



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ**

**СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИСАЊЕ
И ПОТЕНЦИЈАЛНА БИОЛОШКА АКТИВНОСТ
КОМПЛЕКСА ПЛАТИНА(IV) И ПАЛАДИЈУМ(II) ЈОНА
СА ДЕРИВАТИМА
ЕТИЛЕНДИАМИН-*N,N'*-ДИ-(*S,S*)-(2,2'-ДИБЕНЗИЛ)АЦЕТАТО
ЛИГАНДА**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Мр Дејана П. Димитријевић

Крагујевац, 2014. год.

I Аутор

Име и презиме: Дејана П. Димитријевић

Датум и место рођења: 20. 08. 1975. , Крагујевац

Садашње запослење: Медицинска школа „Сестре Нинковић“, Крагујевац

II Докторска дисертација

Наслов: Синтеза, карактерисање и потенцијална биолошка активност комплекса платине(IV) и паладијума(II) јона са дериватима етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)ацетато лиганда

Број страница: 126 + 34

Број слика: 37

Број шема: 18

Број табела: 28

Број библиографских јединица: 184

Установа и место где је рад израђен: Природно-математички факултет, Крагујевац

Научна област (УКД): Хемија (54) - Неорганска хемија (546)

Ментор: проф. др Срећко Р. Трифуновић

III Оцена и одбрана

Датум пријаве тезе: 24.06.2013.год.

Комисија за оцену теме и подобности кандидата:

1. Др Срећко Р. Трифуновић, ред. професор ПМФ-а у Крагујевцу, Неорганска хемија
2. Др Тибор Ј. Сабо, ред. професор Хемијског факултета у Београду, Неорганска хемија
3. Др Зоран Д. Матовић, ред. професор ПМФ-а у Крагујевцу, Неорганска хемија
4. Др Гордана П. Радић, доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу, Хемија
5. Др Марија З. Миловановић, доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу, Микробиологија и имунологија

Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:

Комисија за преглед, оцену и одбрану дисертације:

1. Др Срећко Р. Трифуновић, ред. професор ПМФ-а у Крагујевцу, Неорганска хемија
2. Др Тибор Ј. Сабо, ред. професор Хемијског факултета у Београду, Неорганска хемија
3. Др Зоран Д. Матовић, ред. професор ПМФ-а у Крагујевцу, Неорганска хемија
4. Др Гордана П. Радић, доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу, Хемија
5. Др Марија З. Миловановић, доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу, Микробиологија и имунологија

Датум одбране дисертације:

Шему ове докторске дисертације предложио је професор др Срећко Ф. Трифуновић, редовни професор Природно-математичког факултета у Крагујевцу, који се несебично ангажовао током израде докторске дисертације и показао велико разумевање на чему му искрено захваљујем.

Члановима Комисије професорима др Тибору Сабоу, др Марији Миловановић, др Љиљани Чомић и др Зорану Матовићу, захваљујем на уложеном напору за побољшавање квалитета ове дисертације корисним саветима и сугестијама.

Пријатељима из лабораторије, посебно др Гордани Радић захваљујем на несебичној личној и професионалној помоћи, подршци и заједничком раду.

И на крају, породици хвала на љубави, као и на томе што су, као и увек, веровали у мене!

ИЗВОД

**СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИСАЊЕ И ПОТЕНЦИЈАЛНА
БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА ПЛАТИНА(IV) И
ПАЛАДИЈУМ(II) ЈОНА
СА ДЕРИВАТИМА ЕТИЛЕНДИАМИН-*N,N'*-ДИ-(*S,S*)-
-(2,2'-ДИБЕНЗИЛ)АЦЕТАТО ЛИГАНДА**

У овој Докторској дисертацији је описана синтеза и карактеризација (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине као и естара типа *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата ($R =$ пропил-, бутил-) у намери да се добију 1,3-пропандиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-2-пропанска киселина, $(H_2-(S,S)-pddp)$ и *O,O'*-диалкил естара тетраденатног лиганда 1,3-пропандиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-2-пропанске киселине, $R_2-(S,S)-pddp$). Естри *O*-алкил-*N*-(3-хлоро-пропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата добијени су директном реакцијом између (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил) пропанске киселине и одговарајућег апсолутног алкохола (1-пропанол, 1-бутанол) у молском односу 1:2, уз увођење гасовитог хлороводоника.

Потом је синтетисана етилендиамин-*N,N'*-ди-*S,S*-(2,2'-добензил)етанска киселина трихидрат, $H_2-(S,S)-eddba \cdot 3H_2O$. На претходно описан начин синтетисани су *O,O'*-диалкил естри етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етанске киселине као дихлорхидрати, $R_2-(S,S)-eddba \cdot 2HCl$ ($R =$ етил-, пропил-, бутил- и пентил-).

Структуре и састав изолованих лиганата претпостављене су применом елементарне микроанализе, инфрацрвене, 1H и ^{13}C NMR спектроскопије, а потврђене на бази резултата рендгенске структурне анализе у случају: (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине, *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-

-аланината и *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината као монохлорхидрати, и *O,O'*-дипропил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноат као трихидрата, $H_2-(S,S)\text{eddba} \cdot 3H_2O$.

Добијени *O,O'*-диалкил естри етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етанске киселине су употребљени за синтезу одговарајућих комплекса платине(IV) и паладијума(II). Састав добијених комплекса платине(IV), $[PtCl_4(R_2-(S,S)\text{eddba})]$ и паладијума(II), $[PdCl_2(R_2-(S,S)\text{eddba})]$ потврђени су елементалном микроанализом. Структура изолованих комплекса потврђена је на основу инфрацрвене, 1H и ^{13}C NMR спектроскопије.

In vitro антитуморска активност комплекса платине(IV) са тетрадентатним лигандима (са наведеним *O,O'*-диалкил естрима $H_2-(S,S)\text{eddba}$) одређивана је на ћелијама ССL у периоду од 72 сата коришћењем МТТ технике. Закључак је да комплекси показују јак цитотоксични ефекат. Цитотоксични ефекти свих комплекса су дозно-зависни и сви испитивани комплекси су показали знатно већи цитотоксични ефекат на CLL ћелије од цисплатине.

In vitro антимикуробна активност синтетисаних лиганата и одговарајућих комплекса паладијума(II) тестирана је одређивањем минималних инхибиторских (МИК) и минималних бактерицидних концентрација (МВС). Ове супстанце у поређењу са позитивним контролама, показале су ниско антибактеријско деловање. Антибактеријско деловање комплекса је било израженије на грам позитивне бактерије, а знатно мање на грам негативне бактерије. Најсензитивнија била је бактерија врсте *Enterococcus faecalis*, Лиганди су показали слабо деловање на грам негативне бактерије посебно на врсту *Proteus vulgaris*.

Кључне речи: $H_2-(S,S)\text{-pddp}$ киселина, $R_2-(S,S)\text{-pddp}$ лиганди, $H_2-(S,S)\text{eddba} \cdot 3H_2O$, $R_2-(S,S)\text{eddba} \cdot 2HCl$ лиганди, платина(IV) комплекси и паладијум(II) комплекси, инфрацрвена и NMR спектроскопија, рендгенска структурна анализа, антимикуробна активност, антитуморска активност.

SUMMARY

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND POTENTIAL BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE COMPLEXES OF PLATINUM(IV) AND PALLADIUM(II) IONS WITH A DERIVATIVE OF ETHYLENDIAMINE-*N,N'*-DI-(*S,S*)-(2,2'-DIBENZYL) ACETATE LIGAND

In this Work, the synthesis and characterization of the compounds (2*S*)-2-(2-oxo-1,3-oxazinan-3-yl)propionic acid and esters of type *O*-alkyl-*N*-(3-chloro-propyl)-(2*S*)-alaninate monohlorhydrate (R = propyl-, butyl-) in order to obtain 1,3-propanediamine-*N,N'*-ди-(*S,S*)-2-propanoic acid, (H₂-(*S,S*)-pddp) and *O,O'*-dialkyl esters with tetradentate ligand of 1,3-propanediamine-*N,N'*-di-(*S,S*)-2-propanoic acid, (R₂-(*S,S*)-pddp). Esters of *O*-alkyl-*N*-(3-chloropropyl)-(2*S*)-alaninate monohlorhydrate obtained by the direct reaction between (2*S*)-2-(2-oxo-1,3-oxazinan-3-yl)propionic acid and the corresponding absolute alcohol (1-propanol, 1-butanol) in the molar ratio 1:2, with the addition of gaseous hydrogenchloride.

Then, the synthesized ethylenediamine-*N,N'*-di-(*S,S*)-(2,2'-dibenzyl) ethanoic acid trihydrate, H₂-(*S,S*)-eddba·3H₂O. As described above were synthesized by the *O,O'*-dialkyl esters of ethylenediamine-*N,N'*-di-(*S,S*)-(2,2'-dibenzyl)ethanoic acid as the dihydrochloride, R₂-(*S,S*)-eddba·2HCl (R = ethyl-, propyl-, butyl- and pentyl-).

Structure and composition of the isolated ligands were assumed using by elemental microanalysis, IR, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy, and confirmed by X-ray diffraction analysis in the case (2*S*)-2-(2-okso-1,3-oksazynan-3-yl)propanoic acid, *O*-alkyl-*N*-(3-chloropropyl)-(2*S*)-alaninate monochlorohydrate, and *O,O'*-dipropyl-ethylen dianine-*N,N'*-di-(*S,S*)-(2,2'-dibenzyl)etanoate threehydrate, H₂-(*S,S*)eddba·3H₂O.

The obtained ligands *O,O'*-dialkyl esters of ethylenediamine-*N,N'*-di-(*S,S*)-(2,2'-dibenzyl)etanoic acid were used for synthesis of the corresponding platinum(IV) and palladium(II) complexes. The composition of obtained platinum(IV), [PtCl₄(R₂-(*S,S*)-eddba)] and palladium(II) complexes, [PdCl₂(R₂-*S,S*-eddba)] was confirmed by elemental microanalysis. The structure of isolated complexes is assumed on basis of infrared, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy.

In vitro antitumor activity of platinum complex (IV) with tetradentate ligands (with the above *O,O'*-dialkyl esters of H₂-(*S,S*)-eddba) was determined on cells of CCL for a period of 72 hours by using the MTT techniques. The conclusion is that the complexes show strong cytotoxic effect. Cytotoxic effects of the complex are dose-dependent, and all tested complexes showed much higher cytotoxic effect on CLL cells by cisplatin.

The *in vitro* antimicrobial activity of the synthesized ligands and the corresponding complexes of palladium (II) was tested by determination of minimal inhibitory (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). These substances when compared to the positive controls, showed high antibacterial activity. The antibacterial activity of the complex was more pronounced in the gram-positive bacteria and much less of the gram-negative bacteria. Was the most sensitive species of bacteria *Enterococcus faecalis*. Ligands showed weak activity against gram-negative bacteria in particular of the type of *Proteus vulgaris*.

Keywords: H₂-(*S,S*)-pddp, R₂-(*S,S*)-pddp ligands, H₂-(*S,S*)-eddba·3H₂O, R₂-(*S,S*)-eddba·2HCl ligands, , platinum(IV) and palladium(II) complexes, infrared and NMR spectroscopy, X-ray structural analysis, antimicrobial activity, antitumor activity.

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ОПШТИ ДЕО	3
2.1. ЛИГАНДИ EDDA-ТИПА И ЊИХОВИ КОМПЛЕКСИ ПЛАТИНЕ(IV) И ПАЛАДИЈУМА(II)	4
2.1.1. Структура тетрадентатних лиганада EDDA-типа.....	4
2.1.2. Изомерија комплекса платина(II,IV) и паладијум(II) јона са лигандима EDDA-типа.....	6
2.1.3. Комплекси платине(II,IV) и паладијума(II) који садрже тетрадентатне лиганде EDDA-типа	9
2.2. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА НЕКИХ ПРЕЛАЗНИХ МЕТАЛА	18
2.2.1. Антитуморска активност комплекса платине.....	18
2.2.2. Механизам дејства цисплатине.....	21
2.2.3. Развој нових антитуморских лекова.....	24
2.2.4. Цитотоксичност комплекса платине(IV) са edda- и R ₂ edda-типом лиганада.....	27
2.2.5. Антимикробна активност комплекса паладијума(II).....	32
2.2.6. Механизми дејства антимикробних једињења.....	35
2.2.7. Развој нових антимикробних једињења.....	38
2.3. МЕТОДЕ ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ СТРУКТУРЕ КОМПЛЕКСА МЕТАЛА СА ЛИГАНДИМА EDDA-ТИПА	41
2.3.1. Нуклеарно-магнетно-резонанциона спектроскопија.....	41
2.3.2. Инфрацрвена спектроскопија.....	42
2.4. Циљ и задатак докторске дисертације	43

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО.....	45
3.1. СИНТЕЗЕ ЛИГАНДА.....	46
3.1.1. Синтеза (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	46
3.1.2. Синтеза <i>O</i> -алкил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	46
3.1.3. Синтеза етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди- <i>S,S</i> -(2,2'-добензил)етанске киселине трихидрата, H ₂ -(<i>S,S</i>)-eddba·3H ₂ O.....	47
3.1.4. Синтеза <i>O,O'</i> -диалкил естара етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-(2,2'-добензил)етанске киселине дихлорхидрата, R ₂ -(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L1-L4).....	48
3.2. СИНТЕЗЕ КОМПЛЕКСА.....	49
3.2.1. Синтеза тетрахлоро-(<i>O,O'</i> -диалкил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-(2,2'-добензил)етаноат)-платина(IV), [PtCl ₄ (R ₂ -(<i>S,S</i>)-eddba)] (C1- C4).....	49
3.2.2. Синтеза дихлоро-(<i>O,O'</i> -диалкил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-(2,2'-добензил)етаноата)-паладијум(II), [PdCl ₂ (R ₂ -(<i>S,S</i>)-eddba)], (C'1- C'4).....	51
3.3. МЕРЕЊА.....	52
3.3.1. Елементална микроанализа анализа.....	52
3.3.2. ¹ H и ¹³ C нуклеарно-магнетно-резонанциона спектроскопија	52
3.3.3. Инфрацрвена спектроскопија.....	53
3.3.4. Рендгенска структурна анализа.....	53
3.3.4.1. Рендгенска структурна анализа (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	53
3.3.4.2. Рендгенска структурна анализа <i>O</i> -пропил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата...	54
3.3.4.3. Рендгенска структурна анализа <i>O</i> -бутил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата....	55
3.3.4.4. Рендгенска структурна анализа <i>O,O'</i> -дипропил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-(2,2'-добензил)ета – ноат дихлорхидрат, dpr-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L2).....	56

3.4.	БИОЛОШКА МЕРЕЊА.....	57
3.4.1.	Антитуморска активност.....	57
3.4.1.1.	Ћелијска линија.....	57
3.4.1.2.	Припремање раствора лекова.....	58
3.4.1.3.	Третман ћелијских линија.....	58
3.4.1.4.	МТТ тест.....	58
3.4.2.	Антимикробна активност.....	59
3.4.2.1.	Антибиотици.....	59
3.4.2.2.	Микроорганизми.....	60
3.4.2.3.	Припрема бактеријске суспензије (McFarland 0,5).....	60
3.4.2.4.	Бујон микродилуциона метода.....	61
4.	РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	64
4.1.	(2<i>S</i>)-2-(2-ОКСО-1,3-ОКСАЗИНАН-3-ИЛ)ПРОПАНСКА КИСЕЛИ- - НА.....	65
4.1.1.	Структура (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	65
4.1.2.	Инфрацрвени спектар (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил) пропанске киселине.....	66
4.1.3.	Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо- -1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	67
4.1.4.	Кристална структура структурна (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-окса – -зинан-3-ил)пропанске киселине.....	68
4.2.	ЕСТРИ <i>O</i>-АЛКИЛ-<i>N</i>-(3-ХЛОРОПРОПИЛ)-(2<i>S</i>)-АЛАНИНАТА МОНОХЛОРХИДРАТА.....	70
4.2.1.	Синтеза естара <i>O</i> -алкил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	70
4.2.2.	Инфрацрвени спектри естара <i>O</i> -алкил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)- -(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	72
4.2.3.	Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри за <i>O</i> -алкил- <i>N</i> - -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	72

4.2.4.	Кристалне структуре <i>O</i> -алкил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)- -аланината монохлорхидрата.....	74
4.2.4.1.	Кристална структура <i>O</i> -пропил- <i>N</i> -(3-хлоро- -пропил) -(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	74
4.2.4.2.	Кристална структура <i>O</i> -бутил- <i>N</i> -(3-хлоро – -пропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	75
4.3.	ЕТИЛЕНДИАМИН-<i>N,N'</i>-ДИ-(<i>S,S</i>)-(2,2'-ДИБЕНЗИЛ) ЕТАНСКА КИСЕЛИНА И ЊЕНИ ЕСТРИ (ЛИГАНДИ).....	78
4.3.1.	Синтеза етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-(2,2'-дибензил)- етанске киселине, $H_2-(S,S)-eddba \cdot 3H_2O$	78
4.3.2.	Синтеза <i>O,O'</i> -диалкил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>) -(2,2' - -дибензил)ацетата дихлорхидрата, $R_2-(S,S)-$ $eddba \cdot 2HCl$	79
4.3.3.	Инфрацрвени спектри етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-(2,2'- -дибензил)етанске киселине, $H_2-(S,S)-eddba \cdot 3H_2O$, и одговарајућих <i>O,O'</i> -диалкил естара, $R_2-(S,S)-eddba \cdot 2HCl$	80
4.3.4.	Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри етилендиамин- - <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-(2,2'-дибензил)етанске киселине, $H_2-(S,S)-$ $eddba \cdot 3H_2O$, и одговарајућих <i>O,O'</i> -диалкил естара, $R_2-(S,S)-$ $eddba \cdot 2HCl$	81
4.3.5.	Кристална структурна <i>O,O'</i> -дипропил-етилендиамин- - <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>) -(2,2' –дибензил)ацетата дихлорида, $dpr-(S,S)-$ $eddba \cdot 2HCl$ (L2).....	84
4.4.	КОМПЛЕКСИ ПЛАТИНЕ(IV) И ПАЛАДИЈУМА(II) СА АЛКИЛ ЕСТРИМА ЕТИЛЕНДИАМИН-<i>N,N'</i>-ДИ-(<i>S,S</i>)-(2,2'-ДИБЕНЗИЛ) – -ЕТАНСКЕ КИСЕЛИНЕ, $[PtCl_4(R_2-(S,S)-eddba)]$ и $[PdCl_2(R_2-(S,S)-$ $eddba)]$.....	87
4.4.1.	Синтеза комплекса.....	87
4.4.2.	Инфрацрвени спектри комплекса.....	88
4.4.3.	Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри комплекса.....	89

4.5.	БИОЛОШКА АКТИВНОСТ ПЛАТИНЕ(IV) И ПАЛАДИЈУМА(II)	
	КОМПЛЕКСА.....	94
4.5.1.	<i>In vitro</i> антитуморска активност платине(IV) комплекса.....	94
4.5.2.	Антимикробна активност лиганда и њихових паладијум(II) комплекса.....	95
5.	ЗАКЉУЧАК.....	101
6.	ЛИТЕРАТУРА.....	104
7.	БИОГРАФИЈА.....	116
8.	НАУЧНИ РАДОВИ.....	120
9.	ПРИЛОГ.....	126

СПИСАК СЛИКА

Слика 1.	Структура етилендиамин-тетраацетато (edta) и етилендиамин- - <i>N,N'</i> -диацетато (edda) лиганда.....	4
Слика 2.	Могући геометријски изомери октаедарских комплекса прелазних метала са лигандима edda-типа и два монодентатна лиганда.....	7
Слика 3.	Могући геометријски изомери октаедарских комплекса прелазних метала са лигандима edda-типа и додатним: (а) симетричним, (б) несиметричним и(в) <i>N,O</i> -несиметричним бидентатним лигандима.....	8
Слика 4.	Ознаке хелатних прстенова у комплексима који садрже: а) edta и б) edda лиганда.....	9
Слика 5.	ORTEP презентација структуре платина(IV)-edda комплекса.....	12
Слика 6.	Diamond презентација структуре Pt(IV) комплекса са Me ₂ edda (I) и Et ₂ edda (II).....	13
Слика 7.	Могући стереоизомери [PtCl _n (R ₂ edda-типа)], (n = 2, 4) и [PdCl ₂ (R ₂ edda-типа)] комплекса.....	14
Слика 8.	Структуре одређене на бази DFT прорачуна за [PtCl _n (Et ₂ edda)] комплекс (a, b: n = 4; c, d: n = 2).....	14
Слика 9.	ORTEP презентација структуре комплекса паладијума(II) са тетраетил(I) и тетраметил(II) естрима EDTA.....	16
Слика 10.	ORTEP презентација [PdCl{(S,S)-iPreddip}].....	18
Слика 11.	Структура <i>cis</i> -диаминдихлоридоплатина(II) комплекса, познатијег као цисплатина, <i>cis</i> -DDP.....	19
Слика 12.	Структура диамин[1,1-циклобутандикарбоксилато(2)]- <i>O,O'</i> - платина(II) комплекса, карбоплатина.....	20
Слика 13.	Структура (I) <i>cis</i> -диаминциклохексаноксалатоплатина(II), оксалиплатин и (II) <i>cis</i> -диамин(гликолато- <i>O,O'</i>)платина(II), недаплатин.....	20
Слика 14.	Структура (I) <i>cis</i> -диаминдихлоридопаладијум(II), <i>cis</i> - -[PdCl ₂ (NH ₃) ₂]; (II) <i>cis</i> -1,2-диаминциклохександихлоридо- -паладијум (II), <i>cis</i> -[PdCl ₂ (DACH)].....	25
Слика 15.	Комплекс паладијума(II) са дериватом кумарина, активнији приближно 7800 пута од карбоплатине.....	26
Слика 16.	Комплекси Pt(IV) и Pt(II) са R ₂ edda-типом лиганда.....	30

Слика 17.	Адаптациони механизам за заштиту ћелије од токсичних ефеката липофилних једињења: (I) реструктурирање фосфолипидног двослоја променом конформације фосфолипида из <i>cis</i> у <i>trans</i> , или променом масних киселина у zasiћену форму; (II) Модификација липополисахарида у спољашњем омотачу грам-негативних бактерија; (III) повећање повезаности конституената ћелијског зида и/или промене у његовој хидрофилности; (IV) повећање хидрофилности S-слоја; (V) активна екскреција из ћелије.....	34
Слика 18.	Потенцијална места на бактеријској ћелији за дејство антимикуробних супстанци	35
Слика 19.	Грађа омотача грам-негативних и грам-позитивних бактерија.....	36
Слика 20.	Паладијум(II)-јон координан за антибиотике из групе тетрациклина.....	39
Слика 21.	Паладијум(II) комплекс са флуорохинолином као лигандом.....	40
Слика 22.	Паладијум(II) комплекс са флуорохинолином као лигандом.....	41
Слика 23.	Кристална структура (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	68
Слика 24.	Начин паковања (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине молекула дуж <i>ac</i> осе.....	70
Слика 25.	Кристална структура <i>O</i> -пропил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	74
Слика 26.	Кристална структура <i>бутил-N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	76
Слика 27.	Начин паковања <i>O</i> -бутил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата молекула и кристалу дуж <i>b</i> осе.....	78
Слика 28.	Кристална структура <i>dpr</i> -(<i>S,S</i>)- <i>H</i> ₂ <i>eddba</i> ·2 <i>HCl</i>	84
Слика 29.	Начин паковања <i>dpr</i> -(<i>S,S</i>)- <i>H</i> ₂ <i>eddba</i> ·2 <i>HCl</i> молекула дуж <i>a</i> осе.....	86
Слика 30.	Могући дијастереоизомери комплекса [PdCl ₂ (R ₂ -(<i>S,S</i>)- <i>eddba</i>)], R = <i>et</i> -, <i>pr</i> -, <i>bu</i> - и <i>re</i> -.....	93
Слика 31.	График представља преживеле CLL ћелије после 24 часа у току ћелијског раста у присуству платинских комплекса C1 -C3.....	94
Слика 32.	Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876.....	97
Слика 33.	Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	98
Слика 34.	Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	98
Слика 35.	Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	99

Слика 36.	Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.....	99
Слика 37.	Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте <i>Proteus vulgaris</i> клинички сој.....	100

СПИСАК ШЕМА

Шема 1.	Општа шема синтезе edda-типа лиганда по Берсворту.....	6
Шема 2.	Методе синтеза <i>O, O'</i> -диалкил естра H_2 -edda типа лиганда.....	6
Шема 3.	Синтеза платина(II) и платина(IV) edda комплекса.....	11
Шема 4.	Синтеза комплекса платине(IV) са R_2 eddp-лигандима.....	15
Шема 5.	Синтеза комплекса паладијума(II) са тетраметил и тетраетил естрима EDTA.....	16
Шема 6.	Реакција добијања два комплекса паладијума(II) са [(<i>S, S</i>)- H_2 – -iPr ₂ eddip]Cl ₂	17
Шема 7.	Шематски приказ смрти ћелије апоптозом и некрозом	21
Шема 8.	Пут лека.....	22
Шема 9.	Хидролиза и грађење ДНК-цисплатина адукта.....	24
Шема 10.	Шематски приказ 1 микротитар плоче и распореда испитиваних супстанци по бојама за један сој бактерија (принципијелна шема).....	62
Шема 11.	Реакциони поступак по коме смо очекували добијање 1,3-пропан- диамин - <i>N, N'</i> -ди-(<i>S, S</i>)-2-пропанске киселине.....	65
Шема 12.	Добијање (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине	66
Шема 13.	Добијања очекиваних естара (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил) пропанске киселине	71
Шема 14.	Синтеза <i>O</i> -алкил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлор- -хида.....	71
Шема 15.	Реакциона шема добијања етилендиамин- <i>N, N'</i> -ди-(<i>S, S</i>)-(2,2'- -дибензил етанске киселине трихидрата, H_2 - <i>S, S</i> -eddba·3H ₂ O.....	79
Шема 16.	Реакциона шема добијања <i>O, O'</i> -диалкил-етилендиамин- <i>N, N'</i> -ди- -(<i>S, S</i>)-(2,2' –дибензил)ацетата дихлорида, R_2 - <i>S, S</i> -eddba·2HCl.....	80
Шема 17.	Добијање тетрахлоридо(<i>O, O'</i> -диалкил-етилендиамин- <i>N, N'</i> -ди- -(<i>S, S</i>)-(2,2' -дибензил)ацетат)-платина(IV), [PtCl ₄ (R ₂ -(<i>S, S</i>)-eddba)]...	87
Шема 18.	Добијање дихлоридо(<i>O, O'</i> -диалкил-етилендиамин- <i>N, N'</i> -ди-(<i>S, S</i>)- (2,2' -дибензил)ацетат)-платина(II)), [PdCl ₂ (R ₂ -(<i>S, S</i>)-eddba)].....	88

СПИСАК ТАБЕЛА

Табела 1.	Неки тетрадентатни лиганди edda-типа.....	5
Табела 2.	IC ₅₀ (μM) ^a вредности испитиваних једињења на HeLa ћелијама одређене МТТ тестом (72 х) и на A2780/A2780cisPt ћелијама SRB тестом (76 х), [8,10].....	28
Табела 3.	IC ₅₀ (μM) ^a на HeLa, K562 ћелијама, на РВМС и РВМС стимулираних са РНА, одређене МТТ тестом (72 h), за [PtX ₄ (R ₂ eddp)] (X = Cl, Br, I) и за цисплатину.....	29
Табела 4.	IC ₅₀ вредности [μM] за Et ₂ eddp, Pr ₂ eddp, [PtCl ₄ (Et ₂ eddp)], [PtCl ₄ (Pr ₂ eddp)] и цисплатину.....	31
Табела 5.	Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	53
Табела 6.	Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре комплекса <i>O</i> -пропил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	54
Табела 7.	Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре бутил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	55
Табела 8.	Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре комплекса dpr-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl.....	56
Табела 9.	Важније траке у IR спектру (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине (cm ⁻¹).....	66
Табела 10.	Вредности хемијских померања (δ ppm) у ¹ H NMR и ¹³ C NMR спектрима(2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	67
Табела 11.	Одабране дужине веза (Å) и углови веза (°) у молекулу (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	69
Табела 12.	Дужина (Å) и угао (°) интрамолекулске водоничне везе у кристалу (2 <i>S</i>)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.....	69
Табела 13.	Важније траке у IR спектру <i>O</i> -алкил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрат (у cm ⁻¹).....	72
Табела 14.	Вредност хемијских померања (δ ppm) у ¹ H NMR и ¹³ C NMR спектру <i>O</i> -алкил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	73
Табела 15.	Одабране дужине веза (Å) и углови веза (°) у молекулу <i>O</i> -пропил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	75
Табела 16.	Дужина водоничне везе и угао (Å и °) у кристалу <i>O</i> -пропил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	75
Табела 17.	Одабране дужине веза (Å) и углови веза (°) у кристалу <i>O</i> -бутил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	77

Табела 18.	Дужина водоничних веза и углова (\AA и $^\circ$) у кристалу <i>O</i> -бутил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрата.....	77
Табела 19.	Важније траке у IR спектру за $\text{H}_2\text{-}S,S\text{-eddba}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ и $\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba}\cdot 2\text{HCl}$ (у cm^{-1}).....	81
Табела 20.	Хемијских померања (δ ppm) у ^1H NMR и ^{13}C NMR спектру за лиганде.....	83
Табела 21.	Одабране дужине (\AA) и углови веза ($^\circ$) у молекулу $\text{dpr-}(S,S)\text{-H}_2\text{eddba}\cdot 2\text{HCl}$	85
Табела 22.	Дужина водоничних веза и углова (\AA и $^\circ$) у кристалу $\text{dpr-}(S,S)\text{-H}_2\text{eddba}\cdot 2\text{HCl}$	86
Табела 23.	Важније траке у IR спектрима за $[\text{PtCl}_4(\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba})]$ и $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba})]$ комплексе (у cm^{-1})	89
Табела 24.	Хемијска померања у ^1H и ^{13}C NMR спектрима $[\text{PtCl}_4(\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba})]$ комплекса.....	91
Табела 25.	Хемијска померања ^1H и ^{13}C NMR спектрима за $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba})]$ комплексе.....	92
Табела 26.	IC_{50} вредности после 24 часа истраживања платине(IV) комплекса на CLL ћелије од МТТ теста.....	95
Табела 27.	Антибактеријско деловање лиганада и њихових паладијум(II) комплекса.....	96
Табела 28.	Антибактеријско деловање позитивних контрола - <i>vankomicin</i> и <i>ceftri- akson</i>	97

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

Координациона хемија комплексних једињења са полидентатним лигандима edda типа и другим лигандима координованих преко amino и карбоксилних група је интересантна, како због фундаменталног значаја тако и с аспекта њихове примене у медицини.

Паладијум је прелазни метал који припада платинској групи метала. У природи га има у јако малим количинама и то у комбинацији са другим елементима платинске групе. Као и јони осталих прелазних метала и паладијум(II) јон гради комплексна једињења. Комплекси платине и паладијума поседују велику примену у медицини и индустрији, због тога се ова једињења интензивно изучавају већ дужи низ година. Платина се у комплексима јавља у оксидационим стањима +2 и +4, док се паладијум најчешће јавља у оксидационом стању +2. Ретко се јавља у оксидационом стању +4, јер су једињења са овим оксидационим стањем паладијума врло нестабилна. Хемијске особине платине(II) и паладијума(II) су јако сличне, првенствено због њихове d^8 електронске конфигурације, због тога они граде и слична комплексна једињења. Комплекси паладијума(II) су квадратно-планарне структуре и дијамагнетични су. За разлику од веома инертних комплекса платине, комплекси паладијума су знатно реактивнији.

С обзиром на досадашње резултате, мали број синтетисаних комплекса платине(IV) и платине(II) са тетрадентатним лигандима edda-типа, било је значајно испитати могућност синтезе нових комплекса овог типа, утврдити њихову геометрију и проверити њихову *in vitro* антитуморску и антимикуробну активност.

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

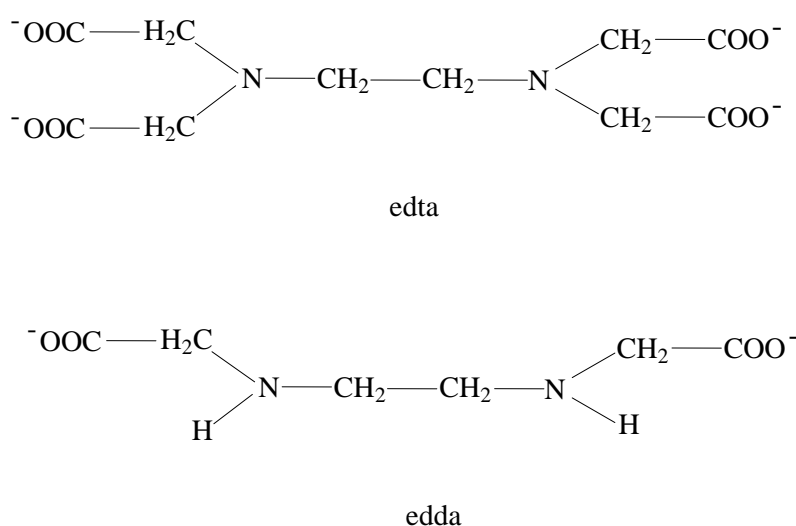
НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

2.1. ЛИГАНДИ EDDA-ТИПА И ЊИХОВИ КОМПЛЕКСИ ПЛАТИНЕ(IV) И ПАЛАДИЈУМА(II)

2.1.1. Структура тетрадентатних лиганата EDDA-типа

Етилендиамин-*N,N'*-дисирћетна киселина (edda) поседује два доhorsка атома азота и два доhorsка атома кисеоника из карбоксилних група (Слика 1). У случају потпуног координовања понаша се као тетрадентатни лиганд и представља фрагмент хексадентатног етилендиамин-тетраацетато (edta) лиганда (Слика 1). Ови лиганди заједно са лигандима етилендиамин-*N,N'*-ди-3-пропанском киселином (eddp), 1,3-пропандиамин-*N,N'*-дисирћетном киселином (1,3-pdda) и сличним спадају у групу киселина које су класификоване као edda-тип лиганата [1a,1b].



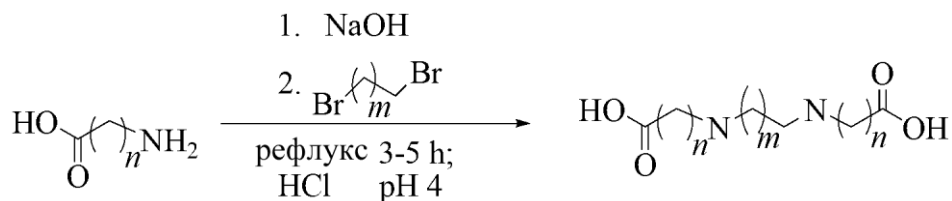
*Слика 1. Структура етилендиамин-тетраацетато (edta) и етилендиамин-*N,N'*-диацетато (edda) лиганда*

Лиганди edda-типа представљају N- или C- супституисане деривате edda лиганда или његове хомологе који садрже продужене ланце и то, на пример, диамински у случају 1,3-пропандиамин-*N,N'*-диацетатне киселине и карбоксилатни у случају етилендиамин-*N,N'*-ди-3-пропанске киселине. У Табели 1. приказани су неки лиганди edda-типа.

