СХД 1897

'17

ХЕМИЈСКИ ПРЕГЛЕД

год. 58
бр. 3 (јун)

YU ISSN 04406826
UDC 54.011.93

српско хемијско друштво

ХЕМИЈСКИ ПРЕГЛЕД CHEMICAL REVIEW

Editor-in-Chief
RATKO M. JANKOV
Deputy Editor-in-Chief
DRAGICA TRIVIĆ

Volume 58
NUMBER 3
(June)

Publisher
SERBIAN CHEMICAL SOCIETY
Belgrade/Serbia, Karnegijeva 4

Годиште 58

број 3
јун

Издаје
СРПСКО ХЕМИЈСКО ДРУШТВО

Телефон 3370-467

Карнегијева 4

излази двомесечно

ОДГОВОРНИ И ГЛАВНИ УРЕДНИК
Ратко М. Јанков

ПОМОЋНИК ОДГОВОРНОГ И ГЛАВНОГ УРЕДНИКА
Драгица Тривић

ЧЛАНОВИ РЕДАКЦИЈЕ
Владимир Вукотић, Бранко Дракулић, Јелена Радосављевић, Наталија Половић и Воин Петровић

УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Иван Гутман, Снежана Зарић, Јован Јовановић, Славко Кеврешан, Драган Марковић, Владимир Павловић, Радомир Саичић, Живорад Чековић (председник).

Годишња чланарина, укључује часопис „Хемијски преглед", за 2016. годину износи:
- за све запослене 1.800,00
- за професоре у основним и средњим школама..... 1.000,00
- за пензионере, студенте, ђаке и незапослене.....800,00
- претплата за школе и остале нституције..... 3.500,00
- за чланове и институције из иностранства. ..... € 50

Чланарину и претплату можете уплатити на рачун СХД: 205-13815-62, позив на број 320.

Web site: http://www.shd.org.rs/hp/
e-mail редакције: hempr_ed@chem.bg.ac.rs

Припрема за штампу: Јелена и Зоран ДИМИЋ, Светозара Марковића 2, 11000 Београд

Штампа: РИЦ графичког инжењерства Технолошко-металуршког факултета Београд, Карнегијева 4

Насловна страна и Интернет верзија часописа:
Слободан и Горан Ратковић, RatkovicDesign
www.ratkovicdesign.net
office@ratkovicdesign.net

САДРЖАЈ

Лела ВУЈОШЕВИЋ
ЖИВОТНИ И РАДНИ ЈУБИЛЕЈ ИВАНА ГУТМАНА _____ *58*

Александар МИЈАТОВИЋ, Јована БОГОЈЕСКИ
Aleksandar MIJATOVIĆ, Jovana BOGOJESKI
СУПСТИТУТЦИОНЕ РЕАКЦИЈЕ Pd(II) КОМПЛЕКСА СА БИОЛОШКИ ВАЖНИМ БИОМОЛЕКУЛИМА
SUPSTITUTION REACTION OF Pd(II) COMPLEXES WITH BIOLOGICALLY IMPORTANT BIOMOLECULES _____ *60*

Милена СИМИЋ, Предраг ЈОВАНОВИЋ, Милош ПЕТКОВИЋ
Milena SIMIC, Predrag JOVANOVIC, Milos PETKOVIC
ПРОТОБЕРБЕРИНСКИ АЛКАЛОИДИ–СТРУКТУРА, РАСПРОСТРАЊЕНОСТ И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ
PROTOBERBERINES - STRUCTURE, OCCURENCE AND BIOLOGICAL ACTIVITY _____ *67*

Милица МАТИЈЕВИЋ, Јадранка МИЛЕТИЋ, Марија РАДОИЧИЋ, Анамарија НИКОЛЕТИЋ, Ана ПЕТРОВИЋ,Ања СТАНИЋ, Братислав ДАЧЕВИЋ, Маја СТОШИЋ, Марија НЕДЕЉКОВИЋ, Мина МИЛУТИНОВИЋ, Саима КОРАЋ, Соња БОЖОВИЋ, Тодор ЦВЕТАНОВИЋ
Milica MATIJEVIĆ, Jadranka MILETIĆ, Marija RADOIČIĆ, Anamarija NIKOLETIĆ, Ana PETROVIĆ, Anja STANIĆ, Bratislav DAČEVIĆ, Maja STOŠIĆG, Marija NEDELJKOVIĆ, Mina MILUTINOVIĆ, Saima KORAĆ, Sonja BOŽOVIĆ, Todor CVETANOVIĆ
НАНОКОМПОЗИТНИ ФОТОДИНАМИЧКИ СИСТЕМ ЗА КОНТРОЛИСАНУ ДОСТАВУ МЕДИКАМЕНАТА БАЗИРАНИХ НА КОМПЛЕКСИМА ПРЕЛАЗНИХ МЕТАЛА
NANOCOMPOSITE PHOTODYNAMIC SYSTEM FOR CONTROLLED DELIVERY OF MEDICAMENTS BASED ON TRANSITION METAL COMPLEXES _____ *73*

ВЕСТИ из ШКОЛЕ / ВЕСТИ за ШКОЛЕ

Наташа ЈЕЛАЧИЋ
Nataša JELAČIĆ
СЦЕНАРИО ЧАСА: УТВРЂИВАЊЕ ГРАДИВА О ВАЛЕНЦИ, ЈЕДНАЧИНАМА ХЕМИЈСКИХ РЕАКЦИЈА И ХЕМИЈСКИМ РЕАКЦИЈАМА АНАЛИЗЕ И СИНТЕЗЕ СА УЧЕНИЦИМА СЕДМОГ РАЗРЕДА ОСНОВНЕ ШКОЛЕ
SCENARIO FOR THE CLASS DEVOTED TO FORTIFICATION OF KNOWLEDGE CONCERNING VALENCE, CHEMICAL EQUATIONS AND CHEMICAL REACTIONS OF ANALYSIS AND SYNTHESIS WITH SEVENTH GRADE PRIMARY SCHOOL STUDENTS ____ *84*

УВОДНИК

Прошле године у Уводнику броја 3 обавестили смо вас да је Управни одбор **Фонда Ненада М. Костића**, на свечаности која је одржана у четвртак, 26. маја 2016. године, *Хемијском прегледу,* часопису Српског хемијског друштва, доделио ванконкурсну награду од 800 евра за образовање млађих генерација хемичара у Србији. Годину дана касније, упркос наградама и похвалама, због малог прилива радова овај број *Хемијског прегледа* излази са неколико месеци закашњења. Осека са радовима траје већ неколико година. Упркос томе и овај број садржи низ интересантних чланака који ће привући вашу пажњу.

***

Обично се сетимо људи који су својим радом и активностима задужили Српско хемијско друштво тек кад оду од нас. Ретко кад их се сетимо док су живи. Зато сам одлучио да, у име захвалности за предан рад који је учинио у побољшању квалитета *Хемијског прегледа*, проф. Ивану Гутману посветим текст у поводу његовог седамдесетог рођендана. Текст о проф. Гутману настао је из пера **Леле Вујошевић** а ми се прикључујемо честиткама за срећан рођендан колеги који је, сам или са сарадницима, највернији аутор *Хемијског прегледа* у последње две деценије.

Дана 2. септембра 2017. навршило се 70 година живота Ивана Гутмана, доктора хемијских наука (1973), доктора математичких наука (1981), редовног члана САНУ (од 1997), професора емеритуса Универзитета у Крагујевцу (од 2012). Име овог великог научника је опште познато у српској академској јавности, као и у научним круговима хемичара светске научне заједнице (посебно дисциплине математичке хемије и физичке хемије, а унутар њих, хемијске теорије графова). Упркос томе, о његовој радној и животној биографији се мало зна, а један од разлога је што његови научни доприноси нису опипљиви у технолошком смислу и примењиви у свакодневном животу, што онемогућује њихову популаризацију и тривијализацију у медијима. Други разлог лежи у чињеници да је професор Иван Гутман одувек водио тих и повучен живот, вођен строгом унутрашњом дисциплином, честитошћу и скромношћу, задовољан оним што има и што је искључиво својим преданим, упорним и мукотрпним радом стекао.

***

Паладијум припада платинској групи метала. Највећу примену комплекси Pd(II) налазе пре свега као катализатори у активацији C-H везе. Међутим, последњих пар година поједини комплекси Pd(II) показују и извесну антитуморску активност. **Александар Мијатовић** (Рударско-геолошки факултет, Универзитет у Београду), и **Јована Богојески** (са Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу) написали су чланак "***Супституционе реакције Pd(II) комплекса са биолошки важним биомолекулима***", у коме су приказана су испитивања комплекса Pt(II) и Pd(II) која су значајна са биолошког и медицинског становишта. Неки комплекси Pt(II) као што су цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина интезивно се користе у хемотерапији као антитуморски реагенси. Последњих 40 година и велики број других платинских једињења синтетисано је са циљем да се постигне боља активност у односу на цисплатину. Недавно, почело се са синтезом некласичних платиниских комплекса, као што су Pt(IV) комплекси, који могу орално да се употребљавају, стерно заштићени Pt(II) комплекси, полинуклеарни Pt(II) комплекси, комплекси платине који садрже сумпор, Pd(II) комплекси итд. Мада тачан механизан којим Pt(II) и Pd(II) комплекси испољавају своју антитуморску активност није потпуно јасан, сматра се да своју активност комплекси Pt(II) и Pd(II) испољавају интеракцијом са молекулом ДНК, формирајући бифункционални производ.

***

Милена Симић, Предраг Јовановић и **Милош Петковић** (сви са Фармацеутског факултета Универзитет у Београду) написали су чланак о нтересантној класи алкалоида, под насловом "***Протоберберински алкалоиди–структура, распрострањеност и биолошка активност***". описали њихове структурне карактеристике, описали где су ова једињења примењивана у традиционалној медицини различитих земаља. Захваљујући широком спектру биолошких активности, протоберберини су веома интересантни у медицинској хемији.

***

Велика група аутора: **Милица Матијевић, Јадранка Милетић, Марија Радоичић, Анамарија Николетић, Ана Петровић, Ања Станић, Братислав Дачевић, Маја Стошић, Марија Недељковић, Мина Милутиновић, Саима Кораћ, Соња Божовић** и **Тодор Цветановић**, окупљена око програма „Винчина научионица“ (који се састоји од мултидисциплинарних радионица за ученике средњих школа, а кроз које се ученици, путем директног укључивања у текуће пројекте упознају са темама истраживања и пролазе кроз све фазе научно-истраживачког рада) написала је за *Хемијски преглед* чланак под насловом "***Нанокомпозитни фотодинамички систем за контролисану доставу медикамената базираних на комплексима прелазних метала***"

Ефикасни, лекови у којима је платина централни метални јон показали су дооста штетних ефеката у организму, као што су ототоксичност, нефротоксичност, док ћелије канцера брзо постају резистентне на лекове. Група аутора је стога трагала за новим приступима, којима се жели повећати ефикасност у терапији тумора и умањити штетни ефекти на здраве ћелије, су нови лекови са другим централним јоном, као што су злато, рутенијум, бакар, паладијум или цинк, и, упоредо с тиме, нови системи за циљану и контролисану доставу медикамената.

***

У рубрици Хемија из/за школе **Наташа ЈЕЛАЧИЋ** (студент студијског програма Настава хемије, Универзитет у Београду - Хемијски факултет) у тексту под насловом "***Сценарио часа: утврђивање градива о валенци, једначинама хемијских реакција и хемијским реакцијама анализе и синтезе са ученицима седмог разреда основне школе***" описала је *сценарио часа утврђивања овог градива.*

Ратко М. Јанков

ЧЛАНЦИ

Лела ВУЈОШЕВИЋ, социолог

ЖИВОТНИ И РАДНИ ЈУБИЛЕЈ ИВАНА ГУТМАНА

Дана 2. септембра 2017. навршило се 70 година живота Ивана Гутмана, доктора хемијских наука (1973), доктора математичких наука (1981), редовног члана САНУ (од 1997), професора емеритус Универзитета у Крагујевцу (од 2012). Име овог великог научника је опште познато у српској академској јавности, као и у научним круговима хемичара светске научне заједнице (посебно дисциплине математичке хемије и физичке хемије, а унутар њих, хемијске теорије графова). Упркос томе, о његовој радној и животној биографији се мало зна, а један од разлога је што његови научни доприноси нису опипљиви у технолошком смислу и примењиви у свакодневном животу, што онемогућује њихову популаризацију и тривијализацију у медијима. Други разлог лежи у чињеници да је професор Иван Гутман одувек водио тих и повучен живот, вођен строгом унутрашњом дисциплином, честитошћу и скромношћу, задовољан оним што има и што је искључиво својим преданим, упорним и мукотрпним радом стекао. Такав начин живота не само да је данас архаичан, већ је и управо антитеза пожељним и преовлађујућим животним стиловима који, чак и у академској јавности, карактерише површност, наметљивост и разметљивост, као и стицање статуса и имовине разним незаконитостима. Али једино преусмеравањем ка животној парадигми обликованој на његов начин, усмереној ка упорном, поштеном и марљивом раду, могуће је превазилажење свеопште и структуралне кризе која, на глобалном нивоу, ствара осећај несигурности и беспомоћности.

За хемичаре разних профила, физичаре, математичаре, историчаре науке и друге радозналце који се баве филозофијом природних наука или сродним дисциплинама, његова радна биографија доступна је на адреси: https://www.pmf.kg.ac.rs/gutman/biografija.pdf и редовно се ажурира. Иван Гутман је рођен у Сомбору (1947), основне и магистарске студије завршио је на Универзитету у Загребу где је, 1973. године, одбранио и докторат на тему: „Истраживања тополошких својстава коњугираних угљоводоника“. Још је током студија ширио научна интересовања са хемије на друге природне науке (посебно физику), математику и историју науке, увиђајући да на данашњем степену развоја науке научни редукционизам не само да није пожељан, него није ни могућ, па је своја истраживања усмерио ка интердисциплинарном и мултидисциплинарном приступу. Године 1981. одбранио је на Електротехничком факултету у Београду докторску дисертацију под називом: „Прилог спектралној теорији стабала“. Од 1971, када је започео континуиран и предан научноистраживачки рад који га неће никада напуштати и који ће постати његова животна опсесија,

На отварању Округлог стола "Академик Војислав Ђурић - 100 година од рођења", Галерија Универзитета у Крагујевцу, мај 2012

створио је големо научноистраживачко наслеђе: број објављених научних радова достигао је 1370 - од тога 220 самосталних, а остале је објавио у сарадњи са великим бројем (око 770) колега широм света. Захтеван посао проучавања и вредновања његовог стваралачког опуса, за савременике и наредне истраживаче, олакшан је чињеницом да су сви његови објављени научни радови хронолошки систематизовани (показатељ њихове цитираности је, у његовом случају, ирелевантан јер расте из дана у дан). Да би створио тако импозантно научно дело, морао је да рационално управља својим временом, као својим најдефицитарнијим ресурсом. Зато је био приморан да ограничава број људи с којима је био у непосредном контакту, редукујући их на одабране блиске сараднике и студенте. Ја сам, стицајем околности, имала привилегију и животну срећу да, као особа која није из његове струке али послом везана за стручну службу Ректората и Центра САНУ у Крагујевцу, једно време сарађујем и повремено се дружим се са Иваном Гутманом.

Познавајући академика Ивана Гутмана, стекла сам утисак да датуми и штури подаци из његове биографије нису релевантни за опис његовог лика и дела, јер он као да не живи спољним животом, већ у њему буја снага мисли, идеја, иницијатива... Снага која га је одвојила од свакодневног живота и приковала за научни рад није само љубав према хемији, већ она лежи у основној нити његовог етичког понашања које се огледа у предавању раду свим срцем и с пуним залагањем и одлучном противљењу нераду и узалудном трошењу времена. Поседовање тих врлина и усмеравање смисла живота ка производњи науке и знања одвојило га је од животне и радне средине која обилује медиокритетима, али је условила и извесну самоизолацију, јер усредсређеност како на научно тако и на уметничко стваралаштво најделотворније плодове рађа у самоћи и тишини. Као и све остало, тако и дружења, а нарочито пријатељства, што су ређа, то су вреднија и драгоценија. Дружења са Иваном Гутманом права су светковина духа, врцавости, импровизација. То најбоље зна његов одани сарадник проф. др Борис Фуртула са Института за хемију ПМФ-а у Крагујевцу, а знао је и његов некадашњи најбољи пријатељ, колега и сарадник, проф. др Анте Граовац (1945-2012), са Свеучилишта у Сплиту, коме је посветио тематски број зборника „Mathematical Chemistry Monographs“ (University of Kragujevac, Kragujevac, 2014), као својеврстан споменик великом пријатељству.

Снажна индивидуалност Ивана Гутмана, као и сваког аутентичног интелектуалца, нарочито долази до изражаја у непомирљивости према ауторитету власти, о чему круже разне анегдоте. Током читаве радне каријере Иван Гутман није одустајао од својих животних принципа, тако да је себе изоловао из запарложености и ритуала слављења и митологизације разних вођа и руковођа. Такође, увек и у свакој прилици клонио се трачева и омаловажавања колега, али не и суптилног иронисања на њихов и на свој рачун. Иако је због својих неконформистичких ставова и бунтовничког духа долазио у сукоб са разним „ауторитетима“ из спољњег света, никада није био у сукобу са самим собом. Моћ је, за њега, увек била и остала - не бити у нечијој моћи, могућност да се буде свој. То га додатно издваја из контекста модерне западне цивилизације, која је средишњи човеков интерес подредила стицању материјалних вредности, чиме је довела у питање људско достојанство и све човекове наде претворила у духовни метеж и неизвесност.

Процес стварања новог знања мукотрпан је и исцрпљујући, а често се чини да је узалудан и безнадежан, јер истраживања брзо застаревају, па изгледа да су године потрошене узалуд. За професора Ивана Гутмана тај процес је увек провокативан и узбудљив, јер се одвија у доследном игнорисању реалности и притисака било које врсте (финансијских и притисака друштвеног контекста) и почива на чистој љубави. Хемија је била и остала његова прва љубав (његова супруга Магда и деца су дошли накнадно). Као за сваку искрену и дубоку љубав, и за љубав према хемији Иван Гутман се изборио, супротстављајући се очевој жељи да настави породичну традицију у адвокатској канцеларији. Зато је он, не само своје научне резултате, већ и страст изворне и безусловне љубави према хемији и веру у снагу научног стваралаштва, преносио студентима током деценија рада на факултету, али и на бројним јавним предавањима широм света. С подједнаким жаром и ентузијазмом држао је предавања на најеминентнијим светским универзитетима, као и пред ђацима средњих и основних школа. По његовом признању, највеће му задовољство пружа рад са децом из сеоских школа. Помисао да би његово предавање могло да усмери неко бистрооко сеоско ђаче на пут бављења хемијом, снажи му дух и вољу.

Утемељени и далекосежни прогрес једна наука може да постиже једино када се за њу опредељују млади, талентовани и амбициозни људи. Својим бројним предавањима, стручним текстовима и акционим плановима Иван Гутман је дао изузетно велики практичан допринос побољшању и унапређењу наставе хемије у основим и средњим школама, као и расту интересовања ученика за хемију и природне науке. То је и основни разлог што, међу бројним научним и стручним часописима у којима објављује и чији је члан редакције или савета (Advances in Systems Science and Applications, Applicable Analysis and Discrete Mathematics, Applied and Computational Mathematics, Bulletin of Society of Mathematicians Бања Лука, Communication in Combinatorics and Optimization, Гласник хемичара и технолога Босне и Херцеговине, International Journal of Applied Graph Theory, International Journal of Chemical Modelling, Iranian Journal of Mathematical Chemistry, Iranian Journal of Mathematical Sciences and Informatics, Journal of Mathematical Nanoscience, Journal of the Argentine Chemical Society, Journal of the Serbian Chemical Society, Kragujevac Journal of Mathematics, Kragujevac Journal of Science, MATCH Communications in Mathematical and

in Computer Chemistry, Mathematics Interdisciplinary Research, Polycyclic Aromatic Compounds, Transactions on Combinatorics) нарочиту наклоност гаји према „Хемијском прегледу“, који је увек на његовом радном столу и препоручује га студентима и сарадницима.

