



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Докторска дисертација

**СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИСАЊЕ И ПОТЕНЦИЈАЛНА
АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА
НЕКИХ ПРЕЛАЗНИХ МЕТАЛА СА ЛИГАНДИМА
ЕДДА-ТИПА**

Мр Драгослав Р. Илић

Крагујевац, 2014.

1. Аутор

Име и презиме: Мр Драгослав Р. Илић

Датум и место рођења: 20. 07. 1961. Миоковићи, Лепосавић

Садашње запослење: Висока медицинска школа, Ђуприја

2. Докторска дисертација

Наслов: **СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИСАЊЕ И ПОТЕНЦИЈАЛНА АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА НЕКИХ ПРЕЛАЗНИХ МЕТАЛА СА ЛИГАНДИМА ЕДДА-ТИПА**

Број страница: 103 + 6

Број библиографских јединица: 115

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

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

Ментор: Проф. Др Срећко Р. Трифуновић

3. Оцена и одбрана

Датум пријаве тезе:

Комисија за оцену теме и подобности кандидата:

1. Др Срећко Трифуновић, ред. проф. Природно-математички факултет Крагујевац, Неорганска хемија
2. Др Тибор Сабо, ред. проф. Хемијски факултет Београд, Неорганска хемија
3. Др Миорад М. Васојевић, доцент, Природно-математички факултет Крагујевац, Настава хемије

Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:

Комисија за преглед, оцену и одбрану дисертације:

1. Др Срећко Трифуновић, ред. проф. Природно-математички факултет Крагујевац, Неорганска хемија
2. Др Тибор Сабо, ред. проф. Хемијски факултет Београд, Неорганска хемија
3. Др Миорад М. Васојевић, доцент, Природно-математички факултет Крагујевац, Настава хемије
4. Др Љиљана Чомић, ред. проф. Природно-математички факултет Крагујевац, Микробиологија
5. Др Зоран Матовић, ред. проф. Природно-математички факултет Крагујевац, Неорганска хемија

Датум одбране дисертације:

Садржај

ИЗВОД	1
SUMMARY	3
УВОД -----	5
1. ОПШТИ ДЕО	7
1.1. СТРУКТУРА ОКТАЕДАРСКИХ М(III)-КОМПЛЕКСА КОЈИ САДРЖЕ КВАДРИЕНТАТНЕ ЛИГАНДЕ EDDA-ТИПА.....	7
1.1.1. СТЕРЕОХЕМИЈА КОМПЛЕКСА.....	7
1.1.1.1. ГЕОМЕТРИЈСКА ИЗОМЕРИЈА.....	8
1.1.2. НУКЛЕАРНО-МАГНЕТНО-РЕЗОНАНЦИОНИ (NMR) СПЕКТРИ.....	13
1.1.3. ИНФРА-ЦРВЕНИ (IR) СПЕКТРИ.....	18
1.1.4. ЕЛЕКТРОНСКИ АПСОРПЦИОНИ СПЕКТРИ.....	19
1.1.5. ОПТИЧКА АКТИВНОСТ И АПСОЛУТНЕ КОНФИГУРАЦИЈЕ КОМПЛЕКСА.....	26
1.2. ЗАДАТАК ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ	37
2. Е К С П Е Р И М Е Н Т А Л Н И Д Е О	38
2.1. Синтезе лиганда и комплекса паладијум(II) јона.....	38
2.1.1. Синтеза (S,S)-етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-2-(4-метил)-пентанске киселине, H ₂ eddl.....	38
2.1.2. Синтезе диалкил естара (S,S)-етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-2-(4- метил)-пентанске киселине (S,S)-R ₂ eddl (L1-L4).....	39
2.1.3. Синтеза комплекса паладијума(II) са диалкил естрима (S,S)- етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-2-(4-метил)-пентанске киселине 1-4.....	40
2.1.4. <i>In vitro</i> антимикуробни тест паладијум(II)-комплекса.....	42
2.1.4.1. <i>Тестиране супстанце</i>	42
2.1.4.2. <i>Тестирани микроорганизми</i>	42
2.1.4.3. <i>Припрема суспензија</i>	43
2.1.4.4. <i>Микродилуциона метода</i>	43
2.1.4.5. <i>Статистичка анализа</i>	44
2.1.5. Синтеза 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4- диона.....	44

2.1.6. Синтеза хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса	45
2.1.7. Кристална структура хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)-етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса	46
2.1.8. Испитивање антитуморске активности паладијум(II) комплекса	48
2.1.8.1. Ћелије и реагенси.....	48
2.1.8.2. Одређивање виталности ћелија.....	48
2.1.8.3. ДНК Фрагментација и анализа апоптоза/некрозе	49
2.1.8.4. Активација каспаса	49
2.1.8.5. Мерење митохондријског ћелијског потенцијала	49
2.1.8.6. Одређивање реактивних врста кисеоника (ROS)(Reactive oxygen species).....	50
2.1.8.7. Статистичка анализа	50
2.2. Синтезе лиганата и комплекса хром(III)-јона	50
2.2.1. Синтеза (S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-метил)-бутанске киселине дихлорхидрата, H ₂ -(S,S)-eddv·2HCl	50
2.2.2. Синтеза s-cis-оксалато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромат(III)-дихидрата, s-cis-K[Cr(S,S-eddv)(ox)]·2H ₂ O	51
2.2.3. Синтеза s-cis-малонато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромат(III)-дихидрата, s-cis-K[Cr(S,S-eddv)(mal)]·2H ₂ O	51
2.2.4. In vitro антимикробни тест хром(III)-комплекса.....	52
2.3. Синтезе лиганата и комплекса кобалт(III)-јона	53
2.3.1. Синтеза (S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-пропанске киселине, H ₂ -(S,S)-eddp (S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-пропанска киселина, (H ₂ -S,S-eddp) је синтетисана према већ раније описаном поступку [2].....	53
2.3.2. Синтеза (S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-метил)-бутанске киселине дихлорхидрата, H ₂ -(S,S)-eddv·2HCl	53
2.3.3. Синтеза s-cis-оксалато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-семихидрата, s-cis-K[Co(S,S-eddp)(ox)]·0,5H ₂ O.....	53
2.3.4. Синтеза s-cis-малонато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-тетрахидрата, s-cis-K[Co(S,S-eddp)(mal)]·4H ₂ O.....	54
2.3.5. Синтеза s-cis-оксалато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-метил)-бутаноато-кобалтат(III)-трихидрата, s-cis-K[Co(S,S-eddv)(ox)]·3H ₂ O.....	55
2.3.6. Синтеза s-cis-малонато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромат(III)-тетрахидрата, s-cis-K[Co(S,S-eddv)(mal)]·4H ₂ O.....	55
2.3.7. Кристална структура s-cis-оксалато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-семихидрата, s-cis-K[Co(S,S-eddp)(ox)]·0,5H ₂ O.....	56
2.3.8. In vitro антимикробни тест кобалт(III)-комплекса.....	57
2.4. Мерења.....	58
2.4.1. ¹ H и ¹³ C нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри.....	58
2.4.2. Електронски апсорпциони и циркуларно дихроични спектри	58
2.4.3. Инфрацрвена спектроскопија.....	58
2.4.4. Микроанализа	58

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	59
3.1. Синтеза и карактеризација и антимикуробна активност диалкил естара (S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(4-метил)-пентанске, киселине (S,S)-R₂eddl (L1-L4) и одговарајућих комплекса паладијум(II)-јона 1-4.....	59
3.1.1 Инфрацрвени спектри.....	59
3.1.2. Електронски апсорпциони спектри комплекса	60
3.1.3. <i>In vitro</i> испитивање антимикуробне активности	61
3.2. Синтеза, карактеризација и антитуморска активност 3-(1-(2-хидроксиетил-амино)етилиден)хроман-2,4-диона и одговарајућег комплекса паладијума(II).....	65
3.2.1. Синтеза 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-диона и одговарајућег комплекса паладијума(II)	65
3.2.2. Карактеризација хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса.....	65
3.2.3. Кристална структура хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)-етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса.....	66
3.2.3. <i>In vitro</i> цитотоксичност комплекса паладијума(II) према неким ћелијским линијама рака.....	68
3.3. Синтеза, карактеризација и антимикуробна активност лиганада и комплекса хром(III)-јона	73
3.3.1. Инфра-црвени спектри	73
3.3.2. Електронски апсорпциони, циркуларно-дихроични (CD) спектри и апсолутне конфигурације	75
3.3.2. <i>In vitro</i> испитивање антимикуробне активности.....	78
3.4. Синтеза, карактеризација и антимикуробна активност лиганада и комплекса кобалт(III)-јона.....	81
3.4.1. Инфра-црвени спектри	82
3.4.2. Електронски апсорпциони, циркуларно-дихроични (CD) спектри и апсолутне конфигурације комплекса	83
3.4.3. Кристална структура <i>s-cis</i> -оксалато-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-семихидрата, <i>s-cis</i> -K[Co(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0,5H ₂ O	86
3.4.4. <i>In vitro</i> испитивање антимикуробне активности	91
4. ЗАКЉУЧАК.....	93
5. ЛИТЕРАТУРА.....	95
СПИСАК РАДОВА ПРОИСТЕКЛИХ ИЗ РЕЗУЛТАТА ОВЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ.....	100
НАУЧНО-ИСТРАЖИВАЧКИ РАД.....	101
БИОГРАФИЈА	102
ПРИЛОГ.....	103

Ова докторска дисертација рађена је у Институту за хемијске науке Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу.

Тему дисертације предложио је и директно руководио израдом рада проф. Др Срећко Р. Трифуновић, на чаму му изражавам посебну захвалност.

Захваљујем се и члановима комисије проф. др Тибору Сабоу и доценту др Миораду М. Васојевићу на корисним саветима током писања ове тезе.

Посебну захвалност дугујем колегама из лабораторије на великој помоћи приликом израде експерименталног дела ове дисертације.

На крају, захваљујем се својој породици на стрпљењу и безграничној подршци.

ИЗВОД

СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИСАЊЕ И ПОТЕНЦИЈАЛНА АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА НЕКИХ ПРЕЛАЗНИХ МЕТАЛА СА ЛИГАНДИМА ЕДДА-ТИПА

У првом делу ове Докторске дисертације описана је синтеза и карактеризација паладијум(II)-комплекса опште формуле $[PdCl_2(R_2-S,S-eddl)]$ на бази инфрацрвене и електронске апсорпционе спектроскопије. Извршено је *in vitro* тестирање антимикробне активности синтетисаних лиганда и одговарајућих комплекса против 15 врста бактерија и гљивица.

Такође, синтетисан је и нови комплекс паладијум(II)-јона са дериватом кумарина 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дионом који је карактерисан на бази микроанализе, инфрацрвене и нуклеарне магнетне спектроскопије. Предложена структура комплекса је потврђена на основу резултата рентгенске структурне анализе. Синтетисани комплекс је тестиран *in vitro* на ћелијама рака, J929 фибросарком миша, U251 људски глиом и B16 меланом миша

У другом делу ове Докторске дисертације описана је синтеза комплекса хром(III)-јона и кобалт(III)-јона. Прво је описана синтеза *s-cis*- $[Cr(S,S-eddv)L]$ -комплекса ($S,S-eddv = (S,S)$ -етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-метил)бутаноато јон; L = оксалато или малонато јон). Комплекси су пречишћени јоноизмењивачком хроматографијом. Геометрија комплекса је претпостављена на основу инфрацрвених и електронских апсорпционих спектра, а апсолутне конфигурације изолованих комплекса су претпостављене на основу њихових циркуларно-дихроичних спектра. Такође, испитивана је антимикробна активност синтетисаних комплекса против 28 врста микроорганизама.

Синтетисани су и октаедарски комплекси кобалта(III) са (S,S) -етилендиамин- N,N' -ди-2-пропионском киселином ($S,S-eddp$) и (S,S) -етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-метил)бутерном киселином ($S,S-eddv$) који садрже и окалато и малонато лиганде, као додатне бидентатне лиганде. Комплекси су пречишћени јоноизмењивачком хроматографијом. Геометрија комплекса је претпостављена на основу инфрацрвених и електронских апсорпционих спектра, а апсолутне конфигурације изолованих

комплекса су претпостављене на бази њихових циркуларно-дихроичних спектра које су потврђене резултатима рентгенске структурне анализе у случају *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(ох)]·0,5H₂O. Такође, испитивана је антимикробна активност синтетисаних комплекса на 13 врста микроорганизама (пет сојева патогених бактерија, пет врста патогених гљива и три врсте пробиотика).

SUMMARY

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND POTENTIAL ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE COMPLEXES OF SOME TRANSITION METAL COMPLEXES WITH EDDA-TYPE LIGANDS

In the first part of the Doctoral thesis the synthesis and characterization of a palladium(II) complexes of general formula $[\text{PdCl}_2 (\text{R}_2\text{-S,S-eddl})]$ on the basis of infrared absorption spectroscopy is described. *In vitro* testing of the antimicrobial activity of the synthesized ligands and the corresponding complexes against 15 species of bacteria and fungi is carried out.

Also, a new palladium(II) complex with a coumarine derivative, 3-(1-(2-hydroxyethylamino)ethylidene)chroman-2,4-dione is synthesized and characterized on the basis of microanalysis, the infrared and nuclear magnetic spectroscopy. The proposed structure of the complex was confirmed from the results of X-ray structural analysis. Prepared complex was tested *in vitro* on cancer cells, L929 mouse fibrosarcoma, human U251 glioma, and mouse melanoma B16.

In the second part of this PhD thesis, the synthesis of chromium(III) and cobalt(III)-complexes is described. Firstly, the synthesis of *s-cis*- $[\text{Cr}(\text{S,S-eddv})\text{L}]^-$ -complexes (*S,S*-eddv = (*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-methyl)butanoate ion, L = oxalato or malonato ion) is described. The complexes are purified by ion exchange chromatography. The geometry of the complex is proposed on the basis of infrared and electronic absorption spectra, and the absolute configuration of the complexes are predicted based on their circular-dichroism spectra. Also, the antimicrobial activity of the synthesized complexes against 28 species of microorganisms was investigated.

The octahedral cobalt(III) complexes with (*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-propionic (*S,S*-eddp) and (*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-methyl)butanoic (*S,S*-eddv) acids and oxalato and malonato ligands, as additional bidentate ligands, were prepared and characterized. The complexes were purified by ion-exchange chromatography. The geometry of the complexes has been supposed on the basis of the infrared, electronic absorption and

NMR spectra. The absolute configurations of the isolated complexes have been predicted on the basis of their circular dichroism (CD) spectra. Antimicrobial activity of ligand and cobalt(III)-complexes was evaluated in relation to 13 species of microorganisms (five strains of pathogenic bacteria, five species pathogenic fungi and three species of probiotic).

У В О Д

Комплекси прелазних метала са тетрадентатним лигандима едда-типа (едда = анјон етилендиамин- N,N' -дисирћетне киселине) и њихових деривата предмет су изучавања многих истраживача већ дуги низ година, пре свега ради изучавања спектралних особина награђених комплекса. Најзначајнији радови у овој области координационе хемије посвећени су изучавању фактора који утичу на оптичке карактеристике хиралних комплекса са овим типом лиганада. Многобројни научни радови посвећени овом типу комплексних једињења сумарно су приказани у неколико прегледних радова, што само по себи говори о интересу истраживача за ово научно поље.

Шездесетих година прошлог века испитивина је и медицинска примена лиганада овог типа у циљу елиминације јона тешких метала приликом оралног тровања једињењима наведених метала. Иако се ови лиганди, пре свега сам едда као и едта (едта = анјон етилендиамин-тетрасирћетне киселине) чији је едда лиганд фрагмент, примењују у медицини у наведену сврху ипак имају ограничену примену с обзиром да обављају неселективну елиминацију јона метала. Поред елиминације јона метала из организма који су изазвали тровање, излучују се и јони метала који су неопходни за нормално функционисање организма.

Појачан интерес за комплексе прелазних метала са лигандима овог типа и њиховим дериватима јавио се у прошлој деценији када је утврђено да ова једињења имају хидролитичко дејство на молекуле нуклеинских киселина и већу антитуморску активност, а мање нежељене ефекте, односно токсичност на поједине органе, у односу на цисплатину која се примењује у медицини као цитостатик, као и значајну антимикуробну активност.

Значај резултата ове Дисертације огледаће се у резултатима који треба да допринесу бољем разумевању хемије неких прелазних метала са лигандима наведеног типа а посебно треба да буду актуелни резултати испитивања антибактеријске и антифугалне активности синтетисаних комплекса и лиганада. Сами резултати могу указати и на евентуалну примену ових комплекса као антимикуробних реагенаса.

Досадашња истраживања комплекса пралазних метала са лигандима у већини случајева имају већу антитуморску активност, а мање нежељене ефекте, односно токсичност на поједине органе, у односу на цисплатину која се примењује у медицини као цитостатик, као и значајну антимикуробну активност. Резултати ове Дисертације ће бити део и само логичан наставак започетих истраживања у овој области.

Лиганди и комплекси који су предвиђени у задацима ове Дисертације биће синтетисани употребом различитих синтетичких метода. Њихова структура биће претпостављена на бази различитих спектроскопских метода (инфрацрвена, нуклеарна магнетна резонанца, УВ-ВИС), а у случају погодних кристала биће потврђена и дифракцијом X-зрака. Састав комплекса и лиганада биће одређен елементалном микроанализом.

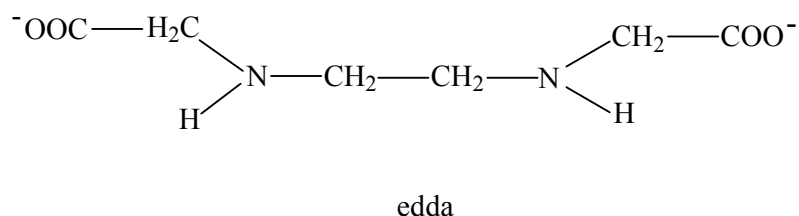
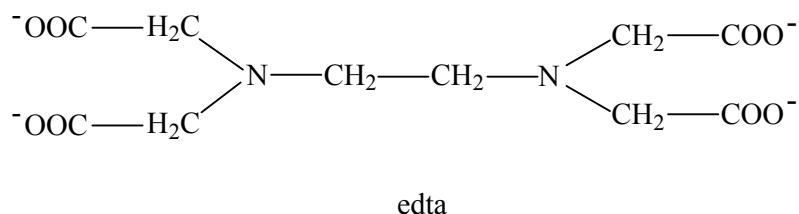
Антимикуробна активност синтетисаних лиганада и комплекса биће одређивана верификованим методама и употребом стандардизованих бактеријских и гљивичних линија.

1. ОПШТИ ДЕО

1.1. СТРУКТУРА ОКТАЕДАРСКИХ М(III)-КОМПЛЕКСА КОЈИ САДРЖЕ КВАДРИДЕНТАТНЕ ЛИГАНДЕ EDDA-ТИПА

1.1.1. СТЕРЕОХЕМИЈА КОМПЛЕКСА

Анјон етилендиамин-*N,N'*-дисирћетне киселине (edda) поседује два доhorsка аминска азота и два доhorsка кисеоника карбоксилних група и у случају потпуног координовања фунгира као квадридентатни лиганд. Овај лиганд практично представља фрагмент хексадентатног етилендиамин-тетраацетато (edta) лиганда (Слика 1), па се њихови октаедарски М(III)-комплекси, посебно N_2O_4 типа, директно повезују.



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

Остали лиганди edda-типа (Табела 1) представљају N- или C-супституисане деривате edda лиганда или хомологе овог лиганда који садрже продужене ланце (диамински у случају триметилен-диамин-*N,N'*-диацетато (tmdda) и карбоксилатне у случају етилендиамин-*N,N'*-ди-3-пропионато (eddp) лиганда).

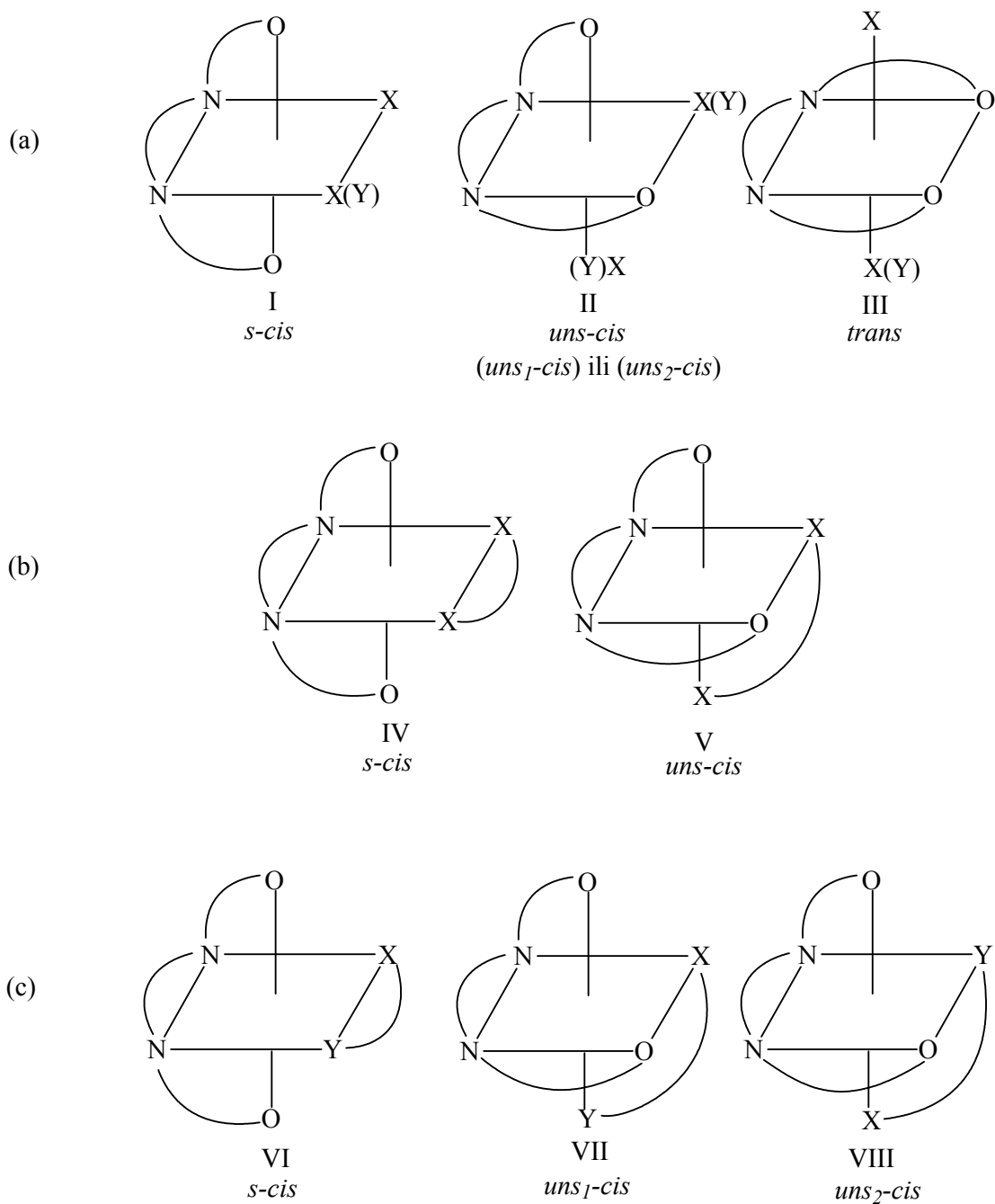
1.1.1.1. ГЕОМЕТРИЈСКА ИЗОМЕРИЈА

При координовању са централним јоном метала edda лиганд формира три хелатна прстена и то један диамински (петочлани) и два глицинска (такође петочлани) прстена. За октаедарске комплексе опште формуле $[M(edda-tip)(L)]^n$ ($M = Co(III)$ или $Cr(III)$; $L =$ два монодентатна или један бидентатни лиганд) се очекује геометријска изомерија приказана на слици 2.

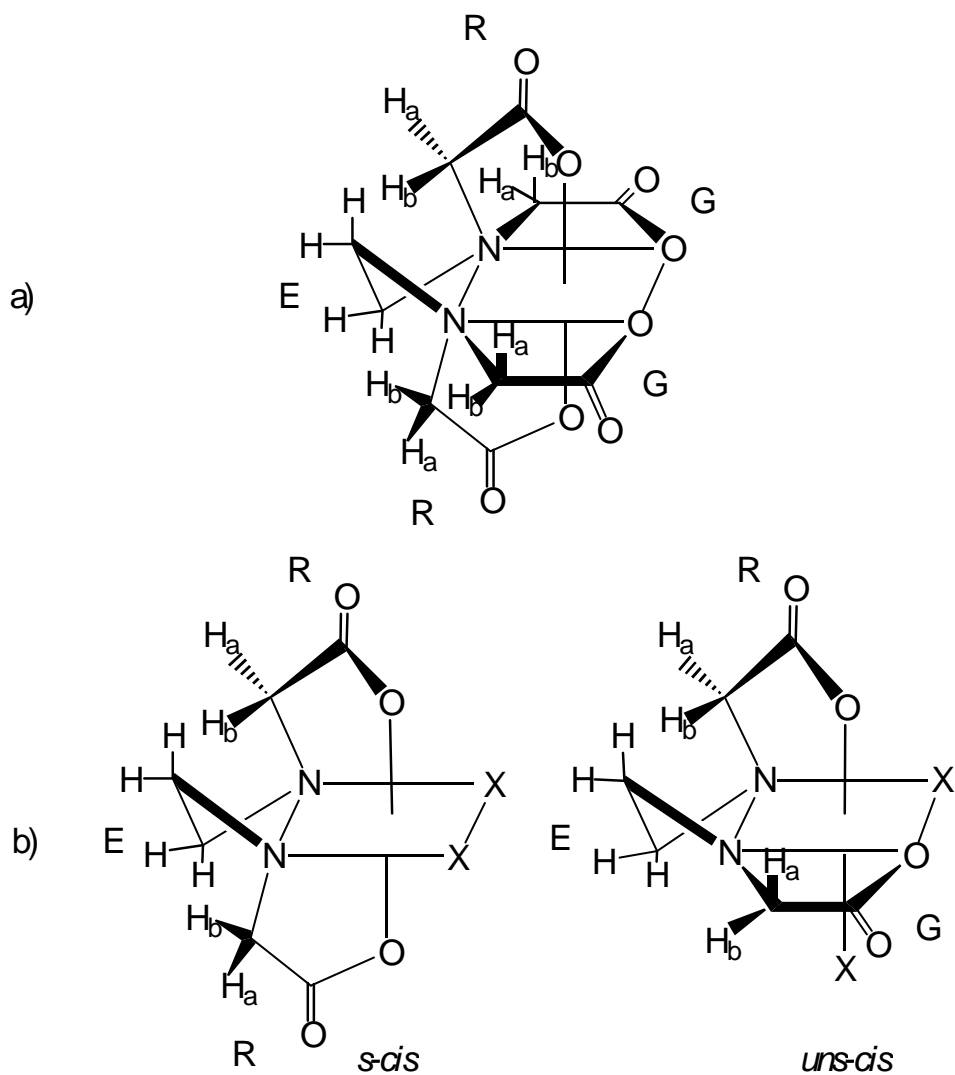
У случају октаедарских ди(монодентатних) $M(III)$ -комплекса овог типа могу се теоријски очекивати три геометријска изомера: *s-cis* (I), *uns-cis* (*uns-cis*₁ или *uns-cis*₂) (II) и *trans* (III) (Слика 2а). За одговарајуће бидентатне $M(III)$ -комплексе ($L =$ симетрични бидентатни лиганд) очекују се два геометријска изомера: *s-cis* (IV) и *uns-cis* (V) (Слика 2b). Ова изомерија се нешто проширује за случај $L =$ несиметрични бидентатни лиганд, када се теоријски могу очекивати три геометријска изомера: *s-cis* (VI), *uns-cis*₁ (VII) и *uns-cis*₂ (VIII) (Слика 2c). Означавања геометријских изомера приказаних на слици 2 су у складу са номенклатуром која је предложена за овај систем [1].

Табела 1. Квадридентатни лиганди edda-типа

ЛИГАНД	СКРАЋЕНИЦА
етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ($^-\text{OOCCH}_2\text{)NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH(CH}_2\text{COO}^-$)	edda
<i>N,N'</i> -диметил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ($^-\text{OOCCH}_2\text{)N(CH}_3\text{)CH}_2\text{CH}_2\text{(CH}_3\text{)N(CH}_2\text{COO}^-$)	dmedda
<i>N,N'</i> -диетил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ($^-\text{OOCCH}_2\text{)N(C}_2\text{H}_5\text{)CH}_2\text{CH}_2\text{(C}_2\text{H}_5\text{)N(CH}_2\text{COO}^-$)	deedda
<i>N,N'</i> -добензил-етилендиамин- <i>N,N'</i> -диацетат ($^-\text{OOCCH}_2\text{)N(C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{)CH}_2\text{CH}_2\text{(C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{)N(CH}_2\text{COO}^-$)	dbedda
1-стилбен-диамин- <i>N,N'</i> -диацетат ($^-\text{OOCCH}_2\text{)NHCH(C}_6\text{H}_5\text{)CH(C}_6\text{H}_5\text{)NH(CH}_2\text{COO}^-$)	1-sdda
етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди- <i>S</i> - α -пропинат $^-\text{OOC(CH}_3\text{)CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(CH}_3\text{)COO}^-$	<i>SS</i> -eddp
1,3-пропан-диамин- <i>N,N'</i> -диацетат ($^-\text{OOCCH}_2\text{)NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH(CH}_2\text{COO}^-$)	1,3-pdda
етилендиамин- <i>N,N'</i> -ди-3-пропинат ($^-\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{)NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH(CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$)	eddp



Слика 2. Могући геометријски изомери октаедарских *edda-M(III)*-комплекса који садрже као додатне лиганде: (a) два монодентата, (b) симетрични бидентат и (c) несиметрични бидентат



Слика 3. Ознаке хелатних прстенова у комплексима $Co(III)$ који садрже:

(a) *edta* и (b) *edda* лиганд

Weakliem и Hoard [2] су први увели номенклатуру помоћу које су означили хелатне прстенове у хексадентатном етилендиамин-тетраацетато- $Co(III)$ -комплексу (Слика 3а). Иста номенклатура је касније употребљена и за означавање хелатних прстенова у октаедарским *edda*- $M(III)$ -комплексима (Слика 3б). С обзиром на ову номенклатуру, етилендиамински прстен означен је као Е прстен. Два глицинска прстена, која леже у октаедарској равни са диаминским прстеном, означени су као G прстенови, за разлику од друга два глицинска прстена која леже ван октаедарске равни (R прстенови) (Слика 3а). Резултати рентгенске структурне анализе за хексадентатне комплексе $Co(III)$ [2,3] су показали да су G глицински прстенови ових система под

нешто већим напоном од R глицинских прстенова. Исто тако, структурни подаци за *uns-cis*-[Co(edda)(R-pn)]⁺ јон [4] указују да edda лиганд при свом координовању формира глицинске прстенове различитог напона (G глицинске прстенове са нешто израженијим напоном у односу на одговарајуће R прстенове). Ово је омогућило да се у октаедарским edda комплексима и структурно сличним системима може на тој основи испитивати геометријска изомерија.