Табела 1. Неки тетрадентатни лиганди edda-типа

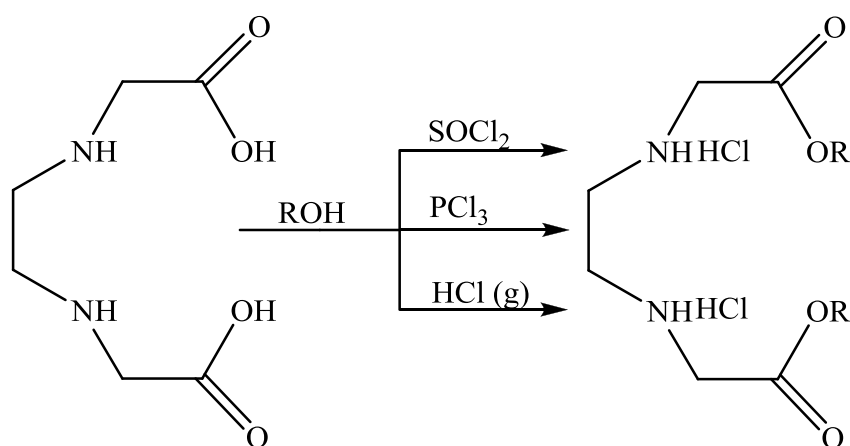
Назив и формула лиганда	Скраћеница
етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ${}^{-}\text{OOCCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{COO}^{-}$	edda
<i>N,N'</i> -диметил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ${}^{-}\text{OOCCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{COO}^{-}$	dmedda
<i>N,N'</i> -диетил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ${}^{-}\text{OOCCH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{COO}^{-}$	Dedda
етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-3-пропаноат ${}^{-}\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COO}^{-}$	Eddp
етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-2-пропаноат ${}^{-}\text{OOC}(\text{CH}_3)\text{CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_3)\text{COO}^{-}$	(<i>S,S</i>)-eddp
етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-(<i>S,S</i>)-2-(3-метил)-бутаноат ${}^{-}\text{OOC}(\text{C}_3\text{H}_7)\text{CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{C}_3\text{H}_7)\text{COO}^{-}$	(<i>S,S</i>)-eddv
1,3-пропандиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ${}^{-}\text{OOCCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{COO}^{-}$	1,3-pdda (tmdda)
<i>N,N'</i> -bis-(2-аминоетил)глицинат $(\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NCH}_2\text{COO}^{-}$	i-dtma
<i>N,N'</i> -добензил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ${}^{-}\text{OOCCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)\text{CH}_2\text{COO}^{-}$	Dbedda
<i>meso</i> -1,2-дифенил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-3-пропаноат ${}^{-}\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{C}_6\text{H}_5)\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COO}^{-}$	1,2-dpheddp

Наведени лиганди се могу синтетисати на основу методе описане патентом који су представили Берсворт (Bersworth) и сарадници (Шема 1) [2], а најчешће се координују тетрадентатно за централни метални јон.



Шема 1. Општа шема синтезе edda-типа лиганда по Берсворту

Лиганди edda-типа се могу врло лако естерификовати користећи уобичајене методе [3] што је приказано на Шеми 2.



Шема 2. Методе синтеза O,O' -диалкил естра H_2 -edda типа лиганда

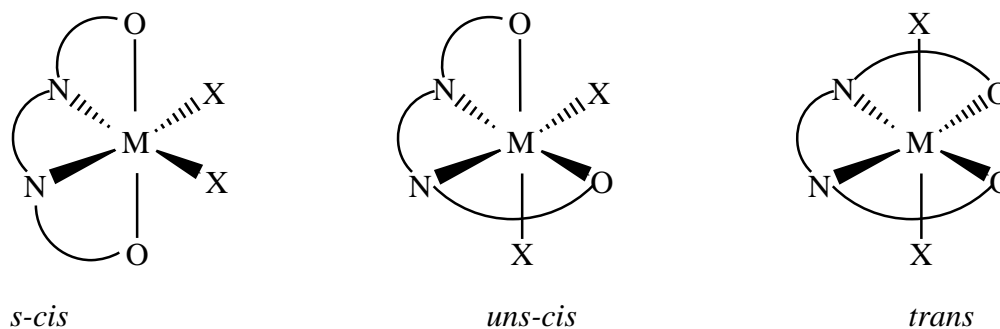
Приликом потпуног координовања естри edda-типа лиганда се углавном понашају као бидентатни лиганди. Формирање координативно ковалентне везе остварује се преко два донорска атома азота тј. κ^2N,N' -тип координовања. У неким случајевима долази до хидролизе једне или обе естарске групе, па се лиганди понашају тридентатно или бидентатно.

2.1.2. Изомерија комплекса платина(II,IV) и паладијум(II) јона са лигандима EDDA-типа

Квадратно-планарни комплекси платине(II) и паладијума(II) са лигандима edda-типа дају само један геометријски изомер, што је условљено планарним распоредом веза око централног јона метала. У реакцији лиганда

edda-типа са јоном платине(II) или паладијума(II) долази до координације два азотова донорска атома при чему настаје петочлани етилендиамински прстен.

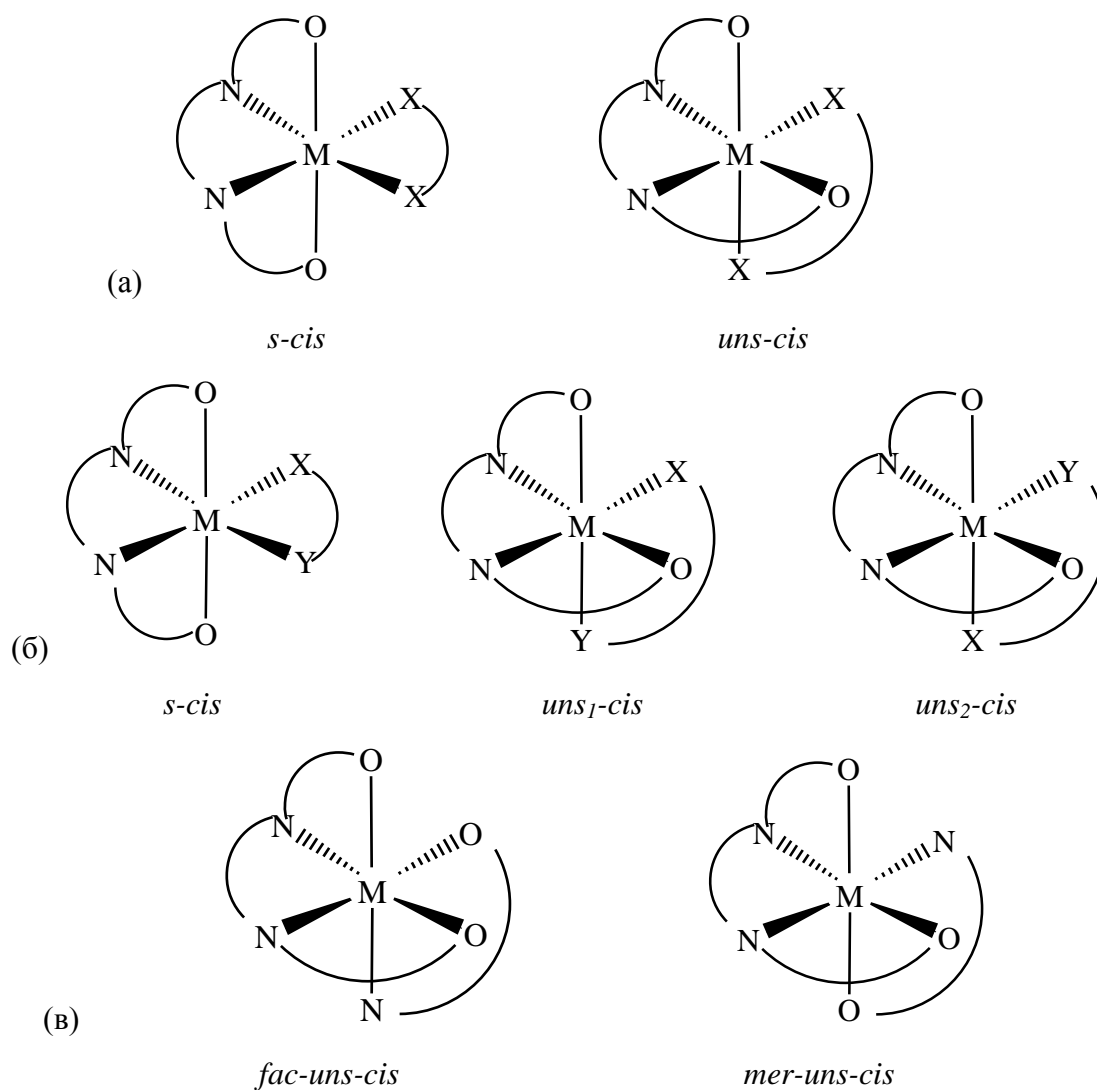
Октаедарски комплекси платине(IV) са тетрадентатним лигандима edda-типа и два додатна монодентатна лиганда, теоријски се могу јавити у три геометријска изомера: *s-cis*, *uns-cis* и *trans* (Слика 2.).



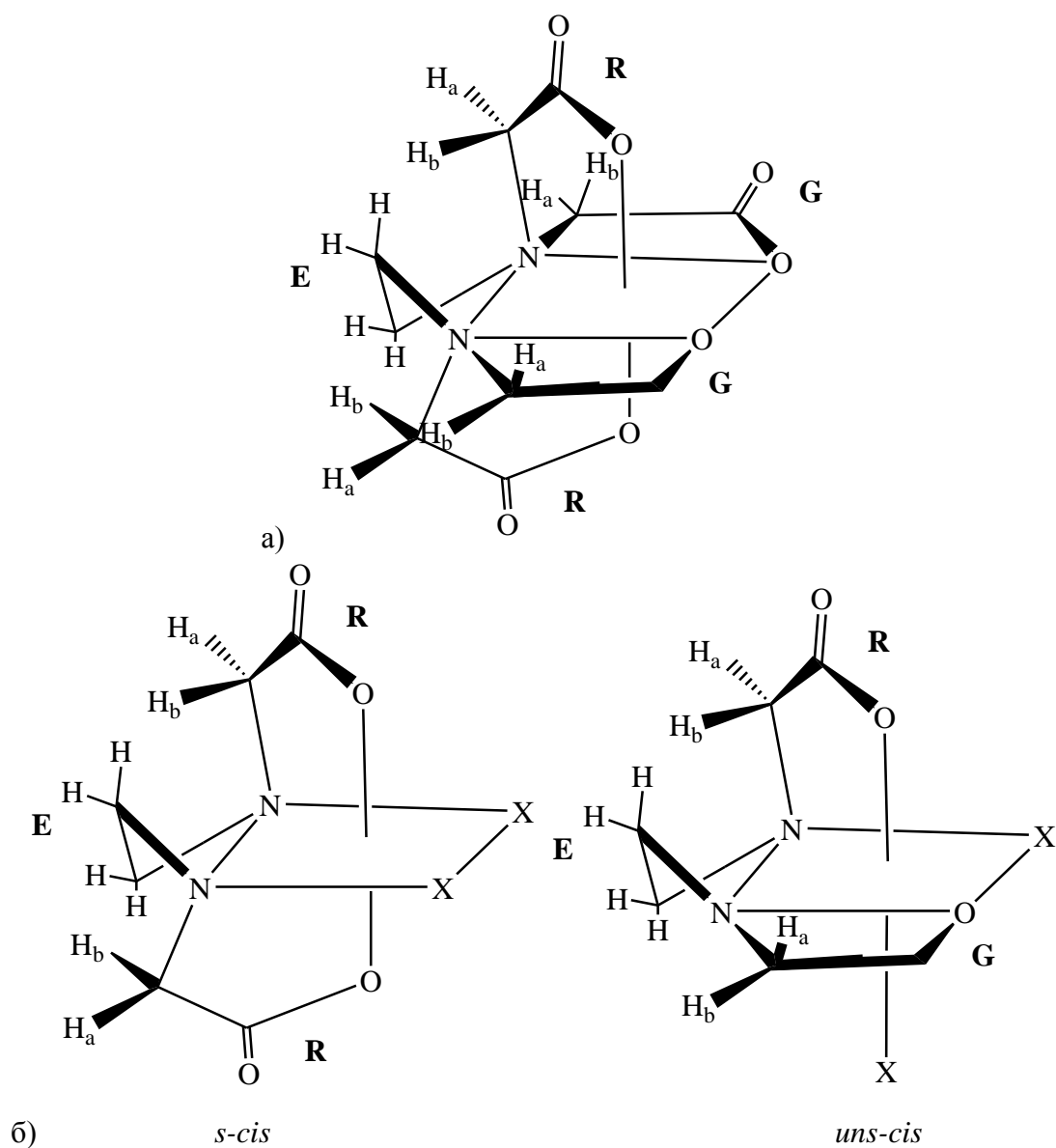
Слика 2. Могући геометријски изомери октаедарских комплекса прелазних метала са лигандима edda-типа и два монодентатна лиганда

Код октаедарских комплекса који садрже тетрадентатне лиганде edda-типа и један симетричан додатни бидентатни лиганд очекују се два геометријска изомера, *s-cis* и *uns-cis* (Слика 3а). Када је додатни бидентатни лиганд несиметричан тада су теоријски могућа три геометријска изомера: *s-cis*, *uns₁-cis* и *uns₂-cis* (Слика 3б). Уколико је несиметричан бидентатни лиганд аминокиселина *uns₁-cis* и *uns₂-cis* изомери се означавају као *facijalni-uns-cis* и *meridijalni-uns-cis* (Слика 3в). Означавања геометријских изомера приказаних на Слици 3 су у складу са номенклатуром која је предложена за овај систем [1b].

Edda лиганд при координовању са централним јоном метала формира три петочлана хелатна прстена и то један диамински и два глицинска. По номенклатури Виклима (Weakliem) и Хоарда (Hoard) [2] диамински прстен, у етилендиамин-тетраацетатокобалтат(III) комплексу, означен је као E, док су два глицинска прстена која леже у октаедарској равни са диаминским прстеном означена као G прстенови, а два која леже изван ове октаедарске равни као R прстенови (Слика 4).



Слика 3. Могући геометријски изомери октаедарских комплекса прелазних метала са лигандима *edda*-типа и додатним: (а) симетричним, (б) несиметричним и (в) *N,O*-несиметричним бидентатним лигандима



Слика 4. Ознаке хелатних прстенова у комплексима који садрже:
а) *edta* и б) *edda* лиганде

2.1.3. Комплекси платине(II,IV) и паладијума(II) који садрже тетрадентатне лиганде EDDA-типа

Интеракције комплекса платина(II), платина(IV) као и паладијум(II) јона са сумпор- и азот-донорским лигандима су веома важне са хемијског,

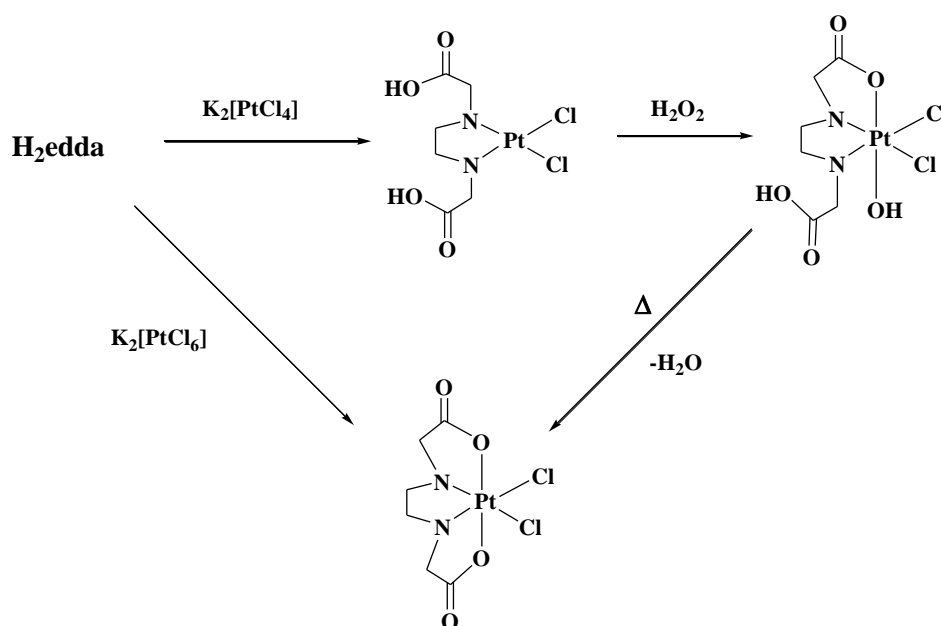
биолошког и медицинског аспекта. Познато је да комплекси платине(II), а у новије време и комплекси платине(IV) имају широку примену у медицини, а потенцијалну примену у медицини у будућности могу имати и комплекси паладијума(II). Антитуморска активност комплекса ових метала описује се њиховом интеракцијом са молекулима ДНК. Међутим, ови комплекси врло често реагују и са другим биомолекулима у организму (пептидима, протеинима и ензимима), који могу да реагују са платина(IV) комплексима, редукујући платину(IV) до платине(II). Комплекси платине(IV) су релативно инертни, па се њихове реакције супституције ретко проучавају, мада је уочено значајно везивање платина(IV) комплекса за ДНК молекуле. Такође је познато да јони платине(II) имају веома велики афинитет према атому сумпора. Због тога се платина(II)-јон лако координује преко атома сумпора из *S*-цистеина и *S*-метионина и гради врло стабилне комплексе. Све нежељене последице које се јављају током хемиотерапије (нефротоксичност, ототоксичност, неуротоксичност, резистенција и друге) описане су заправо интеракцијом комплекса платине са биомолекулима који садрже сумпор-донорске атоме. Интензивна испитивања интеракција различитих комплекса платине(II) са сумпор-донорским биомолекулима показују да су једињења платине(II) са тиолима (*S*-цистеин, *S*-глутатион) јако стабилна, нереактивна и токсична, док су једињења платине(II) са тиоетрима (*S*-метионин, *S*-метил-глутатион) мање стабилна и могу се сматрати интермедијерима у процесу интеракције комплекса са ДНК.

Паладијум је прелазни метал који припада платинској групи метала. Најчешће се у једињењима јавља са оксидационим стањем +2. У природи га има у јако малим количинама и то у комбинацији са другим елементима платинске групе. Паладијум има широку примену у петрохемији као катализатор, а изнад свега у аутомобилској индустрији. Такође велику примену паладијум је нашао и у стоматологији за прављење круница и мостова за зубе.

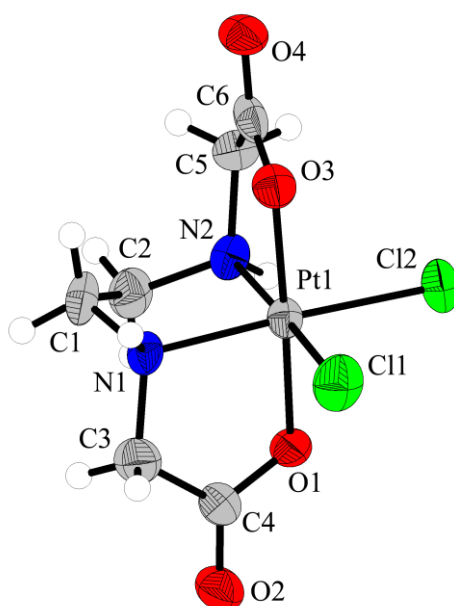
Као и јони осталих прелазних метала и паладијум(II) јон гради комплексна једињења. Комплекси платине и паладијума поседују велику примену у медицини и индустрији. Због тога се ова једињења интензивно изучавају већ дужи низ година. Платина се у комплексима јавља у оксидационим стањима +2 и +4, док се паладијум најчешће јавља у

оксидационом стању +2. Ретко се јавља у оксидационом стању +4, јер су једињења са овим оксидационим стањем паладијума врло нестабилна. Хемијске особине платине(II) и паладијума(II) су јако сличне, првенствено због њихове d^8 електронске конфигурације. Због тога они граде и слична комплексна једињења. Комплекси паладијума(II) су квадратно-планарне структуре и дијамагнетични су. За разлику од веома инертних комплекса платине, комплекси паладијума су знатно реактивнији и реагују скоро 10^5 пута брже. Паладијум спада у групу меких Луисових (Lewis) киселина. Има врло изражену тежњу да гради стабилне комплексе са меким Луисовим базама, као што су лиганди са сумпором као донорским атомом.

Платина(II) и платина(IV) комплексе са edda лигандом је први пут синтетисао Лиу (Liu) 1963. године (Шема 3) [3]. Нађено је да се edda може координовати бидентатно и тетрадентатно за платина(II)-јон, док се за платину(IV) координује тридентатно или тетрадентатно.



Шема 3. Синтеза платина(II) и платина(IV) edda комплекса



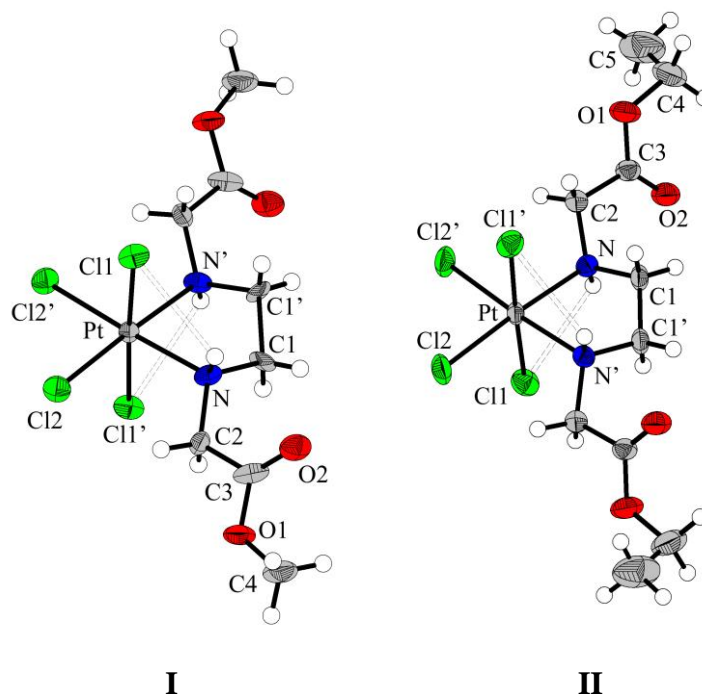
Слика 5. ORTEP презентација структуре платина(IV)-edda комплекса

Jolley и сарадници [4] приказали су синтезу неколико платина(II) и платина(IV) комплекса са хидроксиалкил или карбоксиалкил дериватима етилендиамина. Међу коришћеним лигандима је и edda за коју је утврђено да је координована бидентатно за платину(II), а оксидацијом помоћу водоник-пероксида добијен је комплекс платине(IV) са тетрадентатно координованом edda, $[\text{PtCl}_2(\text{edda})]$, што је потврђено рендгенском структурном анализом (Слика 5). У литератури је такође описана и кристална структура (етилендиамин-*N,N'*-диацетато)платина(II) комплекса [5].

Комплекси платине(IV) и платине(II) са eddp и 1,3-pdda лигандима су синтетисани према већ описаној процедури коју је дао Liu [3,6-10]. Естерификацијом поменутих киселина добијају се бидентатни бис(алкилкарбоксиалкиламино)етан или -пропан лиганди, у реакцији са одговарајућим апсолутним алкохолем у присуству тионил-хлорида (Шема 2) [11,12].

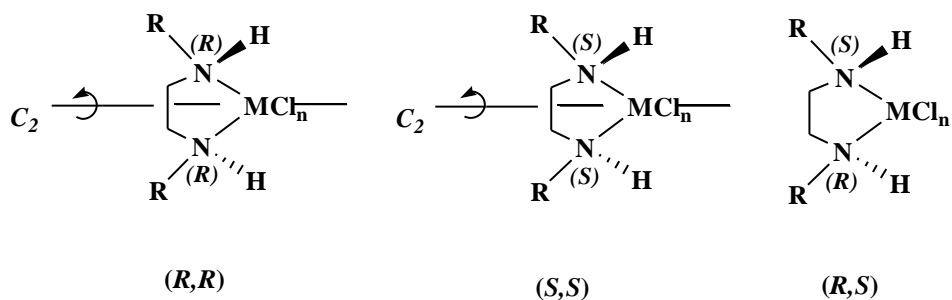
Платина(IV) комплекси са бидентатним κ^2N,N' $R_2\text{edda}$ естрима ($R = \text{Me}$, Et , $n\text{-Pr}$) су синтетисани на собној температури [13,14]. Структуре Pt(IV) комплекса са Me_2edda и Et_2edda лигандима (Слика 6) одређене су рендгенском структурном анализом, при чему је нађено да је кристална решетка комплекса

стабилизована интрамолекулским водоничним везама, што је у сагласности са претходним резултатима добијеним за аналогне структуре са тетрадентатним edda лигандима [6,7].



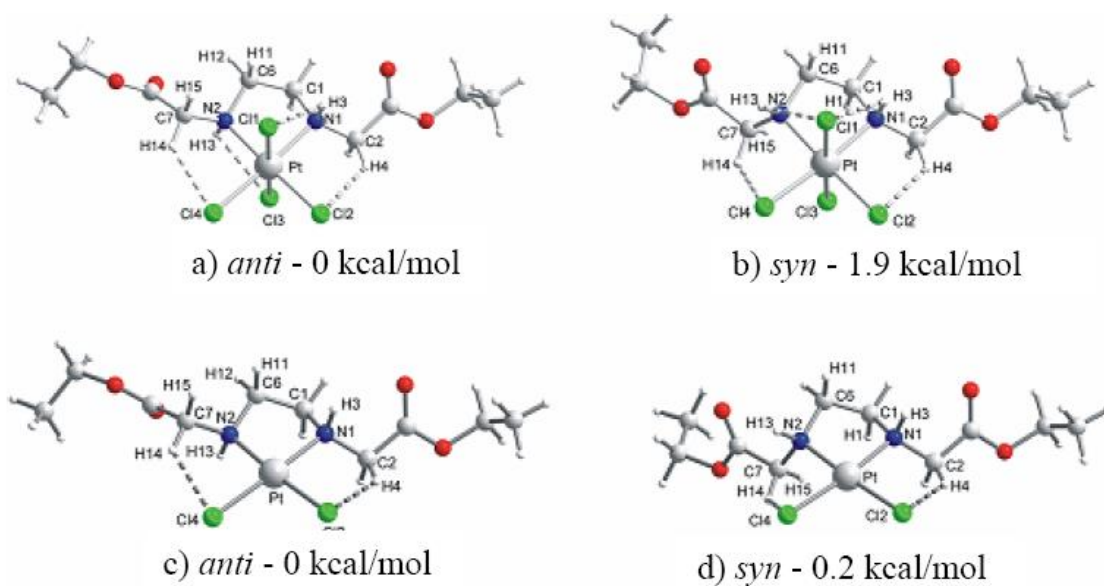
Слика 6. Diamond презентација структуре Pt(IV) комплекса са Me₂edda (I) и Et₂edda (II)

Координовањем R₂edda за платину азотови атоми постају хирални што теоријски даје могућност за настајање три стереоизомера: два енантиомера (*R,R*) и (*S,S*) и један диастереоизомер (*R,S*), односно *anti* и *syn* (Слика 7). Приликом синтезе платина(IV) комплекса са Et₂edda добијена је (*R,R*) и (*S,S*) рацемска смеша и у чврстом стању и у раствору, што је потврђено рендгенском структурном анализом и NMR спектроскопијом. Да би се објаснио разлог диастереоселективности, рађени су DFT прорачуни за *R,R* (*anti*; *S,S* енантиомер исте енергије као и *R,R*) и *R,S* (*syn*) изомере коришћењем MPW1PW91 функције (Слика 8). Нађено је да је у случају *anti* изомера N–H⋯Cl електростатичка интеракција нешто јача, што може бити довољан разлог за диастереоселективност [14].



$M = \text{Pt(IV)}, \text{Pt(II)}, \text{Pd(II)}$

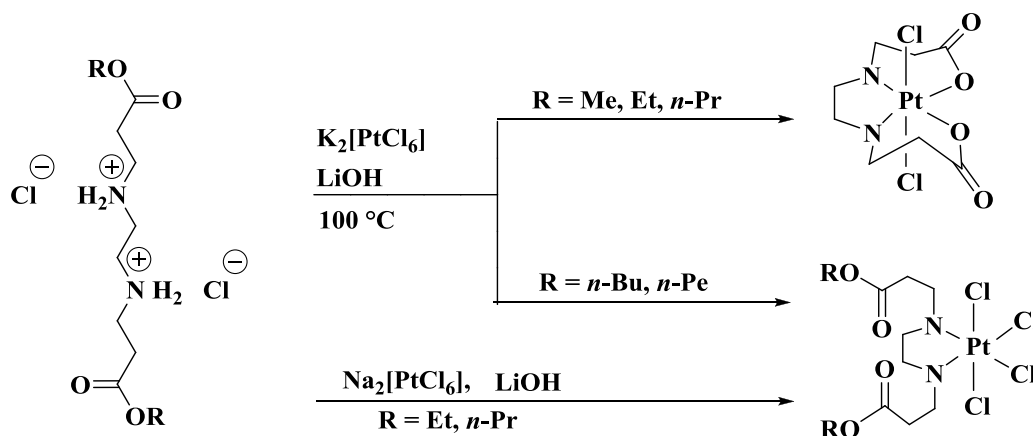
Слика 7. Могући стереоизомери $[\text{PtCl}_n(\text{R}_2\text{edda-тупа})]$, ($n = 2, 4$) и $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2\text{edda-тупа})]$ комплекса



Слика 8. Структуре одређене на бази DFT прорачуна за $[\text{PtCl}_n(\text{Et}_2\text{edda})]$ комплекс
($a, b: n = 4; c, d: n = 2$)

DFT прорачуни рађени су и за комплекс платине(II) са Et_2edda , $[\text{PtCl}_2(\text{Et}_2\text{edda})]$ [15]. Аксијални атоми хлора су искључени, а самим тим и

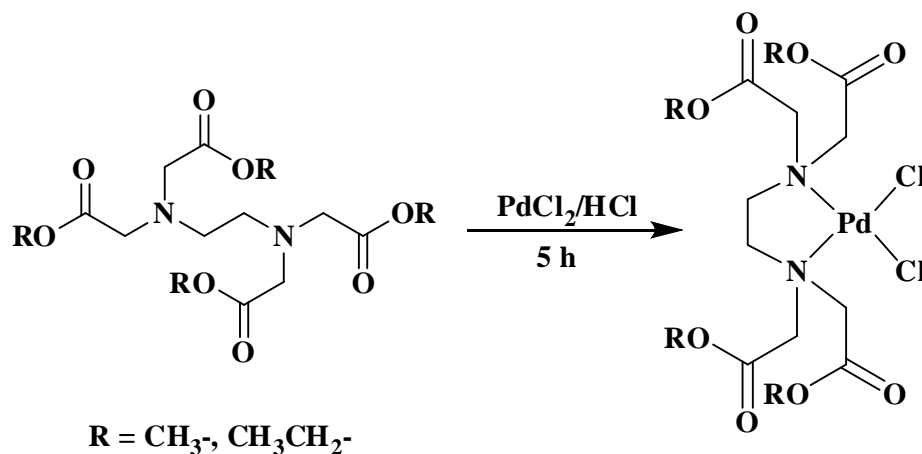
стабилизујуће N–H⋯Cl водоничне везе, због саме структуре једињења. Резултати су показали знатно мање енергетске разлике између *syn* и *anti* диастереоизомера, чиме је показано да наведене електростатичке интеракције N–H⋯Cl утичу на стереоселективност (Слика 8). Стога, у случају платина(II) комплекса са бидентатним *N,N'* лигандима треба очекивати формирање сва три изомера (*R,R*)/(*S,S*)-*anti* и (*R,S* ≡ *S,R*)-*syn* (Слика 8). (*R,R*)/(*S,S*) енантиомери имају C_2 молекулску симетрију, за разлику од (*R,S*) дијастереоизомера са C_1 молекулском симетријом, што значи да су код њих естарске групе магнетно нееквивалентне. С обзиром на структурну сличност платина(II) и паладијум(II) комплекса, исто би требало очекивати и за R_2eddp комплексе паладијума(II).



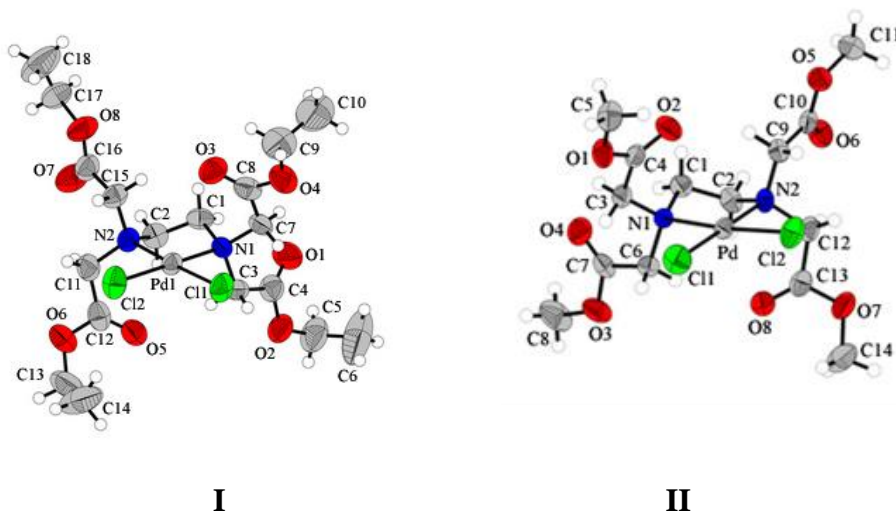
Шема 4. Синтеза комплекса платине(IV) са R_2eddp -лигандима

У реакцији R_2eddp лиганда у зависности од R-група, координовањем за платину(IV) долази до формирања различитих производа. За R = Me, Et, *n*-Pr, долази до хидролизе естарских група чиме се добија $[PtCl_2(eddp-\kappa^2N,N',\kappa^2O,O')]$ комплекс (Шема 4), а рендгенска структурна анализа је потврдила да је реч о *trans*-дихлоридо геометријском изомеру [13]. Када је R = *n*-Bu или *n*-Pe, естарске групе нису хидролизоване, а добијен је следећи производ $[PtCl_4(R_2eddp-\kappa^2N,N')]$, (Шема 4.). Међутим, када је коришћен $Na_2[PtCl_6]$ на собној температури добијени су диетил и дипропил естри eddp-а координовани за платину(IV) [14].

Приличан број комплекса паладијума(II) са лигандима који садрже N и O атоме је синтетисан и окарактерисан и то са EDTA [16-18], етилендиамином [19,20], као и са неким аминокиселинама [21-23]. Синтеза комплекса паладијума(II) са тетраметил и тетраетил естрима EDTA приказана је на Шеми 5. У новије време објављене су кристалне структуре ових комплекса [24] (Слика 9). Дужине веза и углови су у сагласности са литературним подацима [16-23].

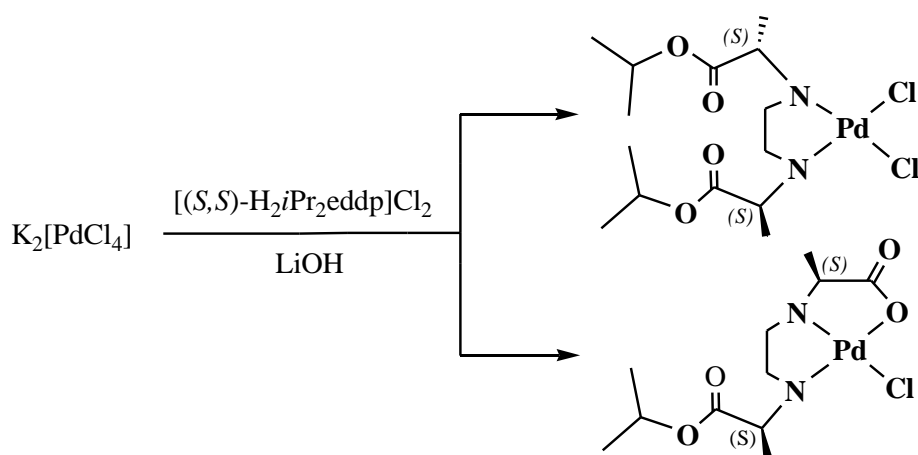


Шема 5. Синтеза комплекса паладијума(II) са тетраметил и тетраетил естрима EDTA



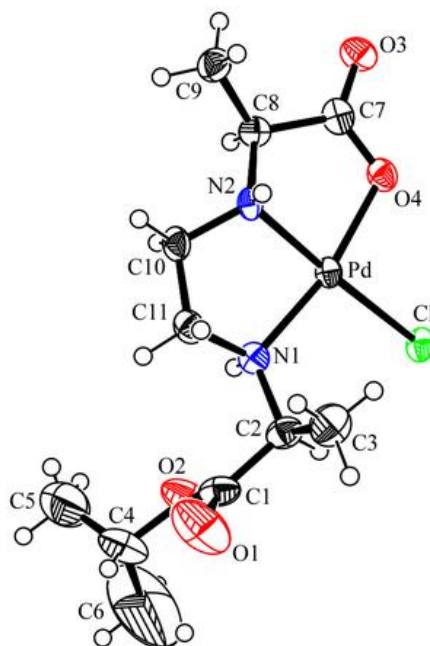
Слика 9. ORTEP презентација структуре комплекса паладијума(II) са тетраетил (I) и тетраметил (II) естрима EDTA

Недавно су синтетисани комплекси паладијума(II) са естрима (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропанске киселине (*(S,S)*-H₂eddip) [25]. При грађењу комплекса естри се координују бидентатно κ^2N,N' за металне јоне, осим у случају једног комплекса паладијума(II) где је дошло до тридентатног везивања изопропил естра (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропанске киселине. Наиме, у истој реакцији формирала су се два комплекса: један са бидентатно везаним нехидролизованом естром и други са тридентатно везаним естром код кога је дошло до хидролизавања једне изопропил групе (Шема 6).