Изванредан је популаризатор науке, хемије посебно, и никада није одбио позив да своје знање преноси на било ком месту и пред било којом публиком, јер никада није потцењивао ни задатке ни људе. Та љубав и страст за науком и вера у њену снагу га одржава и данас у пензионерским данима, уливајући му свежину духа и вољу за радом. У великој мери његовим залагањем, ПМФ у Крагујевцу је постао једна од најреспектабилнијих научних институција, а хемија која се изучава на њему, на основу објављених научних резултата, постала једна од најбоље рангираних наука на универзитетима у Србији. Међународни углед Факултету и Универзитету донео је са места главног уредника научног часописа MATCH – Communications in Mathematical and in Computer Chemistry у којем су његова стручност, преданост и истрајност дошле до пуног изражаја. Када је 2003. године преузео уређивање овог научног часописа (којег је 1975. основао Oskar E. Polansky (1919-1989) са сарадницима) и издавачи постали Универзитет у Крагујевцу и ПМФ у Крагујевцу, динамика излажења је порасла са 2 на 6 свезака годишње, а његов импакт фактор је нарастао до преко 3 (3, 858 за 2015, а 3.139 за 2016. годину).

Академику Ивану Гутману је у више наврата званично нуђено да пређе на други универзитет (на Универзитет у Београду, 1990; на Универзитет у Сегедину, 1996), али је он те понуде одбијао. И поред значајних научних признања које су му доделиле научне, просветне и друштвене институције и организације из Србије и оних бројнијих које имају међународни карактер (последње је именовање за почасног доктора наука на престижном Óbuda University у Мађарској, у новембру 2017) друге путеве на којима би градио своју научну каријеру није отварао. Остао је да ради и ствара, већ непрекидно 40 година на Крагујевачком универзитету. Неприкладно је позиционирати, вршити анализе и вредновања људи и догађаја у које смо сами уткани и у чијем обликовању мање или више учествујемо, али дубоко верујем да ће за 50 година, а можда и пре, Универзитет у Крагујевцу препознати значај и славу коју му је донео професор Иван Гутман и да ће се по њему назвати: „Универзитет Иван Гутман“.

Александар МИЈАТОВИЋ, Рударско-геолошки факултет, Универзитет у Београду, Ђушина 7, 11000 Београд, Србија (e-mail: aleksandar.mijatovic@rgf.bg.ac.rs) Јована БОГОЈЕСКИ, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, Радоја Домановића 12, P.O. Box 60, 34000 Крагујевац, Србија (e-mail: jrosic@kg.ac.rs)

СУПСТИТУТЦИОНЕ РЕАКЦИЈЕ Pd(II) КОМПЛЕКСА СА БИОЛОШКИ ВАЖНИМ БИОМОЛЕКУЛИМА

Испитивање комплекса Pt(II) и Pd(II) значајно је са биолошког и медицинског аспекта. Неки комплекси Pt(II) као што су цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина интезивно се користе у хемотерапији као антитуморски реагенси. Последњих 40 година велики број других платинских једињења синтетисано је са циљем да се постигне боља активност у односу на цисплатину. Недавно, почело се са синтезом некласичних платиниских комплекса, као што су Pt(IV) комплекси, који могу орално да се употребљавају, стерно заштићени Pt(II) комплекси, полинуклеарни Pt(II) комплекси, комплекси платине који садрже сумпор, Pd(II) комплекси итд. Мада тачан механизан којим Pt(II) и Pd(II) комплекси испољавају своју антитуморску активност није потпуно јасан, сматра се да своју активност комплекси Pt(II) и Pd(II) испољавају интеракцијом са молекулом ДНК, формирајући бифункционални производ.

За испитивање кинетике и механизма супституционих реакција комплексна једињења Pd(II) представљају погодне моделе, јер реагују 10^3-10^5 пута брже од аналогних комплекса Pt(II), при чему им је структура и понашање у растворима готово идентично. Због јако великог афинитета према сумпор- и азот-донорским лигандима, као и јако велике реактивности, селективност комплекса Pd(II) према биомолекулима је мала, што ограничава употребу ових једињења као антитуморских реагенаса. Последњих година, утврђено је да неки комплекси Pd(II) имају антитуморску активност.

Паладијум припада платинској групи метала, у оквиру које има најмању густину и најнижу тачку

топљења. Квадратно-планарни d^8 комплекси су карактеристични за Pd(II). Највећу примену комплекси Pd(II) налазе као катализатори [1-4], пре свега као катализатори у активацији C-H везе [5]. Међутим, последњих пар година поједини комплекси Pd(II) показују и извесну антитуморску активност [6].

Данас се у хемотерапији користи неколико комплекса Pt(II), од којих највећу примену има цисплатина [6,7]. Интеракција комплекса Pt(II) са ДНК је одговорна за антитуморску активност, а токсичност комплекса на бази платинске групе метала се може приписати њиховој интеракцији са тиолним групама из протеина, тачније грађењу везе са цистеинским остацима [6-8]. Паладијум(II) комплекси показују слабију антитуморску активност, али су много реактивнији од Pt(II) комплекса (реактивнији 10^3 - 10^5 пута). Комплекси Pd(II) се често користе као модел молекули за испитивање кинетике и механизма супституционих реакција аналогних Pt(II) комплексима због своје велике реактивности [9].

У овом раду, сумирани су наши резултати настали током истраживања у неколико прошлих деценија у области супституционих реакција Pd(II) комплекса као аналога Pt(II) комплексима. Зашто је Pd(II) хемијски значајан на овом пољу? Платина(II) комплекси су опште познати као антитуморски агенси, али су супституционе реакције ових комплекса веома споре (од неколико сати до неколико дана), а реакције Pd(II) комплекса су веома брзе (између секунде и неколико минута). Хемијско понашање у растворима структурно аналогних комплекса Pd(II) и Pt(II) је веома слично, што омогућава да се добијена сазнања о хемијском понашању комплекса Pd(II) примене на комплексе Pt(II) [9]. Паладијум(II) комплекси имају већи афинитет према сумпор и азот донорским лигандима што узрокује смањену селективност ових комплекса а потом и ограничену улогу као антитуморских агенаса.

СУПСТИТУТЦИОНЕ РЕАКЦИЈЕ МОНО- И БИФУНКЦИОНАЛНИХ Pd(II) КОМПЛЕКСА

Значајан део наших истраживања био је усмерен ка синтези нових Pd(II) комплекса, пре свега са инертним азот-донорским лигандима, структурно сличним у односу на Pt(II) комплексе (потенцијално антитуморски активне комплексе).

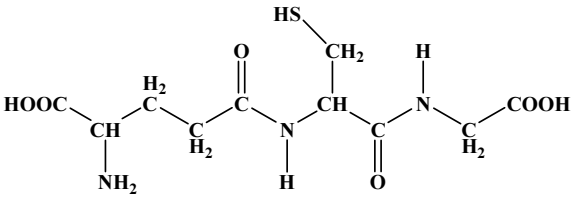
Испитивани комплекси имају структурне сличности са комплексима Pt(II) познатих као класични цитостатици (структурно слични цисплатини). То су бифункционални комплекси са *cis*-геометријом. Општа формула је PdX_2(амин)$_2$, где X_2 представља два лабилна монодентатна лиганда (обично H_2O или Cl^-) или један бидентатни лиганд (cbdca = O,O- циклобутан-1,1-дикарбоксилато лиганд), а (амин)$_2$ су инертни азот-донорски лиганди. Неки од испитиваних комплекса садрже инертне лиганде са најмање једном NH везом [6].

Такође, изучавани су и монофункционални комплекси Pd(II). Монофункционални комплекси имају једно координационо место за супституцију, што поједностављује процес испитивања. Монофункционални комплекси се користе као модел молекули у различитим кинетичким истраживањима.

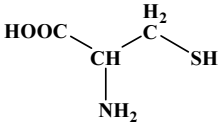
Опште је познато да, када се комплекси Pt(II) ињектују у тело, комплекс у екстрацелуларним течностима постоји у хлоридо облику (где је концентрација хлорида око 100 mM и значајна је за превенцију хидролизе комплекса). Међутим, уласком у ћелију где је концентрација хлорида много нижа (око 4 mM) долази до хидролизе комплекса и превођења у аква врсту [6]. Према томе, важно је испитивање и разумевање супституционог понашања и хлоридо и аква Pd(II) комплекса.

ИНТЕРАКЦИЈЕ МОНОФУНКЦИОНАЛНИХ Pd(II) КОМПЛЕКСА

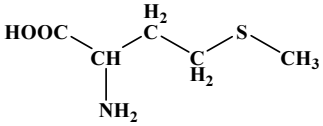
Антитуморски активни комплекси на бази Pt(II) испољавају активност везивањем за молекул ДНК у организму. Међутим, на путу од уношења комплекса Pt(II) у тело човека, до ћелије где лек показује своју активност интеракцијом са ДНК, постоји много различитих молекула (протеини, ензими, пептиди, амино киселине и др.) који могу реаговати са комплексима и редуковати њихову активност [6,7]. Пошто протеини и пептиди садрже амино киселине, разумевање интеракција Pd(II) комплекса као аналога Pt(II), са различитим амино киселинама је значајно. Ми смо изабрали да пратимо супституционе реакције



Глутатион (GSH)



L-цистеин (L-Cys)

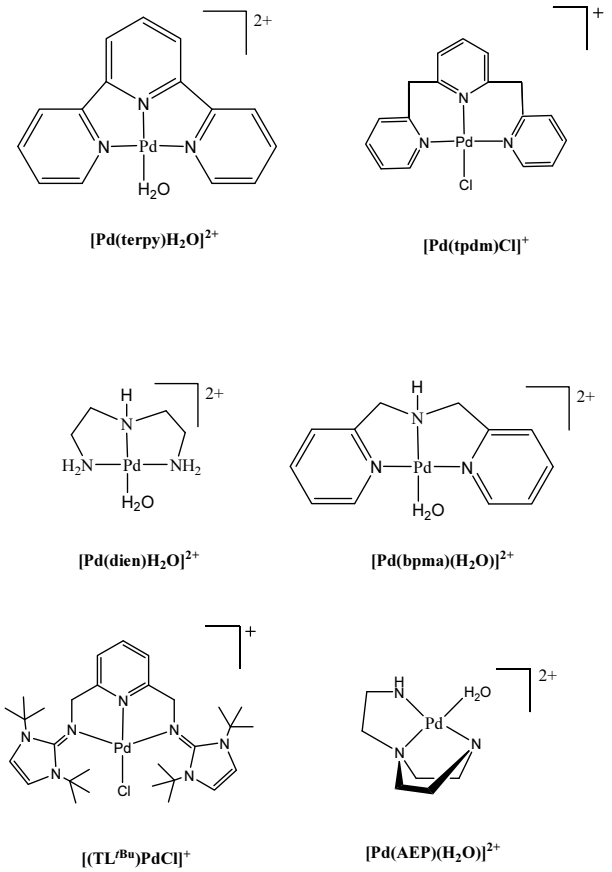


L-метионин (L-Met)

Слика 1. Структурне формуле L-Met, L-Cys i GSH

монофункционалних Pd(II) комплекса са амино киселинама L-Метионином (L-Met) i L-Цистеином (L-Cys) као и са пептидом глутатионом (GSH). Паладијум(II) као мека киселина има велики афинитет за координацију са сумпор-донорским молекулима као меким базама. Пошто је концентрација тиола, укључујући GSH и L-Cys, у интрацелуларној течности око 10 mM, претпоставља се да већи део комплекса Pt(II) бива везан за сумпор из биомолекула, пре него што дође до молекула ДНК [10-13].

Кинетика супституционих реакција неколико различитих монофункционалних Pd(II) комплекса, Слика 2, са L-Met је изучавана, а неке од добијених константи дате су у Табели 1. L-Метионин, Слика 1, је есенцијална α-амино киселина која у својој структури садржи сумпор. Сви Pd(II) комплекси показују велики афинитет према L-Met, као што се може видети на основу константи представљених у Табели 1 [14-16]. Добијени резултати су били очекивани обзиром да је L-Met сумпор-донорски нуклеофил и мека база, па може лако формирати везу са меком киселином каква је Pd(II)-јон.



Слика 2. Структурне формуле испитиваних монофункционалних комплекса.

Највећу реактивност је показао $[Pd(AEP)(H_2O)]^{2+}$ (AEP = 1-(2-аминоетил) пиперазин), затим $[Pd(tpdm)(H_2O)]^{2+}$ (tpdm = трипиридиндиметан) и $[(TL^{tBu})PdCl]^{+}$ (TL^{tBu} = 2,6-бис[(1,3-дитерцбутилимидазолин-2-имино)метил]пиридин). Добијени резултати су изненађујући с обзиром на чињеницу да

Табела 1. Поређење константи другог реда за супституционе реакције испитиваних Pd(II) комплекса са L-Met.

	L-Met $k_2/M^{-1}\,s^{-1}$
$[Pd(AEP)(H_2O)]^{2+}$ [16]	$(13.5 \pm 0.5) \times 10^3$
$[(TL^{tBu})PdCl]^{+}$ [14]	81 ± 2
$[Pd(tpdm)H_2O]^{2+}$ [15]	$(7.42 \pm 0.09) \times 10^3$

оба инертна лиганда, TL^{tBu} и tpdm, имају пиридин који карактерише π-повратна електрон-донација у њиховој структури. Реактивност комплекса који садрже инертне тридентатне N,N,N-донорске лиганде са пиридинским прстеном у многоме зависи од броја и распореда пиридинских прстенова [17]. У присуству пиридинских група расте електрофилност металног центра. Посматрајући реактивност Pd(II) комплекса који садрже инертне тридентатне лиганде добијен је следећи ред реактивности aaa < apa < aap < pap < app < ppp (где је a амин, а p пиридин) [17]. Мања реактивност $[(TL^{tBu})PdCl]^{+}$ комплекса, без обзира на присуство пиридинског прстена у *trans* положају у односу на одлазећи лиганд, је узрокована присуством иминског донорског центра као веома базног и јаког нуклеофила.

Занимљив је $[Pd(tpdm)Cl]^{+}$ комплекс, који показује реактивност са L-Met [15], док слични монофункционални комплекси Pt(II) и Pd(II) са тридентатним терпиридинским лигандима не реагују са тиоетрима [10,18-20]. Добијени резултат се може објаснити стерним ефектима, наиме tpdm систем је много флексибилнији у поређењу са терпиридином из разлога што су пиридински прстенови раздвојени метил групама, а све то олакшава прилаз нуклеофилу и одигравање супституционе реакције.

Такође, испитиване су реакције супституције са тиолима L-Cys и GSH. L-Цистеин је амино киселина која може бити синтетисана у људској јетри директно из есенцијалне амино киселине L-Met. Зато је она неесенцијална амино киселина. Бочни ланац у L-Cys често учествује у ензимским реакцијама као нуклеофил. Глутатион, GSH, је трипептид са пептидним везама између амино групе цистеина (који је нормалном пептидном везом повезан са глицином) и карбоксилне групе бочног ланца глутаминске киселине. Без обзира на велики успех Pt(II) комплекса, посебно цисплатине у третману различитих тумора, споредни ефекти и резистенција су основни недостатци ових цитостатичких реагенаса [6,12,13]. Верује се да интеракција и везивање Pt(II) јона са сумпором из тиола је одговорно за токсичне ефекте многих Pt(II) цитостатика [6].

Ми смо се оријетнисали на испитивање супституционих реакција неколико монофункционалних комплеса Pd(II), Слика 2, са тиолима L-Cys и GSH, а добијене константе су представљене у Табели 2.

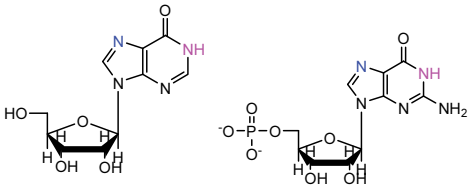
Табела 2. Поређење константи брзина реакција другог реда за супституциони процес испитиваних Pd(II) комплекса са L-Cys и GSH.

	L-Cys $k_2/M^{-1}\,s^{-1}$	GSH $k_2/M^{-1}\,s^{-1}$
$[Pd(terpy)Cl]^{+}$[19]	9.6 ± 0.5	/
$[Pd(bpma)Cl]^{+}$	/	/
$[Pd(dien)Cl]^{+}$[20]	(3.89 ± 0.02) x 10^2	1.44 ± 0.01
$[Pd(tpdm)H_2O]^{2+}$[15]	/	1.92 ± 0.06

Испитивани комплекси су карактеристични по томе што имају пиридин у координационој сфери. Као што је већ напоменуто, реактивност комплекса ће умногоме зависити од броја и распореда пиридинских лиганада у координационој сфери комплекса [17,21]. $[Pd(terpy)(H_2O)]^{2+}$ (terpy = 2',2":6',2"-терпиридин) је комплекс ppp типа, а $[Pd(bpma)(H_2O)]^{2+}$ (bpma = бис(2-пиридилметил)амин) је комплекс pap типа, а $[Pd(dien)(H_2O)]^{2+}$ (dien = диетилентриамин) је комплекс aaa типа, па ће очекивани ред реактивности бити следећи: ppp > pap > aaa. Добијени ред реактивности је последица смањења броја пиридина у координационој сфери комплекса што смањује електрофилност јона метала а самим тим и реактивност [17,21].

Разлике у реактивности коришћених тиола су такве да је GSH између 3 и 7 пута (зависно од типа комплекса) реактивнији од L-Cys. С обзиром да је GSH трипептид са молекулом цистеина у средини, претпостављало се да би процес супституције био знатно спорији у односу на L-Cys. Међутим, експериментално добијене вредности указују на много већу реактивност GSH. То се објашњава погодном геометријском структуром молекула, која проузрокује стварање интрамолекулске водоничне везе у којој учествује протон тиол групе, услед чега је знатно повећана нуклеофилност атома сумпора, а самим тим и реактивност [22,23]. Ако поредимо вредности константи приказаних у Табелама 1 и 2, евидентно је да је константа за супституциону реакцију $[Pd(tpdm)Cl]^{+}$ са L-Met већа него константа за реакцију са GSH. L-Met је тиоетар, тако да CH_3 група на атому сумпора са својим позитивним индуктивним ефектом, чини сумпор из L-Met јаким нуклеофилом и узрокује повећање брзине реакције.

Антитуморска активност Pt(II) комплекса манифестује се везивањем комплекса за молекул ДНК, првенствено за ДНК, која је локализована у нуклеусу, а везивање са митохондријалном ДНК мање је заступљено и није одговорно за антитуморску активност [6,7]. Везивање Pt(II) комплекса за ДНК одиграва се углавном преко N7 атома гуанина, а мање уобичајено је везивање за N7 атом аденина или N1 и N3 атоме цитозина [6,7,9]. Нађено је да више од 65% Pt(II) комплекса се координује за два суседна гуанина истог ДНК ланца. Пошто се ДНК састоји из различитих секвенци пуринских и пиримидинских база, то нам даје могућност за изучавање интеракција структурно различитих Pd(II) комплекса са нуклеозидима и нуклеотидима. Добијени резултати могу помоћи у бољем разумевању процеса везивања Pd(II) и Pt(II) комплекса са ДНК. Разумевање овог типа интеракција помоћи ће у дизајнирању нових комплекса са унапређеним особинама као антитуморских агенаса [6,7,9,12,13].



Инозин (INO) Гуанозин-5'-монофосфат (5'-GMP)

Слика 3. Нуклеозиди и нуклеотиди који су коришћени у испитивањима.

