^b		eddap ^c		eda3p ^d		edtp ^e	
Број изомера	1		2		3		2		1	
	Релативне енергије (kcal mol ⁻¹ mol ⁻¹) ^f									
<i>trans</i> (O ₅)	-		0		0		-		-	
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)			1.3		0.8		2.3			
<i>trans</i> (O ₆)					2.3		0			
Поређење експерименталних (рендгенских) и најниже енергетских DFT-оптимизованих структура										
	edta ^a		ed3ap ^b		eddap ^c		eda3p ^d		edtp ^e	
	C ₁ симетрија	C ₂ симетрија	C ₁ симетрија	C ₁ симетрија	C ₂ симетрија	C ₁ симетрија	C ₁ симетрија	C ₁ симетрија	C ₂ симетрија	
Cu-N (Å) у равни Екс: DFT	2.096:2.094 ^g 2.094:2.052	2.096:2.057 2.094:2.057	1.986:2.076 2.070:2.079	:2.090 :2.090	:2.254 :2.254	2.026:2.061 2.023:2.065	2.008:2.060 2.044:2.090	2.008:2.066 2.044:2.066		
Cu-O(Å) у равни Екс: DFT	2.023:2.094 1.933:2.006	2.023:2.011 1.933:2.011	1.929:2.029 2.020:1.986	:2.018 :2.009	:2.204 :2.204	1.951:1.967 2.013:2.015	1.932:1.998 1.980:2.043	1.932:2.003 1.980:2.003		
Cu -O(Å) аксијални Екс: DFT	2.381:2.362 2.224:2.319	2.381:2.455 2.224:2.455	2.333:2.463 2.262:2.406	:2.431 :2.407	:1.994 :1.994	2.518:2.896 2.300:2.532	2.173:2.228	2.173:2.678		
Cu -O-C (°) (с.в.) Екс: DFT	111.0:110.8	111.0:110.0	116.4:115.0	:120.3	:124.71	112.4:112.4	129.7:129.0	129.7:126.2		
Cu-O-C-O(°) (с.в.) Екс: DFT	173.28:173.4	173.28:174.2	172.9:175.0	:178.4	:172.4	144.2:149.6	166.3:167.3	166.3:164.0		

^aРеф. 179; ^bреф. 21; ^cреф. 107; ^dреф. 107); ^eреф. 180.

^fИзомер са најнижим енергетским минимумом је означен са 0 kcal/mol.

^gДужине веза за петочлане прстенове су у италику.

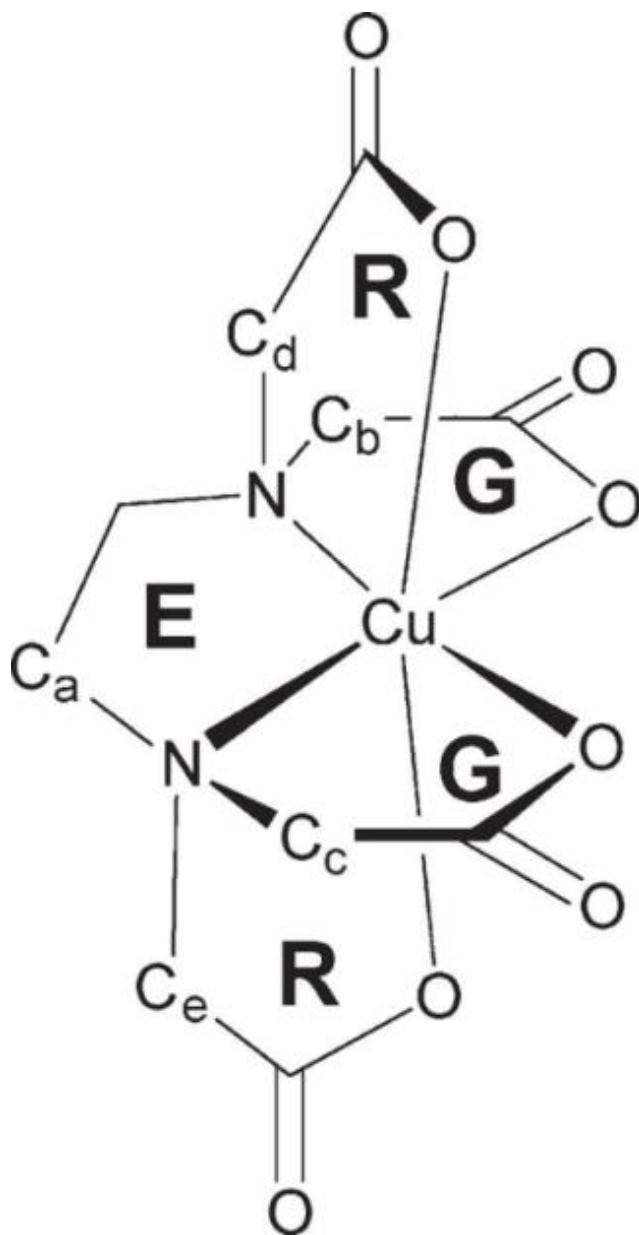
С обзиром да није било успеха у изоловању кристалне структуре $[\text{Cu}(\text{eddadp})]^{2-}$ комплекса, упркос многим коришћеним техникама (укључујући измену контра јона), предложена *trans*(O₅) структура је предвиђена на основу DFT прорачуна енергија (Табела 8). Међутим, као што је описано касније, предвиђање је у складу са спектралним резултатима и очекивањима из рада са таквим системима. Резултати микроанализе, спектралне анализе (IR и UV-vis) и поређење експерименталних и DFT-израчунатих спектра дају додатне доказе да је *trans*(O₅) геометријски изомер највероватнији изомер у случају $[\text{Cu}(\text{eddadp})]^{2-}$ комплексног анјона. Стога, су узети параметри из DFT оптимизованог *trans*(O₅)- $[\text{Cu}(\text{eddadp})]^{2-}$ анјона ради структурног поређења са сличним комплексима. Комплексни анјон *trans*(O₅)- $[\text{Cu}(\text{eddadp})]^{2-}$ поседује C₂ симетрију са дисторгованим октаедарским N₂O₄ окружењем, где су два ацетатна прстена у аксијалном положају а друга два β-пропионска прстена и леђни етилендиамински прстен у екваторијалној равни. Martell и сарадници,¹⁸¹ објавили су константе стабилности за edta-типове лиганата са бакар(II) комплексима. Измерена logβ вредност (вода/KNO₃, потенциометрија) за комплексе $[\text{Cu}(\text{edta})]^{2-}$, $[\text{Cu}(\text{eddadp})]^{2-}$ и $[\text{Cu}(\text{edtp})]^{2-}$ износи: 18.3, 16.3 и 15.4, што указује на тренд да је мања стабилност комплекса када број шесточланих хелатних прстенова расте, иако експериментална мерења нису могла да установе прецизно координациони број бакар(II) центра. Експериментално опадање константи стабилности са повећањем броја пропионских донора је потврђен DFT прорачунима. Дисоцијациона енергија везе (BDE = The bond dissociation energy) коришћењем модела поларизабилног континуума (PCM/вода) за оптимизоване врсте израчунате су коришћењем израза BDE = E(CuL) – E(Cu) – E(L). Вредности BDE енергија износе: –240.86, –240.65, –238.80, –230.90 и –223.41 kcal mol⁻¹ за L = H₄edta, H₄ed3ap, H₄eddadp, H₄eda3p и H₄edtp лиганде. Теорија и експеримент се слажу бар квалитативно, да више глицинских прстенова дају стабилније комплексе. Међутим, већи број глицинских прстенова може довести до редукције координационих места у лиганду. Тако, док edta комплекс има највишу константу образовања, нађено је да је у пентадентатном $[\text{Cu}(\text{edta})(\text{H}_2\text{O})]^-$ комплексу¹⁵⁴ екваторијални ацетатни прстен замењен молекулом воде. У циљу постизања хексадентатних особина лиганда потребно је да хелат поседује више шесточланих прстенова упркос чињеници да формирање оваквих комплекса воде њиховој мањој стабилности.

3. 4. 1 NBO анализа

NBO излазни документ добијен Gaussian-овим израчунавањима анализиран је уз помоћ NBO 5.0 пакета.¹²⁵ NBO анализа не указује на јако директно ковалентно метал-лиганд везивање. Супротно томе, интеракције су умногоме јонске и комплекс је резултатима NBO анализе најчешће третиран са две одвојене јединице: бакар(II) и тетраанјонски АПК-тип лиганда. Ова фрагментација је нарочито изражена у случају бакра(II) са H_4ed3ap , $H_4eddadr$ и H_4eda3p хелатима. Најинтензивнији доворско-акцепторски (Д-А) енергетски трансфери резултују донацијом електронских шаржи из лиганда (усамљени парови карбоксилатног О-атома као и N-атома) ка моно-централној не-Lewis-ој (ексцитованој) s^* орбитали бакра(II).¹²⁵ Енергија опада са опадањем броја петочланих прстенова, што је у складу са горе наведеним резултатима.

3. 4. 2 Метода Лигандног Поља Молекулске Механике (LFMM)

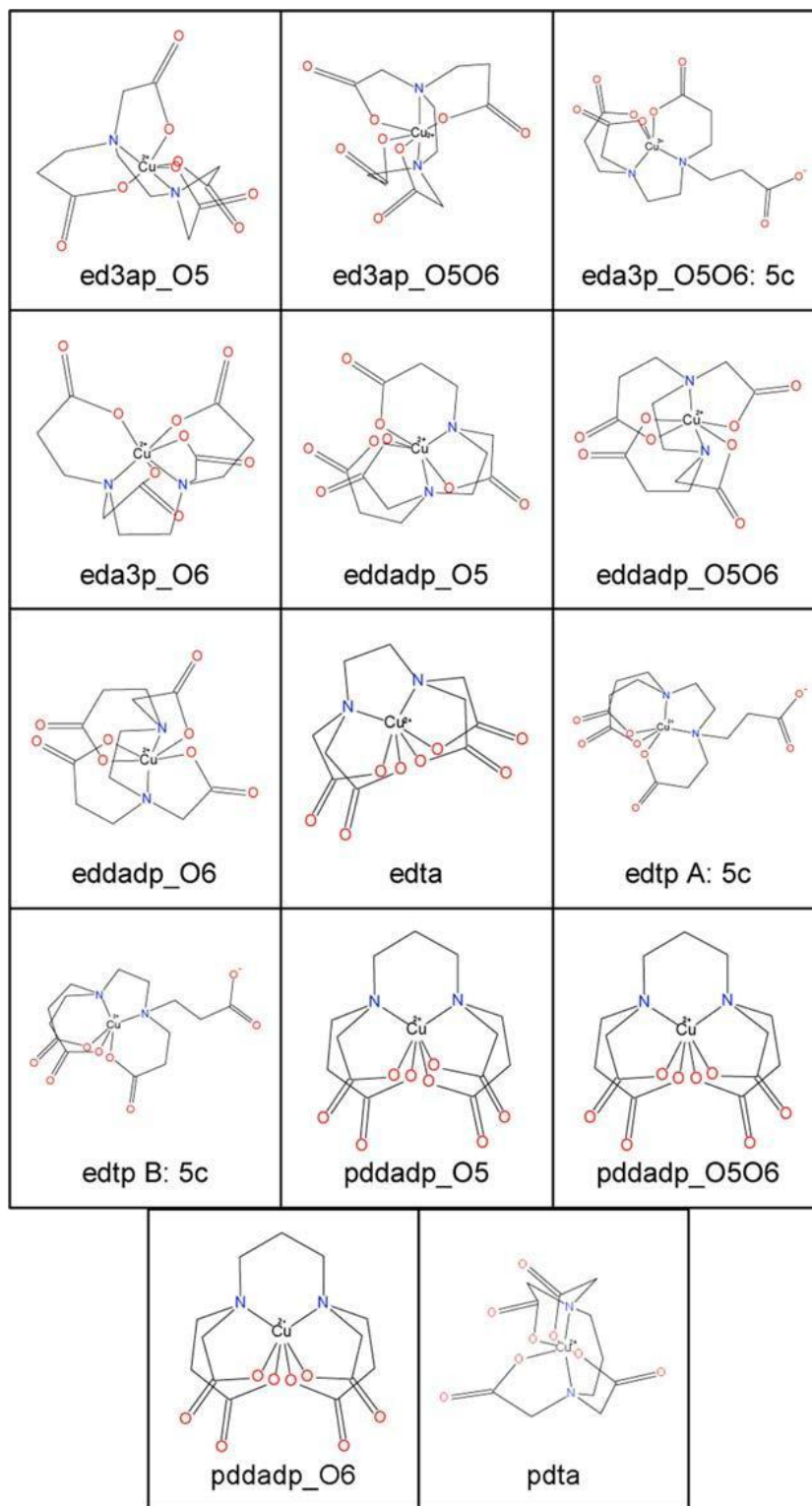
Општа структура хексакоординованих АПК бакар(II)-комплекса приказана је на слици 36. Екваторијални диамински прстен (E) је или петочлани ($a = 1$, етилендиамин = ед) или шесточлани ($a = 2$, пропандиамин = пд). Екваторијални карбоксилатни хелатни прстенови (G) су или ацетатни ($b = 1$, $c = 1$) или пропионски ($b = 2$, $c = 2$) као што су аксијални R прстенови ацетатни ($d = 1$, $e = 1$) или пропионски ($d = 2$, $e = 2$). Номенклатура описује шесточлане бакар(II)-комплексе прецизирајући да ли су аксијални лиганди (нормално издуженог) тетрагоналног комплекса ацетатни [$trans(O_5)$], ацетатни и пропионски [$trans(O_5O_6)$] или пропионски [$trans(O_6)$] где лиганд у основи може бити етилендиамински (ед) или пропандиамински (пд). Може се приметити да $H_4eddadr$ има један ацетатни и један пропионски прстен на сваком азоту. Симетричност поменутог лиганда је много лакше постићи синтетички него асиметричну верзију са два ацетата на једном азоту и два пропионата на другом. Ради бољег разјашњења поменута номенклатура би означила овај други лиганд као $H_4edarar$ иако овај облик није разматран даље у овој дисертацији.



Слика 36. Хексакоординовани бакар(II)-АПК комплекс. У случају Е-АПК комплекса $a = 1$, док је код П-АПК $a = 2$. Када су b, c, d и $e = 1$, комплекс садржи ацетатне прстенове а када им је вредност 2, комплекс садржи пропионске прстенове

Укупно наелектрисање од -4 вредности такође треба прихватити као ознаку лиганда, прилагођену одређеним бројем протона. Радни сет од 14 изабраних комплекса за LFMM FF је шематски приказан на слици 37.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА



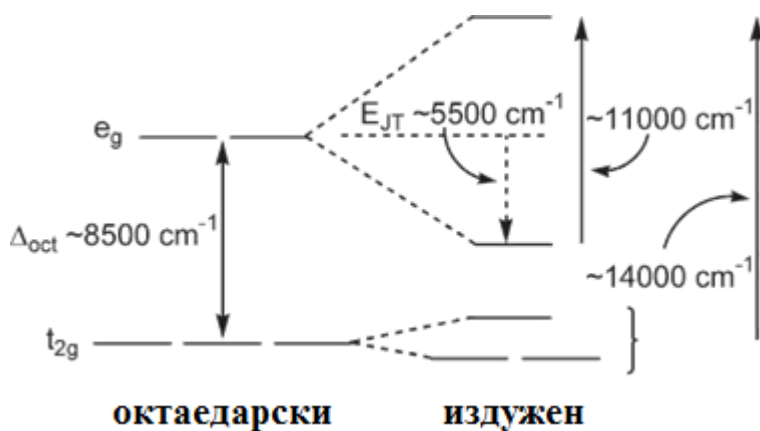
Слика 37. Шематски приказ и скраћенице 14 DFT оптимизованих комплекса у оквиру LFMM радног сета. 5c = пентакоординовани

Већина изабраних комплекса у основи поседује етилендиамински леђни прстен док су укључена и четири система са пропандиаминским прстеном. Почетне координате искоришћене су из рендгенских структурних анализа а потом су оптимизоване ADF-ом коришћењем BP86/TZ2P/COSMO протокола. Недавно, Sousa et al.¹⁸² објавили су свеобухватну студију, посебно за системе који садрже бакар, која је показала да BP86 метод пружа поуздане геометрије за бакар(II)-АПК комплексе. С обзиром да се ови системи користе као радни прецизна конформација комплекса је неважна у смислу да иста не мора да одговара конформеру најниже енергије. Све док структура одговара стварном локалном минимуму и док је скуп структура довољно разноврстан, резултујући параметарски сет је опште применљив бар за структурно сродне CuN₂O₄ системе. Да би истражили базни скуп и друге ефекте, структуре су оптимизоване помоћу ORCA софтвера коришћењем BP86/def2-SVP/COSMO протокола. Фреквенциона израчунавања су потврдила да сви комплекси одговарају локалном минимуму, осим у случају В изомера [Cu(edtp)]²⁻ комплекса где некоординована пропионска група поседује имагинарну фреквенцију чија је вредност 58 cm⁻¹ која одговара ротацији карбоксилата. С обзиром да је карбоксилат поприлично удаљен од центра бакра, даља оптимизација ради уклањања поменуте фреквенције је непотребна. Геометрије добијене BP86/def2-SVP/COSMO протоколом показују мању Jahn-Teller-ову дисторзију него у случају ADF BP86/TZ2P/COSMO протокола. Првобитни метод даје дуже екваторијалне везе и до 0.03 Å, са аксијалним везама краћим за скоро 0.1 Å у случају аксијалних ацетатних прстенова а у случају аксијалних пропионских прстенова и до 0.2 Å. ORCA оптимизације користећи већи def2-TZVPP базни сет указују да већина разлика лежи у ефекту базног скупа, иако ове наизглед велике промене дужине веза имају мали утицај на енергије (*vide-infra*). Пре оптимизације било ког од LFMM параметара, развијена је шема парцијалног наелектрисања. У складу са претходним истраживањима,^{100,183-185} додата је шема MMFF наелектрисања веза (bond charge increment = bci) за аминске доноре. У овим примерима bci за азотов атом износи 0.35 тако да је наелектрисање терцијарног амина у вредности од -0.46. Делокализовано везивање у карбоксилатној групи није погодно за bci шему стога се појединачна парцијална атомска наелектрисања морају подесити. MMFF наелектрисања за карбоксилат износе за угљеник 0.906 и -0.900 за сваки кисеоников атом. Код координоване R-CO₂ групе, за угљеник, координовани кисеоник и терминални кисеоник

изабрана су наелектрисања у вредности од: 0.15, -0.57 и -0.50. Изабране вредности су настале упоређивањем MMFF наелектрисања са трима главним врстама у ADF-у: Mulliken-овим, мултиполним и Hirshfeld-овим наелектрисањима. С обзиром на недавну студију од стране Comba-е и сарадника¹⁸⁶ који су спровели различите моделе наелектрисања у оквиру своје MM шеме, овде су наелектрисања заснована на Hirshfeld-овој шеми. На пример, Hirshfeld-ова наелектрисања угљеника и кисеоника за изоловане ацетате су у вредности од 0.06 односно -0.44, док у моделу тетракоординованог комплекса $[\text{Cu}(\text{en})(\text{acetate})_2]$, наелектрисања угљеника, везаног кисеоника и терминалног кисеоника износе: 0.12, -0.32 и -0.41. Коначан избор представља равнотежу између чистих Hirshfeld-ових и MMFF наелектрисања где су појединачне вредности релативно безначајне из три разлога: 1) MM електростатичке интеракције су једино узете у обзир за 1-4 интеракције па је чак и 1-4 електростатички члан скалиран (за вредност од 0.75 за MMFF); 2) овде су разматрани комплекси без интермолекулских интеракција иако постоји изражени ефекат изотропске средине због чињенице да DFT метода укључује COSMO солватацију; 3) у овој дисертацији су оптимизовани и други LFMM параметри који ће у одређеној мери подесити FF да ради без наелектрисања која су изабрана. Кратак лингвистички вектор је укључен да би се подесила карбоксилатна наелектрисања и прилагодило наелектрисање на бакру како би се постигло тачно укупно наелектрисање. За хексакоординоване АПК комплексе коначно наелектрисање на бакру износи 0.576. АПК комплекси захтевају најмање 14 LFMM параметара: три Морсе-ове функције (D , α и r_0), једну функцију L-L одбијања (A_{LL}) и два ангуларна модела преклапања (АОМ) (e_σ и e_{ds}) за оба типска донора (N и OM) плус $e_{\pi x}$ и $e_{\pi y}$ параметре за кисеоник. У овој дисертацији као и у претходним LFMM истраживањима^{89,187,188} за e_σ параметар се претпоставља да варира као пети инверзни потенцијал дужине везе M-L заједно са осталим АОМ параметрима који варирају као шести инверзни потенцијал. Тежина параметризације је редукована подешавањем свих АОМ параметара на разумне вредности. Избор је субјективан с обзиром да није било довољно експерименталних података да се одреде јединствене вредности АОМ параметара. Комплетне анализе лигандног поља комплекса попут $[\text{Cu}(\text{edta})]^{2-}$ захтевале би шест АОМ изнад поменутих параметара плус $e_{\pi\sigma}$ за кисеоник који представља вандијагонални члан који описује погрешно усмерену валенцу која произилази из номинално невезујућег усамљеног пара кисеоника у координационој

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

равни.¹⁸⁹ Могу се узети у обзир и други вандијагонални чланови код Cu-N погрешно усмерене валенце¹⁹⁰ или у случају савијања равни карбоксилатног лиганда попут оног у [Cu(acetilacetonat)₂] комплексу.¹⁹¹ Такође, није постојало довољно информација у d-d спектрима бакар(II) комплекса да би се уклопио тако велики број параметара чак претпостављајући да сви могући прелазни могу бити решени експериментално. Спектар раствора [Cu(edta)]²⁻ комплекса показује само две траке, широки максимум центриран на 14.000 cm⁻¹ са предложеним превојем на 11.000 cm⁻¹. Претходно развијени Cu-N параметри¹⁹² су задржани и допуњени су са Cu-O параметрима. Да би се обезбедили груби оквирни АОМ параметри, узета је у обзир репрезентативна дужина везе од 2.1 Å, која доприноси вредностима АОМ параметара: $e_{\sigma}(\text{N}) = 5142 \text{ cm}^{-1}$, $e_{\text{ds}}(\text{N}) = 5247 \text{ cm}^{-1}$, $e_{\sigma}(\text{O}) = 4652 \text{ cm}^{-1}$, $e_{\pi\text{x}}(\text{O}) = 466 \text{ cm}^{-1}$, $e_{\pi\text{y}}(\text{O}) = 486 \text{ cm}^{-1}$ и $e_{\text{ds}}(\text{O}) = 2332 \text{ cm}^{-1}$. Отуда је карбоксилатни σ везујући параметар нешто мањи него код аминских лиганата док се за везујући π код Cu-O претпоставља да је грубо цилиндрично симетричан.¹⁹³ Међутим, ове вредности нису намењене за прецизно репродуковање спектроскопских података попут d-d прелазна. Уместо тога они морају да обезбеде разумну заступљеност LFSE.



Слика 38. Процена октаедарског цепања за бакар(II) комплекс заснован на експерименталним d-d прелазима од 11.000 и 14.000 cm⁻¹. E_{JT} је приближна Jahn-Teller-ова стабилизациона енергија заснована на половини енергије нижег прелазна

Користећи [Cu(edta)]²⁻ као пример, LFMM-оптимизоване структуре предвиђају d-d прелазе чије су вредности: 15.700, 15.000, 14.200 и 10.300 cm⁻¹ указујући на то да су траке виших енергија за око 1500 cm⁻¹ више у поређењу са експериментом. Међутим, користећи експерименталне податке можемо израчунати ефективну Δ_{oct} вредност од 8500 cm⁻¹ где

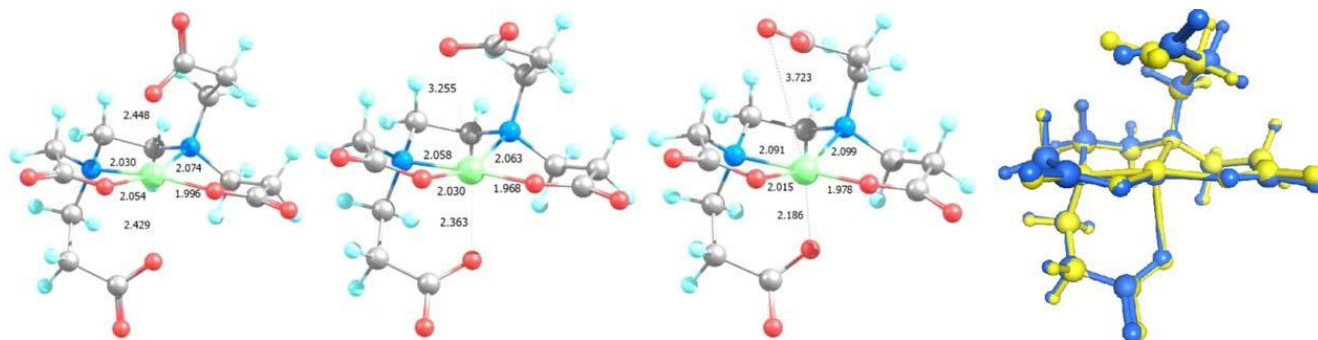
РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Jahn-Teller-ова стабилизациона енергија износи $\frac{1}{2}(11.000) = 5500 \text{ cm}^{-1}$ (слика 38). Укупна LFSE је тако $\frac{3}{5}\Delta_{\text{oct}} + E_{\text{JT}} = 10,600 \text{ cm}^{-1} = 30.3 \text{ kcal mol}^{-1}$. Експериментално добијена вредност би требало да буде упоређена са вредношћу LFMM-LFSE од $31.7 \text{ kcal mol}^{-1}$. На овај начин LFMM даје разумне стабилизационе енергије на рачун нетачних спектроскопских података. Треба посебно истаћи да су од важног значаја велике e_{ds} вредности. Са спектроскопске тачке гледишта очекивана вредност e_{ds} за планарне Cu(II) комплексе је 1500 cm^{-1} .^{194,195} Међутим, потребне су веће вредности у случају LFMM методе. Члан који се односи на d-s мешање код бакар(II) комплекса се понаша променљиво. За шестокоординоване комплексе мора се постићи одређени праг да би се стабилизовала елонгација над компресијом¹⁹⁶ док у се у неким примерима централног бакра захтевају велике компоненте d-s мешања.¹⁹⁷ Стога се може извести закључак да је разлика између конкуретних чланова d-s мешања важнија за LFMM него њихове апсолутне вредности, које су много битније када се жели прецизнија спектроскопија. Стога је LFSE противна параметрима Morse-ове функције и L-L одбијања. Morse-ова функција и члан D су повезани константом силе, k према једначини 38:

$$\alpha = \sqrt{\frac{k}{2D}}$$

Једначина 38

Када се D члан фиксира остали: α , r_0 и A_{LL} варирају (где су r_0 и A_{LL} чланови који улазе у 14 LFMM изнад поменутих параметара за АПК комплексе). Током оптимизације LFMM параметара тешко је репродуковати некоординовану аксијалну конформацију пропионске групе добијену DFT методом. На пример, полазећи од мање или више регуларне Jahn-Teller-ове дисторговане геометрије *trans*(O₆)-[Cu(eda3p)]²⁻ комплекса (слика 39, лево), ADF BP86/TZ2P/ COSMO оптимизација ефектно дисосује једну од аксијалних пропионских група (слика 39, лево од средине) што је резултат који је потврђен као локални минимум ORCA BP86/def2-SVP/ COSMO оптимизацијом (слика 39, десно од средине).