Шема 6. Реакција добијања два комплекса паладијума(II) са [*(S,S)*-*H*₂*iPr*₂*eddip*]*Cl*₂

Такође, публикована је и кристална структура хлоридо(*O*-изопропил-*(S,S)*-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноат)паладијум(II), [PdCl{(*S,S*)-*iPr*eddip}] [25]. [PdCl{(*S,S*)-*iPr*eddip}] кристалише у моноклиничном кристалном систему, са просторном групом *P*2₁. Молекулска структура приказана је на Слици 10. Атом паладијума има квадратно-планарну координациону геометрију са једним [*(S,S)*-*iPr*eddip][−] лигандом координованим преко једног карбоксилног кисеониковог атома и два азотова атома ($\kappa^2N,N',\kappa O$ координација). Преостало координационо место је заузето хлоро лигандом. Нађено је да је у питању (*R,R*)-*N,N'* изомер.



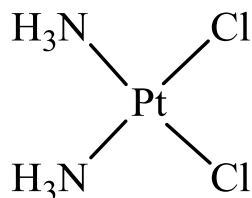
Слика 10. ORTEP презентација [$\text{PdCl}\{(S,S)\text{-iPreddip}\}$]

2.2. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА НЕКИХ ПРЕЛАЗНИХ МЕТАЛА

2.2.1. Антитуморска активност комплекса платине

Иако се цисплатина први пут помиње у раду Пирона (Peurone) из 1845. године [26], антитуморска активност остаје непримећена до 1965. године када су Розенберг (Rosenberg) и сарадници открили антипролиферативну активност индуковану на култури *Escherichia coli* услед дејства електричног поља изазваним платинским електродама. Експериментално је потврђено да су том приликом настали неки комплекси платине услед редокс реакција платинских електрода са електролитом. Од награђених комплекса платине цисплатина се сматрала одговорном за ову врсту активности. Цисплатина (Слика 11) је

заустављала деобу ћелије блокирајући репликацију ДНК. Даљим испитивањем Розенберг и сарадници показали су да овај лек делује на туморе миша, попут саркома 180 и леукемије 1210 [27,28].

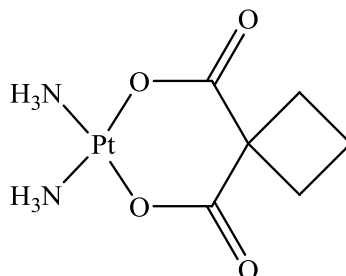


Слика 11. Структура *cis*-диаминдихлоридоплатина(II) комплекса, познатијег као *цисплатина*, *cis-DDP*

Интересантно је да одговарајући *trans* геометријски изомер *trans*-диаминдихлоридоплатина(II) (трансплатина) није показао антитуморску активност на поменутим туморима миша [29,30]. Од тада се *цисплатина* широко користи у терапији разних тумора. *Цисплатина* је посебно ефикасна у терапији тумора тестиса и јајника, а такође се широко примењује у лечењу тумора бешике, грлића материце, карцинома бронхија, тумора једњака и малигних болести крви [31-40]. Упркос великом успеху приликом лечења неких тумора, *цисплатина* показује и нежељене ефекте попут високе неуротоксичности, нефротоксичности и повраћања. Нажалост, оваква споредна дејства ограничавају количину дозирања *цисплатине* код пацијената (100 mg/дан до највише пет узастопних дана терапије). Иако се *цисплатина* клинички широко користи, њена примена је ипак ограничена на релативно мали број тумора. Неки тумори поседују природну резистенцију према *цисплатини*, а неки је стичу после одређеног времена терапијске примене. *Цисплатина* је релативно слабо растворна у води и примењује се интравенски, што условљава њену примену само при хоспитализацији пацијената [41-54].

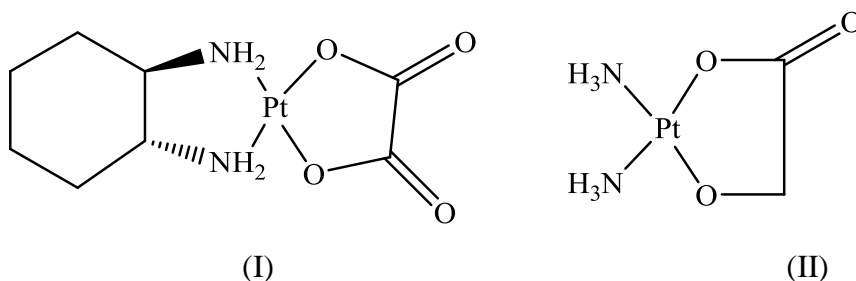
Након открића антитуморске активности *цисплатине*, синтетисан је велики број комплекса платине за које се сматрало да су потенцијални антитуморски агенси. Велики број њих је ушао у клиничка испитивања, али је само диамин[1,1-циклобутандикарбоксилато(2)]-*O,O'*-платина(II) комплекс познатији под именом карбоплатина (Слика 12) добио одобрење за рутинску

клиничку примену. Карбоплатина је мање токсична од цисплатине и може се пацијентима давати у много већим дозама у односу на цисплатину, али је мање активна [46,47]. Карбоплатина делује у истом спектру тумора као и цисплатина, а примењује се такође интравенски.



Слика 12. Структура диамин[1,1-циклобутандикарбоксилато(2)]-*O,O'*-платина(II) комплекса, карбоплатина

Последњих година су још два комплекса платине(II) *cis-L*-диамин-циклохексан)оксалатоплатина(II), оксалиплатин и *cis*-диамин(гликолато-*O,O'*)платина(II), недаплатин (Слика 13) добила ограничено одобрење за коришћење приликом поновног лечења метастатских тумора дебелог црева [49,50]. Међутим, ни један од ова два комплекса није показао предност у односу на цисплатину и карбоплатину. Због тога су истраживања настављена у правцу синтезе нових комплекса платине и других јона метала који ће показати мању токсичност, шири спектар дејства у односу на цисплатину и могућност оралне примене.

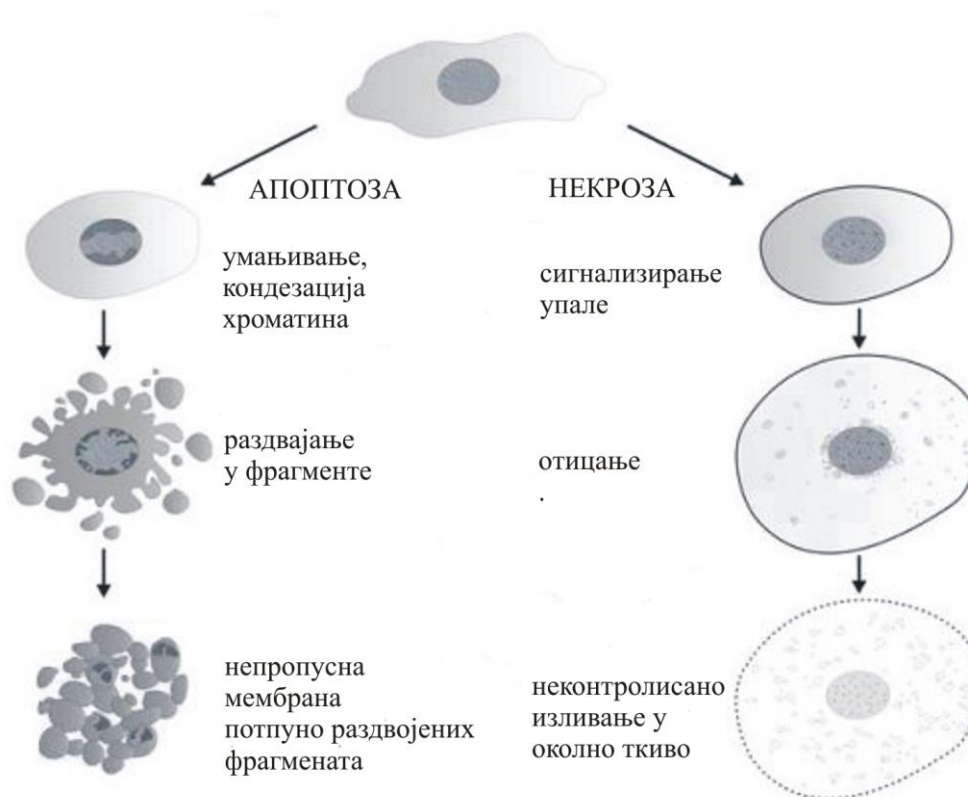


Слика 13. Структура (I) *cis*-диаминциклохексаноксалатоплатина(II), оксалиплатин и (II) *cis*-диамин(гликолато-*O,O'*)платина(II), недаплатин

2.2.2. Механизам дејства цисплатине

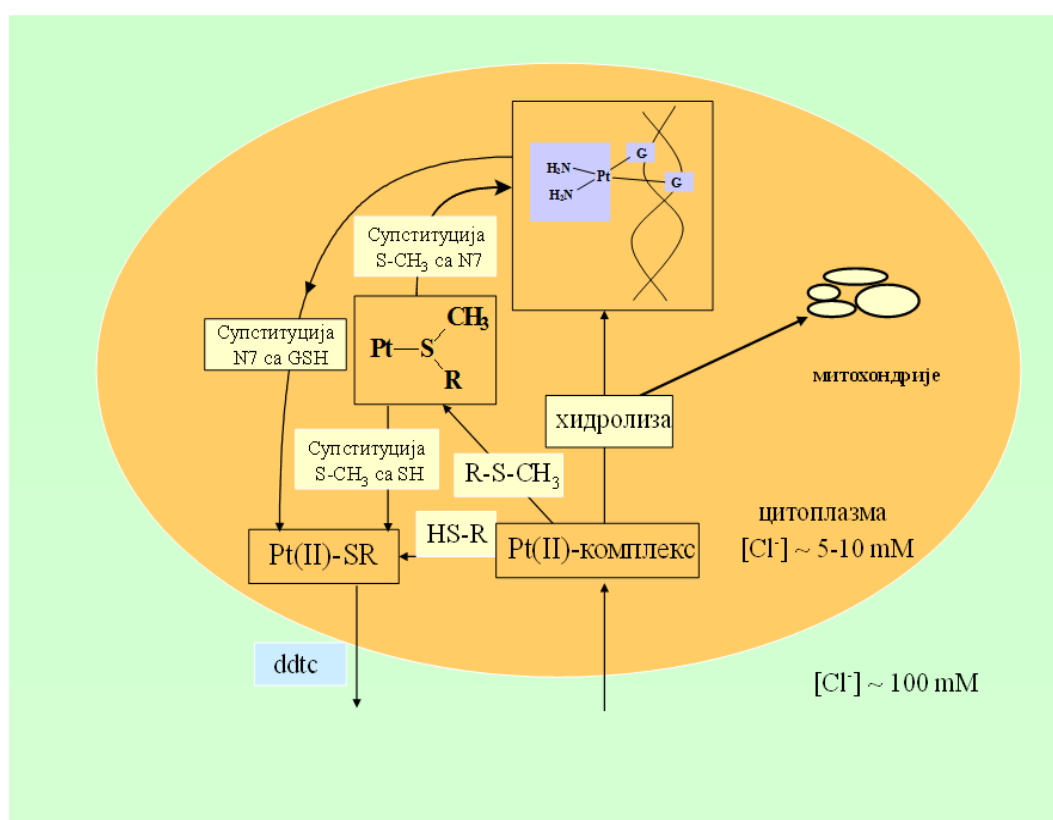
Цисплатина испољава антитуморску активност везујући се за ДНК и заустављајући транскрипцију, односно репликацију ДНК [55-60]. Ови поремећаји активирају процес цитотоксичности и доводе до смрти ћелије тумора кроз апоптозу, односно програмирану смрт ћелије. Апоптоза изостаје тј. настаје резистенција ако долази до повећања поправке ДНК-адукта и способности толеранције оштећења ДНК.

Апоптоза је пожељна јер представља програмирану ћелијску смрт, низ догађаја где долази до елиминације ћелија без испуштања штетних материја у околна ткива. Некроза је непожељна јер је то пасиван облик ћелијске смрти при чему долази до „кварења“ ћелијске мембране и истицања ћелијског садржаја у околно ткиво (Шема 7).



Шема 7. Шематски приказ смрти ћелије апоптозом и некрозом

Након интравенског дозирања цисплатине на путу до оболеле ћелије она може да реагује са бројним биомолекулима. Пре него што уђе у ћелију, цисплатина се може везати за фосфолипиде и фосфатидилсерин из ћелијске мембране. Такође, у организму су присутни многи макробиомолекули који могу бити потенцијална места за везивање платине, укључујући РНА, бројне протеине и пептиде који садрже сумпор [41-45]. Процењено је да се мање од 1% молекула цисплатине који уђу у ћелију везују за ДНК из једра, док се остала количина везује за протеине и друге биомолекуле ћелије [61,62].

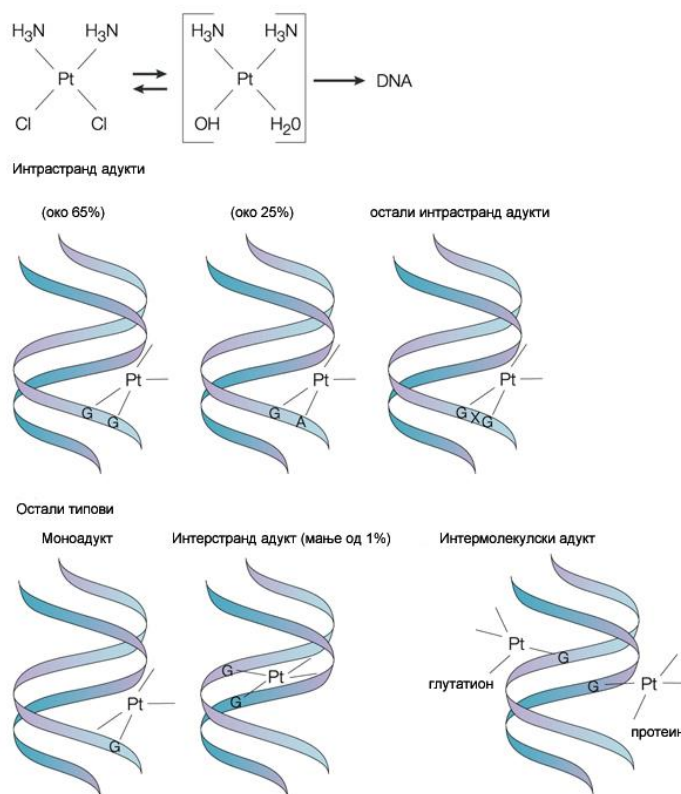


Шема 8. Пут лека

Када комплекс платине уђе у ћелију, најповољнији процес је хидролиза и директно везивање за молекул ДНК. С обзиром да је концентрација Cl⁻ јона у екстрацелуларној течности око 100 mM, а у интрацелуларној од 5-10 mM, хидролиза комплекса је процес који игра важну улогу. Због високе концентрације хлорида у крви цисплатина долази до ћелије (Шема 8). [63-66].

Када комплекс доспе до молекула ДНК, могућности за координацију су различите. Везивање комплекса за ДНК се првенствено дешава преко N7 атома гуа-нина, док је мање заступљено везивање за N7 и N1 аденина и N3 цитозина [64,65]. С обзиром да молекула ДНК у својим комплементарним спиралним структурама садржи различиту секвенцу пуринских и пиримидинских база, установљено је да је са 60% заступљена координација комплекса типа 1,2-(GpG), односно веза преко два молекула гуанозин-5'-монофосфата, који се налази на супротним ланцима ДНК. Око 25% је заступљена веза типа 1,2-(ApG), тј. веза са аденозин-5'-монофосфатом и гуанозин-5'-монофосфатом смештеним на супротним ДНК ланцима. Остали начини везивања (монофункционално везивање комплекса, везе типа 1,3-(GpG), везе преко гуанозина смештених на истом ланцу молекула ДНК, итд.) су мање заступљени. На Шеми 9 приказани су различити начини везивања цисплатинског фрагмента за молекула ДНК.

Иако се зна да се већи број молекула цисплатине везује за протеине постоје и експериментални докази да ове врсте интеракција имају важну улогу при покретању апоптозе (програмиране смрти ћелије). Осим тога некроза (случајна смрт ћелије), која настаје услед главног неуспеха самог функционисања ћелије, такође је допринела објашњавању механизма којим цисплатина уништава туморске ћелије.

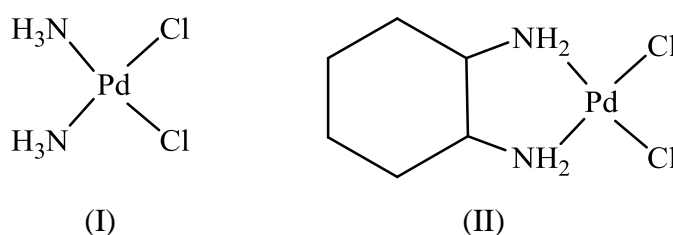


Шема 9. Хидролиза и грађење ДНК-цисплатина адукта

2.2.3. Развој нових антитуморских лекова

Од великог броја синтетисаних комплекса платине, којима је испитана антитуморска активност, знатан број је испитан у односу зависности активности од структуре комплекса. Показано је да комплекси платине(II) који показују антитуморску активност морају имати *cis* геометрију са општом формулом $[Pt(am)_2X_2]$, где је *am* инертни амински лиганд са најмање једном NH групом, а X је лако одлазећа група. Одлазећа група мора бити анјон са умерено јаком координацијом за платину, као и да поседује слаби *trans* ефекат да би се избегла лабилизација аминског лиганда. Али и комплекси са релативно добро одлазећим групама, као што су перхлоратни или нитратни анјон, су изразито токсични, док су комплекси са инертним одлазећим групама углавном неактивни.

Откриће антитуморских особина поменутих комплекса платине повећало је интересовање ка добијању евентуално ефикаснијих комплекса других метала и лиганата. Међу првим комплексима коришћеним у клиничким испитивањима против тумора били су комплекси паладијума(II) и то аналози цисплатине, *cis*-диамин-дихлоридо-паладијум(II), *cis*-[PdCl₂(NH₃)₂] и *cis*-1,2-диаминцикло-хексан-дихлоридо-паладијум(II), *cis*-[PdCl₂(DACH)] комплекси (Слика 14) [67].



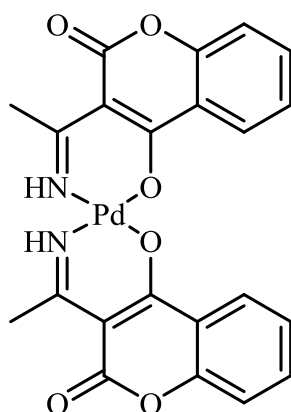
Слика 14. Структура (I) *cis*-диаминдихлоридопаладијум(II), *cis*-[PdCl₂(NH₃)₂]; (II) *cis*-1,2-диаминциклохександихлоридопаладијум(II), *cis*-[PdCl₂(DACH)]

Познато је да су комплекси платине(II) термодинамички и кинетички стабилнији од паладијум(II) аналога. Паладијум(II) комплекси подлежу хидролизи и измени лиганата чак 10⁵ пута брже него одговарајући комплекси платине(II), што условљава нижу антитуморску активност комплекса паладијума и већу токсичност [59,67,68].

Иако први резултати нису показали значајну антитуморску активност комплекса паладијума(II), ови комплекси су ипак много шире проучавани. Углавном су комплекси паладијума(II) због велике реактивности показивали нижу антитуморску активност од цисплатине [59,68]. Сматра се да је нижа активност ових комплекса последица јако брзе измене лиганата и немогућности комплекса да непромењене структуре стигне до биолошке мете, чиме је повећан ризик од неповољних ефеката на биохемијске процесе у ћелији. У циљу превазилажења оваквих проблема многи аутори [69] су предлагали да се паладијум(II) јон координује за хелатне лиганде, чиме би се смањила реактивност паладијумовог центра повећавајући стабилност награђеног комплекса. Антитуморска активност комплекса, односно успех лека, зависи и од коришћеног лиганда за координовање јер од лиганда зависи реактивност и

липофилност, као и стабилизовање одређених оксидационих стања метала или могућност супституције [70,71]. До сада је једина примена паладијума у медицини у лечењу брзорастућег канцера простате и то користећи радиоактивни изотоп ^{103}Pd [72,73].

Постоје и комплекси паладијума(II) који показују активност сличну цисплатини или карбоплатини. Комплекс паладијума са лигандом који је дериват кумарина (Слика 15) показује приближно 7800 пута већу активност у односу на карбоплатину на ћелијама A549, HeLa и K562 [74,75]. Тиме је потврђена претпоставка да са волуминознијим лигандима комплекси показују бољу антитуморску активност. Такође је испитиван велики број паладијум(II) комплекса са неутралним лигандима, као што су деривати пиридина [76,77], фосфатни деривати хинолина [78,79] или деривати пиразола [80] и тиме је доказана њихова значајна антитуморска активност.



Слика 15. Комплекс паладијума(II) са дериватом кумарина, активнији приближно 7800 пута од карбоплатине

У тежњи да се синтетише једињење са већом антитуморском активношћу и мањим нежељеним последицама, вршена су испитивања комплекса других метала који не припадају платинској групи. Међу таквим једињењима су били комплекси рутенијума, злата и сребра [81,82], титанијума [83,84] и калаја [85,86]. Дејсон (Dayson) и сарадници [87-89] су објавили значајне резултате радећи на фероценил-пиридин-арен рутенијум комплексима и на ефекту циклопентадиенил прстена на цитотоксичност рутенијумових једињења. Кеплер

(Keppler) и сарадници [81,82,89] су објавили одличне резултате радећи са рутенијумским и паладијумским комплексима. Комплекси злата су такође испитивани, обзиром да је злато(III) изоелектронско и изоструктурно са Pt(II) комплексима. Комплекси злата су лабилнији, али су неки показали велику цитотоксичност [90,91]. Чак и комплексе злата(I) и сребра(I) [92] треба поменути као могуће будуће лекове за лечење тумора.

2.2.4. Цитотоксичност комплекса платине(IV) са edda- и R₂edda-типом лиганата

Са edda-типом лиганата, слично JM-216, платина има Cl₂N₂O₂ доносни сет атома. Иако са естрима R₂edda-типа платина нема такво координационо окружење, већ Cl₄N₂, ипак естерификовани деривати обећавају у области развоја платина(IV) лекова против рака.

Комплекси платине(II) и платине(IV) са лигандима који су деривати етилендиамина *N*-(2-хидроксиетил)етиленамин (heen), *N,N'*-бис(2-хидрокси-етил)етиленамин (he₂en), етилендиамин-*N,N'*-дисулфидна киселина (H₂edda) и етилендиамин-*N*-моносулфидна киселина (Hedma) су испитани на пет ћелијских линија хуманог карцинома јајника: CH1, A2780, Skov-3, CH1cisR и A2780cisR, од којих су последње две резистентне на цисплатину (6 и 12 пута резистентне) [4]. Неки од ових комплекса показују умерену антитуморску активност, али је та активност и даље знатно мања него она коју имају цисплатина и JM-216.

Испитивани су и комплекси платине(II) и платине(IV) са потенцијалним тридентним *N*-(2-хидроксиетил)етиленаминским и тетрадентним edda лигандима на ћелијским линијама хуманих тумора CH1, 41M и Skov-3, као и на цисплатина резистентним ћелијским линијама CH1cisR и 41McisR [93]. Платина(IV) комплекс са [H₂O] доносним сетом је 2 до 5 пута активнији према панелу са ћелијским линијама хуманих тумора осетљивим и резистентним на цисплатину, него одговарајући платина(II) комплекс, док у случају комплекса са edda лигандом, комплекси платине(II) су активнији [93]. Ако атоми кисеоника заузимају оба аксијална положаја затварањем прстена, често долази до деактивације платина(IV) комплекса, међутим, ако нису заузета оба аксијална

положаја, вероватно неће доћи до деактивације [94-96]. Цитотоксичност неких платина(II) ([PtCl₂(H₂eddp)], [PtI(Heddp)]) и платина(IV) комплекса (*trans*-[PtCl₂(eddp)], *trans*-[PtBr₂(eddp)], *trans*-[PtCl₂(pdda)], *trans*-[PtBr₂(pdda)]) који имају као и цисплатина и JM-216 [Cl₂N₂] и [Cl₂N₂O₂] донорско окружење, је испитивана према ћелијама хуманог аденокарцинома HeLa (Табела 2) [10]. Резултати су показали да ови комплекси са лигандима edda-типа имају сличан, али мањи утицај на антипролиферативну активносту односу на цисплатину.

Табела 2. IC₅₀ (μM)^a вредности испитиваних једињења на HeLa ћелијама одређене МТТ тестом (72 х) и на A2780/A2780cisPt ћелијама SRB тестом (76 х), [8,10]

Комплекс/ћелијска линија	HeLa	Комплекс/ћелијска линија	A2780	A2780cisR
[PtCl ₂ (H ₂ eddp)]	165 ± 6	<i>trans</i> -[PtCl ₂ (eddp)]	93 ± 12	90 ± 14
[PtI(Heddp)]	194 ± 3	<i>trans</i> -[PtBr ₂ (eddp)]	30 ± 7	277 ± 24
<i>trans</i> -[PtCl ₂ (eddp)]	179 ± 7	<i>sym-cis</i> -[PtCl ₂ (edda)]	8,2	> 25
<i>trans</i> -[PtBr ₂ (eddp)]	143 ± 3	cisplatin	0,2 ± 0,05	3,5 ± 0,6
<i>trans</i> -[PtCl ₂ (pdda)]	175*			
<i>trans</i> -[PtBr ₂ (eddp)]	149*			
cisplatin	4,5 ± 0,3			

^a Средња вредност ± СД из три експеримента; *резултати из једног експеримента

Испитивања комплекса платине(II) и платине(IV) са естарским дериватима eddp (Слика 16 а)) (Табела 3) су показала да су најактивнији тетрахлоридоплатина(IV) комплекси: (1) према ћелијама HeLa око пет пута мање активни од цисплатине и (2) према ћелијама хумане мијелоидне леукемије K562. Активност је упоређена са цисплатином. Ови комплекси изазивају смрт ћелија апоптозом [97].

Табела 3. IC₅₀ (μM)^a на HeLa, K562 ћелијама, на PBMС и PBMС стимулираних са РНА, одређене МТТ тестом (72 h), за [PtX₄(R₂eddp)] (X = Cl, Br, I) и за цисплатину.

Једињење \ ћелијска линија	IC ₅₀ ± SD			
	HeLa	K562	PBMС	PBMС+РНА
[PtCl ₄ (Bu ₂ eddp)]	15 ± 3	7 ± 2	15 ± 6	11 ± 4
[PtBr ₃ Cl(Bu ₂ eddp)]	37 ± 2	16 ± 4	44 ± 6	25 ± 8
[PtCl ₂ I ₂ (Bu ₂ eddp)]	89 ± 8	36 ± 3	110 ± 13	75 ± 19
[PtCl ₄ (Pe ₂ eddp)]	16 ± 3	6 ± 2	17 ± 7	11 ± 5
[PtCl ₂ (Bu ₂ eddp)]	76 ± 2	59 ± 7	>100	76 ± 14
цисплатина	4,5 ± 0,3	5,8 ± 0,3	33,6	26 ± 6

^a Средња вредност ± SD из три до четири експеримента

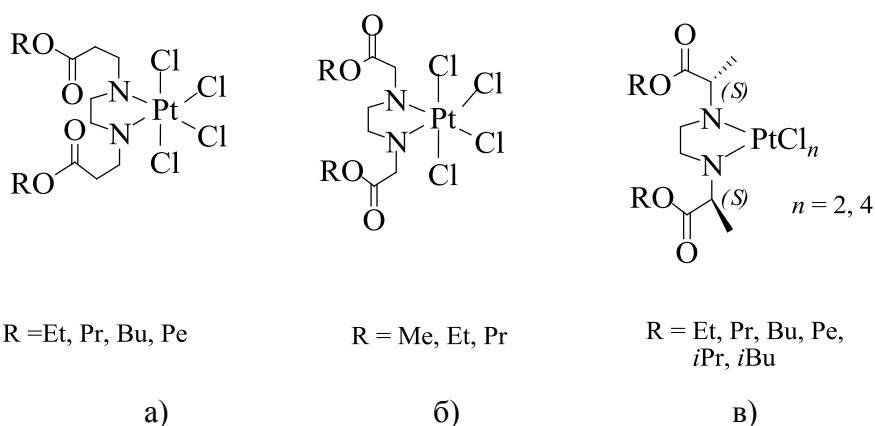
Неколико платина(II) и платина(IV) комплекса је испитивано на ћелијским линијама тумора мишијег фибросаркома L929 и хуманог астроцитоме U251 [66]. *In vitro* антитуморска активност платина(IV) комплекса са R₂eddp лигандима, (R = *n*-бутил и *n*-пентил), [PtCl₄(R₂eddp)] (Слика 16 а)), је такође испитивана на обе ћелијске линије. Нађено је да је процес ћелијске смрти изазван овим комплексима знатно бржи у односу на онај који је изазван активношћу цисплатине. Истраживања су показала да [PtCl₄(Bu₂eddp)] и [PtCl₄(Pe₂eddp)] изазивају некрозу, посредством кисеоничних радикала, независно од ERK, за разлику од цисплатине која изазива ERK-зависну ћелијску смрт апоптозом без оксидативног стреса [98].

Полазна тачка детаљнијих испитивања су резултати добијени проучавањем платина(IV) комплекса са естрима eddp према L929 и U251 ћелијама. Одређивана је активност комбинованог дејства антрахинонског деривата *алоје емодина* (АЕ) са цисплатином или [PtCl₄(Bu₂eddp)] на одабраним ћелијским линијама [99].

Добијени резултати указивали су да комбиновање АЕ са цисплатином може умањити антитуморски ефекат саме цисплатине, јер се сузбија ERK-зависна ћелијска смрт. Уместо тога, комбиновањем АЕ са платинским једињењима која не захтевају ERK за сопствену цитотоксичну активност, као што је [PtCl₄(Bu₂eddp)], изгледа вредно да се размотри као алтернативни

терапеутски приступ. Са друге стране, уношење АЕ у одвојено време као помоћно средство у терапији цисплатином може бити добар начин за заштиту нормалног ткива од токсичих ефеката цисплатине [99]. *In vivo* истраживања активности ових комбинација су у току.

Слични комплекси платине са R_2edda уместо R_2eddp [$PtCl_4(R_2edda)$] ($R = Me, Et$ и $n-Pr$) (Слика 16), су такође испитивани да би се открио утицај супституента R на *in vitro* антипролиферативну активност. Испитивања су вршена на различитим туморским ћелијским линијама: 1411HP, H12.1 (канцери тестиса), DLD-1 (карцином дебелог црева), 518A2 (меланом), A549 (карцином плућа) и липосарком [14]. Активност комплекса зависи од броја угљеникових атома у естарском ланцу R – што је дужи ланац, већа је активност. Ћелијска линија карцинома дебелог црева DLD-1, резистентна на цисплатину, је била једина која не показује овакав тренд. Све ћелијске линије, изузев ћелија DLD-1, су показале ћелијску смрт апоптозом када су се користиле IC_{90} концентрације комплекса [14]. Комплекси [$PtCl_4(Et_2edda)$] и [$PtCl_4(Pr_2edda)$] су цитотоксички ефикаснији на цисплатина-резистентним 1411HP ћелијама ($IC_{50} \sim 35\text{--}40 \mu M$) у поређењу са њиховим ефектом на цисплатина-осетљивим H12.1 ћелијама ($IC_{50} \sim 58\text{--}59 \mu M$) или DLD-1 ћелијама (IC_{50} није одређена у коришћеним експерименталним условима).



Слика 16. Комплекси $Pt(IV)$ и $Pt(II)$ са R_2edda -типом лиганда

Недавно је испитивана цитотоксичност NN бидентатних платина(IV) комплекса са диетил и дипропил естрима $eddp$, као и самих естара на десет различитих туморских ћелијских линија: A2780 (јајници), A431 (грлић

материце), 518A2 (меланом), A549 (плућа), FaDu (глава и врат), HT-29, HCT-8, DLD-1, 8505C, SW480 (дебело црево) [100]. Естри су показали ниску антитуморску активност, док су комплекси показали велику активност на туморским ћелијским линијама, а највећу на A2780 и A431 линијама (Табела 4).

Табела 4. IC₅₀ вредности [μM] за Et₂eddp, Pr₂eddp, [PtCl₄(Et₂eddp)], [PtCl₄(Pr₂eddp)] и цисплатину

	Et ₂ eddp·2HCl, Pr ₂ eddp·2HCl	[PtCl ₄ (Et ₂ eddp)]	[PtCl ₄ (Pr ₂ eddp)]	цисплатина
A2780		13,78 ± 0,37	8,60 ± 0,23	0,5
A431		32,30 ± 0,21	19,62 ± 0,48	0,6
518A2		43,95 ± 2,57	17,99 ± 2,38	1,5
A549		35,06 ± 0,27	20,81 ± 0,47	1,5
FaDu	>125	48,20 ± 0,47	31,24 ± 0,45	1,2
HT-29		38,23 ± 0,90	32,80 ± 0,35	0,6
HCT-8		36,24 ± 0,31	31,78 ± 0,55	1,5
SW480		35,48 ± 2,54	26,24 ± 4,61	3,2
8505C		48,04 ± 4,76	25,23 ± 1,73	5
DLD-1		89,26 ± 1,17	49,03 ± 4,02	5

Такође је рађен тест интеракције ових комплекса са pBR322 плазмидом ДНК у одсуству, као и у присуству аскорбинске киселине, која може да редукује комплексе Pt(IV) до комплекса Pt(II) и нађено је да и Pt(IV) и Pt(II) комплекси интерагују са DNK [100]. То значи да се ови комплекси платине(IV) могу користити и као „пролекови“ и као лекови против рака.

Полазна тачка детаљнијих испитивања су резултати добијени проучавањем платина(IV) комплекса са естрима eddp према L929 и U251 ћелијама. Одређивана је активност комбинованог дејства антрахинонског деривата *алое емолина* (АЕ) са цисплатином или [PtCl₄(Bu₂eddp)] на одабраним ћелијским линијама [99]. Добијени резултати указивали су да комбиновање АЕ са цисплатином може умањити антитуморски ефекат саме цисплатине, јер се сузбија ERK-зависна ћелијска смрт. Уместо тога, комбиновањем АЕ са платинским једињењима која не захтевају ERK за сопствену цитотоксичну активност, као што је [PtCl₄(Bu₂eddp)], изгледа вредно да се размотри као алтернативни терапеутски приступ. Са друге стране, уношење АЕ у одвојено време као помоћно средство у терапији цисплатином може бити добар начин за

заштиту нормалног ткива од токсичних ефеката цисплатине [99]. *In vivo* истраживања активности ових комбинација су у току.

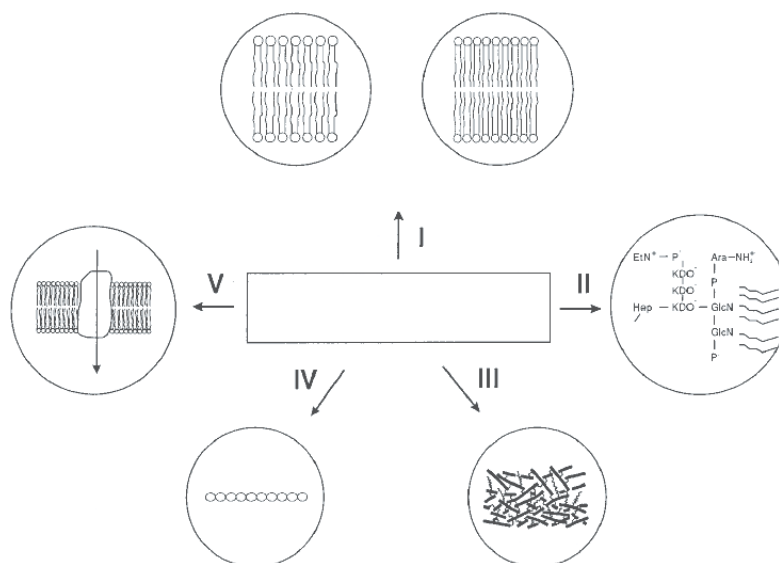
Слични комплекси платине са R₂edda уместо R₂eddp [PtCl₄(R₂edda)] (R = Me, Et и *n*-Pr), (Слика 16 б)), су такође испитивани да би се установио утицај супституента R на *in vitro* антипролиферативну активност. Испитивања су вршена на различитим туморским ћелијским линијама: 1411HP, H12.1 (канцери тестиса), DLD-1 (карцином дебелог црева), 518A2 (меланом), A549 (карцином плућа) и липосарком [14]. Активност комплекса зависи од броја угљеникових атома у естарском ланцу R– што је дужи ланац, већа је активност. Ћелијска линија карцинома дебелог црева DLD-1, резистентна на цисплатину, је била једина која не показује овакав тренд. Све ћелијске линије, изузев ћелија DLD-1, су показале ћелијску смрт апоптозом када су се користиле IC₉₀ концентрације комплекса [14]. Комплекси [PtCl₄(Et₂edda)] и [PtCl₄(Pr₂edda)] су цитотоксички ефикаснији на цисплатина-резистентним 1411HP ћелијама (IC₅₀ ~ 35–40 μM) у поређењу са њиховим ефектом на цисплатина-осетљивим H12.1 ћелијама (IC₅₀ ~ 58–59 μM) или DLD-1 ћелијама (IC₅₀ није одређена у коришћеним експерименталним условима).