Edda-Co(III)-комплекси [4-19] су изоловани у облику оба геометријска изомера, *s-cis* и *uns-cis*. При томе је показано да је *s-cis* геометрија ових комплекса фаворизирана у највећем броју синтетичких реакција, било у комплексима Co(III) [10,18], било у комплексима Cr(III) [20,21]. С обзиром на ове резултате претпостављено је да је више изражен напон G прстенова [4] у комплексима *uns-cis* конфигурације представља одлучујући фактор у дистрибуцији геометријских изомера edda лиганда. Поред тога, на бази разматрања модела молекула, Legg и сарадници [6,7] су показали да је фаворизовање *s-cis* конфигурације edda лиганда базирано на чињеници да су стерне интеракције између координованих додатних лиганата и edda лиганда знатно израженије у случају *uns-cis* конфигурације што се посебно манифестује на примерима аминских комплекса. Код комплекса edda-типа, који као додатне лиганде садрже диаква, дихлоро, карбонато, оксалато или малонато лиганде [5,9-11,19], изолована су (с обзиром на одсуство стерних интеракција) оба (*s-cis* и *uns-cis*) геометријска изомера ових комплекса.

Изомери *s-cis* и *uns-cis* геометрије диаква-edda-Co(III)-комплекса су одвојени техником јоноизмењивачке хроматографије [19]. При томе је утврђено да се *uns-cis* изомер овог комплекса релативно лако изомеризује у више стабилан *s-cis* изомер. Ова изомеризација, како су показала кинетичка испитивања [22], зависи од температуре области и рН вредности воденог раствора. Исто тако, кинетичке студије *s-cis*-диаква-edda-Co(III)-комплекса у присуству оксалато лиганда указују да мање кисели водени раствори фаворизују *uns-cis*, а више кисели *s-cis* изомере оксалато комплекса [23].

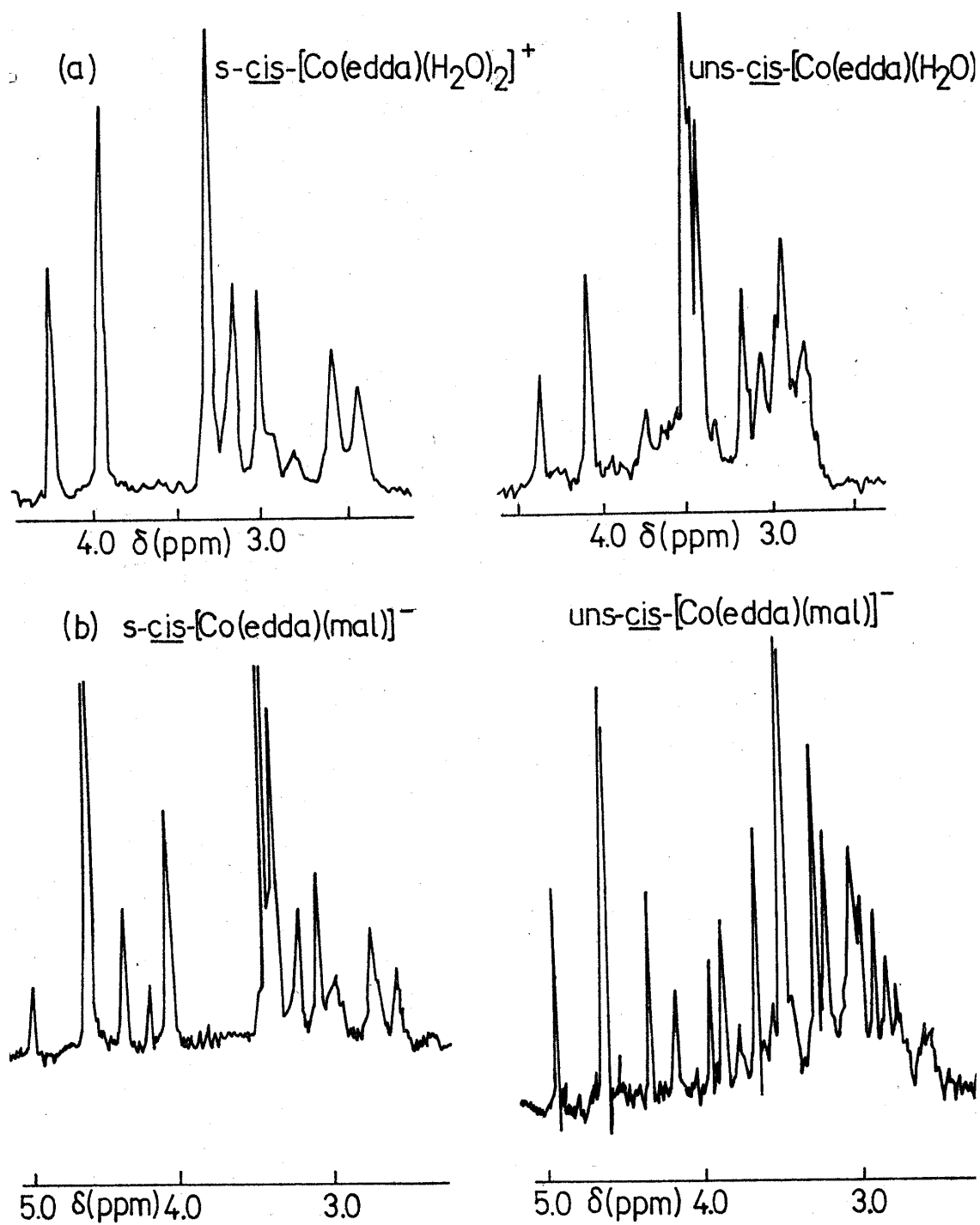
1,3-пропандиамин-*N,N'*-диацетато (1,3-pdda) и етилендиамин-*N,N'*-ди-3-пропионат (eddp) лиганди (Табела 1) су такође лиганди O-N-N-O типа као и edda лиганд, изузев што оба ова лиганда при свом координовању граде, поред петочланих и шесточлане хелатне прстенове (диамински у случају 1,3-pdda лиганда и карбоксилатне у случају eddp лиганда). Октаедарски комплекси ових хомолога edda лиганда су изоловани само као *uns-cis* геометријски изомери било у случају Co(III) [24-28] (изузев у случају етилен-диаминског комплекса [26], где је поред фаворизованог *uns-cis*

изомера, добивен и *s-cis* изомер), било у случају Cr(III) [29]. При томе је закључено да конформације шесточланих хелатних прстенова имају пресудну улогу на дистрибуцију геометријских изомера M(III)-комплекса ових лиганата.

1.1.2. НУКЛЕАРНО-МАГНЕТНО-РЕЗОНАНЦИОНИ (NMR) СПЕКТРИ

За означавање геометријских изомера октаедарских комплекса Co(III) који садрже лиганде edda-типа успешно су примењени ^1H NMR (PMR) [6,7,9,10,19] и ^{13}C NMR [26] спектри. PMR спектри *s-cis* и *uns-cis* геометријских изомера интерпретирани су на бази резултата раније добивених за аминополикарбоксилатне Co(III)-комплексе [30], за које је нађено да се константа купловања (J) АВ пара може поделити у две категорије: (а) $J = 16\text{Hz}$ за глицинске прстенове који леже у октаедарској равни (G прстенови) и (б) $J = 18\text{ Hz}$ за глицинске прстенове који леже ван октаедарске равни (R прстенови). Поред тога, на везу између различитог хемијског померања А и Б протона и оријентације координованих глицинских група код аминополикарбоксилних Co(III)-комплекса указано је по први пут од стране Legg-а и сарадника [10]. На бази ових резултата, извршено је разликовање геометријских изомера и означавање PMR спектра већег броја Co(III)-комплекса edda-типа.

s-cis изомери edda-Co(III)-комплекса, с обзиром да имају два еквивалентна R глицинска прстена и C_2 молекулску симетрију (Слика 2), показују сигнале (АВ квинтет) само за један АВ пар. Одговарајући *uns-cis* изомери ових комплекса са два нееквивалентна (R и G) глицинска прстена и C_1 молекулском симетријом, поседују знатно сложеније PMR спектре с обзиром да се очекују сигнали за два АВ пара. На слици 4, примера ради, приказани су PMR спектри за оба, *s-cis* и *uns-cis* изомера edda-Co(III)-комплекса који садрже као додатне диаква и малонато (mal) лиганде. У табели 2 дати су подаци за хемијско померање метилених протона глицинских прстенова *s-cis* и *uns-cis* изомера $[\text{Co}(\text{edda})(\text{L})]^n$ комплекса који садрже различите додатне лиганде ($\text{L} = 2\text{H}_2\text{O}, \text{CO}_3^{2-}, \text{ox}, \text{mal}, \text{en}$) [10,19].



Слика 4. PMR спектри *s-cis* и *uns-cis* изомера *edda*-*Co*(III)-комплекса који садрже додатне: (a) диаква и (b) малонато лиганде

Сигнали АВ квартета за *s-cis* изомере (Табела 2) леже на вишем пољу у односу на НОД пик, а одговарајући сигнали симетричних АА'ВВ' парова Е прстена налазе се на још вишем пољу. PMR спектри $[\text{Co}(\text{edda})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ комплекса (Слика 4, Табела 2) представљају типичне спектре *s-cis* и *uns-cis* изомере овог комплекса. H_A и H_B сингли означени су од стране Легг-а и Кооке-а [6], а исто означавање касније је потврдјено од стране Судмејер-а и Оссурати-а [31]. Константа купловања која износи $18,0 \pm 0,5$ Hz је типично за метиленске протоне R глицинских прстенова [6,7,9,10]. У случају *uns-cis*- $[\text{Co}(\text{edda})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ комплекса, АВ квартет на 4,37, 4,07, 3,44, 3,14 ppm (Слика 4) одговара протонима R прстена, а квартет другог АВ пара (3,74, 3,48, 3,40, и 3,14 ppm), на нешто вишем пољу, се приписује протонима G прстена. Константа купловања за протоне G прстена је у складу са очекиваним вредностима ($J = 16,0 + 0,5$ Hz) за аминокполикарбоксилатне Со(III)-комплексе [30]. На основи ових резултата извршена је интерпретација PMR спектра *s-cis* и *uns-cis* изомера за остале Со(III)-комплексе који садрже лиганде edda-типа. Нешто простији PMR спектри *s-cis* изомера у односу на спектре *uns-cis* изомера ових комплекса у складу су са њиховим одговарајућим молекулским симетријама (вишом C_2 за *s-cis* и нижом C_1 за *uns-cis* изомере).

Означавање геометријских изомера $[\text{Co}(\text{edda-тип})(\text{L})]^\text{n}$ комплекса извршено је и на бази нуклеарно-магнетно-резонанционих спектра угљеника C-13 (^{13}C NMR) [26]. Применом технике селективног декупловања и технике деутеризације извршено је означавање резонанција појединачних угљеникових атома за већи број *s-cis* и *uns-cis* геометријских изомера edda и tmdda-Co(III)-комплекса (Слика 5).

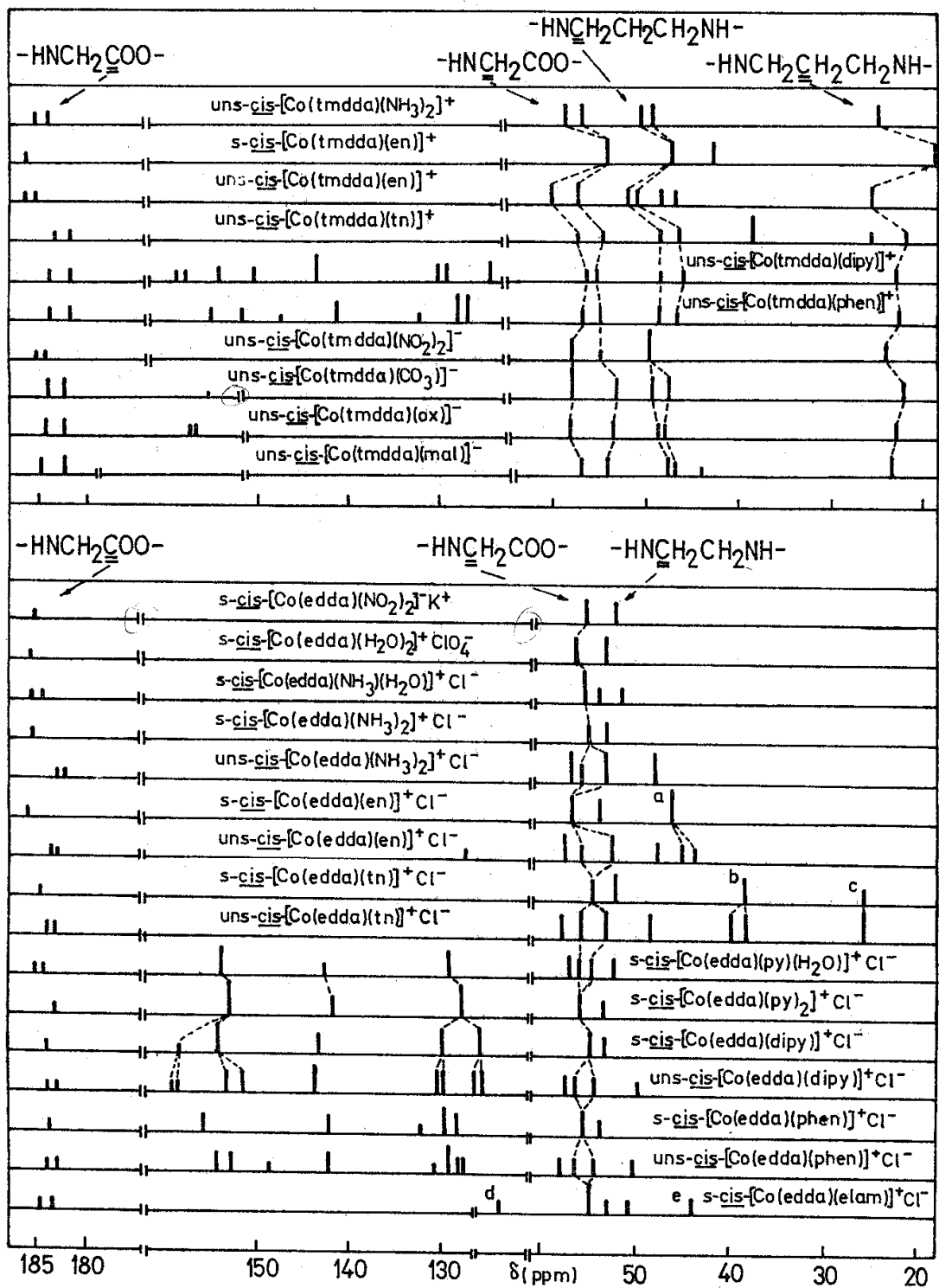
s-cis изомери edda комплекса (Слика 5) показују две резонанције у метиленској области, од којих једна потиче од два еквивалентна угљеника етилендиаминског (Е) леђног прстена. Као што се и очекује за *s-cis* изомере, добивена је само једна резонанција у карбонилној области. У случају *uns-cis* изомера edda комплекса са два нееквивалентна (R и G) глицинска прстена, у складу са овом геометријом, добивене су четири резонанције у метиленској области и две очекиване резонанције у карбонилној области.

Табела 2. Хемијско померање (δ) метиленских протона глицинских прстенова *s-cis* и *uns-cis* изомера $[\text{Co}(\text{edda})(L)]^n$ комплекса ($L = 2\text{H}_2\text{O}, \text{CO}_3^{2-}, \text{ox}, \text{mal}, \text{en}$)^a

КОМПЛЕКС	R Прстенови			G Прстенови		
	δ_{H_A}	$\delta_A - \delta_B$	δ_{H_B}	δ_{H_A}	$\delta_A - \delta_B$	δ_{H_B}
<i>s-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$	4,07	(0,88)	3,19			
<i>uns-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$	4,20	(0,88)	3,32	3,55	(0,22)	3,33
<i>s-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{CO}_3)]^-$	4,18	(0,88)	3,30			
<i>uns-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{CO}_3)]^-$	3,93	(0,90)	3,03	3,57	(0,13)	3,44
<i>s-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{ox})]^-$	4,28	(0,95)	3,33			
<i>uns-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{ox})]^-$	3,92	(0,83)	3,09	3,56		
<i>s-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{mal})]^-$	4,20	(0,95)	3,25			
<i>uns-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{mal})]^-$	3,99	(0,90)	3,09	3,48		
<i>s-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{en})]^+$	4,22	(0,84)	3,38			
<i>uns-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{en})]^+$	4,02	(0,87)	3,15	3,71		

^aВредности су дате у ppm у односу на TMS, а снимање спектра вршено је у D_2O ^{10,19}.

s-cis изомери 1,3-pdda комплекса (Слика 5) показују три резонанције у метиленској области: једна потиче од два терминална угљеника триметилен-диаминског (E) леђног прстена. Поред тога, *s-cis* изомери ових комплекса показују, као што се и очекује, само једну резонанцију у карбонилној области. Одговарајући *uns-cis* изомери tmdda комплекса показују пет резонанција у метиленској области, што је у складу са два нееквивалентна глицинска (R и G) прстена и нижом симетријом ових комплекса. Овим је уједно демонстрирана и могућност примене ^{13}C NMR спектроскопије за испитивање стереохемије октаедарских Co(III)-комплекса који садрже лиганде edda-типа.



Слика 5. ¹³C NMR спектри геометријских изомера [Co(edda-mun)(L)]ⁿ комплекса

1.1.3. ИНФРА-ЦРВЕНИ (IR) СПЕКТРИ

Анализа ових спектра врши се на два принципијелно различита начина:

- a) емпиријски, корелацијом положаја карактеристичних вибрација структурних јединица (група) у различитим молекулима
- b) теоријски, израчунавањем појединих фреквенција нормалних вибрација које одговарају одређеним фреквенцијама дужине везе и валенционих углова посматраног система.

Емпиријско тумачење своди се на чињеницу да се одређене карактеристичне вибрације јављају увек у одређеној области без обзира на природу осталих група у молекулу. Тако на пример, положај апсорпционих трака N-H валенционих вибрација координованих аминских, аминокиселинских и аминокиселинских лиганата утиче низ фактора. Грађењем везе M-N електронска густина се помера од азота ка јону метала због чега слаби веза N-H. Овим се смањује број фреквенција, а повећава интензитет N-H валенционих вибрација ("ефекат координације") [32,33]. Промена централног јона доводи до промене степена ковалентног карактера везе метал-лиганд и постоји извесна правилност у померању фреквенција карактеристичних вибрација лиганата. Тако се на пример, у случају аминокиселинских и аминокиселинских M(III)-комплекса, са порастом степена ковалентног карактера везе M-N, валенционе N-H и валенционе симетричне COO⁻ и деформационе NH₂ вибрације ка вишим фреквенцијама у односу на положаје одговарајућих трака у спектрима слободних лиганата [34].

Очекује се да *cis* изомери ниже симетрије показују нешто комплексније IR спектре од *trans* изомера више симетрије, па се на овим основама заснива могућност разликовања геометријских изомера октаедарских M(III)-комплекса.

За испитивање геометријске изомерије аминокиселинских M(III)-комплекса примењена је, са више или мање успеха, карбоксилатна област. У циљу разликовања координованих од некоординованих карбоксилних група коришћен је критеријум Busch-а и сарадника [34-36]. На основу овог критеријума фреквенције асиметричних валенционих вибрација за протонване карбоксилне групе би се очекивале у области 1700-1750 cm⁻¹, док се одговарајуће фреквенције координованих карбоксилних група (за петочлане прстенове) налазе у области 1600-1650 cm⁻¹. Поред ове чињенице нађено је да

се асиметричне валенционе вибрације координованих карбоксилних група петочланих прстенова налазе на нижој енергији [33] од одговарајућих вибрација за координоване шесточлане прстенове [37], што је и потврђено на примерима октаедарских М(III)-комплекса који садрже хексадентатне аминополикарбоксилатне лиганде са мешовитим (петочланим и шесточланим) карбоксилатним ланцима [38,39].

Карбоксилатна област успешно је примењена и за разликовање геометријских изомера октаедарских М(III)-комплекса који садрже лиганде edda-типа [11,12,19,20, 28,29]. Изомери *s-cis* геометрије ових комплекса [11,12,19,20] показују јаку апсорпцију у очекиваној области (на око 1650 cm^{-1}) карактеристичну за валенционе асиметричне вибрације координованих карбоксилних група петочланих прстенова [34]. Само једна трака нађена у овој области очекивана је за изомере C_2 молекулске симетрије који поседују два еквивалентна R глицинска прстена. У истој области, *uns-cis* изомери $[M(\text{edda-тип})(L)]^n$ комплекса показују нешто сложеније IR спектре који указују на присуство две апсорпционе траке. Ово је у складу са C_1 молекулском симетријом *uns-cis* изомера и чињеницом да ови поседују два нееквивалентна (R и G) глицинска прстена [28,29]. Изомери испитиваних $[\text{Co}(\text{edda-тип})(L)]^n$ комплекса, који поседују додатне оксалато лиганде, показују очекивану апсорпцију на око 1720 cm^{-1} сагласно потпуној координацији оксалато лиганда [40], с обзиром да се одговарајућа фреквенција за оксалато монодентат налази на 1757 cm^{-1} [41].

1.1.4. ЕЛЕКТРОНСКИ АПСОРПЦИОНИ СПЕКТРИ

Електронски апсорпциони спектри у видљивој и блиској ултра-љубичастој области најчешће су примењивани за разликовање геометријских изомера октаедарских М(III)-комплекса који садрже лиганде edda-типа. Ови комплекси припадају углавном $[\text{M}(\text{N})_4(\text{O})_2]$, $[\text{M}(\text{N})_3(\text{O})_3]$ или $[\text{M}(\text{N})_2(\text{O})_4]$ -типу комплекса и највећи део ових комплекса односи се на комплексе Со(III).

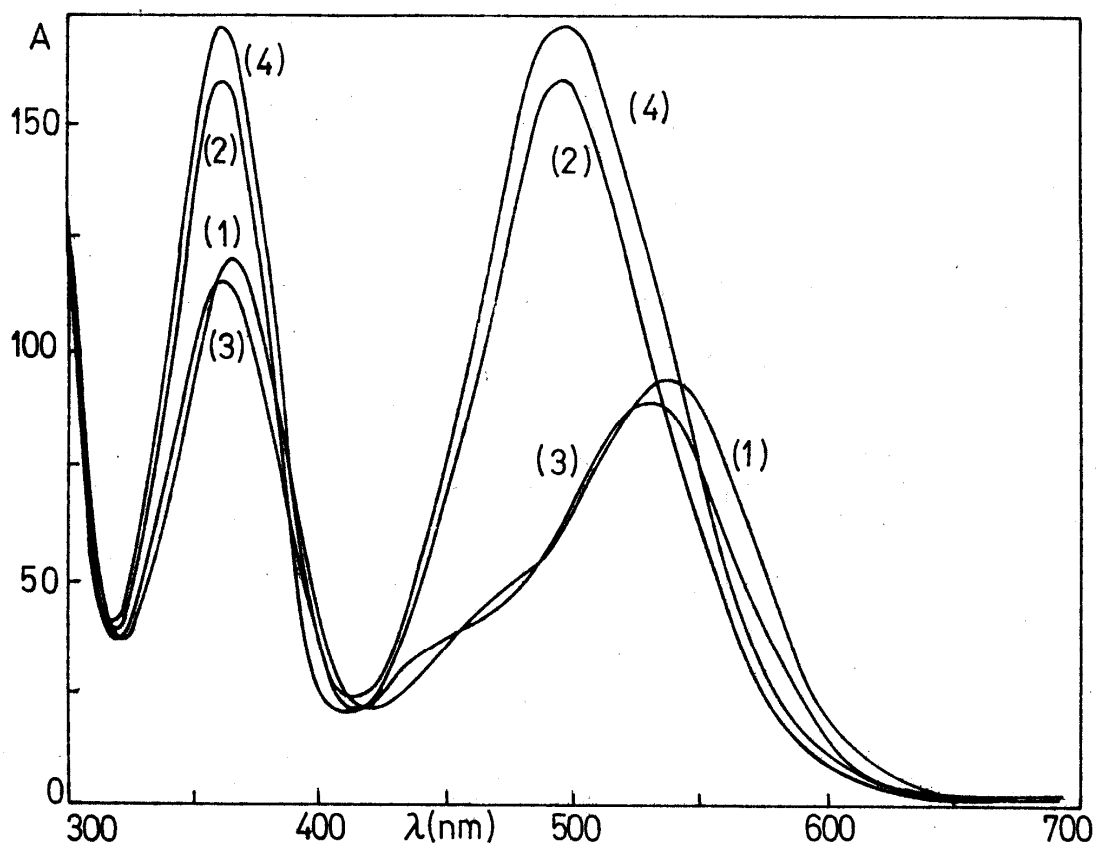
$[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -тип комплекса садржи, поред edda-типа лиганда, као додатне, аминске лиганде (два монодентата или један бидентат), од којих су од посебног значаја комплекси који садрже: 2NH_3 [6,12], *en* [6,7,12,18] и *R-pn* [18] лиганде (*en* = етилендиамин, *R-pn* = *R*-1,2-пропан-диамин). Комплекси $[\text{Co}(\text{N})_3(\text{O})_3]$ -типа [12,18,27] су мање испитивани. У случају комплекса $[\text{M}(\text{N})_2(\text{O})_4]$ -типа посебно су студирани: диаква [5,11,19,20], карбонато [9,19,25,28], оксалато и малонато [9-11,19,20,25,28] комплекси.

У случају октаедарских комплекса $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -типа, *s-cis* изомери припадају *trans*(O)- $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -типу, а *uns-cis* изомери *cis*(O)- $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -типу комплекса. Теоријски је предвиђено [42], а и експериментално утврђено да *trans*(O) изомери поменутог типа комплекса показују разлагање прве апсорпционе траке док су одговарајуће траке *cis*(O) изомера готово симетричне и јачег интензитета. На слици 6 (Табела 3) приказани су електронски апсорпциони спектри *s-cis* и *uns-cis* изомера аминских edda-Co(III)-комплекса.

Табела 3. Нумерички подаци за електронске апсорпционе спектре аминских edda-Co(III)-комплекса

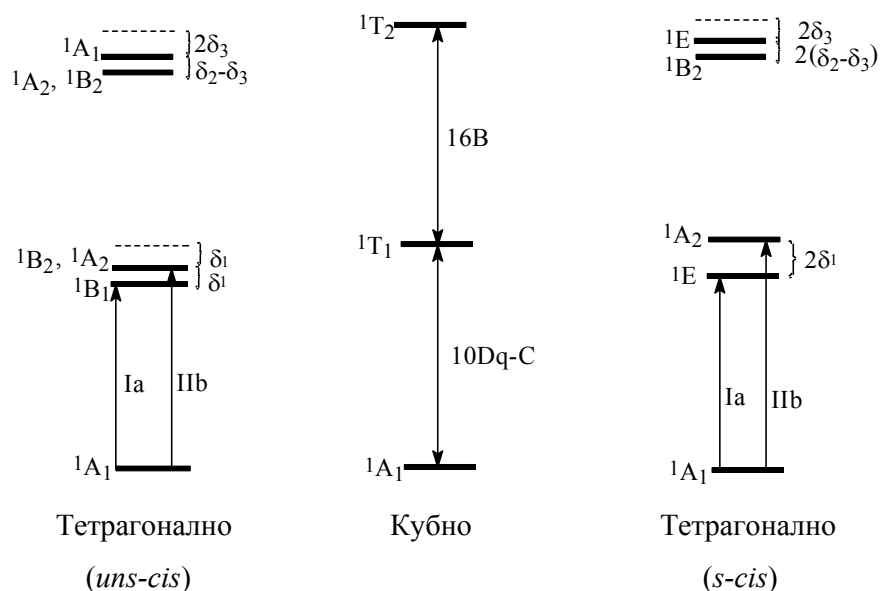
Комплекс	Трака Ia ν (cm^{-1})	ϵ	Трака Ib ν (cm^{-1})	ϵ	Трака II ν (cm^{-1})	ϵ	Dt' (cm^{-1})	Dq (ac.)
<i>s-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{NH}_3)_2]^+$	1866	92,6	2169	p ^a	2747	118	301	1993
<i>uns-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{NH}_3)_2]^+$	2000	153,2			2793	159		
<i>s-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{en})]^+$	1890	87,3	2232	p	2762	113	287	2027
<i>uns-cis</i> - $[\text{Co}(\text{edda})(\text{en})]^+$	1805	p	2020	16 9	2778	168	276	2047

p^a - превој



Слика 6. Електронски апсорпциони спектри *s-cis* и *uns-cis* изомера аминских *edda-Co(III)*-комплекса

Ballhausen и сарадници [43,44] и Yamatera [45] су теоријски предвидели померање и разлагање апсорпционих трака за $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -тип комплекса, као што је приказано на слици 7. Са приказане схеме (Слика 7) се јасно види да се за комплексе овог типа тетрагоналног лигандног поља очекује разлагање прве и друге апсорпционе траке знатно лакше за *trans(O)* (*s-cis* изомери) него за *cis(O)* изомере (*uns-cis* изомери).