Слика 39. Структуре $trans(O_6)-[Cu(eda3p)]^2-$. Лево: почетна геометрија за ADF/TZ2P/COSMO оптимизацију. Средњи лево: завршна тачка за ADF BP86/TZ2P/COSMO оптимизацију/старт за ORCA BP86/def2-SVP/COSMO оптимизацију. Средњи десно: завршна тачка за ORCA BP86/def2-SVP/COSMO оптимизацију. Десно: преклопљене ADF оптимизована (плава) и коначна LFMM (жута) структура. Ова последња укључује члан напона Cu-O-C угла

Метални центар је приближно ортогоналан у односу на раван некоординаног пропионског карбоксилата што је чест случај код ацетатне координације. Торзиони чланови Cu-O-C-C и Cu-O-C-O који су укључени у MMFF94x фаворизују диедарске углове са вредностима од 0 и 180°. Стартна геометрија приказана на слици 39, лево, је добијена коришћењем раније верзије LFMM FF. Међутим, испитивање структура показује да се Cu-O-C угао мења од 120° до 90° као што се Cu-O веза издужује што указује на купловање између дужине везе и угла везе што је експлицитно означено у MMFF94 преко параметра истезања (једначина 39):

$$E_{\text{stb}} = w_{\text{stb}} \sum_{i-j-k} (k_{ijk}(r_{ij} - L_{ij}) + k_{kji}(r_{jk} - L_{jk})d_{ijk})$$

Једначина 39

где сума обухвата све углове веза $i-j-k$, w_{stb} је тежина (обично јединица), k_{ijk} и k_{kji} су константе истезања, r_{ij} и r_{jk} су стварне $i-j$ и $j-k$ дужине веза, L_{ij} и L_{jk} су референтне (тј., MMFF94) дужине веза за $i-j$ и $j-k$ везе и $d_{ijk} = a_{ijk} - A_{ijk}$, где је a_{ijk} стварни $i-j-k$ угао везе а A_{ijk} представља референтни угао везе (у радијанима). Параметри истезања који укључују M-L

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

интеракције представљају додатне параметре и као што члан лигандног поља генерише елемент купловања између M-L дужине везе и L-M-L углова, чланови истезања су природно изостављени. Међутим, у овом случају за L за карбоксилатну Cu-O везу од 2.1 Å, $\Delta=120^\circ$ и $k=17.2 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-1} \text{ rad}^{-1}$, може се постићи разумна сагласност између оптимизованих DFT и LFMM структура (слика 39, десно). Међутим, додавањем новог члана повећава се терет параметризација до тачке где вредности параметара истезања нису јединствене. Тако да било који комплекси, за које се чини да дисосују карбоксилатни ланац, захтевају даље пажљиве анализе коришћењем DFT методе. Генерални допринос новог LFMM FF-а приказан је у табели 9.

Табела 9. Поређење LFMM и DFT (BP86/TZ2P/COSMO) оптимизованих M-L дужина веза

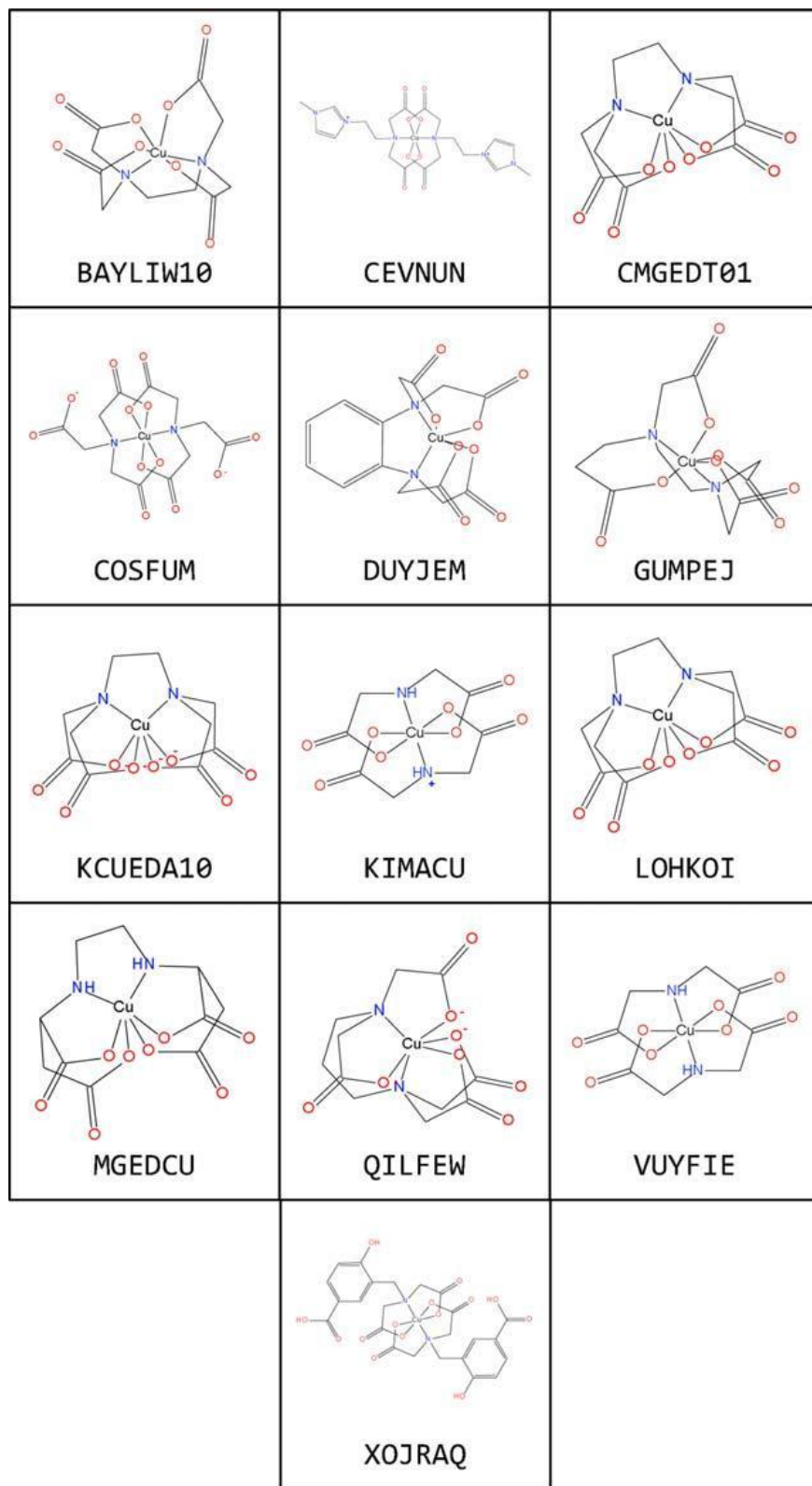
Комплекс	M-L (rmsd/Å)	Тешки атоми (rmsd/Å)
ed3ap_O ₅	0.034	0.135
ed3ap_O ₅ O ₆	0.052	0.203
eda3p_O ₅ O ₆ ^a	0.136	0.640
eda3p_O ₆	0.101	0.306
eddadp_O ₅	0.062	0.135
eddadp_O ₅ O ₆	0.068	0.123
eddadp_O ₆	0.058	0.098
edta	0.035	0.093
edtp ^o	0.112	0.206
edtp ^b	0.067	0.553
1,3-pddadp_O ₅	0.042	0.325
1,3-pddadp_O ₅ O ₆	0.131	0.140
1,3-pddadp_O ₆	0.034	0.094
1,3-pdta	0.034	0.171

^aпентакоординован; ^oпентакоординован: A; ^bпентакоординован: B

LFMM параметри су дизајнирани да дају једноставне аритметичке просеке девијација између DFT и LFMM метода што је могуће ближе вредности нула. За Cu-N дужине веза оне износе 0.0 Å а за Cu-O -0.02 Å. Појединачне Cu-N грешке су задовољавајуће мале и у опсегу су од -0.04 до +0.04 Å, где су за Cu-O, из очигледних разлога, много дуже у распону од +0.23 Å за пентакоординовани облик $trans(O_5O_6)-[Cu(eda3p)]^{2-}$ комплекса до

-0.32 Å за $trans(O_5O_6)-[Cu(1,3-pddadp)]^{2-}$ комплекс. Екстремне девијације су повезане са аксијалном координацијом. Краће односно јаче екваторијалне Cu-O везе су у много ближој сагласности са грешкама и у опсегу су од +0.03 Å до -0.16 Å. Велике негативне девијације су повезане са пентакоординованим комплексима који су генерално у лошијој сагласности са DFT-ијем него хексакоординовани комплекси. Највећа позитивна девијација у вредности од +0.23 добија се у случају пентакоординованог изомера $trans(O_5O_6)-[Cu(eda3p)]^{2-}$ где DFT предвиђа вредности аксијалних пропионских кисеоника од 4.11 и 4.56 Å док се аксијална Cu-O(ацетатни) веза DFT методом продужава за 2.25 Å а LFMM методом до 2.48 Å. Међутим, иако разлике аксијалних дужина веза могу бити бројчано велике, енергетске последице су релативно мале. Највећа разлика је -0.32 Å за комплекс $trans(O_5O_6)-[Cu(pddadp)]^{2-}$ који има у структури шесточлане аксијалне хелатне прстенове. Добијене Cu-O дужине веза ADF-ом су 2.81 наспрам 2.49 Å добијене LFMM-ом. Међутим, ако је та веза фиксирана на 2.81 Å а остатак молекула LFMM оптимизован, енергетска разлика између овако оптимизоване структуре и пуне оптимизације је само 1.3 kcal mol⁻¹. Може се закључити као што се и очекује за јаке Jahn-Teller-активне бакар(II) комплексе да велике промене у аксијалним дужинама веза не морају да значе и велике промене у енергији. Даља валидација извршена је поређењем података добијених LFMM оптимизацијом и рендгенском структурном анализом. Тринаест бакар(II) комплекса са два терцијарна амина и четири карбоксилатна донора преузета су из CSD базе података. Радни сет је укључио неколико симулираних молекула и неколико комплекса са *trans* донорима азота (слика 40).

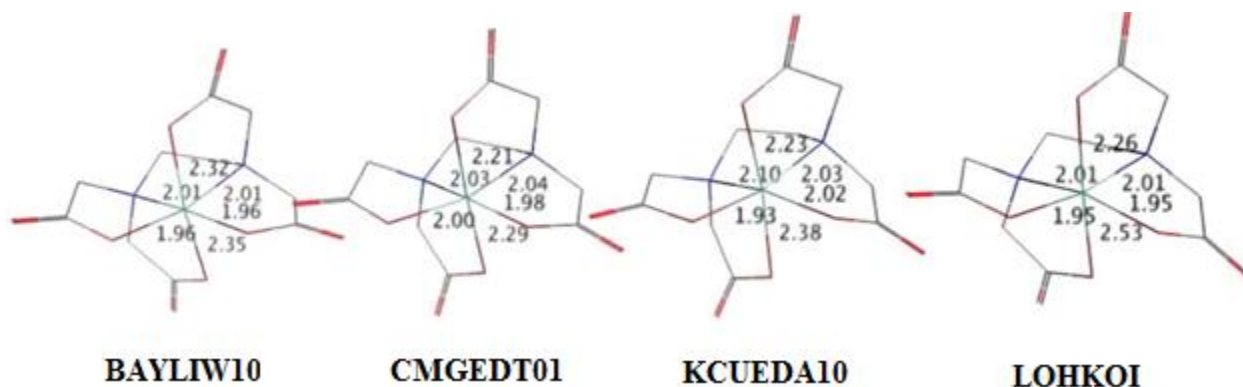
РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА



Слика 40. Рендгенске структуре N2O4 хромофоре са њиховим CSD реферетним ознакама

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

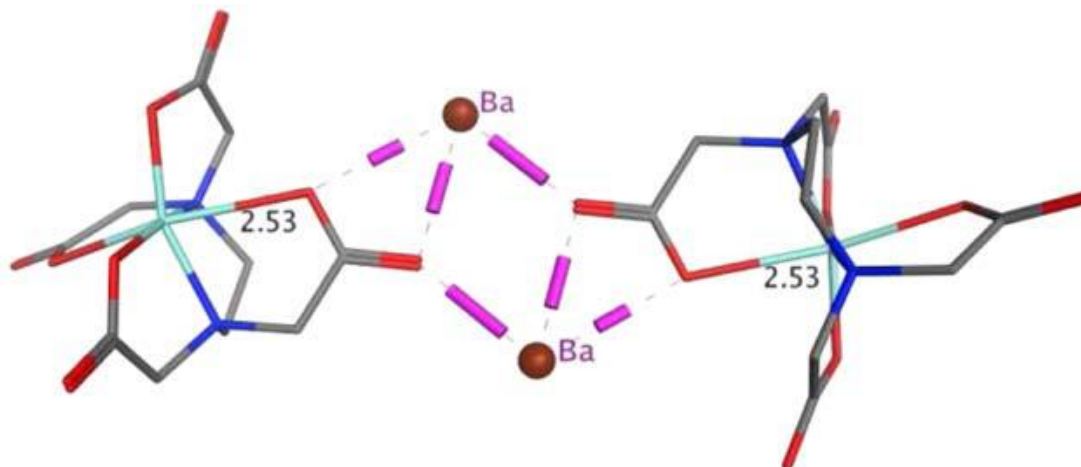
Пре било каквог поређења требало би узети у обзир осетљивост или "пластичност"¹⁹⁸ која је својствена координацији код бабра. Постоје четири по ознаци идентична edta комплекса са CSD ознакама: BAYLIW10, CMGEDT01, KCUEDA10 и LOHKOI. Њихове структуре и Cu-L дужине веза дате су на слици 41.



Слика 41. Кристалне структуре CSD-референтних ознака $[\text{Cu}(\text{edta})]^{2-}$ комплекса где су приказане Cu-L дужине веза (Å)

Експериментални односно кристалографски подаци за аксијалне Cu-O дужине веза варирају за 0.32 Å од 2.53 до 2.21 Å; екваторијална Cu-O растојања варирају од 1.93 до 2.02 Å и Cu-N везе варирају од 2.01 до 2.10 Å. Очигледно, Cu-L дужине веза снажних Jahn-Teller-активних бакар(II) комплекса су под утицајем кристалног паковања. Стога, имајући у виду ову експерименталну разноликост, одлучујући да ли је неко израчунавање у доброј сагласности је изазов и увек треба прихватити чињеницу да за бакар(II) комплексе, веће привидне разлике између израчунатих и рендгенских структура се очекују ако се праве поређења између експерименталне структуре комплекса која је упакована у кристално окружење и рачунски оптимизоване геометрије изолованог система чак и када последњи обухвата ефекте средине или експлицитно COSMO солватационо поље коришћено у DFT израчунавањима, или у случају LFMM-а где су параметри изведени било из експерименталних података или из резултата DFT COSMO-коригованог прорачуна.^{84,199} Ближе испитивање рендгенске структуре може да открије извор променљивости дужине веза. Јако изражена аксијална асиметрија у LOHKOI структури се догађа због јаких

интеракција између карбоксилних група и Ba^{+2} јона што доводи до издужења аксијалне Cu-O везе. Део кристалне структуре у којој се истичу ове везе је приказана на слици 42.



Слика 42. Блиски контакти (циклама цилиндри) између Ba^{+2} јона и аксијалног ацетата $[Cu(edta)]^{2-}$ у $Ba_2[Cu(edta)](ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ комплексу (CSD референтна ознака LONK01)

Узимајући у обзир све експерименталне податке дозвољена је толеранција одступања за дужине екваторијалних и аксијалних веза до 0.05 и 0.09 Å. Ове грешке су веће и два до три пута од оних добијених за друге металне центре као што су Fe(II),^{188,200} где су Jahn-Teller ефекти на дужине веза мање изражени. Укупна сагласност између LFMM и рендгенских кристалних структура дата је у табели 10. Грешке су веће у поређењу са DFT радним сетом иако исте настају због систематске грешке између DFT оптимизованих структура и структура добијених рендгенском структурном анализом. За ову класу бакар(II) комплекса DFT протокол даје нешто краће Cu-N везе у просеку од 0.02 Å и до 0.04 Å за Cu-O везе. Резултати поређења веза су такви да је највећа разлика мања од 0.1 Å и уопште речено сагласност између LFMM-а и експерименталних структура је задовољена с обзиром на релативно велике експерименталне непоузданости у кристалографским подацима за пластичне бакар(II) комплексе.

Табела 10. Поређење М-Л дужина веза LFMM оптимизованих и кристалних структура

Реф-ознака	Белешке	М-Л (rmsd/Å)	Тешки атоми (rmsd/Å)
BAYLIW10	edta	0.06	0.20
CEVNUN	<i>trans</i> -NN	0.09	0.34
CMGEDT01	edta	0.10	0.25
COSFUM	<i>trans</i> -NN	0.07	0.72
DUYJEM	спљоштена	0.15	0.24
GUMPEJ	ed3ap_O5	0.10	0.25
KCUEDA10	edta	0.09	0.36
KIMACU	<i>trans</i> -NN; видети VUYFIE	0.08	0.18
LOHKOI	edta	0.09	0.21
MGEDCU	-	0.11	0.33
QILFEW	1,3-pdta	0.06	0.17
VUYFIE	<i>trans</i> -NN; видети KIMACU	0.09	0.31
XOJRAQ	<i>trans</i> -NN	0.09	0.22

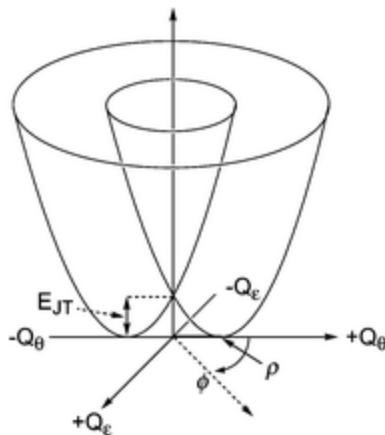
Очигледно се може приметити да се LFMM FF заснива искључиво на репродуковању структура. Да буде од веће користи требало би да репродукује и њихове релативне енергије. На основу DFT израчунавања и спектроскопских поређења $[\text{Cu}(\text{edda}p)]^{2-}$ комплексни анјон би требало да поседује *trans*(O₅) геометрију где је за *trans*(O₅O₆) и *trans*(O₆) геометрије израчуната виша вредност енергије за 0.8 и 2.3 kcal mol⁻¹. Свеобухватна конформациона претрага представља велику предност LFMM методе. Сходно томе, 2000 корака стохастичке конформационе претраге је урађено у случају $[\text{Cu}(\text{edda}p)]^{2-}$ комплекса. У складу са DFT истраживањем, енергетски најнижа LFMM структура има такође *trans*(O₅) конфигурацију са најнижом *trans*(O₅O₆) са вредношћу од 3.4 kcal mol⁻¹ и најнижом *trans*(O₆) структуром чија је вредност 9.2 kcal mol⁻¹ изнад глобалног минимума. Тако, LFMM даје исти редослед структурних облика али већу енергетску варијацију. Да би даље испитали ово понашање, урађене су додатне DFT оптимизације почевши од сваке од три LFMM структуре (табела 11). Сагласност између нових DFT израчунавања и LFMM је прилично добра. Уколико се узму просечне енергетске разлике три DFT методе из табеле 11 (0.0, 2.5 и 6.6 kcal mol⁻¹) корелација са LFMM методом је савршена (корелациони коефицијент $r^2=0.9999$). С обзиром да су одређени подаци за само две тачке, овај резултат је од ограниченог значаја.

Табела 11. Релативне енергије (kcal mol^{-1}) за геометријске изомере $[\text{Cu}(\text{edda}p)]^{2-}$ комплекса^a

Структура	BP	B3LYP/VDW	B3LYP	LFMM
<i>trans</i> (O ₅)	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	2.5	2.2	2.8	3.4
<i>trans</i> (O ₆)	6.5	5.4	8.0	9.2

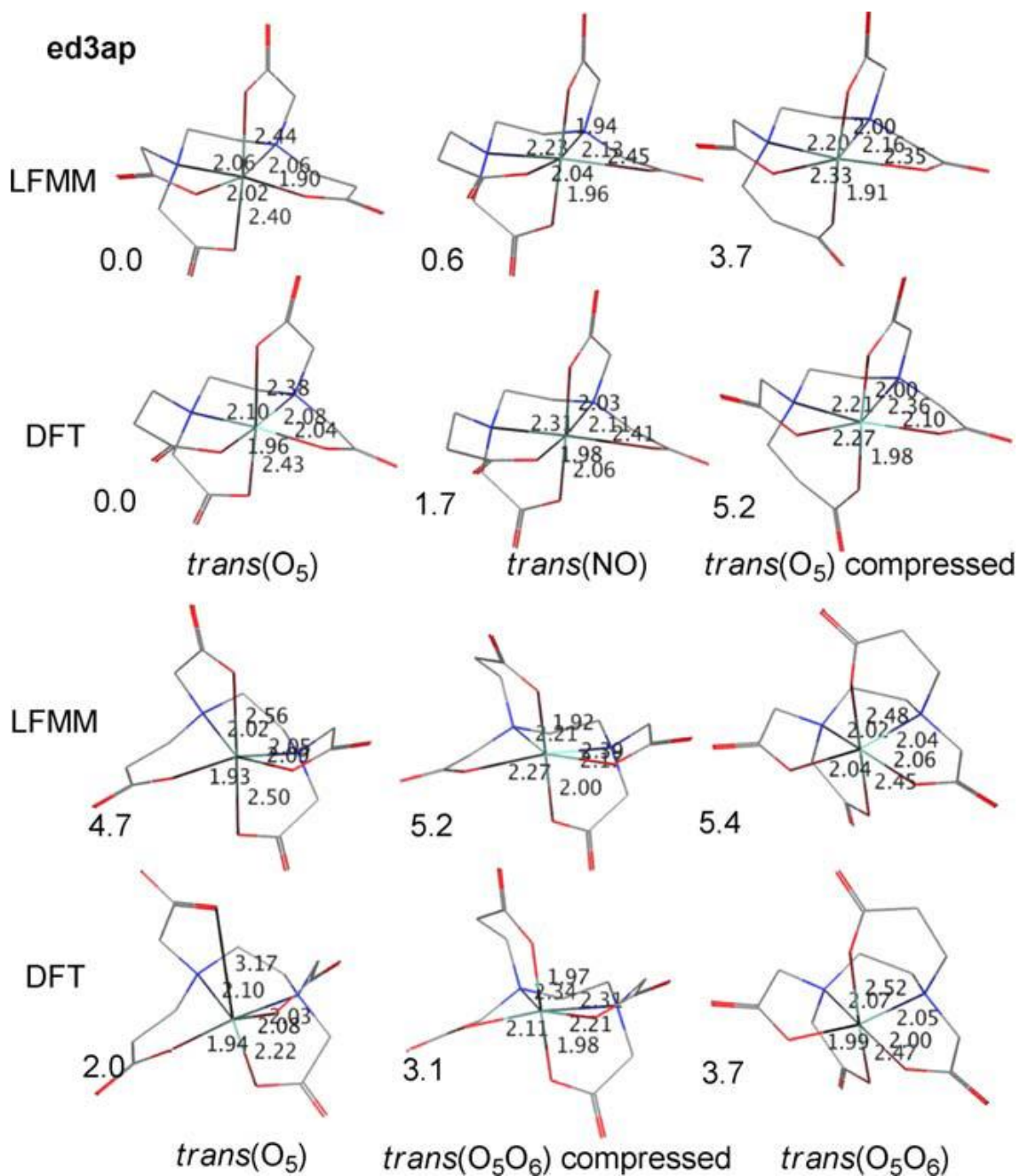
^aОптимизација је започета LFMM координатама користећи ORCA-у, BP функционал, TZVPP базни сет и COSMO солватацију. B3LYP резултати представљају енергије, BP геометрије са Grimme's-овом емпиријском корекцијом дате су у колони B3LYP/VDW

Нагиб линије најбољег фитовања је 1.4 указујући да LFMM претерује у енергетским разликама. Разлике између претходних и садашњих DFT резултата могу се пратити на различитим замрзнутим димензијама језгра у оквиру ADF оптимизација. Претходни рад укључио је бакар 3s и 3p орбитале у језгру док су у овом раду у валентном региону. Можда су више неочекивани резултати од LFMM конформационе претраге релативно велики број нађених конформација. Енергетски најнижа *trans*(O₆) структура је једанаеста нађена конформација. Као допуна структурама које се лако могу доделити на основу аксијалних донора издуженог система где оба азота представљају део екваторијалне равни, постоје два примера где осе издужења укључују један од азотових донора плус структуру која је *trans*(O₅) геометрије али је тетрагонално чешће компресована него елонгована. Ради утврђивања да ли су LFMM структуре употребљиве свака је реоптимизована DFT методом. Обе методама добијена је нормална *trans*(O₅) геометријска структура. Може се закључити да LFMM повремено даје "лажно позитивни" локални минимум који није стационарна тачка бар на Becke-Perdew површини енергије. За октаедарске бакар(II)-L₆ комплексе први ред Jahn-Teller-ове површине потенцијалне енергије (ПЕ) је познат као потенцијал Мексичке капе (слика 43).