2.2.5. Антимикробна активност комплекса паладијума(II)

Микроорганизми су хетерогена група организама. Својим комплексним физиолошким и биохемијским потенцијалима представљају неодвојиви део сваког екосистема и од великог су значаја за хуману популацију. Носиоци су бројних процеса значајних за развој савременог друштва. Процењује се да су се први пут појавили на Земљи пре око 3,5 милијарди година и то као *Archebacteria*. За микроорганизме се везују и најзначајније промене у еволуцији: прелаз с прокариота на еукариоте и прелаз из једноћелијских у вишећелијске организме. Ова група организама је произвела и прве молекуле кисеоника на Земљи и утицала на промену хемијског састава атмосфере, хидросфере и литосфере.

Данас постоји велики број различитих врста микроорганизама које се међусобно разликују према морфолошким, физиолошким и биохемијским

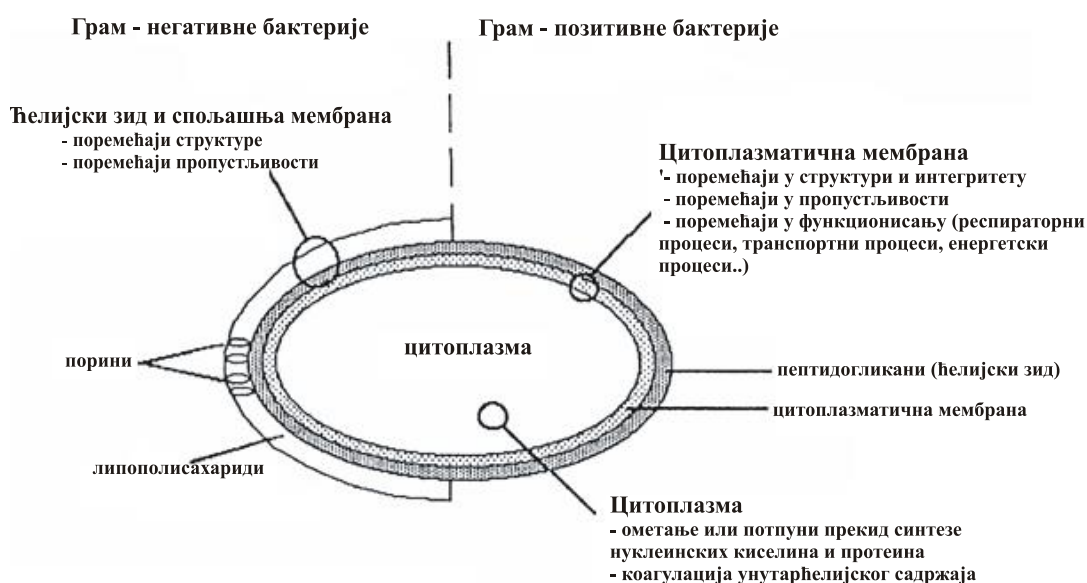
карактеристикама. При томе поред корисних микроорганизама које употребљавамо у различите сврхе, почев од прехранбене преко медицинске до биотехнолошке употребе, веома значајну групу чине патогени микроорганизми. То је посебна група микроорганизама која изазива обољења код људи. Између људи и патогених бактерија постоји дугогодишња борба. У античко време најпре су биљке коришћене за контролу и лечење хуманих болести изазваних микроорганизмима. Касније, открићем антибиотика напредовала је борба против патогених бактерија и до тада неизлечиве болести су постале излечиве. Међутим, све већом употребом антибиотика јављала се пропорционална резистентност патогених микроорганизама. Резистентност представља одбрамбени механизам микро-организама на дејство антимикуробних супстанци. Сикема (Sikkema) и сарадници (1995. године) су навели широк спектар адаптивних механизма на присуство липофилних једињења. Механизми деловања се могу заснивати на адаптацији ћелијског омотача у погледу његовог састава или функције. Адаптације на нивоу ћелијског зида дешавају се у виду промене (повећања/смањења) његове хидрофилности, што омогућава додатну баријеру за одређене супстанце (Слика 17) [101].



Слика 17. Адаптациони механизам за заштиту ћелије од токсичних ефеката липофилних једињења: (I) реструктурирање фосфолипидног двослоја променом конфигурације фосфолипида из *cis* у *trans*, или променом масних киселина у засићену форму; (II) Модификација липополисахарида. У спољашњем омотачу грам-негативних бактерија; (III) повећање повезаности конституената ћелијског зида и/или промене у његовој хидрофилности; (IV) повећање хидрофилности S-слоја; (V) активна екскреција из ћелије.

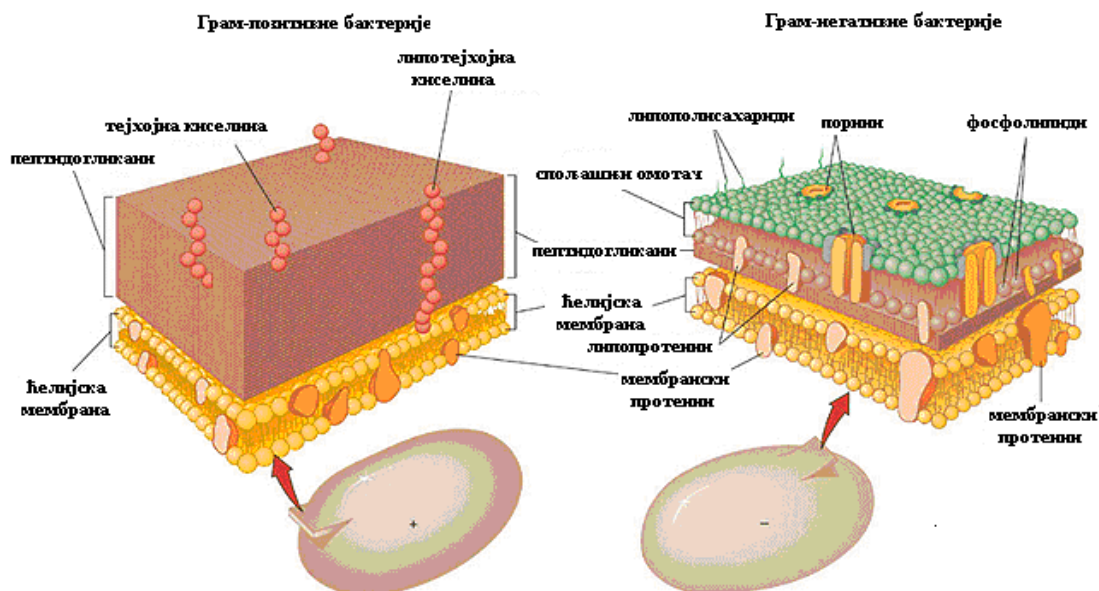
2.2.6. Механизми дејства антимикуробних једињења

Антибактеријско дејство може бити усмерено на више структура у бактеријској ћелији. Дејство може бити усмерено на ћелијски зид, цитоплазматичну мембрану, као и на унутрашњост ћелије (метаболичке процесе ћелије, тј. синтезу нуклеинских киселина и протеина) (Слика 18) [102].



Слика 18. Потенцијална места на бактеријској ћелији за дејство антимикуробних супстанци

Механизам антибактеријског дејства зависи од карактеристика циљних микроорганизама, а суштинска разлика је у различитости грађе ћелијског омотача која постоји између грам-негативних и грам-позитивних бактерија као што је приказано на Слици 19.



Слика 19. Грађа омотача грам-негативних и грам-позитивних бактерија

Грам-позитивне бактерије имају дебео ћелијски зид који је углавном изграђен од пептидогликана, што представља спољашњи слој око ћелије. Такође, у састав ћелијског зида грам-позитивних бактерија улази и тејхојна киселина. Тејхојна киселина се састоји од фосфата и алкохола: глицерола и рибитола. Због присуства тејхојне киселине наелектрисање на површини ћелијског зида је негативно. Сложена структура ћелијског зида грам-позитивних бактерија ипак не представља значајну баријеру [103]. Ћелијски зид грам-негативних бактерија осим слоја пептидогликана, који је код ових бактерија много тањи, састављен је из једног или више слојева, а садржи и спољашњи слој. Спољашњи слој ћелијског зида, који се налази изнад пептидогликанског слоја, а који се састоји се од фосфолипидног двослоја, липопротеина и липополисахарида. Функције овог слоја су вишеструке: његово негативно наелектрисање спречава деловање одбрамбеног система домаћина (фагоцитоза), као и антимикуробних супстанци (пеницилин), лизозима, детерџената, тешких метала и одређених боја [104]. Полупропустљива је и функционише као

препрека за молекуле веће од 600 Да. Хидрофобни макромолекули не могу проћи баријеру спољашњег слоја ћелијског зида грам-негативних бактерија.

Липополисахариди, који се налазе на спољашњем делу фосфолипидног слоја хидрофилни су и наелектрисани, па стога представљају додатну баријеру за хидрофобне супстанце [101,103].

Због сложеније структуре, грам-негативне бактерије поседују генерално већу отпорност на дејство различитих антимикуробних супстанци у односу на грам-позитивне бактерије [105].

Циљна места интеракције бактеријске ћелије су и ћелијска мембрана и цитоплазма ћелије.

1. **Ћелијска мембрана.** Интеракцијом липофилних једињења са фосфолипидним делом условљава промене у структури и функцији ћелијске мембране. Уколико дође до акумулације ових једињења долази до губитка интегритета ћелијске мембране, као и разних промена активности ензима мембране [101].
2. **Дејство на унутарћелијске процесе.** Дејство антимикуробних супстанци може утицати и на унутарћелијске процесе у које спадају ометање или потпуни прекид репликације и коагулације унутар ћелијског садржаја [99]. У неким случајевима може доћи до процеса самоуништења ћелија, који је последица метаболичког дисбаланса. Аутоцидни процеси настају као последица два механизма дејства: акумулације слободних радикала и поремећаја јонске хомеостазе [102].

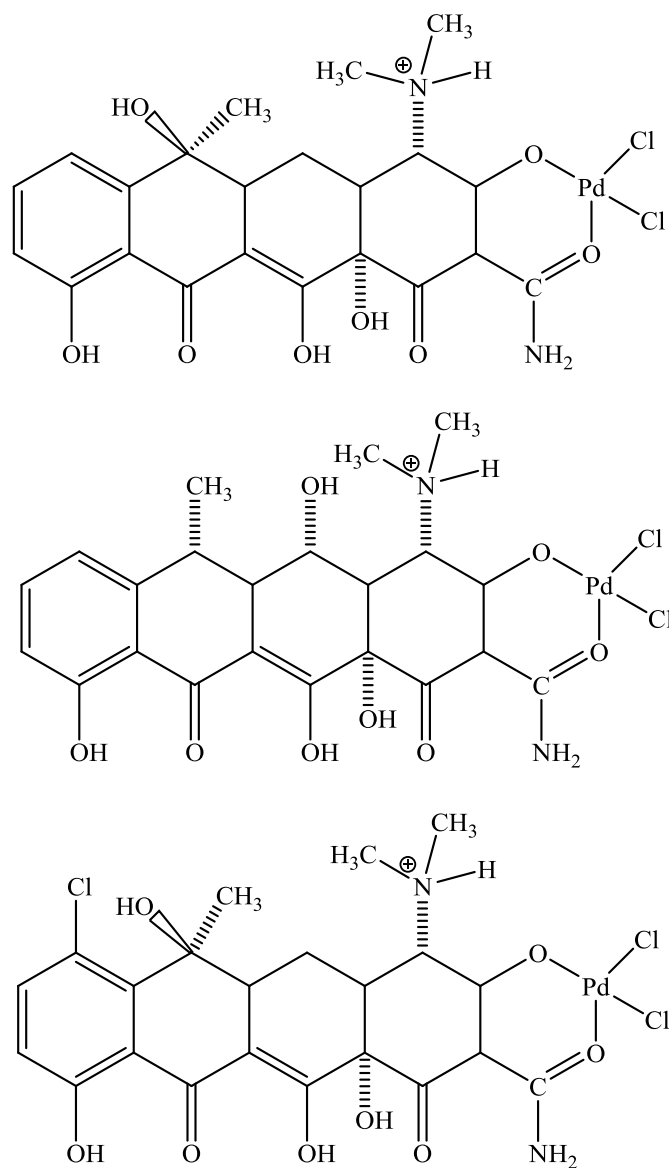
Микроорганизми, који могу изазвати болести, спадају у групу патогених микроорганизама, а квантитативна мера те способности зове се вируленција [106].

Карактеристике којима се патогени микроорганизми разликују у односу на непатогене јесу поседовање једног или више фактора вируленције у које спадају: способност микроорганизама да продре у домаћина, способност адхеренције и колонизације (инвазивност), способност избегавања имуног одговора домаћина и способност продукције токсина [107].

2.2.7. Развој нових антимикуробних једињења

Микроорганизми су развили бројне одбрамбене механизме на дејство разних антимикуробних супстанци. То је довело до пораста инфекција изазваних резистентним или мање осетљивим бактеријама. Такође, инфекције изазване патогеним бактеријама *Candida albicans* и *Aspergillus sp.* су у све већем порасту. То је навело многе научнике на проналажење нових антимикуробних агенаса који се могу ефикасно применити у борби против инфекција. Најпре су извор разних истраживања била природна једињења, а касније се радило на синтези нових једињења која би показала бољу антимикуробну активност. Значајно антибактеријско и антифунгално дејство такође су показали и многи комплекси прелазних метала. Бројни синтетисани комплекси паладијума(II) су показали значајну антибактеријску активност, као и утицај на раст и метаболизам различитих група микроорганизама.

Гуера (Guerra) и сарадници [108] су приказали синтезу три комплекса паладијума(II) (Слика 20) са антибиотицима из групе тетрациклина и испитивали њихов утицај на тетрациклин осетљиве и резистентне бактеријске сојеве.



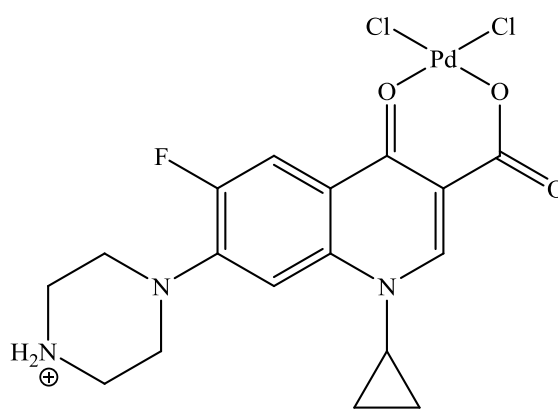
Слика 20. Паладијум(II)-јон координан за антибиотике из групе тетрациклина

Том приликом је показано да комплекс паладијума(II) са тетрациклином показује 16 пута бољу активност на резистентни сој *Echerichia coli* HB101/pBR322 у поређењу са тетрациклином.

Виера (Viera) и сарадници [109] су 2009. године приказали синтезу и антимикробну активност комплекса паладијума(II) са биолошки активним

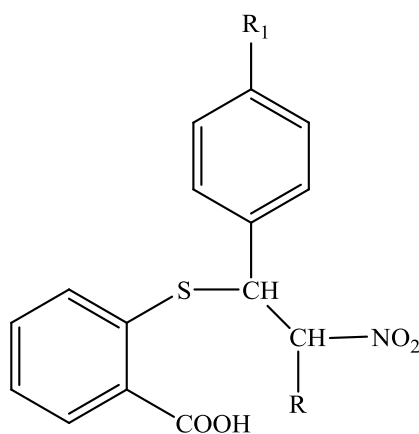
лигандом флуорохинолином (Слика 21), при чему је забележена значајна активност комплекса на бактерију *Mycobacterium tuberculosis* вирулентни сој. Флуорохиолин и други биолошки активни молекули коришћени су као лиганди за координовање и за друге металне јоне, који су такође условљавали већу антимикуробну активност.

У литератури постоје бројни радови са синтетисаним комплексима паладијума(II) који су показали значајну активност на различите врсте бактерија и гљива [110-115].



Слика 21. Паладијум(II) комплекс са флуорохинолином као лигандом

Многа ранија истраживања су показала да ароматична и хетероциклична група тиостра игра значајну улогу у антимикуробној активности. Бројна једињења овог типа су синтетисана и испитана је њихова антибактеријска и антифунгална активност [116-119]. Њихова активност забележена је на бактеријама *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Многи научници инспирисани оваквим резултатима испитивали су антимикуробну активност S-алкил деривата тиосалицилне киселине [120] (Слика 22). Њихова антибактеријска и антифунгална активност испитана је микродилуционом методом на различитим бактеријским сојевима *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*, док је *in vitro* антифунгална активност испитивана на *Candida albicans* и *Candida krusei*.



Слика 22. Структура деривата тиосалицилне киселине

2.3. МЕТОДЕ ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ СТРУКТУРЕ КОМПЛЕКСА МЕТАЛА СА ЛИГАНДИМА EDDA-ТИПА

За одређивање структуре лиганата *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината типа и комплексе који садрже *O,O'*-диалкил естре edda-типа успешно су коришћене спектроскопске методе: нуклеарно-магнетно-резонанциона (NMR) и инфрацрвене спектоскопија (IR) као и рендгенска структурна анализа.

2.3.1. Нуклеарно-магнетно-резонанциона спектроскопија

Претпостављена координација лиганата прекурсора потврђена је применом протонске нуклеарно-магнетно-резонанционе спектроскопије. За одговарајуће платина(IV) и паладијум(II) комплексе у ^1H NMR спектрима сигнали за метилenske протоне етилендиаминског дела молекула из edda-типа лиганда су померени ка вишем магнетном пољу (3,00-3,50 ppm) у односу на спектре одговарајућих лиганата R_2 -edda (на око 3,00 ppm) што указује на координацију азотових атома за централни метални јон. Присуство по два сета

сигнала у спектрима комплекса паладијума(II) указује на постојање дијастереоизомера што је очекивано према DFT прорачунима рађеним за слична једињења [14].

У ^{13}C NMR спектрима комплекса сигнали за естарске угљеникове атоме налазе се на приближно истим вредностима као у спектрима одговарајућих лиганата, што потврђује да није дошло до координације кисеоникових атома за централни метални јон.

2.3.2. Инфрацрвена спектроскопија

У инфрацрвеним спектрима изолованих естара уочене су важне апсорпционе траке: за секундарне амонијумове соли $\nu(\text{R}_2\text{NH}_2^+)$, за алкил групе $\nu(\text{CH}_2)$, естарске групе $\nu(\text{C}=\text{O})$ и $\nu(\text{C}-\text{O})$.

Приликом координовања за централни метални јон долази до формирања секундарне амино групе. N-H валенционе вибрације у комплексима са координованим лигандима edda-типа се налазе у области $3460\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$.

Као критеријуми за разликовање координованих од некоординованих карбоксилних група у инфрацрвеним спектрима користи се положај фреквенција асиметричних валенционих вибрација ових група [121-123]. Асиметричне валенционе вибрације протонованих карбоксилних група налазе се у области од 1750 до 1700 cm^{-1} , а у случају координовања померају се ка нижим фреквенцијама, односно налазе се у области $1650\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$.

2.4. ЦИЉ И ЗАДАТАК ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Комплекси прелазних метала са тетрадентатним и бидентатним лигандима edda-типа (edda = анјон етилендиамин-*N,N'*-дисирћетне киселине) и њихових деривата предмет су изучавања многих истраживача већ дужи низ година.

Шездесетих година прошлог века испитивана је медицинска примена лиганада овог типа у циљу елиминације јона тешких метала приликом оралног тровања. Иако се лиганди, пре свега сам edda као и edta (edta = анјон етилендиаминтетрасирћетне киселина), чији је edda лиганд фрагмент, примењују у медицини у наведену сврху, имају ограничену примену с обзиром да обављају неселективну елиминацију јона метала. Поред елиминације јона метала који су изазвали тровање, из организма се излучују и јони метала који су неопходни за нормално функционисање организма.

Откриће антитуморских особина цисплатине и сличних комплекса платине(II) је повећало интересовање за добијање још ефикаснијих лиганада и комплекса. Све веће интересовање било је за платину(IV) комплексе због мање токсичности. Поред платинских комплекса синтетисани су и паладијум(II) комплекси, аналози цисплатине, који су коришћени у клиничким испитивањима против тумора. Иако првобитни резултати нису били охрабрујући, комплекси паладијума су много шире проучавани. Паладијум(II) комплекси су скоро увек показивали мању антитуморску активност од цисплатине због своје велике лабилности. Да би се ови проблеми превазишли, многа истраживања су била усмерена ка употреби хелатних лиганада који би умањили реактивност паладијум(II) комплекса. До сада је синтетисан мали број комплексних једињења паладијума(II) са диалкил естрима edda-типа као бидентатним лигандима.

Имајући у виду значај комплекса прелазних метала, у оквиру ове *Докторске дисертације* предвиђена је синтеза и карактеризација неких

лиганада edda-типа, њихових O,O' -диалкил-естара као и одговарајућих платине(IV) и паладијума(II) комплекса.

У том циљу у оквиру ове *Докторске дисертације* предвиђени су следећи задаци:

- Синтетисати тетрадентатни лиганд 1,3-пропандиамин- N,N' -ди- (S,S) -2-пропанске киселине, $(H_2-(S,S)-pddp)$
- Синтетисати неке O,O' -диалкил естре тетрадентатног лиганда 1,3-пропандиамин- N,N' -ди- (S,S) -2-пропанске киселине, $(R_2-(S,S)-pddp)$
- Синтетисати тетрадентатни лиганд етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) -(2,2'-дибензил)етанске киселине, $(H_2-(S,S)-eddba)$
- Синтетисати неке O,O' -диалкил естре тетрадентатног лиганда етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) -(2,2'-дибензил)етанске киселине, $(R_2-(S,S)-eddba)$
- Синтетисати одговарајуће платине(IV) и паладијум(II) комплексе са O,O' -диалкил естрима $H_2-(S,S)-eddba$ лиганда
- Састав добијених лиганада и комплекса утврдити на основу резултата елементалне микроанализе
- Структуру лиганада и награђених комплекса предвидети на основу њихових инфрацрвених и нуклеарно-магнетно-резонанционих спектра, где год је то могуће
- Структуру лиганада и награђених комплекса потврдити на основу рендгенске структурне анализе, где год је то могуће
- Испитати потенцијалну биолошку активност награђених лиганада и одговарајућих комплекса

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

3.1. СИНТЕЗЕ ЛИГАНАДА

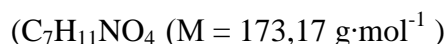
3.1.1. Синтеза (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

(2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанска киселина је синтетисана на основу модификованог раније описаног поступка [124].

У раствор који је добијен растварањем 30,36 g (0,3 mol) калијум-хидрогенкарбоната у 60 cm³ воде лагано се, у малим порцијама додаје 8,90 g (0,1 mol) S-аланина. Раствор се рефлуктује уз укапавање 2,02 g (0,01 mol) 1,3-дибромпропана, раствореног у 20 cm³ етанола, током 1 сата. Раствор се рефлуктује још 5 сати. Охлађена реакциона смеша се процеди и упарава до 60 cm³. рН раствора се подеси на 3,5 додавањем раствора HCl (1:1). Након стајања у фрижидеру током ноћи издвоји се талог беле боје који се процеди, испере са етанолом и етром, и суши изнад калцијум-хлорида. Принос: 5,60 g (32,00%).

Резултати елементалне микроанализе

за (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанску киселину



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	48,55	8,09	6,40
Нађено:	47,98	8,13	6,40

3.1.2. Синтеза O-алкил-N-(3-хлоропропил)-(2S)-аланината монохлорхидрата

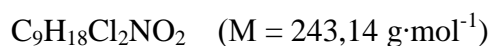
У 50,00 cm³ апсолутног алкохола (1-пропанола, 1-бутанола), засићеног гасовитим хлороводоником, раствори се 1,5 g (8,7 mmol) (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанонске киселине и меша уз рефлуктовање такође за време од 12 сати. Добијени раствор се охлади до собне температуре, процеди, а

добијени филтрат остави да стоји у фрижидеру током два дана. Добијени бели талог се одвоји цеђењем и испере са етром [124].

Принос за *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланинат монохлорхидрат :
1,133 g (53,60 %)

Резултати елементалне микроанализе

за *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата:

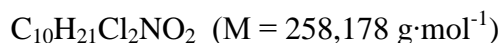


	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	44,27	5,74	7,84
Нађено:	44,17	5,74	8,57

Принос за *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланинат монохлорхидрат:
1,515g (67,45 %)

Резултати елементалне микроанализе

за *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата:

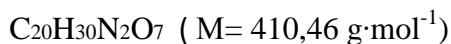


	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	46,52	5,34	8,20
Нађено:	45,92	5,43	8,95

3.1.3. Синтеза етилендиамин-*N,N'*-ди-*S,S*-(2,2'-добензил)етанске киселине трихидрата, H_2 -(*S,S*)-eddba·3H₂O

8,26 g (5,00 mmol) *S*-фенилаланина и 2,0 g (5 mmol) NaOH растворени су у 40,00 cm³ воде. Реакциона смеша се рефлуктује за време од 5 сати, у малим порцијама додаје се 2,20 cm³ (1,2 g , 2,5 mmol) диброметана и 2,65g (2,5 mmol) натријум-карбоната. Раствор се остави у фрижидеру преко ноћи, при чему се таложи етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етанска киселина трихидрат, H_2 -(*S,S*)-eddba·3H₂O, као бели прах, који се процеди, испере са водом, са етанолом, етром и суши на ваздуху [126]. Принос: 7,497g (73,09 %).

Резултати елементалне микроанализе за $H_2-(S,S)$ -eddba·3H₂O:



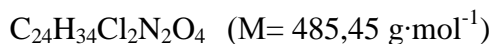
	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	58,52	6,83	7,37
Нађено:	58,74	6,99	7,45

3.1.4. Синтеза O,O' -диалкил естара етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) - (2,2'-добензил)етанске киселине дихлорхидрата, $R_2-(S,S)$ -eddba·2HCl (L1- L4)

У 50,00 cm³ апсолутног алкохола (етанола, 1-пропанола, 1-бутанола, 1-пентанола), засићеног гасовитим HCl, раствори се 1,5 g (3,65 mmol) $H_2-(S,S)$ -eddba·3H₂O и меша уз рефлуктовање за време од 12 сати. Добијени раствор се охлади до собне температуре, процеди, а добијени филтрат остави у фрижидеру преко ноћи. Добијени бели талог се процеди и суши на ваздуху.

Принос за O,O' -диетил-етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) -(2,2'-добензил)етаноат дихлорхидрат, *det*-(S,S)-eddba·2HCl (L1): 0,502g (29,56 %).

Резултати елементалне микроанализе за *det*-(S,S)-eddba·2HCl (L1):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	59,38	5,77	7,06
Нађено:	59,21	5,78	7,06

Принос за O,O' -дипропил-етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) -(2,2'-добензил)етаноат дихлорхидрат, *dpr*-(S,S)-eddba·2HCl (L2): 1,005g (55,93 %).

Резултати елементалне микроанализе за *dpr*-(S,S)-eddba·2HCl (L2):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	60,81	5,46	7,46
Нађено:	60,47	5,24	7,33

Принос за *O,O'*-дибутил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)etanoat дихлорхидрат, *dbu*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl (**L3**): 0,827g (43,63 %).

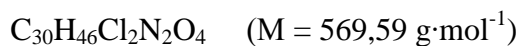
Резултати елементалне микроанализе за *dbu*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl (**L3**):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	62,10	5,17	7,82
Нађено:	62,11	4,99	8,08

Принос за *O,O'*-дипентил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)etanoat дихлорхидрат, *dpe*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl (**L4**): 0,612g (32,29%).

Резултати елементалне микроанализе за *dpe*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl (**L4**):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	63,26	4,92	8,14
Нађено:	63,55	5,30	8,49

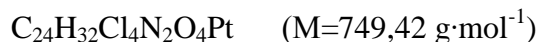
3.2. СИНТЕЗЕ КОМПЛЕКСА

3.2.1. Синтеза тетрахлоро-(*O,O'*-диалкил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)etanoat)-платина(IV), [PtCl₄(R₂-(*S,S*)-*eddba*)] (C1- C4)

Раствори се 0,10 g (0,206 mmol) калијум-хексахлороплатината(IV) и (0,206 mmol) R₂-(*S,S*)-*eddba* ·2HCl (0,100 g *det*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl; 0,106 g *dpr*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl; 0,112 g *dbu*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl; 0,118 g *dpe*-(*S,S*)-*eddba*·2HCl) у 15,00 cm³ воде. Реакциона смеша се загрева на 40°C у току 12 сати и у њу се, у малим порцијама, дода 3,92 cm³ воденог раствора 0,105 mol/dm³ LiOH·H₂O (0,412 mmol). Комплекси су добијени у виду жуто-наранџастих талоба, који су издвојени цеђењем, а потом испрани водом, одговарајућим алкохолом и етром, и на крају сушени на ваздуху.

Принос за тетрахлоро-(*O,O'*-диетил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-ди-бензил)етаноат)-платина(IV), [PtCl₄(det-(*S,S*)-eddba)] (**C1**): 0,096g (64,05%).

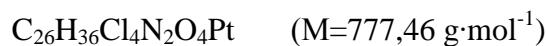
Резултати елементалне микроанализе за [PtCl₄(det-(*S,S*)-eddba)] (**C1**):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	38,46	3,74	4,30
Нађено:	38,37	3,35	4,49

Принос за тетрахлоро-(*O,O'*-дипропил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноат)-платина(IV), [PtCl₄(dpr-(*S,S*)-eddba)] (**C2**): 0,119g (76,53 %).

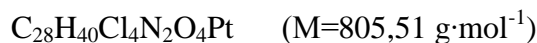
Резултати елементалне микроанализе за [PtCl₄(dpr-(*S,S*)-eddba)] (**C2**):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	40,16	3,60	4,67
Нађено:	40,53	3,61	4,62

Принос за тетрахлоро-(*O,O'*-дибутил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноат)-платина(IV), [PtCl₄(dbu-(*S,S*)-eddba)] (**C3**): 0,104 g (64,55 %).

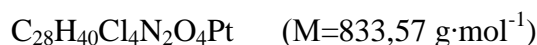
Резултати елементалне микроанализе за [PtCl₄(dbu-(*S,S*)-eddba)] (**C3**):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	41,75	3,48	5,01
Нађено:	41,34	3,45	5,40

Принос за тетрахлоро-(*O,O'*-дипентил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноат)-платина(IV), [PtCl₄(dbu-(*S,S*)-eddba)] (**C4**): 0,082g (49,19%).

Резултати елементалне микроанализе за [PtCl₄(dbu-(*S,S*)-eddba)] (**C4**):



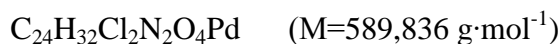
	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	43,32	3,36	5,32
Нађено:	43,10	3,36	4,98

3.2.2. Синтеза дихлоро-(*O,O'*-диалкил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноата)-паладијум(II), [PdCl₂(R₂-(*S,S*)-eddba)], (C'1- C'4)

Комплекси паладијума(II) су добијени мешањем 10,00 cm³ воденог раствора 0,10 g калијум-тетрахлоропаладата(II) (0,306 mmol) и одговарајућих лиганата R₂-(*S,S*)-eddba · 2HCl (0,148 g det-(*S,S*)-eddba · 2HCl; 0,1573 g dpr-(*S,S*)-eddba · 2HCl; 0,1657g dbu-(*S,S*)-eddba · 2HCl; 0,1743 g dpe-(*S,S*)-eddba · 2HCl) (0,306 mmol). Током мешања од 2 сата у реакциону смешу се укапава 10,00 cm³ воденог раствора LiOH · H₂O (0,0257 g, 0,612 mmol). Након укапавања добијени су жути талози, који се процеде, исперу са мало ледене воде и осуше на ваздуху.

Принос за дихлоро-(*O,O'*-диетил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноат)-паладијум(II), [PdCl₂(det-(*S,S*)-eddba)] (C'1): 0,120g (66,48 %).

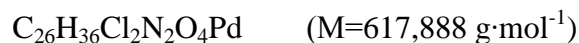
*Резултати елементалне микроанализе за [PdCl₂(det-(*S,S*)-eddba)] (C'1):*



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	48,87	4,75	5,47
Нађено:	48,42	4,82	5,51

Принос за дихлоро-(*O,O'*-дипропил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноат)-паладијум(II), [PdCl₂(dpr-(*S,S*)-eddba)] (C'2): 0,139g(73,54 %).

*Резултати елементалне микроанализе за [PdCl₂(dpr-(*S,S*)-eddba)]:*



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	50,54	4,53	5,87
Нађено:	50,51	4,48	5,94

Принос за дихлоро-(*O,O'*-дибутил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етаноат)-паладијум(II), [PdCl₂(dbu-(*S,S*)-eddba)] (C'3) : 0,114 g (57,86 %).

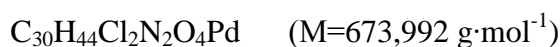
Резултати елементалне микроанализе за $[PdCl_2(dbu-(S,S)-eddba)]$ (C'3):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	52,06	4,34	6,24
Нађено:	52,31	4,41	6,12

Принос за дихлоро(*O,O'*-дипентил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил) етаноат)-паладијум(II), $[PdCl_2(dpe-(S,S)-eddba)]$ (C'4) : 0,127g (69,24 %).

Резултати елементалне микроанализе за $[PdCl_2(dpe-(S,S)-eddba)]$ (C'4):



	C (%)	N (%)	H (%)
Израчунато:	53,46	4,16	6,58
Нађено:	53,98	4,38	5,94

3.3. МЕРЕЊА

3.3.1. Елементална микроанализа

Елементалне микроанализе (C, H, N) су урађене уз помоћу Vario EL III C, H, N Elementar Analyzer.

3.3.2. 1H и ^{13}C нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри

Снимање ових спектра вршено је помоћу спектрофотометра Varian "Gemini-200" (200 MHz) NMR користећи D_2O (за (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанску киселину и $H_2-(S,S)-eddp$), $CDCl_3$ (за *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрате), и DMSO (за платинске комплексе и за паладијумске комплексе) као раствараче. Хемијска померања су дата у односу на TMS (триметилсилан), употребом DDS као интерног стандарда.

3.3.3. Инфрацрвени спектри

Инфрацрвени спектри снимљени су помоћу спектрофотометра Perkin-Elmer FTIR 31725X и Perkin-Elmer Spektrum One FTIR (КВr-техника), (4000-300 cm^{-1}).

3.3.4. РЕНДГЕНСКА СТРУКТУРНА АНАЛИЗА

3.3.4.1. Рендгенска структурна анализа (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

Кристали (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине погодни за рендгенску структурну анализу добијени су кристалисањем из воденог раствора.

Табела 5. Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

Формула	$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_4$	Измерене рефлек.	23177
M	173,17	Независне рефлек.	1172
Кристални систем	Орторомбичан	Опажане рефлек.	1103
Просторна група	$P2_12_12_1$	T_{\min}	0,938
a (Å)	5,3662(2)	T_{\max}	0,983
b (Å)	9,5723(9)	Критеријум	$I > 2\sigma(I)$
c (Å)	15,1906(14)	Број параметара	142
V (Å ³)	779,71(11)	$\Delta\rho_{\min}, \Delta\rho_{\max}(\text{e} \text{ \AA}^{-3})$	-0,196-0,283
Z	4	R_{int}	0,0291
$D_c (\text{Mg} \cdot \text{m}^{-3})$	1,475	$\Theta_{\max} (^\circ)$	28,50
$\mu (\text{mm}^{-1})$	1,113	$R [F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0,0263
Вел. крист. (mm)	0,23x 0,21 x 0,14	$R_w(F^2)$	0,0666
Модуо скенирања	ω/θ	S	1,084

3.3.4.2. Рендгенска структурна анализа *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

Погодни кристали за рендгенску структурну анализу су добијени након рекристализације пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата из воде, након додатка мале количине натријум-хидроксида и стајањем раствора неколико дана на собној температури.