Монофункционални комплекси, Слика 2, који су испитивани у реакцијама са сумпор-донорским лигандима, коришћени су у изучавањима супституционих реакција са азот-донорским лигандима као што су гуанозин-5'-монофосфат (5'-GMP) и инозин (INO). Добијене константе за реакције са 5'-GMP су представљене у Табели 3.

Табела 3. Поређење константи другог реда за супституционе реакције неколико Pd(II) комплекса са 5'-GMP.

	5'-GMP $k_2/M^{-1}\,s^{-1}$
$[Pd(tpdm)Cl]^{+}$[15]	0.98 ± 0.01
$[Pd(tpdm)(H_2O)]^{2+}$[15]	2.8 ± 0.1
$[(TL^{tBu})PdCl]^{+}$[14]	30.30 ± 0.50
$[Pd(AEP)(H_2O)]^{2+}$[16]	(3.9 ± 0.3) x10^3

Поређењем константи приказаних у Табели 3, може се видете да је добијена много мања вредност константе за реакције са tpdm и TL^{tBu} лигандом. Инертни лиганди tpdm и TL^{tBu} у координационој сфери комплекса узрокују смањену реактивност на исти начин као и код испитиваних супституционих реакција са сумпор-донорским лигандима. Такође, примећује се да аква комплекс реагује брже него хлоридо комплекс, јер је вода бољи одлазећи лиганд. Супституционе реакције $[Pd(AEP)(H_2O)]^{2+}$ комплекса испитиване су напоредо са 5'-GMP и INO као нуклеофилима и добијени резултати показују да је 5'-GMP много реактивнији у односу на Pd(II) комплексима него INO [24].

СУПСТИТУЦИОНЕ РЕАКЦИЈЕ БИФУНКЦИОНАЛНИХ Pd(II) КОМПЛЕКСА

Супституционе реакције више различитих бифункционалних комплекса Pd(II), који у координационој сфери садрже различите хелатне азот-донорске лиганде испитиване су током протеклих година у нашим лабораторијама. Као нуклеофили коришћени

су како сумпор-донорски тако и азот-донорски лиганди. У Табели 4 су представљене вредности неколико добијених константи у поменутим реакцијама.

Табела 4. Поређење константи другог реда за супституционе реакције неколико бифункционалних Pd(II) комплекса са INO.

	INO	
	$k_1/M^{-1}\,s^{-1}$ *први корак*	$k_2/M^{-1}\,s^{-1}$ *други корак*
$[Pd(SMC)(H_2O)_2]^{2+}$ [25]	33200 ± 200	151 ± 3
$[Pd(met)(H_2O)_2]^{2+}$ [26]	(2.0 ± 0.1) x 10^5	(8,0 ± 0.5) x 10^3
$[Pd(Pic)(H_2O)_2]^{2+}$ [27]	25400 ± 200	7.3 ± 0.7
$[Pd(en)(H_2O)_2]^{2+}$ [28]	13600 ± 200	933 ± 60
$[Pd(Et_4en)(H_2O)_2]^{2+}$ [28]	245 ± 4	12.40 ± 0.04

Увођење сумпор-донорских амино-киселинских лиганада у координациону сферу Pd(II) комплекса узрокује повећање реактивности комплекса.

Реакције испитиваних бифункционалних комплекса одвијају се у два одвојена корака (25,26,29). Оба реакциона корака показују линеарну зависност k_{obsd} од концентрације нуклеофила са значајним одсечком. Добијени резултати указују на то да су оба супституциона корака реверзибилна и да се одвијају у складу са реакцијама датим једначинама 1 и 2.

$$[Pd(L)(H_2O)_2]^+ + Nu \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} [Pd(L)(H_2O)Nu]^+ + H_2O \qquad (1)$$

$$[Pd(L)(H_2O)Nu]^+ + Nu \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} [Pd(L)(Nu)_2]^+ + H_2O \qquad (2)$$

L = SMC, L-Met, Pic, en, Et_4en

Из Табеле 4 може се видети да разлике у донорском атому хелатног прстена утичу на реактивност квадратно-планарних комплекса. Пратећи дате константе у Табели 4, може се уочити да највећу реактвност показује комплекс са L-Met у координационој сфери комплекса $[Pd(L\text{-}met)(H_2O)_2]^{2+}$, па затим комплекса са S-метил-L-цистеином (SMC), $[Pd(SMC)(H_2O)_2]^{2+}$. У свим испитиваним реакцијама се показало да се први корак супституције одиграва брже у односу на други корак супституције. Међутим, други реакциони корак у случају $[Pd(SMC)(H_2O)_2]^{2+}$ комплекса значајно је спорији него први [25]. У овом случају први корак супституције представља супституцију молекула H_2O у *trans* положају у односу на сумпор-донорски атом из S-метил-L-цистеина, који испољава јак *trans*-екефат, што узрокује да овај молекул воде буде боље одлазећи лиганд. Спорија реакција супституције је замена другог молекула воде.

Реакција супституције $[Pd(Pic)(H_2O)_2]^{2+}$ (Pic = 2-пиридилметиламин) комплекса са INO (инозин) и 5'-IMP (инозин-5'-монофосфат), такође се одвија у два реакциона корака. Интересантно за ову супституциону реакцију је то да је други реакциони корак за оба нуклеофила не зависи од концентације нуклеофила, што је необично за овај тип супституционе реакције [27].

Реакција 5'-GMP са $[Pd(Pip)(H_2O)_2]^{2+}$ (Pip = пиперазин) комплексом се одвија у два корака [30]. Међутим, други реакциони корак је много спорији и изненађујуће је скоро независан од концентрације нуклеофила. Ова независност указује да је равнотежа померена према грађењу $[Pd(Pip)(N7\text{-}GMP)(H_2O)]^+$ честице. Слично понашање примећено је у реакцији $[Pd(Pip)(H_2O)_2]^{2+}$ са 5'-IMP [29], као и за реакцију $[Pd(L\text{-}His)(H_2O)_2]^{2+}$ (L-His = L-хистидин) са 5'-GMP, 5'-AMP и 3'-AMP (AMP = аденозин-монофосфат) као нуклеофилима [31].

Уочено је да у супституционим реакцијама $[Pd(en)(H_2O)_2]^{2+}$ и $[Pd(Et_4en)(H_2O)_2]^{2+}$ (en = етилендиамин) комплекса са сумпор-донорским нуклеофилима и азот-донорским нуклеофилима, етиленске групе етилендиаминског лиганда успоравају супституциони процес услед стерних сметњи.

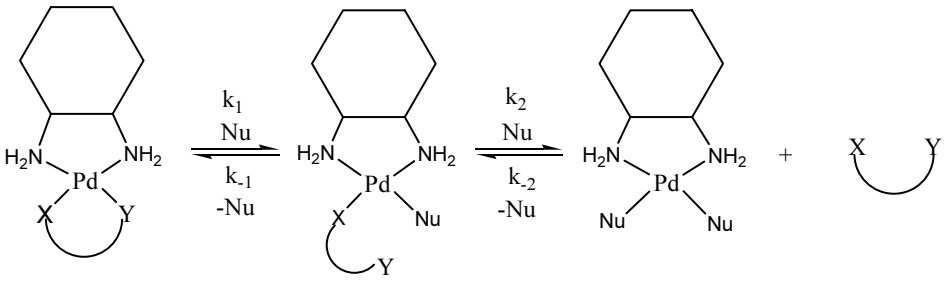
Кинетика супституционих реакција неколико различитих бифункционалних Pd(II) комплекса са L-Met је изучавана, а неке од добијених константи представљене су у Табели 5. Супституциона реакција $[Pd(Pip)(H_2O)_2]^{2+}$ комплекса са L-Met се одвија у два реакциона корака у којима су оба молекула воде супституисана L-Met [32-34].

Оба корака показују линеарну зависност у односу на концентрацију L-Met са значајним одсечком. Друга испитивања су показала да бифункционални комплекси Pd(II) и Pt(II) реагују у два реакциона корака [25,35,36], где је први корак знатно бржи него други, при чему је обично други корак хелатизација тј. формирање S,O- или S,N- хелата [32,36] и обично овај корак не зависи од концентрације нуклеофила.

Табела 5. Поређење константи другог реда за супституционе реакције неких Pd(II) комплекса са L- Met.

$[Pd(Pip)(H_2O)_2]^{2+}$ [30]	$[(BL^{iPr})Pd(H_2O)_2]^{2+}$ [14]
$k_2/M^{-1}\,s^{-1}$	$k_2/M^{-1}\,s^{-1}$
$(62 \pm 5) \times 10^3$	81 ± 2

Комплекс $[Pd(Pip)(H_2O)_2]^{2+}$ (Pip= пиперазин) је 1000 пута реактивнији него други бифункционални комплекси $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)]^{2+}$, (BL^{iPr} = 1,2-бис(1,3-диизопропил -4,5-диметилимидазолин-2-имино)етан). Смањена реактивност $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)]^{2+}$ комплекса је последица утицаја имино групе која има базни карактер и изразиту нуклеофилност којом утиче на смањење електрофилности јона метала тј. Pd(II). Поред тога присуство изопропил група утиче на смањење реактивности услед стерних сметњи. Комплекс $[(BL^{iPr})Pd(H_2O)]^{2+}$ показује ред реактивности сличан Pt(II) аква комплексима, тако да би могао да има потенцијалну антитуморску активност, што би накнадним тестовима могло да се потврди.



Шема 1. Супституционе реакције серије Pd(II) комплекса који садрже dach лиганд у својој структури са азот-донорским лигандима INO, 5'-GMP и 5'-IMP.

Један део наших испитивања био је усмерен ка праћењу супституционих реакција низа Pd(II) комплекса који у својој структури садрже dach лиганд. Изучавани су следећи бифункционални комплекси: [Pd(dach)Cl_2], [Pd(dach)$(H_2O)_2]^{2+}$, [Pd(dach)(O,O-циклобутан-1,1-дикарбоксилато)], [Pd(dach)(cbdca)], [Pd(dach)(N,O-глицин)]$^+$, [Pd(dach)(Gly)], [Pd(dach)(N,S-метионин)]$^+$, [Pd(dach)(L-Met)], [Pd(dach)(O,O-оксалато)]$^+$ и [Pd(dach)(ox)]$^+$ а као нуклеофили су коришћени азот-донорски лиганди INO, 5'-GMP и 5'-IMP [37]. Ови комплекси имају сличност са оксиплатином. Као и код предходно описаних супституционих реакција бифункционалних комплекса супституција се одвија у два узастопна корака као што је приказано Шемом 1.

Добијени ред реактивности за први супституциони корак је: [Pd(dach)(Gly)] > [Pd(dach)(ox)] > [Pd(dach)(cbdca)] >> [Pd(dach)(L-Met)]. Ови резултати јасно показују утицај хелатног (X-Y) одлазећег лиганда на брзину супституционе реакције [37]. Комплекси [Pd(dach)(cbdca)] и [Pd(dach)(L-Met)] реагују најспорије. У оба комплекса одлазећи лиганд је наградио шесточлани прстен са Pd(II) јоном. Награђени шесточлани прстенови имају конфигурацију лађе услед чега успоравају нуклеофилни напад тако да реакција постаје спорија у поређењу са [Pd(dach)(Gly)]. Познато је већ да комплекси са cbdca хелатима, нпр. [Pt$(NH_3)_2$(O,O-cbdca)], су стабилни и реагују спорије са нуклеофилима као што су 5'-GMP, L-Met и GSH [37].

Други реакциони корак је много спорији него први и представља потпуну супституцију хелата X-Y другим молекулом 5'-GMP, при чему настаје 1 : 2 комплекс, [Pd(dach)(N7-5'-GMP)$_2$]. Добијен је исти тренд реактивности као и код првог корака. [Pd(dach)(L-Met)] комплекс је један од најинертнијих комплекса из проучаване серије, а [Pd(dach)(Gly)] и [Pd(dach)(ox)] имају скоро исту реактивност.

Инозин је много реактивнији за све испитиване бифункционалне комплексе него 5'-GMP и 5'-IMP. Ово може бити последица делимичне преасоцијације комплекса са фосфатном групом у 5'-IMP и 5'-GMP, због којих је супституциони процес успорен.
У случају INO, није присутна фосфатна група па до интеракције не долази.

ПЕРСПЕКТИВА И ЗАКЉУЧЦИ

Комплекси Pd(II) су погодни модели за изучавање интеракција са различитим биомолекулима јер они реагују око 10^4–10^5 пута брже него њихови Pt(II) аналози, а структура и пошање у раствору су врло слични. У поређењу са цисплатином, одговарајући *cis*-[Pd$(NH_3)_2Cl_2$] комплекс не показује антитуморску активност. Требало би, међутим, напоменути да је растворљивост Pd(II) комплекса боља у поређењу са Pt(II) комплексима. Последњих година, међутим, показало се да извесни Pd(II) комплекси показују антитуморску активност [38,39]. Pd(II) комплекси који су показали антитуморску активност су структурно веома различити. Неки од њих су структурно слични активним Pt(II) комплексима, али и комплекси који имају *trans* конфигурацију поседују извесну интересантну активност [38]. Ново поље истраживања укључује и динуклеарне Pd(II) комплексе као и хетеронуклеарне Pd(II) – Pt(II) комплексе, који такође показују значајну антитуморску активност [39,40].

Наша истраживања у овој области ће се наставити у правцу увођења читавог спектра лиганада који ће редуковати реактивност и селективност Pd(II) комплекса. Таква смањена реактивност је већ добијена увођењем волуминозних имидазолин-2-иминских лиганада у комплекс. Због тога, развој сличних лиганада и комплекса може обезбедити боље антитуморске карактеристике Pd(II) комплекса.

Наведена истраживања могу допринети бољем разумевању понашања Pd(II) и Pt(II) комплекса у биолошким системима. Детаљно познавање интеракција између комплекса прелазних метала и биомолекула, као и стабилности насталих производа, под различитим експерименталним условима, од фундаменталног је значаја за будућа истраживања нових фармаколошких средстава и открића алтернативних поступака лечења тумора.

Abstract

SUPSTITUTION REACTION OF Pd(II) COMPLEXES WITH BIOLOGICALLY IMPORTANT BIOMOLECULES

Aleksandar MIJATOVIĆ, Jovana BOGOJESKI

University of Belgrade, Faculty of Mining and Geology, Đušina 7, 11000 Beograd, Serbia; Faculty of Science,

University of Kragujevac, Radoja Domanovica 12, P.O.Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

The chemistry of the Pt(II) and Pd(II) complexes is important from the biological and medical point of view. Some Pt(II) complexes, viz. cisplatin, carboplatin and oxaplatin, are extensively used in chemotherapy as anticancer drugs. Over the last 40 years many other platinum drugs have been developed in an attempt to improve on cisplatin. More recently, there have been efforts to direct the design of non-classical platinum complexes, such as orally active Pt(IV) complexes, sterically hindered Pt(II) complexes, polynuclear Pt(II) complexes, sulfur-containing platinum complexes, Pd(II) complexes etc. Although the precise mechanism of a anti-tumour action of Pt(II) and Pd(II) drugs is not completely understood, the activity has been explained by the interactions between the complex and DNA primarily by forming bifunctional adducts. For kinetic and mechanistic studies, Pd(II) complexes are suitable model compounds since they react ca. 10^3-10^5 times faster than their Pt(II) analogues, whereas their strucural and equilibrium behaviour are very similar. Because of their strong affinity towards sulphur and nitrogen donor ligands, as well as their high reactivity, the selectivity of certain Pd(II) complexes towards biomolecules is lower, limiting the possibility of developing compounds with antitumor reactivity. In recent years, however, it has been shown that certain Pd(II) complexes can also show antitumor activity.

ЛИТЕРАТУРА

1. X. Wu & M. Tamm, Coord. Chem. Rev., **260**, 2014,116.
2. S. Haneda, C. Ueba, K. Eda & M. Hayashi, Adv. Synth. Catal., **349**, 2007, 833.
3. J. Durand, S. Gladialu, G. Erre, E. Zangrando & B. B. Milani, Organometallics, **26**, 2007, 810.
4. U. Fekl & K. I. Goldberg, Adv. Inorg. Chem., **54**, 2003, 259.
5. J. J. Verendel, O. Pàmies, M. Diéguez & P. G. Andersson, Chem. Rev., 114, 2014, 2130.
6. (a) B. Lippert, *Cisplatin Chemistry and Biochemistry of Leading Anticancer Drugs*, Wiley-VCH, Zurich, 1999; (b) D. Wang & S. J. Lippard, Nat. Rev. Drug Discovery, **4**, 2005, 307; (c) S. van Zutphen & J. Reedijk, Coord. Chem. Rev., **24**, 2005, 2845; (d) H. Zorbas & B. K. Keppler, ChemBioChem, **6**, 2005, 1157. (e) Ž. D. Bugarčić, J. Bogojeski, B. Petrović, S. Hochreuther & R. van Eldik, Dalton Trans., **41**, 2012, 12329.
7. E. Alessio, *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2011.
8. M. A. Fuertes, C. Alonso & J. M. Perez, Chem. Rev., **103**, 2003, 645.
9. A. Sigel & H. Sigel, *Metal Ions in Biological Systems*, Marcel Dekker, New York, 1996.
10. X. Y. Zhou & N. M. Kostić, Polyhedron, **9**, 1990, 1975.
11. R. Karkalić & Ž. D. Bugarčić, Monatsh. Chem., **131**, 2000, 819.
12. N. P. E. Barry & P. J. Sadler, Chem. Commun., **49**, 2013, 5106.
13. L. Ronconi & P. J. Sadler, Coord. Chem. Rev., **251,** 2007, 1633.
14. J. Bogojeski, R. Jelić, D. Petrović, E. Herdtweck,P. G. Jones, M. Tamm & Ž. D.Bugarčić, Dalton Trans., **40**, 2011, 6515.
15. B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, A. Dees, I. Ivanović-Burmazović, F. Heinemann, R. Puchta & R. van Eldik, Inorg. Chem., **51,** 2011,1516.
16. T. Soldatović, M. Shoukry, R. Puchta, Ž. D. Bugarčić & R. van Eldik, Eur. J. Inorg.Chem., 2009, 2261.
17. D. Jaganyi, A. Hofmann & R. van Eldik, Angew. Chem. Int. Ed., **40**, 2001, 1680.
18. G. Annibale, M. Brandolisio, Ž. D. Bugarčić & L. Cattalini, Trans. Met. Chem., **23**, 1998, 715.
19. R. Karkalić & Ž. D. Bugarčić, Monatsh. Chem., **131**, 2000, 819.
20. Ž. D. Bugarčić, D. M. Jančić, A. A. Shoukry & M. M. Shoukry, Monatsh. Chem., **135,** 2004, 151.
21. A. Hofmann, D. Jaganyi, O. Q. Munro, G. Liierh & R. van Eldik, Inorg. Chem., **42,** 2003, 1688.
22. Ž. D. Bugarčić, F. W. Heinemann & R. van Eldik, Dalton Trans., 2004, 279.
23. Ž. D. Bugarčić & B. V. Đorđević, Monatsh. Chem., **129**, 1998,1267.
24. R. van Eldik, T. Asano & W. J. Le Noble, Chem. Rev., **59**, 1989, 93.
25. Ž. D. Bugarčić, M. M. Shoukry & R. van Eldik, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 2002, 3945.
26. T. Soldatovic, V. Vasic? & Ž. D. Bugarčić, Bull. Chem. Soc. Jpn., **79**, 2006,1889.
27. T. Rau, M. Shoukry & R. van Eldik, Inorg. Chem., **36**, 1997, 1454.
28. S. Suvachittanont, H. Hohmann, R. van Eldik & J. Reedijk, Inorg.Chem., **32**, 1993, 4544.
29. L. Zhu & N. M. Kostić, Inorg. Chim. Acta, **217**, 1994, 21.
30. A. Shoukry, M. Brindell & R. van Eldik, Dalton Trans., 2007, 4169.
31. J. Rosić, B. Petrovic?, M. I. Djuran & Ž. D. Bugarčić, Monatsh. Chem.,**138**, 2007, 1.
32. T. G. Appleton, J. W. Connor & J. R. Hall, Inorg. Chem., **27**, 1988, 130.
33. F. F. Prinsloo, J. J. Pienaar & R. van Eldik, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1995, 3581.
34. T. Rau, R. Alsfasser, A. Zahl & R. van Eldik, Inorg. Chem., **37,** 1998, 4223.
35. J. Bogojeski, Ž. D. Bugarčić, R. Puchta & R. van Eldik, Eur. J. Inorg.Chem., 2010, 5439.
36. N. Summa, W. Schiessel, R. Puchta, N. van Eikema Hommes & R. van Eldik, Inorg. Chem., **45**, 2006, 2948.
37. B. Petrović, Ž. D. Bugarčić & R. van Eldik, Dalton Trans., 2008, 807.
38. A. S Abu-Surrah & M. Kettunen, Curr. Med. Chem., **13**, 2006, 1337.
39. E. Gao, M. Zhu, H. Yin, L. Liu, Q. Wu & Y. Sun, J. Inorg. Biochem., **102**, 2008, 1958.
40. A. I. Matesanz, J. Perles & P. Souza, Dalton Trans., **41**, 2012, 12538.