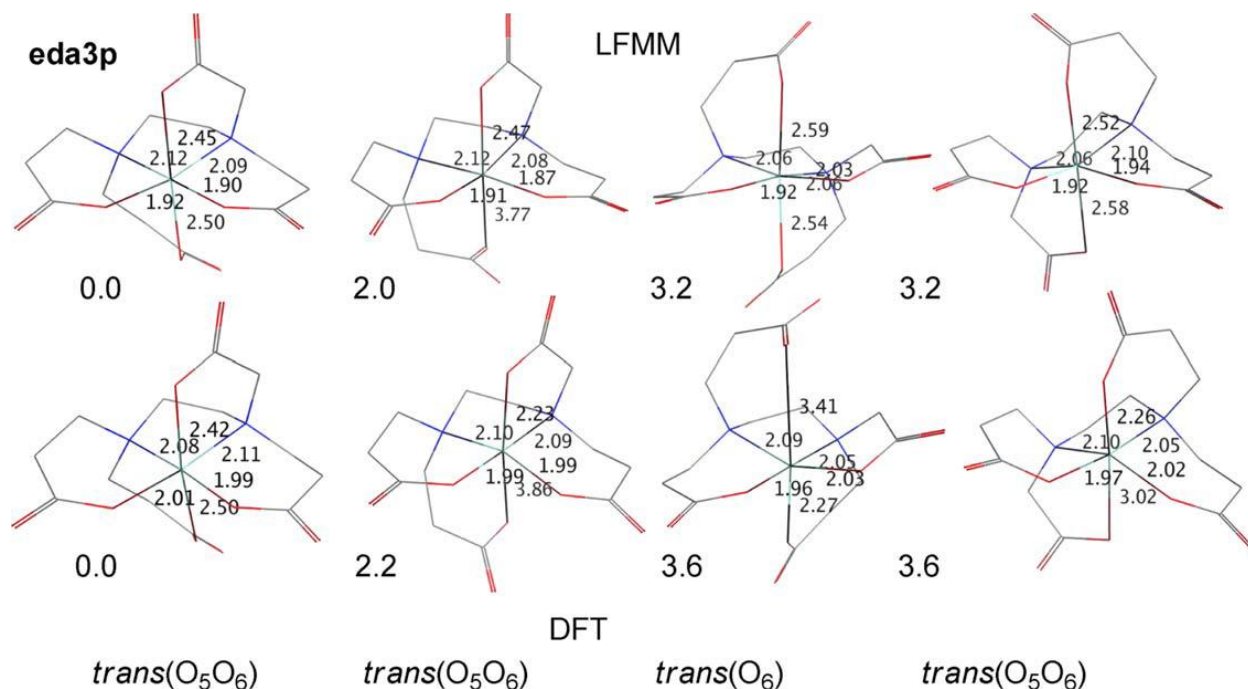


Слика 43. Мексичка капа, први ред Jahn-Teller-ове површине потенцијалне енергије за $d^9 \ ^2E_g$ систем је функција θ и ϵ компоненти e_g вибрационог мода ϕ која контролише мешање два нормална мода компоненти Q_θ и Q_ϵ

На овом нивоу, ОКТ систем је на конусној раскрсници и комплекс се релаксира Jahn-Teller-овом енергијом, E_{JT} , до пута минималне енергије са Jahn-Teller-овим радијусом, ρ . Овај кружни минимум описује сва могућа тетрагонална издужења и скраћења и ромбичне геометрије која их спаја. У другом реду, мексичка капа се "искривљује" и за бакар(II) комплексе, тетрагонално елонгациони облици су стабилизовани у односу на тетрагонално компресоване облике.²⁰¹ Ова слика је даље модификована додатним ефектима лиганда или кристалног оркужења. Ови резултати у једној издуженој оси су фаворизованији у односу на друге две осе и може се приметити "нормална" Jahn-Teller-ова издужена структура. Ово је случај за облике нижих енергија код разматраних АПК комплекса где захтеви лиганда фаворизују истезање укључујући два *trans* карбоксилатна донора. Међутим, иако су LFMM и DFT (BP86) методе у складу кад је у питању структура најниже енергије комплекса $[\text{Cu}(\text{edda}p)]^{2-}$, у детаљима за друге могућности се разликују. LFMM метод даје структуре укључујући тетрагоналне компресије које нису на BP86 површини потенцијалне енергије. Даља стохастичка конформациона претраживања су урађена на $[\text{Cu}(\text{ed}3ap)]^{2-}$ (слика 44) и $[\text{Cu}(\text{eda}3p)]^{2-}$ (слика 45) комплексима и пар структура најнижих енергија су реоптимизоване на BP86/TZVPP/COSMO нивоу.



Слика 44. Cu-L растојања (Å) и релативне енергије (kcal mol⁻¹) за шест најнижих енергија LFMM конформација [Cu(ed3ap)]²⁻ комплекса у поређењу са DFT (BP86/TZVPP/COSMO). За DFT оптимизацију коришћена је LFMM структура као полазна геометрија

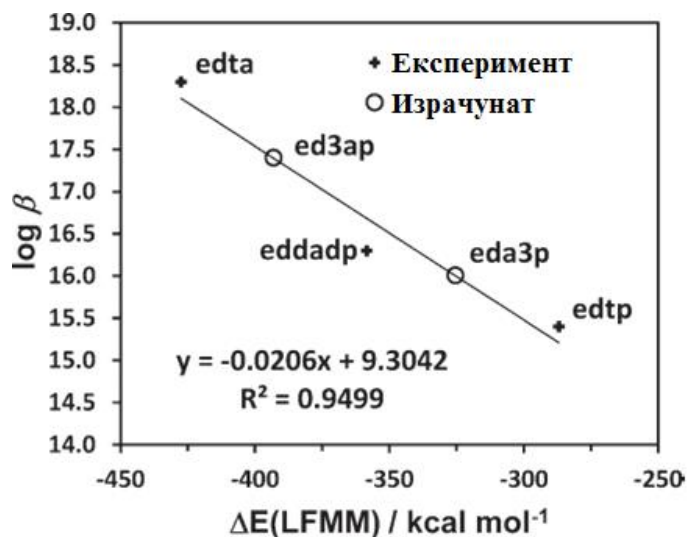


Слика 45. Cu-L растојања (Å) и релативне енергије (kcal mol⁻¹) за четири енергетски најниже LFMM конформације [Cu(eda3p)]²⁺ комплекса у поређењу са DFT (BP86/TZVPP/COSMO). За DFT оптимизацију коришћена је LFMM структура као полазна геометрија

Као што се може закључити обе методе LFMM и DFT су поново усаглашене код изомера најниже енергије дајући сличне детаљне структуре. Такође, релативне енергије високо енергетских изомера су у разумно добром складу. Генерално се чини да је LFMM FF сасвим добар алат за предвиђање структура и конформационих енергија бакар(II)-АПК комплекса бар све док конформација најниже енергије ове класе једињења узима у обзир CuN₂O₄ хромофору. Раније је уочено код Cu(II)N₆ комплекса¹⁹⁶ да је LFMM FF исто тако у могућности да пружи разумне енергије, чак до најфиније границе предвиђања ≈ 300 cm⁻¹ енергетске разлике између тетрагонално елонгованих и компресованих облика [Cu(1,3,5-triaminocyclohexane)₂]²⁺ комплекса иако није било компресованих структура у радном сету тако да рад овде дискутованог FF-а није изненађујући. Међутим, с обзиром на природу података за радни сет и валидацију, постојећи LFMM FF се не може узети у обзир као општи и мало је вероватно да се може искористити за нешто друго осим за радни сет који се састоји од два амина и четири карбоксилатна донора због којих је и дизајниран. Без обзира што постоји ово ограничење у применљивости, предвиђање лиганд везујућих

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

енергија било би од велике користи. Релативни афинитет везивања се може проценити упоређивањем енергетских разлика између слободног лиганда и аналогног комплекса, $\Delta E(\text{LFMM})$ и како се мења у функцији лиганда. Три вредности слободних енергија лиганда су израчунате за потпуно депротоноване облике користећи МД метод ниског-мода имплементиран у оквиру МОЕ програма. Експерименталне константе стабилности су доступне за $\text{Cu}(\text{II})$ комплексе са H_4edta , H_4eddadp и H_4edtp лигандима са $\log\beta$ вредностима: 18.2, 16.3 и 15.4. Упркос грубим прорачунима и недовољном броју експерименталних података корелација између експеримента и LFMM је адекватна (слика 46). Користећи ову корелацију вредности константи стабилности $\log\beta$ за $\text{H}_4\text{ed3ap}$ и $\text{H}_4\text{eda3p}$ комплексе се могу проценити (отворени кругови на слици 46). LFMM даје такође фину корелацију између константе стабилности и броја шесточланих хелатних прстенова са опадајућим $\log\beta$ вредностима у случају пораста броја шесточланих прстенова. Наравно, број података је веома ограничен и захтева много рада али тренутно ови резултати указују на то да би LFMM могао бити користан у дизајнирању нових N2O4-типова АПК лиганда са унапред утврђеним везујућим афинитетима.



Слика 46. Корелација између експерименталних афинитета везе лиганда, $\log\beta$ и LFMM енергетске разлике између конформације најниже енергије депротонованог лиганда и одговарајућег комплекса бакра

3. 4. 3 Комјутерски експерименти у случају бакар(II)-П-АПК комплекса

За потребе моделирања у случају П-АПК комплекса поређене су четири DFT методе: LDA, BP86, B1LYP и B3LYP користећи различите базне сетове у циљу испитивања структурних и енергетских разлика. Полазне координате су узете из кристалних структура а потом су и оптимизоване. У табели 12 дат је преглед енергетских разлика за све изомере $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ комплекса помоћу три методе (LDA, BP86 и B1LYP) и релативне конформационе енергије из LFMM израчунавања користећи претходно направљени LFMM програм. Релативне DFT енергије су добијене из израчунатих укупних енергија без корекција грешки за базни сет (осим за DZP резултате) јер оне у случају DFT нису велике поготово када су коришћени велики базни сетови.

Табела 12. Поређење релативних енергија за $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ изомере израчунате помоћу DFT и LFMM метода

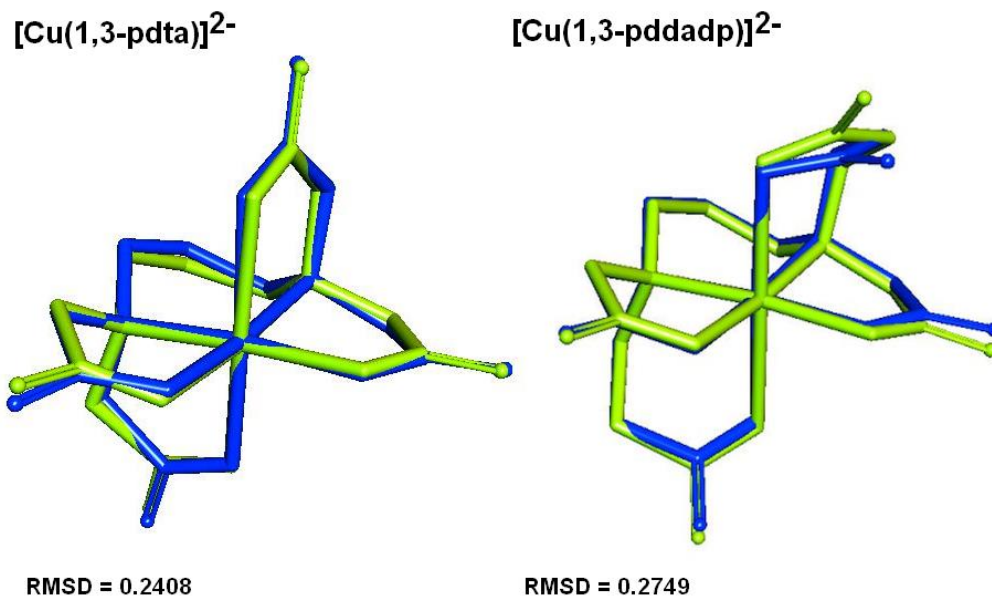
Изомер	LDA/DZP	BP86/DZP	BP86/TZP	BP86/TZ2P	B1LYP/6-311++g(d,p)	LFMM
<i>trans</i> (O ₆) ^[a]	0	0	0	0	0	0
<i>trans</i> (O ₅ O ₆)	3.6	2.4	2.5	1.9	1.74	0.2
<i>trans</i> (O ₅)	8.7	6.1	5.6	5.3	4.93	1.1

[a] Изомер са најнижим енергетским минимумом означен са 0 kcal·mol⁻¹.

Генерално, поређење између теорије и експеримента даје разумно добре резултате. DFT енергије $[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]^{2-}$ комплекса су у складу са предвиђањима заснованим на геометрији изолованог *trans*(O₆) изомера (табела 12). DFT резултати указују на то да кристална структура одговара најнижој DFT енергетској структури без обзира на врсту метода или базни сет. Може се видети из табеле да BP86/TZ2P и B1LYP/6-311++g(d,p) методе дају ниже енергетске разлике. Предвиђање да *trans*(O₆) изомер има најнижу енергију је конзистентна са спектралним резултатима и очекивањима из искуства рада са таквим системима. Међутим, BP86 метод даје мање добре структуре где су Cu-L дужине веза са различитим базним сетовима (DZP, TZP и TZ2P) упоређене са експериментом и варирају за DZP базни сет од 0.10 Å за аксијалне дужине веза до 0.04 Å у екваторијалним дужинама веза. Базни сет TZP даје девијације за аксијалне положаје од 0.27 Å и 0.02 Å, а TZ2P се разликује за 0.25 Å за аксијалне Cu-O и 0.035 Å везе у равни. Супротно, LDA

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

функционал даје Cu-L растојања веома блиска онима у чврстом стању која се разликују за 0.03 Å за екваторијалне везе и до 0.04 Å за аксијалне дужине веза. Према RMSD вредностима чини се да се најбоље геометрије могу добити LDA и B1LYP методама. Може се уочити да је RMSD вредност екваторијалних атома четири пута нижа него у случају тешких атома у целом молекулу. Ово поново указује на чињеницу да карбоксилатни прстенови ван равни показују већу девијацију из DFT прорачуна услед утицаја средине (контра јони, растварач) и да DFT једноставно не може да реши овај проблем. LFMM оптимизовани, хексадентатни $[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]^{2-}$ и $[\text{Cu}(1,3\text{-pdtP})]^{2-}$ комплекси имају следеће дужине веза: аксијална Cu-O варирају од 2.369 Å до 2.517 Å, екваторијална Cu-O варирају од 1.981 Å до 2.011 Å и екваторијалне Cu-N варирају од 2.040 Å до 2.058 Å. Из добијених резултата може се закључити да су рендгенске и LFMM структуре у међусобном складу (слика 47).



Слика 47. Преклапање LFMM израчунатих (жута) и кристалних структура (плава)

Што је већи број шесточланих хелатних прстенова, веће је напрезање у комплексу. Ово је произишло из структурне анализе напона и може се такође повезати са LFMM

израчунатим енергијама напона. На пример, ако се бакар уклони из комплекса, енергија напона за тетраанјонске лиганде у његовој конформацији везе може бити израчуната. Да би се енергија напона израчунала лиганд се релаксира до енергетски најниже конформације користећи MD претрагу ниског мода. Као резултат оваквог испитивања уочено је да што је веће смањење енергије, веће је напрезање унутар лиганда након везивања за метални центар. Енергетске промене за H_4edta , $H_41,3-pddadp$ и $H_41,3-pdtp$ лиганде износе: 107, 136 и 180 kcal mol⁻¹. Као што је и очекивано, $H_41,3-pdtp$ лиганд је највише напет и аналогни комплекс је предвиђен као најмање стабилан (просечне дужине LFMM веза су: Cu-O аксијалне од 2.477 Å, Cu-O екваторијалне од 1.964 Å и Cu-N од 2.133 Å).

3. 5 АПК хелати у лечењу неуротоксичних поремећаја

WD је једно од ретких обољења са пратећим озбиљним оштећењима јетре. У јетри пацијената који пате од поменуте болести несразмерно излучивање бакра из жучи резултује његовом акумулацијом.²⁰² Као што је већ речено у уводном делу овог рада оболели од овог неуротоксичног поремећаја се подвргавају терапији која укључује хелатирајуће агенсе попут ДПА или Триен-а. Међутим, неколико нежељених последица, укључујући имунолошке ефекте (дегенеративне промене, нефротични синдроми, артропатија итд.) су врло честа појава код пацијената који се третирају ДПА-ом. Триен показује такође неке непожељне ефекте, али у много мањој мери.²⁰² У циљу елиминације негативних дејстава комерцијалних хелатних лекова у овој докторској тези испитивано је неколико лиганада АПК-типа. Након испитивања поменуте серије бакар(II)-АПК-типа комплекса, прво су испитивани АПК хелати који су много селективнији према бакру (хелати са више 3-пропионских прстенова). Тако, $H_4eddadp$, H_4eda3p и H_4edtp су од потенцијалног интереса иако њихови бакар(II) комплекси имају слабије константе стабилности него што је то случај код бакар(II)-edta комплекса. Рад Chaberek-а и сарадника¹⁸¹ указује на селективност поменутих лиганада према бакар(II) јону у поређењу са другим металним јонима попут Ni(II), Co(II), Zn(II) и Mg(II). Ова докторска дисертација покрива серију АПК хелатирајућих киселина која садржи петочлане и шесточлане карбоксилатне прстенове као и различите диаминске ланце. Један од главних циљева био је да се укаже на структурни утицај и понашање АПК хелата у организму када наступи

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

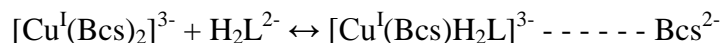
токсичност услед нагомилавања бакра. У циљу испитивања деловања АПК хелата у *in vitro/in vivo* условима коришћене су следеће киселине: H₄1,2-pdta, H₄1,3-pdta, H₄edddap и H₄1,3-pddadp које су претходно карактерисане. Такође је у овом раду извршено поређење њиховог дејства са комерцијалним лековима ДПА-ом и Триен-ом.

3. 5. 1 Спектрофотометријска мерења

Бакар има важну улогу у биохемији свих аеробних организама. Његово допремање до специфичних унутарћелијских места је посредовано преко металних транспортера.²⁰³ Дистрибуција у ћелијама сисара захтева повезану акцију неколико протеина попут: СТР1, цитосолних металних транспортера Атох1 и АТР транспортера бакра АТР7А и АТР7В (Menkes-о (MNK) и Wilson-ов (WND) протеин).^{204,205} Како би испитали Cu(I) афинитете Хиао и сарадници²⁰⁶ су користили батокупродисулфонатни лиганд (Вcs).²⁰⁷ Такође, Вcs је коришћен као Cu(I) индикатор у хемијским реакцијама као и за моделирање ћелијских Cu(I)-везујућих компонената. Стога су у циљу испитивања АПК лиганата у реакцијама са Атох1,²⁰⁷ у овој дисертацији урађени компетитивни експерименти са Вcs-ом.

3. 5. 2 Процена константе дисоцијације Cu(I)/Вcs/АПК система

Спектрофотометријски експерименти су дизајнирани ради процене дисоцијационих константи адукта тернарног комплекса [Cu^I(Вcs)H₂L]³⁻. Компетитивни експерименти су урађени за Cu(I) између H₄edddap, H₄1,3-pddadp, H₄1,2-pdta и H₄1,3-pdta лиганата и Cu(I) хелатора Вcs-а (једначина 40; слика 48). После одређеног времена, интеракција АПК киселина са [Cu^I(Вcs)₂]³⁻ комплексом праћена је мерењем промене апсорбанце на 483 nm (слика 48). Асоцијациона константа за [Cu^I(Вcs)₂]³⁻ је раније одређена је²⁰⁸ и износи $\beta_2 = 10^{19.8}$ што је омогућило одређивање просечне дисоцијационе константе K_D за [Cu^I(Вcs)H₂L]³⁻ тернарни адукт и то за сваку АПК хелатирајућу киселину понаособ (табела 13).



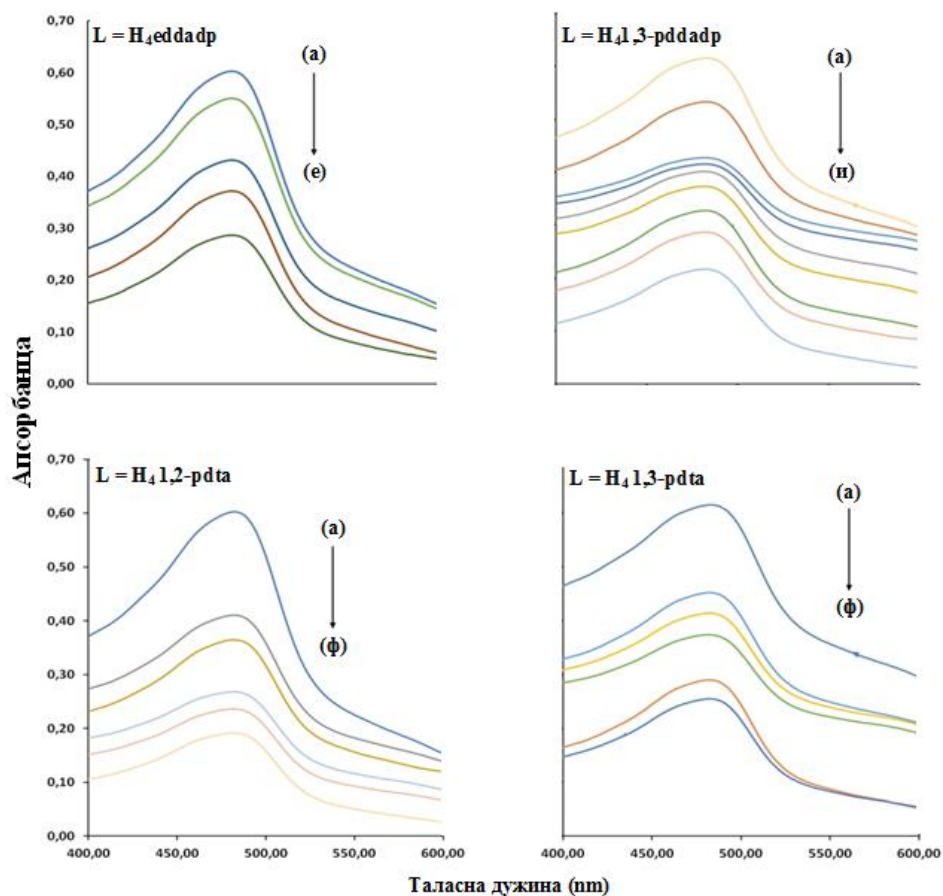
Једначина 40

(L = H₄edddap, H₄1,3-pddadp, H₄1,2-pdta или H₄1,3-pdta)

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Табела 13. Дисоцијационе константе K_D за Cu(I) везивања АПК у односу на реверсну једначину 40

АПК	H ₄ edda dp		H ₄ 1,3-pddadp		H ₄ 1,2-pdta		H ₄ 1,3-pdta	
[L] _t , 10 ⁻² mM	0 - 3	5 - 60	0 - 3	5 - 60	0 - 3	5 - 60	0 - 3	5 - 60
[Bcs] _t , μM	125	200	125	200	125	200	125	200
[Cu] _t , μM	50	100	50	100	50	100	50	100
просечна K_D , M	7.5 × 10 ⁻¹⁵		1.1 × 10 ⁻¹⁵		4.6 × 10 ⁻¹⁶		2.9 × 10 ⁻¹⁵	
log K_a	14.1		14.9		15.3		14.5	

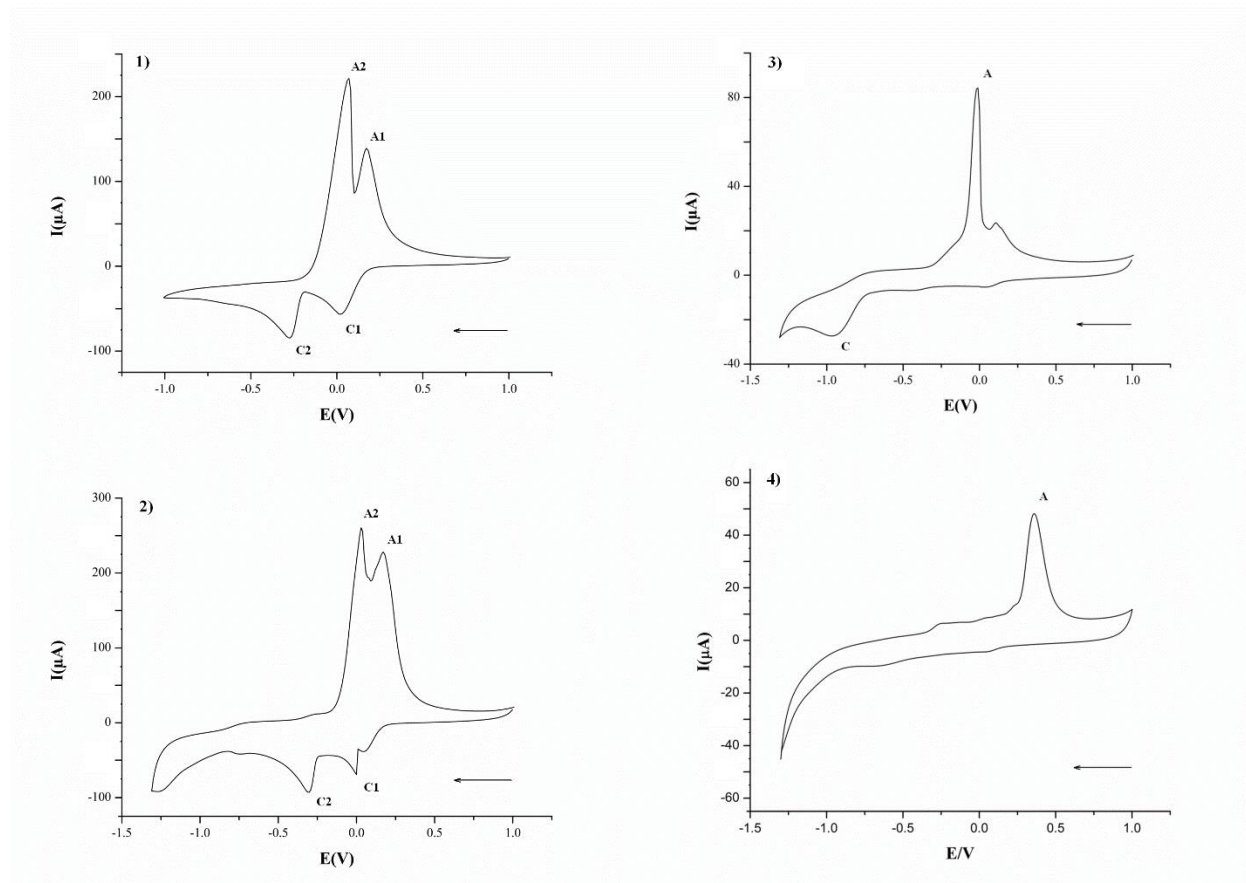


Слика 48. Апсорпциони спектар у MOPS пуферу (50 mM; pH 7.3) за Cu(I)-Bcs-L у присуству различитих L концентрација (T = 298 K, pH = 7.3). [Cu(I)] = 50 μM; [Bcs] = 125 μM; [L] (a-e, a-и, a-ф) = 0.0-0.3 mM

Компетиција између Cu(I) и Vcs/АПК је потврђена под јасно дефинисаним условима. Дисоцијационе константе (K_D) (одређене преко компетиције са Vcs пробама у односу на једначину 40) за $[Cu^I(Vcs)H_2L]^{3-}$ комплексе (табела 13) имају високе и сличне вредности ($K_D(H_4edda\text{dp}) = 14.1$, $K_D(H_41,3\text{-pddadp}) = 14.9$, $K_D(H_41,2\text{-pdta}) = 15.3$ и $K_D(H_41,3\text{-pdta}) = 14.5$). У компетицији приказаној у овој дисертацији, АПК хелатирајуће киселине очигледно успевају да образују тернарна комплексна једињења. Уопштено, K_D вредности тернарних комплексних адуката (табела 13) су веће него у случају макромолекула који имају добар афинитет према бакуру(I) ($K_D(\text{Atx1}) = 17.7$,²⁰⁶ $K_D(\text{Atox1}) = 17.4$,²⁰⁷ $K_D(\text{Ccc2n}) = 18.8$,²⁰⁸ $K_D(\text{HMA7n}) = 18.1$,²⁰⁹ $K_D(\text{HMA4n}) = 16.7$ ²⁰⁸ и $K_D(\text{CopC-H48C}) = 14.3$ ²⁰⁶). Како ће се видети у даљем тексту таква претпоставка се може повезати са генералном акумулацијом бакра у јетри од стране $H_4edda\text{dp}$ хелата (потврда његове селективности) и актуелног комерцијалног лека (Триен-а). Спектрофотометријске анализе указују на формирање адуката тернарног комплекса АПК киселина са Cu(I) комплексом сличним транспортерима бакра попут Atx1 и Atox1.^{206,207} На послетку треба истаћи да константе стабилности зависе од саме средине у организму.