Слика 7. *Схема очекиваних померања и разлагања апсорпционих трака тетрагоналних Co(III)-комплекса*

Ова предвиђања су у сагласности и са спектрима добивеним за аминске комплексе овога типа (Слика 6) [6]. Као што се види траке Ia *s-cis* изомера леже на нижој енергији, а траке Ib истих изомера су нижег интензитета (превој) и леже на вишој енергији. У случају *uns-cis* изомера ових комплекса траке Ib су нешто шире и већег интензитета, што се и очекује на бази теорије кристалног поља [46]. Оба изомера ових комплекса са етилендиамином имају прве апсорпционе максимуме на вишој енергији у односу на одговарајуће изомере $[\text{Co}(\text{edda})(\text{NH}_3)_2]^+$ комплекса, што је последица хелатног ефекта додатног (en) лиганда.

Ради тумачења ових спектра Wentworth и Piper [47] су дали израз за израчунавање Dt' параметра ($Dt' = \text{апроксимативни параметар } Dt$) према једначини:

$$Dt' = 4/35 \cdot [(10Dq - C) - W]$$

где W представља енергију интензивног пика траке I у комплексима *trans*(O)- $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -типа. Сличне формуле су предвиђене од стране Yamatera [45] и за *cis*(O)- $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -тип комплекса у којима вредност $8/35$ замењује вредност $4/35$. Wentworth и Piper [47] су показали да је C вредност у датом изразу приближно константна за већи број Co(III)-комплекса и да се ова вредност, која приближно износи 3800 cm^{-1} , може користити у рачунању преко израза $10Dq - C$ и за комплексе другог типа. Вредности Dq' изражене су преко Dq вредности амина и ацетата, користећи следећи израз:

$$D_t' = 4/7 (Dq_{(\text{амин})} - Dq_{(\text{acet.})})$$

Полазећи од познате вредности $Dq_{(\text{амин})}$ за $[\text{Co}(\text{en})_3]^{3+}$ -јон израчунато је да вредност $Dq_{(\text{acet.})}$ износи 2000 cm^{-1} што је у складу са нађеним вредностима од стране Piper-а и Carlina-а [48] за $[\text{Co}(\text{ox})_3]^{3-}$ јон.

Електронски апсорпциони спектри аминских 1,3-pdda-Co(III)-комплекса су интерпретирани употребом D_{4h} модела [24,26] при чему је показано да tmdda лиганд у комплексима $[\text{Co}(\text{N})_4(\text{O})_2]$ -типа фаворизује *uns-cis* геометрију. Апсорпциони максимуми *uns-cis* комплекса 1,3-pdda лиганда леже у очекиваној области и показују знатно нижу моларну апсорптивност у односу на одговарајуће *uns-cis* изомере edda лиганда. Као што је предпостављено [24,25] нижа моларна апсорптивност ових комплекса условљена је крутом конформацијом шесточланог триметилен-диаминског ледјног прстена.

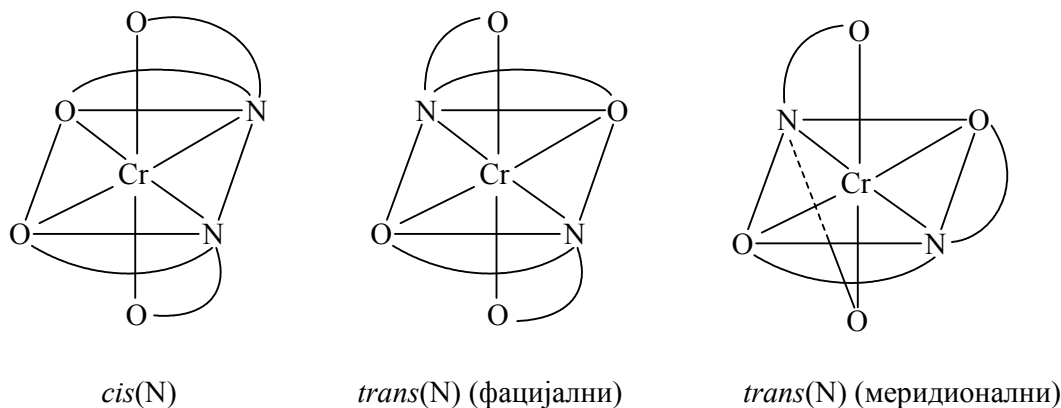
Мешовити аминокиселински комплекси опште формуле $[\text{Co}(\text{edda-tip})(\text{ам})]$ (ам = аминокиселина) су релативно мало испитивани [18,27]. Изомери *s-cis* геометрије $[\text{Co}(\text{N})_3(\text{O})_3]$ -типа комплекса егзистирају у меридионалном облику, као и *uns₁-cis* изомер (Слика 2ц) и њихово разликовање се не може вршити на бази електронске апсорпционе спектроскопије. Међутим, *uns₂-cis* изомери (фацијални изомери) поседују кубну симетрију лигандног поља за разлику од ромбичне симетрије лигандног поља *uns₁-cis* изомера, па је разликовање ових геометријских изомера извршено на бази њихових електронских апсорпционих спектра. Очекује се да ово опадање симетрије лигандног поља (од кубне ка ромбичној) буде довољан разлог за разлагање прве апсорпционе траке, као што је то и експериментално показано на комплексима овог типа [18,27].

Изомери $[\text{M}(\text{edda-tip})(\text{L})]^n$ комплекса (L = диаква, хидроксо, CO_3^{2-} , ox или mal) припадају $[\text{M}(\text{N})_2(\text{O})_4]$ -типу комплекса. Електронски апсорпциони спектри N_2O_4 -типа комплекса Co(III) [5,9-11,19,28] и Cr(III) [20,21,29] нису имали већи значај за разликовање *s-cis* и *uns-cis* геометријских изомера, с обзиром да поседују готово симетричне обе апсорпционе траке и да се не уочава тенденција разлагања првих апсорпционих трака ових комплекса. Из тих разлога електронски апсорпциони спектри комплекса $[\text{M}(\text{N})_2(\text{O})_4]$ -типа су углавном интерпретирани применом псеудооктаедарске (O_h) симетрије. Међутим, како *s-cis* изомери овог типа комплекса поседују вишу (C_2) молекулску симетрију од *uns-cis* изомера (C_1 молекулске симетрије са максимално несиметричним пољем око M(III) јона) то се очекује да ће апсорпционе траке *s-cis*

изомера бити нижег интензитета од одговарајућих трака *uns-cis* изомера, као што је и експериментално нађено [9-11,19,20,28,29]. Поред тога, нађено је да прве апсорпционе траке *s-cis* изомера $[M(N)_2(O)_4]$ -типа комплекса edda-типа лиганда леже на нижој енергији од одговарајућих трака *uns-cis* изомера било у случају комплекса Co(III) [9,10,19] било Cr(III) [20,29].

Апсорпциони максимуми *uns-cis* изомера 1,3-pdda-Co(III)-комплекса [25] леже у очекиваној области и показују нешто ниже моларне апсорптивности у односу на одговарајуће вредности *uns-cis* изомера edda-Co(III)-комплекса [10,19], што је у складу са слабијим лигандним пољем и крутом конформацијом леђног лиганда триметил-диаминског прстена 1,3-pdda лиганда.

Поред поменутих Cr(III)-комплекса који садрже лиганде edda-типа описан је већи број комплекса који садрже различите лиганде, а такође припадају N_2O_4 -типу комплекса. Значајни резултати постигнути су при испитивању комплекса *cis(N)* и *trans(N)* конфигурације који садрже ida (ida = иминодиацетатни јон) или N-алкил супституисане деривате овог лиганда [49,50]. У свим комплексима Cr(III) поменуте хромофоре, прве апсорпционе траке спински дозвољених ${}^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{2g}$ електронских прелаза у октаедарском пољу су готово симетричне и интензивније од друге апсорпционе траке ${}^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}$ електронског прелаза. За $[Cr(ida)_2]^-$ "модел" комплекс теоријски се очекују три геометријска изомера: *cis(N)*, *trans(N)* (фацијални) и *trans(N)* (меридионални) (Слика 8).



Слика 8. Могући геометријски изомери $[Cr(ida)_2]^-$ -комплекса

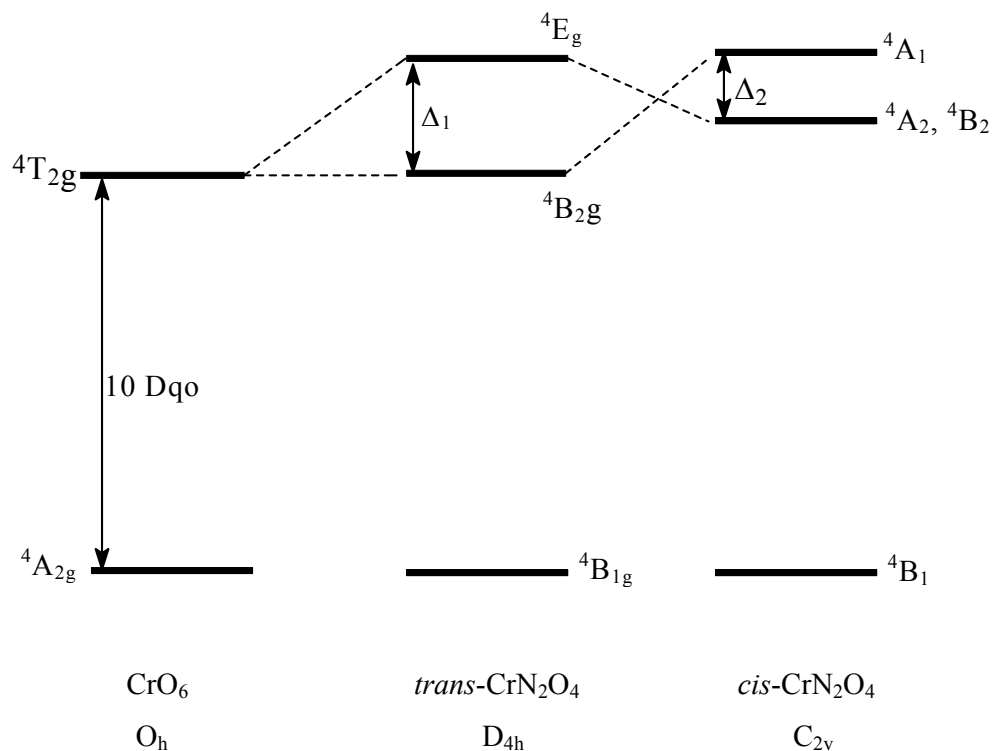
Изомери ових комплекса поседују тетрагонално поље. Међутим, *trans*(N) изомери $[\text{Cr}(\text{ida})_2]^-$ комплекса имају D_{4h} , а одговарајући *cis*(N) изомери C_{2v} молекулску симетрију. Испитивања су показала да N-алкил деривати овог лиганда фаворизују грађење *trans*(N) изомера [50] док $[\text{Cr}(\text{ida})_2]^-$ комплекс има *cis*(N) конфигурацију [50]. На следећој слици (Слика 9) приказана је схема енергетских нивоа $[\text{Cr}(\text{N})_2(\text{O})_4]$ -типа комплекса добивена на бази теорије лигандног поља или модела ангуларног преклапања [51]. Као што се види, разлагање првог спински дозвољеног нивоа је веће за *trans*(N) него за *cis*(N) изомере ових комплекса. С друге стране, компоненте већег интензитета прве апсорпционе траке биће лоциране на стани краћих таласних дужина (с обзиром на њену дегенерацију), док ће друге компоненте мањег интензитета остати на позицијама октаедарске хромофоре $[\text{Cr}(\text{O})_6]$ што се добро слаже са одговарајућим прелазом (1759 cm^{-1}) код $[\text{Cr}(\text{ox})_3]^{3-}$ [52]. Изомери ових комплекса *cis*(N) геометрије поседују центар инверзије па ће се прелази електричног дипола по Laporte-у бити забрањени. Из тих разлога траке *trans*(N) изомера биће нижег интензитета од одговарајућих трака *cis*(N) изомера. Разлагање ${}^4T_{2g}$ нивоа у лигандном пољу D_{4h} симетрије је дато у функцији параметра Dt:

$$E(E_g) - E(B_{2g}) = 35/4 \text{ Dt}$$

Ако се узму у разматрање дијагонални елементи [53,54] Dt параметар се може изразити и преко Dq параметра октаедарског поља:

$$\text{Dt} = -4/7 (\text{Dq}_O - \text{Dq}_N)$$

у ком случају ово разлагање зависи од параметара Dq_O и Dq_N . На основу овог израза нађено је да параметар Dq_N износи у алкил-ida-Cr(III)-комплексима $2280\text{--}2500 \text{ cm}^{-1}$. Одговарајући Dq_N параметар у $[\text{Cr}(\text{en})_3]^{3+}$ комплексу износи 2190 cm^{-1} [52]. За *cis*(N) изомере овог типа комплекса Dt износи $+2/7$, из чега се закључује да је разлагање ${}^4T_{2g}$ нивоа мање за фактор два у односу на одговарајуће *trans*(N) изомере, полазећи од претпоставке да посматрани комплекси поседују исте дужине веза метал-лиганд. С обзиром на ове податке, разлагање *cis*(N)-ida-Cr(III)-комплекса се не очекује (Слика 9) под нормалним експерименталним условима [50].



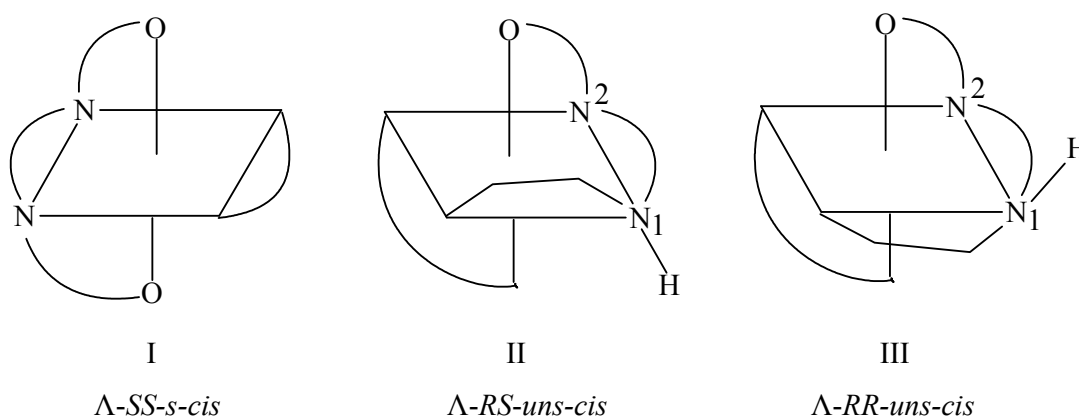
Слика 9. Схема разлагања терма најнижих спински дозвољених прелаза за различите симетрије
($\Delta_1 = 5(Dq_N - Dq_0)$, $\Delta_2 = -\Delta_{1/2}$)

1.1.5. ОПТИЧКА АКТИВНОСТ И АПСОЛУТНЕ КОНФИГУРАЦИЈЕ КОМПЛЕКСА

Оптичка активност *s-cis* и *uns-cis* изомера $[Co(edda-tipa)(L)]^n$ комплекса такође је интензивно испитивана [7-9,14-17,24,25,27,55,56]. Два структурна фактора, за које се сматра да имају доминантне ефекте на релативне интензитете CD компонената ових система, су:

- "конфигурациони ефекат" условљен распоредом хелатних прстенова око централног јона и
- "визинални ефекат" који потиче од асиметричних азотових атома координованих лиганата edda-типа

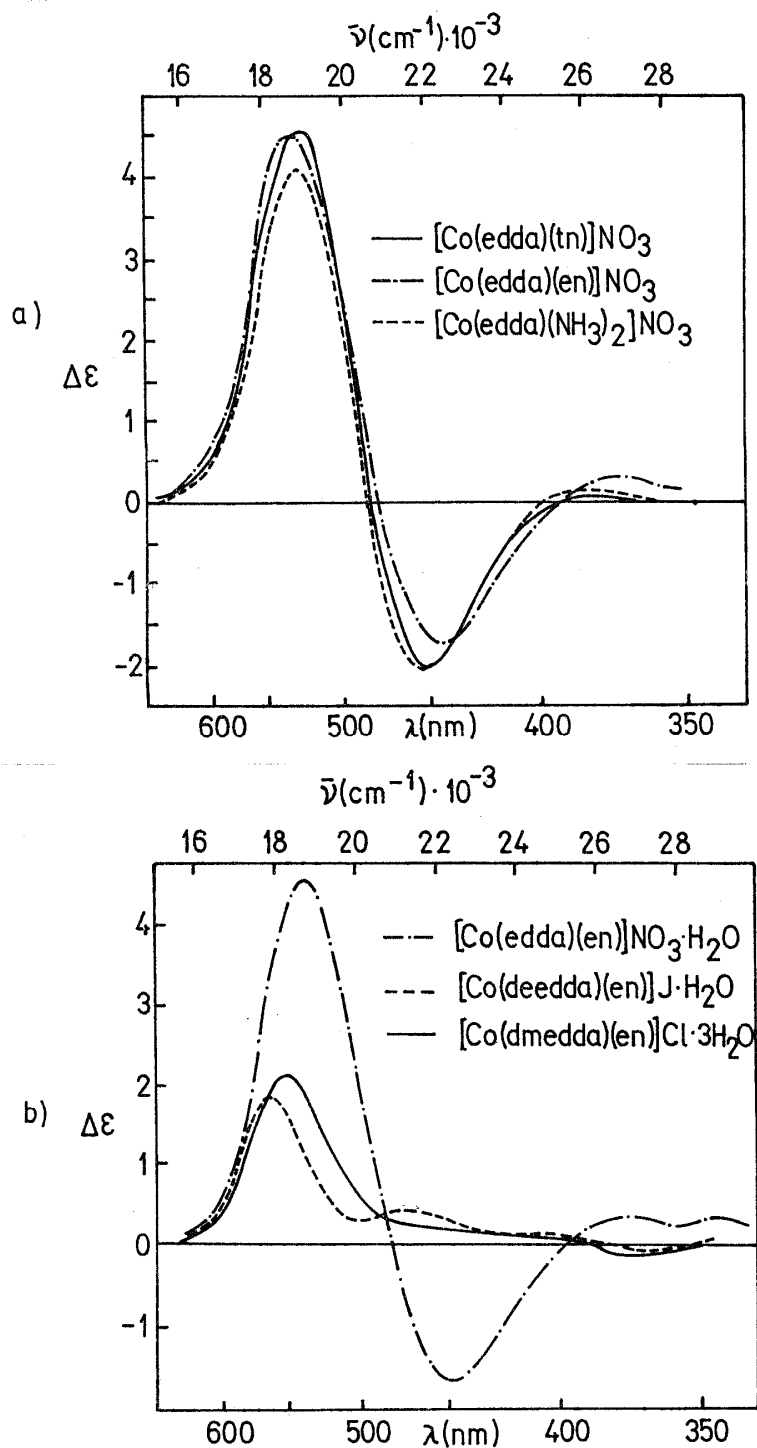
Геометријски *s-cis* изомери edda комплекса поседују три пара хелатних прстенова истог хиралитета [57,58]. За *s-cis* изомере ових комплекса приказане на слици 10 (изомер I) ови парови хелатних прстенова се означавају као $\Lambda\Lambda\Lambda$ [57] (нето Λ) [58]. У случају *uns-cis* комплекса, изомери се означавају са четири пара хелатних прстенова од којих су три пара истог хиралитета, а четврти пар супротног хиралитета. За оптичке изомере приказане на слици 10 (изомери II и III) ови парови хелатних прстенова се означавају као $\Lambda\Lambda\Lambda$ [57] (нето Λ) [58]. Према томе, *uns-cis* изомери edda комплекса имају мањи нето хиралитет (два пара хелатних прстенова истог хиралитета) од нето хиралитета *s-cis* изомера (три пара хелатних прстенова истог хиралитета) па се може очекивати и мањи конфигурациони допринос ротационој моћи *uns-cis* изомера у односу на *s-cis* изомере ових комплекса као што је то и експериментално нађено [17].



Слика 10. Λ -изомери *s-cis* и *uns-cis*-[Co(edda)(L)]ⁿ комплекса (L = бидентатни лиганд)

Знак вициналног доприноса за CD компоненте најниже енергије је позитиван у случају *SS* конфигурације азотових атома (Λ -SS-*s-cis* изомери) а негативан у случају *RR* конфигурације азотових атома (Λ -RR-*uns-cis* изомери) (Слика 10). "Ангуларни" азот *uns-cis* комплекса (атом N₂) је у стереохемијском смислу исти са N атомима *s-cis* комплекса и њихов хиралитет је условљен датим распоредом хелатних прстенова. "Планарни" азот *uns-cis* комплекса (N₁) се разликује од азота N₂ по томе што у истој равни са азотовим атомима поседује ацетатну групу. Ипак, имајући у виду да је непосредна стереохемијска околина N₁ азота слична околини N₂ азота, постоји могућност да се знак вициналног ефекта и не мења. С обзиром на то, супротно азоту N₂, азот N₁ се може означити било са R било са S конфигурацијом. У том случају очекују се два геометријски различита *uns-cis* изомера за исту (Λ) апсолутну конфигурацију edda

комплекса (Слика 10, изомери II и III). Полазећи од претпоставке да *uns-cis* изомери имају сличан вицинални ефекат као и *s-cis* изомери, доминантни CD пик *uns-cis* изомера би у случају *RR* конфигурације азотових атома био мањег интензитета (негативан вицинални, позитиван конфигурациони ефекат) од истог CD пика *uns-cis* изомера *RS* конфигурације азотових атома у ком случају би се вицинални ефекат практично поништавао. Међутим, *uns-cis* изомери (било *RR* или *RS* конфигурације азотових атома), с обзиром на хиралне доприносе (конфигурациони и вицинални) ротационој моћи треба да показују доминантне CD траке нижег интензитета у односу на одговарајуће CD траке *s-cis* изомера исте апсолутне конфигурације, што је и нађено [17]. CD спектри *s-cis*-[Co(edda)(L)]ⁿ комплекса су практично неосетљиви на природу додатних лиганата L (L = аминокиселина, ам [7], CO₃²⁻, ox, mal [9], 2NH₃, en, tn [15]). Примера ради, такви спектри приказани су на слици 11 а за случај различитих аминских edda-Co(III) комплекса [15].

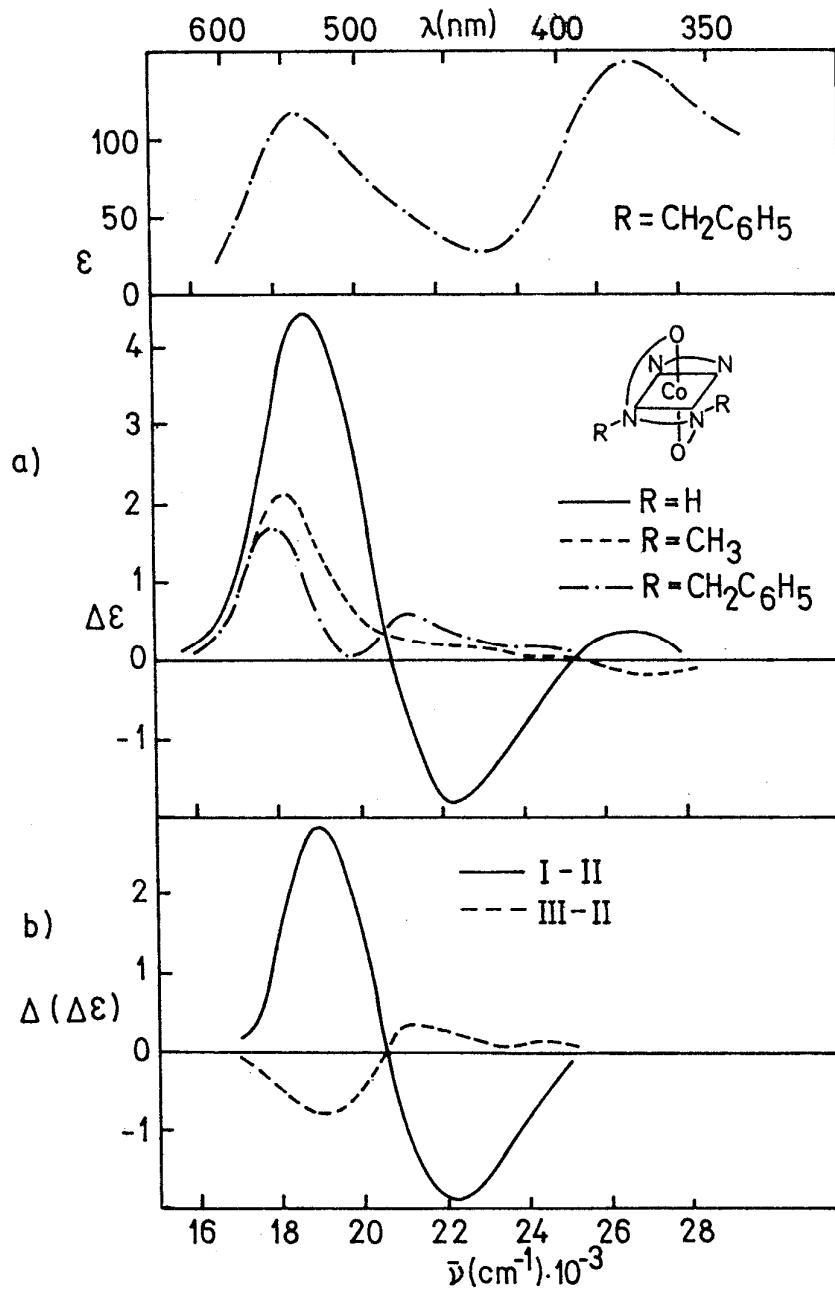


Слика 11. CD спектри Δ -*s*-*cis* изомера: (a) $[\text{Co}(\text{edda})(L)]^+$ комплекса ($L = 2\text{NH}_3, \text{en}, \text{tn}$)
 (b) $[\text{Co}(\text{edda})(\text{en})]^+$ и одговарајућих комплекса *edda* лиганда (*dmedda* и *deedda*)

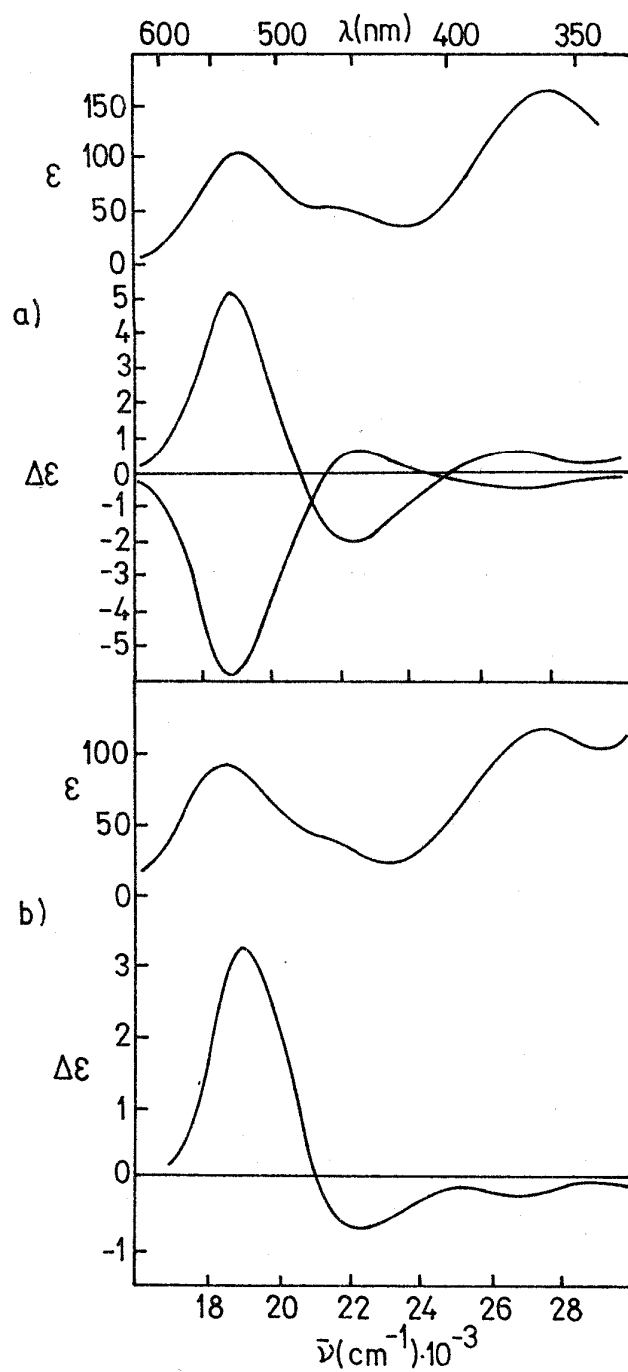
Високи CD интензитети *s-cis* edda комплекса су условљени крутом конформацијом леђног прстена edda лиганда и израженим вициналним доприносом асиметричних азотових атома. Када је бидентатни додатни лиганд L остао непромењен (L = en) а у синтези употребљени N-супституисани деривати edda лиганда (*N,N'*-диетил-етилендиамин-*N,N'*-диацетат, dmedda, и *N,N'*-диетил-етилендиамин-*N,N'*-диацетат, dedda) показано је да интензитети доминантних CD трака опадају са порастом величине N-супституената [14] (Слика 11b).

Овим је уједно и демонстриран значајан вицинални допринос асиметричних N атома у комплексима Co(III) *s-cis* конфигурације. Велики бензил супституенти на N атомима edda лиганда (dbedda лиганд) (dbedda = *N,N'*-добензил-етилендиамин-*N,N'*-диацетато јон) доводе до значајних измена у интензитетима CD трака у односу на N-метил супституенте (Слика 12a) и вицинални доприноси $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ и $-\text{H}$ супституената утичу на измену знакова CD компонената у области I апсорпционе траке (Слика 12b) [16].

У циљу испитивања вициналног доприноса асиметричних угљеникових атома 1-стилбен-диамина [56], наглашен је *s-cis*-[Co(edda)(1-stien)]⁺ (1-stien = 1-стилбен-диамин). Додатни 1-stien лиганд има *SS* конфигурацију [59] и у датом комплексу координује се стереоспецифично градећи фаворизовани изомер са доминантним CD пиком негативног знака у приносу од око 70% (Слика 13a).