МИЛЕНА СИМИЋ (milena@pharmacy.bg.ac.rs), ПРЕДРАГ ЈОВАНОВИЋ (predragjovands@gmail.com), МИЛОШ ПЕТКОВИЋ (milosp@pharmacy.bg.ac.rs), Катедра за органску хемију, Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду

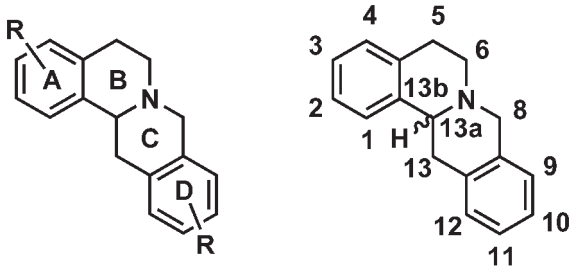
ПРОТОБЕРБЕРИНСКИ АЛКАЛОИДИ–СТРУКТУРА, РАСПРОСТРАЊЕНОСТ И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ

Протоберберини представљају велику подгрупу изохинолинских алкалоида, веома распрострањену у биљном свету. Биљне врсте богате овим природним производима су од давнина познате и примењиване у традиционалној медицини различитих земаља. Захваљујући широком спектру биолошких активности, протоберберини су веома интересантни у медицинској хемији.

ПРОТОБЕРБЕРИНИ: СТРУКТУРНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ

До данас је из природних извора изоловано и окарактерисано више од 150 различитих једињења протоберберинске структуре [1]. Биљне фамилије познате по садржају протоберберинских алкалоида су Berberidaceae, Ranunculaceae, Papaveraceae, Fumariaceae, Lauraceae, Menispermaceae i Rutaceae. [2]

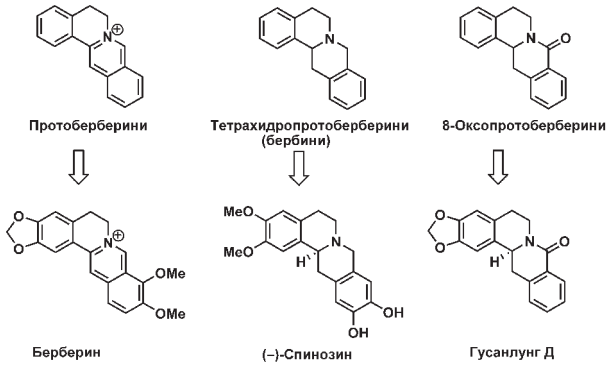
На **слици 1** приказана је основна структура ове групе алкалоида, као и нумерација њеног скелета [3].



Слика 1: Нумерација протоберберинског скелета

Алкалоиди ове врсте могу имати прстен C у различитим оксидационим стањима, а неки примери приказани су на **слици 2.** Код кватернарних протоберберина, или берберина, прстенови A, C и D су ароматични и код ове класе једињења присутан је кватернарни азот. Занимљива је чињеница да 25% свих природним протоберберина имају баш ову структуру. Тетрахидроберберини или бербини имају хидрогенизован прстен C, док су A и D ароматични. Дихидроберберини имају ароматичне прстенове A и D, док је C делимично хидрогенизован. Ако је у структури присутна лактамска група, реч је о оксопротоберберинима (8-оксопротоберберини), који могу имати двоструку везу у прстену C.

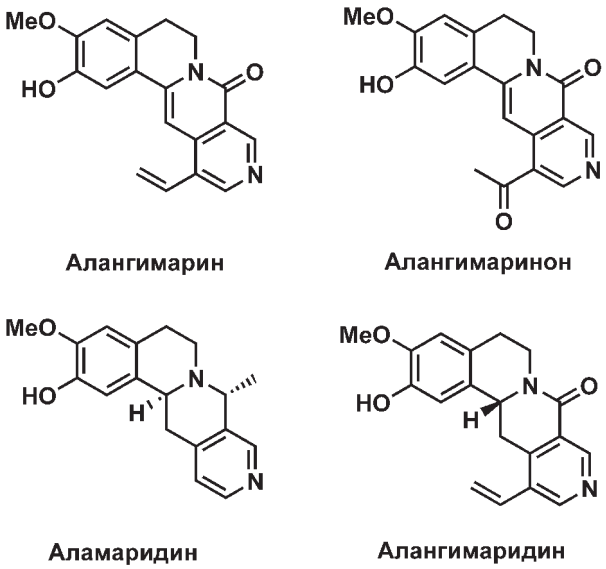
Уобичајени супституенти у прстенима A и D су метилендиокси-, метокси- или хидрокси-група. Протоберберини са несупституисаним прстеном D су веома ретки. Први природни оптички активни протоберберин без супституената у прстену D је гусанлунг Д, изолован 1995. године из кинеске биљне врсте *Arcangelisia gusanlung* [4]. Типови супституције који се најчешће срећу код протоберберина су у положајима C-2, C-3 и C-9, C-10, а нешто ређе су супституисани C-2, C-3 и C-10, C-11. Додатна функционална група са кисеоником може се наћи у положајима C-1, C-4, C-5, C-8, као и на азоту (*N*-оксиди). Највећи број природних тетрахидропротоберберина има (*S*)-конфигурацију на C-13a и настали су биосинтетски од (1*S*)-тетрахидробензилизохинолина.



Слика 2. Основни типови протоберберинских структура

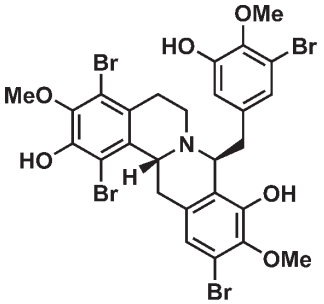
Код неких природних протоберберина C-10 је замењен азотом, што је специфично за *Alangium* алкалоиде, назване по биљном роду из кога су изоловани. Најпознатији 10-азапротоберберини изоловани су из индијског жбуна *Alangium lamarckii* (**слика 3**) [5].

Познато је да су бромовани алкалоиди најчешће маринског порекла. Халогеновани протоберберини су врло ретки природни производи. Из морских сунђера рода *Theonella* sp. изолован је теонеберин, те-



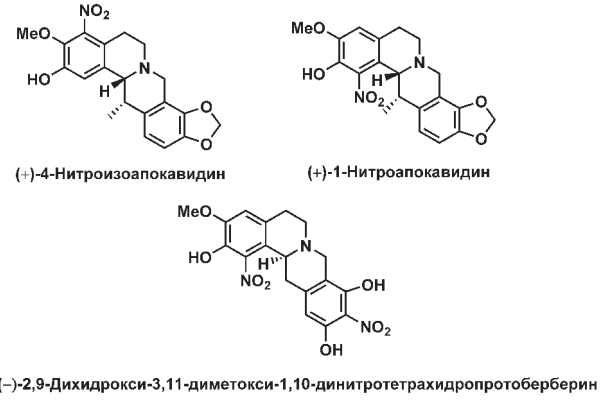
Слика 3. Примери *Alangium* алкалоида

трабромовани дериват тетрахидроберберинске структуре (**слика 4**) [6].



Слика 4. Први изоловани бромовани протоберберин

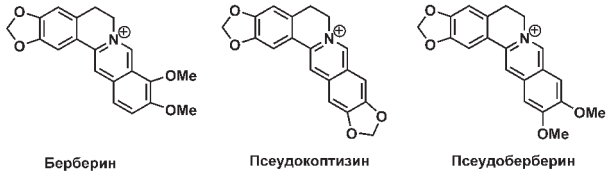
Занимљиво је да је и први нитроалкалоид (у ужем смислу) изолован из природног извора управо протоберберинског типа. Из врсте *Corydalis saxicola* Bunting изолован је 2005. године 1-нитроапокавидин [7]. Испитивањем садржаја исте биљне врсте изолована су и идентификована су још два нова нитроалкалоида (**слика 5**).



Слика 5. Природни нитровани протоберберини

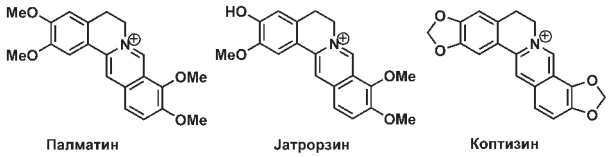
БИОЛОШКА АКТИВНОСТ ПРИРОДНИХ ПРОТОБЕРБЕРИНА

У народној медицини многих земаља може се наићи на примену биљака богатим протоберберинима. Етанолни екстракт луковице *Corydalis turtschaninovii* се дуго употребљава у корејској народној медицини за лечење чирева на желуцу и дванаестопалачном цреву, дисменореје, аритмије, реуматизма, а посебно је занимљива његова примена за побољшање меморије. Како је познато да смањење нивоа ацетилхолина у мозгу представља кључну фазу у настанку деменције, а инхибитори ацетилхолин естеразе повећавају расположивост ацетилхолина, једињења са оваквим дејством имају примену у терапији Алцхајмерове болести. Анализом екстракта *Corydalis turtschaninovii* установљено је да садржи 16 алкалоида берберинског типа који имају јаче или слабије изражено антиамнезивно дејство. Псеудоберберин, псеудокоптизин и берберин (слика 6) показали су најјаче инхибиторно дејство на ацетилхолин естеразу. До сличних резултата се дошло и испитивањем етанолних екстракта других биљака примењиваних за лечење Алцхајмерове болести [8].



Слика 6. Протоберберини са антиамнезивним дејством

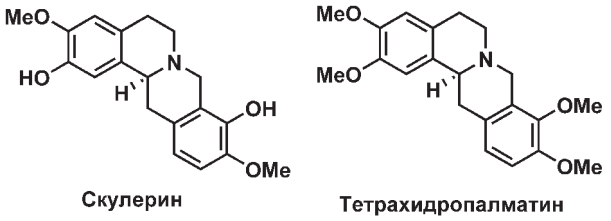
Rhizoma coptidis (осушени ризом биљке *Coptis chinensis* Franch) дуго је примењиван у кинеској народној медицини као лек против маларије, дисменореје, дијабетеса, гихта, опекотина и болести бубрега. Анализом његовог екстракта установљено је да су активни састојци палматин, јатрорзин, коптизин и берберин (**слика 7**). Једно од најважнијих биолошких активности протоберберина је њихова цитотоксичност. Протоберберини граде нековалентне комплексе са ДНК.[9] Берберин и палматин из *Berberis lycium* су такође заслужни за широк спектар биолошког дејства екстракта ове биљке, али посебно занимљиво је инхибиторно дејство на експресију прото-онкогеног циклина $Д_1$. Наиме, чист берберин, као и бутанолни екстракт ове биљке индукују ацетиловање α-тубулина, тако да је берберин моћан антинеопластик [10].



Слика 7. Цитотоксични протоберберини

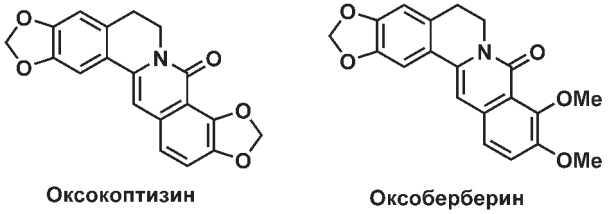
Смеса алкалоида из већ поменуте *Corydalis saxicola* регистрована је у Кини и примењује се у различитима терапијама, али посебно је важно антитуморно дејство њених састојака. Скулерин, тетрахи-

дропалматин (**слика 8**) и палматин (**слика 7**) показују значајно цитотоксично дејство према P-388, KB16, A549 и HT-29 ћелијским линијама. Берберин је цитотоксичан према већини туморских ћелијских линија укључујући ћелије хепатома, леукемије, Hep-2 (канцер ларинкса), MCF-2 (канцер дојке), MKN и SNU-5 (канцери желуца) [11].



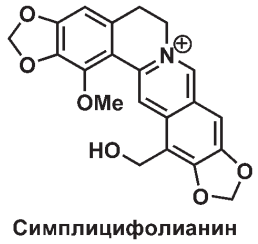
Слика 8. Цитотоксични тетрахидропротоберберини

Појава резистенције према антиканцерогеним лековима представља велики проблем у терапији тумора. Механизми настанка резистенције могу бити различити, а посебну улогу у настанку резистенције игра P-гликопротеин (P-gp). У нормалним условима, он омогућује елиминацију токсина из ћелије, док мутације у ћелијама канцера утичу на његову повећану експресију и избацивање лека из ћелије (efflux). Применом инхибитора P-гликопротеина може се избећи резистенција на лек, тако да су истраживања у овој области веома интензивна. Једињења различитих структура могу бити P-gp инхибитори. Из ризома биљке *Coptis japonica* Makino изоловано је неколико протоберберинских алкалоида и њиховим биолошким испитивањем установљено је да оксоберберин показује значајну цитотоксичност према ћелијама тумора док је код 8-оксокоптизина цитотоксичност ниска, али показује значајну P-gp-инхибиторну активност (**Слика 9**) [12]. Инхибиторна активност оксокоптизина је блиска верапамилу, који се употребљава као стандард у овим тестовима.



Слика 9. Оксопротоберберини са P-gp-ихибиторном активношћу

Из биљке *Meconopsis simplicifolia*, од давнина коришћене у бутанској народној медицини против маларије, кашља и прехладе, изолован је нов алкалоид, симплицифолианин (**Слика 10**). Испитивања су показала да овај алкалоид показује значајну активност против узрочника маларије, *Plasmodium falciparum*. Посебно је важна чињеница да је реч о хлорохин- резистентном сојy, TM4/8.2. [13].

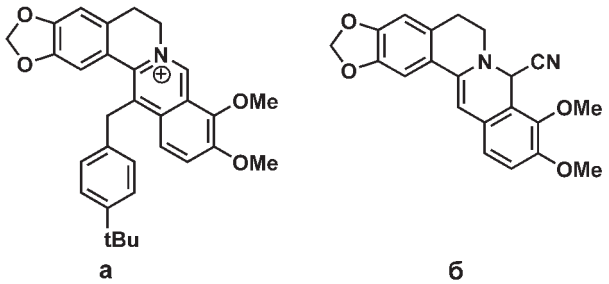


Слика 10. Природни антималарик протоберберинске структуре

НЕКИ БИОЛОШКИ АКТИВНИ СИНТЕТСКИ ПРОТОБЕРБЕРИНИ

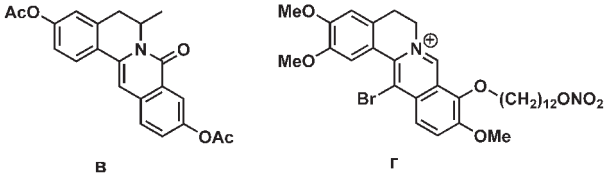
У даљем тексту биће приказани само неки примери многобројних синтетских протоберберинских деривата који су показали значајну биолошку активност.

Синтетски протоберберин HWY-289 (**слика 11, а**) показао је значајно *in vitro* антифунгално дејство против гљивица *Candida albicans* и *Candida krusei* [14]. Цијанопротоберберин (**слика 11, б**) показује значајну *in vitro* активност против *Plasmodium falciparum*, узрочника маларије [15].



Слика 11. Синтетски антимикотик и антималарик

Дизајниран је и синтетисан је велики број протоберберина у циљу испитивања њиховог антитуморног дејства. Одређени 3-ацетокси-оксопротоберберини значајно инхибирају раст хормон-зависних MCF-7 ћелија хуманог канцера дојке. На **слици 12** приказани су оксопротоберберин **в** који показују јако инхибиторно дејство на наведене туморске ћелије [16], као и протоберберин **г** који је показао јачи антитуморни ефекат на HepG2 (ћелије канцера јетре) од цисплатина као стандарда [17].



Слика 12. Синтетски протоберберини са антитуморним дејством

БИОСИНТЕЗА ПРОТОБЕРБЕРИНА

Занимљива је чињеница, да једноставни бензилизохинолински алкалоиди, тетрациклични берберини

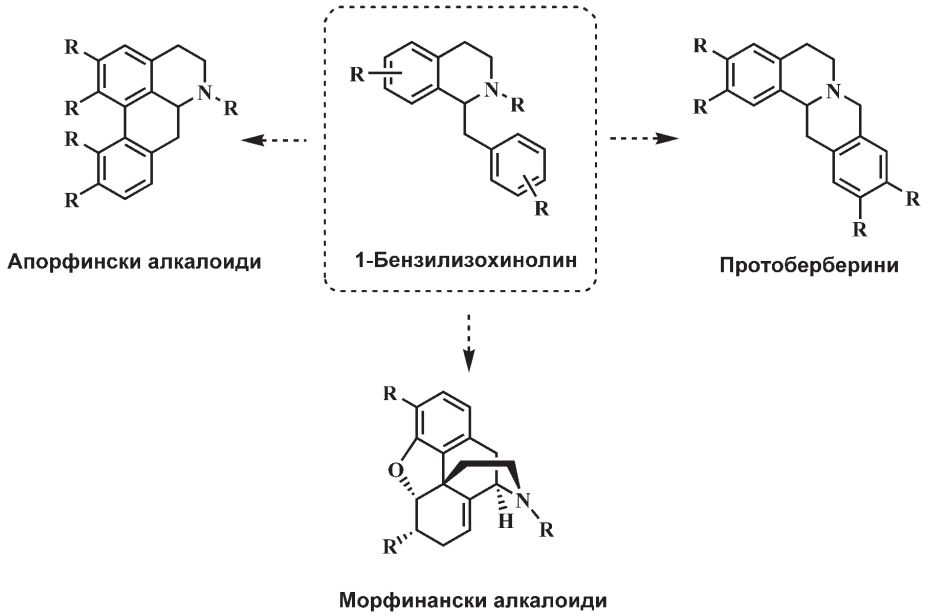


Схема 1

и апорфини. као и комплекснији морфинани имају заједнички прекурсор у биосинтези [18]. На **схеми 1.** приказани су основни скелети различитих група алкалоида које настају из истог прекурсора, 1-бензилизохинолина.