3. 5. 3 Електрохемијска испитивања

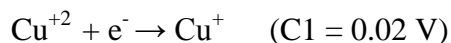
Електрохемијска истраживања омогућују брзо испитивање нових и природних металних хелатора у циљу њихове примене у неуролошким терапијама.²¹⁰ Скорија студија показује разумну апликацију цикличне волтаметрије у АД.²¹¹ У овој дисертацији испитивано је електрохемијско понашање $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ соли и следећих бакар(II)-комплекса: $Va[Cu(1,3\text{-pdta})]$, $Va[Cu(1,2\text{-pdta})]$, $(Va[Cu(edda\text{dp})])$ и $Va[Cu(1,3\text{-pddadp})]$. Чисте АПК киселине су електрохемијски неактивне под примењеним експерименталним условима у датом опсегу потенцијала тако да нису узимане у обзир. У циљу постизања средине попут оне у живом организму 0.1 М натријум хлорид је коришћен као помоћни електролит (рН опсег 7 - 8). Циклични волтамограм (слика 49 (1)) за $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (са опсегом потенцијала од -1.0 V до +1.0 V) приказује два катодна пика на 0.02 V (C1) и -0.27 V (C2). У супротном смеру скенирања два оксидациона пика су уочена на 0.07 V (A2) и 0.18 V (A1) (табела 14).



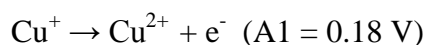
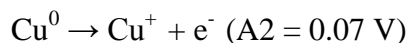
Слика 49. Циклични волтамограми за: (1) 3.3×10^{-3} M $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; (2) 1×10^{-3} M $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddap})]$; (3) 1×10^{-3} M $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ и (4) 1×10^{-3} M $\text{Ba}[\text{Cu}(1,2\text{-pdta})]$ у опсегу од -1.3 до +1 V; помоћни електролит 0.1M NaCl; брзина скенирања 100 mV/sec

Циклични волтамограм (слика 49) показује да су редокс процеси реверзибилни ($\Delta E_p \sim 100$ mV; где постоји вероватно отпор у раствору, који доводи до одступања од идеалне вредности од 60 mV). Редокс реакције су следеће:

Редуција



Оксидација



Могући оксидационо-редукциони процеси $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ соли су претходно испитивани у литератури и предложене су изнад наведене реакције.^{212,213} Слика 49 (3) приказује

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

циклични волтамограм $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ комплекса. У потенцијалном опсегу од -1.3 V до $+1.0 \text{ V}$ (добијен на електроди стакластог угњеника са 0.1 M NaCl као помоћним електролитом) може се приметити један редукциони пик у катодном смеру (-0.94 V табела 17). Међутим, у оксидационом смеру постоји очигледан (на -0.01 V табела 14) пик слабог интензитета (0.10 V). Неједнаки интензитети струја анодних и катодних пикова као и значајно велико растојање између њихових потенцијала указују на иреверзибилне редокс процесе. Drissi-daoudi и сарадници²¹⁴ су испитивали електрохемијске процесе бакра(II) у АПК-типу раствора. Они су предложили да се редукција бакра(II) комплекса одвија у једном ступњу (стрелица на слици 49). Према овим ауторима, катодни пик одговара (Cu^{+2}) редукцији до елементарног бакра (Cu^0) који се ре-оксидује до стања (Cu^{+2}). Интеграција струје указује да је на анодном пику оксидација наталоженог бакра до Cu^{+2} потпуна ($\text{Cu}^{+2} \rightarrow \text{Cu}^0$). Редукција бакра(II) и оксидација металног бакра се спроводи у једном ступњу. Према наведеним резултатима у случају $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ комплекса (слика 49 (3)) одвија се редукција у једном кораку (Cu^{+2} to Cu^0) у катодном делу (-0.94 V).²¹⁴ Међутим, у оксидационом делу постоји један очигледан пик (-0.01 V) и за разлику од рада од стране Drissi-daoudi-ја,²¹⁴ појављује се један пик малог интензитета (0.10 V) као резултат вероватних нечистоћа. Оштар и високог интензитета анодни пик резултује као последица феномена поновног растварања.²¹⁴ Штавише, циклични дијаграм $\text{Ba}[\text{Cu}(1,2\text{-pdta})]$ комплекса је такође приказан (слика 49 (4)). Једињење $\text{Ba}[\text{Cu}(1,2\text{-pdta})]$ има само један анодни пик на 0.36 V (табела 14) са очигледним иреверзибилним редокс процесима. Даље, циклични волтамограм $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddadp})]$ и $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]$ комплекса је такође снимљен. Циклични дијаграм комплекса $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddadp})]$ (слика 49 (2)) има велику сличност са волтамограмом $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ соли (слика 49). На катодном делу постоји благо померање што је последица комплексирања. Постоје два редукциона пика ($\text{C1} = 0.00 \text{ V}$ и $\text{C2} = -0.30 \text{ V}$) и два анодна пика ($\text{A2} = 0.03 \text{ V}$ и $\text{A1} = 0.18 \text{ V}$) (табела 14). Јасно је да $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddadp})]$ комплекс има особине реверзибилног редокс процеса ($\Delta E_p \approx 30 \text{ mV}$ за двоелектронски систем). Комплекс $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]$ има слично електрохемијско понашање попут $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddadp})]$ (волтамограм није приказан). У поређењу са цикличним волтамограмима $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ са $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$, $\text{Ba}[\text{Cu}(1,2\text{-pdta})]$ и $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddadp})]$ комплексима, постоје померања у пиковима посебно у редукционом смеру у случају $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ једињења у односу на $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Долази се до закључка да је редукција спора у овом комплексу. У

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

случају $\text{Ba}[\text{Cu}(1,2\text{-pdta})]$ овај процес је још спорији (одсуство редукционих пикова). Супротно овоме, $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddadp})]$ комплекс очигледно поседује највећу сличност са $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ соли осим у њиховим различитим интензитетима струја, због вероватног комплексирања бакар(II) са АПК киселинама. На катодном делу постоји благо померање што је такође последица комплексирања.

Табела 14. Вредности катодних и анодних пикова добијених из цикличних волтамограма на стационарној стакластој угљениковој електроди са потенцијалом скенирања од 100 mVsec^{-1} (бакар(II)-АПК на 50 mVsec^{-1})

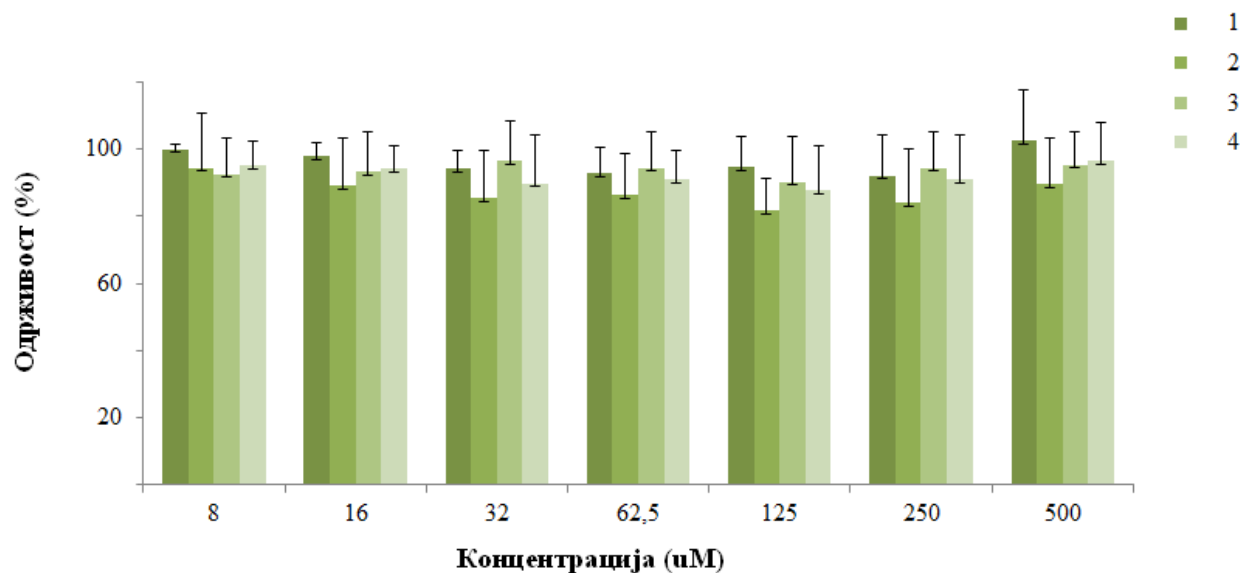
Једињење	Вредности потенцијала (V)				Лит.
	Редукција		Оксидација		
	Катодни пикови		Анодни пикови		
	C1	C2	A1	A2	
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.02	-0.27	0.18	0.07	Овај рад
Cu-EDTA	-0.94		-0.26		(214)
Cu-1,3-pdta	-0.94		-0.01		Овај рад
Cu-1,2-pdta	-		0.36		Овај рад
Cu-eddadp	0.00	-0.30	0.18	0.03	Овај рад
Cu-1,3-pddadp	-0.79		0.15	0.47	Овај рад

Електрохемијски резултати показују разлику у стабилности једињења. Комплекси $\text{Ba}[\text{Cu}(1,2\text{-pdta})]$ и $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ поседују иреверзибилни карактер а самим тим и спорију измену електрона. Последица овога је боља стабилност у раствору $\text{Ba}[\text{Cu}(1,2\text{-pdta})]$ и $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdta})]$ једињења у односу на $\text{Ba}[\text{Cu}(\text{eddadp})]$ и $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})]$ комплексе који имају реверзибилне особине. Очигледно, бакар (I) комплекс има улогу интермедијера у редукцији бакар(II) комплекса али није одређен током оксидације електронаталоженог бакара у овим примерима. Као што је већ било показано²¹⁴ АПК киселине не стабилизују бакар(I) јон.

3. 5. 4 Биолошки експерименти

3. 5. 4. 1 Испитивања АПК хелатирајућих агенаса у *in vitro* условима

Овај део докторске дисертације посвећен је биолошким испитивањима са циљем указивања на могућу примену АПК хелатирајућих агенаса у терапији неуротоксичних поремећаја. У *in vitro* условима хелатори бабра у свим тестираним концентрацијама не изазивају значајну цитотоксичност у случају PBMNC ћелијске линије (слика 50). Такође, испитивања на здравим ћелијама плућа (MRC-5) показала су да ниједан лиганд АПК-типа не успорава нормалан раст више од 50% здравих ћелија након третмана са примењеним концентрацијама.



Слика 50. Одрживост PBMNC раста у току 24h у присуству растућих концентрација АПК киселина (1 = H₄1,2-pdta, 2 = H₄1,3-pdta, 3 = H₄eddadr, 4 = H₄1,3-pddadr) која је одређена МТТ тестом (X средња ± S.D.)

Добијене IC₅₀ вредности за сваку тестирану супстанцу далеко су изнад највише испитиване концентрације, као што се види из табеле 15. Дате перифералне крвне мононуклеарне ћелије су једне од главних компоненти имуног одговора. Проласком кроз све органе и ткива ове ћелије могу бити узете у обзир као одговарајућа здрава контрола. Може се закључити да су АПК киселине нетоксичне у односу на здраве PBMNC као и

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

MRC-5 ћелијске линије с обзиром да су добијене IC50 вредности више од 4000µg/ml у случају PBMNC и 100µg/ml у случају MRC-5.

Табела 15. Концентрације АПК хелата које изазивају 50% опадања у преживелим PBMNC и MRC-5 ћелијама (IC50) након 24h третмана (X средња ± S.E.)

Тип АПК	IC50 (µg/ml)	
	PBMNC	MRC-5
H ₄ 1,2-pdta	4450±13,34	>100
H ₄ 1,3-pdta	6598±19,73	>100
H ₄ eddadp	5012±11,86	>100
H ₄ 1,3-pddadp	7126±14,5	>100

3. 5. 4. 2 Испитивања АПК хелатирајућих агенаса у *in vivo* условима

Опште је познато да су током многих година експерименталне животиње коришћене као модели WD болести у циљу објашњења патогенезе изазване акумулацијом бакра.²¹⁵ У овој дисертацији приказани су резултати добијени третманом албино пацова коришћењем АПК киселина упоредо са комерцијалним лековима (ДПА и Триен). Све експерименталне животиње су орално конзумирале растворе са или без соли бакра током целог експерименталног периода. Након процеса третмана, праћени су следећи параметри: тежина пацова као и јетре, активности трансминаза у серуму, концентрације CP у серуму и јетри као и концентрације бакра, гвожђа и цинка у истом органу. Недавно су резултати Bataineh-а и сарадника²¹⁶ показали да дугорочно конзумирање соли бакра изазива обољења и губитак тежине код животиња. Тако су Rao и аутори²¹⁷ установили да третман на пацовима Триеном резултује добијањем тежине иако у нижем односу него у случају контролних животиња. Показано је да Триен изазива 10% смртности животиња током целокупне експерименталне процедуре и 50% смртности код пацова где је ДПА коришћен.²¹⁸ Ово је у складу са експерименталним резултатима добијеним у овом раду. Промене тежина пацова, апсолутне и релативне тежине јетри контроле и експерименталних група дате су у табели 16. Током пет недеља третмана, тежина животиња изложених бакру је показала пад у односу на контролну групу. Ово може бити показатељ на генерално слабо здравље експерименталних пацова. У бакар-третираним

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

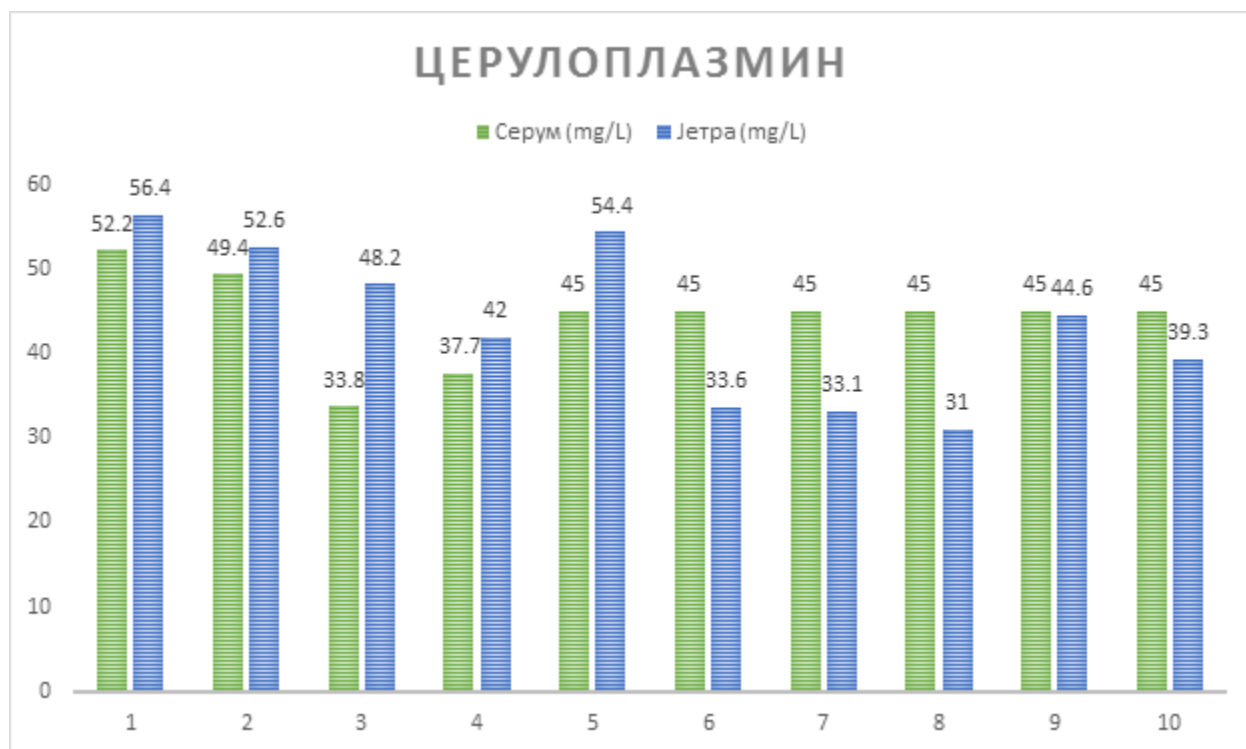
пацовима, узимање хране и конзумирање воде редуковано је за 25% и 23%. Значајне промене нису уочене у групама Cu + ДПА или Cu + Триен и Cu + АПК (H₄1,2-pdta, H₄1,3-pdta, H₄1,3-pddadp, H₄eddadp). Запажено је благо повећање у тежини пацова третираним са Cu + ДПА или Cu + Триен и Cu + АПК у односу на Cu-третиране групе пацова. Иако је дошло до смањења телесне тежине у групи третираној само баком и вероватно дехидратације услед смањеног уноса воде и хране, током експеримента није забележено угинуће животиња. Међутим, апсолутне и релативне тежине јетри су код животиња које су биле изложене администрацијом бакра опале (тежине преполовљене) у односу на контролну групу. Примећује се значајно повећање тежине јетре у пацовима третираним са ДПА-ом или Триен-ом у односу на групу која је добијала само бакар (~ 34%). Међутим, више вредности су добијене у свим тестираним АПК хелатима у поређењу са комерцијалним агенсима, поготову у Cu + H₄1,2-pdta групи ~ 40% (табела 16). Смањење телесне тежине, као и тежине јетре код пацова третираних баком упућује на појачану разградњу протеина ткива. Хронични стрес доводи до појачаног лучења кортизола који појачава катаболичке реакције. Друге студије су такође показале да дуготрајна конзумација соли бакра узрокује поремећаје у расту и смањење телесне тежине.²¹⁶ Третман где су коришћени само H₄1,2-pdta и H₄1,3-pdta хелати (нема акумулације бакра) даје такође добре резултате у смислу добијене тежине тела и јетри без споредних последица. Генерално, нису примећене негативне последице или смртност у АПК третираним групама. Оштећење јетре услед излагања баком је добро позната појава у случају болести WD.^{46,219,220} Даље је показано да интоксикација баком значајно повећава активности ензима јетре у серуму, као биомаркера оштећења јетре. Повећане активности трансаминаза (ALT, AST) и LDH у серуму служе као значајни параметри у дијагностици хепатитиса у случају WD, а такође упућују на оштећења јетре код животиња. Iorio и аутори²¹⁹ су показали да у 64% случајева где је ДПА примењен, напредак је постигнут и ниво трансаминаза у серуму је нормализован. Сличне резултате добио је и Arnon.²²¹ Резултати биохемијских анализа на пацовима добијени у овом раду у контроли и третираним групама приказани су у табели 16. Третман са баком повећава активности ALT (74.6 IU/L), AST (206.3 IU/L) и LDH (2048.6 IU/L) у серуму скоро два пута више у односу на контролу посебно у AST и LDH активностима (контролне групе: ALT = 48.7, AST = 123.6, LDH = 1070.0 IU/L). Ови резултати указују на токсикацију баком што

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

доводи до оштећења хепатоцита јетре нарушавањем функционалног интегритета ћелијских мембрана и ослобађања ових ензима у серум. Као што је показано у табели 16, коришћење комерцијалних лекова (ДПА, Триен) у котретману са багром делимично смањују ензимске активности (посебно Триен: ALT = 68.5, AST = 164.5, LDH = 1516.8 IU/L). Међутим, сва четири АПК хелатирајућа агенса (H₄1,2-pdta, H₄1,3-pdta, H₄eddadp и H₄1,3-pddadp) показују значајно смањење активности испитиваних ензима у односу на Cu-третиране групе (табела 19). Може се уочити блага предност H₄1,2-pdta лиганда (ALT = 62.0, AST = 173.5, LDH = 1557.2 IU/L) у односу на преостале АПК хелате. Даље, H₄1,3-pdta киселина такође показује опадање нивоа трансминаза у односу на Cu-групу (ALT = 82.5, AST = 194.0, LDH = 1750.3 IU/L). Показано је да H₄eddadp (ALT = 64.6 IU/L, AST = 191.2, LDH = 1808.0 IU/L) и H₄1,3-pddadp (ALT = 78.7, AST = 184.0, LDH = 1652.3 IU/L) киселине показују сличну активност. Резултати добијени за H₄eddadp и H₄1,3-pddadp киселине указују да АПК киселине са више 3-пропионских ланаца имају једнак утицај на ове ензиме. Третман са H₄1,2-pdta (ALT = 62.0, AST = 173.5, LDH = 1557.2 IU/L), H₄eddadp (ALT = 64.6 IU/L, AST = 191.2, LDH = 1808.0 IU/L) и H₄1,3-pddadp лигандима (ALT = 78.7, AST = 184.0, LDH = 1652.3 IU/L) показује сличне резултате у поређењу са клиничким Триен-ом (ALT = 68.5, AST = 164.5, LDH = 1516.8 IU/L). Киселина H₄1,3-pdta показује најнижу редукцију (ALT = 82.5, AST = 194.0, LDH = 1750.3 IU/L) активности трансминаза у поређењу са АПК-агенсима али је и даље нижа у односу на Cu-третирану групу (AST и LDH активности). Две групе су третиране само са H₄1,2-pdta (ALT = 54.8, AST = 165.5, LDH = 1567.7 IU/L) и H₄1,3-pdta (ALT = 58.2, AST = 167.6, LDH = 1695.5 IU/L) киселинама (без бакар администрације) (табела 16). Постоји слабо повећање активности трансминаза у поређењу са контролом. Смањене активности трансминаза узроковане АПК киселинама показују редуковану хепатоксичност. Резултати зато сугеришу да су АПК киселине у стању да очувају функционални интегритет ћелијских мембрана хепатоцита и да спрече некрозу хепатоцита и „цурење“ ових ензима у крвоток. Према овим резултатима, потенцијални конкурент комерцијалним лековима може бити H₄1,2-pdta киселина. Концентрација серумског бакарног протеина CP опада у већини WD случајева.²²² Код неколико пацијената, међутим, CP концентрација је забележена благо испод нормалних граница.²²³ Редуковани нивои CP у серуму са ДПА-ом и Триен-ом описани су од стране Walshe-а.²²⁴ У присуству хелатора бакра, CP је брзо деградиран,

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

вероватно због недостатка бабра.²²⁵ Група третирана само са бакар(II)-хлоридом показује занемарљиво опадање нивоа СР-а (Серум = 49.4, Јетра = 52.6 mg/l) у поређењу са контролом (Серум = 52.2, Јетра = 56.4 mg/l) (табела 16). Експерименти са комерцијалним лековима, АПК хелатима као и са самим $H_41,2$ -pdta и $H_41,3$ -pdta киселинама (без нагомилавања бабра) показују редуковану СР-а концентрацију (за око 15% до 48%) упоређењу са контролом и Cu-третираним групама. Ове концентрације су у опсегу од 3.5% до 14% у поређењу са контролним вредностима. ДПА и Триен који су послужили као поредбени лекови у овим експериментима показују ниже нивое СР-а у јетри и посебно у серуму (ДПА: Серум = 33.8, Јетра = 48.2 mg/L; Триен: Серум = 37.7, Јетра = 42.0 mg/L). Слични ефекти добијени су са АПК хелатима (слика 51).