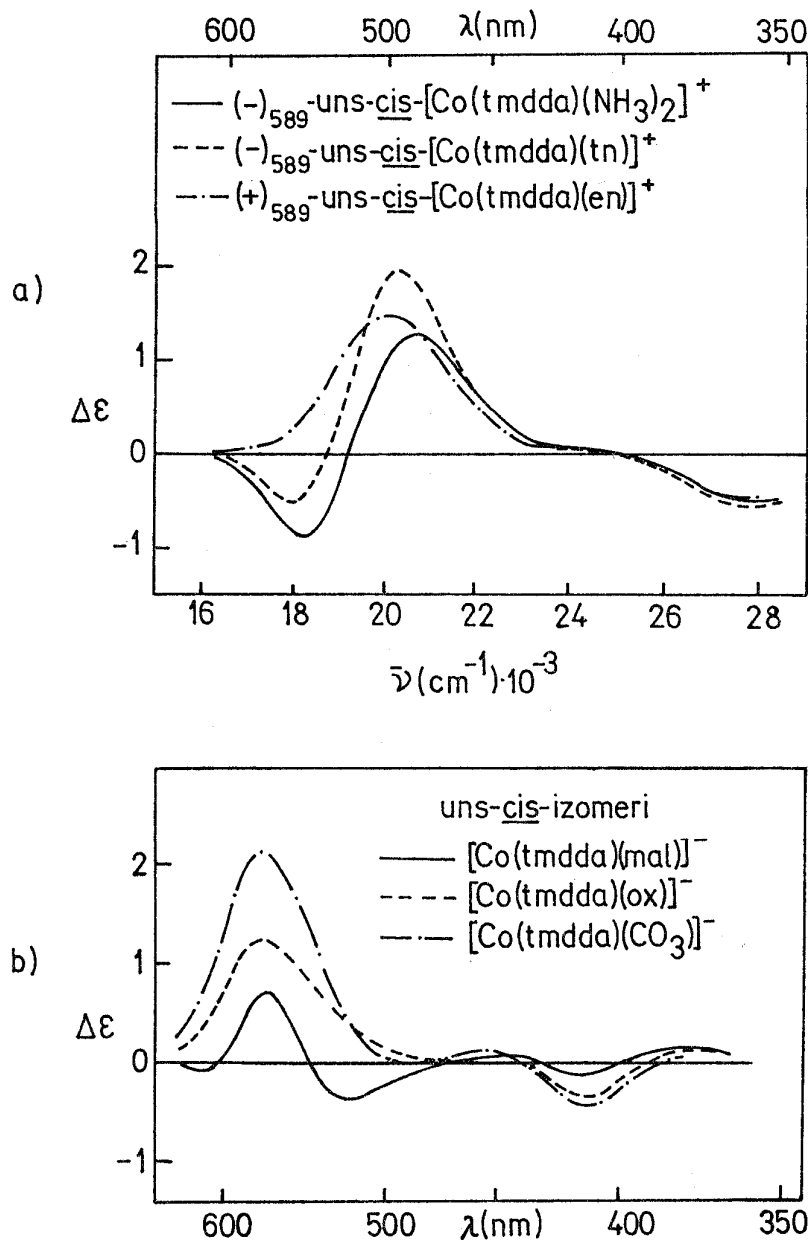
Слика 12. (а) CD спектри Λ -s-cis-[Co(edda)(en)]⁺ и одговарајућих комплекса деривата edda лиганда (dmedda и dbedda) и (b) разлика CD спектра:
 $\Delta\epsilon[\text{Co}(\text{edda})(\text{en})]^+ - \Delta\epsilon[\text{Co}(\text{dmedda})(\text{en})]^+$
 $\Delta\epsilon[\text{Co}(\text{dbedda})(\text{en})]^+ - \Delta\epsilon[\text{Co}(\text{dmedda})(\text{en})]^+$



Слика 13. CD спектри оптичких изомера: (a) Δ,Δ -s-cis-[Co(edda)(1-stien)]⁺ и (b) Δ -s-cis-[Co(1-sdda)(en)]⁺ комплекса

Овај изомер означен је као Δ изомер у складу са закључцима добивеним на бази поређења CD спектра и разматрања стерних интеракција у моделу молекула фаворизоване конфигурације [56]. Доприноси *SS*-стилбен-диамина CD кривој Δ -*s-cis*-[Co(edda)(1-stien)]⁺ комплекса су негативни у видљивој области у којој доминира допринос edda лиганда. Други, *s-cis*-[Co(1-sdda)(en)]⁺ комплекс (1-sdda = 1-стилбен-диамин-*N,N'*-диацетат) поседује леђни 1-стилбен-диамински прстен и сваки од азотових атома овога лиганда има за супституенте: -CH₂COO⁻, -H и -CHC₆H₅ групе. Специфичност *s-cis*-[Co(1-sdda)(en)]⁺ комплекса није изненађујућа с обзиром да фаворизована δ -конформација 1-sdda захтева да се два велика фенил супституента налазе у екваторијалном положају. *s-cis*-[Co(1-sdda)(en)]⁺ комплекс (Слика 13b) поседује доминантан CD пик позитивног знака и у поређењу са CD спектром (+)-*s-cis*-[Co(1-sdda)(en)]⁺ комплекса требало би да му се припише Λ -конфигурација. Међутим, Λ -*s-cis* конфигурација овог комплекса би захтевала да леђни 1-стилбен-диамински прстен има λ -конформацију која доводи велике супституенте у нефаворизовани аксијални положај. Фаворизована δ -конформација диаминског прстена са екваторијалним положајем великих супституената је очекивана само за *s-cis*-[Co(1-sdda)(en)]⁺ комплекс Δ -апсолутне конфигурације са врло израженим позитивним доприносом асиметричних N атома ротационој моћи за E прелаз. Супституенти на азотовим атомима *s-cis*-[Co(1-sdda)(en)]⁺ комплекса су много више међусобно различити у случају одговарајућих супституената edda, dmedda, deedda или dbedda комплекса што условљава да су вицинални доприноси у поменутом комплексу значајно велики. Апсолутне конфигурације N атома су (RR) за случај *s-cis* изомера Δ -[Co(edda)(en)]⁺ комплекса а (SS) за комплексе Δ -[Co(dbedda)(en)]⁺ и Δ -[Co(1-sdda)(en)]⁺. Разлика у конфигурацији азотових атома за поменуте комплексе исте апсолутне конфигурације резултира из измене приоритета супституената на азотовом атому. Пара супституисани аналози dbedda лиганда етилен-диаминског комплекса (пара метил, хлоро и нитро деривати) [56] не утичу на положај CD максимума E компонената (ниже енергије), а незнатно утичу на промене у интензитету CD спектра.

CD спектри tmdda комплекса Co(III) су такође испитивани [24,25,27]. Овај лиганд, као што је већ поменуто, с обзиром на присуство круте конформације шесточланог диаминског прстена, фаворизује грађење комплекса *uns-cis* конфигурације. CD спектри *uns-cis*-[Co(tmdda)(L)]⁺ комплекса [24] (L = 2NH₃, en или tn) (Слика 14a) су интерпретирани у складу са D_{4h} моделом.

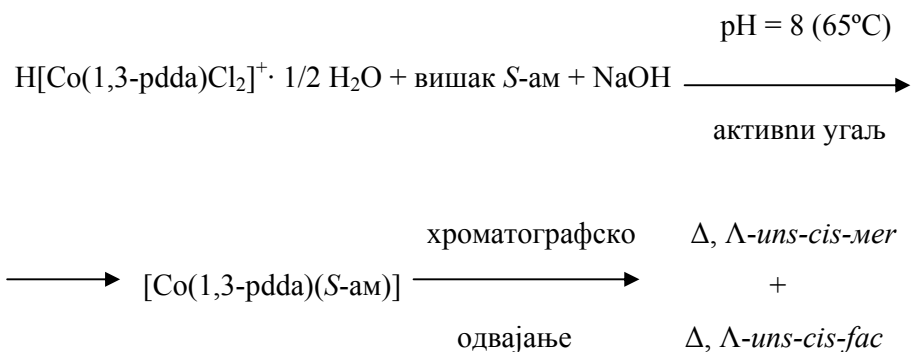


Слика 14. CD спектри Δ -uns-cis-[Co(tmdda)(L)]ⁿ комплекса: (a) $L = 2\text{NH}_3$, en, tn
(b) $L = \text{CO}_3^{2-}$, ox, mal

За комплексе $L = 2\text{NH}_3$ или tn уочене су две добро разложене CD компоненте у области прве апсорпционе траке. Ова два CD пика (-,+), су означена као компонента A_2 (ниже енергије) и E (више енергије) које су у обрнутом распореду у односу на одговарајуће компоненте s -cis-[Co(edda)(амин)]⁺ комплекса [7]. A_2 компонента ових комплекса се редукује идући од $L = 2\text{NH}_3$ ка $L = \text{tn}$ да би исчезла код етилен-

диаминског комплекса (Слика 14а). Нето ротациона моћ комплекса опада датим редом: $en > tn > 2NH_3$. Комплекси *uns-cis*-[Co(tmdda)(L)]⁺ (L = CO₃²⁻, ox, mal) су такође у складу са D_{4h} моделом, а супротно аминским комплексима A₂ (D_{4h}) компонента је више енергије од компоненте E (D_{4h}) (ниже енергије). CD спектар малонато комплекса (Слика 14b) показује три CD траке у области ниже енергије указујући на нижу симетрију овог молекула. У истој области, одговарајући карбонато и оксалато комплекси поседују само једну CD траку. Доминантне CD траке ових комплекса (или укупне ротационе моћи) опадају датим редом: CO₃²⁻ > ox > mal са повећањем величине дикарбоксилатног прстена.

Најзад, комплекси опште формуле *uns-cis*-[Co(1,3-pdda)(S-ам)] (S-ам = S-alanin (S-ala), S-valin (S-val), S-prolin (S-pro), S-H-asparaginat (S-aspH) ili S-H-glutamat (S-gluH)) су такође испитивани у светлости њихове оптичке активности [27]. *uns-cis* изомери ових комплекса су добивени из H[Co(1,3-pdda)Cl₂]⁺·1/2H₂O комплекса дејством S-амино-киселина при pH ≈ 8, а њихово одвајање извршено је хроматографски:



На тај начин изоловано је четрнаест изомера: Δ,Λ-*uns-cis-mer* у случају S-аланина, S-валина, S-пролина; Δ,Λ-*uns-cis-fac* у случају S-аспарагинске и S-глутаминске киселине. С обзиром на изражену стереоселективност, у реакцијама су доминирали *uns-cis-mer* изомери. Конфигурациони ефекат ових система је одвојен од C-вициналног ефекта додатних лиганда и CD спектри су дискутовани у складу са конфигурацијом добивених изомера.

Спектрална означавања изомера [Co(edda-типа)(L)]ⁿ комплекса извршена су применом ефективне тетрагоналне симетрије, а њихове апсолутне конфигурације изведене су углавном употребом C₂ (или D_{4h}) молекулске симетрије. Полазећи од претпоставке да су конфигурациони ефекти ових комплекса доминантни, означавање апсолутних конфигурација извршено је на бази модела предложеног од стране Mason-а и сарадника [60]. Овим моделом врши се повезивање CD спектра *cis*-CoA₄B₂ хелата са

CD спектром $[\text{Co}(\text{en})_3]^{3+}$ комплекса познате апсолутне конфигурације [61]. Применом ове методе $[\text{Co}(\text{edda-типа})(\text{L})]^n$ комплекси, који поседују доминантан CD пик позитивног знака означени су са $\Lambda\Lambda\Lambda$ (у случају *s-cis*) односно $\Lambda\Lambda\Lambda\Delta$ (у случају *uns-cis*) изомера ових комплекса [57] (нето Λ) [58]. Означавање edda и 1,3-pdda комплекса на бази корелација CD спектра [60] су такође потвђена означавањем апсолутне конфигурације Δ -*s-cis* $[\text{Co}(\text{S,S-eddp})(\text{en})]^+$ комплекса (позитивног доминантног CD пика) (*SS-eddp* = анјон етилендиамин-*N,N'*-ди-*S-α*-пропионске киселине) помоћу PMR спектра [55]. Ова истраживања укључују такође и Δ -*uns-cis*- $[\text{Co}(\text{SS-eddp})(\text{en})]^+$ комплекс (негативног доминантног CD пика). Иста означавања изомера $[\text{Co}(\text{edda-тип})(\text{L})]^n$ комплекса резултирају такође на основу укупног знака ротационе моћи у области $T_{1g}(O_h)$, како је то дато од стране Richardson-а [16,62].

1.2. ЗАДАТАК ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

У оквиру ове *докторске дисертације*, предвиђени су следећи задаци:

- Синтетисати тетрадентатни лиганд (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропионску киселину ($H_2-S,S-eddp$),
- Синтетисати одговарајуће комплексе овог лиганда са јонима хрома(III) и кобалта(III),
- Синтетисати тетрадентатни лиганд (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанску киселину ($H_2-S,S-eddv$),
- Синтетисати неке *O,O'*-диалкил естре тетрадентатног лиганда (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине ($H_2-S,S-eddv$),
- Синтетисати одговарајуће паладијум(II) комплексе са *O,O'*-диалкил естрима $H_2-S,S-eddv$ лиганда,
- Састав лиганда и комплекса утврдити на бази резултата елементалне микроанализе.
- Структуру лиганда и наgraђених комплекса предвидети на бази њихових инфрацрвених, електронских апсорпционих и нуклеарно-магнетних спектра, где год је то могуће.
- Структуру лиганда и наgraђених комплекса потврдити на бази рентгенске структурне анализе, где год је то могуће.
- Испитати антимикуробну активност наgraђених комплекса метала са наведеним лигандима.

2. Е К С П Е Р И М Е Н Т А Л Н И Д Е О

2.1. Синтезе лиганата и комплекса паладијум(II) јона

2.1.1. Синтеза (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине, **H₂eddl**

(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанска киселина је синтетисана према већ раније описаном поступку [64].

У раствор добијен растварањем 10 g (0,25 mol) NaOH у 40 cm³ воде дода се 32,78 g (0,25 mol) *S*-леуцина. Раствор се рефлуктује за време од три сата уз постепено додавање 23,48 g (0,125 mol) 1,2-дибром-етана и 13,14 g (0,125 mol) Na₂CO₃. Хлађењем и подешавањем рН вредности на 5 помоћу раствора HCl (1:1) издваја се бели талог (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине који се испере са водом и осуши на ваздуху. Принос 42,5 g (89,63%). Добијена (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанска киселина се прекристалисава растварањем у врелој води уз додатак концентроване HCl (рН > 1) и дужим стајањем на собној температури.

Анализа: израчунато за (*S,S*)-H₂eddl·2HCl·H₂O = C₁₄H₃₂N₂O₅Cl₂: C, 44,33; H, 8,50; N, 7,38%. Нађено: C, 44,69; H, 8,10; N, 7,49%.

IR (cm⁻¹): 3451, 3083, 2957, 2871, 1579, 1470, 1396, 1063, 798, 673, 540.

¹H NMR (200 MHz, D₂O, ppm): 0,94 (d, 12H, C₆,7H₃), 1,65 (m, 4H, C₄H₂), 1,72 (m, 2H, C₅H), 3,18 (m, 4H, C₁H₂), 3,75 (t, 2H, C₂H).

¹³C NMR (200 MHz, D₂O, ppm): 23,79 (C₆,7H₃), 24,93 (C₅H), 27,04 (C₄H₂), 42,66 (C₁H₂), 56,29 (C₂H), 178,39 (COO⁻).

2.1.2. Синтезе диалкил естара (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине (*S,S*)-R₂eddl (L1-L4)

Диалкил естри (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине, добијени су у облику дихидрохлорида: **L1**: *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентаноат, (*S,S*)-Et₂eddl, **L2**: *O,O'*-дипропил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентаноат, (*S,S*)-Pr₂eddl, **L3**: *O,O'*-дибутил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-

метил)-пентаноат, (*S,S*)-Bu₂eddl и **L4**: *O,O'*-дипентил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентаноат, (*S,S*)-Pe₂eddl, а синтетисани су по доле наведеној општој методи.

У балон од 150 cm³ који садржи 50 cm³ одговарајућег апсолутног алкохола (етанол, *n*-пропанол, *n*-бутанол, *n*-пентанол) охлађеног на 0°C у леденом купатилу лагано се укапава тионил-хлорид (4,0 cm³, 55 mmol) током једног сата. Након тога у балон се дода 2,00 g (5,54 mmol) (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине дихидрохлорида, (*S,S*)-H₂eddl·2HCl, и суспензија се рефлукује 16 сати на температури кључања одговарајућег алкохола. Смеша се процеди, филтрат остави у фрижидеру неколико дана. Добијени бели производ се процеди, испере одговарајућим алкохолом и осуши на ваздуху. Нумерација атома је дата на слици 15.

L1·2HCl·H₂O: Принос 1,120 g, 48,78%. Анализа: израчунато за (*S,S*)- Et₂eddl = C₁₈H₃₈N₂O₄Cl₂·H₂O: C, 49,65; H, 9,25; N, 6,43%. Нађено: C, 49,73; H, 8,79; N, 6,44%.

IR (cm⁻¹): 3457, 2975, 2719, 2622, 2527, 2403, 1737, 1546, 1476, 1216, 1066, 1015, 803

¹H NMR* (200 MHz, D₂O, δ ppm): 0,96 (d, 12H, 3J_{H,H} = 5,68, C^{6,7}H₃), 1,33 (t, 4H, C⁹H₃), 1,79 (m, 4H, C⁴H₂), 1,92 (m, 2H, C⁵H), 3,49 (s, 4H, C¹H₂), 4,17 (m, 2H, C²H), 4,35 (q, 4H, C⁸H₂).

¹³C NMR* (50 MHz, D₂O, δ ppm): 16,1 (C⁹H₃), 23,7 и 24,9 (C^{6,7}H₃), 27,1 (C⁵H), 41,2 (C⁴H₂), 45,3 (C¹H₂), 62,2 (C₂H), 66,8 (C⁸H₂), 173,02 (COOR).

L2·2HCl·0.5H₂O: Принос 0,980 g, 40,90%. Анализа: израчунато за (*S,S*)-Pr₂eddl = C₂₀H₄₂N₂O₄Cl₂·0.5H₂O: C, 52,86; H, 9,54; N, 6,16%. Нађено: C, 52,74; H, 9,21; N, 6,36%.

IR (cm⁻¹): 3453, 2966, 2721, 2621, 2528, 2407, 1735, 1547, 1472, 1210, 1065, 927, 802.

¹H NMR* (200 MHz, D₂O, δ ppm): 0,93 (t, 6H, C¹⁰H₃), 0,95 (d, 12H, 3J_{H,H} = 6,10, C^{6,7}H³), 1,60-2,00 (m, 6H, C⁴H₂, C⁵H), 1,76 (m, 4H, C⁹H₂), 3,51 (s, 4H, C¹H₂), 4,15 (m, 2H, C²H), 4,25 (t, 4H, 3J_{H,H} = 6.48 C⁸H₂).

¹³C NMR* (50 MHz, D₂O, δ ppm): 14,0 (C¹⁰H₃), 25,1 (C⁹H₂), 25,6 и 28,4 (C^{6,7}H₃), 28,7 (C⁵H), 42,6 (C⁴H₂), 46,6 (C¹H₂), 63,7 (C₂H), 73,6 (C⁸H₂), 174,3 (COOR).

L3·2HCl·H₂O: Принос 1,020 g, 39,38%. Анализа: израчунато за (*S,S*)-Bu₂eddl = C₂₂H₄₆N₂O₄Cl₂·H₂O: C, 53,75; H, 9,84; N, 5,69%. Нађено: C, 53,29; H, 9,48; N, 5,78%.

IR (cm⁻¹): 3455, 2963, 2716, 2619, 2526, 2405, 1736, 1546, 1470, 1209, 1062, 925, 803.

¹H NMR* (200 MHz, D₂O, δ ppm): 0,91 (t, 16H, C¹¹H₃), 0,95 (d, 12H, 3J_{H,H} = 5,04, C^{6,7}H₃), 1,38 (m, 4H, C¹⁰H₂), 1,60-2,00 (m, 6H, C⁴H₂, C⁵H), 1,69 (m, 4H, C⁹H₂), 3,47 (s, 4H, C¹H₂), 4,15 (m, 2H, C²H), 4,30 (t, 4H, C⁸H₂).

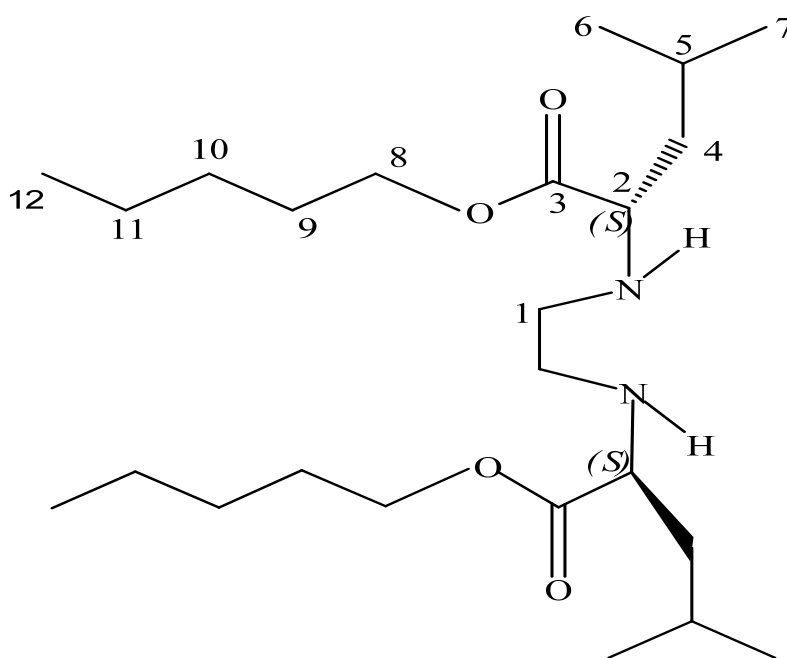
¹³C NMR* (50 MHz, D₂O, δ ppm): 15,8 (C¹¹H₃), 21,5 (C¹⁰H₂), 23,7 и 25,0 (C^{6,7}H₃), 27,2 (C⁹H), 32,7 (C⁵H₂), 41,3 (C⁴H₂), 45,4 (C¹H₂), 62,2 (C₂H), 70,4 (C⁸H₂), 173,3 (COOR).

L4·2HCl·H₂O: Принос 0,960 g, 35,05%. Анализа: израчунато за (S,S)- Pr₂eddl = C₂₄H₅₀N₂O₄Cl₂·H₂O: C, 55,47; H, 10,08; N, 5,39%. Нађено: C, 55,32; H, 9,83; N, 5,14%.

IR (cm⁻¹): 3452, 2960, 2726, 2623, 2525, 2401, 1736, 1543, 1470, 1211, 1066, 956, 798.

¹H NMR* (200 MHz, D₂O, δ ppm): 0,91 (t, 6H, 3J_{H,H} = 7,20, C¹²H₃), 0,99 (d, 12H, 3J_{H,H} = 5,40, C^{6,7}H₃), 1,36 (m, 8H, C^{10,11}H₂), 1,60-2,00 (m, 6H, C₄H₂, C₅H), 1,74 (m, 4H, C⁹H₂), 3,53 (s, 4H, C¹H₂), 4,22 (m, 2H, C²H), 4,32 (t, 4H, C⁸H₂).

¹³C NMR* (50 MHz, D₂O, δ ppm): 16,15 (C¹²H₃), 23,25 (C¹¹H₃), 26,94 (C¹⁰H₂), 30,27 (C⁹H₂), 24,51 (C^{6,7}H₃), 24,99 (C⁵H), 41,37 (C⁴H₂), 45,40 (C¹H₂), 62,24 (C²H), 70,62 (C⁸H₂), 173,36 (COOR).



Слика 15. Нумерација атома коришћених у означавању сигнала у NMR спектрима

2.1.3. Синтеза комплекса паладијума(II) са диалкил естрима

(S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине 1-4

Комплекси паладијума(II) са диалкил естрима (S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине су добијени мешањем 10 cm³ воденог раствора K₂[PdCl₄] (0,200 g, 0,610 mmol) и одговарајућих лиганата ((S,S)-Et₂eddl·2HCl·H₂O: 0,267g, 0,610 mmol; (S,S)-Pr₂eddl·2HCl·H₂O: 0,277g, 0,61mmol; (S,S)-Bu₂eddl·2HCl·H₂O: 0,301 g, 0,610

mmol; (*S,S*)-Pe₂eddl·2HCl·H₂O: 0,318g, 0,610mmol). Током мешања од 2 сата, у реакциону смешу се укапава 10 cm³ воденог раствора LiOH (0,0293 g, 1,220 mmol). Након укапавања добијени су жути талози комплекса, који се процеде, исперу са мало ледене воде и осуше на ваздуху.

[PdCl₂L1]·0,5H₂O (1): Принос 0,260 g, 80,00%. Анализа: израчунато за [PdCl₂{(*S,S*)-Et₂eddl}] = C₁₈H₃₆N₂O₄Cl₂Pd·0,5H₂O: C, 40,73; H, 7,02; N, 5,27%. Нађено: C, 40,83; H, 6,93; N, 5,44%.

IR (cm⁻¹): 3088, 2960, 2872, 1739, 1468, 1370, 1239, 1194, 1143, 1024, 934, 849, 774.

¹H NMR* (200 MHz, CDCl₃, δ ppm): 0,94 (d, 12H, 3J_{H,H} = 3,66, C^{6,7}H₃), 1,28 (t, 6H, 3J_{H,H} = 7,10, C⁹H₃), 1,60-2,10 (m, 6H, C⁴H₂, C⁵H), 2,52 (m, 4H, C¹H₂), 3,48 (q, 2H, C²H), 4,33 (m, 4H, C⁸H₂), 6,30-6,50 (s, 2H, NH).

¹³C NMR* (50 MHz, CDCl₃, δ ppm): 14,1 (C⁹H₃), 21,7 (C^{6,7}H₃), 24,6 (C⁵H), 37,7 (C⁴H₂), 48,9 (C¹H₂), 59,6 (C²H), 61,6 (C⁸H₂), 169,6 (COOR).

[PdCl₂L2] (2): Принос 0,300 g, 89,45%. Анализа: израчунато за [PdCl₂{(*S,S*)-Pr₂eddl}] = C₂₀H₄₀N₂O₄Cl₂Pd: C, 43,68; H, 7,33; N, 5,09%. Нађено: C, 43,33; H, 7,12; N, 5,03%.

IR (cm⁻¹): 3143, 2961, 2875, 1739, 1468, 1389, 1241, 1195, 1144, 1057, 946, 845, 775.

¹H NMR* (200 MHz, CDCl₃, δ ppm): 0,92 (d, 12H, 3J_{H,H} = 3,74, C^{6,7}H₃), 1,07 (t, 6H, 3J_{H,H} = 6,82, C¹⁰H₃), 1,60-2,10 (m, 6H, C⁴H₂, C⁵H), 1,70 (m, 4H, C⁹H₂), 2,54 (m, 4H, C¹H₂), 3,48 (q, 2H, C²H), 4,25 (m, 4H, C⁸H₂), 6,30-6,50 (s, 2H, NH).

¹³C NMR* (50 MHz, CDCl₃, δ ppm): 10,4 (C¹⁰H₃), 21,9 (C^{6,7}H₃), 22,7 (C⁹H₂), 26,0 (C⁵H), 37,8 (C⁴H₂), 49,3 (C¹H₂), 60,3 (C²H), 67,2 (C⁸H₂), 171,5 (COOR).

[PdCl₂L3] (3): Принос 0.330 g, 93.19%. Анализа: израчунато за [PdCl₂{(*S,S*)-Bu₂eddl}] = C₂₂H₄₄N₂O₄Cl₂Pd: C, 45,72; H, 7,67; N, 4,84%. Нађено: C, 45,49; H, 7,78; N, 4,77%.

IR (cm⁻¹): 3133, 2960, 2872, 1740, 1466, 1369, 1241, 1197, 1143, 1089, 938, 844, 736.

¹H NMR* (200 MHz, CDCl₃, δ ppm): 0,93 (d, 12H, 3J_{H,H} = 6,60, C^{6,7}H₃), 1,08 (t, 6H, 3J_{H,H} = 7,40, C¹¹H₃), 1,40 (sex, 4H, C¹⁰H₂), 1,60-2,10 (m, 6H, C⁴H₂, C⁵H), 1,70 (m, 4H, C⁹H₂), 2,55 (m, 4H, C¹H₂), 3,20 (m, 2H, C²H), 4,28 (t, 4H, C⁸H₂) 6,20-6,60 (m, 2H, NH).

¹³C NMR* (50 MHz, CDCl₃, δ ppm): 13,6 (C¹¹H₃), 19,1 (C^{6,7}H₃), 21,6 (C¹⁰H₂), 25,9 (C⁵H), 30,4 (C⁹H₂), 38,9 (C⁴H₂), 48,9 (C¹H₂), 60,3 (C²H), 65,5 (C⁸H₂), 171,5 (COOR).

[PdCl₂L4]·2,5H₂O (4): Принос 0,290 g, 72,72%. Анализа: израчунато за [PdCl₂{(*S,S*)-Pe₂eddl}] = C₂₄H₄₈N₂O₄Cl₂Pd·2,5H₂O: C, 44,27; H, 8,20; N, 4,30%. Нађено: C, 43,79; H, 8,01; N, 4,57%.

IR (cm⁻¹): 3139, 2959, 2870, 1741, 1466, 1369, 1229, 1197, 1129, 1070, 971, 730.

¹H NMR* (200 MHz, CDCl₃, δ ppm): 0,91 (t, 6H, 3J_{H,H} = 6,60 C¹²H₃), 1,03 (d, 12H, 3J_{H,H} = 6,60 C^{6,7}H₃), 1,33 (m, 8H, C^{10,11}H₂), 1,60-2,20 (m, 6H, C⁴H₂, C⁵H), 1,66 (m, 2H, C⁹H), 3,20 (m, 4H, C¹H₂), 3,84 (m, 2H, C²H), 4,19 (t, 4H, C⁸H₂). 5,90-6,10 (s, 2H, NH).

¹³C NMR* (50 MHz, CDCl₃, δ ppm): 13,8 (C¹²H₃), 22,1 (C^{6,7}H₃), 2,7 (C¹¹H₂), 24,9 (C¹⁰H₂), 27,9 (C⁹H₂), 28,0 (C⁵H₂), 40,9 (C⁴H₂), 42,8 (C¹H₂), 55,4 (C²H), 66,0 (C⁸H₂), 172,3 (COOR).