Поједностављени биосинтетски пут протоберберина, који приказује само неке структуре, приказан је на **схеми 2**. Полазно једињење је L-тирозин, који се метаболише до тирамина, L-3,4-дихидроксифенилаланина (L-ДОПА) и *p*-хидроксифенилпирогрожђане киселине (ХППК) [19]. Тирамин и L-ДОПА се могу трансформисати до допамина, док се из *p*-хидроксифенилпирогрожђане киселине ствара *p*-хидроксифенилацеталдехид (ХПА). Ове две јединице реагују дајући бензилизохинолински алкалоид (*S*)-норкоклаурин. После селективне *O*-метилације праћене *N*-метилацијом, хидроксилацијом и поново *O*-метилацијом у неколико фаза настаје (*S*)-ретикулин, централни интермедијер бензилизохинолинске групе алкалоида. Прстен C протоберберина затвара се оксидацијом *N*-метил-групе ретикулина дајући (*S*)-скулерин, који се у неколико корака трансформише у берберин. У овом биосинтетском путу посебно је занимљив корак у коме се врши циклизација бензилизохинолинске структуре до протоберберинске. Кључну улогу у овом кораку игра ензим ретикулин оксидаза (*berberine bridge enzyme)* која врши конверзију (*S*)-ретикулина у (*S*)-скулерин [20].

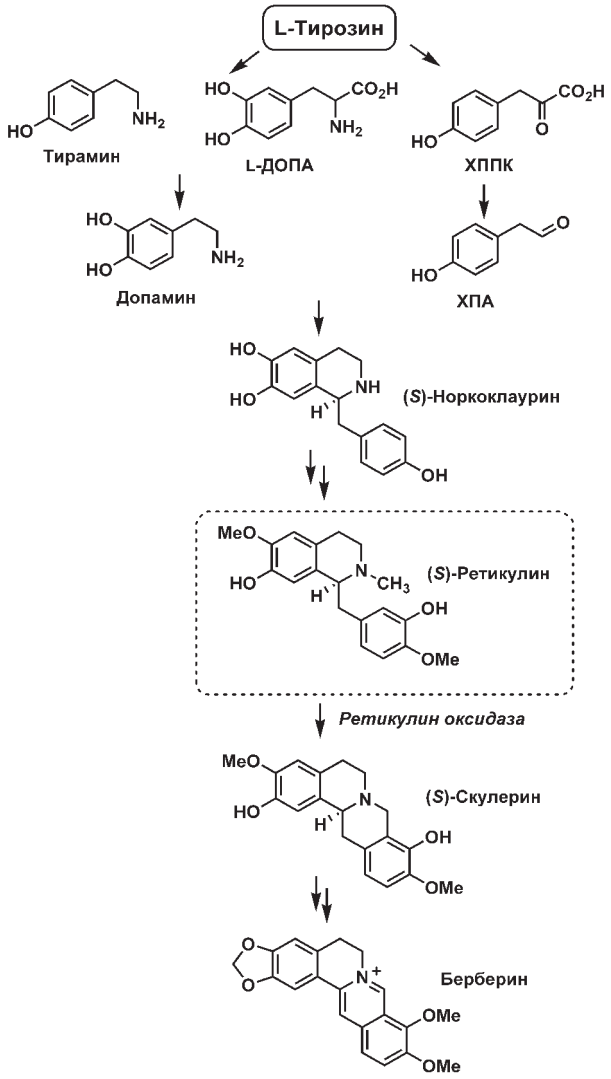


Схема 2.

СИНТЕЗЕ ПРОТОБЕРБЕРИНА

Захваљујући широкој распрострањености у природи, структурној комплексности, различитим биолошким особинама и могућности примене у медицини, интерес за синтезу поменуте групе алкалоида у сталном је порасту. Постоји велики број новијих синтетских методологија за добијање протоберберина [3],

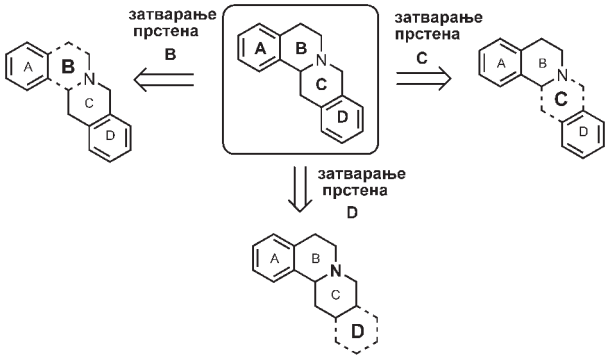


Схема 3.

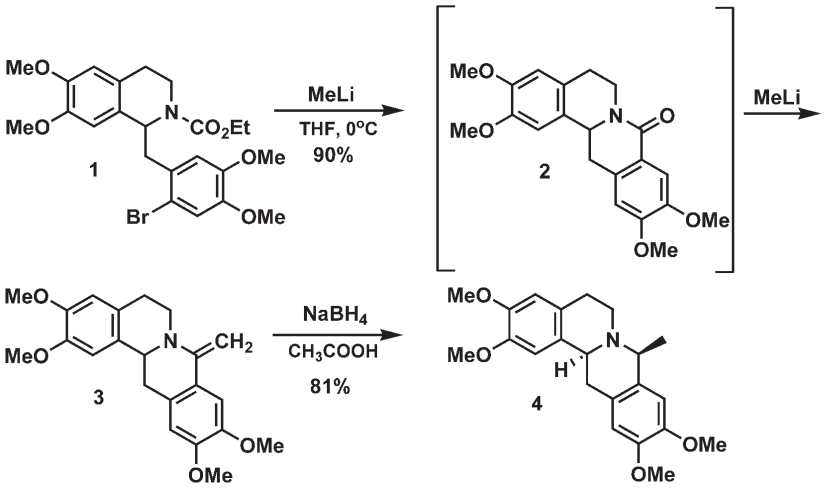


Схема 4

које су засноване на различитим кључним фазама. Најчешће кључне фазе су циклизације прстенова B, C и D (**схема 3**).

Један од најпознатијих начина за синтезу протоберберинског скелета је биомиметска синтеза, што подразумева затварање прстена Ц стварањем везе C-8–C-8a у кључној фази. Реакцијом бензилизохинолинског карбамата **1** са метиллитијумом у вишку настаје оксопротоберберин **2**. Овом реакцијом се даље могу добити и тетрахидропротоберберини. Реакцијом једињења **2** са метиллитијумом настаје 8-метиленпротоберберин **3** у добром приносу, **(схема 4).** Региоселективност ове реакције контролише измена халогена (брома) и метала (литијум). Редукцијом енаминске функције помоћу $NaBH_4$ добија се B/C *trans*-8-метилпротоберберин **4** (**Схема 4**) [21].

Друга одабрана синтеза о којој ће бити речи је енантиоселективна, и као таква омогућује добијање протоберберина са конфигурацијом коју имају природни производи овог типа. Хирални прекурсор **7** добија се адицијом анјона који настаје из *о*-толуамида **5** на хирални сулфинимин **6.** Циклизацијом настаје 3-арилизохинолон **8**. Редукцијом лактамске групе добијеног изохинолона **8** добија се изохинолин **9,** који реагује са бромацеталдехид-ацеталом дајући нестабилан *N*-алкиловани интермедијер **10**. Финално затварање прстена B постигнуто је електрофилном супституцијом и накнадном редукцијом дајући (*S*)-(–)-*O*-метилбаратамин у 25% приносу уз високи степен енантиоселективности (**схема 5**) [22].

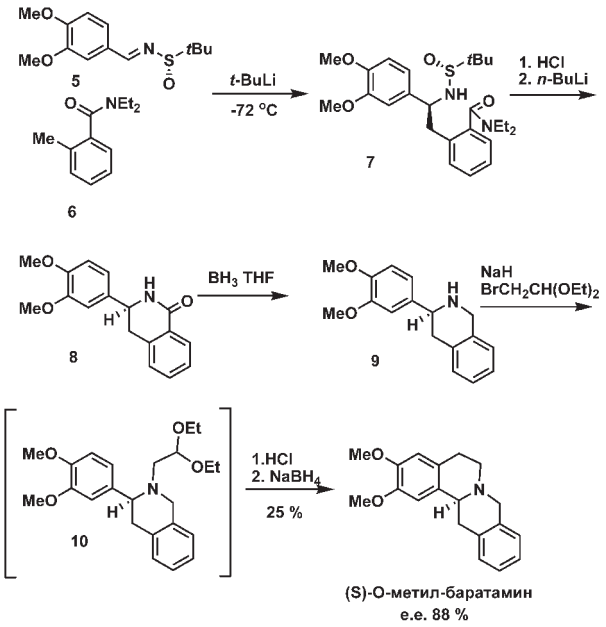


Схема 5.

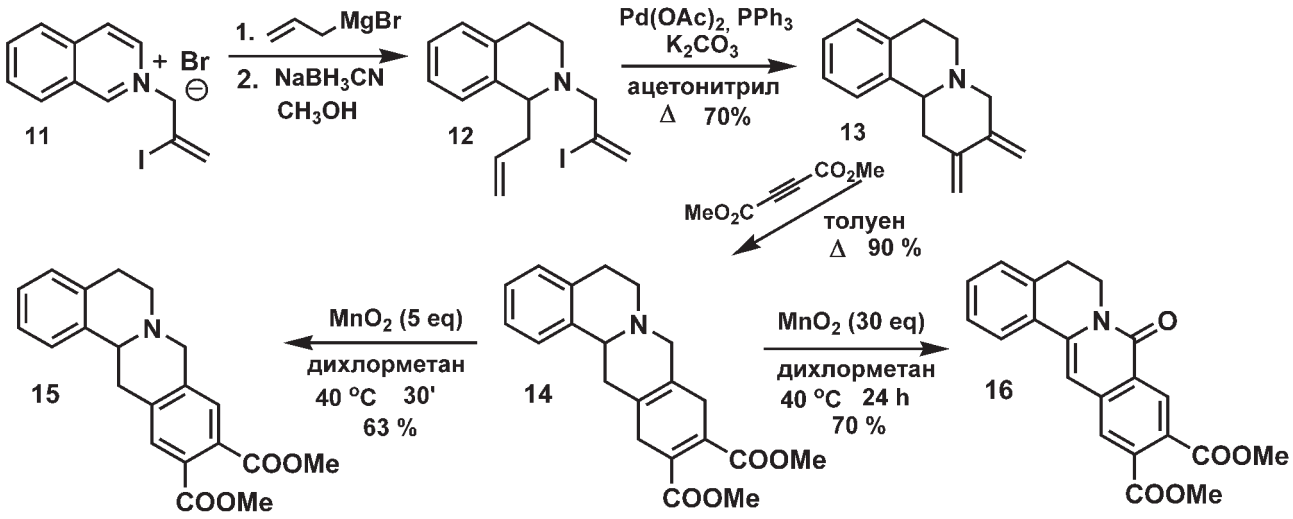


Схема 6.

Трећа синтеза коју ћемо поменути заснована је на затварању прстена D као кључној фази. На кватернарну изохинолинијум со **11** извршена је адиција алил-Грињаровог реагенса и редукција насталог једињења помоћу $NaBH_3CN$ (**Схема 6**). Интрамолекулском Хековом (Heck) реакцијом насталог интермедијера **12** добијен је хетероциклични диен **13**. Дилс-Алдеровом (Diels-Alder) реакцијом диена **13** и диметилестра ацетилендикарбонске киселине као диенофила, затворен је прстен D протоберберинског скелета при чему је добијено тетрациклично једињење **14**. Варирањем реакционих услова, могуће је ароматизацијом **14** добити тетрахидропротоберберински дериват **15**, као и једињење оксопротоберберинске структуре, **16** [23].

ЗАКЉУЧАК

У овом раду приказане су основне структурне карактеристике протоберберинских алкалоида и њихова распрострањеност у биљним врстама. Због широког спектра биолошке активности како природних, тако и синтетисаних протоберберина, наведени су само неки примери биоактивних једињења, иако је број публикација из ове области у сталном порасту.

Abstract

PROTOBERBERINES - STRUCTURE, OCCURENCE AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Milena SIMIC, Predrag JOVANOVIC, Milos PETKOVIC, *Department of Organic chemistry, University of Belgrade-Faculty of Pharmacy*

The protoberberines represent a large subgroup of isoquinoline alkaloids widespread in the plant kingdom. Plants rich in these natural products have long been known and used in traditional medicine from different countries. Due to the various biological activities of these natural products, protoberberine derivatives are very interesting to medicinal chemists.

ЛИТЕРАТУРА

1. O.J. Patiño Ladino, L.E. Cuca Suárez, *Biochem. Syst. Ecol,* **38** (2010) 853.
2. T.M. Hung, H:D: Nguyen, J.C. Kim, *Planta Med.,* **76** (2010) 1762.
3. E. Reimann, *Curr. Org. Chem.,* **13** (2009) 353.
4. J-S. Zhang, L. Le Men-Olivier, G. Massiot, *Phytochemistry,* **39** (1995) 439.
5. A. Bhattacharjya, R. Mukhopadhyay, R.R. Sinha, A. Esahak, C. Satyesh, *Tetrahedron,* **44** (1988) 3477.
6. Kobayashi, J.; Kondo, K.; Shigemori, H.; Ishibashi, M.; Sasaki, T.; *J. Org. Chem.,* **57** (1992) 6680.
7. H.J. Li, W.D. Zhang, W. Zhang, C. Zhang, R.H. Liu, *Chinese Chem. Lett.*, **16** (2005) 367.
8. T.M. Hung, M. Na, N.T. Dat, *J. Ethnoharmacol.*, **119** (2008) 74.
9. W-H. Chen, C-L. Chan, Z. Cai, *Bioorg. Med. Chem. Lett.,* **14** (2004) 4955.
10. M. Khan, B. Giessrigl, C. Vonach, *Mutat. Res.,* **683** (2010) 123.
11. X. Cheng, D. Wang, L. Jiang, *Chem. Biodivers.*, **5** (2008) 1335.
12. Y.D Min, M.C. Yang, K.H. Lee, *Arch. Pharm. Res.,* **29** (2006) 757.
13. W. Phurpa, P. Keller, S. Pyne, W. Lie, A. Willis, R. Rattanajak, S. Kamchonwongpaisan, *J. Ethnoharmacol.*, **150** (2013) 953.
14. K-S. Park, K-C. Kang, K-Y. Kim, P-Y. Jeong, J-H. Kim, *J. Antimicrob. Chemother.*, **47** (2001) 513.
15. J.L. Vennerstrom, D.L. Klayman, *J. Med. Chem.,* **31** (1988) 1084.
16. S. Von Angerer, G. Brandl, A. Mannschreck, C. Weimar, W. Wiegrebe, *Anticancer Drug Des.,* **7** (1992) 351
17. J. Chen, T. Wang, S. Xu, A. Lin, H. Yao, W. Xie, Z. Zhu, J. Xu, *Eur. J. Med. Chem.,* **132** (2017) 173.
18. D. Liscombe, J. Ziegler, J. Schmidt, C. Ammer, P. Facchini, *Plant J.* **60** (2009) 729.
19. T.M. Kutchan, *The Alkaloids*, **50** (1998) 257.
20. T.M. Kutchan, H. Dittrich, *J. Biol. Chem.,* **270** (1995) 24475.
21. K. Orito, M. Miyazawa, R. Kanbayashi, T. Tatsuzawa, M. Tokuda, *J. Org. Chem.,* **65** (2000) 7495.
22. A. Grajewska, M. Rozwadowska, *Tetrahedron: Asymmetry*, **18** (2007) 2910.
23. M. Simić, A. Damjanović, M. Kalinić, G. Tasic, S. Eric, J. Antić-Stanković, V. Savić, *J. Serb. Chem. Soc.,* **81** (2016) 103.

Милица МАТИЈЕВИЋ[а,б], Јадранка МИЛЕТИЋ[а,б], Марија РАДОИЧИЋ [а], Анамарија НИКОЛЕТИЋ[в], Ана ПЕТРОВИЋ[г], Ања СТАНИЋ[в], Братислав ДАЧЕВИЋ[д], Маја СТОШИЋ[г], Марија НЕДЕЉКОВИЋ[ђ], Мина МИЛУТИНОВИЋ[е], Саима КОРАЋ[ђ], Соња БОЖОВИЋ[ж], Тодор ЦВЕТАНОВИЋ[з]
[а]Институт за нуклеарне науке Винча, Универзитет у Београду
[б]Друштво истраживача Винча
[в] Математичка гимназија, Београд
[г] Гимназија у Чачку
[д] Гиманзија Врњачка Бања
[ђ] Гимназија Нови Пазар
[е] Гимназија Светозар Марковић, Јагодина
[ж] Шеста београдска гимназија
[з] Пета београдска гимназија

НАНОКОМПОЗИТНИ ФОТОДИНАМИЧКИ СИСТЕМ ЗА КОНТРОЛИСАНУ ДОСТАВУ МЕДИКАМЕНАТА БАЗИРАНИХ НА КОМПЛЕКСИМА ПРЕЛАЗНИХ МЕТАЛА

Овај рад је део програма „Винчина научионица“ који се састоји од мултидисциплинарних радионица за ученике средњих школа, кроз које се ученици путем директног укључивања у текуће пројекте упознају са темама истраживања и пролазе кроз све фазе научно-истраживачког рада. Програм је намењен и талентованим ученицима, како би се упознали са научним радом у реалним условима, али и ученицима који се још увек нису одлучили за правце својих студија. „Винчина научионица“ се реализује од 2012. године у Институту за нуклеарне науке „Винча“ и обухвата радионице, осмишљене као мини-пројекте из хемије, физике, биологије/биомедицине, науке о материјалима, заштите од зрачења, заштите животне средина, термотехнике и енергетике. Приложени рад је део истраживачке теме из области фотодинамичке терапије, којим руководе др Маријана Петковић (хемија/биохемија), др Милутин Степић (фотоника) и др Зоран Шапоњић (нанонауке).

УВОД

Један од главних циљева истраживања у области модерне бионеорганске и био-органометалне хемије је развој нових медикамента на бази комплекса прелазних метала с другачијом фармаколошком активношћу у односу на платинске хемотерапеутике који су у клиничкој употреби. Наиме, иако ефикасни, лекови у којима је платина централни метални јон (неки од платинских анти-туморских лекова су дати на Слици 1) су показали доста штетних ефеката у организму, као што су ототоксичност, нефротоксичност, док ћелије канцера брзо постају резистентне на лекове. [1]

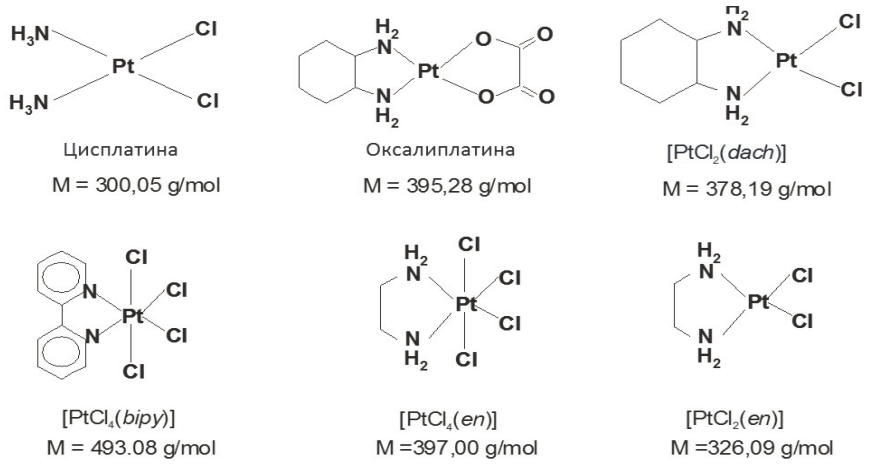
Нови приступи, којима се жели повећати ефикасност у терапији тумора и умањити штетни ефекти на здраве ћелије, су нови лекови са другим централним јоном, као што су злато, [2] рутенијум, [3] бакар, [4] паладијум, [5] или цинк, [6] и, упоредо с тиме, нови системи за циљану и контролисану доставу медикамената. У овом другом приступу, могу се применити разни стимуланси за ослобађање лека на месту дејства, као што су унутрашњи (особине саме туморске ћелије) или спољашњи, на пример ултразвук, светлост или температура, чиме се умањују штетни ефекти које лекови могу имати на здрава ткива.