Слика 51. Концентрација церулоплазмине у серуму и јетри (mg/L) следећих група: 1 = Контрола, 2 = Cu, 3 = Cu + ДПА, 4 = Cu + Триен, 5 = Cu + $H_41,2$ -pdta, 6 = Cu + $H_41,3$ -pddadp, 7 = Cu + H_4 eddadp, 8 = Cu + $H_41,3$ -pdta, 9 = $H_41,2$ -pdta, 10 = $H_41,3$ -pdta

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Табела 16. Промена у тежинама, апсолутне и релативне тежине јетри, биохемијски параметри у серуму и концентрације церулоплазмине у серуму и јетри контролних и експерименталних група

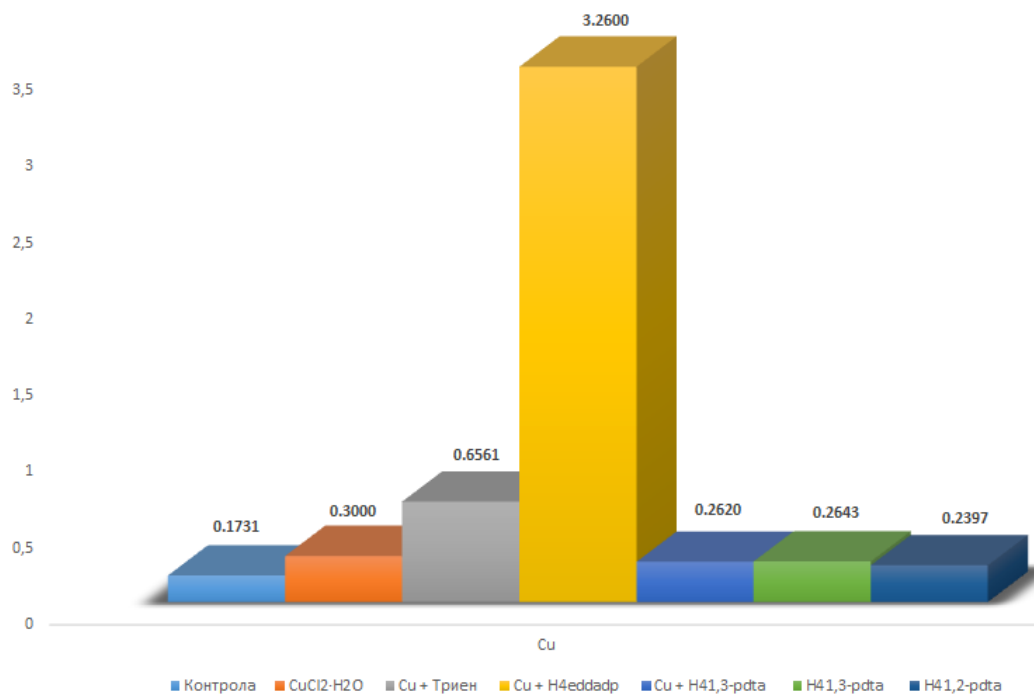
Експерименталне групе	Параметри								
	Тежине пре третмана (g)	Тежине после третмана (g)	Апсолутне тежине јетри (g)	Релативне тежине јетри (mg/g)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	LDH (IU/L)	Церулоплазмин Серум (mg/L)	Церулоплазмин Јетра (mg/L)
Контрола	195	305	7.06 ± 1.08	3.95 ± 0.52	48.7 ± 1.3	123.6 ± 4.5	1070.0 ± 91.6	52.2 ± 3.4	56.4 ± 4.3
Cu	210	260	4.43 ± 0.72*	1.92 ± 0.26*	74.6 ± 3.5*	206.3 ± 6.5*	2048.6 ± 146.3*	49.4 ± 3.8*	52.6 ± 5.2*
Cu + ДПА	205	270	5.54 ± 0.59*	2.89 ± 0.34 [#]	62.6 ± 1.4* [#]	161.0 ± 5.7* [#]	1595.0 ± 126.5* [#]	33.8 ± 3.6	48.2 ± 3.7 [#]
Cu + Триен	210	280	5.87 ± 0.33 [#]	2.92 ± 0.58 [#]	68.5 ± 2.2*	164.5 ± 5.4* [#]	1516.8 ± 112.4*	37.7 ± 2.4*	42.0 ± 5.6*
Cu + H₄1,2-pdta	210	285	6.61 ± 0.54 [#]	3.18 ± 0.35 [#]	62.0 ± 1.7* [#]	173.5 ± 6.8* [#]	1557.2 ± 91.6* [#]	45.0 ± 3.2*	54.4 ± 6.6 [#]
Cu + H₄1,3-pddadp	200	270	6.13 ± 0.38 [#]	3.06 ± 0.33 [#]	78.7 ± 3.1*	184.0 ± 6.4* [#]	1652.3 ± 131.5*	35.8 ± 2.6* [#]	33.6 ± 4.2* [#]
Cu + H₄eddadp	200	265	5.74 ± 0.81 [#]	3.11 ± 0.57 [#]	64.6 ± 1.9*	191.2 ± 6.7*	1808.0 ± 128.4*	36.1 ± 3.6* [#]	33.1 ± 2.5* [#]
Cu + H₄1,3-pdta	210	280	5.63 ± 0.48 [#]	2.85 ± 0.34 [#]	82.5 ± 2.7*	194.0 ± 7.1*	1750.3 ± 118.5*	27.2 ± 2.4* [#]	31.0 ± 2.4* [#]
H₄1,2-pdta	205	285	6.88 ± 0.62 [#]	3.78 ± 0.47 [#]	54.8 ± 2.5 [#]	165.5 ± 3.6* [#]	1567.7 ± 122.8* [#]	37.4 ± 3.4*	44.6 ± 5.3*
H₄1,3-pdta	200	275	6.72 ± 0.47 [#]	3.52 ± 0.66 [#]	58.2 ± 2.1 [#]	167.6 ± 4.8* [#]	1695.5 ± 116.1* [#]	35.2 ± 1.6* [#]	39.3 ± 2.8*

Вредности дате као средња ± S.E.M. (n = 5 животиња). * Значајно раличито од контроле (p < 0.05), [#] Значајно раличито од Cu-третиране групе (p < 0.05).

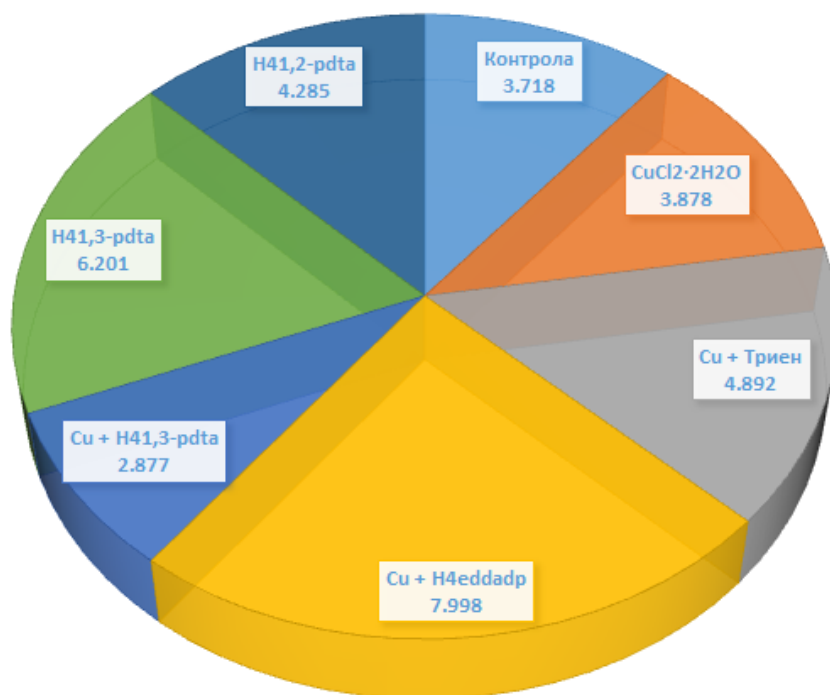
Генерално, $H_41,3$ -pdta киселина снижава концентрацију CP у серуму и јетри (Серум = 27.2, Јетра = 31.0 mg/L) у поређењу са ДПА-ном и Триен-ом (ДПА: Серум = 33.8, Јетра = 48.2 mg/L; Триен: Серум = 37.7, Јетра = 42.0 mg/L). Очигледно, $H_41,2$ -pdta хелат показује слабо опадање концентрације CP-а (Серум = 45.0, Јетра = 54.4 mg/L) у поређењу са Су-третираном групом (табела 16). H_4 eddadr (Серум = 36.1, Јетра = 33.1 mg/L) и $H_41,3$ -pddadr (Серум = 35.8, Јетра = 33.6 mg/L) киселине показују скоро исте активности и боље ефекте него у случају ДПА и Триен-а. Две групе третиране су само са $H_41,2$ -pdta и $H_41,3$ -pdta киселинама. Постоји опадање у CP концентрацијама ($H_41,2$ -pdta: Серум = 37.4, Јетра = 44.6 mg/L; $H_41,3$ -pdta: Серум = 35.2, Јетра = 39.3 mg/L) у поређењу са контролом. Може се уочити да је најбоља активност постигнута са $H_41,3$ -pdta лигандом и то боља него у случају са ДПА и Триен-ом (слика 51). Нагомилавање бакра у јетри је одавно познато.²²⁶ То су показали Goyer²²⁷ и Peraza.²²⁸ Arnal и сарадници²²⁹ су констатовали повећане концентрације бакра у плазми оболелих од AD и PD болести, као и оболелих од деменције, а концентрације бакра неvezаног за CP су биле у директној корелацији са неуролошким поремећајима. Hideko и остали²³⁰ су објавили да ниво бакра у јетри може бити редукован Триен-ом. Резултати одређивања концентрације бакра у јетри су дати на слици 52. Вредност бакра у контролној групи била је 0.173 ppm (здрава јетра). Група пацова третирана са бакар(II)-хлоридом подиже концентрацију бакра све до 0.300 ppm. Третман комерцијалним леком Триен-ом показује повећање нивоа бакра у поређењу са контролом (0.651 ppm). То је, међутим, два пута више него у случају Су-третиране групе. Ниво бакра у јетри пацова третираним са баком а затим и са $H_41,3$ -pdta лигандом износи 0.262 ppm (ниже него у Су групи) и у случају са H_4 eddadr киселином 3.260 ppm (више него у Су групи). Пацови третирани само са хелатима ($H_41,3$ -pdta, $H_41,2$ -pdta) показују скоро исте концентрације бакра (0.264 и 0.239 ppm) као бакар третирана група али благо вишу него контроли. Иако постоје начини да се утврди недостатак бакра, за утврђивање вишка бакра у организму не постоје поуздани маркери. Најпоузданији показатељ вишка бакра унетог храном је концентрација бакра у јетри. Повећане концентрације серумског бакра или CP не морају стриктно да буду у вези са токсичним концентрацијама бакра, јер се срећу и код инфламација и инфекција, малигнитета, трудноћа и присуства разних стресора.²³¹ Одређивање концентрације метала у јетри урађено је ICP методом (слика 52).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

(A)



(B)



Слика 52. Концентрације бабра (A) и гвожђа (B) у јетри (у ppm) мереним ICP методом

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Вредности Cu, Fe и Zn концентрација дате су у табели 17. У случају контролне групе (не третирани пацови бакром) нађен је ниво гвожђа од 3.718 ppm. Скоро иста вредност је одређена за бакар третирану групу (3.878 ppm). Када је у третман укључен Триен, повећао се ниво гвожђа у јетри (4.892 ppm) у поређењу са контролом и бакар-третираним групама. Коришћење АПК хелатирајућих киселина након администрације бакра, довело је до снижавања количине Fe (2.877 ppm) у случају $H_41,3\text{-pdta}$ и до повећања концентрације Fe на 7.998 ppm код $H_4\text{eddadr}$ киселине (слика 52). Очигледно, $H_41,3\text{-pdta}$ лиганд показује скоро два пута боље резултате у поређењу са Триен-ом. Међутим, $H_4\text{eddadr}$ хелат показује много вишу вредност од Триен-а. CP служи као извор бакра за ткива, али делује и као фeroоксидаза чиме је омогућено везивање гвожђа за трансферин. Смањена концентрација CP за последицу има нагомилавање гвожђа у јетри услед немогућности да се угради у трансферин. Истовремено, уклањањем токсичних фero јона, који могу да индукују формирање супероксид анјон радикала и хидроксил радикала, CP делује као антиоксидант.

Табела 17. Концентрације бакра, гвожђа и цинка (у ppm) у јетри

	Cu	Fe	Zn
Здраве животиње	0.173 ± 0.002	3.718 ± 0.031	1.387 ± 0.002
CuCl₂·2H₂O	0.300 ± 0.002	3.878 ± 0.013	0.929 ± 0.600
Cu + Триен	0.651 ± 0.003	4.892 ± 0.020	1.247 ± 0.014
Cu + H₄eddadr	3.260 ± 0.015	7.998 ± 0.046	1.877 ± 0.004
Cu + H₄1,3-pdta	0.262 ± 0.012	2.877 ± 0.151	0.724 ± 0.659
H₄1,2-pdta	0.239 ± 0.004	4.285 ± 0.002	1.598 ± 0.026
H₄1,3-pdta	0.264 ± 0.000	6.201 ± 0.049	1.830 ± 0.002

Тестирање самих хелата ($H_41,3\text{-pdta}$ и $H_41,2\text{-pdta}$ без администрације бакра) даје вредности Fe од 6.201 и 4.285 ppm (више него котролна група и група третирана са бакром). У случају цинка нема значајних промена у свим групама. Концентрација цинка (табела 17) у контролној групи је 1.387 ppm и у бакар-третираној групи је 0.929 ppm. Након Триен апликације примећено је благо већа вредност цинка (1.247 ppm). Вредности 1.877 и 0.724 ppm нађене су за $H_4\text{eddadr}$ и $H_41,3\text{-pdta}$ хелате. Пробе са самим хелатима ($H_41,3\text{-pdta}$ и $H_41,2\text{-pdta}$) дале су нивое цинка од 1.830 и 1.598 ppm. Поремећаји у метаболизму и измењена билијарна или уринарна екскреција бакра, као и смањена секреција у плазму,

резултују повећаном акумулацијом бакра. Резултати нивоа бакра у јетри указују на токсичност изазвану нагомилавањем истог. Примена комерцијалног Триена повећава ниво бакра у поређењу са контролом и бакар третираном групом. Пацови који су подлегли администрацији бакра а након тога третирању са АПК киселинама показују интересантне резултате. Јетра третирана са бакром и $H_41,3\text{-pdta}$ лигандом има вредност од 0.262 (боље у односу са Триен-ом) и са $H_4\text{eddadr}$ лигандом 3.260 ppm. Пацови третирани само са хелатима $H_41,3\text{-pdta}$ и $H_41,2\text{-pdta}$ показују скоро исте концентрације бакра (благо повећане у поређењу са контролом и Cu групама) 0.264 и 0.239 ppm. Очигледно, сами хелати не акумулирају значајно бакар у јетри. Чини се да се $H_41,3\text{-pdta}$ киселина понаша боље од неуролошког лека Триена. Као што је предвиђено, резултати добијени за $H_4\text{eddadr}$ хелат указују на највећу селективност према бакру што је и потврђено од стране Martell-а и сарадника.¹⁸¹ У цитоплазми ћелија бакар могу да вежу и металотионеини, глутатион или једињења попут флавоноида и ДРА.²³¹

3. 5. 4. 3 Преглед резултата биолошких испитивања

Дугорочна АПК администрација може изазвати боље резултате у детоксификацији бакра. Хелати $H_41,2\text{-pdta}$ и $H_41,3\text{-pdta}$ показују добру електрохемијску стабилност а спектрохемијске анализе указују на чињеницу да АПК киселине везују Cu(I) преко адукта тернарног комплекса на сличан начин као и бакар транспортери Atx1 и Atox1. Теорија и експеримент се слажу, бар квалитативно, да више глицинских прстенова доводе до веће стабилности комплекса (бакар са: Триен = 19.92;²³² $H_41,3\text{-pdta}$ = 18.92;²³³ $H_4\text{eddadr}$ = 16.3;²³³ $H_41,3\text{-pddadr}$ = 14.96²³³) што објашњава ефикасност $H_41,3\text{-pdta}$ лиганда у случају СР-а и концентрације бакра у јетри или $H_41,2\text{-pdta}$ у вредностима трансминаза. Очигледно, $H_41,2\text{-pdta}$ киселина показује најбољи утицај када су активности трансминаза у питању. Резултати добијени из одређивања СР-а дају предност $H_41,3\text{-pdta}$ хелату који су у складу са резултатима метала из јетре. Два АПК хелата ($H_4\text{eddadr}$ и $H_41,3\text{-pddadr}$) са више шесточланих прстенова изазивају бољу селективност према бакру, иако то доводи до смањења стабилности $H_41,3\text{-pddadr}$ и $H_4\text{eddadr}$. Резултати у овом раду указују да су много селективнији према бакар(II) јону. Тако су АПК киселине од потенцијалног интереса, иако њихови бакар(II) комплекси имају слабије константе стабилности него актуелни неуролошки лек Триен. На сличан начин, теоријски је показано да LFMM такође даје

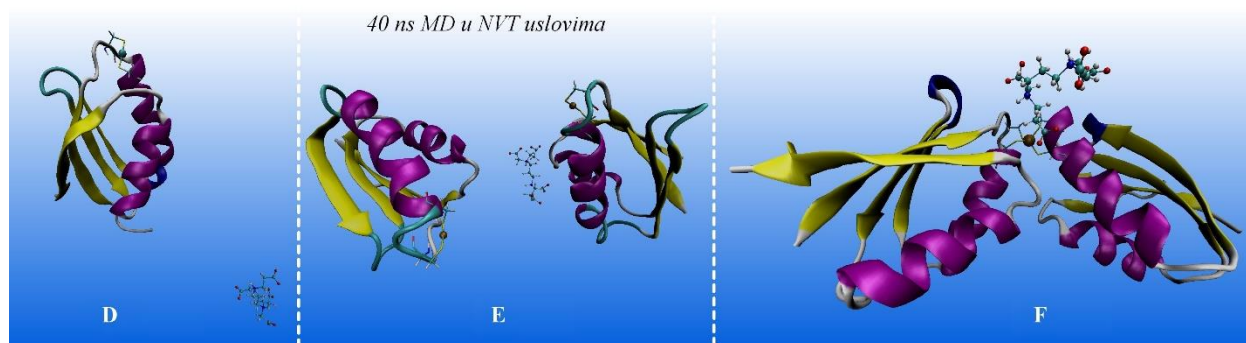
благу корелацију између константе стабилности и броја шесточланих хелатних прстенова са $\log\beta$ вредностима које опадају како број шесточланих прстенова расте. Синтетисани лиганди $H_{41,2}$ -pdta, $H_{41,3}$ -pdta, H_4 eddaдр и $H_{41,3}$ -pddадр показују врло добре резултате у третману пацова. Нема нежељених ефеката у случају сва четири хелата чак су и тежине експерименталних животиња остале на добром нивоу. Акумулирани бакар у хепатоцитима након третмана АПК хелатима није довео до њиховог оштећења, а на очуван интегритет хепатоцита упућују претходно приказани резултати. Способност АПК киселина да хелатирају јоне бакра вероватно је одговорна за овакав резултат. У прилог томе, *in vitro* резултати су показали да АПК хелати нису токсични. Ефекти добијени H_4 eddaдр третманом резултују у акумулацији металног јона у јетри и на први поглед токсично. Међутим, нисмо сигурни да ли је већа штета од акумулираног тернарног бакар-eddaдр--протеинског комплекса у јетри од позитивних ефеката еддадр хелата услед смањења концентрације бакра у крви. Исто тако постоје питања у вези АПК киселина и њихових интеракција на ћелијском нивоу која су остала неразјашњена. Одавно је показано да СР садржи 95 % бакра који може да везује оба оксидациона стања +1 и +2.²³⁴ Очигледно, спектрофотометријски и електрохемијски резултати указују да АПК хелати могу да вежу оба стања бакра где су стабилнији комплекси оксидационог стања +2. Такође, нађено је да АПК киселине имају извесне липофилне карактеристике и могућност да уђу у билипидне ћелијске мембране.²³⁵ Липофилност може бити одређена помоћу параметра $\log P$ ($\log P > 1$ липофилно једињење, $\log P < -1$ хидрофилно једињење, $\log P > 5$ токсично једињење).²³⁶ У овом раду одређене су следеће вредности: ДПА = 0.93 ± 0.40 ; Триен = -2.18 ± 0.57 ; $H_{41,2}$ -pdta = -0.09 ± 0.61 ; $H_{41,3}$ -pdta = -1.51 ± 0.58 ; $H_{41,3}$ -pddадр = 0.01 ± 0.51 ; H_4 eddaдр = 0.48 ± 0.54 . Могу се приметити сличне вредности између $H_{41,3}$ -pdta лиганда и Триена. Хелат $H_{41,2}$ -pdta се приближава Триену са вредношћу $\log P$ од -0.09 . Киселине H_4 eddaдр и $H_{41,3}$ -pddадр имају ниже вредности хидрофилности, али и даље имају потенцијал везивања бакра у оксидационом стању +2.

3. 5. 4. 4 Теоријско испитивање механизма дејства АПК киселина молекулском динамиком

Boal и Rosenzweig²³⁷ описали су 3D структуре бакра(I) који је везан за Atox1 решене рендгенским структурним анализама. Аутори су показали да бакар може бити везан за Atox1 у 1:1 и 1:2 односу. Транспортер бакра Atox1 везује Cu(I) за конзервиран СХХС

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

мотив и доводи га до N-терминалних метал везујућих домена (Metal Binding Domen) MBD-а АТР7В и АТР7А, који су Cu(I) специфични P1B-тип АТР-аза.²³⁸ Свака хумана Cu(I) АТР-аза има шест MBD-а, који такође везују Cu(I) за CXXC и личе на Atox1 у укупној структури.²³⁹ Тако, сматра се да је Atox1 метал транспортни протеин, способан да интерагује са бавром и тиме утиче на ефлукс истог из цитоплазме. У овој дисертацији испитивана је интеракција између АПК хелата и различитих холо-Atox1 протеина, са циљем да се утврди колико се снажно поменути агенси везују за Atox1 поређењем вредности слободних енергија Протеин-Лиганд везивања. Истражена су три различита холо-НАН1 система како је већ поменуто у експерименталном делу (слика 53, D, E и F). У даљем тексту биће поменути као D, E и димерни F систем. Након пажљиве параметризације оба дела система који садржи металопротеин и PCA лиганд примењен је стандардни поступак симулације MD. Наиме, урађена су четири корака минимизације, два корака загревања (NVE услови), консолидација густине система (NPT услови) и 40ns секунди продукционе динамике (NVT услови). После анализа три трајекторије различитих система успешно је изведена њихова просечна конформација (слика 53).

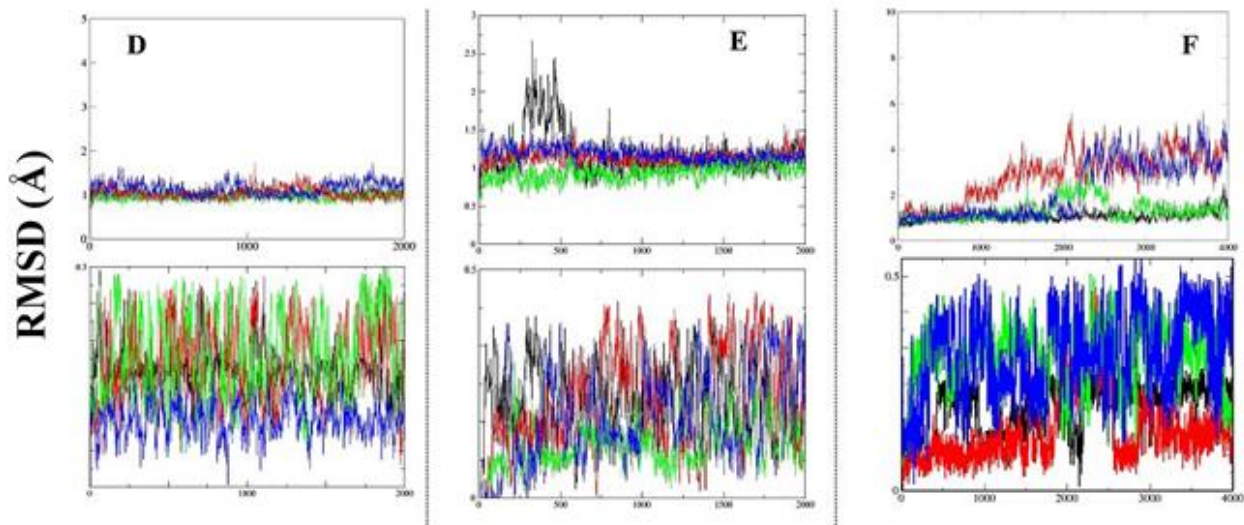


Слика 53. Просечне конформационе структуре холо-протеин-[L] комплекса после 40 нано секунди NVT молекулске динамике

Слика 53 показује типичне просечне конформације три различита система са $H_{21,3}$ - $ppdadp^{2-}$ лигандом (узетим као пример). Може се видети да је само у случају димера (F) систем очуван док у свим другим системима АПК лиганд напушта иницијални положај и губи везивне особине са протеином. Стога, за даља молекулско-динамичка истраживања

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

лиганд-протеин интеракција и израчунавања слободне енергије везивања изабран је димер с обзиром да поседује изражене везне карактеристике без обзира на врсту АПК лиганда докованог на површину протеина. Продукциона молекулска динамика система F урађена је укупно у трајању од 80 ns у NVT условима. RMSD шема тешких атома АПК лиганда и леђних N, CA и C атома у димеру дуж 4 трајекторије дата је на слици 54.