2.1.4. *In vitro* антимикуробни тест паладијум(II)-комплекса

2.1.4.1. Тестиране супстанце

Тестирана једињења су растворена у DMSO и потом разређени течним хранљивим медијумом до концентрације DMSO од 10%. Антибиотик доксициклин (Галеника А.Д., Београд) растворен је у течном хранљивом медијуму Милер-Хинтоновог бујона (Торлак, Београд), док је антимикуробик флуконазол (Pfizer Inc., USA) растворен у Сабурат декстрозном бујону (Торлак, Београд).

2.1.4.2. Тестирани микроорганизми

Антимикуробна активност припремљених једињења тестирана је на 15 микроорганизма. Експеримент укључује 5 сојева патогених бактерија: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* (клинички изолат) and *Escherichia coli* (клинички изолат); 6 врста патогених гљива: *Aspergillus fumigatus* PMFKG-F23, *Aspergillus flavus* PMFKG-F24, *Aspergillus restrictus* PMFKG-25, *Aspergillus niger* PMFKG-26 and *Aspergillus niger* ATCC 16404, једну врсту квасца *Candida albicans* (клинички изолат); четири врсте пробиотика: *Lactobacillus plantarum* PMFKG-P31, *Bacillus subtilis* IP 5832 PMFKG-P32, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* PMFKG-P33 and *Saccharomyces boulardii* Сви клинички изолати великодушан су поклон Института за Јавно Здравље, Крагујевац. Остали микроорганизми обезбеђени су из колекције Лабораторије за Микробиологију, Природно-математички факултет, Универзитета у Крагујевцу.

2.1.4.3. Припрема суспензија

Суспензије бактерија и гљива припремљене су методом директних колонија. Колоније су изоловане директно са плоче и суспендоване у 5 cm^3 стерилног раствора 0,85% кухињске соли. Замућеност иницијалне суспензије подешена је поређењем са 0,5 МекФарландовог стандарда ($0,5 \text{ cm}^3$ 1,17% w/v $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + $99,5 \text{ cm}^3$ 1% w/v H_2SO_4) [65]. Након подешавања замућености 0,5 МекФарландовим стандардом бактеријална суспензија садржи око 10^8 јединица способних за формирање колонија (CFU) cm^{-3} , док суспензија квасца садржи око 10^6 CFU cm^{-3} . Разблажење од 1:100 иницијалне суспензије посебно је припремљено у стерилном раствору 0,85% кухињске соли. Суспензије гљивичних спора припремљене су лаганим скидањем спора са растуће филаментозне гљиве. Резултирајућа суспензија је била разблажена 1:1000 у стерилном раствору 0,85% кухињске соли.

2.1.4.4. Микродилуциона метода

Антимикробна активност је тестирана одређивањем минималне инхибиторне концентрације (МИК) и минималне микробицидне концентрације (ММК) методом микродилуције са резофурином [66]. Микротитер плоча са 96 бунарића третиране су са по $100 \mu\text{L}$ хранљивог бујона по бунарићу, Милер-Хинтоновим бујоном за бактерије и Сабуроа декстрозним бујоном за гљиве и квасце. Додано је $100 \mu\text{L}$ основног раствора тестиране супстанце (концентрације $2000 \mu\text{g cm}^{-3}$) у први ред плоче. Потом је изведено двоструко серијско разблажење вишеканалном пипетом. Добијена концентрација је у распону од 1000 до $7,81 \mu\text{g cm}^{-3}$. $10 \mu\text{L}$ разблажене суспензије бактерија, квасца и спора додано је у сваки бунарић дајући коначну концентрацију од $5 \cdot 10^5$ CFU cm^{-3} за бактерије и $5 \cdot 10^3$ CFU cm^{-3} за квасце и гљиве. Коначно, $10 \mu\text{L}$ раствора резофурина додано је у сваки бунарић третиран бактеријама и квасцима. Резофурин је оксидоредукциони индикатор коришћен за евалуацију микробног раста. То је плава нефлуоресцентна боја која прелази у флуоресцентну розе када је у свом редукованом стању резофурина, настала деловањем оксидоредуктаза унутар живих ћелија. Третиране плоче инкубиране су на 37°C 24 сата код бактерија, 28°C 48 сата код квасаца и 28°C за 72 сата код гљива. МИК дефинисана је као најнижа концентрација тестиране супстанце при којој не долази до промене боје ресазурина из плаве у розе. Код гљива, МИК вредности

тестираних супстанци одређиване су као најнижа концентрација која видљиво инхибира раст мицелија.

Доксициклин и флуконазол коришћени су као позитивна контрола. Контрола растварача изведена је проучавањем ефекта 10% ДМСО на раст микроорганизама. Такође, треба напоменути да је током експеримента концентрација ДМСО додатно смањивана због двоструког серијског разблаживања (радна концентрација је 5% и мање). Сваки тест укључивао је и контролу раста и контролу стерилности. Сви тестови рађени су у дупликату и МИК вредности су константне.

Минимална бактерицидна и фунгицидна концентрација одређивана је пребацивањем 10 μL узорка на хранљиви агарни медијум из бунарића где није примећена промена боје индикатора. На крају инкубационог периода најнижа концентрација где нема раста (нема колонија) дефинисана је као минимална микробицидна концентрација.

2.1.4.5. *Статистичка анализа*

Све статистичке анализе су извршене коришћењем СПСС пакета. Резултати за су приказани као средња вредност \pm СД. Студентски упарени т-тест је био коришћен за поређење концентрације између лиганада и паладијум(II)-комплекса. Разлике између група (једињења, микроорганизми) су анализирани коришћењем 1-фактор АНОВА. У свим случајевима Р вредности <0.05 су сматране статистички значајним.

2.1.5. Синтеза 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-диона

Смеша 3-ацетил 4-хидроксикумарина (0,4 g, 0,002 mol) и 2-аминоетанола (0,12 g, 0,002 mol) у метанолу (50 cm^3) се рефлуктује један сат. Ток реакције се прати TLC хроматографијом (толуен : ацетон = 7 : 3). Запремина реакционе смеше се смањи на четвртину од почетне. Стајањем на собној температури издвајају се бели кристали 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-диона који се процеде, осуше и прекристалишу из етанола. Принос: 0,48 g (97 %). Т.Т: 181-183 °С.. Анализа: Израчунато за $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ (Мр: 247,25): С, 63,15; Н, 5,30; N, 5,67. Нађено: С, 62,78; Н, 5,10; N, 5,87.

IR (KBr, cm^{-1}) 3412 (NH), 3300 (OH), 3050 (=CH), 2948, 2894 (CH), 1661 (C=O од 2,4-диоксохроманског дела), 1615, 1592, 1573 и 1487 (C=C)_{ar} cm^{-1} ;

¹H NMR (200 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 2,19 (br s, 1H, OH), 2,77 (s, 3H, CH₃-C-1'), 3,73 (t, 2H, CH₂-C-2", ³J = 5,8 Hz), 4,12 (t, 2H, CH₂-C-1", ³J = 5,8 Hz), 7,18 (2H, m, C-H-6, C-H-7), 7,55 (1H, dd, ³J_{H-8, H-7}=8,10 Hz, ⁴J_{H-8, H-6}=2,11 Hz, C-H-8), 8,05 (1H, dd, ³J_{H-5, H-6}=7,99 Hz, ⁴J_{H-5, H-7}=1,90 Hz, C-H-5), 14,62 (br s, 1H, NH);

¹³C NMR (200 MHz, DMSO) δ ppm: 18,9 (C-1'-CH₃), 46,2 (C-1"), 60,5 (C-2"), 97,4 (C-3), 116,6 (C-8), 120,6 (C-6), 123,6 (C-5), 126,0 (C-10), 133,8 (C-7), 152,2 (C-9), 153,7 (C-2), 177,1 (C-1'), 181,3 (C-4).

MS *m/z* (%): 247 (M⁺, 100), 216 (8), 204 (72), 187 (63), 175 (12), 147 (19), 121 (52), 92 (34), 67 (27).

2.1.6. Синтеза хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса

Раствору K₂PdCl₄ (0,0652 g, 0,2 mmol) у 10,0 cm³ воде се дода еквомоларна количина 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-диона (0,0495 g, 0,2 mmol), раствореног у метанолу (12,0 cm³). Смеша се загрева на воденом купатилу за време од 48 сати. За то време се издваја жути талог хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса који се процеди и прекристалисава из метанола. Принос: 0,051 g (65.7%). *Анализа*. Израчунато за C₁₃H₁₂ClNO₄Pd (*M_r* = 388,106 g/mol) (%): C, 41.23; H, 3.12; N, 3.61. Нађено: C, 41.32; H, 3.47; N, 3.88.

IR (KBr, cm^{-1}) 3425 (OH), 3067 and 3035 (=CH), 2922, 2898, 2852 and 2818 (CH), 1675 (C=O), 1605 (C=N), 1601, 1570 and 1482 (C=C)_{ar}, 524 (Pd-O), 459 (Pd-N);

¹H NMR (200 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 2.50 (s, 3H, CH₃-C-1'), 3.40 (br s, 1H, OH), 3.68 (t, 2H, CH₂-C-2", ³J = 5.3 Hz), 3.99 (t, 2H, CH₂-C-1", ³J = 5.3 Hz), 7.27 (2H, m, C-H-6, C-H-7), 7.59 (1H, dd, ³J_{H-8, H-7}=8.10 Hz, ⁴J_{H-8, H-6}=2.11 Hz, C-H-8), 7.93 (1H, dd, ³J_{H-5, H-6}=7.99 Hz, ⁴J_{H-5, H-7}=1.90 Hz, C-H-5);

¹³C NMR (200 MHz, DMSO) δ ppm: 19.6 (C-1'-CH₃), 46.6 (C-1"), 59.0 (C-2"), 96.2 (C-3), 116.2 (C-8), 120.4 (C-6), 123.7 (C-5), 125.7 (C-10), 133.6 (C-7), 152.6 (C-9), 153.1 (C-2), 176.3 (C-1'), 179.5 (C-4).

2.1.7. Кристална структура хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)-етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса

Кристали погодни за ренденску структурну анализу су добијени из матичног раствора стајањем неколико дана на собној температури.

Дифракциони подаци су сакупљени помоћу Oxford Diffraction Gemini S four-circle гониометр са Sapphire CCD detector коришћењем $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) зрака. Прикупљени подаци су обрађени коришћењем програма CrysAlisPRO [67]. Кориговани су и Лоренцови и поларизациони ефекти а примењена је и нумеричка апсорпциона корекција [67]. Структура је решена директном методом Sir 97 програма [68] а побољшана са full-matrix least-squares применом на F^2 коришћењем SHELXL-97 програма [69] као примењеног програма у WinGX програму [70]. Не-водонични атоми су утачњени анизотропски. Положаји водоникових атома су дефинисани испитивањем разлика у Fourier мапама. Н атоми из метил група и ароматичног прстена у позиционирани геометријски ($\text{C-H} = 0.96 \text{ \AA}$ са метил и $\text{C-H} = 0.93 \text{ \AA}$ код ароматичног прстена,) и редефинисани коришћењем изотропних параметара. Кристалографски подаци и параметри решавања структуре су дати у Табели 4. Сlike које представљају молекулску структуру изведене су коришћењем ORTEP-3 [71] и PLATON [72] програма.

Табела 4. Основни експериментални подаци везани за решавање структуре хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса

Кристалографски подаци	
Формула	$C_{13}H_{12}ClNO_4Pd$
M_r	388.09
Кристални систем, просторна група	Орторомбичан, <i>Pbca</i>
Температура (К)	293
a, b, c (Å)	18.373 (5), 7.324 (5), 21.280 (5)
V (Å ³)	2864 (2)
Z	8
$F(000)$	1536
Тип зрачења	Cu $K\alpha$
θ опсег (°)	4.8–72.0
μ (mm ⁻¹)	12.29
Величина кристала (mm)	0.39 × 0.15 × 0.09
Прикупљање података	
Дифрактометар	Xcalibur-Gemini S diffractometer
Извор зрачења	Enhance (Cu) X-ray Source
Абсорпциона корекција	Gaussian <i>CrysAlis PRO</i> , Agilent Technologies, Version 1.171.36.24 (release 03-12-2012 <i>CrysAlis171</i> .NET). Нумеричка корекција апсорпције је заснована на gaussian интегралу
T_{min}, T_{max}	0.119, 0.417
Број мерених, независних и обрађених [$I > 2\sigma(I)$] рефлексија	5983, 2553, 2191
R_{int}	0.029
θ values (°)	$\theta_{max} = 67.0, \theta_{min} = 4.2$
Опсег за h, k, l	$h = -10 \rightarrow 21, k = -8 \rightarrow 4, l = -24 \rightarrow 25$
Решавање	
$R[F^2 > 2s(F^2)], wR(F^2), S$	0.031, 0.088, 1.09
No. рефлексија	2553
No. параметара	203
Одређивање положаја Н атома	Положаји Н атома су одређени коришћењем и независног и ограниченог уташњавања
$(\Delta/\sigma)_{max}$	0.001
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³)	0.54, -0.43

Computer programs: *CrysAlis PRO*, Agilent Technologies, Version 1.171.36.24 (release 03-12-2012 *CrysAlis171* .NET) (compiled Dec 3 2012, 18:21:49), *SHELXL97* (Sheldrick, 1997).

2.1.8. Испитивање антитуморске активности паладијум(II) комплекса

2.1.8.1. Ћелије и реагенси

Сви реагенси су набављени од Sigma (St. Louis, MO), уколико није другачије наведено.

Хумана глиом ћелијска линија U251 је поклон од Dr. Pedro Tranque (Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, Spain), док су мишје B16 меланом ћелијска линија и мишја линија фибросаркомских ћелије L929 добијене од European Collection of Animal Cell Cultures (Salisbury, UK).

Линије туморске ћелије су држане на 37°C у влажној атмосфери са 5%CO₂, у RPMI медијуму ћелијске културе (PAA Laboratories, Pasching, Austria) допуњен са 5% феталним говеђим серумом (FCS) и пеницилин/стрептомицин.

Ћелије су припремљене за експерименте користећи конвенционални трипсински поступак са трипсин/ЕДТА и инкубирана у плочама са равним дном и 96 лежишта (1 x 104 ћелија/бунарчић) за процену одрживости ћелија, или са плочама са 24 лежишта (5 x 104 ћелија/бунарчић) за анализу проточне цитотоксичности. Ћелије су реласиране 24 сата, а затим су третиране са комплексом или лигандом, као што је описано у делу Резултати и у тексту испод графика који се односе на ова испитивања.

2.1.8.2. Одређивање виталности ћелија

МТТ [3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид] и лактат дехидрогеназе (LDH) тестови су коришћени за процену митохондријалне дехидрогеназне активност као и интегритета ћелијске мембране.

Тестови су као што је претходно описано [73]. Резултати су представљени као% од контроле одрживости (МТТ) подешен на 100%, или као% цитотоксичности (LDH), користећи Тритон Кс-100-лизиране нетретиране ћелије као позитивну контролу. IC₅₀ вредности су израчунате коришћењем GraphPad Prism софтвера.

2.1.8.3. ДНК Фрагментација и анализа апоптоза/некрозе

ДНК фрагментација је анализирана проточном цитометријом помоћу ДНК-везујуће боје пропидијум-јодид (PI) као што је претходно описано [73]

Апоптотичко/некротична ћелијска смрт анализирана је проточном цитометријом пратећи двострукост бојења са анексин V-FITC и PI, у којој анексин V се везује за апоптотске ћелија видљиве са фосфатидилсерином, док PI означава некротичне ћелије са оштећењем у мембрани.

Бојење је вршено према упутствима од стране произвођача (BD Pharmingen, San Diego, CA). Зелено/црвено (FL1/FL2) флуоросценција анексин/PI и PI-обојених ћелија је анализирана са FACSCalibur течном (BD, Heidelberg, Germany).

Број рано апоптотичних (annexin⁻/PI⁻) и касно апоптотичких (annexin⁺/PI⁻) ћелија, као и однос хиподиплоид, апоптотичних ћелија са фрагментисане ДНК (sub-G простор) одређен је коришћењем Cell Quest Pro BD) софтвера.

2.1.8.4. Активација каспаса

Активација каспазе мерена је проточном цитометријом након означавања ћелија са ћелијски пропустљивим FIT-conjugated pan-caspase инхибитором (ApoStat; R&D Systems, Minneapolis, MN) у складу са упутствима произвођача. Повећање зелене флуоресцентности (FL1), као мере активности каспазе, одређена је коришћењем FACSCalibur проточног цитометру.

2.1.8.5. Мерење митохондријског ћелијског потенцијала

Потенцијал митохондријалне мембране је процењен коришћењем DePsipher (R&D Systems, Minneapolis, MN), који је липофилни катјон и има својство везивања за мембране након поларизације уз формирање наранцасто-црвеног флуоресцентног једињења. Уколико је потенцијал митохондријске мембране нарушен, боја не може да уђе у трансмембрански простор и остаје иста или се враћа у зелени мономерни облик. Ћелије које су су обојене са DePsipher реагенсом, као и зелени мономери и наранцасто-црвени агрегати су одређиване проточном цитометријом. као што је описано од стране произвођача. Смањење наранцатсо/зеленог флуоресцентног односа (FL2/FL1) одражава митохондријску деполаризацију.

2.1.8.6. Одређивање реактивних врста кисеоника (ROS) (Reactive oxygen species)

Интрацелуларна производња реактивних врста кисеоника (ROS) је одређена мерењем интензитета емитоване зелене флуоресценције од редокс-осетљиве боје 2',7'-дицхлорофлуоресцеин-диацетата (DCFDA), док је супероксид емисија мерена коришћењем дихидроетхидиума (DHE) (оба од Life Technologies, Carlsbad, CA), према упутствима произвођача. Интензитет зелене (FL1-DCFDA) или црвене (FL2-DHE) флуоресценције, који одговара укупној количини ROS или количини емисије супероксидне врсте, одређена је коришћењем FACSCalibur проточном цитометру.

2.1.8.7. Статистичка анализа

Статистички значајна разлика између третмана је процењена коришћењем Т-теста или one-way ANOVA уз праћење са Student–Neuman–Keuls тестом за вишеструко поређење. Вредност $p < 0,05$ је сматрана значајаном.

2.2. Синтезе лиганата и комплекса хром(III)-јона

2.2.1. Синтеза (S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутанске киселине

дихлорхидрата, $H_2-(S,S)-eddv \cdot 2HCl$

(S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(2-метил)-бутанска киселина је синтетисана према већ раније описаном поступку [64].

У раствор добијен растварањем 20 g (0,5 mol) NaOH у 40 cm³ воде дода се 58,5 g (0,5 mol) S-валина. Раствор се рефлукује за време од три сата уз постепено додавање 47 g (0,25 mol) 1,2-дибром-етана и 26,28 g (0,25 molova) Na₂CO₃. Хлађењем и подешавањем рН вредности на 5 помоћу раствора HCl (1:1) издваја се бели талог (S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(2-метил)-бутанске киселине који се испере са водом и осуши на ваздуху. Принос 7,1 g (10,92%). Добијена (S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанска киселина се прекристалисава растварањем у врелој води уз додатак концентроване HCl (рН > 1) и дужим стајањем на собној температури.

Анализа: Израчунато за $\text{H}_2\text{-(S,S)-eddv}\cdot 2\text{HCl} = \text{C}_{12}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}_2$ ($M_r = 333,254 \text{ g/mol}$): С, 43,21; Н, 7,86; N, 8,41 %. Нађено: С, 43,82; Н, 8,09; N, 8,29 %.

2.2.2. Синтеза *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромат(III)-дихидрата, *s-cis*- $\text{K}[\text{Cr}(\text{S,S-eddv})(\text{ox})]2\text{H}_2\text{O}$

У 10 cm^3 воде раствори се $1,33 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mol}$) $\text{CrCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и у овај раствор дода $1,67 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mola}$) $\text{H}_2\text{eddv}2\text{HCl}$ растворених у 10 cm^3 воде и неутралисаних са раствором NaOH ($0,2 \text{ g}$ у $5 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$, $0,005 \text{ mol}$) уз мешање на $40\text{-}50^\circ\text{C}$. Добијени раствор се меша уз загревање на наведеној температури још 2 сата при чему раствор мења боју до црвено-љубичасте. У настали раствор се дода $1,01 \text{ g}$ ($0,0075 \text{ mol}$) натријум-оксалата и настави мешање на истој температури још пола сата уз подешавање рН вредности на око 6 помоћу раствора NaOH ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).

Добијени раствор се упари на малу запремину, процеди и нанесе на колону ($2 \times 30 \text{ cm}$) напуњену јоноизмењивачком смолом Dowex 1-X4 ($200\text{-}400 \text{ mesh}$) у Cl^- облику. Колона се испере дестилованом водом и елуира са $0,1 \text{ M}$ раствором KCl . Добијена је једна трака црвено-љубичасте боје која потиче од *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромата(III). Раствор комплекса се упари на малу запремину и обесоли на колони ($2,5 \times 32 \text{ cm}$) напуњеном са Sephadex-ом G-10.

Добијени елуат се упари до сува. Принос: $0,72 \text{ g}$ ($30,4\%$). Водени раствор ($0,1\%$) даје $[\alpha]_{589} = -912^\circ$ ($[\text{M}]_{589} = -4154^\circ$). Анализа: Израчунато за *s-cis*- $\text{K}[\text{Cr}(\text{S,S-eddv})(\text{ox})]2\text{H}_2\text{O} = \text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{CrKN}_2\text{O}_{10}$ ($M_r = 473,458 \text{ g/mol}$) (%): С, 35,51; Н, 5,54; N, 5,92. Нађено: С, 35,30; Н, 5,57; N, 5,83.

IR (cm^{-1}): 3453, 3217, 2969, 1649, 1466 1398, 1332, 1254, 1093, 1035, 917, 806, 646, 547, 485.

2.2.3. Синтеза *s-cis*-малонато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромат(III)-дихидрата, *s-cis*- $\text{K}[\text{Cr}(\text{S,S-eddv})(\text{mal})]2\text{H}_2\text{O}$

У 10 cm^3 воде раствори се $1,33 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mol}$) $\text{CrCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и у овај раствор дода $1,67 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mola}$) $\text{H}_2\text{eddv}2\text{HCl}$ растворених у 10 cm^3 воде и неутралисаних са раствором NaOH ($0,2 \text{ g}$ у $5 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$, $0,005 \text{ mol}$) уз мешање на $40\text{-}50^\circ\text{C}$. Добијени раствор се меша уз загревање на наведеној температури још 2 сата при чему раствор мења боју до црвено-љубичасте. У настали раствор се дода $0,78 \text{ g}$ ($0,0075 \text{ mol}$) малонске

киселине и настави мешање на истој температури још пола сата уз подешавање рН вредности на око 6 помоћу раствора NaOH ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).

Добијени раствор се упари на малу запремину, процеди и нанесе на колону (2 x 30 cm) напуњену јоноизмењивачком смолом Dowex 1-X4 (200-400 mesh) у СГ облику. Колона се испере дестилованом водом и елуира са 0,1 М раствором KCl. Добијена је једна трака црвено-љубичасте боје која потиче од *s-cis*-малонато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромата(III). Раствор комплекса се упари на малу запремину и обесоли на колони (2,5 x 32 cm) напуњеном са Sephadex-ом G-10

Добијени елуат се упари до сува. Принос: 0,55 g (22,6%). Водени раствор (0,1%) даје $[\alpha]_{589} = -628^\circ$ ($[M]_{589} = -3288^\circ$). Анализа: Израчунато за *s-cis*-K[Cr(*S,S*-eddv)(mal)]·2H₂O = C₁₅H₂₈CrKN₂O₁₀ ($M_r = 487,484 \text{ g/mol}$) (%): C, 36,96; H, 5,79; N, 5,75. Нађено (%): C, 37,12; H, 5,87; N, 5,73.

IR (cm⁻¹): 3436, 3225, 2968, 1638, 1466, 1379, 1336, 1083, 1036, 999, 971, 943, 918, 891, 867, 847, 805, 736, 646, 592, 540, 483, 466.

2.2.4. *In vitro* антимикуробни тест хром(III)-комплекса

In vitro антимикуробни тест хром(III)-комплекса извршен је на начин како је то описану у Експерименталном делу под 2.1.4. Међутим, антимикуробна активност припремљених хром(III)-комплекса тестирана је на 28 микроорганизама. Експеримент укључује 16 сојева патогених бактерија, укључујући шест стандардних сојева (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus pumilus* NCTC 8241) и десет клиничких изолата (*Escherichia coli*; *Enterococcus faecalis*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus*; *Sarcina lutea*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus cereus*; *Proteus mirabilis*; *Salmonella enterica*; *Salmonella typhimurium*). Такође, пет врсти патогених гљива (*Aspergillus fumigatus* PMFKG-F23; *Aspergillus flavus* PMFKG-F24; *Aspergillus restrictus* PMFKG-F25; *Aspergillus niger* PMFKG-F26 and standard strain *A. niger* ATCC 16404); две врсте квасца (*Candida albicans* (клинички изолат) and *C. albicans* ATCC 10231) и пет врсти пробиотика (*Lactobacillus plantarum* PMFKG-P31, *Bacillus subtilis* IP 5832 PMFKG-P32, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* PMFKGP33; *Saccharomyces boulardii* PMFKG-P34 and *Lactobacillus rhamnosus* PMFKG-P35) су тестирани. Сви клинички изолати великодушан су поклон Института за Јавно Здравље,

Крагујевац. Остали микроорганизми обезбеђени су из колекције Лабораторије за Микробиологију, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу.

2.3. Синтезе лиганата и комплекса кобалт(III)-јона

2.3.1. Синтеза (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропанске киселине, $H_2-(S,S)$ -eddp

(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропанска киселина, (H_2-S,S -eddp) је синтетисана према већ раније описаном поступку [55]

У раствор који садржи 20,00 g (0,50 mol) натријум-хидроксида лагано се, у малим порцијама додаје 44,40 g (0,50 mol) *S*-аланина. Раствор се рефлуктује уз укапавање 47,00 g (0,25 mol) 1,2-диброметана и истовремено додавање 26,00 g (0,25 mol) безводног натријум-карбоната. Раствор се рефлуктује још три сата. Након хлађена реакционе смеше и подешавања рН на 5 помоћу раствора HCl (1:1) издваја се чврст, бели производ, етилендиамин-*N,N'*-ди-*S,S*-2-пропанска киселина, који се процеди, добро испере водом и осуши на ваздуху. Принос: 5,90 g (11,60%). Анализа. Израчунато за H_2-S,S -eddp = $C_8H_{16}N_2O_4$ ($M_r = 204,246$ g/mol) (%): C, 47,04; N, 13,72; H, 7,90. Нађено: C, 47,01; N, 13,84; H, 7,81.

2.3.2. Синтеза (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутанске киселине дихлорхидрата, $H_2-(S,S)$ -eddv $2HCl$

(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(2-метил)-бутанска киселина је синтетисана према описаном поступку у 2.3.1.

2.3.3. Синтеза *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-семихидрата, *s-cis*- $K[Co(S,S$ -eddp)(ox)] $0,5H_2O$

У 10 cm³ воде раствори се 1,19 g (0,005 mol) $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ и у овај раствор дода 1,02 g (0,005 mola) $H_2-(S,S)$ -eddp растворених у 10 cm³ воде и неутралисаних са раствором NaOH (0,2 g у 5 cm³ H₂O, 0,005 mol) уз мешање на 40-50°C. Добијени раствор се меша уз загревање на наведеној температури још 2 сата уз лагано додавање 1,5 cm³ 30% H₂O₂, при чему раствор мења боју до црвено-љубичасте. У настали раствор

се дода 0,94 g (0,0075 mol) оксалне киселине дихидрата и настави мешање на истој температури још пола сата уз подешавање рН вредности на око 6 помоћу раствора NaOH (0,1 mol/dm³).

Добијени раствор се упари на малу запремину, процеди и нанесе на колону (2 x 30 cm) напуњену јоноизмењивачком смолом Dowex 1-X4 (200-400 mesh) у СГ облику. Колона се испере дестилованом водом и елуира са 0,1 М раствором KCl. Добијена је једна трака црвено-љубичасте боје која потиче од *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноато-кобалтата(III). Раствор комплекса се упари на малу запремину и обесоли на колони (2,5 x 32 cm) напуњеном са Sephadex-ом G-10.

Добијени елуат се упари до сува. Принос: 0,55 g (24,9%). Водени раствор (0,1%) даје $[\alpha]_{589} = -1332^0$ ($[M] = -5292^0$). Анализа: Израчунато за *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(ox)]·0,5H₂O C₁₀H₁₅CoKN₂O_{8,5} ($M_r = 397,27$ g/mol) (%): C, 30,23; H, 3,81; N, 7,05. Нађено: C, 30,30; H, 3,57; N, 6,83.

2.3.4. Синтеза *s-cis*-малонато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-тетрахидрата, *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(mal)]·4H₂O

У 10 cm³ воде раствори се 1,19 g (0,005 mol) CoCl₂·6H₂O и у овај раствор дода 1,02 g (0,005 mola) H₂-(*S,S*)-eddp растворених у 10 cm³ воде и неутралисаних са раствором NaOH (0,2 g у 5 cm³ H₂O, 0,005 mol) уз мешање на 40-50°C. Добијени раствор се меша уз загревање на наведеној температури још 2 сата уз лагано додавање 1,5 cm³ 30% H₂O₂, при чему раствор мења боју до црвено-љубичасте. У настали раствор се дода 0,78 g (0,0075 mol) малонске киселине и настави мешање на истој температури још пола сата уз подешавање рН вредности на око 6 помоћу раствора NaOH (0,1 mol/dm³).

Добијени раствор се упари на малу запремину, процеди и нанесе на колону (2 x 30 cm) напуњену јоноизмењивачком смолом Dowex 1-X4 (200-400 mesh) у СГ облику. Колона се испере дестилованом водом и елуира са 0,1 М раствором KCl. Добијена је једна трака црвено-љубичасте боје која потиче од *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2 пропаноато-кобалтата(III). Раствор комплекса се упари на малу запремину и обесоли на колони (2,5 x 32 cm) напуњеном са Sephadex-ом G-10.