Подаци су добијени на собној температури на Oxford Diffraction Xcalibur Опух S дифрактометру користећи $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$) зрачење. Потом су подаци обрађени са CrysAlis софтвером [127], а апсорпција је коригована аналитичко-нумеричком методом [128]. Кристална структура је решена директним методама, користећи Sir2008 [129] и SHELXL програме [130].

Кристалографски подаци и подаци везани са решавање структуре комплекса пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата дати су у Табели 6.

Табела 6. Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре комплекса *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

Формула	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{NO}_2$	Модуо скенирања	ω/θ
М	243,14	Измерене рефлекс.	4039
Кристални систем	Моноклиничан	Независне рефлекс.	2398
Просторна група	$P2_1$	Опажане рефлекс.	1848
a (Å)	5,4456 (3)	T_{\min}	0,794
b (Å)	10,0655 (5)	T_{\max}	0,925
c (Å)	12,2423 (8)	Критеријум	$I > 2\sigma(I)$
V (Å ³)	666,04 (7)	Број параметара	131
Z	2	$\Delta\rho_{\min}, \Delta\rho_{\max}$ (e Å ⁻³)	-0,25-0,27
D_x (Mg m ⁻³)	1,212	R_{int}	0.027
μ (mm ⁻¹)	4,23	Θ_{\max} (°)	70,8
Вел. крист. (mm)	$0,09 \times 0,07 \times 0,02$	S	1,01

3.3.4.3. Рендгенска структурна анализа *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

Погодни кристали за рендгенску структурну анализу су добијени након рекристализације пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата из воде, након додатка мале количине натријум-хидроксида и стајањем раствора неколико дана на собној температури.

Подаци су добијени на собној температури на Oxford Diffraction Xcalibur Gemini S дифрактометру користећи $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$) зрачење. Потом су подаци обрађени са CrysAlis софтвером [127], а апсорпција је коригована аналитичко-нумеричком методом [128]. Кристална структура је решена директним методама, користећи Sir2002[129] и SHELXL програме[130].

Кристалографски подаци и подаци везани са решавањем структуре бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата дати су у Табели 7.

Табела 7. Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

Формула	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{NO}_2$	Измерене рефлекс.	8742
<i>M</i>	258,18	Независне рефлекс.	2903
Кристални систем	Орторомбичан	Опажане рефлекс.	2226
Просторна група	$P2_12_12$	T_{\min}	0,063
<i>a</i> (Å)	7,2650 (4)	T_{\max}	0,891
<i>b</i> (Å)	14,8864 (7)	Критеријум	$I > 2\sigma(I)$
<i>c</i> (Å)	13,3082 (10)	Број параметара	140
<i>V</i> (Å ³)	1439,28 (15)	$\Delta\rho_{\min}, \Delta\rho_{\max} (\text{e \AA}^{-3})$	-0,26-0,31
<i>Z</i>	4	R_{int}	0.036
D_x (Mg m ⁻³)	1,191	θ_{\max} (°)	87,0
μ (mm ⁻¹)	3.939	$R [F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0,051
Вел. крист. (mm)	0,19 × 0,06 × 0,04	$R_w(F^2)$	0,163
Модуо скенирања	ω/θ	<i>S</i>	1,010

3.3.4.4. Рендгенска структурна анализа *O,O'*-дипропил- етилендиамин-*N,N'*-ди-*(S,S)*-(2,2'-дибензил)етаноат дихлорхидрат, *dpr-(S,S)-eddba·2HCl (L2)*

Погодни кристали *dpr-(S,S)-eddba·2HCl* за рендгенску структурну анализу су добијени након рекристализације из апсолутног 1-пропанола и стајањем раствора неколико дана на собној температури.

Кристалографски подаци су добијени снимањем одабраног кристала *dpr-(S,S)-eddba·2HCl*, на собној температури, на Oxford Diffraction Xcalibur Gemini S дифрактометру користећи $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$) зрачење. Потом су подаци обрађени са CrysAlis софтвером, а апсорпција је коригована аналитичко-нумеричком методом [128].

Кристална структура је решена директним методама, користећи Sir2002 [129] и побољшана коришћењем full-matrix least-squares израчунавањима користећи SHELXL [130]. Софтвери коришћени за припремање материјала са штампање су: WinGX [131], PLATON [132], PARST [133]. Кристалографски подаци и подаци везани за решавање структуре *dpr-(S,S)-eddba·2HCl* дати су у Табели 8.

Табела 8. Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре комплекса *dpr-(S,S)-eddba·2HCl*

Формула	$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$	Модуо скенирања	ω/θ
M ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	513,48	Измерене рефлек.	10544
Кристални систем	Моноклиничан	Независне рефлек.	5288
Просторна група	$P2_1$	Опажане рефлек.	1514
a (\AA)	5,2333(5)	T_{\min}	0,749
b (\AA)	15,577 (2)	T_{\max}	0,979
c (\AA)	16,8148 (19)	Критеријум	$I > 2\sigma(I)$
V (\AA^3)	1366,5 (3)	Број параметара	307
Z	2	R_{int}	0,0724
D_x (Mg m^{-3})	1,248	θ_{\max} ($^\circ$)	73,9
μ (mm^{-1})	2,401	$R_w(F^2)$	0,1162
Вел. крист. (mm)	$0,26 \times 0,04 \times 0,01$	S	0,798

3.4. БИОЛОШКА МЕРЕЊА

3.4.1. Антитуморска активност

3.4.1.1. Ћелијска линија

Као циљна ћелијска линија у нашем раду коришћена је ССЛ (ћелије хроничне В лимфоцитне леукемије изоловане из периферне крви оболелих).

Хронична В лимфоцитна леукемија, CLL-В је најчешћа хронична леукемија одраслих у земљама Европе и Северне Америке. Карактерише се акумулацијом на изглед зрелих В лимфоцита (IgM, IgD, CD23, CD19, CD20, CD5) у крви, лимфним чворовима, костној сржи, што је праћено леукоцитозом, лимфаденопатијом, хепатоспленомегалијом дисфункцијом костне сржи, рекурентним инфекцијама и често аутоимунским поремећајима (16 ревијски приказ). Око 80% CLL је удружено са карактеристичним хромозомским абериацијама (13q14 који садрже 2 miRNA mir-15a mir16-1; 11q23 који кодира АТМ; 17p13 који кодира p53). Такође присутне су епигенетске промене: хипометилација BCL-2; метилација промотора за DAPK1, молекула који у случају стреса ћелије, недостатка фактора раста изазива апоптозу или аутофагију у зависности од ћелије и окружења [134].

Свака терапијска мера CLL праћена је развојем резистенције. Резистенција CLL ћелија је за сада најбоље повезана са делецијом или абериацијом p53, пацијенти који имају мутације у овом гену су резистентни на терапију и имају лошу прогнозу [135]. Резистенцији доприноси и целуларно микроокружење, CLL ћелије по изолацији из пацијента врло брзо улазе у апоптозу. CLL интерагују са ћелијама и солубилним факторима у лимфном чвору и тако добијају пролиферативне и антиапоптотичне сигнале.

Показано је да је интеракција CD40:CD40L поред сигнала са BCR-а важна за пролиферацију CLL ћелија. *In vitro* се развија 100 пута јача резистенција на Bcl-2 инхибиторе ако се CLL ћелије култивишу са ћелијама које имитирају њихово природно микроокружење [136,137].

3.4.1.2. Припремање раствора лекова

Тетрахлоро-(*O,O'*-диалкил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2дибензил)ета-ноат)-платине(IV), [PtCl₄(R₂-(*S,S*)-eddba)] комплекси су растворени у DMSO у концентрацијама од 40 mM и филтрирани кроз 0.22 mm Милипор филтер. Ови раствори штокова, пре коришћења, разблажени су у храњивом медијуму до одговарајућих концентрација. Шток раствори су разблажени у медијуму непосредно пре употребе. За храњиви медијум коришћен је RPMI-1640 допуњен са стрептомицином (100 mg/cm³), пеницилином (100 IU/cm³) и 10% инактивисаним серумом говечета (FBS).

МТТ, 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромид(5 mg/cm³) растворен је у фосфатном пуферу на рН 7,2, и филтриран кроз Милипор филтер пре коришћења. Сви раствори су набављени комерцијално.

3.4.1.3. Третман ћелијских линија

Ћелије хроничне лимфоцитне леукемије (CLL) изоловане су из узорка крви јетре пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом који нису примали терапију током предходних шест месеци. CLL су раздвојене континуираним један корак густина-градиент центрифугирањем са Histopaque 1077 (Sigma).

Ћелије су испране три пута са раствором културе RPMI 1640 и коначно ресуспендоване у RPMI 1640 допуњеног са 10% FBS, 100 IU/cm³ пеницилином G and 100 mg/cm³ стрептомицином. Број ћелија и вијабилност су израчунате помоћу трипан плаве мрље. Истраживања су одобрена од стране Етичког комитета Клиничког Центра "Крагујевац". Пацијенти су потписали сагласност.

3.4.1.4. МТТ тест

Токсични ефекти три [PtCl₄(R₂-(*S,S*)-eddba)] комплекса на CLL ћелије су одређени користећи МТТ колориметријску технику. МТТ тест одређује на

основу процене активност митохондријалне дехидрогеназе и зависи од процента живих ћелија [138,139]. МТТ је преводи у формазан у живим ћелијама, и интензитет боје је директно пропорционалан митохондријалној активности. Кратко, CLL ћелије (5×10^5 ћелија/ 0.1 cm^3) стављене су у индивидуалне бунариће у микротитру са 96 бунарића у RPMI 1640 допуњених са 10% FBS и инкубиране у присуству $0,1 \text{ cm}^3$ $[\text{PtCl}_4(\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba})]$ комплекса, у варијацијама концентрација ($0\text{-}100 \text{ }\mu\text{mol/dm}^3$) на 37°C у, присуству 5% CO_2 за 24 h. Током инкубације, вишеслојне су исталожене, плута је уклоњена, МТТ раствор (5 mg/cm^3 у PBS, растворен 10 пута у RPMI 1640) је додат у сваки бунарчић и плоче су инкубиране за додатна 4 сата. Плоче су протрешене на 10 минута. Оптичка активност сваког бунарчић је одређивана на 595 nm користећи мултифункционалним читач микротитар плоча Zenyth 3100.

Процент цитотоксичности израчунаван је на основу формуле: % вијабилних ћелија = $(\text{Е}-\text{Б})/(\text{К}-\text{Б}) \times 100$, Е-означава отвор са испитиваним супстанцама; Б-слепа проба; К-отвор са нетретираним ћелијама.

IC_{50} вредности су израчунате из дозно-зависних крива користећи 10 репрезентативних представника триплицат тестова.

3.4.2. Антимикробна активност

3.4.2.1. Антибиотици

Коришћени антибиотици су комерцијални производи (цефтраксон и ванкомицин) (Галеника А.Д. Београд).

Испитиване супстанце, лиганди и паладијум(II) комплекси су растворени у DMSO, а затим разблажени са физиолошким раствором да би се постигла концентрација ДМСО-а од 10%. Антибиотици, ванкомицин и цефтриаксон (Галеника А.Д. Београд), су растворени са физиолошким раствором (Торлак, Београд) [130, 140].

Припрема шток раствора постигнута је по наредном алгоритму: 1 милиграм испитиване супстанце растворен је у 50 микролитара DMSO -а, на тај начин добили смо раствор концентрације $20.000 \text{ }\mu\text{g/cm}^3$. Да бисмо добили 10%

раствор DMSO у тако растворену супстанцу додали смо 450 μdm^3 физиолошког раствора (шток раствор - 2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$).

3.4.2.2. Микроорганизми

Антимикробно деловање 4 лиганда и 4 паладијум(II) комплекса и антибиотика обављено је на 5 врста референтних сојева бактерија (**American Tupe Culture Collection [ATCC]**) и један клинички изолат: *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, и клинички изолат *Proteus vulgaris*. Клинички изолат и референтни сојеви су великодушни поклон Завода за јавно здравље Врање.

3.4.2.3. Припрема бактеријске суспензије (McFarland 0,5)

Суспензија бактерија густине McFarland 0,5 била је направљена методом директних колонија. Колоније су биле директно узете са плоче и растворене у 5 cm^3 стерилног физиолошког раствора, 0.85% NaCl. Мутноћа суспензије подешена је под контролом ока упоређивањем са 0.5 McFarland standardom (0.5 cm^3 1.17% w/v $\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ + 99.5 cm^3 1% w/v H_2SO_4) (Andrews, 2005), што обезбеђује 1×10^8 до $1,5 \times 10^8$ CFU/ cm^3 . Од припремљене бактеријске суспензије концентрације 1×10^8 CFU/ cm^3 узето је 100 μdm^3 и стављено у епрувету са 2000 μdm^3 физиолошког раствора. Добијена је концентрација бактерије од 5×10^6 CFU/ml. Онда је по 10 μdm^3 (5×10^4 бактерија) инокулисано у све бунарчиће микротитар плоче. Финална концентрација у бунарчићу је 5×10^5 CFU/ cm^3 .

Ради евалуације броја бактерија засејено је на хранљивом агару 10 μdm^3 (10 μdm^3 (5×10^4 бактерија) припремљеног инокулума претходно разређеног са 5000 μdm^3 физиолошког раствора (10^4 CFU/ cm^3)). Плоче су инкубиране 24 х на 37°C. Очекивани број колонија бактерија је 100.

3.4.2.4. Бујон микродилуциона метода

Антимикробно деловање изражено је минималном инхибиторном концентрацијом (МИС) и минималном бактерицидном концентрацијом (МВС) бујон микродилуционом методом. Раздељено је по 100 μdm^3 хранљивог бујона у сваки бунарчић микротитар плоче са „У“ дном (Спектар, Чачак). По 100 μdm^3 шток раствора сваке испитиване супстанце (концентрације 2.000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$) је додато у први ред бунарчића микротитар плоче. Затим су направљена двострука, серијска разблажења микропипетором. Добијене концентрације су биле од 1000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ у првом низу бунарчића до 15,625 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ у предпоследњем реду бунарчића. По 10 μdm^3 бактеријске суспензије је расподељено у сваки бунарчић микротитар плоче па је финална концентрација бактерија износила 5×10^5 CFU/ cm^3 . Тако инокулисане микротитар плоче термостатиране су 24 часа на 37°C. МИС је дефинисан као најнижа концентрација испитиване супстанце у којој нема видљивог пораста бактерије, није замућена. Антибиотици су коришћени као позитивне контроле. Контрола инхибиције коришћена у тесту урађена је да би се демонстрирао утицај 5% DMSO на пораст бактерија. Примећено је да 5% DMSO не инхибише раст бактерија. Такође, у експерименту, концентрација DMSO је додатно смањивана због двоструког разблажења испитиваних супстанци (радна концентрација DMSO била је 5% и нижа). Уз сваки тест обављена је контрола стерилности и контрола раста. Минимална бактерицидна концентрација је утврђивана засејавањем по 10 μdm^3 из сваког бунарчића, у коме није било видљивог пораста бактерија, хранљивом агару (Торлак, Београд). На крају инкубације тако засејаних плоча, најнижа концентрација без пораста (нема ниједне колоније) била је дефинисана као минимална бактерицидна концентрација.

	L1	L2	L3	L4	C'1	C'2	C'3	C'4	van	cef	KI	X
1000 µg/cm ³												
500 µg/cm ³												
250 µg/cm ³												
125 µg/cm ³												
62,5 µg/cm ³												
31,25 µg/cm ³												
15,625 µg/cm ³												
Контрола стерилности												

Шема 10. Шематски приказ 1 микротитар плоче и распореда испитиваних супстанци по бојама за један сој бактерија (принципијелна шема)

Контроле уврштене у испитивање:

1. *Контрола стерилности:* 100 µdm³ разблажења испитиване супстанце и 10 µdm³ физиолошког раствора (без бактерија).
2. *Контрола валидности медијума:* 100 µdm³ хранљивог бујона и 10 µdm³ припремљене суспензије бактерија. У контроли валидности медијума проверили смо вијабилност соја и компетентност медијума да подржи његов раст.
3. *Контрола инхибиције раста:* У претпоследњем низу микротитар плоче са по 100 µdm³ хранљивог бујона расподељеног у сваки бунарчић дода се 100 µdm³ 10% раствора DMSO у први бунарчић а затим се методом двоструког разблажења направе остала разблажења DMSO. Концентрација DMSO била је 5% у првом бунарчићу и 0,078% у последњем седмом бунарчићу. Затим се у сваки од тих бунарчића дода по 10 µdm³ припремљене бактеријске суспензије (без супстанце).
Контролу инхибиције раста користимо као негативну контролу.
4. Истовремено са испитивањем антимикубног деловања лиганада и њихових паладијум(II) комплекса, извршили смо и испитивање антимикубног деловања у истим концентрацијама ванкомицина и цефтриаксона. Добијене резултате (MIC и MBC за испитиване

супстанце) упоредили смо са аналогним вредностима испитаног антимикробика.

Количина од 10 μdm^3 садржаја овако инокулисаних бунарчића разблажена 1:100 у контроли валидности медијума, а 1:1 у контроли инхибиције раста и контроли стерилности након термостатирања, инокулисана је на Петри плочи и термостатирана 24 сата на 37° С.

Интерпретација резултата

Испитивањем смо дошли до вредности МИС и МВС где је пораст изолата био инхибисан 80 односно 99,9%. Добијене вредности смо упоредили са аналогним вредностима 2 добијеним за испитиване антибиотике.

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

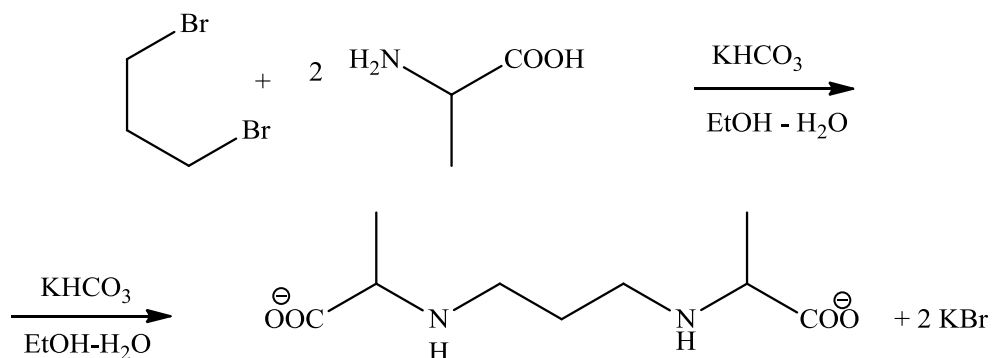
НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

4.1. (2S)-2-(2-ОКСО-1,3-ОКСАЗИНАН-3-ИЛ)ПРОПАНСКА КИСЕЛИНА

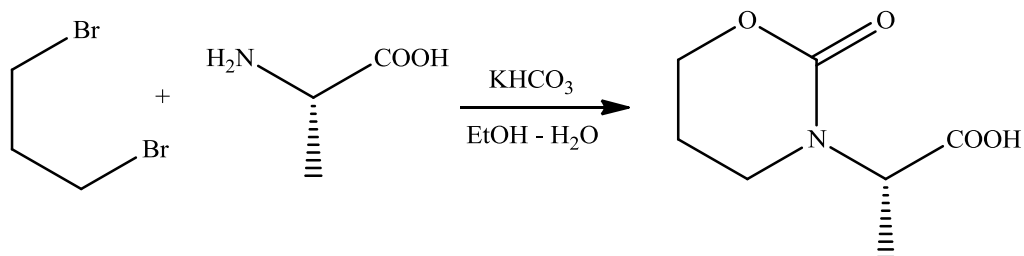
4.1.1. Структура (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

У реакцији калијумове соли *S*-аланина и 1,3-дибромпропана у молском односу (1:1), у базној средини од калијум-хидрогенкарбоната, очекивало се да се добије 1,3-пропандиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-2-пропанска киселина (Шема 11.).



Шема 11. Реакциони поступак по коме смо очекивали добијање 1,3-пропандиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-2-пропанске киселине

На изненађење, место очекиване 1,3-пропандиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-2-пропанске киселине добила се (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанска киселина. Сасвим случајно откривен је нов метод [141] за добијање једињења типа 1,3-оксазинан-2-она (Шема 12).



Шема 12. Добијање (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

Погодност ове методе, у односу на већ познате [142-166], су јефтине и веома доступне супстанце, а осим тога и лако издвајање из реакционе смеше.

4.1.2. Инфрацрвени спектар (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил) пропанске киселине

У Табели 9 дате су најважније траке у инфрацрвеном спектру изоловане (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине. У карбоксилатној области, две траке (на 1654 cm^{-1} и 1639 cm^{-1}) потичу од асиметричних валенционих вибрација C=O група, док две траке (на 1305 cm^{-1} и 1216 cm^{-1}) потичу од симетричних валенционих вибрација од C-O група, одговорне за грађење интрамолекулских водоничних веза. Присуство две траке у обе области валенционих вибрација карбонилних група указује на присуство две енергетски различите карбонилне групе, једна у склопу прстена и једна изван. Трака у области око 3431 cm^{-1} потиче од хидроксилне групе, док трака на 1248 cm^{-1} потиће од C-N групе.

Табела 9. Важније траке у IR спектру (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине (cm^{-1})

ν (-OH)	ν (C-N)	ν (C=O)	ν (C=O)	ν_s (C-O)
3431	1248	1728	1654	1305
			1639	1216

4.1.3. Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

У Табели 10 дате су вредности хемијских померања (δ у ppm) за ^1H NMR и ^{13}C NMR спектрима (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.

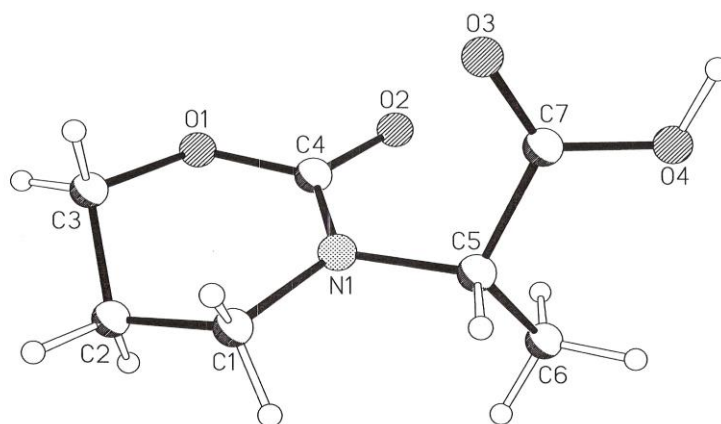
Дублет на 1,32 ppm се може приписати водониковим атома из $-\text{CH}_3$ групе, мултиплет на 1,90 ppm $-\text{CH}_2$ протонима у прстену између друге две метиленске групе. Мултиплет са центром на 3,26 ppm потиче од водоникових атома из $-\text{CH}_2$ групе ближе азотовом атому, док триплет са центром на 4,16 ppm потиче од водоникових атома из $-\text{CH}_2$ групе ближе кисеониковом атому у прстену. Померање на 4,51 ppm у виду квартета потичу од водоникових атома из $-\text{CH}$ до карбоксилне групе.

Табела 10. Вредности хемијских померања (δ ppm) у ^1H NMR и ^{13}C NMR спектрима (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

групе	^1H NMR	^{13}C NMR
-O- <u>CH₂</u> - CH ₂ -CH ₂ - N- (део прстена)	4,16 (t)	66,5
-O-CH ₂ - CH ₂ - <u>CH₂</u> - N-(део прстена)	3,26(m)	42,3
-O-CH ₂ - <u>CH₂</u> -CH ₂ - N-(део прстена)	1,90(m)	22,0
-C=O (део прстена)		153,2
-CH- <u>CH₃</u>	1,32 (d)	14,2
- <u>CH</u> - CH ₃	4,51 (q)	54,8
-COO ⁻		173,3

Из ^{13}C NMR спектра сигнал на 14,2 ppm може се приписати угљениковом атому из CH_3 -групе, на 22,0 ppm C атома из $-\text{CH}_2$ у прстену између друге две метиленске групе. Сигнал на 42,3 ppm потиче од угљениковог атома из $-\text{CH}_2$ групе ближе азотовом атому, док сигнал на 66,5 ppm потиче од угљениковог атома из $-\text{CH}_2$ групе ближе кисеониковом атому у прстену, а на 54,8 ppm C атому из $-\text{CH}$ групе. Сигнал на 153,2 ppm је од угљениковог атома карбоксилне групе, која је у склопу прстена, а сигнал на 173,04 ppm је од C атома карбонилне групе из COO^- групе. Број сигнала у ^{13}C NMR спектру потврђује асиметричност у молекулу (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине.

4.1.4. Кристална структура структурна (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине



Слика 23. Кристална структура (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

Изолована киселина кристалише као орторомбичан систем просторне групе $P2_12_12_1$, и структура је решена са задовољавајућом тачношћу ($R = 99,8\%$). Из Табеле 11 види се да су дужине веза и углови веза са незнатним одступањима од очекиваних. Врло мала одступања су последица присутног шесточланог прстена, као и донекле крутог система.

Табела 11. Одабране дужине веза (Å) и углови веза (°) у молекулу (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

Дужине веза (Å)		Углови веза (°)	
O(1) – C(4)	1.3431(16)	N(1) – C(4) – O(1)	120,30(12)
O(2) – C(4)	1.2368(17)	C(4) – N(1) – C(1)	124,27(11)
O(4) – C(7)	1.3245(16)	C(5) – N(1) – C(1)	117,65(11)
N(1) – C(4)	1.3379(17)	C(4) – N(1) – C(5)	118,07(11)
N(1) – C(1)	1.4678(17)	C(4) – O(1) – C(3)	118,73(11)
C(1) – H(1A)	1,498(2)	O(2) – C(4) – O(1)	117,42(12)
C(2) – H(2B)	0,97(2)	N(1) – C(1) – C(2)	110,03(11)
C(3) – H(3B)	0,96(2)	C(3) – C(2) – C(1)	108,40(12)
C(5) – C(7)	1,5313 (18)	O(1) – C(4) – O(2)	117,42(12)
N(1) – C(5)	1,4664(16)	C(7) – C(5) – C(6)	115,32(11)
C(6) – H(6A)	0,97(2)	N(1) – C(5) – C(7)	109,50(11)
N(1) – C(5)	1,4664(16)	O(3) – C(7) – C(5)	112,93(12)
O(1) – C(3)	1,4563 (18)	O(3) – C(7) – O(4)	124,26(13)
O(3) – C(7)	1,2068(17)	O(4) – C(7) – O(5)	112,67(11)

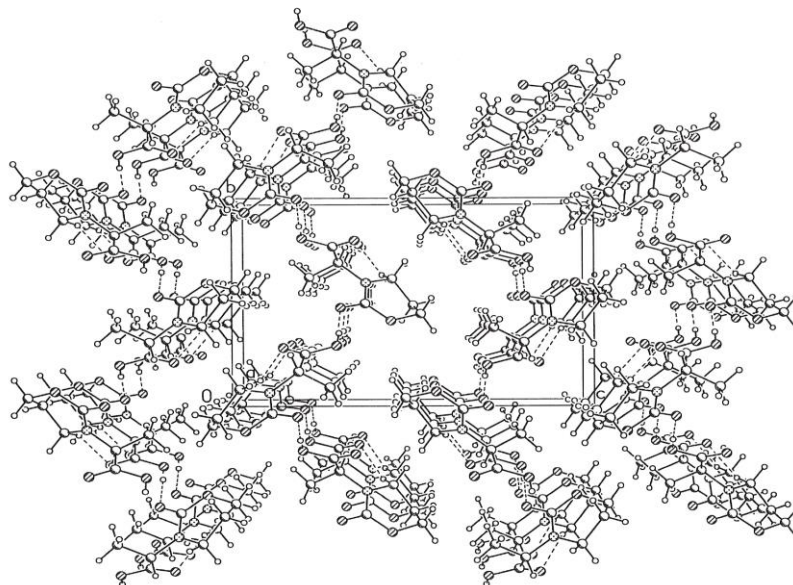
У структури изолованог (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине присутна је јака интермолекулска водонична веза између водоника из карбоксилне групе једног молекула и кисеоника из карбонилне групе, који припада прстену другог молекула (Табела 12). Очигледно је да је ова водонична веза одговорна и за начин паковања молекула у кристалу (Слика 24.) [141].

Табела 12. Дужина (Å) и угао (°) интрамолекулске водоничне везе у кристалу (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

D-H...A	d (D-H)	d (H...A)	d (D...A)	θ (°)
O(4) – H(4A)...O(2) #1	0,92 (2)	1,70 (2)	2,6122(14)	172(2)

Симетријске операције за положаје одговарајућих атома:

#1 -x+2, y-1/2, -z +3/2

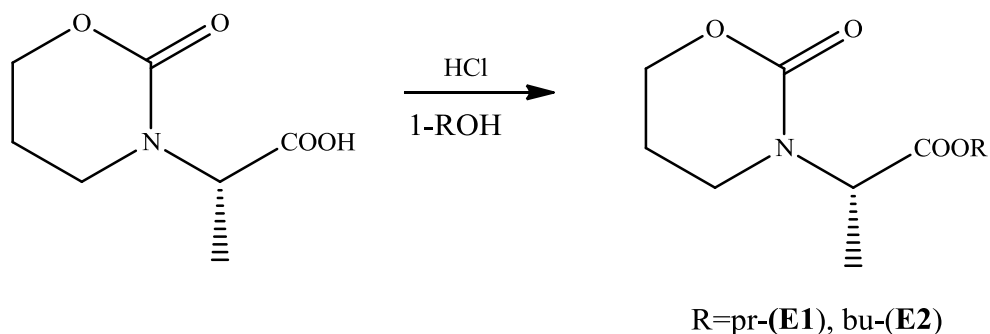


Слика 24. Начин паковања *(2S)*-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине молекула дуж *ac* осе

4.2. ЕСТРИ *O*-АЛКИЛ-*N*-(3-ХЛОРОПРОПИЛ)-*(2S)*-АЛАНИНАТА МОНОХЛОРХИДРАТА

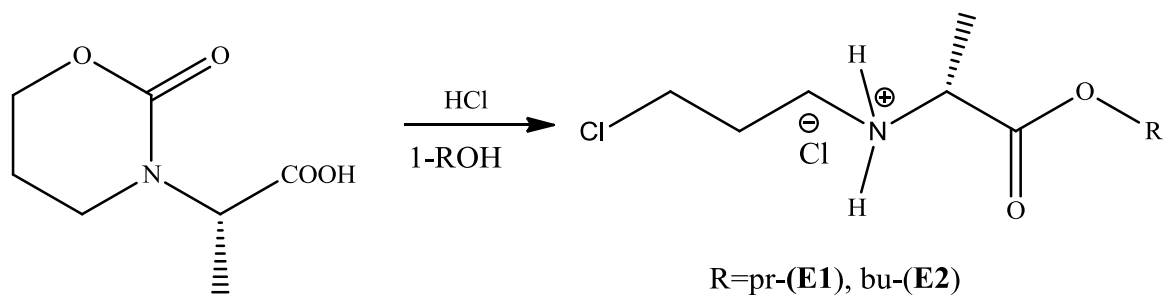
4.2.1. Синтеза естара *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-*(2S)*-аланината монохлорхидрата

У реакцији *(2S)*-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине са одговарајућим апсолутним алкохолима (ROH, R= 1-пропил, 1-бутил група), засићени гасовитим HCl, очекивало се да се добију, услед естерификације карбоксилне групе са алкохолима, одговарајући естри (Шема 13).



Шема 13. Добијања очекиваних естера (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине

И овде је уследило изненађење, јер је дошло поред естерификације и до отварања прстена, декарбоксилације и везивање хлоровог атома. Резултати елементарне микроанализе, инфрацрвене и нуклеарно-магнетне-резонанционе спектроскопије (^1H и ^{13}C NMR) потврђују да су као продукти реакције киселине и одговарајућег алкохола настали естри *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината (Шема 14). Добијени естри (**E1**) и (**E2**) су добро растворни у води [167].



Шема 14. Синтеза *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорида

4.2.2. Инфрацрвени спектри естара *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-*(2S)*-аланината монохлорхидрата

У Табели 13 дате су најважније траке у инфрацрвеним спектрима изолованих естара *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-*(2S)*-аланината монохлорхидрата. Анализом инфрацрвених спектра естара уочене су јаке апсорпционе траке на око 1740 cm^{-1} , што је карактеристично за асиметричне валенционе вибрације карбонилних група алифатичних естара. Положаји апсорпционих трака секундарне аминок групе - NH_2^+ , на 3464 cm^{-1} за **E1** и на 3435 cm^{-1} за **E2**, указују на протоновану форму азотових атома у наведеним естрима. Све остале апсорпционе траке нађене су у очекиваним областима за оба естра.

Табела 13. Важније траке у IR спектру *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-*(2S)*-аланината монохлорхидрат (у cm^{-1})

Једињења	$\nu (\text{NH}_2^+)$	$\nu (\text{CH}_2)$	$\nu_{\text{asim}} (\text{C=O})$	$\nu_{\text{sim}} (\text{C=O})$	$\nu (\text{C-O})$
<i>O</i> -пропил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)- <i>(2S)</i> -аланината монохлорхидрат(E1)	3464	2941	1741	1406	1209
<i>O</i> -бутил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)- <i>(2S)</i> -аланината монохлорхидрат(E2)	3435	2938	1743	1447	1207

4.2.3. Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри за *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-*(2S)*-аланината монохлорхидрата

Хемијска померања протона ^1H NMR спектра за изоловане естре *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-*(2S)*-аланината монохлорхидрата дате су у Табели 14.

Сигнали који потичу од етиленских водоникових атома за оба естра, у зависности од њиховог положаја у молекулу, налазе се у области од 0,90 до 2,90 ppm у виду мултиплета или триплета. Поређећи њихове вредности постоји велика

сличност. Близина карбоксилне групе утиче на водоникове атоме директно везане етиленске групе, из R-остатка, због чега су хемијска померања 4,22 ppm за **E1** и на 3,71 ppm за **E2**. Сигнал у виду квартета на 3,72 ppm за **E1** и 3,29 ppm за **E2** потичу од водоникових атома из -CH групе. Водоникових атоми са азотовог атома нису регистровани, због брзе измене са деутеријумовим атомом из растварача (D₂O).

Из Табеле 14. за ¹³C NMR спектре види се да број датих сигнала одговара броју угљеникових атома. Сигнал које се налази на 173,48 ppm за **E1**, и на 173,13 ppm за **E2**, јасно указује на присуство карбонилног угљениковог атома у оквиру естарске групе, а сигнал на 71,95 ppm за **E1**, тј. на 70,28 ppm за **E2**, потиче од угљениковог атом који је везан за кисеоников атом из естарске групе. Сигнал на око 58,65 ppm потиче од C атома из -CH групе за оба естра.

Сви остали сигнали за ¹H NMR и ¹³C NMR спектре налазе се у очекиваним положајима за оба естра.