У овом раду ће бити дат кратак преглед досадашњих приступа терапији тумора медикаментима и системима за доставу медикамената заснованим на комплексима прелазних метала, након чега ће бити представљени прелиминарни резултати добијени у оквиру програма „Винчина научионица“, минипројекта „Фотодинамичка терапија“.

Комплекси прелазних метала као антитуморски лекови

Кључна хемијска особина метала која омогућава њихову клиничку употребу је да могу постојати у више оксидационих стања. У здравим ћелијама и у крви постоји велики број оксидо-редукујућих агенаса, а у ћелијама тумора концентрација молекулског кисеоника је нижа у односу на здраво ткиво, те оне представљају редукујућу средину у односу на околину. Ова особина је искоришћена за активацију хемотерапеутика на месту дејства, односно у туморском ткиву. Наиме, лекови базирани на комплексима прелазних метала се дају пацијенту у неактивном стању, док се лек активира редукцијом након уласка у туморску ћелију. Друга важна карактеристика металних јона јесу реакције лигандне измене: у зависности од средине у којој се налазе, комплекси прелазних метала могу изменити електрон донирајуће лиганде, а тако и своју структуру, чиме им је омогућена интеракција са циљаним молекулима.

Лиганди могу бити атоми (H, O, или Cl), фрагменти молекула (CR_3, NR_2, или SH), или молекули који су стабилни самостално или везани за метал (NR_3, PR_3, $R_2C{=}CR_2$, бензен, пиридин и бипиридин, амини, етиленамини, и други). Веза између метала и лиганда је координациона, чиме је и омогућена реакција “лигандне измене“ и отпуштање лиганда без значајних измена структуре. Главна улога лиганда је да регулише фармако-кинетичке параметре лека који садржи метал, омогућујући специјализовање комплекса за одређену употребу. Пример за то је задржавање комплекса у туморском ткиву помоћу лиганда велике мо-



Слика 1. Структурне и емпиријске формуле комплекса платине са молекулским масама, прво су приказани комерцијално доступни комплекси, цисплатина и оксалиплатина, затим и комплекси с познатим процедурама за синтезу с лигандима, као што су *dach* (1,2-диаминоциклохексан), *bipy* (2,2'-бипиридин), *en* (етилендиамин)

лекулске масе, повећање уласка комплекса у туморско ткиво као последица наелектрисања лиганда, или побољшање пермеабилности комплекса, уз интензивнији ефекат његовог задржавања у туморском ткиву. [7]

Касних седамдесетих година прошлог века је званично одобрена употреба неорганског комплекса цис-диамино-дихлороплатине(II), тј. цисплатине, чија је структура дата на Слици 1. [1] И данас, комплекси метала су најчешће употребљавани медикаменти за терапију различитих типова канцера. Међутим, услед неселективног деловања у односу на тип ћелије, цисплатина катализује реакције слободних радикала и у здравим ћелијама, што има и мноштво негативних ефеката. [8] Поред ових нежељених ефеката велики проблем у примени овог цитостатика је његова слаба растворљивост, као и брзи развој резистенције туморских ћелија на терапију.

Иако је доказана антитуморска активност у *in vitro* и *in vivo* условима и координационих комплекса злата (III), рутенијума (II) и рутенијума (III), осмијума (II), титана (IV), калаја (IV), галијума (III), бакра (II), цинка (II) и бизмута (III), тренутно се од неорганских комплекса у хемиотерапији примењују искључиво поменути платински комплекси, цисплатина, карбоплатина, оксалиплатина, који чине 50-70% од укупне терапије која је примењена код пацијента оболелих од канцера. [9]

Посебну пажњу привлачи рутенијум као централни метални јон, [10] чији су комплекси NAMI-A, [11] и KP1019, [12] ушли у прву фазу клиничког испитивања. Рутенијум је посебно погодан пошто се може наћи у три оксидациона стања, од чега зависи и реактивност одговарајућег комплекса. Ово се огледа у томе што је, на пример, комплекс NAMI-1 активнији према метастазама, док KP1019 показује већу активност према примарним туморима. [8]

Носачи за лекове базиране на комплексима прелазних метала

Један од начина да се превазиђу уочени проблеми у терапији лековима базираним на комплексима прелазних метала, јесте формирање носача за циљану и контролисану доставу медикамената. Носачи су дизајнирани тако да повећају стабилност лека у току транспорта кроз циркулацију, очувају га у неактивној форми док не доспе у циљано ткиво и акумулацијом повећају концентрацију лека у туморском ткиву. [13]

Носачи морају да испуњавају следеће карактеристике: да су мале величине, биолошки разградиви, или да се лако елиминишу из организма. Затим, неопходно је да буду доброг капацитета за везивање лека, способни за одржавање високе концентрације лека у циркулацији, да нису имуногени и да њихова примена доводи до акумулирања лека у туморском ткиву и у самим ћелијама. [14] Осим овога, потребно је да носач може да задржи лек у неактивном облику до доласка у туморско ткиво, као и да се услови ослобађања могу контролисати. Укратко, захтеви које носач мора да испуњава су "задржи, избегни, циљај и ослободи", (енглески - Retain, Evade, Target, Release). [15]

Развијени су различити приступи у креирању и примени носача. Један од првих испробаних система за доставу је инкапсулација лекова растворљивих у води у липозоме, што се међутим показало неприменљиво за слабо хидрофилне лекове, пошто је могућа дестабилизација мембране носача (изграђене од липидног слоја или двослоја) услед реаговања хидрофобног лека са хидрофобним делом мембране. [14] Овај проблем је превазиђен употребом носача од других материјала, као што су разни полимери и метали, односно оксиди метала.

Наночестични носачи се међусобно разликују по структури и саставу, те могу бити изграђени од полимера (полимерне наночестице, мицеле или дендри-

мери), масти (липозоми), од органометалних једињења (нанотубе) (преглед је дат у Табели 1), и различитих металних оксида. Осим структуре и састава, наноносачи се међусобно разликују према начину активације, степену отпуштања у односу на стимуланс из околине, потенцијалу за циљану доставу, као и механизму деградације у ткиву и елиминације из организма.

Оптимизацијом величине наночестица, могуће је утицати на време које лек проведе у циркулацији. Како се у крви задржавају наночестице молекулске масе веће од 50.000 $gmol^{-1}$, као последица гломеруларне филтрације у бубрезима. [16] Наночестице примењене код система за доставу лека су субмикронске честице величине од 3 – 200 nm, различитог састава и различитих структурних карактеристика. Додатно, P-гликопротеин, који се сматра директно одговорним за развој резистенције туморских ћелија, не препознаје наночестице, те оне могу да се акумулирају у туморском ткиву, што директно утиче на повећање унутарћелијске концентрације лека. [17] Полимерни материјали у својству носача нису токсични, не изазивају имуни одговор од стране пацијента, веома су растворљиви у води и одобрени су од стране FDA (*Food and Drug Administration Agency,* Агенција за храну и лекове). [18] Још једна значајна карактеристика је да 80% укупне тежине система носача/лек чини тежина самог лека, што значајно доприноси повећању концентрације лека на месту дејства. Додатни слој око наночестице, као што су полимерни омотачи, најчешће од полиетиленгликола (PEG), спречава интеракцију комплекса са тиолним групама биомолекула и омогућава дужу стабилност комплекса у циркулацији, као и већу селективност према тумору. [19]

Липозомалне формулације антрациклена доксилорубицина (Doxil, Myocet) и даунорубицина (DaunoXome) су у клиничкој употреби за лечење метастаза канцера дојке и Капошијевог саркома. Следећу генерацију липозомалних носача могли би да представљају имунолипозоми, који се селективно достављају одређеном туморском ткиву, на основу принципа антитело-антиген, који је у ствари маркер/протеин карактеристичан за туморске ћелије. [17]

Посебну категорију носача медикамената представљају природни полимери, као што су хитозан и алгинат, који су међусобно показали веома различите карактеристике за системе носача лека. [20] Од посебног интереса су дендримерне структуре у које могу да се укључе групе које луминесцирају након апсорпције видљиве светлости. Луминесценцијом се покрећу мултиелектронски оксидо-редукциони процеси чиме се ослобађа и/или активира лек у туморским ћелијама, али и формирају реактивне кисеоничне врсте које такође доприносе убијању туморских ћелија.

Поред наведених примера, и карбонске наноцеви се могу користити као носачи за антитуморске медикаменте базиране на комплексима прелазних метала. Експерименти су показали значајно повећану цитотоксичност платинског комплекса уколико је везан за карбонске наноцеви. Наиме, модификоване карбонске нанотубе улазе у туморске ћелије ендоцитозом, при чему услед ниже киселости унутар ћелије, долази до редукције комплекса и његовог ослобађања у облику Pt(II) комплекса, а који затим, након реакције са нуклеинским киселинама, испољава своје цитотоксично дејство. [21]

Наночестице злата имају велики потенцијал као носачи за антитуморске лекове пошто су у питању инертне и нетоксичне честице које се лако синтетишу и дериватизују, а испољавају изузетну пермеабилност и потенцијал за акумулацију. Ове честице такође улазе у ћелију ендоцитозом. Један од примера модификације наночестица злата је додатак ланца PEG-а, који се помоћу тиолних група цикличног дисулфида везује за злато, а помоћу карбоксилних група за слободна места на Pt(IV) комплексу – оксалиплатини. Овакав систем је показао бољу цитотоксичност у односу на оксалиплатину самостално у свим тестираним туморским линијама, и додатно необичну способност да улази у једро ћелија рака плућа. [22]

Активација и контролисано отпуштање медикамента

Један од начина да се контролише концентрација и место деловања лека, као што је већ истакнуто, јесте његова администрација у неактивном облику, односно у форми пролека. Пролек може бити дат сам или заједно с носачем, а активира се на месту дејства.

До сада, испитани су различити начини активације и отпуштања лекова. На пример, формиране су полимерне мицеле осетљиве на хипертермичке услове (42 °C), и системи осетљиви на промену киселости. [23] Комплекси рутенијума се такође уносе у организам у оксидованом стању, а редукују се када доспеју у туморске ћелије у којима је снижена концентрација кисеоника. Тек тако редуковани рутенијум испољава своју биолошку активност. [10] Озрачивање је још један начин активације када су у питању системи носач/лек који су осетљиви на светлост (тзв. фото-осетљиви системи, photosensitizers), о чему ће бити речи у наредном поглављу (1.4).

Имајући у виду да постоји значајна разлика у киселости нормалних (pH 7,4) и туморских ћелија (pH <5.5), активација лека овим путем је спонтана. Међутим, истраживања лекова инкапсулираних у мезопорозни SiO_2 су показала да се чак 20% лека отпушта са носача на pH 7,4. Један од начина да се овај проблем превазиђе је додатак наночестица ZnO у структуру мезопорозног силицијум диоксида, при чему ZnO има улогу да блокира отпуштање лека, док се омотач не раствори у киселој средини у близини тумора. [24]

Последњих година, са интензивним развојем нанотехнологије, доста пажње је посвећено наночестицама металних оксида, попут оксида гвожђа због магнетних особина (хематит, магнетит, магнехит), [25] ZnO, [26] TiO_2 и мезопорозног SiO_2. [27] Неки од разлога великог интересовања научника за наночестице од металних оксида као носаче за антитуморске меди-

Систем	Структура	Карактеристике	Примери
Полимерне наночестице	Лек је везан за бочни ланац линеарног полимера	а) Растворљивост у води, нетоксичност, биодеградабилност б) Модификација површине в) Селективна акумулација и задржавање у туморској ћелији г) Циљано везивање за рецепторе туморске ћелије заједно са лигандом	Албумин-Таксол PGA-Таксол PGA-Камптотецин HPMA-DOC-галактозамин
Полимерне мицеле	Кополимери с амфиличним карактером формирају мицелу са хидрофобним језгром и хидрофилним омотачем	а) Погодни за липофилне лекове б) Биокомпатибилни, могу сами да промене своју структуру, биодеградабилни в) Лако функционално модификовање г) Потенцијал за циљану доставу	PEG-плуроник-DOC PEG-PAA-DOX (NK911) PEG-PLA-Таксол
Дендримери	Од централног атома се радијално уздижу разгранати полимерни ланци који се даље бочно гранају правећи облик сфере	а) Могуће подешавање биодистрибуције и фармакокинетике б) Велика структурна и хемијска хомогеност в) Лако везивање функционалних група, велика густина лиганда г) Контролисање деградације д) Мултифункционалност	PAMAM-MTX PAMAM-платинат
Липозоми	Лоптасте везикуле од амфилних фосфолипида и холестерола, који се самоорганизују у два слоја и затварају средишњи простор	а) Амфилични, биокомпатибилни б) Лако модификовање в) Потенцијал за циљану доставу	Дауноксом Доксил Миоцет
Карбонске нанотубе	Карбонски цилиндри изграђени од прстенова бензена	а) Растворљиви у води и биокомпатибилни кроз хемијску модификацију б) Мултифункционалност	CNT-MTX CNT-амфотерицин Б

Скраћенице: PGA, поли-(2-глутамат); HPMA, *N* -(2-хидроксопропил)-метакриламид кополимер; PEG, полиетилен гликол; PAA, поли-(Л-аспартат); PLA, поли-(Л-лактид); PAMAMA; поли(амидоамин); DOX, доксорубицин; MTX, метотрексат; CNT, карбонске нанотубе.

каменте су могућност апсорпције светлости одређене таласне дужине, могућност модификације површине и интеракција са разним групама хемијских једињења. Осим овога, метални оксиди и метали се могу акумулирати у туморским ћелијама путем рецептора за метале, који су заступљени у већој количини на површини туморских ћелија у односу на здраве.

Фотоосетљив систем за доставу лекова базиран на наночестицама TiO_2 и комплексу прелазних метала

Титанијум (IV) оксид има широку употребу и у медицини, али и примену у технологији, генерално, због својих особина као што су стабилност, инертност, велика специфична површина и могућност површинских модификација. У литератури је описано неколико система у којима су ове честице носачи за лекове. На пример, познат је систем с даунорубицином (DNR) везаним за TiO_2 (DNR – TiO_2). Лек је за површину наночестица везан електростатичким путем. Наиме, на pH 7,4 наночестице TiO_2 су негативно наелектрисане, што утиче на формирање електростатичких интеракција између наночестица и молекула DNR. На основу тога, претпоставља се да неколико молекула DNR може бити везано за једну наночестицу TiO_2. За овај систем је карактеристично да туморске ћелије умиру апоптозом, што је последица значајног повећања концентрације лека у ћелијама у односу на систем без носача, што даље указује да систем са носачем има већу пермеабилност. [28]

Наночестице TiO_2 улазе у ћелију фагоцитозом, али се могу наћи и акумулирати на ћелијској мембрани. [29] Особина, која их чини посебно погодном јесте могућност апсорпције светлости и то у ултраљубичастом делу спектра, што доводи до њихове активације. Наиме, светлом активиране наночестице TiO_2 испољавају снажнији цитотоксични ефекат на малигне ћелије, док су без озрачивања мање токсичне. [30] Осветљене наночестице стимулишу продукцију реак-

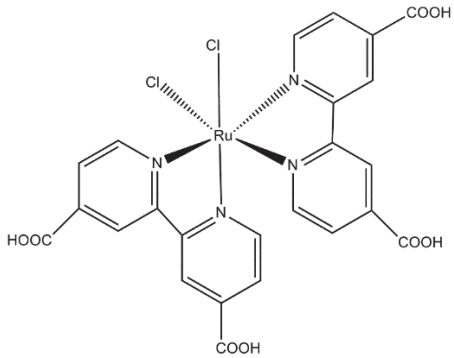
тивних кисеоничних врста, односно индукују оксидативни стрес, који доводи до некрозе малигних ћелија. Потребно је истаћи да се раније сматрало да је механизам убијања туморских ћелија индуковањем оксидативног стреса апоптоза, док је у скоријим радовима показано да је механизам индуковања ћелијске смрти реактивним кисеоничним врстама, некроза. [30] Ова врста терапије се назива фотодинамичка терапија (Photodynamic therapy – PDT енгл., ФДТ срп.) и у питању је врста третмана који се већ успешно примењује код одређеног броја болести и поремећаја (макуларна деградација, псоријаза, неке врсте канцера). [31] ФДТ је минимално инвазивна врста третмана, у којој се светлост одређене таласне дужине примењује локално и активира фотоосетљиву супстанцу која се налази у туморском ткиву. Та супстанца може, или апсорбовану енергију да пренесе на лек, или да активира сам лек да производи реактивне кисеоничне врсте/слободне радикале, [32] за које је познато да су, у биолошкој средини, токсични и да могу да реагују са ћелијским садржајем реметећи функције ћелије и доводећи до ћелијске смрти.

Озрачивање светлошћу представља атрактиван начин стимулације, првенствено због тога што је светлост недеструктиван агенс, а сам процес може бити врло прецизно контролисан помоћу подешавања интензитета светлости и времена излагања, са једне стране, и таласне дужине светлости као и пречника снопа који делује на оболело ткиво, са друге стране.

У нашој групи је формиран нанокомпозитни систем (НКС) од наночестица TiO_2 и рутенијумовог комплекса (*цис*-дихлоробис (2,2'-бипиридил-4,4'-дикарбоксилна киселина)рутенијум(II) – скраћено $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$, (Слика 2) везаног за површину честица, [33] који је такође фотоосетљив. Претходним експериментима смо утврдили да је брзину отпуштања комплекса с површине наночестица могуће контролисати применом светлости различитих таласних дужина; прецизније, дејством ултраљубичасте светлости, брзина отпуштања се повећавала, док се смањивала дејством црвене и зелене светлости. Фотоосетљивост система је и била очекивана, пошто његове компоненте апсорбују у ултраљубичастој области (наночестице TiO_2), док рутенијумов комплекс апсорбује и у видљивом делу спектра.

Биолошка активност самог комплекса је показана испитивањем његове интеракције са биолошки значајним молекулима и дејства на ћелије. [33] Такође, НКС је показао цитотоксични ефекат на ћелије меланома A375, [34] који је значајно појачан дејством ултраљубичасте светлости. С друге стране, дејство видљиве светлости је имало другачији ефекат: цитотоксичност система је смањена.

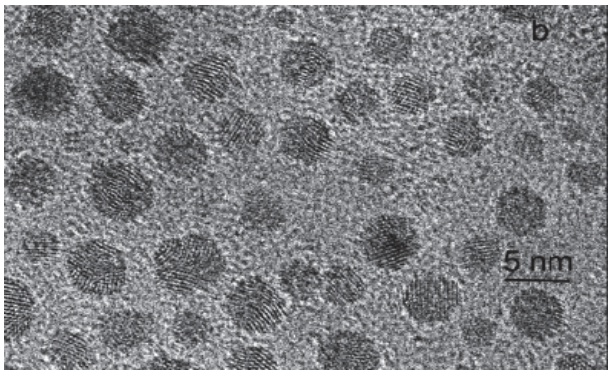
У оквиру мини-пројекта "Фотодинамичка терапија", као дела циклуса "Винчина научионица" посматрали смо НКС формиран од колоидних наночестица TiO_2 и претходно синтетисаног рутенијумовог комплекса, који смо, са циљем да повећамо његову пермеабилност у ћелије и испитамо утицај светлости на брзину отпуштања комплекса, инкапсулирали у липозоме, и посматрали упоредо са системом без присуства липида.



Слика 2. Структура комплекса $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Колоидне честице TiO_2 (Слика 3) пречника око 5 nm, су синтетисане у Лабораторији за радијациону хемију и физику Института Винча према стандардизованој процедури. [35] Добијен је бистар раствор колоида, стабилизован на pH 7, концентрације 20 mM.