Добијени елуат се упари до сува. Принос: 0,53 g (22,36%). Водени раствор (0,1%) даје $[\alpha]_{589} = -740^0$ ($[M] = -3510^0$). Анализа: Израчунато за *s-cis*-K[Co(*S,S*-

$\text{eddp}(\text{mal})] \cdot 4\text{H}_2\text{O} = \text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{CoKN}_2\text{O}_8$ ($M_r = 474,35 \text{ g/mol}$) (%) C, 27,85; H, 5,10; N, 5,90. Нађено (%): C, 28,25; H, 5,30; N, 5,91.

2.3.5. Синтеза *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутаноато-кобалтат(III)-трихидрата, *s-cis*- $\text{K}[\text{Co}(\text{S,S-eddv})(\text{ox})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

У 10 cm^3 воде раствори се $1,19 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mol}$) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и у овај раствор дода $1,67 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mola}$) $\text{H}_2\text{-(S,S)-eddv} \cdot 2\text{HCl}$ растворених у 10 cm^3 воде и неутралисаних са раствором NaOH ($0,2 \text{ g}$ у $5 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$, $0,005 \text{ mol}$) уз мешање на $40\text{-}50^\circ\text{C}$. Добијени раствор се меша уз загревање на наведеној температури још 2 сата уз лагано додавање $1,5 \text{ cm}^3$ 30% H_2O_2 , при чему раствор мења боју до црвено-љубичасте. У настали раствор се дода $0,94 \text{ g}$ ($0,0075 \text{ mol}$) оксалне киселине дихидрата и настави мешање на истој температури још пола сата уз подешавање рН вредности на око 6 помоћу раствора NaOH ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).

Добијени раствор се упари на малу запремину, процеди и нанесе на колону ($2 \times 30 \text{ cm}$) напуњену јоноизмењивачком смолом Dowex 1-X4 ($200\text{-}400 \text{ mesh}$) у Cl^- облику. Колона се испере дестилованом водом и елуира са $0,1 \text{ M}$ раствором KCl . Добијена је једна трака црвено-љубичасте боје која потиче од *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутаноато-кобалтата(III). Раствор комплекса се упари на малу запремину и обесоли на колони ($2,5 \times 32 \text{ cm}$) напуњеном са Sephadex-ом G-10.

Добијени елуат се упари до сува. Принос: $0,40 \text{ g}$ ($16,06\%$). Водени раствор ($0,1\%$) даје $[\alpha]_{589} = +365^0$ ($[\text{M}] = +1819^0$). Анализа: Израчунато за *s-cis*- $\text{K}[\text{Co}(\text{eddv})(\text{ox})] \cdot 3\text{H}_2\text{O} = \text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{CoKN}_2\text{O}_8$ ($M_r = 498,41 \text{ g/mol}$) (%): C, 33,96; H, 6,08; N, 5,28. Found(%): C, 34,30; H, 6,17; N, 5,30.

2.3.6. Синтеза *s-cis*-малонато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутаноато-хромат(III)-тетрахидрата, *s-cis*- $\text{K}[\text{Co}(\text{S,S-eddv})(\text{mal})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

У 10 cm^3 воде раствори се $1,19 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mol}$) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и у овај раствор дода $1,02 \text{ g}$ ($0,005 \text{ mola}$) $\text{H}_2\text{-(S,S)-eddv} \cdot 2\text{HCl}$ растворених у 10 cm^3 воде и неутралисаних са раствором NaOH ($0,2 \text{ g}$ у $5 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$, $0,005 \text{ mol}$) уз мешање на $40\text{-}50^\circ\text{C}$. Добијени раствор се меша уз загревање на наведеној температури још 2 сата уз лагано додавање $1,5 \text{ cm}^3$ 30% H_2O_2 , при чему раствор мења боју до црвено-љубичасте. У настали раствор

се дода 0,78 g (0,0075 mol) малонске киселине и настави мешање на истој температури још пола сата уз подешавање рН вредности на око 6 помоћу раствора NaOH (0,1 mol/dm³).

Добијени раствор се упари на малу запремину, процеди и нанесе на колону (2 x 30 cm) напуњену јоноизмењивачком смолом Dowex 1-X4 (200-400 mesh) у Cl⁻ облику. Колона се испере дестилованом водом и елуира са 0,1 М раствором KCl. Добијена је једна трака црвено-љубичасте боје која потиче од *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2 пропаноато-кобалтата(III). Раствор комплекса се упари на малу запремину и обесоли на колони (2,5 x 32 cm) напуњеном са Sephadex-ом G-10.

Добијени елуат се упари до сува. Принос: 0,35 g (13.67 %). Водени раствор (0,1%) даје $[\alpha]_{589} = +50^0$ ($[M] = +265^0$). Анализа: Израчунато за *s-cis*-K[Co(edval)(mal)]·4H₂O = C₁₉H₃₆CoKN₂O₈ (M_r = 530,46 g/mol) (%): C, 33,96; H, 6,08; N, 5,28. Нађено (%): C, 34,30; H, 6,17; N, 5,30.

2.3.7. Кристална структура *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-семихидрата, *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(ox)]·0,5H₂O

Подаци дифракције X-зрака прикупљени су дифракцијом на монокристалу *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(ox)]·0,5H₂O на собној температури на Agilent Gemini S дифрактометру са MoK α зрацима ($\lambda = 71073$ Å). Обрада података и емпиријске корекције су извршене користећи CrysAlisPro [75]. Кристална структура је решена директном методом, користећи SIR2002 програм [76] и утачњавање је извршено помоћу SHELXL програма [77]. Атоми водоника су постављени у геометријски идеализоване позиције са C-H растојањима до 0,98, 0,97 и 0,96 Å из метин, метилен и метил C (sp³) атоме N-H растојањима на 0,91 Å. Одговарајући изотропни параметри померања атома водоника су једнаки 1,2 U_{eq} и 1,5 U_{eq} од порекла C и N атома. Атоми водоника везани за молекулу воде у кристалној решетки је лоциран на бази Fourier-ове мапе. Координате ових H атома су фиксирани на бази ралзила у овим мапама е, док њена U_{iso} је слободно решена. Кристалографски подаци су наведени у табели 5. PARST [78] и PLATON [79] програми су коришћени за геометријски обрачун и програм ORTEP [80] је коришћен за молекуларну графику.

Табела 5. Основни експериментални подаци везани за решавање структуре *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-семихидрата, *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(ox)] \cdot 0,5H₂O

Емпиријска формула	C ₁₀ H ₁₆ CoK ₂ N ₂ O ₉
Молекулска маса	397.27
Боја, облик тристала	Љубичаста, призматичан
Величина кристала (mm ³)	0.34 x 0.29 x 0.25
Температура (К)	293(2)
Таласна дужина(Å)	0.71073
Кристални систем	Орторомбичанс
Просторна група	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2
Димензије ћелије	
<i>a</i> (Å)	8.2067(5)
<i>b</i> (Å)	26.3185(13)
<i>c</i> (Å)	6.6034(4)
<i>V</i> (Å ³)	1426.26(14)
<i>Z</i>	4
<i>D</i> _{calc} (Mg/m ³)	1.850
μ (mm ⁻¹)	1.542
θ опсег прикупљања података (°)	3.10 to 28.95
Број рефлексација	9656
Број независних рефлексација, <i>R</i> _{int}	3289, 0.0533
Completeness (%) to $\theta = 26^\circ$	99.8
Метода решавања структуре	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²
Подаци/ ограничења/ параметри	3289/ 0 / 207
Апсолутни структурни параметар	0.09(4)
Утачњеност <i>F</i> ²	1.228
Финални <i>R</i> ₁ / <i>wR</i> ₂ за [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0.0690/0.1696

2.3.8. *In vitro* антимикуробни тест кобалт(III)-комплекса

In vitro антимикуробни тест кобалт(III)-комплекса извршен је на начин како је то описану у Експерименталном делу под 2.1.4. Међутим, антимикуробни тест кобалт(III)-комплекса извршен је на 13 микроорганизама. Експеримент је укључио 5 стандардних патогених бактерија (*Escherichia coli* (клинички изолат), *Proteus mirabilis* (клинички изолат); *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212); пет врста патогених гљива (*Candida albicans* (клинички изолат), *Aspergillus fumigatus* PMFKG-F23; *Aspergillus flavus* PMFKG-F24;

Aspergillus restrictus PMFKG-F25 и *Aspergillus niger* PMFKG-F26) и три врсте пробиотика (*Lactobacillus plantarum* PMFKG-P31, *B. subtilis* IP 5832 PMFKG-P32, и *Saccharomyces boulardii* PMFKG-P34).

Сви клинички изолати великодушан су поклон Института за Јавно Здравље, Крагујевац. Остали микроорганизми обезбеђени су из колекције Лабораторије за Микробиологију, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу.

2.4. Мерења

2.4.1. ^1H и ^{13}C нуклеарно-магнетно-резонанциони спектри

Снимање ових спектра вршено је помоћу спектрофотометра Varian Gemini-200 NMR користећи D_2O као растварач. Хемијска померања су дата у односу на TMS (триметилсилан), употребом DDS као инертног стандарда.

2.4.2. Електронски апсорпциони и циркуларно дихроични спектри

Електронски апсорпциони спектри снимљени су помоћу Perkin-Elmer Lambda 35 double-beam UV-VIS спектрофотометра. За снимање спектра употребљени су водени раствори концентрације $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ у кивети дужине 1 cm.

Циркуларно дихроични спектри снимљени су помоћу JASCO-815 Spectropolarimeter апарата. За снимање спектра употребљени су водени раствори концентрације 0,1%.

2.4.3. Инфрацрвена спектроскопија

Инфрацрвени спектри снимљени су помоћу спектрофотометра Perkin-Elmer FTIR 31725X (КВr-техника).

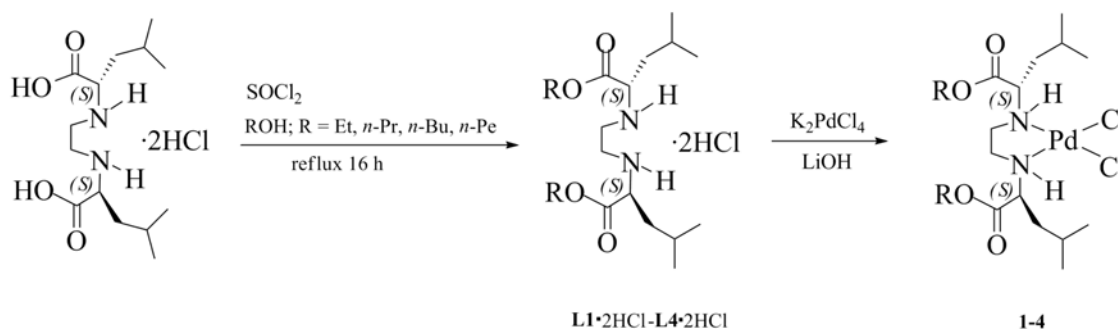
2.4.4. Микроанализа

Елементална анализа за C, H and N урађена је помоћу апарата Vario EL III C, H, N, S Elemental Analyzer.

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

3.1. Синтеза и карактеризација и антимикуробна активност диалкил естера (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске киселине (*S,S*)-*R*₂eddl (**L1-L4**) и одговарајућих комплекса паладијум(II)-јона **1-4**

Сви естри (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(4-метил)-пентанске, киселине и одговарајући комплекси паладијум(II)-јона **C1-C4** синтетисани су модификованом методом која је раније описана [64,81–83] (Шема 1).



Шема 1. Синтеза естера **L1**·2HCl–**L4**·2HCl и одговарајућих паладијум(II) комплекса **1–4**.

Естри нису растворни у хлороформу, али су нешто боље растворни у води, метанолу, диметил-сулфоксиду, као и у алкохолу у индивидуално употребљеним за појединачне естерификације. Комплекси су растворни у хлороформу и диметил-сулфоксиду, али не у води.

3.1.1 Инфрацрвени спектри

Инфрацрвени спектри изолованих лиганата спектри лиганата и одговарајућих комплекса су слични одговарајућим спектрима структурно личних лиганата и комплекса који су претходно објављени [84,85]. Апсорпционе траке за секундарне

амино групе у комплексима **1-4** су нађене на 3088, 3143, 3133 и 3139 cm^{-1} , што указује координацију лиганда за централни јон метала. Исте траке у инфрацрвеним спектрима лиганда **L1**·2HCl–**L4**·2HCl су нађене на 3457, 3453, 3455 and 3452 cm^{-1} .

Све друге специфичне траке у спектрима су нађене на сличним положајима и за лиганда и за одговарајуће комплексе, што указује да нема других атома из лиганда координираних са паладијум(II)-јон (види Експериментални део).

3.1.2. Електронски апсорпциони спектри комплекса

Електронски апсорпциони спектри испитиваних паладијум(II)-комплекса **1-4** су међусобно веома слични по изгледу и апсорпциони максимуми су дати у Табели 6.

Табела 6. Електронски апсорпциони спектри испитиваних паладијум(II)-
-комплекса

Комплекс	$\lambda(\text{nm})$	$\epsilon(\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$	Литература
$[\text{PdCl}_2\text{L1}] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (1)	393	161,1	Овај рад
$[\text{PdCl}_2\text{L2}] \cdot$ (2)	399	156,1	Овај рад
$[\text{PdCl}_2\text{L3}] \cdot$ (3)	399	143,9	Овај рад
$[\text{PdCl}_2\text{L4}] \cdot$ (4)	399	146,2	Овај рад
PdCl_4^{2-}	474	161	21
$[\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$	378	83	21

На основу изгледа и положаја апсорпционих максимума изолованих комплекса (**1-4**) паладијум(II) јон поседује квадратно-панарну геометрију. За паладијум(II) комплексе са D_{4h} молекулском геометријом очекивани су електронски d-d прелази ($^1A_{1g} \rightarrow ^1A_{2g}$) у области 350–500 nm [86,87].

У раствору сви изоловани комплекси **1-4** су врло сличне жуто-оранж боје. Скоро исти положај апсорпционих максимума у UV/Vis спектрима комплекса сугерише квадратно-панарну околинину око паладијум(II)-јона. Померање положаја d-d електронских прелаза за Pd(II)-јон од 474 nm за $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ [86] до ≈ 400 nm за комплексе **1-4** може се објаснити изменом Cl^- лиганда са **L1-L4** лигандима. Смањење моларног екстинционог коефицијента код изолованих комплекса (Табела 5) са повећањем броја

С атома у алил групама лиганата је очекивано и може се објаснити смањењем јачине лигандног поља око паладијум(II)-јона.

3.1.3. *In vitro* испитивање антимикуробне активности

Резултати *in vitro* испитивања антибактеријске и антифунгалне активности изолованих паладијум(II)-комплекса **1-4** и одговарајућих лиганата **L1-L4** приказани су у Табелама 7 и 8. Ради поређења, у истим табелама дате су и МИК и ММК вредности за доксоцилин и флуконазол.

Иоловани комплекси и лиганди показују различит ниво антимикуробне активности у односу на тестиране врсте микроорганизама. Интензитет антимикуробног деловања варира зависно и од групе микроорганизама и од типа једињења.

Антимикуробна активност тестираних једињења је процењена на основу одређивања МИС и ММС вредности за 15 врста микроорганизама. МИК вредности су у опсегу 4,9 до $> 5000 \mu\text{g cm}^{-3}$ до су ММК вредности од 78 до $> 5000 \mu\text{g cm}^{-3}$. Из Табела 7 и 8 може се уочити да паладијум(II) комплекси показују већу антимикуробну активност у односу на одговарајуће лиганде ($p < 0.0005$ за МИК и ММК). Поређењем активности лиганата и одговарајућих комплекса оучљиво је да су комплекси **1** и **4** значајно активнији у односу на одговарајуће лиганде **L1** и **L4** ($p = 0.004$ за МИК и $p = 0.005$ и ММК за **1** и **L1** ; односно $p = 0.001$ за МИК и $p < 0.0005$ за ММК за **4** и **L4**). Такође, из наведених табела се може уочити да испитивани лиганди **L1-L4** не показују битну разлику у антимикуробној активности. Насупрот томе, комплекси показују значајне разлике у активности: комплекси **1** и **4** су активнији у односу на комплексе **2** и **3**. Комплекс **4** је показао највећу активност од свих испитиваних једињења ($p < 0.05$). МИК за комплекс **4** је од 39,1 до $1250 \mu\text{g cm}^{-3}$ и ММК је од 39,1 до $> 2500 \mu\text{g cm}^{-3}$.

Виша антимикуробна активност комплекса у односу на активност одговарајућих лиганата може се објаснити на бази хелатне теорије. По овој теорији опадање поларизабилности паладијум(II)-јон може побољшати липофилност код комплекса [88]. Према различитим групама микроорганизама, паладијум(II) комплекси су показали значајнији инхибиторни ефекат у односу на лиганде на раст патогених бактерија, пробиотици и плесни ($p < 0.05$) како је то већ раније показано за сличне комплексе [89].

У поређењу са позитивном контролом, паладијум(II) комплекси су показали умерену до ниске антибактеријске активност према тестираном стандарду и клиничким сојевима бактерија. Као најосетљивија показало се да је грам-позитивна бактерија

Enterobacter faecalis ATCC 29212 са МИК од $156,3 \mu\text{g cm}^{-3}$ за **L3** и **L4**. Ова чињеница је у складу са раније потврђеном чињеницом да су грам-позитивне бактерије осетљивије на антимикуробне агенсе од грам-негативних бактерија [90]. Основни разлог за то је хемијски састав њиховог ћелијског зида и присуство спољашње мембране код грам-негативних бактерија који је ефикасна баријера [90]. *Proteus mirabilis* је највише отпоран. Тестирана једињења нису показала никакве ефекте и при вишим концентрацијама на раст ове бактерије.

Пробиотици *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, *Lactobacillus plantarum* и *Bacillus subtilis* IP 5832 су показали највећу осетљивост на тестирана једињења. Најбољу активност су показали комплекси **1-3** са МИК вредностима између $4,9$ до $78 \mu\text{g cm}^{-3}$. Међу њима ипак најосетљивији је *Lactobacillus plantarum* (МИК је $4,9 \mu\text{g cm}^{-3}$) што је у сагласности са резултатима испитивања антимикуробне активности за сличне комплексе [89].

Активност од комплекса **2-4** против тестираних плесни је боља од активности лиганада и позитивном контролом флуконазола ($p < 0,05$). Добијене концентрације паладијум(II)-комплекса који инхибирају раст плесни су од $39,1$ до $625 \mu\text{g cm}^{-3}$. Најосетљивији је *Aspergillus fumigatus*. Иако активност ових комплекса против плесни значајанија о односу на флуконазол, ипак је активност ових комплекса нижа у поређењу са сличним комплексима [89] на истим микроорганизмама које сузнатно боље и иду до вредности $0,49 \mu\text{g cm}^{-3}$.

Табела 7. Антимикробна активност лиганата **L1–L4** и одговарајућих комплекса паладијум(II)-јона **1-4** ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)

Species	L 1		C 1		L 2		C 2		L 3		C 3		L 4		C 4		Doxycycline	
	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2500	2500	1250	1250	2500	5000	2500	2500	1250	2500	1250	2500	5000	5000	312.5	312.5	25	25
<i>Enter. faecalis</i> ATCC 29212	1250	1250	1250	1250	2500	>5000	625	>5000	156.3	>625	625	>5000	1250	5000	156.3	1250	50	50
<i>Pseud. aeruginosa</i> ATCC 27853	5000	5000	1250	1250	2500	5000	1250	2500	2500	2500	2500	5000	5000	>5000	312.5	1250	12,5	50
<i>Proteus mirabilis</i>	5000	5000	1250	1250	>5000	>5000	2500	>5000	>5000	>5000	2500	>5000	5000	5000	1250	2500	50	>50
<i>Escherichia coli</i>	625	>5000	625	1250	312.5	>2500	1250	>5000	1250	>5000	2500	>5000	625	>5000	312.5	>2500	12,5	12,5
<i>Bifidobact. animalis subsp. lactis</i>	78	> 625	78	>625	>5000	>5000	1250	2500	5000	5000	2500	5000	5000	>5000	625	2500	0,024	>0,19
<i>Lactobacill. plantarum</i>	9.8	78	4.9	>39.1	78	>625	78	2500	2500	>5000	78	5000	1250	>5000	312.5	>2500	0,012	>0,098
<i>Bacillus subtilis</i> IP 5832	78	> 625	39.1	>312.5	625	>5000	78	>5000	2500	>5000	78	>5000	1250	>5000	312.5	>2500	0,003	0,024

Табела 8. Антифунгална активност лиганата L1–L4 одговарајућих комплекса паладијум(II)-јона 1-4 ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)

Species	L1		C1		L2		C2		L3		C3		L4		C4		Fluconazole	
	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC
<i>Sacchar. boulardii</i>	5000	5000	1250	1250	625	625	625	625	312.5	1250	625	625	625	1250	312.5	312.5	6.25	> 50
<i>Candida albicans</i>	5000	>5000	2500	2500	1250	2500	1250	1250	1250	1250	625	1250	2500	2500	625	625	3.125	> 50
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1250	>5000	2500	>5000	156.3	625	312.5	625	39.1	78	39.1	78	39.1	78	39.1	39.1	>500	>500
<i>Aspergillus flavus</i>	>500 0	>5000	625	1250	312.5	2500	312.5	625	1250	1250	156.3	312.5	2500	2500	312.5	312.5	>500	>500
<i>Aspergillus restrictus</i>	>500 0	>5000	312.5	625	156.3	625	156.3	312.5	1250	1250	312.5	625	1250	2500	39.1	39.1	>500	>500
<i>Aspergillus niger</i>	>500 0	>5000	1250	>5000	625	1250	312.5	625	625	1250	312.5	312.5	1250	2500	312.5	625	>500	>500
<i>Aspergillus niger</i> ATCC16404	>500 0	>5000	1250	>5000	1250	2500	625	625	156.3	156.3	156.3	156.3	312.5	312.5	156.3	312.5	>500	>500

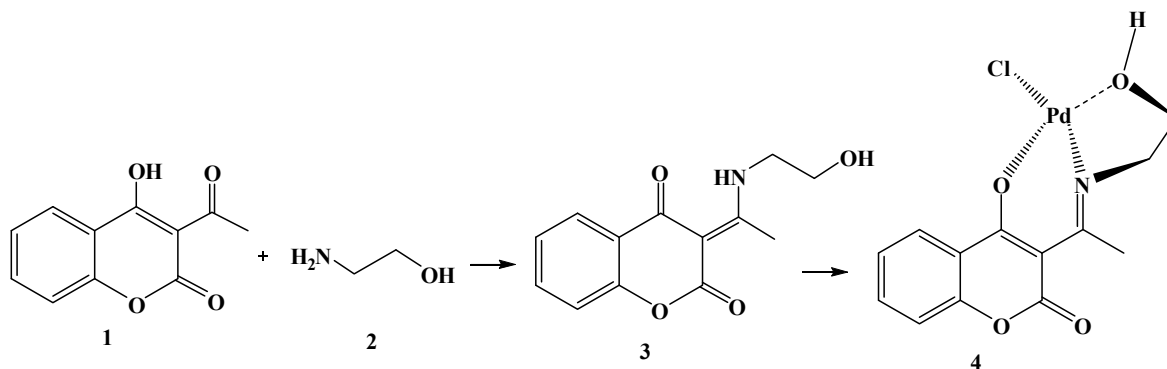
3.2. Синтеза, карактеризација и антитуморска активност

3-(1-(2-хидроксиетил-амино)етилиден)хроман-2,4-диона и одговарајућег комплекса паладијума(II)

3.2.1. Синтеза 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-диона и одговарајућег комплекса паладијума(II)

Реакцијом 3-ацетил-4-хидрокси-кумарина [91] **1** са еквимоларном количином 2-аминоетанола **2** у метанолу добијен производ **3** у приносу од 96% (Шема 2). Ово једињење је већ познато [92] а спектрални подаци синтетисаног 3-(1-(2-хидроксиетиламино)-етилиден)хроман-2,4-дион **3** су у складу са подацима из литературе [92].

Структура синтетисаног комплекса **4** је одређена спектроскопски (IR, ^1H NMR и ^{13}C NMR) и елементалном анализом, а потврђена рендгенском структурном анализом монокристала.



Шема 2. Синтеза лиганда **3** и одговарајућег паладијум(II) комплекса **4**

3.2.2. Карактеризација хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса

У односу на лиганд **3**, добијени паладијум(II)-комплекс **4** је показао значајне разлике у IR спектру. IR спектар паладијум(II)-комплекс **4** показао присуство Pd-O и Pd-N траке (524 cm^{-1} и 459 cm^{-1}). Трака 1605 cm^{-1} припада апсорпцији имино групе (C=N), а трака на 1675 cm^{-1} одговара апсорпцији која потиче од

кумаринске лактонске C=O групе. Ови резултати указују да је током реакције формирања паладијум(II)-комплекса енамински резонантни облик лиганда формира имински резонантни облик уз координацију иминског азота за паладијум(II)-јон. Такође, занимљиво је да IR спектри комплекса **4** показује широку траку која потиче од OH групе на 3300 cm^{-1} . Ипак ово нам не може потврдити да ли је ова трака OH групу кумарина од хидрокси-етил групе лиганда (табела 9).

Табела 9. Најважније траке у IR спектрима и њихови таласни бројеви

Једињење	$\nu(\text{cm}^{-1})$					
	NH	OH	C=O	C=N	Pd-O	Pd-N
3	3412	3380	1661	/	/	/
4	/	3300	1675	1605	524	459

У ^1H NMR спектру паладијум(II)-комплекса **4**, широки сигнал на 3,40 ppm потврђује присуство OH групе из хидрокси-етил групе лиганда. Широки синглет 14,62 ppm потиче од протона из NH групе из енаминског облика лиганда **2** није нађена спектру одговарајућег паладијум(II)-комплекса **4**. Такође, сигнал за изменљив протон из OH групе везане за прстен кумарина није присутан. Протони из $\text{CH}_3\text{-C-1'}$ се налазе на 2,50 ppm, што је за 0,27 ppm нижи пложај о односи на исте сигнале у лиганду **3**. Слична је ситуација и у случају метилених протона из етил групе ($\text{CH}_2\text{-C-2''}$ на 3,68 ppm и $\text{CH}_2\text{-C-1''}$ на 3.99 ppm) (Табела 10).

^{13}C NMR спектри су показали сигнал $\text{CH}_3\text{-C-1'}$ угљеников на вишој фреквенцији у односу на лиганд **3** (19,6 ppm), као и сигнал угљеника од C-1'' (46,6 ppm). С друге стране, атоми угљеника C-2'' и C-4 су нађени на нижој фреквенцији него ког лиганда **3** (59,0 ppm и 179,5 ppm).

Табела 10. Разлике у хемијским померањима протона из карактеристичних група лиганда **3** и паладијум(II)-комплекса **4**

¹ H NMR (200 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm		
Једињење		Δ δ ppm
3	4	
2,19 (br s, 1H, OH)	3,40 (br s, 1H, OH)	1,21
2,77 (s, 3H, CH ₃ -C-1')	2,50 (s, 3H, CH ₃ -C-1')	0,27
3,73 (t, 2H, CH ₂ - C-2'')	3,68 (t, 2H, CH ₂ - C-2'')	0,05
4,12 (t, 2H, CH ₂ - C-1'')	3,99 (t, 2H, CH ₂ - C-1'')	0,13
14,62 (br s, 1H, NH)	/	/

br-широка; s-синглет; t-триплет;

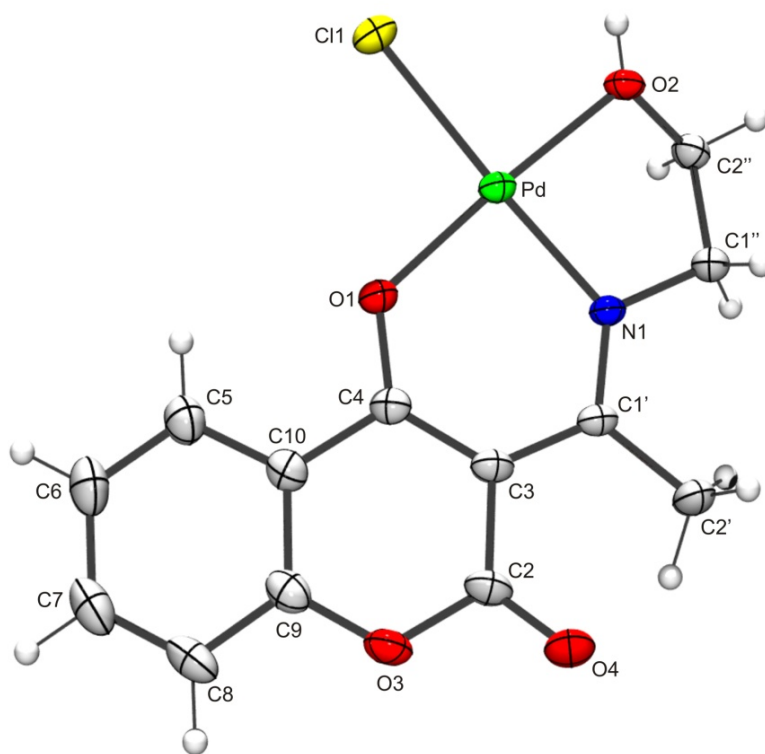
Ови подаци нас наводе на закључак да је при формирању комплекса **4** дошло до координације лиганда **3** преко азотовог атома из имино групе, кисеониковог атома кумарина везаног у положају C-4'', као и кисеониковог атома из хидроксилне групе од хидрокси-етил дела лиганда **3**.