Табела 14. Вредност хемијских померања (δ ppm) у ¹H NMR и ¹³C NMR спектру *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

једињења	групе	¹ H NMR	¹³ C NMR
пропил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрат	Cl- <u>CH</u> ₂ - CH ₂ -CH ₂ - NH-	3,31(t)	46,58
	Cl-CH ₂ - <u>CH</u> ₂ -CH ₂ - NH-	1,67(m)	31,39
	Cl-CH ₂ - <u>CH</u> ₂ - <u>CH</u> ₂ - NH-	2,26(d)	44,40
	-CH- <u>CH</u> ₃	1,59(d)	16,95
	- <u>CH</u> - CH ₃	3,72(q)	58,64
	-COO ⁻		173,48
	-CH ₂ -CH ₂ - <u>CH</u> ₃	0,95(t)	12,36
	-CH ₂ - <u>CH</u> ₂ -CH ₃	1,76(m)	24,08
	- <u>CH</u> ₂ -CH ₂ -CH ₃	4,22(m)	71,95
бутил- <i>N</i> -(3-хлоропропил)-(2 <i>S</i>)-аланината монохлорхидрат	Cl- <u>CH</u> ₂ - CH ₂ -CH ₂ - NH-	3,29(t)	44,36
	Cl-CH ₂ - <u>CH</u> ₂ -CH ₂ - NH-	2,22(m)	32,63
	Cl-CH ₂ - CH ₂ - <u>CH</u> ₂ - NH-	2,89(t)	44,61
	-CH- <u>CH</u> ₃	1,57(d)	16,95
	- <u>CH</u> - CH ₃	3,29(q)	58,65
	-COO ⁻		173,13
	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ - <u>CH</u> ₃	0,91(t)	15,81
	-CH ₂ -CH ₂ - <u>CH</u> ₂ -CH ₃	1,37(m)	16,95
	-CH ₂ - <u>CH</u> ₂ -CH ₂ -CH ₃	1,68(m)	21,37
- <u>CH</u> ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	3,71(t)	70,28	

4.2.4. Кристалне структуре

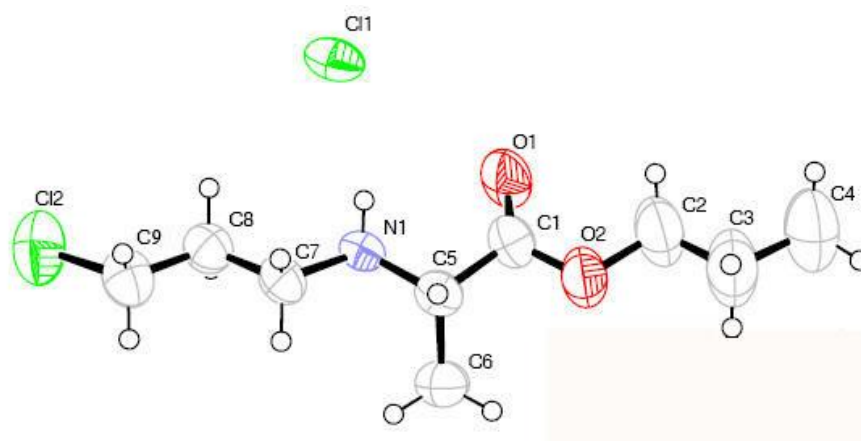
O-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

4.2.4.1. Кристална структура

O-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

O-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланинат монохлорхидрат кристалисао је у облику моноклиничних кристала са просторном групом $P2_1$. Асиметрична јединица садржи један протовани део молекула, и то атома азота, који је неутрализован са хлоридним јоном, што је представљено на Слици 25.

Одабране дужине и углови веза, дате су у Табели 15 а овде су поређене са структурама R₂edda-типом естара (R = изопропил [168] или циклопентил[169]) које поседују сличне CH₂-CH₂-NH₂-C(CH₃)-COO- фрагменте и такође кристалишу као хлорхидрати.



Слика 25. Кристална структура *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

Табела 15. Одабране дужине веза (Å) и углови веза (°) у молекулу *O*-пропил-*N*-(3-лоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

Дужине веза (Å)		Углови веза (°)	
Cl(2)–C(9)	1,772 (5)	C(8)–C(9)–Cl(2)	112,1(3)
O(1)–C(1)	1,181(5)	O(1)–C(1)–O(2)	124,2(3)
O(2)–C(1)	1,330(5)	C(1)–O(2)–C(2)	116,2(3)
O(2)–C(2)	1,456(6)	O(2)–C(2)–C(3)	109,1(4)
N(1)–C(5)	1,485(5)	N(1)–C(5)–C(1)	107,2(3)
N(1)–C(7)	1,506(5)	N(1)–C(5)–C(6)	112,1(3)
C(5)–C(6)	1,526(6)	N(1)–C(7)–C(8)	110,9(3)

Табела 16. Дужина водоничне везе и угао (Å и °) у кристалу *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

D – H...A	d (D-H)	D (H...A)	D (D...A)	θ (°)
C(5)–H(5)···O(1)#i	0,98	2,49	3,247(4)	134

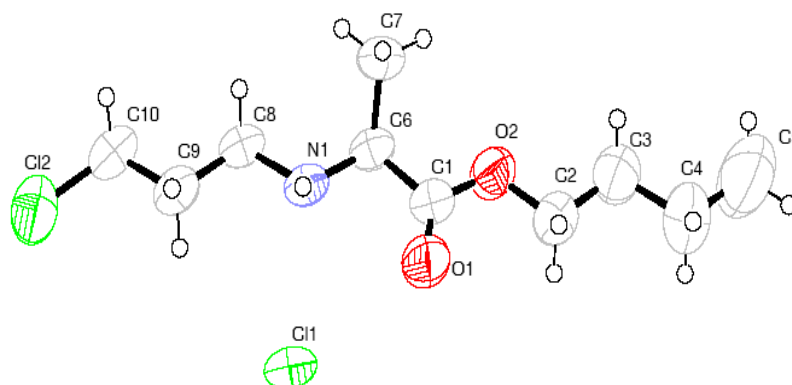
Симетријске операције за положаје одговарајућих атома:

(i) $x+1, y, z$.

4.2.4.2. Кристална структура

***O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата**

Изоловани *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланинат монохлорхидрат кристалисао је у облику орторомбичних кристала са просторном групом $P2_12_12$. Такође, као и код *O*-пропил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата асиметрична јединица садржи један протовани део естра, и то атома азота, који је неутралисан са хлоридним јоном, што је представљено на Слици 26.



Слика 26. Кристална структура *бутил-N-(3-хлоропропил)-(2S)-аланината монохлорхидрата*

Одабране дужине и углови веза дате у Табели 17, у поређене са R₂edda-типом естара (R = *изопропил* [168] или *циклопентил*[169]) који подедују сличне CH₂-CH₂-NH₂-C(CH₃)-COO- фрагменте и такође кристалишу као хлорхидрати. У приказаном једињењу торзиони углови унутар дугог, хетероатомског ланца варира од 173,2 (3) до 178,8 (3) ° описујећи потпуно издужену конформацију. Леђни део молекула је стога приближно планарна са незнатним одступањима за све неводоникове атоме, осим угљеноковог атома из метил групе аланината од 0,09 Å. Ово је разлика од горе наведених R₂edda деривата[168,169] где естарска група значајно одступа од остатка алифатичног ланца. Наиме, у два раније наведена примера диедарски угао између равни -COO дела и равни која пролази кроз остатак неводониковог атома у ланцу прелази 50°. У овом једињењу одговарајући диедарски угао има вредност 5,2 (7)°. Ова разлика у оријентацији естарске групе може се повезати са чињеницом да је дугачка *n*-бутилестарска половина далеко од остатка молекула и, за разлику од волуминозних *изопропилестарских* и *циклопентилестарских* фрагмената, може са таквом оријентацијом да избегне стерне препреке. Такође, ово нам може сугерисати да је *n*-бутилестарска половина молекула боље лежи са *trans*-конформацијом алифатичног ланца што доводи до лепшег и лакшег паковања молекула у кристалу.

Табела 17. Одабране дужине веза (Å) и углови веза (°) у кристалу *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

Дужине веза (Å)		Углови веза (°)	
Cl(2)–C(10)	1,773(5)	C(9)–C(10)–Cl(2)	112,5(3)
O(1)–C(1)	1,194(4)	O(1)–C(1)–O(2)	124,7(3)
O(2)–C(1)	1,313(5)	C(1)–O(2)–C(2)	116,2(3)
O(2)–C(2)	1,462(5)	O(2)–C(2)–C(3)	109,1(4)
N(1)–C(6)	1,483(5)	N(1)–C(6)–C(1)	107,2(3)
N(1)–C(8)	1,497(4)	N(1)–C(6)–C(7)	112,2(3)
C(6)–C(7)	1,523(5)	N(1)–C(8)–C(9)	110,9(3)

Код паковања молекула у кристалу доминирају, пре свега, две N1–H...Cl1 водоничне везе које су формиране између протонване амино групе и Cl ањона.(Табела 18).

Табела 18. Дужина водоничних веза и углова (Å и °) у кристалу *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата

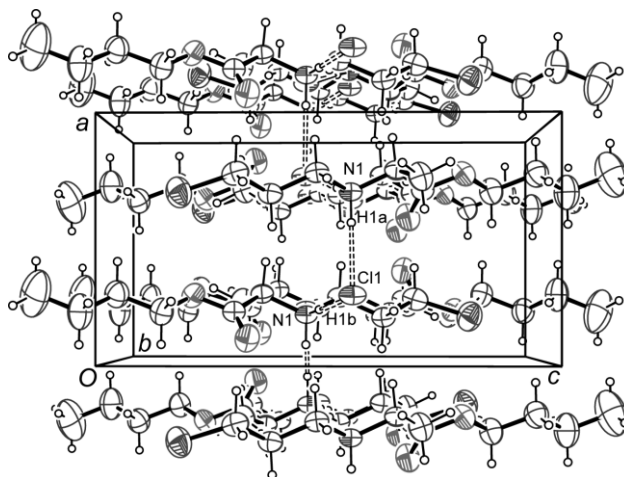
D – H...A	d (D-H)	D (H...A)	D (D...A)	θ (°)
N(1)–H(1a)··· Cl (1)#i	0,94(4)	2,21(4)	3,150(3)	177(3)
N(2)–H(1b)··· Cl (1)#ii	0,92(4)	2,20(4)	3,114(3)	172(3)
C(10)–H(10a)···O(1)#iii	0,97	2,50	3,200(5)	129
C(8)–H(8b)··· Cl (1)#iv	0,97	2,89	3,851(3)	172

Симетријске операције за положаје одговарајућих атома:

- (i) x, y, z ; (ii) $x-1/2, -y+1/2, -z+1$; (iii) $x+1/2, -y+1/2, -z+1$; (iv) $-x+1/2, y+1/2, -z+1$.
 (iv) $-x+1/2, y+1/2, -z+1$

Ове прилично јаке интеракције, са скоро линеарним угловима интеракције, повезују искошене молекуле у цик-цак ланац паралелно са *a* осом. Хлороропропил и *n*-бутилестар половине су на истој страни ланца, дајући могућност за додатну, слабу C10–H10a...O1 интеракцију. Ланци молекула, који се могу сматрати главним разлогом за овакво паковање, додатно интерагују slabим C8–H8b...Cl1 везама ((Табела 18) дајући дводимензијалну структуру, која лежи у *bc* равни (Слика 27). Удаљеност између слојева је 3,63Å и одговара пола јединице *a*-осе. За разлику од хлоридног јона, који је одговоран за најважнију водоничну везу као акцептор, атом

Cl у хлоропропил половини молекула нема готово никакву улогу у међумолекулским интеракцијама. Најближи донор, бутилестер C2—H2b фрагмента, налази се на удаљености од 3,08Å.



Слика 27. Начин паковања *O*-бутил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата молекула и кристалу дуж *b* осе

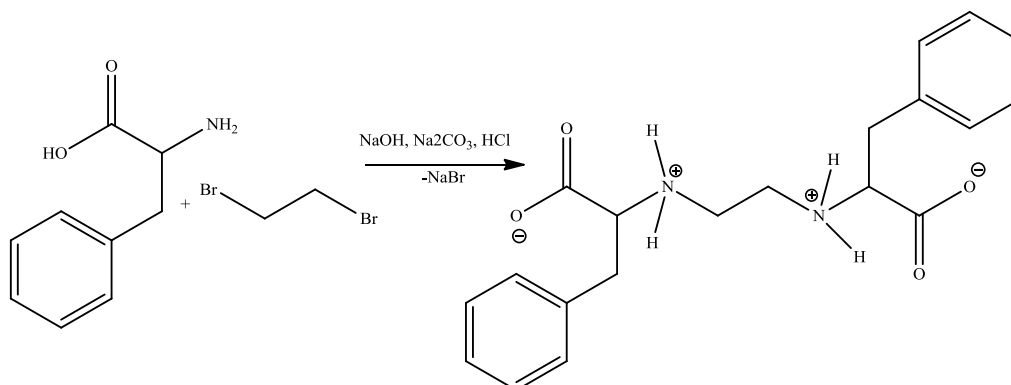
4.3. ЕТИЛЕНДИАМИН-*N,N'*-ДИ-(*S,S*)-(2,2'-ДИБЕНЗИЛ) ЕТАНСКА КИСЕЛИНА И ЊЕНИ ЕСТРИ (ЛИГАНДИ)

4.3.1. Синтеза етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)-етанске киселине, H₂-(*S,S*)-eddba·3H₂O

Етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)етанска киселина трихидрат је добијена директном реакцијом *S*-фенилаланина и диброметана, у молском односу 1:1, рефлуковањем и подешавањем рН вредности између 4-5, што је представљено реакцијом представљено Шемом 15. [170]

Етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)етанска киселина (H₂-(*S,S*)-eddba) се, на датој рН вредности раствора, издвајала у облику унутрашње соли ("zwitter" јона) и као трихидрат, што је потврђено одређивањем састава на бази микроанализе

док је структура претпостављена на бази инфрацрвене и нуклеарне магнетне (^1H и ^{13}C) спектроскопије.

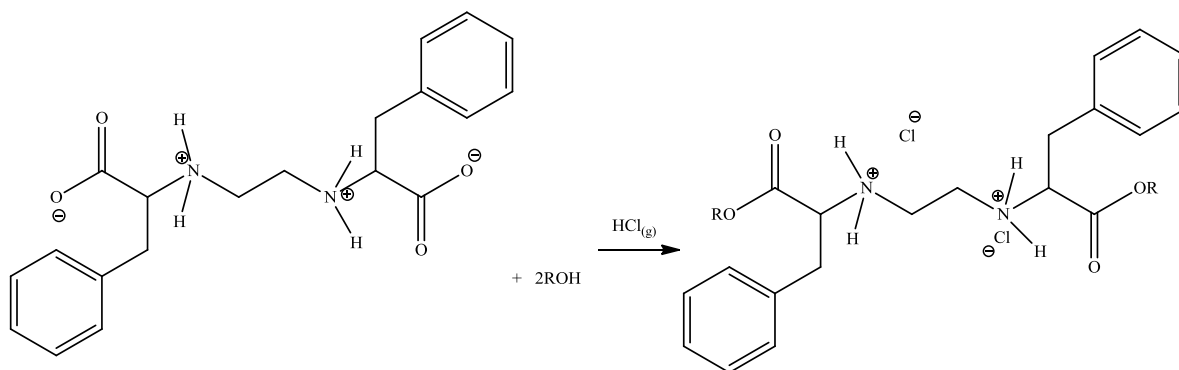


Шема 15. Реакциона шема добијања етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) -(2,2'-добензил)етанске киселине трихидрата, H_2 - (S,S) -eddba $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$

4.3.2. Синтеза O,O' -диалкил-етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) -(2,2'-добензил)ацетата дихлорхидрата, R_2 - (S,S) -eddba $\cdot 2\text{HCl}$

Диалкил естри етилендиамин- N,N' -ди- (S,S) -(2,2'-добензил)етанске киселинеа, R_2 - (S,S) -eddba $\cdot 2\text{HCl}$ ($\text{R} = \text{Et}, n\text{-Pr}, n\text{-Bu}, n\text{-Pe}$), добијени су реакцијом одговарајућег апсолутног алкохола, који је претходно засићен гасовитим хлороводоником, и H_2 - $-S,S$ -eddba $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$. (Шема 16). Такође, естри који су добијени као дихлорхидрати издвајали су се у облику унутрашње соли ("zwitter" јона), R_2 - (S,S) -eddba $\cdot 2\text{HCl}$. [170]

Добијени естри су слабо растворни у води, али се добро растварају у хлороформу.



Шема 16. Реакциона шема добијања *O,O'*-диалкил-етилендиамин-*N,N'*-ди-*(S,S)*-*(2,2'*-добензил)ацетата дихлорида, $R_2-(S,S)$ -eddba·2HCl

4.3.3. Инфрацрвени спектри етилендиамин-*N,N'*-ди-*(S,S)*-*(2,2'*-добензил)етанске киселине, $H_2-(S,S)$ -eddba·3H₂O, и одговарајућих *O,O'*-диалкил естара, $R_2-(S,S)$ -eddba·2HCl

У Табели 19 дате су најважније траке у инфрацрвеним спектрима изоловане етилендиамин-*N,N'*-ди-*(S,S)*-*(2,2'*-добензил)етанске киселине, $H_2-(S,S)$ -eddba·3H₂O, и одговарајућих *O,O'*-диалкил естара, $R_2-(S,S)$ -eddba·2HCl. Положаји апсорпционих трака у области асиметричних валенционих вибрација карбонилне групе су узете као критеријум за разликовање протонованих и естерификованих карбоксилатних група.

У спектрима изолованих лиганата уочене су апсорпционе траке за протоноване секундарне амонијум групе $-NH_2^+$ у области 3450 cm^{-1} . У области асиметричних валенционих вибрација карбонилне групе $H_2-(S,S)$ -eddba киселина показује веома јаку траку на 1582 cm^{-1} , што указује на структуру киселине у депротонаном облику, односно у облику "zwitter" јона. У односу на киселину одговарајуће траке које потичу од асиметричних валенционих вибрација карбонилне групе код естара су на око 1740 cm^{-1} , што указује на естерификоване карбоксилне групе у овим једињењима, односно на естарску структуру $R_2-(S,S)$ -eddba молекула.

И положаји апсорпционих трака које потичу од симетричних валенционих вибрација нас наводе на исти закључак, јер се ове трака код $H_2-(S,S)$ -eddba налази на 1392 cm^{-1} , док су код $R_2-(S,S)$ -eddba на приближно истим вредностима и налазе се у области 1450 cm^{-1} (Табела 18).

Све остале апсорпционе траке нађене су у очекиваним областима за све лиганде.

Табела 19. Важније траке у IR спектру за $H_2-(S,S)$ -eddba·3H₂O и $R_2-(S,S)$ -eddba·2HCl (cm^{-1})

једињења	$\nu(\text{NH}_2^+)$	$\nu_{as}(\text{C=O})$	$\nu_s(\text{C=O})$
$H_2-(S,S)$ -edda·3H ₂ O	3436	1582	1392
det-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L1)	3469	1740	1447
dpr-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L2)	3436	1740	1454
dbu-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L3)	3434	1740	1455
dpe-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L4)	3418	1729	1456

4.3.4. Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етанске киселине, $H_2-(S,S)$ -eddba·3H₂O, и одговарајућих *O,O'*-диалкил естара, $R_2-(S,S)$ -eddba·2HCl

Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри (¹H и ¹³C NMR) су веома успешно коришћени за карактеризацију лиганата edda-типа и њима одговарајућих естара [6,7,97,98,168,169,171-179]. Вредности хемијских померања (δ у ppm) у ¹H NMR (у односу на тетраметилсилан као стандард) и ¹³C NMR спектру за лиганде дати су у Табели 20.

У ¹H NMR спектрима естара хемијска померања која потичу од водоникових атома диаминског дела молекула, у виду триплета, налазе се у близини 3,0 ppm за

све лиганде. Остала хемијска померања су на очекиваним положајима; за водоникове атоме из метинске групе од 3,0-4,0 ppm као триплет, за водоникове атоме из метиленске групе везану за фенил групу око 3,0 ppm као дублет, а већ у близини на 7,40 ppm од водоникових атома фенилне групе. Остала хемијска померања у ^1H NMR потичу од водоникових атома алкилних делова молекула, у зависности од њихове близине атому кисеоника из естарске групе, распон је од 1,0 до 4,5 ppm.

У ^{13}C NMR спектрима киселине и естара запажа се да је број сигнала двоструко мањи од укупног броја угљеникових атома из чега се закључује да је молекул симетричан. Хемијско померање које се налазе на око 180 ppm јасно указују на присуство угљениковог атома у оквиру карбоксилне групе, депротоноване код саме киселине, док хемијска померања на око 170 ppm потичу од угљеникових атома из $-\text{COOR}$ групе од одговарајућих естара наведене киселине .

Сва остала хемијска померања налазе се у очекиваним областима за $\text{H}_2-(S,S)$ -eddba \cdot 3H $_2\text{O}$ и одговарајуће $\text{R}_2-(S,S)$ -eddba \cdot 2HCl естре.

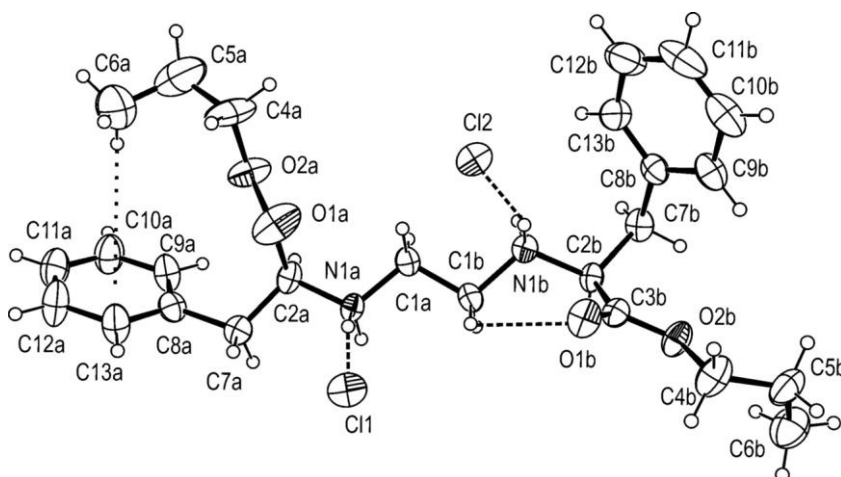
Табела 20. Хемијских померања (δ ppm) у ^1H NMR и ^{13}C NMR спектру за лиганде

једињења	групе	^1H NMR	^{13}C NMR
H_2 -(<i>S,S</i>)-edda·3H ₂ O	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅	2,59(t) 3,30(t) 2,87(d) 7,33(m)	49,21 68,11 41,84 184,01 129,44 ; 131,38; 132,14 ;140,85
det-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L1)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₃	3,21(t) 4,21(t) 3,28(d) 7,39(m) 1,29(t) 4,33(q)	46,71 64,39 39,31 174,30 130,79; 132,04; 132,29; 137,51 16,11 66,25
dpr-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L2)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	3,23(t) 4,14(t) 3,30(d) 7,39(m) 0,85(t) 1,59(m) 4,30(t)	46,71 64,46 38,86 174,26 131,00; 132,14; 132,28, 136,80 12,49 24,10 71,93
dbu-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L3)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	3,12(t) 3,41(t) 3,24(d) 7,31(m) 0,80(t) 1,11(m) 1,39(m) 4,02(t)	42,40 60,48 35,42 168,84 127,51; 128,76, 129,54; 134,63 13,65 18,54 29,92 65,62
dpe-(<i>S,S</i>)-eddba·2HCl (L4)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	3,08(t) 4,02(t) 3,42 7,30 0,86(t) 1,19(m) 1,43(m) 1,71 (m) 4,14(t)	51,28 63,96 36,61 171,37 127,51; 128,93; 129,45; 135,01 13,86 22,16 27,09 27,82 67,26

d – дублет, q – квартет, m - мултиплет

4.3.5. Кристална структурна *O,O'*-дипропил-етилендиамин- -*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)ацетата дихлорида, *dpr-(S,S)-eddba·2HCl (L2)*

Пропил естар етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-добензил)етанске киселине кристалише као двоструко протоновани $[dpr-(S,S)-H_2eddba]^{2+}$ јон, H_2L2 (Слика 28). Наелекрисање протонованог естра је избалансирано са два хлоридна јона дајући бруто формулу $[dpr-(S,S)-H_2eddba]Cl_2$. **L2** садржи две половине означене као А и Б (Слика 28.) [170]



Слика 28. Кристална структура *dpr-(S,S)-H₂eddba·2HCl*

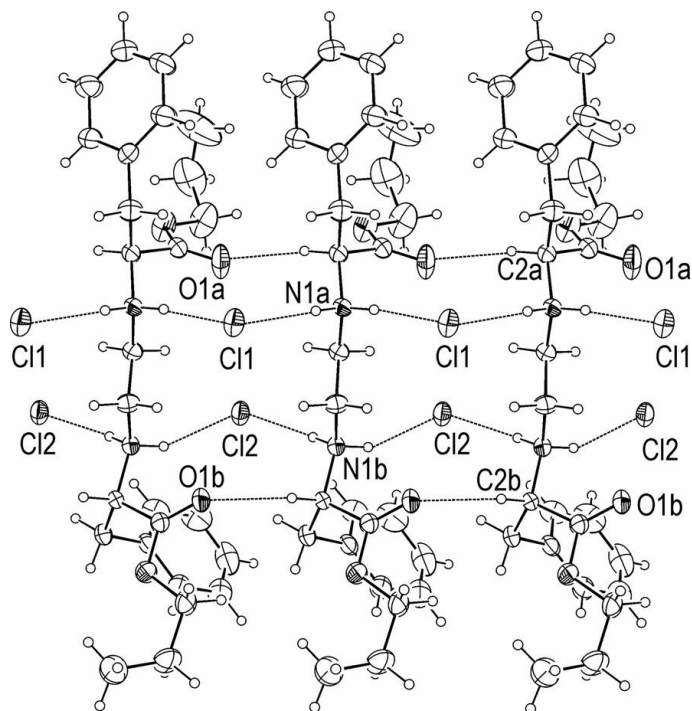
Дужине веза (Табела 21) и углови су веома слични у обе половине **L2**. Међутим, А и Б половине, иако су истог састава, имају другачију геометрију. Осим тога, велика геометријска разлика између две половине може се наћи у орјентацији C3-O1-O2 групе у односу на C1-C8 фрагмент молекула. Торзиони угао фрагмента N1-C2-C3-O1 је $-41,6(9)^\circ$ и $0, (8)^\circ$ за А односно Б половине. Интрамолекулска веза водонична веза C1b-H \cdots O1b постоји само у Б половини (Слика 29 и Табела 22).

Најинтересантнија разлика између те две половине је у формирању интрамолекулске C-H \cdots π интеракције. У А половини метил група (C6) је усмерена ка фенил прстену формирајући CH \cdots π интеракцију са вертикалном везом између

Нба1 и фенилног прстена од 2,90Å. Угао C6-H...Cg је 150° (где Cg представља средиште прстена), док Н...Cg растојање је 3,07Å. У Б половини C4-C6 фрагмент и C8-C13 фенил прстен су сувише далеко да би формирали било какве стабилизационе интеракције.

Табела 21. Одабране дужине (Å) и углови веза (°) у молекулу *dp*-(*S,S*)-H₂eddbа·2HCl

Дужине веза (Å)		Углови веза (°)	
N(1a) – C(1a)	1,481(6)	N(1a)–C(2a)–C(3a)	109,0(4)
N(1a) – H(1a)	0,900	N(1a)–C(2a)–C(7a)	108,1(5)
N(1a) – H(1a')	0,900	C(3a)–C(2a)–C(7a)	112,3(5)
N(1a) – C(2a)	1,497(6)	N(1ba)–C(2b)–C(3b)	109,8(4)
N(1b) – C(1b)	1,496(6)	N(1b)–C(2b)–C(7b)	110,6(4)
N(1b) – H(1b)	0,900	C(3b)–C(2b)–C(7b)	112,2(4)
N(1b) – H(1b')	0,900	C(2a)–C(3a)–O(1a)	124,5(5)
N(1b) – C(2b)	1,497(6)	O(2a)–C(3a)–O(1a)	124,1(6)
C(1a) – C(1b)	1,496(6)	C(2a)–C(3a)–O(2a)	111,4(5)
C(3a) – O(1a)	1,173(6)	C(2b)–C(3b)–O(1b)	125,7(5)
C(3a) – O(2a)	1,308(6)	O(2b)–C(3b)–O(1b)	124,9(5)
O(2a)– C(4a)	1,466(7)	C(2b)–C(3b)–O(2b)	109,4(4)
C(2a)– C(7a)	1,519(7)	C(3a)–O(2a)–C(4a)	116,7(5)
C(7a)– C(8a)	1,524(7)	C(3b)–O(2b)–C(4b)	117,2(4)
C(8a)– C(9a)	1,369(8)	C(1a)–N(1a)–C(2a)	114,1(4)
C(8a)– C(13a)	1,369(8)	C(1b)–N(1b)–C(2b)	114,6(4)
C(2b) – C(3b)	1,510(7)	O(2a)–C(4a)–C(5a)	109,1(6)
C(3b)– O(1b)	1,204(6)	O(2b)–C(4b)–C(5b)	107,2(5)
C(3b)– O(2b)	1,328(6)	C(2a)–C(7a)–C(8a)	114,4(5)
C(4b)– O(2b)	1,457(6)	C(2ba)–C(7b)–C(b)	115,7(5)
C(2b)– C(7b)	1,543(7)	C(9a)–C(8a)–C(13a)	118,7(6)
C(7b)– C(8b)	1,495(7)	C(7a)–C(8a)–C(13a)	119,5(5)
C(8b)– C(9b)	1,381(8)	C(7a)–C(8a)–C(9a)	121,8(5)
C(8b)– C(13b)	1,365(8)	C(9b)–C(8b)–C(13b)	119,9(6)
C(5a)– C(6a)	1,449(11)	C(7b)–C(8b)–C(13b)	119,9(6)
C(5b)– C(6b)	1,470(8)	C(7b)–C(8b)–C(9b)	120,2(6)



Слика 29. Начин паковања *dpr*-(*S,S*)- $H_2eddba \cdot 2HCl$ молекула дуж *a* осе

Табела 22. Дужина водоничних веза и углова (\AA и $^\circ$) у кристалу *dpr*-(*S,S*)- $H_2eddba \cdot 2HCl$

D – H...A	d (D-H)	D (H...A)	D (D...A)	θ ($^\circ$)
N(1a)–H(1a)··· Cl (1)# i	0,90	2,26	3,157(4)	171,5
N(1b)–H(2b)··· Cl (2)#ii	0,90	2,20	3,062(4)	160,2
C(2a)–H(2a)···O (1a)#iii	0,98	2,24	33,186(6)	162,5
C(2b)–H(2b)···O (1b)# iii	0,98	2,27	3,134(6)	146,2

Симетријске операције за положаје одговарајућих атома:

(i) x, y, z ; (ii) $2-x, y+1/2, z$; (iii) $3x-1, y, z$

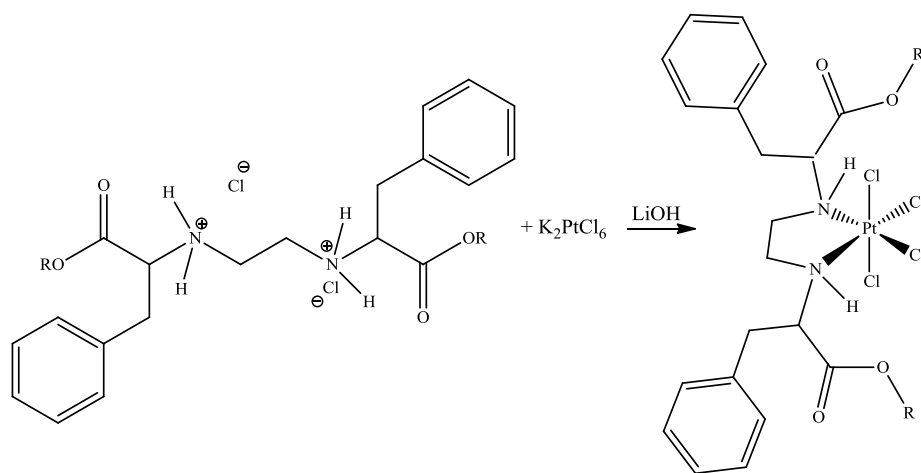
Естар **L2** поседује само две значајне Н донорске везе, N(1a)H₂ и N(1b)H₂ групе. Сва четири Н атома из ових група су укључена у врло јаке и наелектрисањем потпомогнуте N–H...Cl водоничне везе (Табела 22), формирајући бесконачни ланац дуж *a* кристалографске осе. Овај ланац се састоји од **L2** молекула у паралелној орјентацији (Слика 29.) и додатних међусобних веза преко C2–H...O1 водоничних веза (Табела 22). Имајући у виду број и јачину водоничних веза, може се закључити да ланац представља веома компактну једнодимензионалну супер-структуру у

кристалном стању $[\text{dpr-}S,S\text{-H}_2\text{eddba}]\text{Cl}_2$. Нема неке значајне међумолекулске интеракције између суседних ланаца са изузетком једне $\text{C-H}\cdots\pi$ интеракције. Ова интеракција постоји између C4a-H4a1 $\text{C8a}^i\text{-C13a}^i$ фенил прстена; симетријски код : (i) 2-x, 1/2+y, -z (удаљеност између H4a1 и фенил прстена је $2,92\text{\AA}$; $\text{C4a-H}\cdots\text{Cg}$ угао је 145° , $\text{H}\cdots\text{Cg}$ удаљеност је $2,94\text{\AA}$).

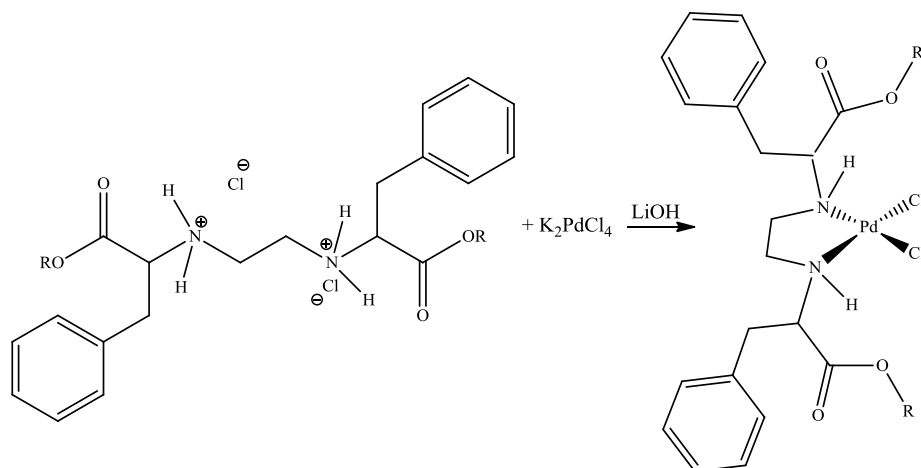
4.4. КОМПЛЕКСИ ПЛАТИНЕ(IV) И ПАЛАДИЈУМА(II) СА АЛКИЛ ЕСТРИМА ЕТИЛЕНДИАМИН- N,N' -ДИ-(S,S)- -(2,2'-ДИБЕНЗИЛ)ЕТАНСКЕ КИСЕЛИНЕ, [PtCl₄(R₂-(S,S)-eddba)] и [PdCl₂(R₂-(S,S)-eddba)]

4.4.1. Синтезе комплекса

Комплекси платине(IV) и паладијума(II) су добијени реакцијом водених раствора калијум-хексахлоридоплатината(IV), калијум-тетрахлоридопаладата(II) и одговарајућих естера у присуству литијум-хидроксида у молском односу 1:1:2, при чему се естри координују бидентатно κ^2N,N' за јоне метала, што је приказано следећим Шемама 17 и 18 [170] :



Шема 17. Добијање тетрахлоридо(O,O' -диалкил-етилендиамин- N,N' -ди-(S,S)-
-(2,2'-дибензил)ацетат)-платина(IV), [PtCl₄(R₂-(S,S)-eddba)]



Шема 18. Добијање дихлорида(*O,O'*-диалкил-етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-*(2,2'*-добензил)ацетат)-платина(II), $[PdCl_2(R_2-(S,S)-eddba)]$

4.4.2. Инфрацрвени спектри комплекса

У Табели 23 дате су најважније траке у инфрацрвеним спектрима комплекса платине(IV) и паладијума(II) са диалкил естарима изолованог $H_2-(S,S)-eddba$ лиганда. У инфрацрвеним спектрима комплекса уочене су јаке апсорпционе траке за секундарне амонијум групе $-NH_2^+$ у области 3440 cm^{-1} . Положаји ових трака су у близини положаја трака код лиганда (Табела 20). Међутим, мале разлике у положајима трака (Табела 20 и Табела 23) које потичу од валенционих вибрација секундарних амино група сугеришу на депротонавање постојећих секундарних амино $-NH_2^+$ група у естрима $H_2-(S,S)-eddba$ лиганда, као и кординовање $R_2-(S,S)-eddba$ естара преко азотових атома за јоне метала.

Траке на око 1730 cm^{-1} , које потичу од асиметричних валенционих вибрација карбонилне групе, и за платинске и за паладијумске комплексе са $R_2-(S,S)-eddba$ лигандима указују да комплекси садрже имају слободну естарску групу, односно да није дошло до кординације $-COOR$ група естара за платина(IV) и паладијум(II) јоне преко атома кисеоника. На исти закључак наводе и положаји траке које потичу од симетричних валенционих вибрација карбонилне групе, на око 1450 cm^{-1} и за лиганда и комплексе (Табела 20 и Табела 23).