Временски корак (1000 оквира = 20 ps)

Слика 54. RMSD шема тешких атома PCA лиганда и леђних N, CA и C атома у димеру дуж 4 трајекторије (_____ eddadp; _____ 1,3-pddadp; _____ 1,3-pdta; _____ 1,2-pdta)

Обично се разматрају приближне RMSD вредности дуж трајекторије које указују на стабилно стање молекулског система. Можемо се видети (слика 54) да су генерално RMSD вредности АПК хетала мале (~ 0.5 Å) са уобичајеним скоковима током конформационе динамике лиганда. RMSD вредности леђних N, CA и C атома метало-протеина су у границама од 2 Å (слика 54). У наставку, за сваки систем урађено је 8 независних узорковања у циљу израчунавања ΔG вредности MMGBSA и MMPBSA методама описаних у експерименталном делу. Резултати MMPBSA и MMGBSA анализа су приказани у табели 18. За израчунавање слободне енергије везивања израчуната је и промена ентропије употребом нормализованог аналитичког мода (NMA). У MMPBSA и MMGBSA анализама добили смо резултате засноване на укупном узорковању. Резултати MMGBSA+NMA и MMPBSA+NMA израчунавања (табела 18) указују на везивање АПК

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

лиганада са Atox1 протеинским димером са ΔG вредностима нађеним у опсегу од -11 до -22 kcal/mol за MMGBSA+NMA метод и од -8 до -18 kcal/mol за MMPBSA+NMA метод. Поређења ради у табели 18 су дате есперименталне ΔG вредности за реакцију $[\text{Cu}(\text{bcs})_2]^{2+}$ (упрошћени модел за активни центар холо-Atox1) и АПК јона. MMGBSA+NMA резултати показују да су ΔG вредности 4 лиганд—F система различите следећи $\text{H}_21,3\text{-pddadp}^{2-} > \text{H}_2\text{eddadp}^{2-} > \text{H}_21,2\text{-pdta}^{2-} > \text{H}_21,3\text{-pdta}^{2-}$ опадајући низ. За разлику од ових резултата модел реакција са $[\text{Cu}(\text{bcs})_2]^{2+}$ јоном даје приближне вредности у случају свих АПК лиганада. Ово је очекивано имајући у виду да модел систем не поседује протеински део који у значајној мери учествује у невезивним Протеин-Лиганд интеракцијама. Међутим значајно је приметити да су ΔG вредности за оба система у релативно блиском опсегу вредности -15±5 kcal mol⁻¹.

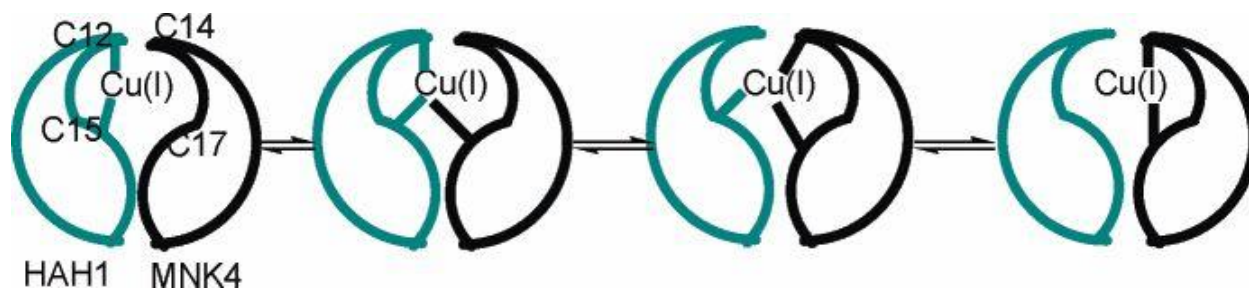
Табела 18. Слободне енергије везивања (kcal mol⁻¹) израчунате MMGBSA и MMPBSA методама, заједно са експерименталним ΔG вредностима добијеним за $[\text{Cu}(\text{bcs})_2]$ ---АПК модел

Лиганд	$\Delta G^a = \Delta H - T\Delta S$		
	MMGBSA+NMA	MMPBSA+NMA	Спектроскопија (Експериментални део)
$\text{H}_2\text{pddadp}^{2-}$	-21.8±9	-18.3±11.2	-20.85
$\text{H}_2\text{eddadp}^{2-}$	-15.6±7.9	-11.7±7.5	-21.02
$\text{H}_21,2\text{pdta}^{2-}$	-14.9±10.9	-11.5±9.3	-21.31
$\text{H}_21,3\text{pdta}^{2-}$	-11.0±10.3	-8.7±8.7	-21.20

^aУ kcal/mol

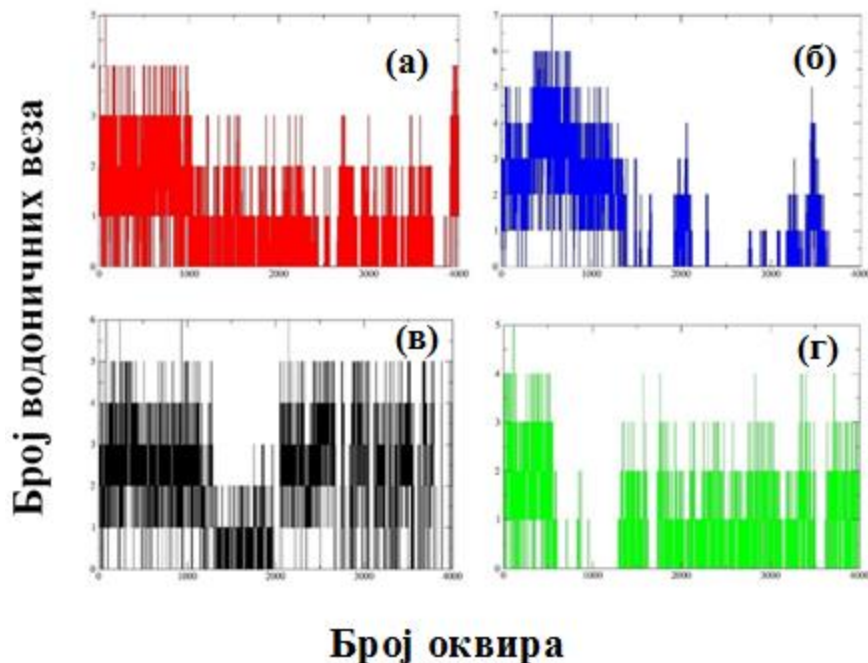
Очигледно је да невезивне интеракције холо-Nah1 са два хелата који поседују мешовите карбоксилатне прстенове (eddadp и 1,3-pddadp) показују (према табели 18) најјачи степен везивања у односу на протеин. Holt и Mertz²⁴⁰ су у њиховом раду испитивали понашање Nah1 димера употребом QM-а и MD-а. У закључку њиховог рада наводи се да се кључни

механизам преноса атома бакра са Nah1 транспортера на MNK4 (четврти домен Менкесовог протеина из АТП7А/АТП7Б породице) протеин одвија преко ди- и три-координационог интермедијера (слика 55).



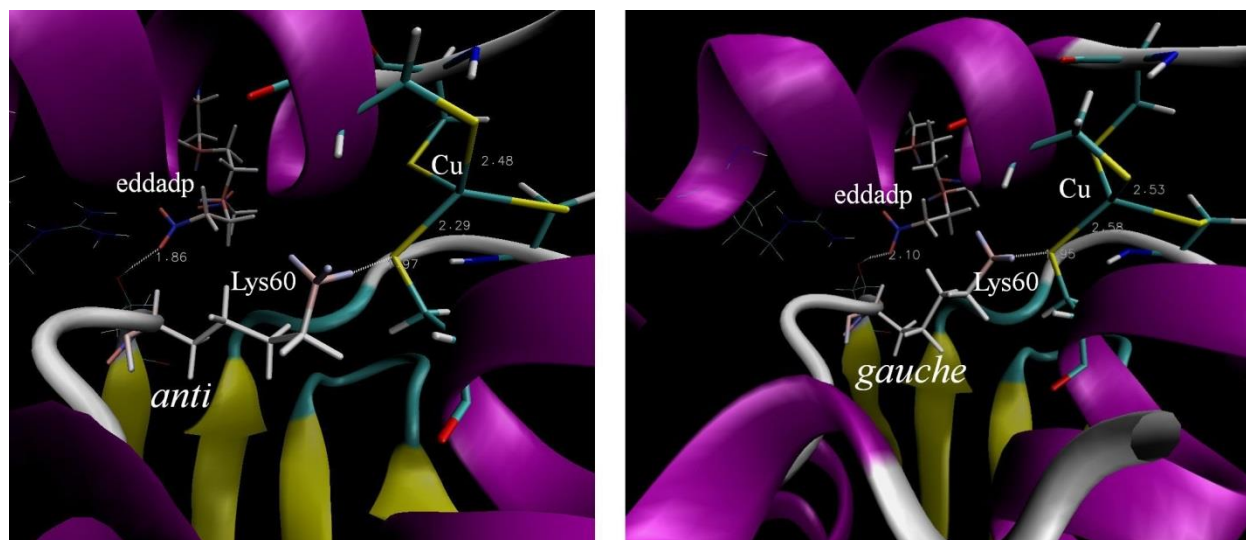
Слика 55. Могући механизам преноса бакра са Nah1 транспортера на MNK4 протеин²⁴⁰

Овакав закључак је дат уз опаску да је тетраедарски координан интермедијер бакра мало вероватан и да ако постоји онда мора постојати такво окружење протеина које ће стабилизovati пренос бакра уважавајући тетраедарску координацију. Штавише, близина Lys60 (лизин 60) аминокиселинског (АК) остатка се сматра важном облашћу за доступност апо-протеина у везивању за место циљног домена као и за формирање важних интеракција са метал-везивним АК остацима близу места приступа протеина. Анализом водоничних веза дуж укупне трајекторије добијен је увид у ову врсту важних протеин-лиганд интеракција. На слици 56 дат је графички преглед формирања ових врста веза у посматраном систему.



Слика 56. Број водоничних веза између Nah1 протеина и АПК лиганата дуж 80 ns трајекторије; (а) $\text{H}_2\text{eddap}^{2-}$, (б) $\text{H}_21,3\text{-pddap}^{2-}$, (в) $\text{H}_21,2\text{-pdta}^{2-}$ и (г) $\text{H}_21,3\text{-pdta}^{2-}$

Увидом у графички приказ може се закључити да је степен интеракција eddap и 1,2-pdta лиганата нешто интензивнији него што је то случај код pddap и 1,3-pdta лиганата. АК остаци који у највећем проценту учествују у формирању водоничних веза су треонин Thr59 и аргинин Arg89. Ако пажњу усмеримо на Thr59 видеће се да је то суседна АК-а лизину Lys60 за коју је већ речено да има значајан утицај на трансфер јона бакра. Ако се пажљивије проучи узајамна зависност интензитета водоничне везе eddap---Thr59, конформационе промене лизина Lys60 и дужине Cu—S везе најближе лизину60 може се дати следећи опис. На слици 57 дат је графички приказ две узастопне конформације 80 ns динамике.



Слика 57. Две узастопне конформације 80ns трајекторије Nah1--Cu-- Nah1--eddadp система

Може се рећи да слабљење водоничне везе eddadp---Thr59 (од 1.86 Å ка 2.10 Å) значајно утиче на промену конформације Lys60. Јасно је са слике да *anti* конформација Lys60 прелази у *gauche* конформер. Конформациони *anti*→*gauche* прелаз може довести (слика 57) до издужења Cu—S веза од 2.29 до 2.58 Å. Једино се у случају eddadp лиганда Lys60 налази у обе конформације у приближно једнаком односу (узорци у којима је eddadp на растојању краћем од 5 Å), док у свим осталим случајевима доминира *anti* конформација. Овакво стање Cu—S веза у *gauche* конформацији могло би се схватити као допринос трансферу јона бакра и даљем слабљењу тетраедарског Nah1--Cu--Nah1 система. Природно, ово би могло довести до веће доступности јона бакра испитиваним хелатима а пре свега eddadp лиганду. Са друге стране инхибиција трансфера бакра ка мембранским АТП7А/Б протеинима *trans*-Golgi-ве мреже (*anti* конформација Lys60) могла би утицати на смањење екстрацелуларне концентрације бакра и тиме довести до снижавања концентрације бакра у крви оболелих од WD-а.

4. Закључак

Синтезама нових баријум(пропандиамин-*N,N,N'*-триацетато-*N'*-3-пропионато)купрата(II) хексахидрата, $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})\cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ и баријум(1,3-пропандиамин-*N,N,N'*-тетра-3-пропионато)купрата(II)трихидрата, $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pdtp})\cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ комплетирана је једноставна серија бакар(II)-П-АПК хелата са ацетатим и пропионским групама. Структуре два добијена комплекса: $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pd3ap})\cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ и $\text{Ba}[\text{Cu}(1,3\text{-pddadp})\cdot 8\text{H}_2\text{O}]$ верификоване су рендгенском структурном анализом. Посматрана је линеарна корелација између тетрагоналности и броја петочланих прстенова у комплексном анјону и између тетрагоналности и енергије најинтензивније d-d апсорпције. Показано је да је B1LYP метода избора када је у питању израчунавање TDDFT података за бакар(II)-АПК комплексе не само због доброг уклапања облика трака и енергија већ и због веома упоредивих моларних апсорпционих коефицијената са експерименталним ϵ подацима. Екваторијални N-Cu-O углови показују најмању девијацију од идеалног угла од 90° када постоји једнак број глицинских и β -пропионских прстенова и већа одступања када су сви карбоксилатни ланци једнаки. Ово може бити користан начин за разликовање различитих металних центара на основу њихове склоности ка октаедарској координацији. П-АПК хелати се понашају као хексадентати или пентадентати према јону бакра(II) у зависности од броја шесточланих прстенова и рН вредности воденог раствора. Ова чињеница је потврђена EPR спектрима у раствору и структурама у поликристалном стању. Симетрични хелати са мешовитим карбоксилатним ланцима (H_4eddadp и $\text{H}_41,3\text{-pddadp}$) су погоднији за октаедарску координацију бакар(II) јона. На овај начин они значајно редукују могућност образовања тернарних комплекса. Ово својство заједно са високим $[\text{CuL}]^{2-}$ константама стабилности чине их добрим кандидатима за селективне хелатирајуће лекове против акумулације бакра у цитоплазми ћелија или крвној плазми живих организама. Могло би се нагласити да различити катјони могу утицати на различито понашање образованих комплекса. То значи да присуство двовалентних катјона (као што је Ba^{2+}) доводи до образовања мање растворних $[\text{CuL}]^{2-}$ агрегата супротно од једновалентних катјона (Na^+) који теже више ка растворљивијим облицима. Апсорпциони, инфра-црвени и EPR спектри $[\text{CuL}]^{n-}$ представљају карактеристичне особине испитиваних комплекса и могу се користити за њихову идентификацију. Апсорпциони спектар се може

лако моделирати и предвидети коришћењем компјутерске хемије. Ово заузврат даје могућност моделирања реакција биолошких система описујући хелат-бакар-субстратни систем. Ради боље конструкције зависности структуре/активности везе и дизајна једињења добро је имати компјутерски алат који је и брз и тачан. У овој дисертацији развијен је брз, емпиријски ММ приступ. С обзиром на јаку Jahn-Teller-ову дисторзију типичну за d^9 бакар(II) комплексе, конвенционални ММ метод је неадекватан. Јаки d електронски ефекти се морају експлицитно узети у обзир што се постиже комбиновањем ММ-а са генералним, третманом стабилизационе енергије лигандног поља повезане са електронима отворене d љуске. LFMM је успешно примењен на низ проблема у координационој, бинеорганској и чак органометалној хемији и овде је проширен на бакар(II)-АПК системе. Поље сила је параметризовано коришћењем излазних докумената DFT-оптимизованих структура за CuN_2O_4 координациону средину. Укључивање COSMO ефекта значи да резултујући LFMM параметри потпуно укључују изотропску солватациону корекцију. Добијени резултати су типични за 4+2 тетрагонално издужене структуре али пентакоординовани комплекси показују веће варијације. Случајеви где је аксијални карбоксилат ротиран тако да метал лежи вертикално на карбоксилатну раван су прилагођени преко MMFF FF члана истезања-савијања. Иако је LFMM FF параметризован само на бази структурних података добијени резултати оптимизације геометрија као и DFT и LFMM израчунатих енергија (бар за коформације најниже енергије) показују добру усаглашеност. Релативне LFMM енергетске разлике и експерименталне $\log\beta$ вредности за испитивану серију лиганата су добре. Израчуната енергија везивања очигледно опада како се број пропионских прстенова повећава указујући на чињеницу да петочлани хелатни прстенови поседују јаче изражено лигандно поље у односу на шесточлане прстенове. Међутим, нов LFMM FF омогућује разуман, опис структура по квалитету приближан DFT као и енергија бакар(II)-АПК комплекса у малим фракцијама времена потребним за DFT оптимизацију. Тренутно је у фази испитивања LFMM FF за друге АПК киселине и сродне системе у циљу истраживања афинитета везивања лиганата за бакар чиме се могу предложити потенцијални кандидати у третману неуротоксичних поремећаја. Хелати $H_4eddaPr$ и H_4edaZr су тако од потенцијалног интереса у лечењу WD јер упркос слабијим константама стабилности од $edta$ лиганда у ствари су селективнији према бакру јер фаворизују хексадентатни облик. Ова дисертација обухватила је редистрибуцију бакра у

Wistar albino експерименталним животињама од стране неколико АПК хелата: $H_41,2\text{-pdta}$, $H_41,3\text{-pdta}$, $H_4\text{eddadr}$ и $H_41,3\text{-pddadr}$. Киселине $H_41,2\text{-pdta}$ и $H_41,3\text{-pdta}$ показују добру електрохемијску стабилност. Спектрофотометријске студије су показале да су K_D константе тернарних бакарних комплекса у добром складу у односу на K_D константе макромолекула које имају добар афинитет према бакру(I). Међутим, константе стабилности зависе од екстра- и интра-ћелијског окружења. Ово значи да се високе Kd вредности у случају АПК хелата, вероватно не би могле очекивати у живим организмима. *In vitro* резултати показују да АПК хелати не поседују цитотоксичност. Испитиване АПК киселине су тестиране у *in vivo* условима ради испитивања ефеката њиховог везивања за метале и поређене су са комерцијалним лековима попут ДПА и Триена. Експерименти *in vivo* су укључили: а) одређивање трансминаза у серуму; б) процена СР концентрације у серуму и јетри; ц) одређивање концентрација бакра, гвожђа и цинка у јетри. Резултати анализа трансминаза показују добру активност $H_41,2\text{-pdta}$ киселине. Међутим, запажања из СР резултата (из серума и јетре) указују да је најсличнији комерцијалном леку $H_41,3\text{-pdta}$ хелат. Ова два једињења имају веома добар потенцијал у редукцији концентрације бакра у организму. Испитивање концентрације метала у јетри показују мању или вишу детоксикацију бакра када су примењени АПК хелати или комерцијални лекови. Вредност акумулације бакра у јетри изазвана $H_4\text{eddadr}$ третманом указује на највећу селективност према бакру. Акумулација гвожђа у јетри пацова је значајна али је опет $H_41,3\text{-pdta}$ лиганд показао два пута бољи ефекат у поређењу са Триен-ом. Појединачне промене концентрације јона цинка нису примећене у третираним групама. Нежељени ефекти нису уочени. Теоријским експериментима молекулске динамике на системима који поред испитиваних хелата садрже и добро познати Nah1 транспортер бакра (у различитим конформационим и структурним облицима) потврђено је да изражени афинитет према бакру поседују хелати са мешовитим карбоксилатним прстеновима. MMGBSA/MMPBSA+NMA резултати показују да ΔG вредности лиганд- Nah1 (димер) следе $H_21,3\text{-pddadr}^{2-} > H_2\text{eddadr}^{2-} > H_21,2\text{-pdta}^{2-} > H_21,3\text{-pdta}^{2-}$ опадајући низ што је у складу са наведеним афинитетом АПК лиганада према јону бакра. Коришћењем исте компјутерске методологије показано је у одређеном смислу да токсичност симетричних хелата са мешовитим прстеновима може бити узрокована водоничним везама између хелата и нарочитих аминокиселинских остатака (Thr59) које

доведе до конформационих промена Lys60 одговорног за иницијализацију трансфера бакра унутар ћелијског садржаја.

На основу резултата, могу се разликовати две групе хелата:

- (I) $H_41,2$ -pdta и $H_41,3$ -pdta лиганди који очигледно представљају конкуретне хелатирајуће агенсе у клиничкој терапији неуротоксичних поремећаја.
- (II) H_4 eddadp и $H_41,3$ -pddadp лиганди који показују високу селективност према бакру али узрокују нагомилавање бакра у јетри и са фармаколошке стране могли би се користити као додаци постојећим лековима (ДПА и Триен) поспешујући хелатацију бакра.

За разлику од групе(I), група (II) показује значајну токсичност. Ово се посебно истиче у случају акумулације бакра и гвожђа у јетри, што је контрапродуктивно ако се говори о лечењу неуролошких болести. Међутим, ови се хелати не смеју искључити из будућег истраживања (ако се узме у обзир велика селективност према бакру) у другим неуротоксичним поремећајима (Alzheimer-ова и Menkes-ова обољења).

5. Литература

1. DeBusk, R. University of Maryland Medical Center **2002**
2. Swaran, J.; Flora, S.; Pachauri, V. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2010**, *7*, 2745
3. Lamas, G. A.; Boineau, R.; Goertz, C.; Mark, D. B.; Rosenberg, Y.; Stylianou, M.; Rozema, T.; Nahin, R. L.; Chappell, L. T.; Lindblad, L.; Lewis, E. F.; Drisko, J.; Lee, K. L. *Amer. Heart J.* **2014**, *168*, 37
4. Cui, Z.; Bu, W.; Fan, W.; Zhang, J.; Ni, D.; Liu, Y.; Wang, J.; Liu, J.; Yao, Z.; Shi, J. *Biomaterials* **2016**, *104*, 158
5. Kuan-Hsing, C.; Ja-Liang, L.; Dan-Tzu, L.; Hsiang-Hao, H.; Ching-Wei, H.; Kuang-Hung, H.; Tzung-Hai, Y. *Americ. Journ. of Kidney Diseases* **2012**, *60*, 530
6. Ogata, A.; Sueta, S.; Tagawa M. *Nihon Jinzo Gakkai shi* **2011**, *53*, 207
7. Cui, Z.; Lockman, P. R.; Atwood, C. S.; Hsu, C.; Gupte, A.; Allen, D. D.; Mumper, R. J. *Eur. Journ. of Pharma. and Biopharma.* **2005**, *59*, 263
8. Blanuša, M.; Varnai, V.; Piasek, M.; Kostial, K. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 2771
9. Bulman, R. A. *The Chemistry of Chelating Agents in Medical Science* (Berlin, Germany), **1987**, *67*, 91
10. Vilensky, J. A.; Robertson, W. M.; Gilman, Sid.; Brown, D. *Neurology* **2002**, *59*, 914
11. Anzinger, J. J.; Mezo, I.; Ji, X.; Gabali, A. M.; Thomas, L. L.; Spear, G. T. *Virus Research* **2006**, *122*, 183
12. Hininger, I.; Waters, R.; Osman, M.; Garrel, C.; Fernholz, K.; Roussel, A.; Anderson, R. A. *Free Rad. Biol. & Med.* **2005**, *38*, 1565
13. Doorn, V.; Marcellinus, A. *Un. St. Pat. Appl.-PATENT* **2001**
14. Radanović, D. J. *Coord. Chem. Rev.* **1984**, *54*, 159
15. Douglas, B. E.; Radanović, D. J. *Coord. Chem. Rev.* **1993**, *128*, 139
16. Radanović, D. J.; Ianelli, S.; Mori, G.; Matović, Z. D.; Tasić Stojanović, S.; Douglas, B. E. *Inorg. Chim. Acta*, **1998**, *278*, 66
17. Legg, J. I. *Coord. Chem. Rev.* **1978**, *25*, 103
18. Ogino, H.; Shimura, M. *Adv. Inorg. Bioinorg. Mech.* **1986**, *4*, 107
19. Radanović, D. J.; Djuran, M. I.; Miletić, V. D.; Maricondi, C.; Douglas, B. E. *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 1265
20. Radanović, D. J.; Djuran, M. I.; Djorović, M. M.; Douglas, B. E. *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *146*, 199