3.2.3. Кристална структура хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)-етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса

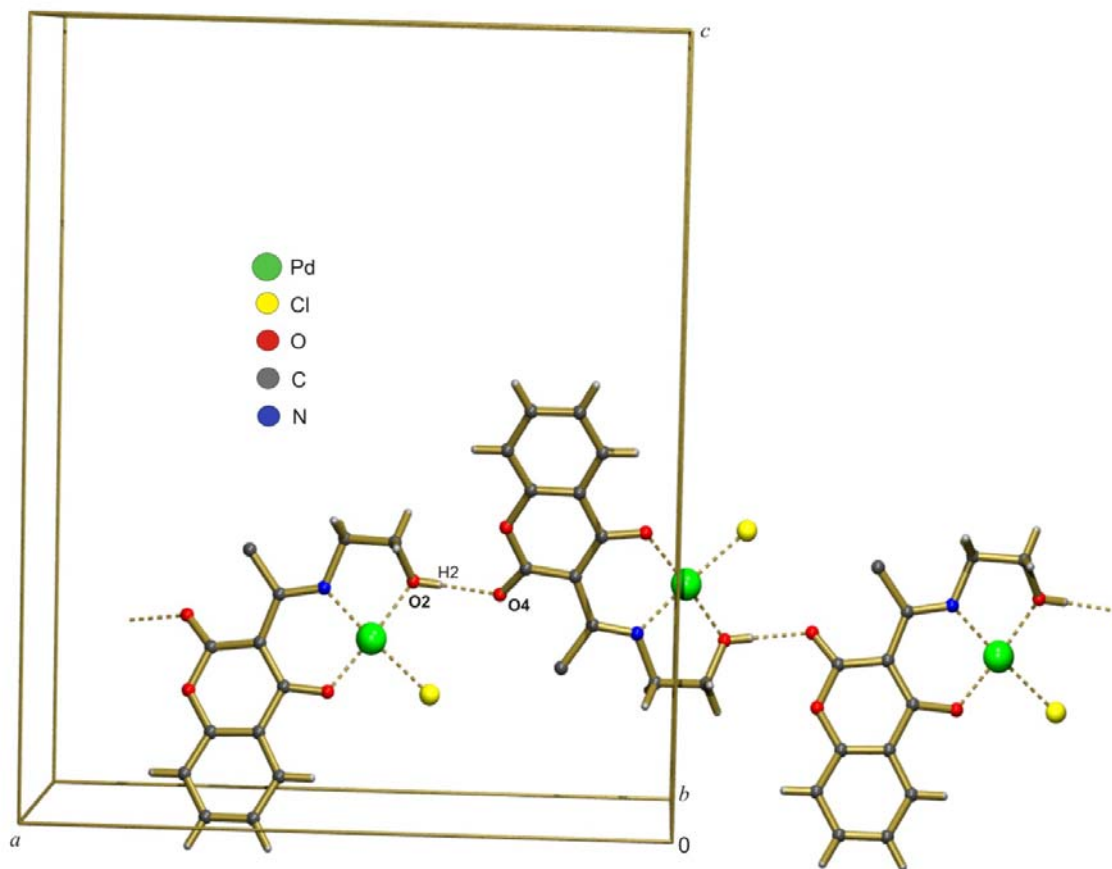
Молекулска структура 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса (**4**) претпостављена на бази инфрацрвене и нуклеарне магнетне реонационе спетроскопије потврђена је на бази рентгенске структурне анализе. Молекулска структура 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса (**4**) је приказана на слици 16. На слици 17 представљен је начин паковања једињења **4** у кристалу.

Паладијум(II)-јон у комплексу **4** има уобичајену квадратно-планарну геометрију, везаним са по једним N, једним Cl и два O атома (Слика 16). Главни геометријски параметри PdNO₂Cl дела у комплексу **4** су дати у Табели 10. Овај део молекула је мало искривљен, али је ипак скоро савршено планаран са максималним одступањем код веза (O1/N1/O2/Cl1) за 0,0151 (3) Å. Сви остали параметри (Табела 11) су у опсегу описаним у литератури [93]. Паковање молекула комплекса **4** у кристалу је контролисано O2-

H2...O4 међумолекулским интермолекулским водоничним везама (геометријски детаљи су дати у Табели 12). Настајање "глава- репа" водоничних веза се представљено је дуж *a* осе (Слика 17).



Слика 16. Структура хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)-етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекса **4** са нумерисаним не-Н атомима



Слика 17. Паковање молекула комплекса **4**. Интермолекуске водоничне везе O2-H2...O4 приказане су испрекиданом линијом.

Табела 11. Одабрани геометријски параметри за хлоридо-3-(1-(2-хидроксиетиламино)-етилиден)хроман-2,4-дион-паладијум(II) комплекс **4**.

Дужине веза [Å]	
Pd—O1	1.950 (3)
Pd—N1	1.974 (3)
Pd—O2	2.018 (3)
Pd—C11	2.3069 (11)
Углови веза [°]	
O1—Pd—N1	93.30 (13)
O1—Pd—O2	176.33 (12)
N1—Pd—O2	83.17 (13)
O1—Pd—C11	90.00 (9)
N1—Pd—C11	176.61 (10)
O2—Pd—C11	93.52 (9)
C2''—O2—Pd	106.2 (2)
C4—O1—Pd	124.7 (3)
C1'—N1—Pd	126.6 (3)
C1''—N1—Pd	111.3 (2)
Торзиони углови [°]	
Pd—O1—C4—C3	1.5 (6)
Pd—O1—C4—C10	-179.1 (3)
Pd—N1—C1''—C2''	-18.0 (5)
Pd—N1—C1'—C3	7.3 (6)
Pd—N1—C1'—C2'	-177.3 (3)
Pd—O2—C2''—C1''	-50.4 (4)

Табела 12. Гометријски параметри за водоничне везе у комплексу **4**

<i>D-H...A</i>	<i>D-H</i> (Å)	<i>H...A</i> (Å)	<i>D...A</i> (Å)	θ (°)
O2-H2...O4 ^a	0.74(6)	1.84(5)	2.575(5)	171(6)

^a-1/2+x,y,1/2-z

3.2.3. *In vitro* цитотоксичност комплекса паладијума(II) према неким ћелијским линијама рака

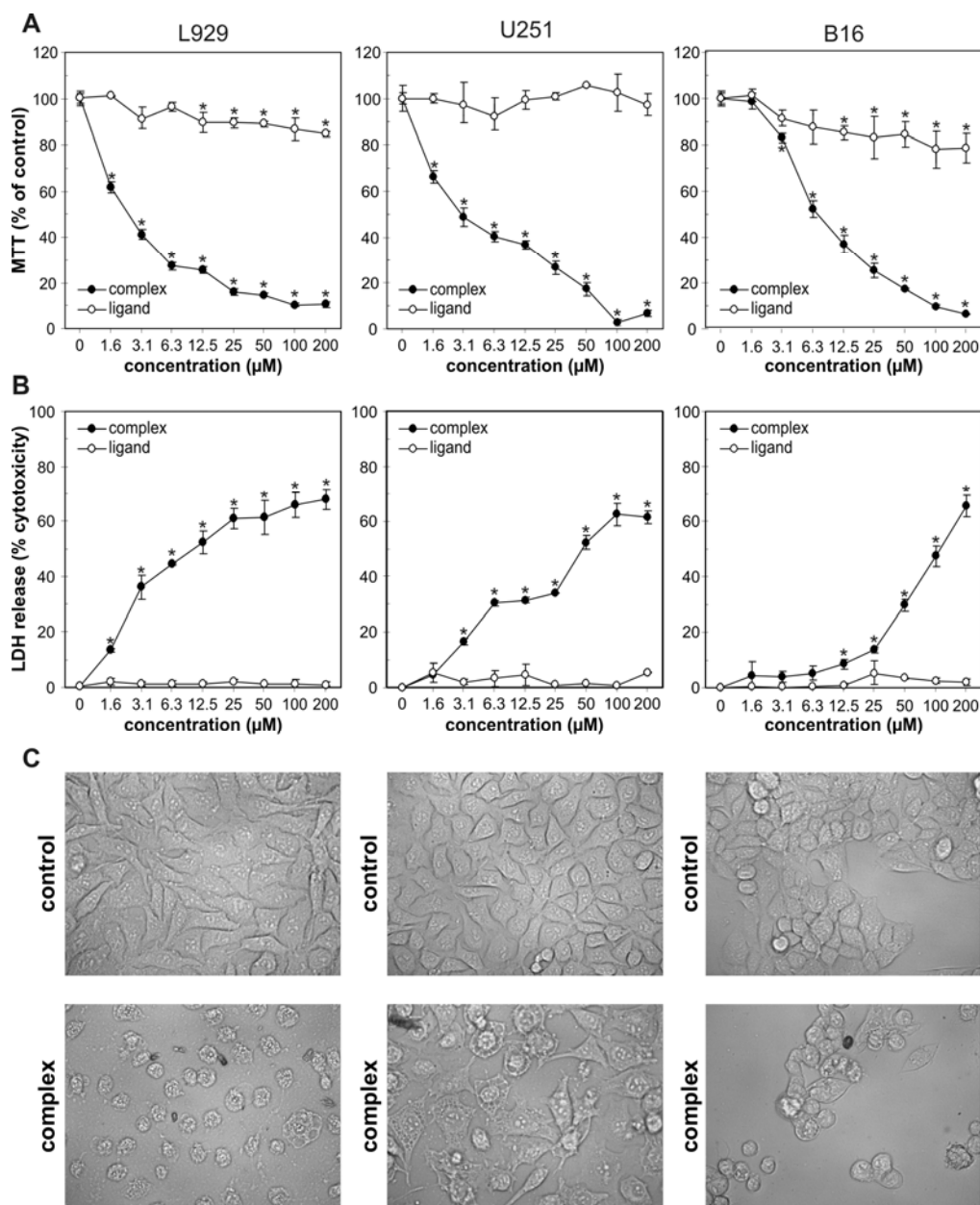
У циљу *in vitro* испитивања антиканцерогеног деловања деривата кумарина, 3-(1-(2-хидроксиетиламино)етилиден)хроман-2,4-диона и одговарајућег паладијум(II)-комплекса, на ћелије тумора фибросарком L929 миша, људски глиом U251 и меланом B16 миша, наведене ћелије су инкубирани у присуству различитих концентрација и лиганда и комплекса. Третман са комплексом **4** за 24 сата смањила број живих ћелија све три туморске ћелијске линије на дозно-зависан начин, као што је показано мерењем активност митохондријалне дехидрогеназе као и оштећења ћелијске мембране са МГТ и LDH тестовима, (Слика 18А, В). С друге стране, лиганд **3** незнатно смањује активност митохондријалне дехидрогеназе у L929 и B16 ћелијама (Слика 18А), а није уочено повећано ослобађање LDH од свих ћелијских линија тумора које су тестиране (Слика 18В). На крају и микроскопски преглед ћелија је показао да комплекс **4**, изазва јаку вакуолизацију туморских ћелија (Слика 18С). Наведени резултати показују да је паладијум(II)-комплекс **4** токсичан за L929, U251 и B16 ћелије рака.

Паладијум(II)-комплекс **4** индукује апоптозу повезану са оксидативним стресом, деполаризацијом митохондрија и активацијом цаспаса

У наставку истраживања испитиван је интрацелуларни механизам одговоран за цитотоксични ефекат комплекса **4** према ћелијама U251 глиома. Анализа на бази проточне цитометрије ћелијског циклуса је показала да комплекс **4** је повећао број апоптозе ћелија са фрагментисаном ДНК (sub-G₀/G₁) (Слика 19А). Сходно томе, анализа ћелија обојених са анексином V-FITC и пропидијум-јодидом је показала да комплекс **4** индукује значајно повећање у броју и рано апоптотских ћелија са нетакнутом ћелијском мембраном (annexin⁺/PI⁻), и касно апоптотских ћелија са оштећеним ћелијским мембранама (annexin⁺/PI⁺) (Слика 19В).

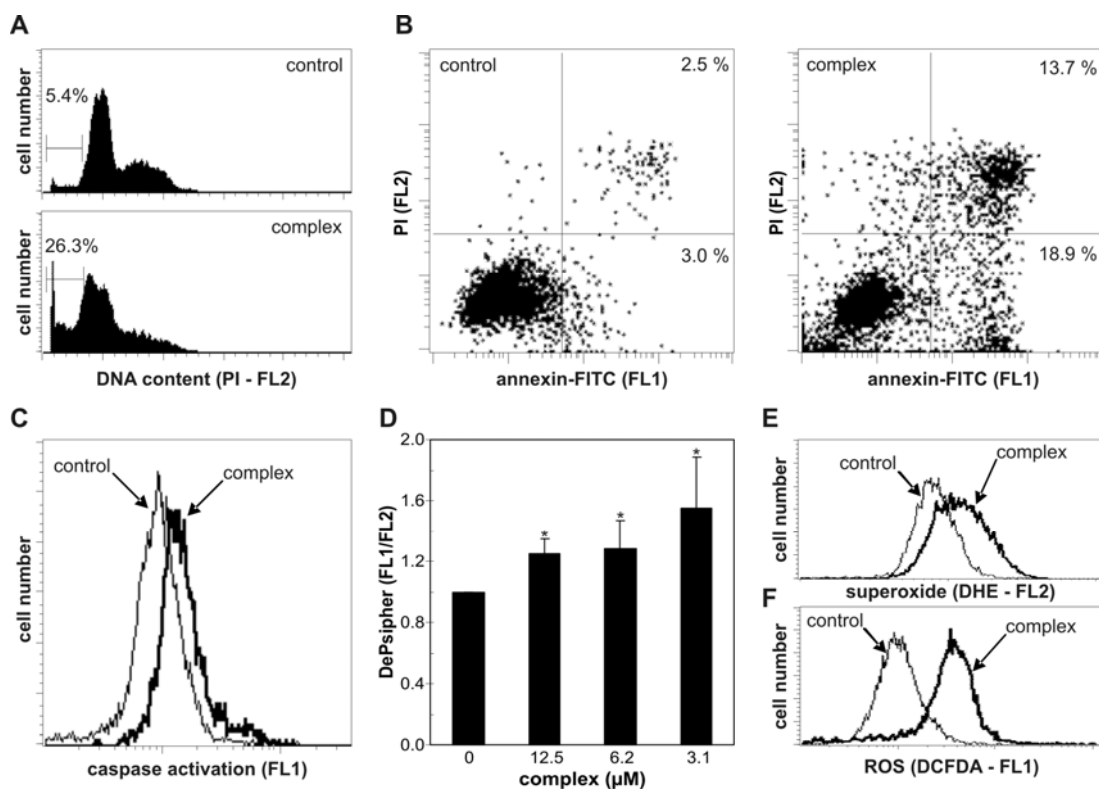
Апоптозу индуковану дејством паладијум(II)-комплекса је повезана са активацијом ензима каспазе (Слика 19С). Третман са комплексом **4** проузроковао губитак потенцијала митохондријалне мембране, што је показано повећањем односа зелене/црвене (FL1/FL2) флуоресценције у U251 ћелијама обојеним са митохондрија-везивном бојом DePsipher (Слика 19D). Користећи редокс-осетљив флуорохром DCFDA, утврђено је да комплекс **4** изазвао генерисање реактивних врста кисеоника (ROS) (Слика 19Е), што се може делимично приписати присуством супероксида, као што је показано појавом боје од са супероксид-селективне флуоресцентне боје DHE

(Слика 19F). Ови подаци показују да палладијум(II)-комплекс **4** индукује апоптозу канцерогених ћелија кроз активацију ензима цаспаса, деполаризацију митохондрија и кроз оксидативни стрес.



Слика 18. Комплекс **4** је токсичан за **L929**, **U251** и **B16** ћелије рака. (A, B), **L929**, **U251** и **B16** ћелије су инкубиране током 24 сата са комплексом **4** или лигандом **3**. Ћелијско преживљавање је одређена МТТ (A) или LDH тестом (B). Подаци су средња вредност \pm SD вредност за три независна експеримента (* $p < 0,05$ у односу на нетретирану

контролу). (C) Морфологија нетретираних ћелија или ћелија третираних са $6,25 \mu\text{M}$ раствором комплекса **4** је процењена коришћењем оптичке микроскопије (C).



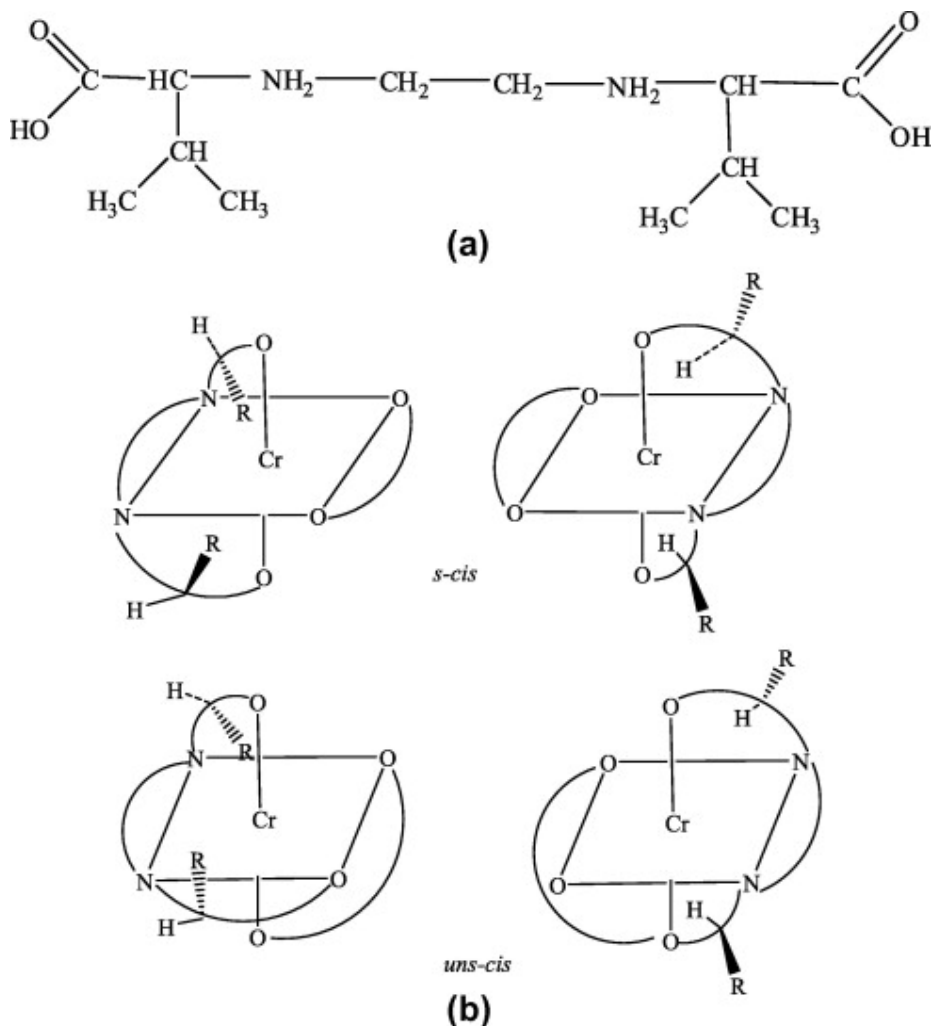
Слика 19. Комплекс **4** индукује апоптозу повезану са оксидативним стресом, деполаризацијом митохондрија и активацијом ензима каспаса. U251 ћелије су инкубирани у одсуству или у присуству $6,25 \mu\text{M}$ (A-C, E- F) или различитих концентрација комплекса **4** (D). После 24 сата, ћелије су обојене са PI (A) или annexin-FITC/PI (B), а извршена анализа ДНК фрагментације проточном цитометријом (A) или фосфатидилсерин екстерном анализом (B). Алтернативно, ћелије су обојене ApoStat (C), DePsipher (D), DHE (E) или DCFDA (F) а активација каспазе (C), деполаризација митохондрија (D), продукција супероксида (E) или укупна РОС продукција (F) је испитана проточном цитометријом након 16 сати инкубације. Репрезентативне тачке и хистограми из најмање три експеримента су приказани у (A-C, E-F), док су подаци у (D) су средње + SD вредности из три независна експеримента ($p < 0,05^*$ у односу на нетретирану контролу).

3.3. Синтеза, карактеризација и антимикуробна активност лиганда и комплекса хром(III)-јона

(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутанска киселина, H_2 -*S,S*-eddv, (Слика 20а) је синтетисна према већ раније описаном поступку [1]. При свом потпуном координовању за централни јон метала, као тетрадентатни лиганд теоријски, у присуству симетричног бидентатног лиганда, теоријски може да гради два геометријска изомера (*s-cis* и *uns-cis*) (Слика 20b), при чему задржава *S* апсолутну конфигурацију на оба угљеникова атома.

3.3.1. Инфра-црвени спектри

У циљу одређивања начина координације *S,S*-eddv за хром(III)-јон симљени су инфрацрвени спектри изолованих $[Cr(S,S\text{-eddv})(ox)]^-$ и $[Cr(S,S\text{-eddv})(mal)]^-$ комплекса. Као критеријум за координовање узима се положај трака у инфрацрвеним спектрима асиметричних валенционих фреквенција карбоксилних група. Ове траке се налазе у области од $1700\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$, уколико су протоноване и некоординоване, односно у области од $1600\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ уколико су координоване за метални јон [29,34]. Такође, ова област у инфрацрвеном спектру је коришћена за разликовање *s-cis* и *uns-cis* изомера у комплексима аминополикарбоксилатних киселина [29,38,39,94-96].

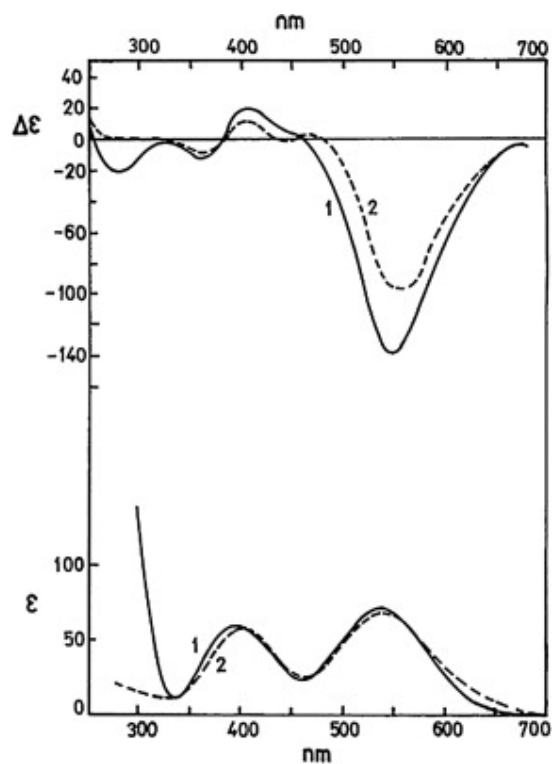


Слика 20. (а) Конфигурација H_2 - S,S -eddv молекула, (б) четири могућа дијастереомера $[Cr(S,S\text{-eddv})L]^-$ комплекса ($R = CH(CH_3)_2$; $L =$ оксалато или малонато јон).

Комплекси $s\text{-cis-K}[Cr(S,S\text{-eddv})(ox)] \cdot 2H_2O$ и $s\text{-cis-K}[Cr(S,S\text{-eddv})(mal)] \cdot 2H_2O$ показују јаке широке траке у области асиметричних валенционих вибрација за координоване карбоксилне групе S,S -eddv лиганда на 1649 и 1638 cm^{-1} . Наведене траке за оба изолована комплекса указују на C_2 молекуласку симетрију комплекса и $s\text{-cis}$ координацију S,S -eddv лиганда [34]. Недостатак апсорпционих трака између 1700 и 1750 cm^{-1} показује да су обе карбоксилне групе S,S -eddv лиганда координоване за хром(III)-јон и не налазе се као слободна киселина (ова трака за слободну $COOH$ групу лиганда се налази на 1728 cm^{-1}). Такође, јака и оштра трака која потиче од симетричних асиметричних валенционих вибрација координованих карбоксилних група S,S -eddv лиганда леже у очекиваној области (око 1400 cm^{-1}) [34], за $s\text{-cis-K}[Cr(S,S\text{-eddv})(ox)]$ на 1398 cm^{-1} и $s\text{-cis-K}[Cr(S,S\text{-eddv})(mal)] \cdot 2H_2O$ на 1379 cm^{-1} .

3.3.2. Електронски апсорпциони, циркуларно-дихроични (CD) спектри и апсолутне конфигурације

Електронски апсорпциони и CD спектри за s -*cis*-[Cr(S,S-eddp)L]⁻ (L = оксалато или малонато лиганди) (**1** и **2**) су приказани на слици 21 и одговарајући максимуми су дати у Табели 13. Одговарајући подаци за сличне [Cr(edda-tip)L]⁻ комплексе су дати ради поређења.



Слика 21. Електронски апсорпциони (доле) и CD спектри (горе) изолованих Cr(III) комплекса: **1**. s -*cis*-[Cr(S,S-eddv)(ox)]⁻ (—), **2**. s -*cis*-[Cr(S,S-eddv)(mal)]⁻ (---).

Табела 13. Електронски апсорпциони и CD спектри неких Cr(III) комплекса са оксалтним и малонатним лигандима

Комплекс	Апсорпциони		CD		Лит.
	ν^a	ϵ	ν^a	$\Delta\epsilon$	
$\Delta(-)_{589-s-cis}-[Cr(S,S-eddv)(ox)]^-$	18.48 25.06	76.5 64.8	18.25 25.06 27.70 30.96 35.71	-1.37 +0.20 -0.12 -0.02 -0.20	Овај рад
$\Delta(-)_{589-s-cis}-[Cr(S,S-eddv)(mal)]^-$	18.45 24.63	74.2 62.0	18.35 24.69 27.71 30.77 35.71	-0.93 +0.13 -0.02 -0.06 +0.01	Овај рад
$\Delta(-)_{589-s-cis}-[Cr(S,S-eddp)(ox)]^-$	18.93 25.51	132.7 118.3	17.98 21.11 23.98 26.38 27.93	-2.08 +0.15 -0.03 +0.37 +0.01	98
$\Delta(-)_{589-s-cis}-[Cr(S,S-eddp)(mal)]^-$	18.66 25.13	106.1 80.5	18.55 21.76 23.26 25.28 27.93	-1.57 +0.10 -0.02 +0.15 -0.09	98
$\Delta(-)_{589-s-cis}-[Cr(edda)(ox)]^{-b}$	18.72 25.44	88 74		- (dominant) ^d + - -	97
$\Delta(-)_{589-s-cis}-[Cr(edda)(mal)]^{-b}$	18.53 25.06	69 53	18.48 21.27 23.86 25.51 27.85	-1.05 ^c +0.35 ^c -0.03 ^c +0.05 ^c -0.09 ^c	97

^a у $\text{cm}^{-1} \times 10^{-3}$ ^b делимично разлагање^c вредности су приближне због делимичног разлагања узете из литературе [97]

У јаком лигандном пољу октаедарске симетрије за хром(III)-јон очекују два спински дозвољена d-d електронска прелаза: ${}^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{2g}$ на нижој енергији и ${}^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}$ на вишој енергији. Хром(III)-edda-тип комплекси са *s-cis* геометријом имају молекулску симетрију не већу од C_2 . Дакле, чак шест електронских апсорпционих трака (спински-дозвољеног порекла) може се очекивати од ${}^4T_{2g}(O_h)$ and ${}^4T_{2g}(O_h)$ електронских прелаза [1]. За *s-cis*-Cr(III)-edda-тип комплекса се не очекује цепање траке ниже енергије под нормалним експерименталним условима. Међутим, електронски апсорпциони спектри $[Cr(edda\text{-type})L]^-$ комплекса могу да се користе за разликовање

s-cis од *uns-cis* изомера. Експериментално је утврђено да апсорпциони спектри *s-cis* изомера имају максимуме прве апсорпционе траке на дужим таласним дужинама од одговарајућих *uns-cis* изомера [1,10,19,97].

Изглед апсорпционих спектра *s-cis*-[Cr(S,S-eddp)L]⁻-комплекса са две симетричне апсорпционе траке, указује да изоловани комплекси имају псеудо-октаедарску симетрију (Слика. 21 и Табела 13). Такође, на основу поређења положаја максимума апсорпционих трака и моларног апсорпционог коефицијента неколико [Cr(edda-type)L]⁻- комплекса (Табела 13) може се закључити да изоловани [Cr(S,S-eddv)(ox)]⁻ и [Cr(S,S-eddv)(mal)]⁻-комплекси поседују *s-cis* геометрију.

Очекивано, CD спектри изолованих [Cr(S,S-eddv)(ox)]⁻ и [Cr(S,S-eddv)(mal)]⁻ (**1,2**, Слика 21) комплекси показују веће разлагање апсорпционих трака од одговарајућих електронских апсорпционих спектра.

Комплекси [Cr(edda-tip)L] са *s-cis* геометријом имају три пара хелатних прстенова који дају енантиомере са $\Lambda\Lambda$ или $\Delta\Delta$ апсолутним конфигурацијама [57]. Апсолутна конфигурација [Cr(edda-type)L]⁻-комплекса је претпостављена на основу спектралних сличности хрома(III) комплекса са d^3 електронском конфигурацијом и кобалт(III)-комплекса са d^6 ниско-спинском електронском конфигурацијом [99-101].

Доминантан CD пик у оквиру прве апсорпционе траке одређује укупан CD знак нижег енергетског прелаза O_h порекла. Са позитивним доминантним или укупним CD пицом изолованим *s-cis*-[Cr(edda-type)L]-комплексима приписана је Λ апсолутна конфигурација [97,98]. Овакво означавање апсолутних конфигурација изолованих Cr(III)-комплекса на основу облика и знака CD спектра, је у сагласности са чињеницом да стереоспецифични лиганди са *S* конфигурацијом око атома угљеника граде комплексне јоне са $\Delta\Delta$ (нето Δ) апсолутном конфигурацијом [10].

Ова чињеница потврђена је резултатима ренгенске структурне анализе комплекса $\Delta(-)-s-cis$ -K[Cr(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0.5H₂O ((S,S-eddp = (S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропионато јон) [98]. Како су *S,S*-eddp and *S,S*-eddv лиганди структурно слични може се претпоставити да формирају комплексе са истим геометријским конфигурацијама и конформацијама за сва три петочлана хелатна прстена а поређење њихових CD спектра Cr(III) комплекса може да отвори могућност за израчунавање *S*-вициналног ефекта на ротациону јачину. Нажалост, енантиомери *s-cis*-Cr-edda комплекса са додатним оксалатним и малонатним лигандима нису стабилни [97] и ово поређење није могуће.