Табела 23. Важније траке у IR спектрима за [PtCl₄(R₂-(S,S)-eddba)] и [PdCl₂(R₂-(S,S)-eddba)] комплексе (у cm⁻¹)

једињења	ν (N-H)	$\nu_{as}(\text{C}=\text{O})$	$\nu_s(\text{C}=\text{O})$
[PtCl ₄ (det-(S,S)-eddba)] (C1)	3436	1731	1456
[PtCl ₄ (dpr-(S,S)-eddba)] (C2)	3420	1728	1457
[PtCl ₄ (dbu-(S,S)-eddba)] (C3)	3422	1729	1457
[PtCl ₄ (dpe-(S,S)-eddba)] (C4)	3437	1728	1455
[PdCl ₂ (det-(S,S)-eddba)] (C'1)	3130	1734	1455
[PdCl ₂ (dpr-(S,S)-eddba)] (C'2)	3127	1736	1456
[PdCl ₂ (dbu-(S,S)-eddba)] (C'3)	3120	1736	1456
[PdCl ₂ (dpe-(S,S)-eddba)] (C'4)	3118	1736	1456

4.4.3. Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри комплекса

Нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри (¹H и ¹³C) су успешно коришћени за карактеризацију метал-edda-типа комплекса [12,13,180-182]. Хемијска померања за водоникове и угљеникове атоме у ¹H и ¹³C NMR спектрима испитиваних комплекса дата су у Табели 24.

Широки синглети нађени у од области 5.80–6.6 ppm у ¹H NMR спектрима комплекса платине(IV), као и у у области од 6,2-6,50 ppm за паладијум(II) комплексе потичу од водоникових атома секундарних амонијум група. Мултиплети у области 3,00-3,50 и код комплекса платине(IV) и код комплекса паладијум(II) потичу од водоникових атома из диаминског прстена. Ова померања ка вишем магнетном пољу у односу на хемијска померања истих водоникових атома код лиганата (Табела 20 и Табеле 24 и 25), указују на координацију азотових атома за централни метални јон. Хемијска померања осталих водоникових атома налазе се у очекиваним областима. Дублети у области 3,50 ppm за паладијумске и на 3,30 ppm за платинске комплексе потичу од протона CH₂-групе у близини фенилних група. Триплети који

потичу од протона СН-група су на 4,00 ppm, а од СН₂-група, у близини карбоксилних група, су у распону од 4,10-4,50 ppm за све комплексе. Мултиплет, код свих комплекса, са центром 7,30 ppm потиче од водоникових атома везаних за бензенов прстен.

У ¹³C NMR спектрима комплекса сигнали за угљеникове атоме у оквиру естарске групе налазе се на приближно истим положајима као и у спектрима лиганата на око 170 ppm (Табела 20 и Табеле 24 и 25), што потврђује да није дошло до координације кисеоникових атома за централни јон метала.

Сигнали за угљеникове атоме метиленских група из диаминских прстенова налазе се у области 26-36 ppm за платинске комплексе, и од 35-39 ppm за паладијумске комплексе, у односу на сигнале за угљеникове атоме метиленских група диаминског дела код лиганата. Такође, то је још једна потврда више да је дошло до координације преко азотових атома за метал. Угљеникови атоми из фенилних група дају карактеристичне сигнале у области од 126-137 ppm. Сва остала очекивана хемијских померања за одређене врсте угљениковог атома се поклапају са хемијским померањима исте врсте угљеникових атома код лиганата.

Табела 24. Хемијска померања у ^1H и ^{13}C NMR спектрима $[\text{PtCl}_4(\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba})]$ комплекса

једињења	групе	^1H NMR	^{13}C NMR
$[\text{PtCl}_4(\text{det-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C1)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₃	3,46(m) 3,74(t) 3,61(d) 7,26(m) 1,24(t) 4,12(q)	25,90 36,73 51,33 171,12 127,51;12892; 128,98; 134,97 13,53 64,00
$[\text{PtCl}_4(\text{dpr-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C2)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	3,05(m) 3,96(t) 3,50(d) 7,28(m) 0,75(t) 1,45(m) 4,08(t)	36,69 51,31 63,95 171,36 127,50; 128,79; 128,92, 134,97 10,23 21,34 68,69
$[\text{PtCl}_4(\text{dbu-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C3)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	3,04(m) 3,96(t) 3,46(d) 7,26(m) 0,80(t) 1,19(m) 1,39(m) 4,10(t)	36,73 51,50 64,03 171,36 127,46; 128,91, 128,93; 135,00 13,53 18,86 29,89 66,90
$[\text{PtCl}_4(\text{dpe-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C4)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	3,08(m) 4,06(t) 3,61(d) 7,30 (m) 0,85(t) 1,24(m) 1,40 (m) 1,61(m) 4,08 (t)	32,34 51,72 64,24 171,36 126,76; 128,89;129,02; 135,02 13,83 22,14 27,67 29,03 67,24

d – дублет, q – кватрет, m - мултиплет

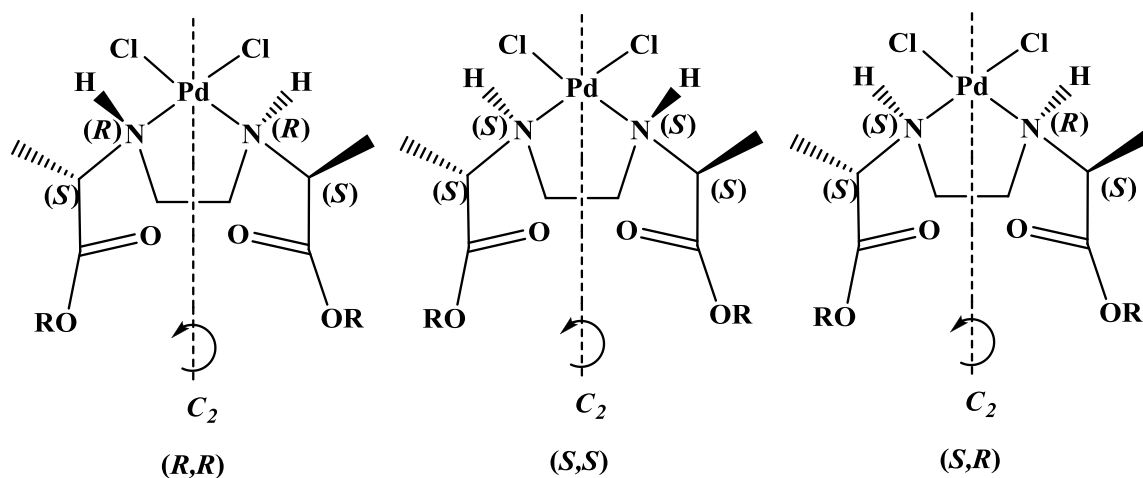
Табела 25. Хемијска померања ^1H и ^{13}C NMR спектрима за $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2\text{-}(S,S)\text{-eddba})]$ комплексе

једињења	групе	^1H NMR	^{13}C NMR
$[\text{PdCl}_2(\text{det-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C'1)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₃	2,84(m) 4,03(t) 3,22(d) 7,29(m) 1,25(t) 4,21(q)	35,82 49,19 61,66 168,71 126,74; 128,29; 129,46; 135,69 13,83 63,45
$[\text{PdCl}_2(\text{dpr-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C'2)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	2,94(m) 3,90(t) 3,26(d) 7,31(m) 0,88(t) 1,61(m) 4,18(t)	35,80 49,32 63,45 168,83 126,71; 128,26; 129,14, 135,62 10,17 21,63 67,27
$[\text{PdCl}_2(\text{dbu-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C'3)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	2,83(m) 3,97(t) 3,33(d) 7,29(m) 0,89(t) 1,23(m) 1,67(m) 4,34(t)	34,48 47,66 61,27 169,44 126,45; 127,96; 129,54, 136,74 12,88 19,27 29,47 68,93
$[\text{PdCl}_2(\text{dpe-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C'4)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	2,77(m) 4,01(t) 3,09(d) 7,34 (m) 0,93(t) 1,23(m) 1,34(m) 1,56(m) 4,45 (t)	35,78 48,23 62,12 169,28 126,23; 127,12; 129,18; 136,44 11,23 18,89 26,76 31,11 69,34
$[\text{PdCl}_2(\text{det-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C''1)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₃	2,84(m) 4,03(t) 3,22(d) 7,29(m) 1,25(t) 4,21(q)	37,00 50,08 61,80 170,59 127,37; 128,94; 129,91; 137,00 14,00 63,59
$[\text{PdCl}_2(\text{dpr-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C''2)	NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	2,94(m) 3,90(t) 3,26(d) 7,31(m) 0,88(t) 1,61(m) 4,18(t)	36,91 49,79 63,45 170,70 127,24; 129,03; 129,94, 137,06 10,33 21,84 67,49
$[\text{PdCl}_2(\text{dbu-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C''3)	-NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	2,83(m) 3,97(t) 3,33(d) 7,29(m) 0,89(t) 1,23(m) 1,67(m) 4,34(t)	34,98 48,26 61,87 170,41 126,65; 127,97; 129,88; 137,84 12,92 19,44 29,68 68,97
$[\text{PdCl}_2(\text{dpe-}(S,S)\text{-eddba})]$ (C''4)	NH-CH ₂ -CH ₂ - NH- -CH- -CH ₂ -C ₆ H ₅ -COO ⁻ -C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	2,77(m) 4,01(t) 3,09(d) 7,34 (m) 0,93(t) 1,23(m) 1,34(m) 1,56(m)	35,99 48,44 62,68 171,06 126,56; 127,32; 129,55; 136,89 11,28 18,94 26,97 31,18

	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	4,45 (t)	69,87
--	--	----------	-------

d – дублет, q – кватрлет, m – мултипле.

Координовањем лиганата ($\text{H}_2-(S,S)\text{-eddba}$) за паладијум(II)-јон оба асиметрична угљеникова атома из eddba остатка задржали су *S* апсолутну конфигурацију. Истовремено, координовањем азотови атоми из етилендиаминског прстена постају асиметрични. Због тога је могуће очекивати три диастереоизомера комплекса $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2-(S,S)\text{-eddba})]$ као што је приказано на Слици 30 [(R,R) , $(R,S \equiv S,R)$ и (S,S)]. За (R,R) и (S,S) енантиомере, због присутне C_2 симетрије молекула у ^{13}C NMR спектрима, можемо очекивати само један сигнал услед идентичног положаја естарских остатака. Појава по два сета сигнала различитих интензитета у ^{13}C NMR спектрима $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2-(S,S)\text{-eddba})]$ комплекса указује на присуство (R,S) диастереоизомера, као што је и публиковано раније [14,169,183] за паладијум(II) комплексе са истим типом лиганата (Слика 30).

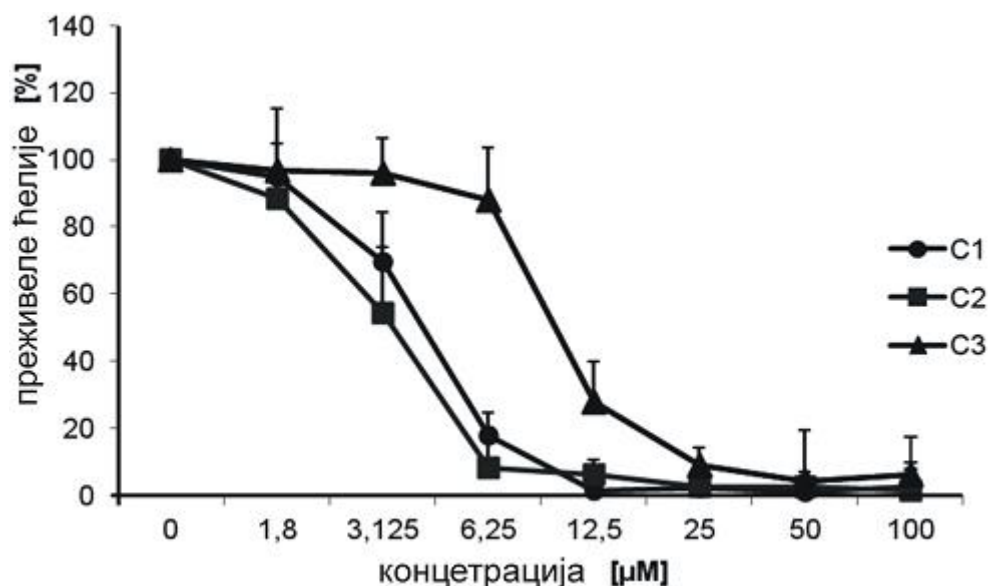


Слика 30. Могући диастереоизомери комплекса $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2-(S,S)\text{-eddba})]$,
 $R = \text{et-}, \text{pr-}, \text{bu-}$ и pe-

4.5. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ ПЛАТИНЕ(IV) И ПАЛАДИЈУМА(II) КОМПЛЕКСА

4.5.1. *In vitro* антитуморска активност платине(IV) комплекса

У циљу истраживања *in vitro* цитотоксичног потенцијала различитих новосинтетисаних комплекса платине(IV) (C1, C2 и C3) додате су свеже изоловане CLL ћелије и цитотоксични ефекат је одређен после 24 часа од МТТ теста. Коришћене су CLL ћелије, јер је у претходној *in vitro* студији уочена добра корелација између *in vitro* цитотоксичности и *in vivo* одговора на CLL ћелије пацијената[184]. Дозно-зависне криве и IC₅₀ вредности су врло сличне за сва три комплекса. Сви комплекси су показали веома јак цитотоксични ефекат према CLL ћелијама (Слика 31).



Слика 31. График представља преживеле CLL ћелије после 24 часа у току ћелијског раста у присуству платинских комплекса C1 -C3

Највећи цитотоксични ефекат на CLL ћелије у *in vitro* показале су концентрације од 12,5 μM и више за **C1** и **C2** комплексе. Максимална цитотоксични ефекат против CLL ћелија постигнут је са **C3** комплексом у концентрацији 25 μM . На нижим концентрацијама (6,25 до 1,8 μM) **C1** и **C2** комплекси извршили су већу цитотоксичност на CLL ћелија од **C3** комплекса. Цитотоксични ефекти свих комплекса су дозно-зависни и сва три комплекси су показала знатно већи цитотоксични ефекат на CLL ћелије од цисплатине (Табела 26). Бољи цитотоксични потенцијал показали су **C1** и **C2** комплекси, јер су имали најјачу активност на нижим концентрацијама.

Табела 26. IC₅₀ вредности после 24 часа истраживања платине(IV) комплекса на CLL ћелије од МТТ теста

Једињења	IC ₅₀
[PtCl ₄ (det-(S,S)-eddba)] (C1)	5,04 ± 3,08
[PtCl ₄ (dpr-(S,S)-eddba)] (C2)	6,08 ± 3,51
[PtCl ₄ (dbu-(S,S)-eddba)] (C3)	25,28 ± 8,65
cis-платина	331,61 ± 23,87

4.5.2. Антимикробна активност лиганата и њихових паладијум(II) комплекса

Резултати добијени тестирањем *in vitro* антибактеријског деловања лиганата и њихових паладијум(II) комплекса приказани су у Табели 27. Ради лакшег поређења вредности MIC и MBC за антибиотике су наведене у Табели 28. Растварач (5% DMSO и ниже концентрације) није показао инхибиторно деловање на тестиране бактерије. Интезитет антимикробног деловања испитиваних супстанци варирао је зависно од врсте бактерија и њихове концентрације.

Табела 27. Антибактеријско деловање лиганада и њихових паладијум(II) комплексе - кса.

Врсте	L1	L2	L3	L4	C1	C2	C3	C4
	MIC/ MBC	MIC/ MBC	MIC/ MBC	MIC/ MBC	MIC/ MBC	MIC/ MBC	MIC/ MBC	MIC/ MBC
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	500/ >1000	1000/ >1000	1000/ >1000	500/ >1000	250/ >1000	250/ >1000	250/ >1000	250/ 1000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1000/ >1000	1000/ 1000	1000/ >1000	1000/ >1000	500/ 500	1000/ 1000	1000/ 1000	1000/ >1000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	250/ >1000	1000/ >1000	1000/ >1000	1000/ 1000	500/ 500	250/ 500	250/ 500	1000/ >1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1000/ >1000	1000/ >1000	1000/ >1000	1000/ >1000	500/ 1000	1000/ >1000	1000/ 1000	1000/ >1000
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1000/ 1000	1000/ >1000	1000/ >1000	1000/ >1000	500/ 1000	1000/ >1000	500/ 1000	125/ 500
<i>Proteus vulgaris</i> клинички сој	>1000/ >1000	>1000/ >1000	>1000/ >1000	>1000/ >1000	>1000/ >1000	>1000/ >1000	>1000/ >1000	>1000/ >1000

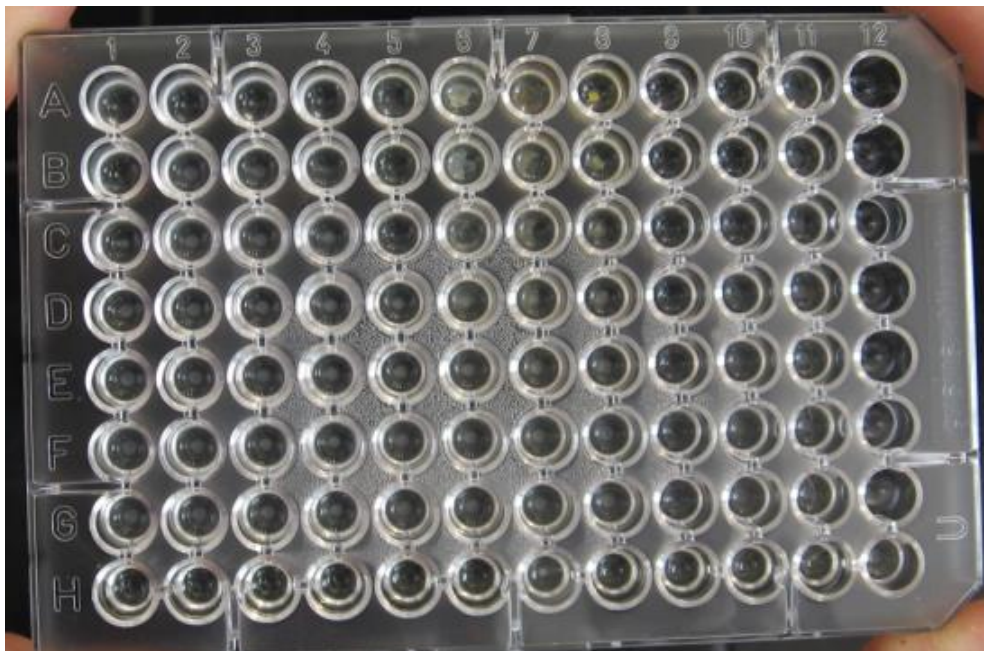
MIC, минимална инхибиторска концентрација ($\mu\text{g/ml}$),
MBC, минимална бактерицидна концентрација ($\mu\text{g/ml}$)

Резултати антимикубног деловања лиганада и њихових паладијум(II) комплекса приказани су у Табели 27. Ове супстанце у поређењу са позитивним контролама, показале су ниско антибактеријско деловање. MIC и MBC вредности налазиле су се у опсегу од 125 до >1000 $\mu\text{g/ml}$, зависно од врсте тестиране бактерије и испитиване супстанце. Паладијум(II)комплекси су показали веће антибактеријско деловање од њихових лиганада. Антибактеријско деловање комплекса је било израженије на грам позитивне бактерије, а знатно мање на грам негативне бактерије. Најсензитивнија била је бактерија врсте *Enterococcus faecalis*, где је вредност MIC -а и MBC -а била за C4 125 односно 500 $\mu\text{g/ml}$. Лиганди су показали слабо деловање на Грам негативне бактерије посебно на врсту *Proteus vulgaris* где су вредности MIC -а и MBC -а биле изнад 1000 $\mu\text{g/ml}$ за све бактерије .

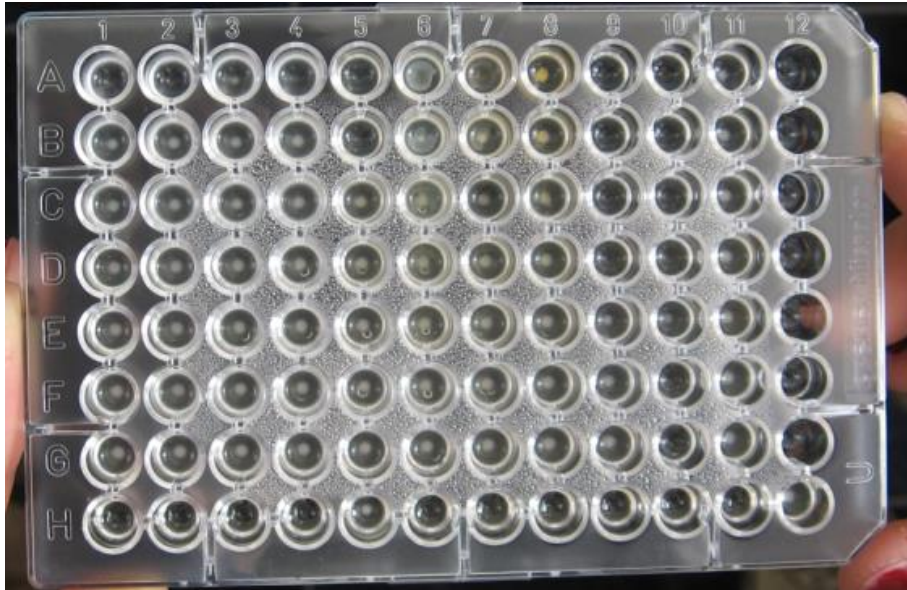
Tabela 28 . Антибактеријско деловање позитивних контрола - vankomicin i ceftri-
- akson

Врсте	Vankomicin MIC	Vankomicin MBC	Ceftriakson MIC	Ceftriakson MBC
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	15,625	62,5	500	>1000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	125	125	15,625	15,625
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<15,625	<15,625	15,625	31,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	125	1000	500	>1000
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	62,25	250	15,625	500
<i>Proteus vulgaris</i> klinički soj	1000	>1000	15,625	125

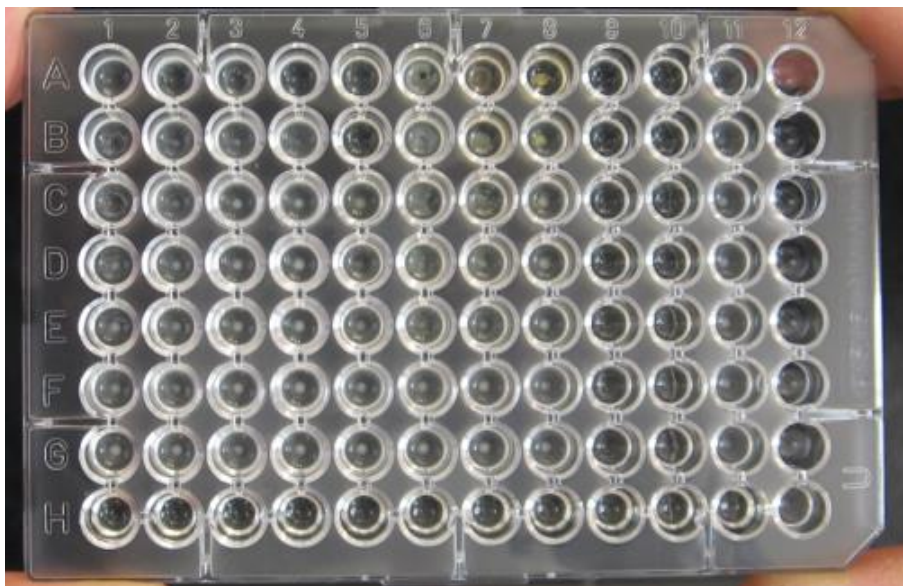
MIC, минимална ихибиторска концентрација ($\mu\text{g/ml}$),
MBC, минимална бактерицидна концентрација ($\mu\text{g/ml}$)



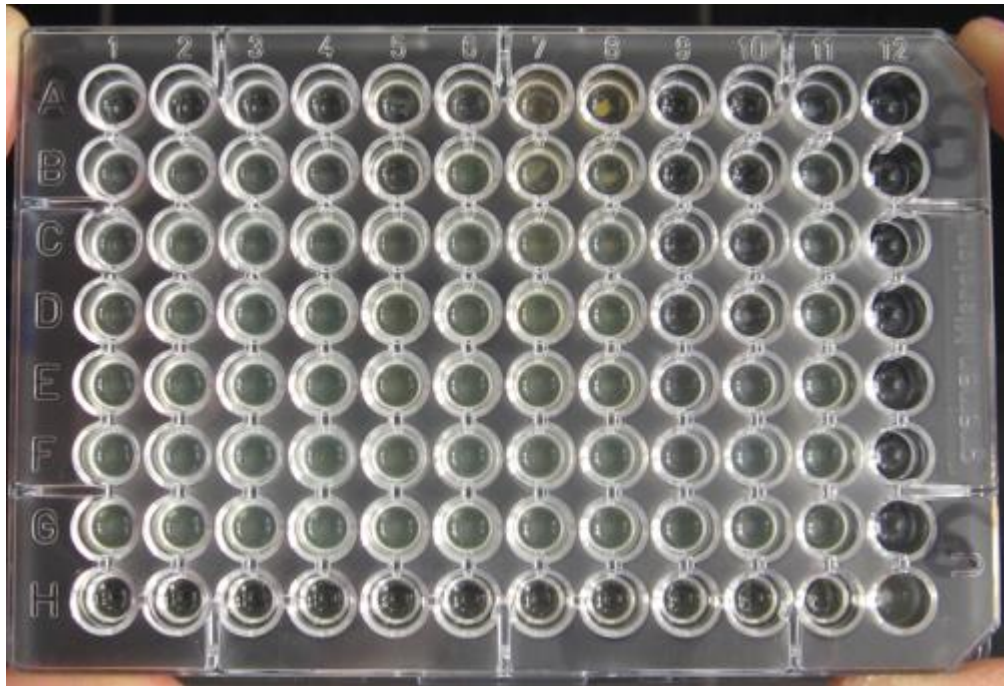
Слика 32. Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте
Bacillus cereus ATCC 10876



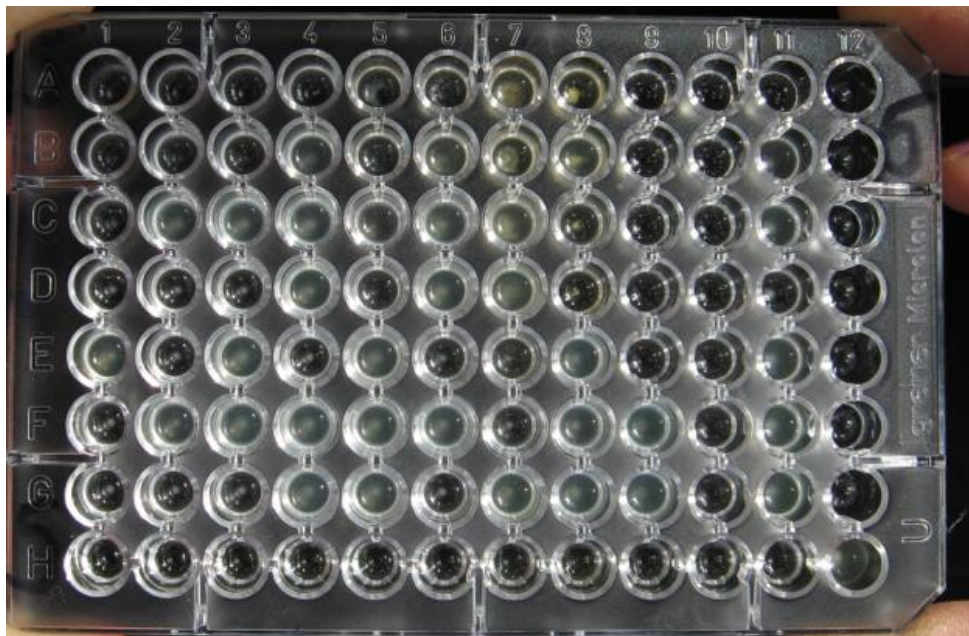
Слика 33. Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте *Escherichia coli* ATCC 25922



Слика 34. Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Слика 35. Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Слика 36. Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



Слика 37. Антибактеријско деловање испитиваних супстанци на бактерију врсте *Proteus vulgaris* клинички сој

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

У овој Докторској дисертацији описане су синтезе:

- (2*S*)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине
- *O*-алкил-*N*-(3-хлоропропил)-(2*S*)-аланината монохлорхидрата (R = пропил-, бутил-)
- Етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)етанске киселине трихидрата, H₂-(*S,S*)-eddba·3H₂O
- *O,O'*-диалкил естара етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)етанске киселине дихлорхидрата, R₂-(*S,S*)-eddba·2HCl (R = етил-, пропил-, бутил- и пентил-)
- Одговарајућих платина(IV) комплекса са наведеним *O,O'*-диалкил естрима H₂-(*S,S*)-eddba, [PtCl₄(R₂-(*S,S*)-eddba)]
- Одговарајућих паладијум(II) комплекса са наведеним *O,O'*-диалкил естрима H₂-(*S,S*)-eddba, [PdCl₂(R₂-(*S,S*)-eddba)]

Награђени лиганди и комплекси окарактерисани су елементалном микроанализом, инфрацрвеном и нуклеарно-магнетно-резонанционом спектроскопијом. Рендгенском структурном анализом су потврђене претпостављене структуре.

Резултати елементалних микроанализа су у сагласности са претпостављеним саставом лиганада и комплекса.

Анализом IR, ¹H и ¹³C NMR спектра утврђено је да се *O,O'*-диалкил естри етилендиамин-*N,N'*-ди-(*S,S*)-(2,2'-дибензил)етанске киселине (H₂-(*S,S*)-eddba) координују за платину(IV)-јон и паладијум(II)-јон бидентатно преко два азотова атома из диаминског ланца лиганада, а самим тим да су -COOR група естара остале слободне. Појава по два сета сигнала различитих интензитета у ¹³C NMR спектрима [PdCl₂(R₂-(*S,S*)-eddba)] комплекса указује на присуство (*R,S*) дијастереоизомера.

- Број, положај и изглед сигнала у ^1H и ^{13}C NMR спектрима потврђују структуру полазних лиганата и добијених одговарајућих платина(IV) и паладијум(II) комплекса.
- Рендгенска структурна анализа потврђује структуру (2S)-2-(2-оксо-1,3-оксазинан-3-ил)пропанске киселине која је претпостављена на бази анализе инфрацрвених и NMR спектар. Такође, да су естри O-алкил-N-(3-хлоропропил)-(2S)-аланината кристалисали као монохлорхидрати, а O,O'-дипропил-етилендиамин-N,N'-ди-(S,S)-(2,2'-добензил)етаноат као дихлорхидрат.
- Испитивањем антимикробне активности свих награђених лиганата и одговарајућих комплекса паладијума(II) уврђено је да су генерално показали ниско антибактеријско деловање. Комплекси паладијума(II) су показивали знатно већу активност у односу на одговарајуће лиганде.
- Испитивањем антитуморске активности комплекса платине(IV) са тетрадентатним лигандом са наведеним O,O'-диалкил естрима H_2 -(S,S)-eddba на ћелијама ССL закључено је да комплекси показују јак цитотоксични ефекат. Цитотоксични ефекти свих комплекса су дозно-зависни и сви испитивани комплекси су показали знатно већи цитотоксични ефекат на CLL ћелије од цисплатине.

Резултати ове *Докторске дисертације* су верификовани објављивањем резултата испитивања у три научна рада у часописима са SCI листе, два научна рада у изради и већег броја саопштења на домаћим и међународним конференцијама.