Слика 3. TEM снимак високе резолуције наночестице TiO_2 [36]

Комплекс прелазног метала, $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$ (Слика 2), је синтетисан и окарактерисан претходно, [33] према процедури из литературе. [37] За изоловање фосфолипида употребљено је жуманце кокошијег јајета, за које је познато да садржи висок проценат фосфатидил-холина, који је и основни састојак мембране ћелија. Добијени раствор са фосфолипидима је анализиран танкослојном хроматографијом (Thin Layer Chromatography, енг. TLC, срп. ТЛЦ), чиме је потврђено присуство одређених фосфолипида. Од добијеног раствора, примењујући ултразвук, направљене су мале униламеларне везикуле (МУВ), према процедури описаној даље у тексту.

Нанокомпозитни систем

У реакционом суду помешано је 100 μl раствора комплекса рутенијума, $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$, у етанолу (0,5 mM) с 900 μl воденог раствора TiO_2 (20 mM, pH 7,0), процењујући да је удео атома Ti на које може да се веже комплекс $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$ на површини наночестица 30%. [35] Реакциона смеша је инкубирана то-

ком ноћи на собној температури, уз мешање и одсуство светлости, како би се формирао нанокомпозитни систем, НКС. Након центрифугирања, добијени талог је растворен у 10 mM фосфатном пуферу.

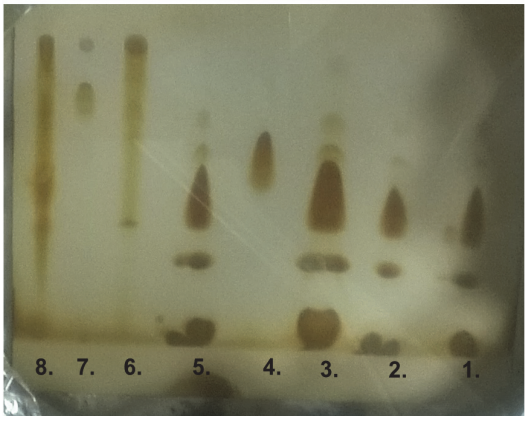
Изоловање фосфолипида и формирање малих униламеларних везикула (МУВ)

Коришћењем смеше поларних и неполарних растварача могућа је потпуна екстракција липида из животињских и биљних узорака, те смо користили смешу хлороформа и метанола (2:1, запремински односи), [34] због способности хлороформа да добро раствара липиде, а метанола да добро продире у ткиво.

МУВ су припремљене према поступку коју су користили Алонсо и сарадници, [38] уз коришћење ултразвука. Према литератури, добијени МУВ требало би да имају просечан пречник од 30 nm.

Танкослојна хроматографија – идентификација изолованих фосфолипида

Екстраховани фосфолипиди из жуманцета јајета су окарактерисани уз помоћ танкослојне хроматографије. ТЛЦ је рађена на следећи начин: непосредно пре добијања сувог остатка при упаравању екстрахованог жуманцета, узет је део и нанет на плочицу за хроматографију (превучену силика гелом). Фосфолипиди су визуализовани уз помоћ пара јода. На основу стандарда (Слика 4) утврђено је присуство фосфатидилхолина, као и одсуство дипалмитоил-фосфатидилхолина. Могуће је присуство сфингомијелина и фосфатидилинозитола у траговима. Додатном претрагом литературе се испоставило да је поред ових фосфолипида заступљен и фосфатидилетаноламин.



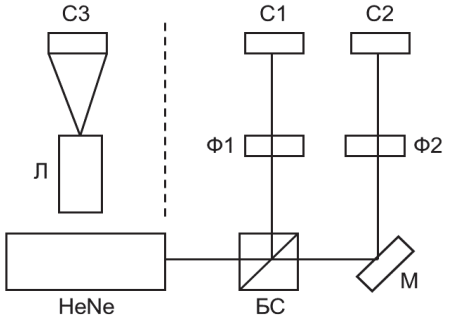
Слика 4. Фотографија плочице са силика гелом за танкослојну хроматографију употребљене за идентификацију изолованих фосфолипида, с десна на лево: 1. Фосфатидилхолин, 2. Лизофосфатидилхолин, 3. Дипалмитоилфосфатидилхолин, 4. Разблажен суви остатак жуманцета, 5. Сфингомијелин, 6. Разблажен суви остатак жуманцета, 7. Двоструко разблажен суви остатак жуманцета, 8. Троструко разблажен суви остатак жуманцета

Инкапсулација НКС у МУВ

Добијене МУВ, у концентрацији од 50 μg/ml, је помешан с НКС у односу 1:1. На овај начин добијени систем који се састоји од НКС-а и липозома је коришћен у даљим експериментима под истим условима као и систем који није био инкапсулиран у МУВ.

Праћење отпуштања комплекса са површине НКС под дејством црвене и ултраљубичасте светлости

У касете за дијализу капацитета 0,1 – 0,5 ml (Thermo Scientific Dialysis cassette, 7.000 MWCO), помоћу игле је унето по 0,5 ml раствора НКС-а, или 0,5 ml у случају НКС-а инкапсулираног у МУВ, а које су затим потопљене у 60 ml фосфатног пуфера. Направљене су три идентичне пробе за оба система (са и без липозома). На собној температури, уз стално мешање магнетом, по једна проба за оба система је држана у мраку и служила је као контролна проба, друге две пробе су биле изложене континауналним црвеним зрацима He-Ne ласера (Thorlabs, 2 mW, 632.8 nm), а преостале две пробе су озрачиване ултраљубичастим зрацима (Philips, 15 W, 254 nm), током 4h. Црвени ласер је био усмерен бочно у односу на лабораторијску чашу у којој се у раствору фосфатног пуфера налазила касета за дијализу, док је ултраљубичаста лампа постављена изнад чаше са пробом, пошто стакло представља препреку за ултраљубичасте зраке. Дизајн експеримента је приказан на слици 5. Из проба је одвајан по 1 ml аликвота, у истим временским интервалима, на 30, 60, 120 и 240 минута, у обележену вијалу, а сваки пут одвојена количина у пробама је била замењена са еквивалентном количином фосфатног пуфера. Узорци, Табела 2, су центрифугирани па затим анализирани на двозрачном спектрофотометру у видљивом и ултраљубичастом делу спектра, у опсегу од 200 до 800 nm, (Perkin Elmer Lambda 35).



Слика 5. Скица поставке експеримента. Објашњење скраћеница: C1, C2, C3 – ознаке проба; HeNe - хелијум неонски ласер; БС - делилац снопа (BS010, 50:50 Non-Polarizing Beamsplitter Cube, Thorlabs); Ф1, Ф2 - филтери оптичке густине (continuously variable neutral density filters NDL-10C-4, Thorlabs); M - високорефлективно диелектрично огледало (broadband dielectric mirror BB1-E02, Thorlabs); Л - ултраљубичаста лампа (UV-C, 254 nm, 15 W, Phillips)

Табела 2. Ознаке узорака добијених издвајањем аликвота у тесту отпуштања комплекса

Тип система	НКС			Липозоми + НКС		
Време, min	Мрак	UV	Црвена	Мрак	UV	Црвена
0	М0С	В0С	Ц0С	М0Л	В0Л	Ц0Л
30	М30С	В30С	Ц30С	М30Л	В30Л	Ц30Л
60	М60С	В60С	Ц60С	М60Л	В60Л	Ц60Л
120	М120С	В120С	Ц120С	М120Л	В120Л	Ц120Л
240	М240С	В240С	Ц240С	М240Л	В240Л	Ц240Л

Дефиниција ознака у називима узорака: М-контролни узорци из мрака, В-узорци озрачивани ултраљубичастом светлошћу, Ц-узорци озрачивани црвеном светлошћу, 0,30,60,120,240-ознаке у вези са временским интервалом, Л-узорци инкапсулирани у липозоме

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Како би се повећао улазак НКС у ћелије, читав систем је инкапсулиран у МУВ, чији састав одговара саставу ћелијске мембране. Друга предност инкапсулације НКС у липозоме је присуство фосфатидилхолина, којим се повећава и стабилност система у циркулацији/крвној плазми и смањује се проценат "цурења" лека. [39]

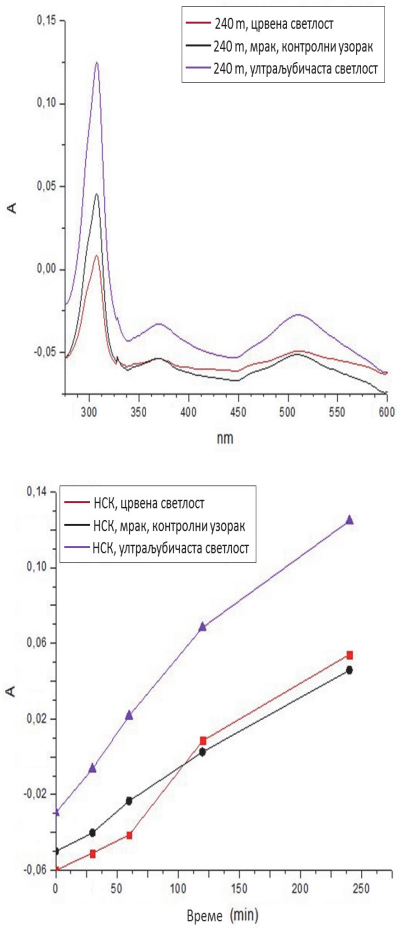
У првом делу експеримента, праћена је брзина отпуштања комплекса с површине наночестица под дејством светлости, а тај експеримент је поновљен и с НКС инкапсулираним у липозоме.

Утицај светлости на отпуштање комплекса с површине честица

НКС је осветљаван црвеном и ултраљубичастом светлошћу, док је количина отпуштеног комплекса $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$ из система праћена снимањем UV-Vis спектара.

Са добијених спектара од којих је један део приказан на Слици 6 (а), очитане су апсорбанце на 310 nm, како је на тој таласној дужини апсорпција комплекса највиша. Добијене апсорбанце су приказане у зависности од временског интервала у којем су узимани аликвоти (Слика 6 (б)). Криве зависности концентрације отпуштеног комплекса су показале раст с временом. У узорцима који су осветљавани ултраљубичастом лампом, забележен је значајно већи раст концентрације у односу на контролну пробу из мрака. С друге стране, тај пораст је знатно мањи у случају деловања црвене светлости.

Посматрањем појединачних спектара може се уочити сличан тренд, за шта су пример спектри након 240 min озрачивања, или стајања у мраку, код којих се примећује да је апсорбанција значајно већа када је узорак озрачен ултраљубичастом лампом, у односу на црвену светлости и одсуство светлости, Слика 6 (а). Из свега наведеног може се закључити да деловање црвене светлости делује супресивно на отпуштање НКС-а током првих 60 min, а да затим озрачивање црвеном светлости нема значајног утицаја, док озрачивање проба ултраљубичастим зрацима значајно убрзава отпуштање комплекса, од самог почетка праћења отпуштања.



Слика 6.(а), горе - Спектри добијени снимањем аликвота из теста отпуштања, сваке пробе НКС-а, након 240 min; (б), доле - Крива зависности апсорбанције од времена, за сваку пробу НКС-а

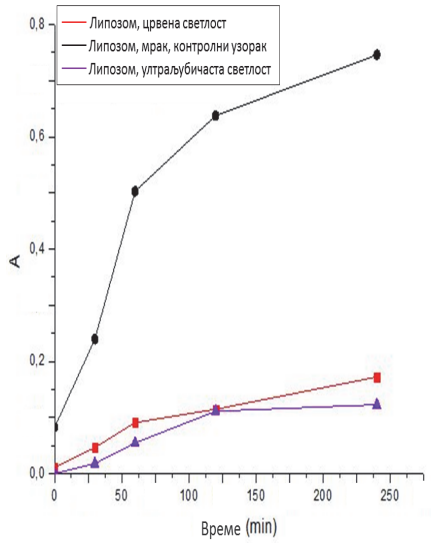
У претходним истраживањима, показали смо да се током 4h из нанокомпозитног система у контролном узорку, отпусти око 50% комплекса $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$, а да је потребно 28h да се отпусти 100%, те није било могуће дефинисати апсорбанцу која представља 100% отпуштеног комплекса и конструисати криву зависности процента отпуштеног комплекса са временом. [33]

Посматрајући криве отпуштања добијене у ранијим истраживањима, може се запазити да се током првих сати ослобађа велика концентрација, и да се то-

ком више сати отпуштање стабилизује. Овај феномен иницијалног брзог раста концентрације комплекса је познат као *Burst* ефекат (Eng, *Burst* – Експлозија), за који је могуће објашњење да одмах након активације НКС у фосфатном пуферу, долази до отпуштања комплекса који је био слабије везан или остао невезан за TiO_2, што се одражава на нагли пораст концентрације ослобођеног комплекса. Криве зависности апсорбанције и времена, које смо добили у експерименту, Слика 6 (б), показују исти тренд брзог отпуштања комплекса, чиме је потврђен утицај светлости на кинетичке параметре отпуштања комплекса с површине колоидних наночестица.

Отпуштање комплекса са НКС инкапсулираног у липозоме

Када је реч о НКС инкапсулираног у мале униламинарне везикуле, очекивали смо да систем буде стабилизован инакпсулацијом у липозом, а брзина отпуштања комплекса спорија него када је цео систем слободан. Такође, имали смо у виду да интеракције између наночестица, активних група из комплекса и фосфолипида могу да доведу до нешто измењених резултата, те да је у случају неслагања добијених резултата са претходном тврдњом, потребно испитати и узети у обзир и саму природу интеракција НКС са фосфолипидима у инкапсулираном систему.



Слика 7. Крива зависности апсорбанције од времена, за сваку пробу НКС-а инкапсулираног у МУВ

Резултати које смо добили на основу очитаних апсорбанци су приказани у зависности од времена, те се на Слици 7 види да је до значајног пораста отпуштања комплекса дошло код узорака који су стајали у мраку, док је примена светлости довела до смањења отпуштања комплекса. Овај резултат је значајно различит од претходно добијених резултата, са НКС који није инкапсулиран у липозоме, те је потребно спровести додатне експерименте како би се утврдио разлог. Могуће је да због присуства липозома светлост није могла да продре до НКС и интереагује са комплексом, чиме би се могло објаснити смањење брзине отпуштања комплекса. С друге стране, интеракција фосфолипида са комплексом у мраку је могла да доведе до повећања брзине отпуштања комплекса са НКС, односно, његове активације, на сличан начин као што је показано са неким платинским комплексима. [40]

ЗАКЉУЧАК

С циљем оптимизације фотодинамичке терапије у којој су примењене антитуморске особине комплекса $[Ru(II)(dcbpy)_2Cl_2]$ и фотокаталитичке особине наночестица TiO_2, истовремено смо испитали слободан нанокомпозитни систем, и НКС инакпсулиран у липозоме у форми малих униламеларних везикула. Резултати које смо добили у случају слободног НКС су у корелацији с претходним истраживањима, међутим, резултати које смо добили код инкапсулираног система сугеришу значајан утицај инкапсулације на динамику отпуштања и активације система у односу на слободан систем. Пре закључка да инкапсулација испитиваног НКС у липозоме дестабилише систем, што није жељена особина код примене носача за контролисану доставу медикамената, неопходно је спровести даља испитивања, како би се утврдио тачан механизам интеракције НКС с фосфолипидима и начин дејства светлости на оба система.

Abstract

NANOCOMPOSITE PHOTODYNAMIC SYSTEM FOR CONTROLLED DELIVERY OF MEDICAMENTS BASED ON TRANSITION METAL COMPLEXES

Milica MATIJEVIĆ, Jadranka MILETIĆ, Marija RADOIČIĆ, Anamarija NIKOLETIĆ, Ana PETROVIĆ, Anja STANIĆ, Bratislav DAČEVIĆ, Maja STOŠIĆG, Marija NEDELJKOVIĆ, Mina MILUTINOVIĆ, Saima KORAĆ, Sonja BOŽOVIĆ, Todor CVETANOVIĆ

This paper gives an overview of the current approaches to therapy of tumors with medicaments and systems for delivery of medicaments based on complexes of transition metals.

In order to optimize the photodynamic therapy in which the antitumor properties of the complex [Ru (II) (dcbpy) 2Cl2] were applied, as a model of the system and the photocatalytic properties of TiO2 nanoparticles, in addition to the revised section.

The results were obtained within the program "Vinčina učionica", mini -project "Photodynamic Therapy", in which we simultaneously tested the free nanocomposite system (NCS), and NCS encapsulated in liposomes in the form of small unilamenal vesicles.

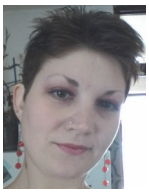
The results obtained in the case of free NCS are in correlation with previous research. However, the results obtained in the encapsulated system suggest a significant impact of encapsulation on the release and activation dynamics of the system relative to the free system.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cohen, S. M.; Lippard, S. J. Cisplatin: From DNA damage to cancer chemotherapy. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **2001**, *67*, 93–130. http://www.mendeley.com/catalog/cisplatin-dna-damage-cancer-chemotherapy-1/