21. Radanović, D. J.; Ama, T.; Gurešić, D. M.; Ristanović, D. M.; Radanović, D. D.; Kawaguchi, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2000**, *73*, 2283
22. a) Radanović, D. J.; Djuran, M. I.; Kostić, T. S.; Maricondi, C.; Douglas, B. E. *Inorg. Chim. Acta* **1993**, *207*, 111 b) Radanović, D. J.; Miletić, V. D.; Ama, T.; Kawaguchi, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1998**, *71*, 1605
23. a) Radanović, D. J.; Ristanović, V. M.; Stojčeva-Radovanović, B.; Todorovska, A. D.; Sakagami, N.; Lino, A.; Kaizaki, S. *Trans. Met. Chem.* **1999**, *24*, 403; b) Radanović, D. J.; Sakagami, N.; Ristanović, V. M.; Kaizaki, S. *Inorg. Chim. Acta* **1999**, *292*, 16-27
24. Byers, W.; Douglas, B. E. *Inorg. Chem.* **1972**, *11*, 1470
25. Radanović, D. J.; Douglas, B. E. *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 6
26. Radanović, D. J.; Douglas, B. E. *J. Coord. Chem.* **1975**, *4*, 191
27. Helm, F. T.; Watson, W. H.; Radanović, D. J.; Douglas, B. E. *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 2351
28. Gailey, K. D.; Radanović, D. J.; Đuran, M. I.; Douglas, B. E. *J. Coord. Chem.* **1978**, *8*, 161
29. Radanović, D. J.; Gailey, K. D.; Đuran, M. I.; Douglas, B. E. *J. Coord. Chem.* **1980**, *10*,
30. Kaizaki, S.; Byakuno, M.; Hayashi, M.; Legg, J. I.; Umakoshi, K.; Ooi, S. *Inorg. Chem.* **1987**, *26*, 2395
31. Radanović, D. J.; Trifunović, S. R.; Cvijović, M. S.; Maricondi, C.; Douglas, B. E. *Inorg. Chim. Acta* **1992**, *196*, 161
32. Parvez, M.; Maricondi, C.; Radanović, D. J.; Trifunović, S. R.; Miletić, V. D.; Douglas, B. E. *Inorg. Chim. Acta* **1996**, *248*, 89
33. Radanović, D. J.; Djuran, M. I.; Kostić, T. S.; Douglas, B. E. *Inorg. Chim. Acta* **1993**, *211*, 149
34. Matović, Z. D.; Ianelli, S.; Pelosi, G.; Jančićjević, S. K.; Ristanović, V. M.; Ponticelli, G.; Radanović, D. J. *Polyhedron* **2002**, *21*, 2667
35. Radanović, D. J.; Prelesnik, B. V.; Radanović, D. D.; Matović, Z. D.; Douglas, B. E. *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *262*, 203
36. Prelesnik, B. V.; Radanović, D. D.; Tomić, Z. D.; Djurdjević, P. T.; Radanović, D. J.; Veselinović, D. S. *Polyhedron* **1996**, *15*, 3761
37. Rychlewska, U.; Radanović, D. D.; Jevtović, V. S.; Radanović, D. J. *Polyhedron* **2000**, *19*, 1
38. Turnlund, J. R.; Keyes, W. R.; Peiffer, G. L.; Scott, K. C. *Am.J. Clin. Nutr.* **1998**, *67*, 1219

39. Pickart, L.; Goodwin, W. H.; Burgua, W.; Murphy, T. B.; Johnson, D. K. *Biochemical Pharmacology* **1983**, *32*, 3868
40. Tasić, N.; Radak, Đ.; Cvetković, Z.; Petković, B.; Ilijevski, N.; Đorđević-Denić, G. *Vojnosanitetski pregled* br.6. **2004**, *61*, 667
41. Takahashi, N.; Ortel, T. L.; Putnam, F. W. (Jan **1984**). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 81 (2): 390
42. Koschinsky, M. L.; Funk, W. D.; van Oost, B. A.; MacGillivray, R. T. (Jul **1986**). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 83 (14): 5086
43. Royle, N. J.; Irwin, D. M.; Koschinsky, M. L.; MacGillivray, R. T.; Hamerton, J. L. (May **1987**). Somatic Cell and Molecular Genetics 13 (3): 285
44. Xie, L.; Helmerhorst, E.; Taddei, K.; Plewright, B.; Van B.; Martins, W. "Alzheimer's beta-amyloid peptides compete for insulin binding to the insulin receptor" (May **2002**)
45. Lutsenko, S. *Curr. Opin. in Chem. Biol.* **2010**, *14*, 211
46. Medici, V.; Rossaro, L.; Sturniolo, G. *Digest. and Liv. Dis.* **2007**, *39*, 601-609
47. Tuo, W.; Zijian, G. *Curent Medicinal Chemistry* **2006**, *13*, 525
48. Polishchuk, R.; Lutsenko, S. *Histochem. Cell Biol.* **2013**, *140*, 285
49. a) Isaacs, N. W.; Kennard, C. H. L. *J. Chem. Soc. (A)* (1969) 386; b) Cullen, D. L.; Lingafelter, E. C. *Inorg. Chem.* **1971**, *10*, 1264
50. Simmons, C. J.; Hathaway, B. J.; Amornjarusiri, K.; Santarsiero, B. D.; Clearfield, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1947
51. Padilla, M. H.; China, E.; Dominguez, S.; Mederos, A.; Munoz, M. C.; Lloret, F. *Polyhedron* **2000**, *19*, 1175
52. Cotton, F. A.; Wilkinson, G. *Advanced Inorganic Chemistry*, Intersici, New York, **1972**
53. Montgomery, H.; Lingafelter, E. C. *Acta Crystallogr.* **1966**, *20*, 659
54. Tomlinson, A. A. G.; Hathaway, B. J.; Billing, D. E.; Nichols, P. *J. Chem. Soc.* **1969**, *A*, 65
55. Duggan, M.; Ray, N.; Hathaway, B. J.; Tomlinson, G.; Brint, P.; Pelin, K. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1980**, 1342 F
56. a) Massi, *Acta Crystallogr.* **1955**, *8*, 137; b) Morison, B. *Acta Crystallogr.* **1969**, *B25*, 19
57. a) Mori, M.; Saito, Y.; Watanabe, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1961**, *34*, 295; b) Bernal, I.; Korp, J. D.; Schlemper, E. D.; Hussain, M. S. *Polyhedron* **1982**, *1*, 365

58. Matović, Z. D.; Pelosi, G.; Ianelli, S.; Ponticelli, G.; Radanović, D. D.; Radanović, D. J. *Inorg. Chim. Acta* **1998**, *268*, 221
59. Berry, S. J. *Chem. Phys.* **1960**, *32*, 933
60. Matović, Z. D.; Meetsma, A.; Miletić, V. D.; van Koningsbruggen, P. J. *Inorg. Chim. Acta* **2007**, *360*, 2420
61. a) Helmholtz, L.; Kruh, R. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1176; b) McGinnety, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 8406
62. Johnson, J. E.; Beineke, T. A.; Jacobson, P. A. *J. Chem. Soc.* **1971**, *A*, 1371
63. Hathaway, B. J.; Hodgson, P. G. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1973**, *35*, 4071
64. Jordan, W. T.; Legg, J. I. *Inorg. Chem.* **1974**, *13*, 2271
65. Mizukami, F.; Ito, H.; Fujita, J.; Saito, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1970**, *43*, 3633
66. (a) Thomas, L. H. *Proc. Camb. Phil. Soc.* **1927**, *23*, 542; (b) Fermi, E. *Z. Phys.* **1928**, *48*, 73
67. Hohenberg, P.; Kohn, W. *Phys. Rev.* **1964**, *B 136*, 864
68. Rosa, A.; Ricciardi, G.; Gritsenko, O.; Baerends, E. *Struct. Bonding (Berlin)* **2004**, *112*, 49
69. Marques, M. A. L.; Gross, E. K. U. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2004**, *55*, 427
70. Chong, D. P. *Recent advances in density functional methods*; World Scientific: Singapore, Vol. 1. **1995**
71. Runge, E.; Gross, E. K. U. *Phys. Rev. Lett.* **1984**, *52*, 997
72. Gross, E. K. U.; Kohn, W. *Adv. Quant. Chem.* **1990**, *21*, 255
73. Schipper, P. R. T.; Gritsenko, O. V.; van Gisbergen, S. J. A.; Baerends, E. J. *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 1344
74. Gruning, M.; Gritsenko, O. V.; van Gisbergen, S. J. A.; Baerends, E. J. *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 9591
75. Gritsenko, O.; van Leeuwen, R.; van Lenthe, E.; Baerends, E. J. *J. Phys. Rev. A* **1995**, *51*, 1944
76. a) Rappe, A. K.; Casewit, C. L. "Molecular mechanics across chemistry", University Science Books, Sausalito, CA, **1997**, website <http://www.chm.colostate.edu/mmac>; (b) Leach, A. R. "Molecular Modelling, Principles and Applications", Addison Wesley Longman, Essex (UK), **1996**, chapter 3; (c) Burkert, U.; Allinger, N. L. "Molecular Mechanics", ACS Monograph 177, American Chemical Society, Washington, DC, **1982**; (d) Allinger, N. L. "Calculation of Molecular Structures and Energy by Force Methods", in *Advances in Physical Organic*

- Chemistry*, 13, Gold V.; Bethell, D. Eds., Academic Press, New York, **1976**; (e) Clark, T. “A Handbook of Computational Chemistry”, Wiley, New York, **1985**; (f) Levine, I. N. “Quantum Chemistry”, 4th ed. Prentice Hall, Engelwood Cliffs, New Jersey, **1991**, 583; (g) Issue No. 7 of *Chem. Rev.*, **1993**, 93; (h) Conformational energies: Pettersson, I.; Liljefors, T. in *Reviews in Computational Chemistry*, **1996**, 9; (i) Inorganic and organometallic compounds; Landis, C. R.; Root, D. M.; Cleveland, T. *Reviews in Computational Chemistry* **1995**, 6; (j) Parameterization: Bowen, J. P.; Allinger, N. L. *Reviews in Computational Chemistry* **1991**, 2
77. MM history: (a) Engler, E. M.; Andose, J. D.; Schleyer, P. von R. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 8005; (b) MM up to the end of **1976** is reviewed in detail in: Williams, J. E.; Stang, P. J.; Schleyer, P. von R. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1968**, 19, 531
78. (a) Field, M. J.; Bash, P. A.; Karplus, M.; *J. Comp. Chem.* **1990**, 11, 700; (b) Bash, P. A.; Field, M. J.; Karplus, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 8092
79. Hehre, W. J.; Radom, L.; Schleyer, R.; Pople, J. A. “*Ab initio* Molecular Orbital Theory”, Wiley, New York, **1986**
80. Halgren, T. A. *J. Comp. Chem.* **1996**, 17, 553
81. Nevins, N.; Allinger, N. L. *J. Comp. Chem.* **1996**, 17, 730
82. Leach, A. R. *Molecular modelling: principles and applications*; Pearson Education: Harlow **2001**
83. Deeth, R. J.; Anastasi, A.; Diedrich, C.; Randell, K. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 795
84. Burton, V. J.; Deeth, R. J.; Kemp, C. M.; Gilbert, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 8407
85. MacKerell, A. D.; Wiorkiewicz-Kuczera, J.; Karplus, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11946
86. Deeth, R. J. In *Computational Inorganic and Bioinorganic Chemistry*; 3rd ed., John Wiley & Sons: Chichester, **2009**
87. Deeth, R. J. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 212, 11
88. Deeth, R. J.; Fey, N.; Williams-Hubbard, B. *J. Comp. Chem.* **2005**, 26, 123
89. Deeth, R. J.; Anastasi, A. E.; Wilcockson, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 6876
90. Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L. *Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity*; 4th ed., Harper Collins: New York, **1993**
91. Figgis, B. N.; Hitchman, M. A. *Ligand field theory and its applications*, Wiley-VCH: New York **2000**

92. MOE, Molecular Operating Environment, 2011.10, Chemical Computing Group: Montreal, **2011**
93. Halgren, T. A. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 490
94. Halgren, T. A. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 520
95. Halgren, T. A.; Nachbar, R. B. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 587
96. Halgren, T. A. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 616
97. Pearlman, D. A.; Case, D. A.; Caldwell, J. W.; Ross, W. S.; Cheatham, T. E.; DeBolt, S.; Ferguson, D.; Seibel, G.; Kollman, P. *Comput. Phys. Commun.* **1995**, *91*, 1
98. Brooks, B. R.; Brucoleri, R. E.; Olafson, B. D.; States, D. J.; Swaminathan, S.; Karplus, M. *J. Comput. Chem.* **1983**, *4*, 187
99. Carloni, P.; Rothlisberger, U.; Parrinello, M. *Acc. Chem. Res* **2002**, *35*, 455
100. Deeth, R. J.; Diedrich, C. J. *Biol. Inorg. Chem.* **2010**, *15*, 117
101. Allen, M. P.; Tildesley, D. J. *Computer simulation of liquids*; Oxford University Press: Oxford, **1990**
102. Becker, O. M.; MacKerell, A. D. Jr.; Roux, B.; Watanabe, M. *Computational Biochemistry and Biophysics*; Eds. Marcel Dekker: New York, **2001**
103. Eckmann, J. P.; Ruelle, D. *Rev Mod Phys* **1985**, *57*, 617
104. Sugita, Y.; Okamoto, Y. *Chem Phys Letters* **1999**, *314*, 141
105. Dwyer, F.; Garvan, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 2955
106. Weyh, J. A.; Hamm, R. E. *Inorg. Chem.* **1968**, *7*, 2431
107. Докторска дисертација Весне Д. Милетић "Синтеза и молекулска структура никал(II) и бакар(II) комплекса са несиметричним лигандима едта-типа", Крагујевац, **2009**
108. Sheldrick, G. M. *SHELXL-97. Program for the Refinement of Crystal Structures*. University of Göttingen, Germany **1997**
109. Meetsma, A. *PLUTO. Molecular Graphics Program*. Version of February **2005**. University of Groningen, The Netherlands **2005**
110. Spek, A. L. *PLATON. Program for the Automated Analysis of Molecular Geometry (A Multipurpose Crystallographic Tool)*. Version of February **2006**. University of Utrecht, The Netherlands. Spek, A. L. *J. Appl. Cryst.* **2003**, *36*, 7
111. te Velde, G.; Bickelhaupt, F. M.; van Gisbergen, S. J.; Fonseca Guerra, C.; Baerends, E. J.; Snijders, J. G.; Ziegler, T. *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 931

112. Fonseca Guerra, C.; Snijders, J. G.; te Velde, G.; Baerends, E. *J. Theor. Chem. Acc.* **1998**, *99*, 391
113. ADF2007.01; SCM, Theoretical Chemistry, Vrije Universiteit: Amsterdam, The Netherlands, <http://www.scm.com>
114. Neese, F.; Becker, U.; Ganiouchine, D.; Koßmann, S.; Petrenko, T.; Riplinger, C.; Wennmohs, F. ORCA: Program version 2.9, ORCA 2.9.1, University of Bonn: Bonn, **2012**
115. Neese, F. *Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2012**, *2*, 73
116. Weigend, F. *Phys. Chem.* **2006**, *8*, 1057
117. Schaefer, A.; Horn, H.; Ahlrichs, R. *J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 2571
118. HyperChem (TM); Hypercube Inc.: Gainesville, FL, **2012**
119. Hocking, R. K.; Deeth, R. J.; Hambley, T. W. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 8238
120. Klamt, A.; Schüürmann, G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1993**, *2*, 799
121. Klamt, A. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 2224
122. Klamt, A.; Jones, V. *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 9972-9981
123. Gaussian 09, Revision D.01, Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, Jr. J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**
124. Weigend, F.; Ahlrichs, R. *Phys. Chem.* **2005**, *7*, 3297
125. Glendening, E. D.; Badenhop, J. K.; Reed, A. E.; Carpenter, J. E.; Bohmann, J. A.; Morales, C. M.; Weinhold, F. NBO 5.0; Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, Madison, WI, **2001**
126. Labute, P.; *J. Chem. Inf. Model.* **2010**, *50*, 792

127. Takahara, P. M.; Rosenzweig, A. C.; Frederick, C. A.; Lippard, S. J. *Nature* **1995**, *377*, 649
128. Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.;Goodsell, D. S.; Olson, A. J. *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2785
129. Forli, S.; Raccoon AutoDock VS: an automated tool for preparing AutoDock virtual Screenings Available from <http://autodock.scripps.edu/resources/raccoon>
130. Humphrey, W., Dalke, A.; Schulten, K. "VMD - Visual Molecular Dynamics", *J. Molec. Graphics*, **1996**, *14*, 33
131. Case, D.; Berryman, J.; Betz, R.; Cerutti, D.; Cheatham III, T.; Darden, T.; Duke, R.; Giese, T.; Gohlke, H.; Goetz, A.; Homeyer, N.; Izadi, S.; Janowski, P.; Kaus, J.; Kovalenko, A.; Lee, T.; LeGrand, S.; Li, P.; Luchko, T.; Luo, R.; Madej, B.; Merz, K.; Monard, G.; Needham, P.; Nguyen, H.; Nguyen, H.; Omelyan, I.; Onufriev, A.; Roe, D.; Roitberg, A.; Salomon-Ferrer, R.; Simmerling, C.; Smith, W.; Swails, J.; Walker, R.; Wang, J.; Wolf, R.; Wu, X.; York, D.; Kollman, P. AMBER 2015, University of California, San Francisco: **2015**
132. Götz, A. W.; Williamson, M. J.; Xu, D.; Poole, D.; Le Grand, S.; Walker, R. C. *J. of Chem. Theo. and Comp.* **2012**, *8*, 1542
133. Salomon-Ferrer, R.; Götz, A. W.; Poole, D.; Le Grand, S.; Walker, R. C. *J. of Chem. Theo. and Comp.* **2013**, *9*, 3878
134. Case, D.; Babin, V.; Berryman, J.; Betz, R.; Cai, Q.; Cerutti, D.; Cheatham III, T.; Darden, T.; Duke, R.; Gohlke, H.; Goetz, A.; Gusarov, S.; Homeyer, N.; Janowski, P.; Kaus, J.; Kolossváry, I.; Kovalenko, A.; Lee, T.; LeGrand, S.; Luchko, T.; Luo, R.; Madej, B.; Merz, K.; Paesani, F.; Roe, D.; Roitberg, A.; Sagui, C.; Salomon-Ferrer, R.; Seabra, G.; Simmerling, C.; Smith, W.; Swails, J.; Walker, R.; Wang, J.; Wolf, R.; Wu, X.; Kollman, P. *Amber 14*, University of California, San Francisco: **2014**
135. Li, Q.; Cheng, T.; Wang, Y.; Bryant, S. H. *Drug Discov. Today.* **2010**, *15*, 1052
136. Olsson, M. H.; Ryde, U. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123(32)*, 7866
137. Seminario, J. M. *Inter. J. of Quant. Chem.* **1996**, *60*, 1271
138. Besler, B. H.; Merz, K. M.; Kollman, P. A. *J. of Comput. Chem.* **1990**, *11*, 431
139. Wang, J.; Wang, W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. of Molec. Graph. and Modell.* **2006**, *25*, 247
140. Li, P.; Roberts, B. P.; Chakravorty, D. K.; Merz, K. M. *J. of Chem. Theo. and Comp.* **2013**, *9*, 2733

141. Wang, J.; Wolf, R. M.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. of Comp. Chem.* **2004**, *25*, 1157
142. Li, P.; Song, L. F.; Merz, K. M. *J. of Chem. Theo. and Comp.* **2015**, *11* 1645
143. Su, P. C.; Tsai, C. C.; Mehboob, S.; Hevener, K. E.; Johnson, M. E. *J. of Comp. Chem.* **2015**
144. Darden, T.; York, D.; Pedersen, L. *The J. of Chem. Phys.* **1993**, *98*, 10089
145. Cheatham III, T. E.; Miller, J. L.; Fox, T.; Darden, T. A.; Kollman, P. A. *J. of the Amer. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4193
146. Petersen, H. G. *The J. of Chem. Phys.* **1995**, *103*, 3668
147. Ryckaert, J. P.; Ciccotti, G.; Berendsen, H. J. *J. of Comp. Phys.* **1977**, *23*, 327
148. Miyamoto, S.; Kollman, P. A. *J. of Comp. Chem.* **1992**, *13*, 952
149. Berendsen, H. J.; Postma, J. P. M.; van Gunsteren, W. F.; DiNola, A.; Haak, J. *The J. of Chem. Phys.* **1984**, *81*, 3684
150. Onufriev, A.; Bashford, D.; Case, D. A. *J. Phys. Chem. B.* **2000**, *104* (15), 3712
151. Hawkins, G. D.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 19824
152. Sakagami, N.; Kaizaki, S. *Dalton Trans.* **1992**, *2*, 291
153. Addison, A.W. T.; Nageswara, R.; Reedijk, J.; van Rijn, J.; Verschoor, G.C. *Dalton Trans.* **1984**, *7*, 1349
154. Stephens, F. S. *J. Chem. Soc. A* **1969**, 1723
155. Hathaway, B. *J. Compr. Coord. Chem.* Pergamon, Oxford, **1987**
156. Nakamoto, K.; Morimoto, Y.; Martell, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 4528
157. Ćelap, M. B.; Niketić, S. R.; Janjić, T. J.; Nikolić, V. N. *Inorg. Chem.* **1967**, *6*, 2063
158. Busch, D. H.; Bailar, J. C. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4574
159. Morris, M. L.; Busch, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 5178
160. Lee, D. H., Narasimha, N. M.; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5785
161. Koch, W.; Holthausen, M. C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, **2001**
162. Ullrich, C. A. *J. Chem. Theo. Comp.* **2009**, *5*, 859
163. Holland, J. P.; Green, J. C. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31*, 1008
164. Gorelsky, S. I. AOMix: Program for Molecular Orbital Analysis, <http://www.sgchem.net/>, version X. X, **2013**

165. Pearl, G. M.; Zerner, M. C.; Broo, A.; Kelvey, J. Mc. *J. Comp. Chem.* **1998**, *19*, 781
166. Micera, G.; Sanna, D.; Dallochio, R.; Dessì, A. *J. Coord. Chem.* **1992**, *25*, 265
167. Sanna, D.; Ágoston, C. G.; Micera, G.; Sóvágó, I. *Polyhedron* **2001**, *20*, 3079
168. Yokoi, H.; Addison, A.W. *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 1341
169. Garribba, E.; Micera, G. *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 1229
170. Hathaway, B. J.; Billing, D. E. *Coord. Chem. Rev.* **1970**, *5*, 143
171. Ray, A.; Rizzoli, C.; Pilet, G.; Desplanches, C.; Garribba, E.; Rentschler, E.; Mitra, S. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, *20*, 2915
172. Pilbrow, J. R. *Transition Ion Electron Paramagnetic Resonance*, Vol. 95, Clarendon Press, Oxford, **1990**, pp. 1307
173. Kim, H.; Lange, J. *Phys. Rev. B* **1978**, *17*, 4207
174. Sorokin, P. P.; Gelles, I. L.; Smith, W. V. *Phys. Rev.* **1958**, *112*, 1513
175. Orton, J. W.; Auzins, P.; Griffiths, J. H. E.; Wertz, J. E. *Proc. Phys. Soc.* **1961**, *78*, 554
176. Napolitano, L. M. B.; Nascimento, O. R.; Cabaleiro, S.; Castro, J.; Calvo, R. *Phys. Rev. B* **2008**, *77*, 214423/1
177. Perec, M.; Baggio, R.; Sartoris, R. P.; Santana, R. C.; Peña, O.; Calvo, R. *Inorg. Chem.* **2009**, *49*, 695
178. Deeth, R. J.; Fey, N. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1840
179. Porai-Koshits, M. A.; Novozhilova, N. V.; Polynova, T. N.; Filippova, T. V.; Martynenko, L. I. *Kristallografiya* **1973**, *18*, 89
180. Rychlewska, U.; Radanović, D. D.; Dimitrijević, M. Đ.; Ristanović, D. M.; Vasojević, M. M.; Radanović, D. J. *Polyhedron* **2001**, *20*, 2523
181. Courtney, R. C.; Chaberek, S., Jr.; Martell, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4814
182. Sousa, S. F.; Pinto, G. R. P.; Ribeiro, A. J. M.; Coimbra, J. T. S.; Fernandes, P. A.; Ramos, M. J. *J. Comput. Chem.* **2013**, *34*, 2079
183. Tai, H. C.; Brodbeck, R.; Kasparikova, J.; Farrer, N. J.; Brabec, V.; Sadler, P. J.; Deeth, R. J. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 6830
184. Deeth, R. J.; Anastasi, A.; Randell, K. *Dalton Trans.* **2009**, 6007
185. Anastasi, A.; Deeth, R. J. *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, *5*, 2339
186. Comba, P.; Martin, B.; Sanyal, A. *J. Comput. Chem.* **2013**, *34*, 1598

187. Bentz, A.; Comba, P.; Deeth, R. J.; Kerscher, M.; Seibold, B.; Wadepohl, H. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 9518
188. Deeth, R. J. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 6711
189. Deeth, R. J.; Duer, M. J.; Gerloch, M. *Inorg. Chem.* **1987**, *26*, 2573
190. Comba, P.; Hambley, T. W.; Hitchman, M. A.; Stratemeier, H. *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 3903
191. Deeth, R. J.; Duer, M. J.; Gerloch, M. *Inorg. Chem.* **1987**, *26*, 2578
192. Deeth, R. J.; Hearnshaw, L. J. A. *Dalton Trans.* **2005**, 3638
193. Deeth, R. J.; Gerloch, M. *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 1754
194. Deeth, R. J.; Gerloch, M. *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 3846
195. Hitchman, M. A.; Cassidy, P. J. *Inorg. Chem.* **1979**, *18*, 1745
196. Deeth, R. J.; Hearnshaw, L. J. A. *Dalton Trans.* **2006**, 1092
197. Deeth, R. J. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 4492
198. Gazo, J.; Bersuker, I. B.; Garaj, J.; Kabesowa, M.; Kohout, B. J.; Langfelderova, V.; Melnik, M.; Serator, M.; Valach, F. *Coord. Chem. Rev.* **1976**, *19*, 253
199. Burton, V. J.; Deeth, R. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 573
200. Handley, C. M.; Deeth, R. J. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 194
201. Deeth, R. J.; Hitchman, M. A. *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 1225
202. Walshe, J. M. *Mov. Disord.* **1999**, *4*, 545
203. Hamza, I.; Faisst, A.; Prohaska, J.; Chen, J.; Gruss, P.; Gitlin, J. *PNAS* **2001**, *98*, 6848
204. Culotta, V.C.; Lin, S. J.; Schmidt, P.; Klomp, L.W.; Casareno, R. L.; Gitlin, J. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1999**, *448*, 247
205. Rosenzweig, A. C. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 119
206. Xiao, Z.; Brose, J.; Schimo, S.; Ackland, S. M.; La Fontaine, S.; Wedd, A. G. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 11047
207. Xiao, Z.; Wedd, A. G. *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 768
208. Xiao, Z.; Loughlin, F.; George, G. N.; Howlett, G. J.; Wedd, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3081
209. Zimmermann, M.; Clarke, O.; Gulbis, J. M.; Keizer, D. W.; Jarvis, R. S.; Cobbett, C. S.; Hinds, M. G.; Xiao, Z.; Wedd, A. G. *Biochemistry* **2009**, *48*, 11640
210. Hung, V. W. S.; Bressan, L. P.; Seo, K.; Kerman, K. *Electroanalysis*, **2015**, *27*, 2670