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

- [1a] T. J. Sabo, S. R. Grgurić-Šipka, S. R. Trifunović, *Synth. React. Inorg. Met.-org. Chem.* **32** (2002) 1661
- [1b] D. J. Radanović, *Coord. Chem. Rev.* **54** (1984) 159
- [2] H. A. Weakliem, J. L. Hoard, *J. Am. Chem. Soc.*, **81** (1959) 549
- [3] C.F. Liu, *Inorg. Chem.* **3** (1964) 680
- [4] J.N. Jolley, A.I. Yanovsky, L.R. Kelland, K.B. Nolan, *J. Inorg. Biochem.* **83** (2001) 91
- [5] M. Mullaney, S.C. Chang, R.E. Norman, *Inorg. Chim. Acta.* **265** (1997) 275
- [6] G.N. Kaluđerović, G.A. Bogdanović, T.J. Sabo, *J. Coord. Chem.* **55** (2002) 817
- [7] V.M. Đinović, G.A. Bogdanović, S. Novaković, T.J. Sabo, *J. Coord. Chem.* **57** (2004) 535
- [8] T.J. Sabo, G.N. Kaluđerović, D. Poleti, Lj. Karanović, A. Boccarelli, F. Cannito, G. Natile, *J. Inorg. Biochem.* **98** (2004) 1378
- [9] V.M. Đinović, L.T. Mančić, G.A. Bogdanović, P.J. Vulić, G. del Rosario, T.J. Sabo, O. B. Milošević, *J. Mater. Res.* **20** (2005) 102
- [10] G.N. Kaluđerović, V.M. Đinović, Z. Juranić, T. Stanojković, T.J. Sabo, *J. Coord. Chem.* **59** (2006) 815
- [11] D.B. Haydock, T.P.C. Mulholland, *J. Chem. Soc. C* (1971) 2389
- [12] G.N. Kaluđerović, T. J. Sabo, *Polyhedron* **21** (2002) 2277
- [13] T.J. Sabo, G.N. Kaluđerović, S.R. Grgurić-Šipka, F.W. Heinemann, S.R. Trifunović, *Inorg. Chem. Comm.* **7** (2004) 241
- [14] G.N. Kaluđerović, H. Schmidt, S. Schwieger, Ch. Wagner, R. Paschke, A. Dietrich, T. Mueller, D. Steinborn, *Inorg. Chim. Acta.* **361** (2008) 1395
- [15] C.X. Zxang, S.J. Lippard, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **7** (2003) 481
- [16] M. Kaplun, M. Sandström, D. Boström, A. Shchukarev, P. Peresson, *Inorg. Chim. Acta* **358** (2005) 527
- [17] D. J. Robinson, C. H. L. Kennard, *J. Chem. Soc. A* (1970) 1008
- [18] X.-M. Luo, X.-H. Chen, S. Shanmuga Sundara Raj, H.-K. Fun, L.-G. Zhu, *Acta Crystallogr. Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* **55** (1999) 1220

- [19] S. Baggio, L. M. Amzel, L. N. Becka, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* **26** (1970) 1968
- [20] J. R. Wiesner, E. C. Lingafelter, *Inorg. Chem.* **5** (1966) 1770
- [21] I. A. Baidina, N. V. Podberezskaya, V. V. Bakakin, E. V. Golubovskaya, N. A. Shestakova, G. D. Malchikov, *J. Struct. Vhem.* **20** (1979) 463
- [22] I. A. Baidina, N. V. Podberezskaya, S. V. Borisov, *J. Struct. Chem.* **21** (1980) 659
- [23] V. Z. Pletnev, Yu. A. Zolotarev, N. M. Galitskii, A. I. Verenich, *J. Struct. Chem.* **33** (1992) 98
- [24] G. N. Kaluđerović, H. Schmidt, Ch. Wagner, K. Merzweiler, D. Steinborn, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **72** (2007) 560
- [25] D. Lebwahl, R. Canetta, *Eur. J. Cancer* **33** (1998) 1522
- [26] M. Peyrone, *Ann. Chem. Pharm.* **51** (1845) 1
- [27] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature* **205** (1965) 698
- [28] B. Rosenberg, L. Van Camp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **222** (1969) 385
- [29] M. Tucker, C. Colvin, D. Martin, Jr. *Inorg. Chem.* **3** (1964) 1373
- [30] B. Rosenberg, D. Tucket, *Cancer Res.* **42** (1982) 3565
- [31] I. Piel, D. Meyer, C. Perlia, V. Wolf, *Cancer Chemother. Rep.* pt 1. **58** (1974) 871
- [32] F. Cavelli, R. Sonntag, H. Ryssel, L. Tschopp, K. Brunner, *Schweiz. Med. Wochenschr.* **106** (1976) 754
- [33] C. Merrin, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **17** (1976) 243
- [34] H. Brucker, C. Cohen, R. Wallach, B. Kabakow, G. Deppe, E. Greenspan, S. Gusberg, J. Holland, *Cancer Treat. Rep.* **62** (1978) 555
- [35] K. Briscoe, M. Pasmanteir, J. Brown, B. Kennedy, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **19** (1978) 378
- [36] R. Yong, B. Chabner, S. Hubbard, R. Fischer, R. Bender, T. Anderson, V. De Vita, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **19** (1978) 393
- [37] J. Hill, E. Loeb, A. MacLellan, N. Hill, A. Khan, *Cancer Chemother. Rep.* **59** (1975) 647
- [38] W. Hong, S. Shapshay, R. Bhutani, M. Craft, V. Alptekin, K. Yamaguchi, C. Vaughan, M. Strong, *Cancer Res.* **44** (1979) 26
- [39] M. Soloway, J. De Kernion, D. Rose, I. Persky, *Surg. Forum.* **13** (1973) 542
- [40] L. Kvols, R. Eagan, E. Creagan, R. Dalton, *Proc. Am. Assoc. Cancer. Res.* **19** (1978) 82

- [41] J. Reedijk, *Inorg. Chim. Acta* **198-200** (1992) 873
- [42] M. J. Bloemink, J. Reedijk in *Metal ions in biological systems*, ed. H. Sigel and A. Sigel, M. Dekker, New York, (1996) vol. 32, pp. 641-685
- [43] J. Reedijk, *Chem. Comm.* (1996) 801
- [44] T. W. Hambley, *Coord. Che. Rev.* **166** (1997) 181
- [45] T. G. Appleton, *Coord. Che. Rev.* **166** (1997) 313
- [46] B. K. Keppler, In: *Metal Complexes in Cancer Chemoterapy*, Ed. B. K. Keppler, VCH, Weinheim, Germany, 1993, p. 3.
- [47] M. Hartman, B. K. Keppler, *Comments Inorg. Chem.* **16** (1995) 339
- [48] M. H. Heim, In: *Metal Complexes in Cancer Chermotherapy*, Ed. B. K. Keppler, VCH, Wienheim, Germany, 1993, p. 16
- [49] C. P. Saris, P. J. M. Van de Vaart, F. A. Blommert, R. Rietbroek, A. C. Begg, *Proceedings of 7th International Symposium on Platinum and other metal coordination componds in Cancer Chermotherapy (ISPCC)*, Amsterdam, The netherlands, 1995, 042;
- [50] F. Levi, D. Machover, M. Marty, E. Diaz-Rubio, A. De Gramont, C. Garufi, M. Itzhaki, E. Cvitkovic, S. Brienza, *ibid.*, 044.
- [51] N. Farrell, *Transition Metal Complexes as Drugs and Chemotherapeutic Agents*, Kluwe Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands 1989, p. 57;
- [52] N. Farrell, S. G. De Almeida, K. A. Skov, *J. Am. Chem. Soc.* **110** (1988) 5018
- [53] K. Kamisango, T. Matsumoto, K. Akamatsu, K. Morikawa, T. Tashiro, K. Koizumi, *Jap. J. Cancer. Res.* **83** (1992) 304
- [54] T. Matsumoto, K. Endoh, K. Akamatsu, K. Morikawa, T. Tashiro, K. Koizumi, K. Morikawa, M. Koizumi, T. Matsuno, *Br. J. Cancer* **64** (1991) 41
- [55] D. Lebowhl, R. Canetta, *Eur. J. Cancer* **33** (1998) 1522
- [56] D. P. Gately, S. B. Howell, *Br. J. Cancer* **67** (1993) 1171
- [57] G. Chu, *J. Biol. Chem.* **269** (1994) 787
- [58] K. Wang, J. Lu, R. Li, *Coord. Chem. Rev.* **151** (1996) 53
- [59] E. R. Jamieson, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **99** (1999) 2467
- [60] P. Jordan, M. Carmo-Fonseca, *Cell. Mol. Life Sci.* **57** (2000) 1299
- [61] R. P. Pérez, *Eur. J. Cancer* **34** (1998) 1535
- [62] E. L. M. Lempers, J. Reedijk, *Adv. Inorg. Chem.* **37** (1991) 175
- [63] S.E. Miller, D.A. House, *Inorg. Chim. Acta* **187** (1991) 125

- [64] J. Reedijk, *Chem. Rev.* **99** (1999) 2499
- [65] B. Lippert (Ed.), *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading. Anticancer Drug*; VHCA, Zürich; Wiley-VCH, Weinheim **8** (1999) 563
- [66] G.N. Kaluderović, R. Paschke, *Current Med. Chem.* **18** (2011) 4738
- [67] J. L. Butour, S. Wimmer, F. Wimmer, P. Castan, *Chem. Biol. Inter.* **104** (1997) 165
- [68] J. Ruiz, J. Lorenzo, L. Sanglas, N. Cutillas, C. Vicente, M. D. Villa, F. X. Avilés, G. López, V. Moreno, J. Pérez, D. Bautista, *Inorg. Chem.* **45** (2006) 6347
- [69] C. Navarro-Ranninger, J. M. Pérez, F. Zamora, V. M. González, J. R. Masaguer, C. Alonso, *J. Inorg. Biochem.* **52** (1993) 37
- [70] S. Ray, R. Mohan, J. K. Singh, M.K. Samantaray, M.M. Shaikh, D. Panda, P. Ghosh, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 15042
- [71] T. Storr, K. H. Thompson, C. Orvig, *Chem. Soc. Rev.* **35** (2006) 534
- [72] N. N. Stone, P. G. Stock, *Eur. Urol.* **41** (2002) 427
- [73] L. Potters, Y. Cao, E. Calugaru, T. Torre, P. Fearn, X. H. Wang, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **50** (2001) 605
- [74] E. Budzisz, B. K. Keppler, G. Giester, M. Woźniczka, A. Kufelnicki, B. Nawrot, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2004) 4412
- [75] E. Budzisz, U. Krajewska, M. Rozalski, *Pol. J. Pharmacol.* **56** (2004) 473
- [76] G. Zhao, H. Lin, P. Yu, H. Sun, S. Zhu, X. Su, Y. Chen, *J. Inorg. Biochem.* **73** (1999) 145-149
- [77] F. Huq, H. Tayyem, P. Beale, J. Q. Yu, *J. Inorg. Biochem.* **101** (2007) 30-35
- [78] L. Tušek-Božić, J. Matijašić, G. Bocelli, P. Sgarbotto, A. Furlani, V. Scarcia, A. Papaioannou, *Inorg. Chim. Acta* **185** (1991) 229
- [79] L. Tušek-Božić, J. Matijašić, G. Bocelli, G. Calestani, A. Furlani, V. Scarcia, A. Papaioannou, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1991) 195
- [80] T. A. K. Al-Allaf, L. J. Rahan, *Boll. Chim. Farm.* **140** (2001) 205
- [81] S. Grgurić-Šipka, M. A. A. M. Alshtewi, D. Jeremić, G. N. Kaluderović, S. Gómez-Ruiz, Ž. Žižak, Z. Juranić, T. J. Sabo, *J. Serb. Chem. Soc.* **73** (2008) 619
- [82] S. Grguric-Šipka, C. R. Kowol, S. Valiahdi, R. Eichinger, M. A. Jakupec, A. Roller, S. Shova, V. B. Arion, B. K. Keppler, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2007) 2870
- [83] S. Gómez-Ruiz, G. N. Kaluderović, S. Prashar, D. Polo-Cerón, M. Fajardo, Ž. Žižak, T. J. Sabo, Z. D. Juranić, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 1558

- [84] S. Gómez-Ruiz, G. N. Kaluđerović, D. Polo-Cerón, S. Prashar, M. Fajardo, Ž. Žižak, Z. D. Juranić, T. J. Sabo, *Inorg. Chem. Comm.* **10** (2007) 748
- [85] S. Gómez-Ruiz, G. N. Kaluđerović, S. Prashar, E. Hey-Hawkins, A. Erić, Ž. Žižak, Z. D. Juranić, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 2087
- [86] M. Gielen, E. R. T. Tiekink, in: M. Gielen, E. R. T. Tiekink (Eds.), *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine*, John Wiley & Sons Ltd. (2005) 421
- [87] M. Auzias, B. Therrien, G. Suss-Fink, P. Štěpnička, W. Han Ang, P. J. Dyson, *Inorg. Chem.* **47** (2008) 578
- [88] B. Dutta, C. Scolaro, R. Scopelliti, P. J. Dyson, K. Severin, *Organometallics* **27** (2008) 1355
- [89] E. Budzisz, M. Malecka, B. K. Keppler, V. B. Arion, G. Andrijewski, U. Krajewska, M. Rozalski, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2007) 3728
- [90] A. Casini, Ch. Hartinger, Ch. Gabbiani, E. Mini, P. J. Dyson, B. K. Keppler, L. Messori, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 564
- [91] S. Y. Ho, E. R. T. Tiekink, in: M. Gielen, E. R. T. Tiekink (Eds.), *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine*, John Wiley & Sons Ltd. (2005) 507
- [92] J. J. Liu, P. Galettis, A. Farr, L. Maharaj, H. Samarasingha, A. C. McGechan, B. C. Baguley, R. J. Bowen, S. J. Berners-Price, M. J. McKeage, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 303
- [93] M. S. Davies, P. N. Wong, A. R. Battle, G. Haddad, M. J. McKeage, T. W. Hambley, *J. Inorg. Biochem.*, **91** (2002) 205
- [94] W. T. Bradner, W. C. Rose, J. B. Huftalen, In *Cisplatin, Current Status and New Developments*; S. T. Crooke, S. K. Carter, Ed.; Academic Press, New York, USA, 1980, 171
- [95] R. Kuroda, S. Neidle, I. M. Ismail, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.*, **22** (1983) 3620
- [96] P. N. Wong, M. S. Davies, T. W. Hambley, *Aust. J. Chem.*, **54** (2001) 303
- [97] G.N. Kaluđerović, V.M. Đinović, Z.D. Juranić, T.P. Stanojković, T.J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.* **99** (2005) 488
- [98] G.N. Kaluđerović, Dj. Miljković, M. Momčilović, V.M. Đinović, M. Mostarica Stojković, T.J. Sabo, V. Trajković, *Int. J. Cancer.* **116** (2005) 479

- [99] S. Mijatović, D. Maksimović-Ivanović, J. Radović, Dj. Miljković, G.N. Kaluđerović, T.J. Sabo, V. Trajković, *Cell. Mol. Life Sci.*, **62** (2005) 1275
- [100] G.N. Kaluđerović, H. Kommera, S. Schwieger, A. Paethanom, M. Kunze, H. Schmidt, R. Paschke, D. Steinborn, *Dalton Trans.* **48** (2009) 10720
- [101] J. Sikkema, J.A.M. de Bont, B. Poolman, *Microbiology Reviews* **59(2)** (1995) 201
- [102] S. P. Denyer, G. S. A. B. Stewart, *International Biodeterioration and Biodegradation* **41(3)** (1998) 261
- [103] M. Cristani, M. D'Arrigo, G. Mandalari, F. Castelli, M.G. Sarpietro, D. Micieli, V. Venuti, G. Bisignano, A. Saija, D Trombetta, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55(5)** (2007) 6300
- [104] G. J. Tortora, B. R. Funke, C. L. Case. *Microbiology: an introduction*. 7th ed. Pearson Education, San Francisco, CA 2002
- [105] M. Nevas, A. Korhonen, M. Lindstrom, P. Turkki, H. Korkeala, *Journal of Food Protection* **67(1)** (2004) 199
- [106] W. E. Levinson, E. Jawetz. *Medical microbiology and immunology. Examination & Board Review*. Second Edition, Prentice Hall, London (1992)
- [107] P. R. Murray, G. S. Kobayashi, M. A. Pfaller, K. S. Rosenthal, *Medical Microbiology* 2nd ed. St. Louis: Mosby Year Book (1994).
- [108] W. Guerra, E. De Andrade Azevedo, A. R. de Souza Monteiro, M. Becciarelli-Rodriguz, E. Chartone-Souza, A.M. Amaral Nascimento, A.P. Soares Fontes, I. Le. Moyes, E.C. Pereira-Maia, *J. Inorg. Biochem.* **99** (2005) 2348
- [109] L. M. M. Vieira, M. V. de Almeida, M. C. S. Lourenco, F. A. F. M. Bezerra, A. P. S. Fontes, *European Journal of Medicinal Chemistry* **44** (2009) 4107
- [110] D. Kovala-Demertzi, m.A Demertzis, J. R. Miller, C. Papadopoulou, C. Dodorou, G. Filousis, *J. Inorg. Biochem.* **86** (2001) 555
- [111] R. R. Coombs, M. K. Ringer, J. M. Blacquire, J. C. Smith, J. S. Neilsen, Y.-S. Uh, J. B. Gilbert, L. J. Leger, H. Zhang, A. M. Irving, S. L. Wheaton, C. M. Vogels, S. A Westcott, *Transition Metal Chem.* **30** (2005) 411
- [112] M. Ali, M. Aminul, R. Butcher, C. Karen, *Transition Met. Chem.* **31** (2006) 79
- [113] I. Kizilcikli, Y. D. Kurt, B. Akkurt, A.Y. Genel, S. Birteksöz, G. Ötük, B. Ülküseven, *Folia Mikrobiol.* **52** (2007) 15
- [114] N. M. Aghatabay, M. Somer, M. Senel, B. Dulger, F. Gucin, *Eur. J. Med. Chem.* **42** (2007) 1069

- [115] M. K. Biyala, K. Sharma, S. Swami, N. Fahmi, R. Vir Singh, *Tran. Met. Chem.* **33** (2008) 377
- [116] V. Climesova, J. Koci, M. Pour, J. J. Stachel, K. Waisser, J. Kaustova, *Eur. J. Pharm. Chem.* **37** (2002) 409
- [117] J. Valdez. R. Cedillo, A. Hernandez/Campos, L. Yepey, F. Hernandez-Luis, G. Navarrete-Vazquez, A. Tapia, R. Cortes, M. Hernandez, R. Castillo, *Bioorganic and Medicinal Chem. Letters* **12** (2002) 2221
- [118] T. C. Kühler, M. Swanson, B. Christenson, C.A. Klintonberg, B. Lamm, J. Fagerhag, G. Roberto, M. Ölwegard-Halvarsson, V. Shcherbuchin, T. Elebring, E. Sjöström, *J. Med. Chem.* **45** (2002) 4282
- [119] M. Andrzejewska, L. Yopez-mulia, A. Tapia, R. Cedillo-Rivera, A.E. Laudy, B.J. Starsciak, Z. Kazimierczuk, *Eur.J. Pharm. Chem.* **21** (2004) 323
- [120] M. Gökç, S. Utku, E. Berçin, B. Özçelik, T. Karaoğlu, N. Noyanalpan, *Turk. J. Chem.* **29** (2005) 207
- [121] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, New York (1986)
- [122] D. H. Busch, J. C. Bailar, *J. Am. Chem. Soc.* **75** (1953) 4574
- [123] M. L. Morris, D. H. Busch, *J. Am. Chem. Soc.* **78** (1956) 5178
- [124] L. N. Schoenberg, D. W. Cooke, C. F. Lui, *Inorg. Chem.* **7** (1968) 236
- [125] S. Trifunović, D. Dimitrijević, G. Vasić, N. Radulović, M. Vukićević, F. W. Heinemann, R. Vukićević, *Synthesis-Stuttgart* **6** (2010) 943.
- [126] V. V. Glođović, G. P. Radić, S. M. Stanić, F. W. Heinemann and S. R. Trifunović, *J. Serb. Chem. Soc.* **76** (2001) 995
- [127] Oxford Diffraction, CrysAlis CCD and CrysAlis RED Versions 1.171.32.24. Oxford Diffraction Ltd., Abington, England, 2008
- [128] R. C. Clark, J. S. Reid, *Acta Crystallogr.* **A51** (1995) 887
- [129] M. C. Burla, M. Camalli, B. Carrozzini, G. L. Cascarano, C. Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.* **36** (2003)1103
- [130] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr.* **A64** (2008) 112
- [131] L.J. Farrugia, WinGX, *J. Appl. Cryst.* **32** (1999) 837
- [132] A.L. Spek, *J. Appl. Crystallogr.* **36** (2003) 7
- [133] M. Nardelli, *J. Appl. Crystallogr.* **28** (1995) 659

- [134] S.J. Gardai, K.A. McPhillips, S.C. Frasch, W.J. Janssen, A. Starefeldt, J.E. Murphy-Ullrich, D.L. Bratton, P.A. Oldenborg, M. Michalak, P.M. Henson, Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell* **123** (2005) 321
- [135] R.M. Locksley, .Killeen, M.J. Lenardo, The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* **104** (2001) 487
- [136] A. Ashkenazi, V.M. Dixit, Death receptors: signaling and modulation. *Science* **281** (1998) 1305
- [137] Y. Chicheportiche, P.R. Bourdon, H. Xu, Y.M. Hsu, H. Scott, C. Hession, I. Garcia, J.L. Browning, TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *J. Biol. Chem.* **272** (1997) 32401
- [138] T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* **65** (1983) 55
- [139] D. Gerlier, N. Thomasset, *J. Immunol. Methods* **94** (1986) 57
- [140] L.J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* **30** (1997) 565
- [141] S. Trifunović, D. Dimitrijević, G. Vasić, N. Radulović, M. Vukićević, F. W. Heinemann, R. D. Vukićević, *Synthesis-Stuttgart* **6** (2010) 943
- [142] E. Dyer, H. Scott, *J. Am. Chem. Soc.* **79** (1957) 672
- [143] (a) Y. J. Kim, R. Varma *Tetrahedron Lett.* **45** (2004) 7205; (b) B.M. Bhanage , S.-i. Fujita , Y. Ikushima , M. Arai , *Green Chem.* **6** (2004) 78
- [144] (a) L. Caggiano, D.J. Fox, S. Warren , *Chem. Commun.* (2002) 2528
(b) J.-R. Ella-Menye , V. Sharma , G. Wang , *J. Org. Chem.* **70** (2005) 463
- [145] P. Giannoccaro, A. Dibenedetto , M. Gargano , E. Quaranta , M. Aresta *Organometallics* **27** (2008) 967
- [146] N. Snoods , G. Yamamoto, K. Naysukawa , K. Kondo, S Murai , *Tetrahedron Lett.* **16** (1975) 1969
- [147] Y. Kubata , M. Kodaka , T. Tomohiro, H. Okano, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1** (1993) 5
- [148] G.Y. Leshner, AR. Surrey, *J. Am. Chem. Soc.* **77** (1955) 636
- [149] J.-R. Ella-Menye , G. Wang, *Tetrahedron* **63** (2007) 10034
- [150] B.B. Lohray, S. Baskaran , B.Y. Reddy , K.S. Rao , *Tetrahedron Lett.* **39** (1998) 6555
- [151] T.P. Curran , M.P. Pollastri, S.M. Abelleira , R. Messier, T.A. McCollum , C.G. Rowe, *Tetrahedron Lett.* **35** (1994) 5409

- [152] A.G. Korepin , P.V. Galkin, N.M. Glushakova, E.K. Perepelkina, M.V. Loginova, V.P. Lodygina , A.Ol'khov , L.T. YuEremenko , *Russ. Chem. Bull.* **52** (2003) 2221
- [153] J. Pierce , R. Adams, *J. Am. Chem. Soc.* **45** (1923) 790
- [154] B.L. Phillips, P.A. Argabright, *Heterocycl. Chem.* **3** (1966) 84
- [155] A. Inesi, V. Mucciante , L. Rossi, *J. Org. Chem.* **63** (1998) 1337
- [156] M. A. Casadei , F. M. Moracci, G. Zappia, A. Inesi, L. Rossi , *J. Org. Chem.* **62** (1997) 6754
- [157] I. Shibata , K. Nakamura, A. Baba, H. Matsuda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **62** (1989) 853
- [158] (a) M.-S. Park, J.-W. Lee, *Arch. Pharmacol Res.* **16** (1993) 158 ; (b) J. W. Hilborn , Z.H. Lu , A. R. Jurgens , Q. K. Fang, P. Byers , S.A. CH. Wald , *Senanayake Tetrahedron Lett.* **42** (2001) 8919 ; (c) E. Hernandez , J.M. Velez, CP. Vlaar *Tetrahedron Lett.* **48** (2007) 8972
- [159] J.M. Sullivan, H. F. Efnier, *J. Org. Chem.* **33** (1968) 2134
- [160] A. Masuyama , K. Tsuchiya , M. Okahara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **58** (1985) 2855
- [161] (a) D.S. Breslow , G.A. Ward, *J. Org. Chem.* **38** (1973) 4205 ; (b) P.F. Alewood , M. Benn , R. Reinfried, *Can. J. Chem.* **52** (1974, 4083 ; (c) O. E. Edwards, Z. Paryzek , *Can. J. Chem.* **51** (1973) 3866
- [162] J.M. Jordá-Gregori, ME. González-Rosende , J. Sepúlveda-Arques , R. Galeazzi , M. Orena, *Tetrahedron: Asymmetry* **10** (1999) 1135
- [163] (a) M. Fujita, O. Kitagawa, T. Suzuki , T. Taguchi, *J. Org. Chem.* **62** (1997) 7330; (b) CJ. Hayes, PW. Beavis, LA. Humphries, *Chem. Commun.* (2006) 4501
- [164] S.-K. Kang, T.-G. Baik, Y. Hur , *Tetrahedron* **55** (1999) 6863
- [165] E. Garcia-Egido, I. Fernández , L. Muñoz , *Synth. Commun.* **36** (2006) 3029
- [166] (a) P.J. Walsh , Y.L. Bennani , K.B. Sharpless, *Tetrahedron Lett.* **34** (1993) 5545 ; (b) T.J. Donohoe , P.D. Johnson, R.J. Pye, *Org. Biomol. Chem.* **1** (2003) 2025
- [167] D. P. Dimitrijević, S. B. Novaković, G. P. Radić , V. V. Glodović, L. M. Taboada, S. G. Granda, S. R. Trifunović, *J. Serb. Chem. Soc.* **78** (2013) 1531

- [168] B. B. Krajčinović, G. N. Kaludžerović, D. Steinborn, H. Schmidt, C. Wagner, Z. Zizak, Z. D. Juranić, S. R. Trifunović, T. J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 892
- [169] B. B. Zmejkovski, G. N. Kaludžerović, S. Gomez-Ruiz, Z. Zizak, D. Steinborn, H. Schmidt, R. Paschke, Z. D. Juranić, T. J. Sabo, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 3452
- [170] D. P. Dimitrijević, V. V. Glođović, G. P. Radić, S. G. Granda, L. M. Taboada, M. Milovanović, V. Volarević, N. Arsenijević, G. A. Bogdanović, S. R. Trifunović, *Inorganica Chimica Acta* **402** (2013) 83
- [171] V. V. Glođović, F. W. Heinemann and S. R. Trifunović, *J. Chem. Crystall.* **38** (2008) 883
- [172] V. M. Đinović, V. V. Glođović, G. P. Vasić, V. Trajković, O. Klisurić, S. Stanković, T. J. Sabo and S. R. Trifunović, *Polyhedron* **29** (2010) 1933
- [173] G. P. Vasić, V. V. Glođović, I. D. Radojević, O. D. Stefanović, Lj. R. Čomić, V. M. Đinović and S. R. Trifunović, *Inorganica Chimica Acta* **363** (2010) 3606
- [174] G. P. Radić, V. V. Glođović, G. N. Kaludžerović, F. W. Heinemann and S. R. Trifunović, *Trans. Met. Chem.* **36** (2011) 331
- [175] J.M. Lazić, Lj. Vučićević, S. Grgurić-Šipka, K. Janjetović, G.N. Kaludžerović, M. Misirkić, M. Gruden-Pavlović, D. Popović, R. Paschke, V. Trajković, T.J. Sabo, *Chem. Med. Chem.* **5** (2010) 1
- [176] Lj. E. Mihajlović, A. Savić, J. Poljarević, I. Vučković, M. Mojić, M. Bulatović, Maksimović-Ivanić, S. Mijatović, G.N. Kaludžerović, S. Stošić-Grujičić, Đ. Miljković, Grgurić-Šipka, T.J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.* **109** (2012) 40
- [177] J.M. Vujić, G.N. Kaludžerović, M. Milovanović, B.B. Zmejkovski, V. Volarević, D. Tivić, P. Đurđević, N. Arsenijević, S.R. Trifunović, *Eur. J. Med. Chem.* **46** (2011) 4559
- [178] J.M. Vujić, G.N. Kaludžerović, B.B. Zmejkovski, M. Milovanović, V. Volarević, N. Arsenijević, T.P. Stanojković, S.R. Trifunović, *Inorg. Chem. Acta* **390** (2012) 123
- [179] G.N. Kaludžerović, S.A. Mijatović, B.B. Zmejkovski, M.Z. Bulatović, S. Gómez-Ruiz, M.K. Mojić, D. Steinborn, Đ.M. Miljković, H. Schmidt, S.D. Stošić-Grujičić, T.J. Sabo, D. Maksimović-Ivanić, *Metallomics* **4** (2012) 979

- [180] P. J. Garnett, D. W. Watts, *Inorg. Chim. Acta* **8**, (1974) 293; P. J. Garnett, D. W. Watts, J. I. Legg, *Inorg. Chem.*, **8** (1969) 2534
- [181] G. G. Hawn, C. Maricondi, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **18** (1979) 2542
- [182] J. L. Sudmeier and G. Occupati, *Inorg. Chem.*, **7** (1968) 2524
- [183] B. B. Krajčinović, G. N. Kaluđerović, D. Steinborn, H. Schmidt, Ch. Wagner, K. Merzweiler, S. R. Trifunović, T. J. Sabo, *J. Serb. Chem. Soc.* **74** (2009) 389
- [184] L.C. Panasci, J.P. Paiement, G. Christodouloupoulos, A. Belenkov, A. Malapetsa, R. Aloyz, *Clin. Cancer Res.* **7** (2001) 454.

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

БИОГРАФИЈА

Мр Дејана Димитријевић је рођена 20.08.1975. године у Крагујевцу. Основну школу и Прву крагујевачку гимназију, природно-математичког смера, завршила је са одличним успехом. Студије хемије, општи смер, на Природно-математичком факултету у Крагујевцу уписала је 1994. године. Дипломирала је 1999. године са просечном оценом 8,86.

Школске 1999/2000. године почиње да ради у Медицинској школи, као професор и васпитач у интернату. Исте школске године уписала је последипломске (магистарске) студије на смеру Неорганска хемија. Као професор хемије предавала је општу, неорганску и органску хемију. Учествовала је у оснивању и развоју фармацеутског смера, на којем је поред наведених предмета држала предавања и вежбе из аналитичке хемије.

Магистарску тезу под насловом „ Испитивање реакција неких комплекса платине(II) са пептидима“ одбранила је 2002. године.

Након ступања на снагу новог Закона о високом образовању у Институту за хемијске науке Природно-математичког факултета у Крагујевцу 2007. године. уписује Докторске студије, смер Неорганска хемија.

Као предавач у школи активно учествује у раду са талентованим ученицима са којима постиже завидне резултате на свим нивоима такмичења. Најзначајнији резултати остварени су 2005, 2010. и 2011. године освајањем првих места на републичким такмичењима. Од 2003. године успоставља успешну дугогодишњу сарадњу са Истраживачком станицом у Петници .

Активно се бавила питањима и проблемима у настави хемије у оквиру Удружења наставника хемије на нивоу Србије .

Од 2003. године у оквиру реформе школства у програму CARDS I (Community Assistance For Reconstruction, Development and Stabilisation), Министарства просвете и науке Републике Србије, похађала је семинаре за интерног носиоца промена. У оквиру обуке, боравила је у образовним установама у Грчкој и Македонији. У току 2005. године учествује у писању

пројекта „Савремени дијагностички апарати који се користе у дијагностици и лечењу“ (03SER01/06/003-04SER01/11/006). Пројекат је реализован током 2006. године у Институту у Сремској Каменици.

У оквиру свог истраживачког рада на Природно-математичком факултету Дејана П. Димитријевић је до сада објавила 3 научна рада у часописима (2 рада M22 и 1 рад M23), 1 саопштење на међународним научним скуповима, као и 5 саопштења на домаћим научним скуповима.

УВОД

ОПШТИ ДЕО

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

ЗАКЉУЧАК

ЛИТЕРАТУРА

БИОГРАФИЈА

НАУЧНИ РАДОВИ

ПРИЛОГ

**РАДОВИ У КОЈИМА СУ ШТАМПАНИ РЕЗУЛТАТИ
ОВЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

1.	<p>S. Trifunović, D. Dimitrijević, G. Vasić, N. Radulović, M. Vukićević, F. W. Heinemann, R. D. Vukićević,</p> <p><i>New Simple Synthesis of N-Substituted 1,3-Oxazinan-2-ones,</i> <i>Synthesis-Stuttgart</i> 6 (2010) 0943-0946;</p> <p>ISSN: 0039-7881; DOI: 10.1055/s-0029-1218642; ID:T20509SS</p> <p>M22</p>
2.	<p>D. P. Dimitrijević, S. B. Novaković, G. P. Radić, V. V. Glođović, L. M. Taboada, S. G. Granda, S. R. Trifunović,</p> <p><i>Synthesis, characterization and crystal structure of butyl N-(3-chloropropyl)-(2S)-alaninate hydrochloride</i></p> <p><i>J. Serb. Chem. Soc.</i> 78 (2013) 1531-1537</p> <p>ISSN: 1820-7421; DOI: 10.2298/JSC130214054D</p> <p>M23</p>
3.	<p>D. P. Dimitrijević, V. V. Glođović, G. P. Radić, S. G. Granda, L. M. Taboada, M. Milovanović, V. Volarević, N. Arsenijević, G. A. Bogdanović, S. R. Trifunović,</p> <p><i>Stereospecific ligands and their complexes. Part XV. Synthesis, characterization and cytotoxicity of novel platinum(IV) complexes with some esters of ethylene-diamine-N,N'-di-(S,S)-(2,2'-dibenzyl)acetic acid. Crystal structure of O,O'-dipropyl-ethylenediamine-N,N'-di-(S,S)-(2,2'-dibenzyl)acetate dihydrochloride</i></p> <p><i>Inorganica Chimica Acta</i> 402(2013), 83-89;</p> <p>PII: S0020-1693(13)00174-6</p> <p>ISSN: 0020-1693; DOI: 10.1016/j.ica.2013.03.039</p> <p>M22</p>

РАДОВИ КОЈИ СУ У ПРИПРЕМИ

1.	<p>Dejana P. Dimitrijević^a, Gordana P. Radić, Verica V. Jevtić, Milena Misić, Dejan Baskić, Srećko R. Trifunović</p> <p><i>Stereospecific ligands and their complexes. XX. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of palladium(II) complexes with some alkyl esters of ethylenediamine-<i>N,N'</i>-di-(<i>S,S</i>)-(2,2'-dibenzyl)acetic acid (Inorganica Chimica Acta)</i></p>
2.	<p>D. P. Dimitrijević, S. B. Novaković, G. P. Radić, V. V. Glodović, L. M. Taboada, S. G. Granda, S. R. Trifunović,</p> <p><i>Synthesis, characterization and crystal structure of propyl <i>N</i>-(3-chloropropyl)-(2<i>S</i>)-alaninate hydrochloride (za J. Serb. Chem. Soc.)</i></p>

НАУЧНО-ИСТРАЖИВАЧКИ РАД

1. Магистарска теза

Дејана П. Димитријевић,

„ Испитивање реакција неких комплекса платине(II) са пептидима“,

Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевцу 2002;

M.I. Djuran , D. P. Dimitrijević, S. U. Milenković, Ž. D. Bugarčić

Reactions of platinum(II) complexes with sulfur- and histidine-containing peptides: a model for selective platination of peptides and proteins (Article)

TRANSITION METAL CHEMISTRY, (2002), vol. 27 br.2. str. 155-158

ISSN: 0340-4285

M22

2. Списак радова

1.1.	S. Trifunović, D. Dimitrijević, G. Vasić, N. Radulović, M. Vukićević, F. W. Heinemann, R. D. Vukićević, <i>New Simple Synthesis of N-Substituted 1,3-Oxazinan-2-ones,</i> <i>Synthesis-Stuttgart</i> 6 (2010) 0943-0946; ISSN: 0039-7881; DOI: 10.1055/s-0029-1218642; ID:T20509SS M22
1.2.	D. P. Dimitrijević, S. B. Novaković, G. P. Radić , V. V. Glođović, L. M. Taboada, S. G. Granda, S. R. Trifunović, <i>Synthesis, characterization and crystal structure of butyl N-(3-chloropropyl)-</i> <i>(2S)-alaninate hydrochloride,</i> <i>J. Serb. Chem. Soc.</i> 78 (2013) 1531-1537 ISSN: 1820-7421; DOI: 10.2298/JSC130214054D M23

1.3.	<p>D. P. Dimitrijević, V. V. Glođović, G. P. Radić, S. G. Granda, L. M. Taboada, M. Milovanović, V. Volarević, N. Arsenijević, G. A. Bogdanović, S. R. Trifunović,</p> <p><i>Stereospecific ligands and their complexes. Part XV. Synthesis, characterization and cytotoxicity of novel platinum(IV) complexes with some esters of ethylenediamine-<i>N,N'</i>-di-(<i>S,S</i>)-(2,2'-dibenzyl)acetic acid. Crystal structure of <i>O,O'</i>-dipropyl-ethylenediamin-<i>N,N'</i>-di-(<i>S,S</i>)-(2,2'-dibenzyl)acetate dihydrochloride</i></p> <p><i>Inorganica Chimica Acta</i> 402(2013), 83-89; PII: S0020-1693(13)00174-6 ISSN: 0020-1693; DOI: 10.1016/j.ica.2013.03.039 M22</p>
------	--

**3. Spisak saopšteња na međunarodnim naučnim konferencijama
 štampana u izvodu**

1.1.	<p>J.M. Vujić, D. Dimitrijević, M. Milovanović, V. Volarević, N. Arsenijević and S.R. Trifunović</p> <p><i>Antitumor activity of palladium(II) complexes with <i>O,O'</i>-dialkyl-ethylene-diamine-<i>N,N'</i>-di-(<i>S,S</i>)-2-(4-methyl)-pentanoate ligand</i></p> <p>7th International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries Romania, 2010 str. 189; M34</p>
------	---

4. Списак саопштења на домаћим научним конференцијама штампана у изводу

1.1.	<p>G. P. Radić, D. P. Dimitrijević, V. V. Glodović, I. D. Radojević, O. D. Stefanović, Lj. R. Čomić, Z. R. Ratković, A. Valkonen, K. Rissanen, S. R. Trifunović</p> <p><i>Crystal structure of bis-(S-benzyl-thiosalicylate)-palladium(II) complex, [Pd(S-bz-thiosal)₂],</i></p> <p>XVIII Conference of the Serbian Crystallographic Society, Andrevlje, Fruška Gora, 2011, p. 42; ISSN: 0354-5741; ISBN: 978-86-7031-194-7</p> <p>M64</p>
1.2.	<p>D.P. Dimitrijević, J. Vujić, S. Garcia-Granda, L.Menendez Taboada and S.R. Trifunović</p> <p><i>Synthesis and crystal structure of O,O'-dipropyl-ethylenediamine-N,N'-di-(S,S)-(2,2'-dibenzyl)-acetate dihydrochloride</i></p> <p>XVII Conference of the Serbian Crystallographic Society, Ivanjica 2010, 48;</p> <p>M64</p>
1.3.	<p>D.P. Dimitrijević, R. D. Vukićević, M. D. Vukićević, S. Garcia-Granda, L.Menendez Taboada and S.R. Trifunović</p> <p><i>The crystal structure of (S)-propyl-2-(3-chloropropylamino)propanoate and (S)-butyl-2-(3-chloropropylamino)propanoate</i></p> <p>XVI Conference of the Serbian Crystallographic Society, Divčibare 2009, 32;</p> <p>M64</p>
1.4	<p>D.P. Dimitrijević, S.R. Trifunović, R. D. Vukićević, F. W. Heinemann</p> <p><i>Synthesis and crystal structure of 2(S)-(2-oxotetrahydro-1,3-oxazin-3-yl)-propionic acid</i></p> <p>XV Conference of the Serbian Crystallographic Society, Donji Milanovac 2008</p> <p>M64</p>

1.5	<p>Ivana D. Radojević, Dejana P. Dimitrijević, Verica V. Glođović, Gordana P. Radić, Olgica D. Stefanović, Ljiljana R. Čomić, Srećko R. Trifunović</p> <p><i>Biologylac activity of some new ligands and their platinum(IV) complexes</i></p> <p>IX Kongres Mikrobiologa Srbije, MIKROMED 2013, Udruženje mikrobiologa Srbije , Beograd, 30. maj- 01. jun</p> <p>ISBN 978-86-914897-1-7</p> <p>M64</p>
-----	---