2. Snyder, R. M.; Mirabelli, C. K.; Johnson, R. K.; Sung, C.-M.; Faucette, L. F.; McCabe, F. L.; Zimmerman, J. P.; Whitman, M.; Hempel, J. C.; Crooke, S. T. Modulation of the Antitumor and Biochemical Properties of Bis(diphenylphosphine)ethane with Metals. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 5054–5060. http://www.mendeley.com/research/modulation-antitumor-biochemical-properties-bis-diphenylphosphine-ethane-metals-modulation-antitumor/
3. Mari, C.; Gasser, G. Lightening up Ruthenium Complexes to Fight Cancer. *Chim. Int. J. Chem.* **2015**, *69*, 176–181. http://www.mendeley.com/research/lightening-up-ruthenium-complexes-fight-cancer/
4. Crim, J. A.; Petering, H. G. The Antitumor Activity of Cu(II)KTS, the Copper(II) Chelate of 3-Ethoxy-2-oxobutyraldehyde Bis(thiosemicarbazone). *Cancer Res.* **1967**, *27*, 1278–1285. http://www.mendeley.com/research/antitumor-activity-cuii-kts-copperii-chelate-3ethoxy2oxobutyraldehyde-bisthisemicarbazone/
5. Garoufis, A.; Hadjikakou, S. K.; Hadjiliadis, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 1384–1397. http://www.mendeley.com/catalog/palladium-coordination-compounds-antiviral-antifungal-antimicrobial-antitumor-agents/
6. Frezza, M.; Hindo, S.; Chen, D.; Davenport, A.; Schmitt, S.; Tomco, D.; Ping Dou, Q. Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. *Curr. Pharm. Des.* **2010**, *16*, 1813–1825. http://www.mendeley.com/catalog/novel-metals-metal-complexes-platforms-cancer-therapy/
7. Iyer, A. K.; Khaled, G.; Fang, J.; Maeda, H. Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting. *Drug Discov. Today* **2006**, *11*, 812–818. http://www.mendeley.com/catalog/exploiting-enhanced-permeability-retention-effect-tumor-targeting/
8. Glisic, B. D.; Zivkovic, M. D.; Rajkovic, S.; Djuran, M. Medicinal inorganic chemistry - different aspects of application of the transition metal complexes in medicine. *Hem. Pregl.* **2013**, *2*, 30–35. http://www.mendeley.com/research/medicinal-inorganic-chemistry-different-aspects-application-transition-metal-complexes-medicine-1/
9. Dyson, P. J.; Sava, G. Metal-based antitumour drugs in the post genomic era. *Dalt. Trans.* **2006**, 1929–1933. http://www.mendeley.com/catalog/metalbased-antitumour-drugs-post-genomic-era/
10. Levina, A.; Mitra, A.; Lay, P. A. Recent developments in ruthenium anticancer drugs. *Metallomics* **2009**, *1*, 458–470. http://www.mendeley.com/catalog/recent-developments-ruthenium-anticancer-drugs-1/
11. Bratsos, I.; Jedner, S.; Gianferrara, T.; Alessio, E. Ruthenium Anticancer Compounds: Challenges and Expectations. *Chim. Int. J. Chem. 61*, 692–697. http://www.mendeley.com/catalog/ruthenium-anticancer-compounds-challenges-expectations/
12. Groessl, M.; Reisner, E.; Hartinger, C. G.; Eichinger, R.; Semenova, O.; Timerbaev, A. R.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. Structure–Activity Relationships for NAMI-A-type Complexes (HL)[trans-RuCl4L(S-dmso)ruthenate(III)] (L = Imidazole, Indazole, 1,2,4-Triazole, 4-Amino-1,2,4-triazole, and 1-Methyl-1,2,4-triazole): Aquation, Redox Properties, Protein Binding, and Antiproli. *J. Med. Chem. 50*, 2185–2193. http://www.mendeley.com/research/structureactivity-relationships-namiatype-complexes-hltransrucl4lsdmsoruthenateiii-l-imidazole-indaz/
13. Syu, W. J.; Yu, H. P.; Hsu, C. Y.; Rajan, Y. C.; Hsu, Y. H.; Chang, Y. C.; Hsieh, W. Y.; Wang, C. H.; Lai, P. S. Improved photodynamic cancer treatment by folate-conjugated polymeric micelles in a KB xenografted animal model. *Small* **2012**, *8*, 2060–2069. http://www.mendeley.com/research/improved-photodynamic-cancer-treatment-folateconjugated-polymeric-micelles-kb-xenografted-animal-mod/
14. Torchilin, V. P.; Lukyanov, A. N.; Gao, Z.; Papahadjopoulos-Sternberg, B.; Klibanov, A. M. Immunomicelles: Targeted pharmaceutical carriers for poorly soluble drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 6039–6044. http://www.mendeley.com/catalog/immunomicelles-targeted-pharmaceutical-carriers-poorly-soluble-drugs/
15. Needham, D.; Anyarambhatla, G.; Kong, G.; Dewhirst, M. W. A New Temperature-sensitive Liposome for Use with Mild Hyperthermia: Characterization and Testing in a Human Tumor Xenograft Model. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 1997–1201. http://www.mendeley.com/research/new-temperaturesensitive-liposome-mild-hyperthermia-characterization-testing-human-tumor-xenograft-m-4/
16. Blunden, B. M.; Stenzel, M. H. Incorporating ruthenium into advanced drug delivery carriers-an innovative generation of chemotherapeutics. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2015**, *90*, 1177–1195. http://www.mendeley.com/catalog/incorporating-ruthenium-advanced-drug-delivery-carriers-innovative-generation-chemotherapeutics/
17. Cho, K.; Wang, X.; Nie, S.; Chen, Z. (Georgia); Shin, D. M. Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 1310–1316. http://www.mendeley.com/catalog/therapeutic-nanoparticles-drug-delivery-cancer-30/
18. Veronese, F. M.; Pasut, G. PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discov. Today* **2005**, *10*, 1451–1458. http://www.mendeley.com/catalog/pegylation-successful-approach-drug-delivery-1/
19. Nishiyama, N.; Kato, Y.; Sugiyama, Y.; Kataoka, K. Cisplatin-Loaded Polymer-Metal Complex Micelle with Time-Modulated Decaying Property as a Novel Drug Delivery System. *Pharm. Res.* **2001**, *18*, 1035–1041. http://www.mendeley.com/catalog/cisplatinloaded-polymermetal-complex-micelle-timemodulated-decaying-property-novel-drug-delivery-sys/
20. Hamidi, M.; Azadi, A.; Rafiei, P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1638–1649. http://www.mendeley.com/catalog/hydrogel-nanoparticles-drug-delivery-1/
21. Feazell, R. P.; Nakayama-Ratchford, N.; Dai, H.; Stephen J. Lippard Soluble Single-Walled Carbon Nanotubes as Longboat Delivery Systems for Platinum(IV) Anticancer Drug Design. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8438–8439. http://www.mendeley.com/catalog/soluble-singlewalled-carbon-nanotubes-longboat-delivery-systems-platinumiv-anticancer-drug-design/
22. Brown, S. D.; Nativo, P.; Smith, J.-A.; Stirling, D.; Edwards, P. R.; Venugopal, B.; Flint, D. J.; Plumb, J. A.; Graham, D.; Wheate, N. J. Gold Nanoparticles for the Improved Anticancer Drug Delivery of the Active Component of Oxaliplatin. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4678–4684. http://www.mendeley.com/catalog/gold-nanoparticles-improved-anticancer-drug-delivery-active-component-oxaliplatin-9/
23. Na, K.; Eun, S. L.; You, H. B. Self-Organized Nanogels Responding to Tumor Extracellular pH: pH-Dependent Drug Release and in Vitro Cytotoxicity against MCF-7 Cells. *Bioconjugate Chem* **2007**, *18*, 1568–1574. http://www.mendeley.com/research/selforganized-nanogels-responding-tumor-extracellular-ph-phdependent-drug-release-vitro-cytotoxicity/

24. Wang, Y.; Song, S.; Liu, J.; Liu, D.; Zhang, H. ZnO-functionalized upconverting nanotheranostic agent: Multi-modality imaging-guided chemotherapy with on-demand drug release triggered by pH. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2015**, *54*, 536–540. http://www.mendeley.com/research/znofunctionalized-upconverting-nanotheranostic-agent-multimodality-imagingguided-chemotherapy-ondema/
25. Chertok, B.; Moffat, B. A.; David, A. E.; Yu, F.; Bergemann, C.; Ross, B. D.; Yang, V. C. Iron oxide nanoparticles as a drug delivery vehicle for MRI monitored magnetic targeting of brain tumors. *Biomaterials* **2008**, *29*, 487–496. http://www.mendeley.com/catalog/iron-oxide-nanoparticles-drug-delivery-vehicle-mri-monitored-magnetic-targeting-brain-tumors-14/
26. Rasmussen, J. W.; Martinez, E.; Louka, P.; Wingett, D. G. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2010**, *7*, 1063–1077. http://www.mendeley.com/catalog/zinc-oxide-nanoparticles-selective-destruction-tumor-cells-potential-drug-delivery-applications/
27. Slowing, I.; Viveroescoto, J.; Wu, C.; Lin, V. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1278–1288. http://www.mendeley.com/catalog/mesoporous-silica-nanoparticles-controlled-release-drug-delivery-gene-transfection-carriers-21/
28. Zhang, H.; Wang, C.; Chen, B.; Wang, X. Daunorubicin-TiO 2 nanocomposites as a "smart" pH-responsive drug delivery system. *Int. J. Nanomedicine* **2012**, *7*, 235–242. http://www.mendeley.com/research/daunorubicintio-2-nanocomposites-smart-phresponsive-drug-delivery-system/
29. Zhang, A.-P.; Sun, Y.-P. Photocatalytic killing effect of TiO2 nanoparticles on Ls-174-t human colon carcinoma cells. *World J Gastroenterol World J. Gastroenterol. J Gastroenterol* **2004**, *10*, 3191–3193. http://www.mendeley.com/research/photocatalytic-killing-effect-tio2-nanoparticles-ls174t-human-colon-carcinoma-cells-1/
30. Xu, M.; Huang, N.; Xiao, Z.; Lu, Z. Photoexcited TiO2 nanoparticles through •OH-radicals induced malignant cells to necrosis. *Supramol. Sci.* **1998**, *5*, 449–451. http://www.mendeley.com/research/photoexcited-tio2-nanoparticles-through-oh-radicals-induced-malignant-cells-necrosis/
31. Josefsen, L. B.; Boyle, R. W. Photodynamic therapy and the development of metal-based photosensitisers. *Met. Based. Drugs* **2008**, *2008*, 24. http://www.mendeley.com/catalog/photodynamic-therapy-development-metalbased-photosensitisers/
32. Teng, I.-T.; Chang, Y.-J.; Wang, L.-S.; Lu, H.-Y.; Wu, L.-C.; Yang, C.-M.; Chiu, C.-C.; Yang, C.-H.; Hsu, S.-L.; Ho, J. A. Phospholipid-functionalized mesoporous silica nanocarriers for selective photodynamic therapy of cancer. *Biomaterials* **2013**, *34*, 7462–7470. http://www.mendeley.com/research/phospholipidfunctionalized-mesoporous-silica-nanocarriers-forselective-photodynamic-therapy-cancer/
33. Nešić, M.; Popović, I.; Leskovac, A.; Šaponjić, Z.; Radoičić, M.; Stepić, M.; Petković, M. Testing the photo-sensitive nanocomposite system for potential controlled metallo-drug delivery. *Opt. Quantum Electron.* **2016**, *48*, 119–126. http://www.mendeley.com/research/testing-photosensitive-nanocomposite-system-potential-controlled-metallodrug-delivery/
34. Nišavić, M.; Masnikosa, R.; Butorac, A.; Perica, K.; Rilak, A.; Korićanac, L.; Hozić, A.; Petković, M.; Cindrić, M. Elucidation of the binding sites of two novel Ru(II) complexes on bovine serum albumin. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *159*, 89–95. http://www.mendeley.com/catalog/elucidation-binding-sites-two-novel-ruii-complexes-bovine-serum-albumin/
35. Rajh, T.; Ostafin, A. E.; Micic, O. I.; Tiede, D. M.; Thurnauer, M. C. Surface Modification of Small Particle TiO2 Colloids with Cysteine for Enhanced Photochemical Reduction: An EPR Study . *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 4538–4545. http://www.mendeley.com/research/surface-modification-small-particle-tio2-colloids-cysteine-enhanced-photochemical-reduction-epr-stud/
36. Dimitrijevic, N. M.; Saponjic, Z. V.; Bartels, D. M.; Thurnauer, M. C.; Tiede, D. M.; Rajh, T. Revealing the nature of trapping sites in nanocrystalline titanium dioxide by selective surface modification. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 7368–7375. http://www.mendeley.com/catalog/revealing-nature-trapping-sites-nanocrystalline-titanium-dioxide-selective-surface-modification/
37. Nazeeruddin, M. K.; Zakeeruddin, S. M.; R., H.-B.; Jirousek, M.; Liska, P.; Vlachopoulos, N.; Shklover, V.; Fischer, C.-H.; Gratzel, M. {Acid-Base} Equilibria of {(2,2'-Bipyridyl-4,4'-dicarboxylic} {acid)ruthenium(II)} Complexes and the Effect of Protonation on {Charge-Transfer} Sensitization of Nanocrystalline Titania. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 6298–6305. http://www.mendeley.com/catalog/acidbase-equilibria-22bipyridyl44dicarboxylic-acidrutheniumii-complexes-effect-protonation-chargetra/
38. Alonso, A.; Sáez, R.; Villena, A.; Goñi, F. M. Increase in size of sonicated phospholipid vesicles in the presence of detergents. *J. Membr. Biol.* **1982**, *67*, 55–62. http://www.mendeley.com/research/increase-size-sonicated-phospholipid-vesicles-presence-detergents/
39. Gabizon, A.; And, T.; Papahadjopoulos, D. Liposome formulations with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumors (phospholipid vesicles/drug delivery systems/cancer therapy/glycolipids). *Med. Sci.* **1988**, *85*, 6949–6953. http://www.mendeley.com/catalog/liposome-formulations-prolonged-circulation-time-blood-enhanced-uptake-tumors/
40. Kamčeva, T.; Flemmig, J.; Damnjanović, B.; Arnhold, J.; Mijatović, A.; Petković, M.; Burke, B.; Zhai, Q. J.; Wang, J.; Oleksowicz, L.; Lu, S. Inhibitory effect of platinum and ruthenium bipyridyl complexes on porcine pancreatic phospholipase A2. *Metallomics* **2011**, *3*, 1056–1063. http://www.mendeley.com/research/inhibitory-effect-platinum-ruthenium-bipyridyl-complexes-porcine-pancreatic-phospholipase-a2/



Наташа ЈЕЛАЧИЋ, Студент студијског програма Настава хемије, Универзитет у Београду - Хемијски факултет, natalija881987@yahoo.com

СЦЕНАРИО ЧАСА: УТВРЂИВАЊЕ ГРАДИВА О ВАЛЕНЦИ, ЈЕДНАЧИНАМА ХЕМИЈСКИХ РЕАКЦИЈА И ХЕМИЈСКИМ РЕАКЦИЈАМА АНАЛИЗЕ И СИНТЕЗЕ СА УЧЕНИЦИМА СЕДМОГ РАЗРЕДА ОСНОВНЕ ШКОЛЕ

У тексту је приказан сценарио часа утврђивања градива о валенци, једначинама хемијских реакција и хемијским реакцијама анализе и синтезе, изведен у седмом разреду основне школе.

Тема часа: Валенца, једначине хемијских реакција, хемијске реакције анализе и синтезе

Тип часа: утврђивање градива

Циљеви часа:

1. Ученици разликују физичке и хемијске промене супстанци.
2. Ученици одређују валенце елемената у хемијским формулама датих једињења.
3. Ученици састављају хемијске формуле једињења на основу валенци елемената који их граде и одређују називе ових једињења.
4. Ученици састављају једначине хемијских реакција и идентификују реакције анализе и синтезе.

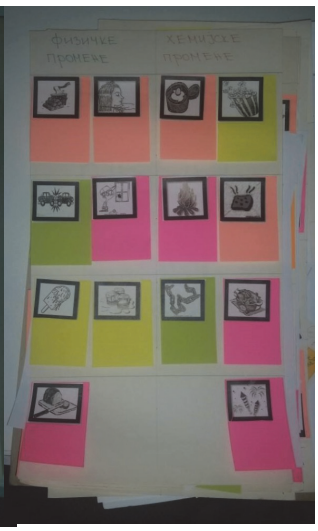
Материјал потребан за час: табла, маркери, папири са табелом физичких и хемијских промена, самолепљиве сличице за попуњавање табеле физичких и хемијских промена, сличице физичких и хемијских промена за поделу ученика на групе, две коцке, картице са хемијским формулама, радни листови, папири са упутствима за рад.

ТОК ЧАСА

Корак 1: *Ученици, кроз рад у пару, обнављају знања о физичким и хемијским променама супстанци.*

На свакој клупи се налазе табела и самолепљиве сличице физичких и хемијских промена (Слика 1 и Слика 1а). Ученици имају задатак да, у пару, за сваку од сличица утврде да ли је на њој приказана физичка или хемијска промена, а затим је залепе у одговарајући део табеле. За рад им је на располагању пет минута, након чега представник сваког пара извештава о начину на који су сличице распоређене.

Слика 1. Табела физичких и хемијских промена



Слика 1а. Правилно попуњена табела

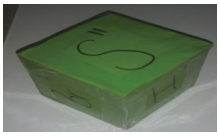
Корак 2: *Ученици, кроз групни рад, одређују валенце елемената у хемијским формулама датих једињења, састављају хемијске формуле једињења на основу валенци елемената који их граде, одређују називе ових једињења, састављају једначине хемијских реакција и идентификују реакције анализе и синтезе.*

Ученици се деле у пет група, тако што извлаче сличице са цртежима физичких и хемијских промена супстанци (Слика 2). Они који извуку сличицу са истим цртежом, припадају истој групи.

Слика 2. Сличице физичких и хемијских промена за формирање група

На столу сваке групе налази се упутство за рад и две коцке (плава и зелена). На плавој коцки (Слика 3а) написани су хемијски симболи атома метала и њихове валенце (**Mg^{II}**, **Fe^{II}**, **Ca^{II}**, **Fe^{III}**, **Zn^{II}** и **Al^{III}**), а на зеленој коцки (Слика 3б) хемијски симболи атома неметала и њихове валенце (**O^{II}**, **Cl^{I}**, **S^{II}**, **H^{I}**, **Br^{I}** и **I^{I}**). Ученици из сваке групе имају задатак да баце обе коцке и ако, на пример, бацањем добију **Mg^{II}** на плавој коцки и **S^{II}** на зеленој коцки, напишу хемијску формулу једињења које дати метал и неметал граде, као и назив тог једињења. Групама је за рад на располагању пет минута, након чега представник сваке од њих записује на табли хемијску формулу и назив једињења до којих је група дошла.

Слика 3а. Плава коцка



Слика 3б. Зелена коцка

Након тога, наставник свакој групи даје картицу на којој су написане хемијске формуле следећих једињења:

$FeCl_2$, NO, N_2O_5, $CaCl_2$, MgO, Al_2S_3

PCl_5, CaO, N_2O_5, $FeCl_3$, CaS, AlH_3

Групе имају задатак да одреде валенце елемената који улазе у састав ових једињења, као и назив сваког једињења. За рад им је на располагању пет минута, а затим по један ученик (који до тада није излазио пред таблу) извештава о решењима до којих је група дошла.

Свака група, затим, добија Радни лист 1 са следећим задатком:

1. Одреди које од наведених, речима описаних, хемијских реакција представљају реакције анализе, а које реакције синтезе, а затим напиши једначине ових хемијских реакција:

Опис хемијске реакције	**Реакција анализе / синтезе**	**Једначина хемијске реакције**
азот + водоник → амонијак		
вода → водоник + кисеоник		
жива(II)-оксид → жива + кисеоник		
натријум + хлор → натријум-хлорид		
бакар + хлор → бакар(I)-хлорид		
угљеник + кисеоник → угљеник(IV)-оксид		
амонијак → азот + водоник		
угљена киселина (H_2CO_3) → угљеник(IV)-оксид + вода		

За решавање задатка групе на располагању имају пет минута, након чега представник сваке од њих извештава остале ученике и наставника о решењима до којих је група дошла.

Корак 3: *Ученици индивидуално састављају једначине хемијских реакција и идентификују реакције анализе и синтезе. Такође, индивидуално одређују валенце елемената у хемијским формулама датих једињења и састављају хемијске формуле једињења на основу валенце елемената који их граде.*

По завршетку групног рада, ученици индивидуално решавају задатке из Радног листа 2:

1. Одреди коефицијенте у следећим једначинама хемијских реакција, а затим за сваку од њих наведи да ли представља реакцију анализе или синтезе:

Једначина хемијске реакције	**Реакција анализе / синтезе**
$Na + Br_2 \rightarrow NaBr$	
$CO + O_2 \rightarrow CO_2$	
$P_2O_5 + H_2O \rightarrow H_3PO_4$	
$H_2O \rightarrow H_2 + O_2$	
$HgO \rightarrow Hg + O_2$	
$H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$	
$Fe + S \rightarrow FeS$	
$CaCO_3 \rightarrow CaO + CO_2$	

2. Састави једначине хемијских реакција описаних речима:

а) угљеник(II)-оксид + кисеоник → угљеник(IV)-оксид

б) алуминијум + кисеоник → алуминијум(III)-оксид

в) сумпор(IV)-оксид + кисеоник → сумпор(VI)-оксид

3. Одреди валенце свих елемената који улазе у састав једињења чије су структурне хемијске формуле приказане:

4. Састави хемијске формуле једињења описаних речима:

а) једињење гвожђа и кисеоника у коме је валенца гвожђа III

б) једињење сумпора и натријума у коме је валенца сумпора II

в) једињење азота и кисеоника у коме је валенца азота V

г) једињење фосфора и кисеоника у коме је валенца фосфора V

Задатке које не стигну да заврше на часу, ученици решавају за домаћи задатак.

Abstract

SCENARIO FOR THE CLASS DEVOTED TO FORTIFICATION OF KNOWLEDGE CONCERNING VALENCE, CHEMICAL EQUATIONS AND CHEMICAL REACTIONS OF ANALYSIS AND SYNTHESIS WITH SEVENTH GRADE PRIMARY SCHOOL STUDENTS

Nataša JELAČIĆ, *student of the study programme Chemical Education, University of Belgrade - Faculty of Chemistry*

In the paper the scenario for the class devoted to fortification of knowledge concerning valence, chemical equations and chemical reactions of analysis and synthesis with the seventh grade primary school students is presented.