211. Vestergaard, M.; Kerman, K.; Saito, M.; Nagatani, N.; Takamura, Y.; Tamiya, E. *J. am. chem. soc.* **2005**, *127*, 11892
212. Bimolini Devi, A.; Rajen Singh, N.; Damayanti Devi, M. *J. Chem. Pharm. Res.* **2011**, *3*, 789
213. Pei-Fen, H.; Wan-Lun, C.; Po-Yu, C. *J. of the Chine. Chem. Soc.* **2010**, *57*, 244
214. Drissi-Daoudi, R.; Irhzo, A.; Darchen, A. *J. of App. Electrochem.* **2003**, *33*, 339
215. Suzuki, M.; Aoki, T. *Pediatric res.* **1994**, *35*, 598
216. Bataineh, H.; Al-Hamood, M. H.; Elbetieha, A. M. *Human & Exper. Toxicol.* **1998**, *17*, 570
217. Rao, M.S.; Dwivedi, R.S.; Subbarao, V.; Usman, M.I.; Scarpelli, D.C.; Nemali, M.R.; Yeldandi, A.; Thangada, S.; Kumar, S.; Reddy, J. K. *Biochem. and biophys. res. communic.* **1988**, *156*, 131
218. Rao, M. S.; Subbarao, V., Reddy, J. K. *Cell Differ.* **1986**, *18*, 109
219. Iorio, R.; D'Ambrosi, M.; Marcellini, M.; Barbera, C.; Maggiore, G.; Zancan, L. *J. of Ped. Gastro. and Nutr.* **2004**, *39*, 331
220. Korman, J. D.; Volenberg, I.; Balko, J.; Webster, J.; Schiodt, F. V.; Squires, R. H.; Jr.; Fontana, R. J.; Lee, W. M.; Schilsky, M. L. *Hepatology* **2008**, *48*, 1167
221. Arnon, R.; Calderon, J.; Schilsky, M.; Emre, S.; Shneider, B. *J. of Ped. Gastro. and Nutr.* **2007**, *44*, 596
222. Scheinberg, I. H., Gitlin, D. *Science* **1952**, *116*, 484
223. Markowitz, H.; Gubler, C. J.; Mahoney, J. P.; Cartwright, G. E.; Wintrobe, M. M. *J. Clin. Invest.* **1955**, *34*, 1498
224. Walshe, J. M. *Q. J. Med.* **2012**, *105*, 419
225. Domenico D'Andrea, L.; Romanelli, A.; Di Stasi, R.; Pedone, C. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 7625
226. Santona, A.; Irato, P.; Medici, V.; D'Inca, R.; Albergonia, V.; Sturniolob, G. C. *Biochim. et Biophys. Acta* **2003**, *1637*, 91
227. Goyer, R. A. *Ann. rev. nutr.* **1997**, *17*, 37
228. Peraza, M. A.; Ayala-Fierro, F.; Barber, D. S.; Casarez, E.; Rael, L. T. *Environ. health perspect.* **1998**, *106*, 203
229. Arnal, N.; Cristalli, D. O.; De Alaniz, M. J.; Marra, C. A. *Brain. Res.* **2010**, *1319*, 118

230. Hideko, S.; Mitsuaki, M.; Keiji, W.; Noritoshi, T.; Michio, M.; Takashi, S.; Minako, N. *Hepatology* **1996**, *23*, 764
231. Arredondo M, Nunez M. T. *Mol Aspects Med* **2005**, *26*, 313
232. Motoharu, T.; Masaaki, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2009**, *82*, 1258
233. Djurdjević, P.; Radanović, D.; Cvijović, M.; Dimitrijević, M.; Veselinović, D. *Polyhedron* **1992**, *11*, 197
234. Kasper, C.; Deutsch, H.; Beisert, H. *The J. of Biol. Chem.* **1963**, *238*, 2343
235. Bruenger, F. W.; Kuswik-Rabiega, G.; Miller. S. C. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 112
236. Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 525
237. Boal, A. K.; Rosenzweig, A. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14196
238. Lutsenko, S.; Gupta, A.; Burkhead, J. L.; Zuzel, V. *Arch. Biochem. Biophys.* **2008**, *476*, 22
239. Boal, A. K.; Rosenzweig, A. C. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4760
240. Bryan, T.; Holt, O.; Merz, K. M. Jr. *Biochemistry* **2007**, *46*, 8816



Марина Тендић рођена је 04. 03. 1985. године у Крагујевцу. Основну школу и средњу Прву техничку завршила је у Крагујевцу. На Природно-математички факултет у Крагујевцу, група Хемија, смер заштита животне средине, уписала се 2004/05. године, где је и дипломирала, октобра 2008. године, са просечном оценом 9.09. Дипломски рад под називом *”Синтеза и карактеризација комплекса бакра(II) са несиметричним пентадентатним диамино-трикарбоксилатним лигандима ед3а-типа”* одбранила је октобра 2008. године код професора др Зорана Д. Матовића са оценом 10. Докторске студије, смер Неорганска хемија, на Природно-математичком факултету у Крагујевцу уписала је школске 2008/09. Као одличан студент, од јануара 2009. године била је стипендиста Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије, а по истом основу од 2011. године има статус запосленог на Природно-математичком факултету у Крагујевцу уз финансирање из Фонда финансирања најбољих студената за остваривање задатака на пројектима Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије. Изабрана је у звање истраживач-приправник (Одлука бр. 250/V-1) 08. априла 2009. године, а (Одлука бр. 50/VI-4) 17. јануара 2013. године у звање истраживач-сарадник на Природно-математичком факултету у Крагујевцу. У звање истраживач-сарадник на Природно-математичком факултету у Крагујевцу је реизабрана 09. марта 2016. године (Одлука бр. 280/VIII-1). Ангажована је на пројекту ИИИ 41010 који финансира Министарство науке од 01. 01. 2011. У периоду од јануара до марта 2012. године Марина Тендић боравила је на Универзитету у Варику у Великој Британији у групи професора Роберт Дита.

СПИСАК ОБЈАВЉЕНИХ РАДОВА ИЗ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Објављени радови кандидата из дисертације у међународним часописима:

1. Zoran D. Matović, Vesna D. Miletić, **Marina Ćendić**, Auke Meetsma, Petra J. van Koningsbruggen, Robert J. Deeth

"Synthetic, Crystallographic and Computational Study of Copper(II) Complexes of Ethylenediaminetetracarboxylate Ligands" *Inorganic Chemistry*, 52 (3), 1238-1247 (2013) ISSN: 0020-1669, M21, if = 4.60

2. **Marina Ćendić**, Zoran D. Matović and Robert J. Deeth

"Molecular Modeling for Cu(II)-Aminopolycarboxylate Complexes: Structures, Conformational Energies and Ligand Binding Affinities" *Journal of Computational Chemistry*, 34 (31), 2687-2696 (2013) Online ISSN: 1096-987X, M21, if = 3.601

3. **Marina Ćendić**, Robert J. Deeth, Auke Meetsma, Eugenio Garribba, Daniele Sanna, Zoran D. Matović

"Chelating properties of EDTA-type ligands containing six-membered backbone ring toward copper ion: Structure, EPR and TD-DFT evaluation" *Polyhedron*, 124, 215-228 (2017) ISSN: 0277-5387, M22, if = 2.108

Остали радови кандидата објављени у међународним часописима:

Svetlana Belošević, **Marina Ćendić**, Zoran D. Matović, Auke Meetsma

"Crystal structure, configurational and DFT-NEDA analysis of nickel(II) complexes with pentadentate ed3a-type ligands" *Polyhedron*, 50, 473-480 (2013) ISSN: 0277-5387, M22, if = 2.057

Svetlana Belošević, **Marina Ćendić**, Maja Đukić, Miorad Vasojević, Auke Meetsma, Zoran D. Matović

"Crystal structure, configurational and density functional theory analysis of nickel(II) complexes with pentadentate 1,3-pd3a-type ligands" *Inorganica Chimica Acta*, 399, 146-153 (2013) ISSN: 0020-1693, M22, if = 1.846

Радови саопштени на међународним конференцијама (M34)

Z.D. Matović, V.D. Miletić, E.M. Mrkalić, **M.S. Ćendić**, G. Bogdanović, V. Kojić

"Molecular Modeling, Structure and Antitumor Activity of Pd(II) complexes with carboxylate derivates of oxalic and malonic acid diamides"

10th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 2010, Thessaloniki, Greece, p51 (Poster presentation PO-167)

Žižić J, Ćurčić M, Obradović A, Mrkalić E, Matović Z, **Ćendić M**, Djurdjević P, Živić D, Marković S.

"Evaluation of antiproliferative activity of new palladium complexes and mechanism of cell death on HCT-116 and MDA-MB-231 cell lines"

Scientific Conference with International Participation "Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research", Kragujevac 2011, p13. ISBN 978-86-7760-064-8

Zoran D. Matović, **Marina S. Ćendić**, Maja B. Đukić, Svetlana K. Belošević, Auke Meetsma, Petra J. van Koningsbruggen

"Synthesis and characterization of Nickel(II) complex with unsymmetrical pentadentate, H₃pd3a ligand"

FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE OF YOUNG CHEMISTS OF SERBIA, 2012, Belgrade, Serbia, p56 ISBN 978-86-7132-050-4

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

Радови саопштени на домаћим конференцијама (M64)

Marina Ćendić, Emina Mrkalić, dr Zoran Matović, mr Vesna Matović, dr Vesna Miletić

"Globalno zagrevanje i lokalni ekološki akcioni plan grada Kragujevca"

5. Nacionalna konferencija o kvalitetu života, 2010, Kragujevac, ISBN 978-86-86663-52-8
(<http://www.cqm.rs/2010/5.html>)

Z. Matović, V. Miletić, **M. Ćendić**, E. Mrkalić, P. van Koningsbruggen, A. Meetsma

"Structure and DFT analysis of complex $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Ni}(\text{ed3a})(\text{H}_2\text{O})]_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ "

XVII Konferencija srpskog kristalografskog društva, 2010, Ivanjica, p26,27. ISBN 978-86-6009-004-3

M. B. Đukić^a, **M. Ćendić**^a, Z. D. Matović^a, S. K. Belošević^b, O. Klisurić^c

"CRYSTAL STRUCTURE AND ANALYSIS OF COMPLEX *TRANS*(O₆)
 $[\text{Ba}(\text{H}_2\text{O})_4][\text{Ni}(\text{pddadp})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ "

21st CONFERENCE OF THE SERBIAN CRYSTALLOGRAPHIC SOCIETY, 2014. Užice, Serbia

M. B. Đukić^a, **M. Ćendić**^a, Z. D. Matović^a, O. Klisurić^b

"SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND CRYSTAL STRUCTURE OF COMPLEX
 $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Cl}_2(5\text{-MAPyCN-ITZ})] \cdot \text{H}_2\text{O}$ "

XXII Конференција СКД – 22nd *Conference of the SCS*, 2015. Smederevo, Serbia

Synthetic, Crystallographic, and Computational Study of Copper(II) Complexes of Ethylenediaminetetracarboxylate Ligands

Zoran D. Matović,^{*,†} Vesna D. Miletić,[†] Marina Ćendić,[†] Auke Meetsma,[‡] Petra J. van Koningsbruggen,[‡] and Robert J. Deeth^{*,§}

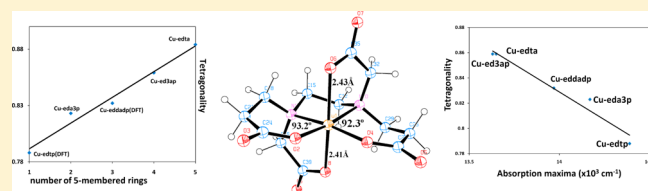
[†]Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Kragujevac SRB-34000, Serbia

[‡]Stratingh Institute for Chemistry and Chemical Engineering, University of Groningen, Nijenborgh 4, NL-9747 AG Groningen, The Netherlands

[§]Inorganic Computational Chemistry Group, Department of Chemistry, University of Warwick, Coventry CV4 7AL, U.K.

Supporting Information

ABSTRACT: Copper(II) complexes of hexadentate ethylenediaminetetracarboxylic acid type ligands H₄eda3p and H₄eddadp (H₄eda3p = ethylenediamine-*N*-acetic-*N,N',N'*-tri-3-propionic acid; H₄eddadp = ethylenediamine-*N,N'*-diacetic-*N,N'*-di-3-propionic acid) have been prepared. An octahedral trans(O₆) geometry (two propionate ligands coordinated in axial positions) has been established crystallographically for the Ba[Cu(eda3p)]·8H₂O compound, while Ba[Cu(eddadp)]·8H₂O is proposed to adopt a trans(O₅) geometry (two axial acetates) on the basis of density functional theory calculations and comparisons of IR and UV–vis spectral data. Experimental and computed structural data correlating similar copper(II) chelate complexes have been used to better understand the isomerism and departure from regular octahedral geometry within the series. The in-plane O–Cu–N chelate angles show the smallest deviation from the ideal octahedral value of 90°, and hence the lowest strain, for the eddadp complex with two equatorial β-propionate rings. A linear dependence between tetragonality and the number of five-membered rings has been established. A natural bonding orbital analysis of the series of complexes is also presented.



INTRODUCTION

A large and diverse set of ethylenediaminetetraacetic acid (H₄edta) and related chelates have been synthesized. Such aminopolycarboxylate ligands and/or their corresponding metal complexes have been used: as environmental protectors for the removal of heavy metals from soil and water,¹ as analytical reagents for determination of the concentration of many metal ions in biological and environmental matrixes,² for diagnostic X-ray and magnetic resonance imaging,³ and as bleaching agents in the photographic industry.⁴ A wealth of aminopolycarboxylate ligands and their corresponding metal (mostly iron) complexes have been investigated industrially for processing silver halide photographic light-sensitive material (Fuji, Konica, etc.).^{5,6} Some edta derivatives and their metal complexes have also been shown to be very promising as therapeutic superoxide dismutase mimetics.⁷ Our interest in edta-type ligands concerns their potential medicinal use for the treatment of Wilson's disease (WD).⁸

Over the past decade, our group has worked on the synthesis, structures, and biological/environmental activity of new edta derivatives and their metal complexes, particularly focusing on divalent metals such as copper(II) and nickel(II).^{9–14} Our interest in M^{II}edta-type complexes is related to their stereochemistry and to the study of the factors determining coordination numbers (CNs) and structural types. edta-type chelates have been prepared via several methods: by

condensation from neutralized α- or β-monohalogenocarboxylic acid and the corresponding diamine,^{14,15} by condensation of acrylic acid and diamine (to obtain chelates with propionate arms),¹⁶ and by condensation of dihalogen derivatives of diamine with diverse amino acids.¹⁷

Structural variations of the edta-type framework involve increasing the size or rigidity of the chains or omitting one or more of the carboxylate arms. Geometrical isomerism is possible for complexes of the hexadentate edta-type ligands where the carboxylate arms are replaced so as to form nonequivalent chelate rings.^{9,10} Structural parameters of the [M(edta)]ⁿ⁻ chelate systems show notable departures from regular octahedral coordination and imply that the system is strained.^{18–20} The equatorial chelate rings (G rings) and the diamine backbone ring (E ring) of the complex are more strained than the axially coordinated chelate rings (R rings). Another ligand displaces a G-ring donor more easily than an R ring,²¹ and as a consequence, in the case of copper(II), the pentadentate aminocarboxylate ligand coordination in [Cu(H₂edta)(H₂O)] has been well established.²² For the edta-type ligands having mixed (five- and six-membered) carboxylate arms, geometrical isomers are possible that differ in the number (0, 1, 2, or 3) of six-membered rings lying in the G plane. Such

Received: July 23, 2012

Molecular Modeling for Cu(II)-Aminopolycarboxylate Complexes: Structures, Conformational Energies, and Ligand Binding Affinities

Marina Ćendić,^[a] Zoran D. Matović,^[a] and Robert J. Deeth*^[b]

A ligand field molecular mechanics (LFMM) force field (FF) has been developed for d⁹ copper(II) complexes of aminopolycarboxylate ligands. Training data were derived from density functional theory (DFT) geometry optimizations of 14 complexes comprising potentially hexadentate N₂O₄, tetrasubstituted ethylenediamine (ed), and propylenediamine cores with various combinations of acetate and propionate side arms. The FF was validated against 13 experimental structures from X-ray crystallography including hexadentate N₂O₄ donors where the nitrogens donors are forced to be *cis* and bis-tridentate ONO ligands which generate complexes with *trans* nitrogen donors. Stochastic conformational searches for [Cu(ed(acetate)_n

(propionate)_{4-n}}]²⁻, *n* = 0–4, were carried out and the lowest conformers for each system reoptimized with DFT. In each case, both DFT and LFMM predict the same lowest-energy conformer and the structures and energies of the higher-energy conformers are also in satisfactory agreement. The relative interaction energies for *n* = 0, 2, and 4 computed by molecular mechanics correlate with the experimental log β binding affinities. Adding in the predicted log β values for *n* = 1 and 3 suggest for this set of complexes a monotonic decrease in log β as the number of propionate arms increases. © 2013 Wiley Periodicals, Inc.

DOI: 10.1002/jcc.23437

Introduction

Aminopolycarboxylates (APCs) are a diverse set of multidentate ligands capable of coordinating to a wide range of metal cations (Fig. 1, top). The archetypal ethylenediaminetetraacetic acid (H₄edta) is commonly used as a chelating agent,^[1] whereas this and other APCs are used to remove heavy metals from soil and water,^[2] in diagnostic X-ray and magnetic resonance imaging,^[3] and as bleaching agents in the photographic industry.^[4] Our interest spans the fundamental coordination chemistry of APCs^[5–8] through to their potential application for the treatment of various conditions such as Wilson's disease.^[9,10]

Wilson's disease is a neurological disorder linked to an excess of copper. Current treatments involve the administration of potential copper-binding agents such as penicillamine (Fig. 1, middle) or, for those who show an adverse reaction, trientine (Fig. 1, bottom).^[11] We are in the process of exploring whether APCs may be employed as effective alternative therapeutic agents.

Recently, we completed a combined experimental and theoretical study on a series of copper-APC complexes based on ethylenediamine with various combinations of acetate and propionate arms.^[9] Although this work was successfully able to correlate the experimental structural and spectroscopic data with density functional theory (DFT) calculations, it was clear that screening large numbers of potential ligands, plus carrying out comprehensive conformational searches, would make the use of DFT prohibitively expensive. Consequently, we turn to classical molecular mechanics (MM). Given the strongly Jahn–Teller-active Cu(II) center,^[12] we employ ligand field MM (LFMM)^[13] which automatically accounts for the significant stereoelectronic effects arising from the d⁹ configuration.^[14–24]

Here, we describe the construction and validation of a targeted LFMM force field (FF), as implemented in the molecular operating environment (MOE),^[25] designed to facilitate the screening of APC complexes based on an edta-like CuN₂O₄ coordination environment.

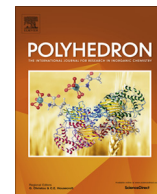
Computational Details

DFT calculations were carried out either using the Amsterdam density functional (ADF)^[26–28] or the ORCA^[29,30] program systems, versions 2012 and 2.9, respectively. The unrestricted Kohn–Sham method was employed for all the open-shell d⁹ copper complexes in conjunction with either the Becke–Perdew (BP86) or B3LYP functional, and either uncontracted Slater-type orbital bases for ADF (TZ2P), with small frozen cores, or Ahlrichs' all-electron Gaussian-type orbital bases for ORCA (def2-SVP or def2-TZVPP^[31]). We have previously demonstrated the importance of condensed-phase effects for obtaining good structures for transition metal complexes.^[32] These effects are incorporated here via the conductor-like screening model (COSMO)^[33–35] for aqueous solution as implemented in each package. For ADF calculations, a solvent radius of *r* = 1.9 Å and a dielectric

[a] M. Ćendić, Z. D. Matović
Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac,
Kragujevac, SRB-34000, Serbia

[b] R. J. Deeth
Department of Chemistry, Inorganic Computational Chemistry Group,
University of Warwick, Coventry, CV4 7AL, United Kingdom
E-mail: r.j.deeth@warwick.ac.uk
Contract/grant sponsor: Serbian Ministry of Education and Science
(Project III41010) (M.D. and Z.D.M.)

© 2013 Wiley Periodicals, Inc.



Chelating properties of EDTA-type ligands containing six-membered backbone ring toward copper ion: Structure, EPR and TD-DFT evaluation



Marina Ćendić^{a,*}, Robert J. Deeth^b, Auke Meetsma^c, Eugenio Garribba^d, Daniele Sanna^e, Zoran D. Matović^{a,*}

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

^b Department of Chemistry, Inorganic Computational Chemistry Group, University of Warwick, Coventry CV4 7AL, UK

^c Stratingh Institute for Chemistry and Chemical Engineering, University of Groningen, Nijenborgh 4, NL-9747 AG Groningen, Netherlands

^d Dipartimento di Chimica e Farmacia, Università di Sassari, Via Vienna 2, I-07100 Sassari, Italy

^e Istituto CNR di Chimica Biomolecolare, Trav. La Crucca 3, I-07040 Sassari, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 October 2016

Accepted 18 December 2016

Available online 28 December 2016

Keywords:

Copper(II)-aminopolycarboxylates

Syntheses

LFMM

EPR

TD-DFT

ABSTRACT

The P-APC ligands (EDTA-like aminopolycarboxylate ligands comprising 1,3-propanediamine backbone) H₄pdta, H₄pd3ap, H₄pddadp and H₄pdt (H₄pdta = 1,3-propanediamine-*N,N,N,N*-tetraacetic acid; H₄pd3ap = 1,3-propanediamine-*N,N,N'*-triacetic-*N'*-3-propionic acid; H₄pddadp = 1,3-propanediamine-*N,N'*-diacetic-*N,N'*-di-3-propionic acid; H₄pdt = 1,3-propanediaminetetra-3-propionic acid) were investigated. The chelating ligands coordinate to copper(II) via five or six donor atoms affording distorted trigonal-bipyramid and octahedral structures that were verified by X-ray analysis for Ba[Cu(pd3ap)]·6H₂O (**1**) and *trans*(O₆)-Ba[Cu(pddadp)]·8H₂O (**2**) complexes respectively. The impact of counter-ions on the P-APC complexes is shown in detail together with the analysis of another strain parameters. EPR spectral results confirm the penta-coordination of **1** and hexa-coordination of **2** in aqueous solution, even if several Cu(II) species with different protonation degree exist as a function of pH, and indicate that a hexa-coordinated structure is favored when the two axial COO⁻ donors close five-membered chelate rings. We also present here the results of molecular mechanics (LFMM) calculations based on our previously-developed force field along with results of DFT (Density Functional Theory). On the basis of extensive DFT and TD-DFT calculations the B1LYP/6-311++G(d,p) level has been seen as an accurate theory for calculating and predicting the UV-Vis spectra in case of copper-P-APC compounds.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

EDTA-like aminopolycarboxylate ligands have a remarkable ability to chelate transition metal ions. The most typical applications lie in: metal detoxification [1], treatment of HIV infection [2], diagnostic X-ray and magnetic resonance imaging [3] etc. Our interest in APC ligands concerns their potential medicinal use in the treatment of neural disorders (Wilson's and Alzheimer's disease) [4]. We are investigating influence of EDTA-like ligands on homeostasis of copper ion; so far we have obtained promising results from *in vivo* tests (the copper level has been monitored in the experimental rats treated with APCs) which indicate that EDTA-like ligands containing mixed carboxylate arms most dramatically inactivate copper ions (presumably copper(II) ion how-

ever not excluding copper(I)). Accordingly, it is of major importance to explore behavior of the copper(II) state with structurally different EDTA-like chelate molecules. Recently, we reported copper(II) complexes of E-APCs (EDTA-like aminopolycarboxylate ligands comprising ethylenediamine backbone) using structure [5] and theory [6] as a basis for research. In this paper, we combine both studies on a set of Cu(II)-P-APC (comprised 1,3-propanediamine backbone) complexes. A part of the present research (EPR based) includes both P-APC and E-APC classes of complexes with various combinations of acetate and propionate arms (Fig. 1). Thus, H₄eddadp (ethylenediamine-*N,N'*-diacetic-*N,N'*-dipropionic acid), H₄1,3-pddadp (1,3-propylenediamine-*N,N'*-diacetic-*N,N'*-dipropionic acid) are of potential interest. Although their copper(II) complexes have somewhat weaker stability constants than Cu(II)-edta, the work of Chaberek and co-workers [7] suggests that they are more selective toward the Cu(II) ion compared to other metals. However, it was clear that the acetate groups form more stable chelate structures than do β-propionate

* Corresponding authors.

E-mail addresses: marina.cendic@kg.ac.rs (M. Ćendić), zmatovic@kg.ac.rs (Z.D. Matović).

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Марина Ћендић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

ХЕЛАТАЦИОНЕ ОСОБИНЕ ЛИГАНАДА ЕДТА-ТИПА У ОДНОСУ НА БАКАР(II) - МОГУЋА ПРИМЕНА КОД НЕУРОТОКСИЧНИХ ПОРЕМЕЋАЈА

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 извршила 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, 03. 04. 2017. године.



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Марина Ћендић,

дозвољавам

не дозвољавам

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

ХЕЛАТАЦИОНЕ ОСОБИНЕ ЛИГАНАДА ЕДТА-ТИПА У ОДНОСУ НА БАКАР(II) - МОГУЋА ПРИМЕНА КОД НЕУРОТОКСИЧНИХ ПОРЕМЕЋАЈА

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

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

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

- 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, 03. 04. 2017. године.



потпис аутора

²Молимо 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/>