Изолвани $(-)_589\text{-s-cis-[Cr(S,S-eddp)(L)]}^-$ [14] и $(-)_589\text{-s-cis-[Cr(S,S-eddv)(L)]}^-$ - комплекси (L = оксалато или малонато) не показују тенденцију рацемизације у воденом раствору. У CD спектрима види се смањење CD интензитета (Табела 13) од оксалато до малонато комплекса. Ово смањење се може повезати са повећањем величине дикарбоксилатног хелатног прстена и већом флексибилношћу малонатног у односу на оксалатни прстен. Иако се очекује С-вицинални ефекат буде мали, из Табеле 13. може се видети да повећање величине алкил групе на хиралном атому угљеника постоји прилично смањењује интензитет CD пикова. Ипак да ови примери нису још увек довољни да се са сигурношћу изведе општи закључак о величини вициналног ефекта.

3.3.3. *In vitro* испитивање антимикуробне активности

Резултати *in vitro* испитивања антибактеријске и антифунгалне активности четири хром(III) комплекса **1-4** су приказани у Табели 14 и 15. Ради поређења, МИК и ММК наведени вредности активности и за доксициклин и флуконазол у Табели 14 и 15.

Сви тестирани хром(III) комплекса **1-4** су показали ниско антимикуробно дејство. МИК и ММК су од 250 до $>1000 \mu\text{g cm}^{-3}$. Није било разлике у активностима између комплекса и између групе микроорганизама (бактерија, квасца, гљива). На ове комплексе, мало осетљивије су *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bacillus cereus* и *Aspergillus restrictus* (МИК 250-500 $\mu\text{g cm}^{-3}$).

Табела 14. Антибактеријска активност изолованих хром(III) комплекса

Врста	K[Cr(S,S-eddp)ox] (3)		1		K[Cr(S,S-eddp)mal] (4)		2		Doxycycline	
	MIC ^a	MM ^b	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC
<i>Sarcina lutea</i>	1000	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	<0.44 8	7.81
<i>Enterococcus faecalis</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	7.81	62.5
<i>Bacillus subtilis</i>	1000	1000	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	0.112	1.953
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1000	1000	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	1.953	31.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	0.224	3.75
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1000	1000	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	0.224	3.75
<i>Escherichia coli</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	7.81	15.625
<i>E. coli</i> ATCC 25922	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	15.625	31.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1000	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	250	>250
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1000	>100 0	1000	>100 0	1000	>100 0	1000	>100 0	62.5	125
<i>Proteus mirabilis</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	250	>250
<i>P. mirabilis</i> ATCC 12453	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	15.625	62.5
<i>Salmonella enterica</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	15.625	31.25
<i>Salmonella typhimurium</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	15.625	125
<i>Bacillus cereus</i>	500	1000	>100 0	>100 0	500	>100 0	500	>100 0	0.977	7.81
<i>B. pumilus</i> NCTC 8241	1000	1000	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	0.112	7.81
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	7.81	31.25
<i>Lactobacillus plantarum</i>	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	0.448	7.81
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	250	250	500	>100 0	500	500	500	1000	31.25	62.5
<i>Bacillus subtilis</i> IP 5832	1000	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	1.953	15.625

^aMIC values ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) means inhibitory activity.

^bMMC values ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) means microbicidal activity.

Табела 15. Антифунгална активност испитиваних хром(III) комплекса

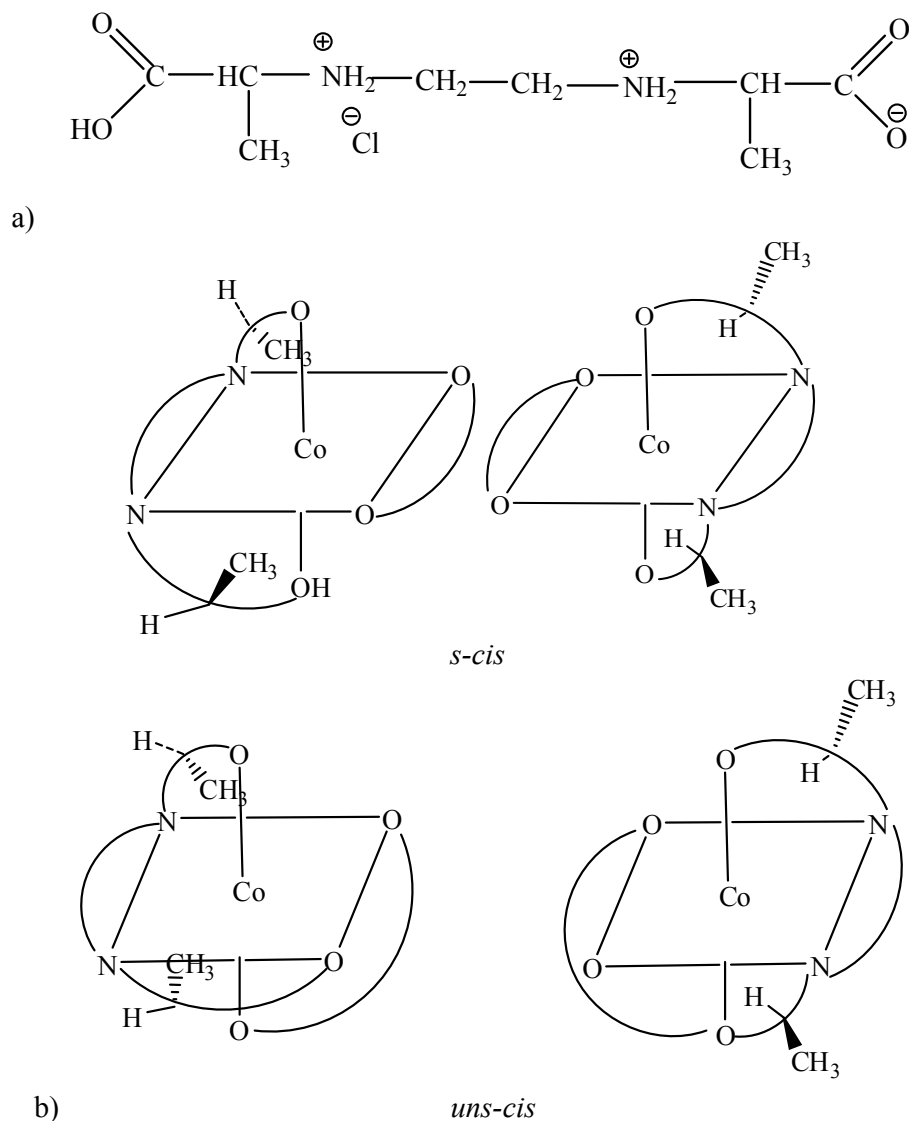
Врста	K[Cr(S,S-eddp)ox] (3)		1		K[Cr(S,S-eddp)mal] (4)		2		Fluconazole	
	MIC ^a	MMC ^b	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC	MIC	MMC
<i>Candida albicans</i>	500	>1000	500	1000	>1000	>1000	>1000	>1000	62.5	1000
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	31.25	1000
<i>Saccharomyces boulardii</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	31.25	1000
<i>Aspergillus niger</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	500	1000
<i>A. niger</i> ATCC 16404	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	62.5	62.5
<i>Aspergillus restrictus</i>	1000	1000	250	>1000	500	>1000	>1000	>1000	500	2000
<i>Aspergillus fumigatus</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	500	1000
<i>Aspergillus flavus</i>	1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	1000	1000

a
MIC values ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) means inhibitory activity.

b
MMC values ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) means microbicidal activity.

3.4. Синтеза, карактеризација и антимикуробна активност лиганата и комплекса кобалт(III)-јона

Као што је то већ речено (поглавље 3.3 Дискусије резултата) (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)-бутанска киселина, $\text{H}_2\text{-S,S-eddv}$, као и (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-3-пропанска киселина, $\text{H}_2\text{-S,S-eddp}$, (Слика 22а) је синтетисна према већ раније описаном поступку [74]. При свом потпуном координовању за централни јон метала, као тетрадентатни лиганд теоријски, у присуству симетричног бидентатног лиганда, теоријски могу да граде два геометријска изомера (*s-cis* и *uns-cis*) (Слика 22b), при чему задржавају *S* апсолутну конфигурацију на оба угљеникова атома.



Слика. 22. (а) Конфигурација H_2 - S,S -eddp молекула, (б) четири могућа дијастереомера $[Co(S,S\text{-eddv})L]^-$ комплекса; L = оксалато или малонато јон

3.4.1. Инфра-црвени спектри

Инфрацрвени спектри изолованих комплекса су снимљени ради одређивања начина координације S,S -eddp и S,S -eddv лиганата. Област асиметричних валенционих вибрација карбоксилних група је успешно коришћена за разликовање координованих ($1700\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$) од некоординованих ($1600\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$) карбоксилних група за јоне метала [39, 102, 103]. Такође, ова област у инфрацрвеном спектру је коришћена за

разликовање *s-cis* и *uns-cis* геометријских изомера аминополи-карбоксилатних комплекса [38, 95, 97, 103].

Најважније траке у инфрацрвеним спектрима испитиваних комплекса су приказане у Табели 16. Као што се види, сви *S,S*-eddp и *S,S*-eddv Co(III) комплекси показују једну јаку и широку траку у очекиваној области асиметричних валенционих вибрација координованих карбоксилних група [34,102]. Постојање једне траке у овој области у инфрацрвеним спектрима изолованих комплекса сугерише C_2 молекулску симетрију комплекса као и *s-cis* координацију *S,S*-eddp и *S,S*-eddv лиганата [34,38,102] за централни Co(III)-јон. Недостатак апсорпционих трака између 1700-1750 cm^{-1} (Табела 16) указује да су обе карбоксилне групе *S,S*-eddp и *S,S*-eddv лиганата координоване за Co(III)-јон и нису присутне као слободне киселине.

Табела 16. Најважније траке у инфрацрвеним спектрима испитиваних комплекса (cm^{-1})

Комплекс	ν_{asym} (COOM)	ν_{sym} (COOM)
<i>s-cis</i> -K[Co(<i>S,S</i> -eddp)(ox)]·0,5H ₂ O	1654	1410
<i>s-cis</i> -K[Co(<i>S,S</i> -eddp)(mal)]·4H ₂ O	1627	1385
<i>s-cis</i> -K[Co(<i>S,S</i> -eddv)(ox)]·3H ₂ O	1646	1400
<i>s-cis</i> -K[Co(<i>S,S</i> -eddv)(mal)]·4H ₂ O	1633	1400

Такође, јаке и оштре траке које потичу од симетричних валенционих вибрација координованих карбоксилних група *S,S*-eddp и *S,S*-eddv лиганата леже у очекиваној области (око 1400 cm^{-1}) [34] (Табела 16).

3.4.2. Електронски апсорпциони, циркуларно-дихроични (CD) спектри и апсолутне конфигурације комплекса

Електронски апсорпциони и циркуларно-дихроични (CD) спектри за *s-cis*-[Co(*S,S*-eddp)L]⁻ и *s-cis*-[Co(*S,S*-eddv)L]⁻ комплексе (L = оксалато или малонато лиганди) су приказани на слици 23а одговарајући максимуми су дати у Табели 17. Одговарајући подаци за сличне [Co(edda-тип)L]⁻ комплексе су дати ради поређења.

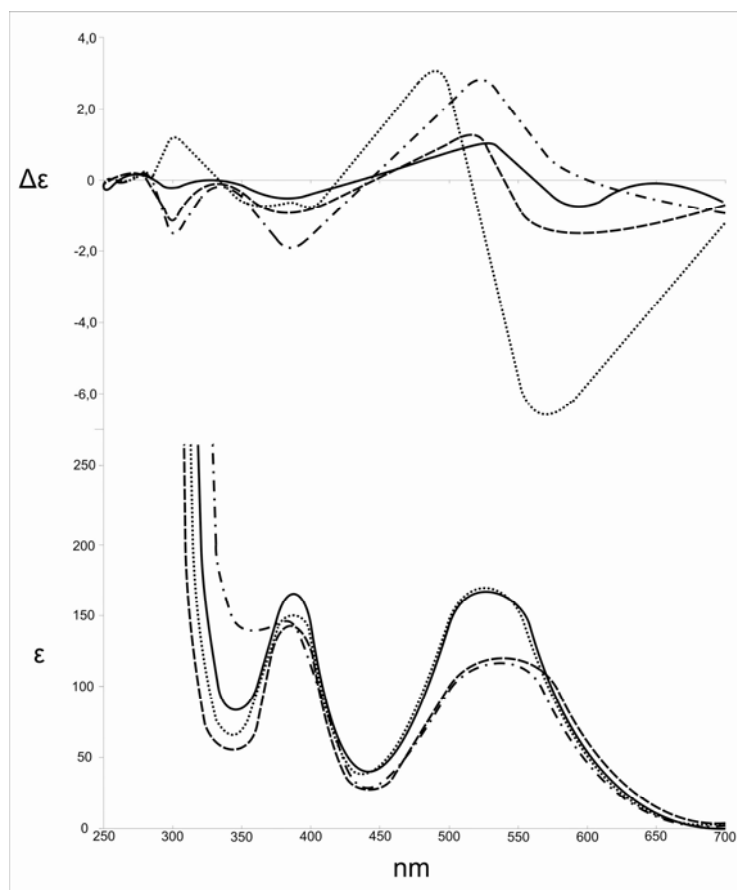
Табела 17. Електронски апсорпциони и CD спектри неких Co(III) комплекса са оксалтним и малонатним лигандима

Комплекс	Апсорпциони		CD		Лит.
	λ (nm)	ϵ	λ (nm)	$\Delta\epsilon$	
$\Delta(-)_{589-s-cis}[\text{Co}(S,S\text{-eddp})(\text{ox})]^-$	535	136.2	577	-7.44	Овај рад
			488	+3.51	
	384	153.9	403	-0.89	
			365	-0.87	
		280	+2.68		
$\Delta(-)_{589-s-cis}[\text{Co}(S,S\text{-eddp})(\text{mal})]^-$	528	171.2	596	-0.94	Овај рад
			533	+1.10	
	384	152.4	378	-0.66	
			339	0.00	
		296	-0.27		
$\Delta(-)_{589-s-cis}[\text{Co}(S,S\text{-eddv})(\text{ox})]^-$	535	136.1	592	-2.32	Овај рад
			518	+1.85	
	383	139.3	384	-1.36	
			335	-0.20	
		300	-1.61		
$\Delta(-)_{589-s-cis}[\text{Co}(S,S\text{-eddv})(\text{mal})]^-$	528	171.2	625	-0.70	Овај рад
			619	+3.49	
	385	152.5	398	-2.08	
			336	-0.03	
		302	-1.96		
$\Delta(-)_{589-s-cis}[\text{Co}(\text{edda})(\text{ox})]^-^{\text{a}}$	558	128	560	-5.20	1, 9, 17, 19
	384	139	485	-1.60	
			397	-0.50	
$\Delta(-)_{589-s-cis}[\text{Co}(\text{edda})(\text{mal})]^-^{\text{a}}$	560	134	566	-4.70	1, 9, 17, 19
	385	110	495	-2.10	
			377	+0.40	
$\Delta(-)_{-s-cis}[\text{Co}(\text{dmedda})(\text{ox})]^-^{\text{a,b}}$	569	110	558	-2.72	1, 16
			479	+0.20	
	390	150	434	-0.10	
$\Delta(-)_{-s-cis}[\text{Co}(\text{deedda})(\text{mal})]^-^{\text{a,c}}$	565	98	564	-2.42	1, 16
	389	140	434	+0.10	
			400	-0.20	
			366	+0.20	

^a Све вредности су приближне јер су очитане са спектра и узете су из лит. [2]

^b dmedda = *N,N'*-диметил-етилендиамин-*N,N'*-диацетато јон

^c deedda = *N,N'*-диетил-етилендиамин-*N,N'*-диацетато јон



Слика 23. Електронски апсорпциони и циркуларно-дихроични (CD) спектри изолованих кобалт(III)-комплекса

За кобалт(III)-јон, у јаким лигандном пољу октаедарске симетрије, очекују се два спински дозвољена d-d електронска прелаза: ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1T_{1g}$ ниже енергије и ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1T_{2g}$ више енергије. Са опадањем молекулске симетрије комплекса од октаедарске до C_2 код кобалт(III)-edda-типа комплекса *s-cis*-геометрије, може се очекивати шест електронских апсорпционих трака (спински дозвољеног порекла) од ${}^1T_{1g}(Oh)$ и ${}^1T_{1g}(Oh)$ електронских прелаза [1]. Досадашња испитивања су показала да разлагање апсорпционих трака код кобалт(III)-edda-типа комплекса *s-cis*-геометрије се не очекује [1, 104, 105]. Као критеријум за разликовање *s-cis* од *uns-cis* геометријских изомера $[Co(edda\text{-тип})L]^-$ комплекса користи се положај првог максимума прве апсорпционе траке [1, 104, 105] знајући да ће *s-cis* изомери имати први максимум на дужим таласним дужинама (нижим енергијама) од одговарајућих *uns-cis* изомера. Апсорпциони спектри изолованих

[Co(edda-тип)L]⁻ комплекса (Слика 23 и Табела 17) показују две широке и симетричне апсорпционе траке код свих комплекса, што сугерише псеудо-октаедарску симетрију комплекса. Поређењем положаја максимума апсорпционих трака и коефицијената моларне апсорптивности неколико [Co(edda-тип)L]⁻ комплекса (Табела 17) указују на закључак, са великом сигурношћу, да изоловани [Co(S,S-eddp)L]⁻ и *s*-[Co(S,S-eddv)L]⁻ комплекси поседују *s-cis* геометрију.

Очекује се веће разлагање апсорпционих трака у CD спектрима изолованих [Co(S,S-eddp)L]⁻ и [Co(S,S-eddv)L]⁻ комплекса (Слика 23 и Табела 17) него код одговарајућих електронских апсорпционих спектра. Енантиомери [Co(edda-тип)L]⁻ комплекса са *s-cis* геометријом имају три пара хелатних прстенова са $\Lambda\Lambda$ или $\Delta\Delta$ хиралитетом [57]. Претходне студије су показале да када је доминантан или укупан CD пик позитиван код *s-cis*-[Co(edda-тип)L]⁻ приписана им је Λ апсолутна конфигурација [9, 16, 17, 19, 39]. На основу облика и знака CD спектра изолованих кобалт(III)-комплекса можемо приписати $\Delta\Delta$ (нето Δ) апсолутне конфигурације. Ово је у складу са чињеницом да стереоспецифични лиганди са *S* апсолутном конфигурацијом угљеника граде хелатне комплексне јоне са $\Delta\Delta$ (нето Δ) апсолутном конфигурацијом [10, 106].

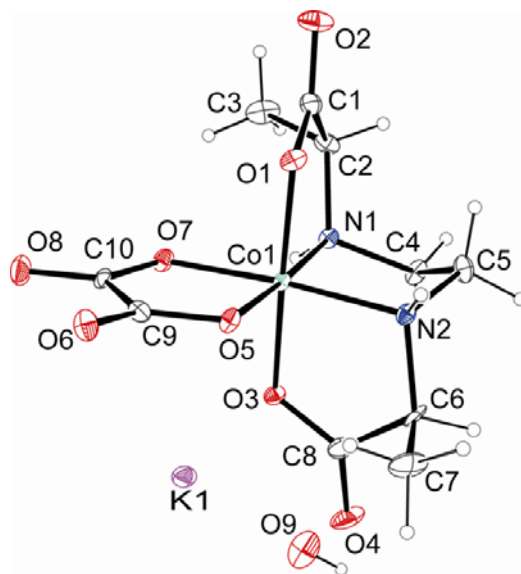
3.4.3. Кристална структура *s-cis*-оксалато-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноато-кобалтат(III)-семихидрата, *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)]_{0,5}H₂O

Молекулска структура *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)]_{0,5}H₂O комплекса са одговарајућим нумерисањем атома приказана је на слици 24, док су одабрани геометријски параметри дати у Табели 18. Со(III) јон је смештен у дисторгованом октаедарском окружењу које образује два карбоксилатна кисеоника и два атома азота из депротонованог S,S-eddp лиганда и два кисеоникова атома из депротонованог оксалатног лиганда. Комплекс поседује *s-cis* геометријску конфигурацију која је доминантна међу комплексима метала са edda-типом лиганда и формирају петочлане хелатне прстенове. У овој геометрији карбоксилатни атоми кисеоника O1 и O3 од тетрадентатног eddp лиганда заузимају аксијалне позиције са углом O1-Co1-O3 од 176,8(2)°. Екваторијалне координационе положаје заузимају парови азотових донаторских атома из eddp лиганда и кисеоникових донорских атома из оксалатног лиганда (Слика 24). Комплекс показује значајно угаоно одступање од идеалне октаедарске геометрије, са угловима у опсегу 86,1(2) до 87,9(3)°. Со-O и Со-N дужине

веза (Табела 18) су упоредиве са онима које су нађене у сличним комплексима укључујући edda-тип лиганата. У Табели 19 дате су дужине и углови веза комплекса кобалта са лигандима edda-типа у свим претходно објављеним структурама октаедарских Со(III)-комплекса депонованих у бази структурних података у Кембриџу (CSD) [7]. У комплексима са *s-cis* геометријом дужине Со-О и Со-N веза су у опсегу 1,87 до 1,91 Å односно 1,94 до 2,00 Å. Сличне вредности дужине веза су нађене у четири комплекса исте геометрије, док код одговарајућих комплекса ниже *uns-cis* геометрије дужине Со-О и Со-N веза су у опсегу 1,89 до 1,91 Å односно 1,90 до 1,95 Å, (Табела 19). Со-N везе су у просеку нешто краће за комплексе *uns-cis* геометрије него код комплекса са *s-cis* геометријом.

У *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0,5H₂O комплексу екваторијални етилендиамински прстен (Co1/N1/C4/C5/N2) је у увијеној конформацији са торзионим углом N1–C4–C5–N2 од 51,9(8)°. Као што је претходно нађено за edda-тип комплексе са *s-cis* геометријом два аксијална петочлана прстена (Co/N/C/C/O) су више у планарној конформацији, мада је један ипак са приметном разликом у N1–C2–C1–O1 и N2–C6–C8–O3 торзионим угловима који имају вредности од -6.0(9)° односно -19.7(9)°. Оксалатни прстен скоро планаран са O5–C9–C10–O7 торзионим углом од -4.5(9)°. У циљу процене напона прстенова, који је прихваћен као главни разлог дистрибуције геометријских изомера код комплекса edda-типа, битно је испитати збир углова веза у хелатним прстеновима као што су сугерисали Weakliem и Hoard [2]. У случају *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0,5H₂O комплекса збир углова веза у екваторијалном Co/N1/C4/C5/N2 прстену је 517,8° што указује на значајнији напон с обзиром на идеалну израчунату вредност од 527,9°. С друге стране, збир углова веза код аксијалних Co/N1/C2/C1/O1 и Co/N2/C6/C8/O3 прстенова је 537,8° односно 535,1°, што је више у складу са идеалном вредношћу од 538,4° нађене за планарне петочлане ацетатне хелатне прстенове [2]. Важно је напоменути да по саставу сличан комплекс са мање фаворизованом геометријом, *uns-cis*-K[Co(edda)ox] \cdot H₂O [108] има одговарајући етилендиамински прстен под нешто мањим напоном (518,9°) него у изолованом *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0,5H₂O комплексу. Као што се очекивало, знатно виши напон прстенова постоји код два ацетатна прстена у *uns-cis*-K[Co(edda)ox] \cdot H₂O комплексу, са сумом углова од 528,7 и 527,4°. Задња вредност одговара прстену G са највећим напоном (смештен у равни са етилендиаминским прстеном) [2], док су сви углови веза

код Co1/O1/C1/C2/N1 прстену изолованом *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0,5H₂O комплекса мањи у просеку за 2,1°.



Слика 24. Молекулска структура *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0,5H₂O комплекса

Табела 18. Одабране дужине (Å) и углови веза (°) за *s-cis*-K[Co(S,S-eddp)(ox)] \cdot 0,5H₂O комплекса

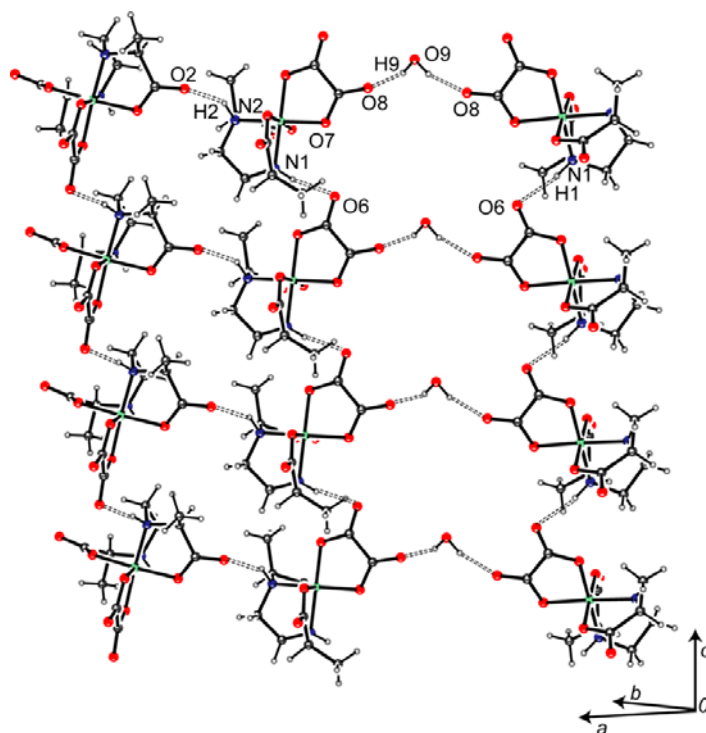
Co1–O1	1.894(5)	O1–Co1–N1	86.4(2)
Co1–O3	1.876(5)	O3–Co1–N2	86.1(2)
Co1–N1	1.936(6)	N1–Co1–N2	87.9(3)
Co1–N2	1.948(5)	O5–Co1–O7	86.3(2)
Co1–O5	1.893(5)	O1–Co1–O3	176.8(2)
Co1–O7	1.900(5)	N1–Co1–O5	176.5(2)
C1–O1	1.275(9)	N2–Co1–O7	175.3(2)
C1–O2	1.234(9)	Co1–O1–C1	115.4(5)
C8–O3	1.294(10)	Co1–O3–C8	116.3(5)
C8–O4	1.217(10)	C2–C1–O2	118.5(7)
C9–O5	1.283(9)	C6–C8–O4	121.1(8)
C10–O7	1.285(8)	C2–N1–C4	112.4(5)
C2–N1	1.480(8)	C5–N2–C6	111.7(6)
C6–N2	1.496(8)		

Табела 19. Дужине и углови веза у раније синтетисаним Co(III)-edda-тип комплекса узете из Cambridge Structural Database [107].

CSD refcode	Co-O1	Co-N1	Co-O2	Co-N2	O1-Co-N1	N1-Co-N2	N2-Co-O2	O1-Co-O2
<i>s-cis</i>								
CEWTUT ⁽⁺⁾	1.90	1.97	1.88	1.96	85.3	86.4	86.1	177.3
JATMOG ⁽⁺⁾	1.89	1.97	1.88	2.00	86.1	87.6	86.1	177.4
WARRUC ⁽⁺⁾	1.91	1.98	1.87	1.94	86.5	87.4	87.2	178.4
WEWYUS ⁽⁺⁾	1.89	1.99	1.89	1.96	87.1	86.3	86.7	176.5
WEWZAZ ⁽⁺⁾	1.91	1.97	1.90	1.97	85.7	86.7	85.9	175.4
YEFDAO ⁽⁺⁾	1.90	1.98	1.90	1.98	86.3	86.0	85.5	176.7
EKIFOT ⁽⁰⁾	1.88	1.94	1.88	1.95	86.5	86.9	86.3	178.2
NODZIP ⁽⁰⁾	1.88	1.96	1.88	1.98	86.7	86.1	87.2	178.2
SOMGAC ⁽⁰⁾	1.91	1.95	1.89	1.95	86.9	87.3	86.5	177.2
JIRKEB ⁽⁰⁾	1.90	1.94	1.89	1.94	86.3	87.5	87.4	178.6
NANNOF ⁽⁻⁾	1.89	1.94	1.88	1.92	86.4	88.3	87.1	178.5
NANPAT ⁽⁻⁾	1.90	1.96	1.90	1.94	87.0	88.0	87.0	176.3
VAQBUK ⁽⁻⁾	1.90	1.98	1.88	1.97	86.4	86.2	86.0	176.8
VAQCAR ⁽⁻⁾	1.90	1.98	1.89	1.96	86.0	87.0	86.2	176.4
VAQCEV ⁽⁻⁾	1.90	1.96	1.87	1.96	85.6	86.5	85.6	176.7
WARROW ⁽⁻⁾	1.89	1.98	1.88	1.98	86.5	86.7	85.3	176.1
<i>uns-cis</i> *								
EACPCO ⁽⁺⁾	1.91	1.94	1.90	1.94	84.7	87.7	84.9	90.2
JITPUX ⁽⁰⁾	1.91	1.92	1.88	1.95	85.1	87.4	86.2	90.3
NANUL ⁽⁻⁾	1.90	1.90	1.90	1.93	84.4	88.7	85.0	92.2
ZENBOJ ⁽⁻⁾	1.90	1.91	1.91	1.91	85.4	88.3	85.0	93.1

*у *uns-cis* комплексима O1 атом је посматран да припадаокаедарској равни (G прстен).

У паковању кристала комплексни анјони су директно повезани са две N-H...O водоничне везе које укључују оба етиленедиамин N-H доноре N1-H1 = 0.91, N1...O6 = 2.925(8), N1...O6 = 2.02 Å, N1-H1...O6ⁱ = 172°, (i) x, y, z-1 и N2-H2 = 0.91, N2...O2 = 2.886(8), N2...O2 = 2.08 Å, N2-H2...O2ⁱⁱ = 146°, (ii) x+1/2, -y+3/2, -z+2]. N1-H1...O6 интеракција са кисеоником оксалата као акцептором повезује молекуле у ланац дуж c осе. Додатна N2-H2...O2 интеракција, која укључује као акцептор O2 из карбоксилне групе пропионата, повезује ове ланце дуж a осе доводи до дводимензионалне структуре која је паралелно **101** кристалографској равни. Молекули воде у кристалној решетки служи као везе од суседних молекула преко пара симетрично везаних O9-H9...O8 водоничних веза [O9-H9 = 0.86, O9...O8 = 2.869(8), H9...O8 = 2.05 Å, O9-H9...O8ⁱⁱⁱ = 159°, (iii) x+1, y, z-1].



Слика 25. Водоничне везе у кристалној структури *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(ox)]·0,5H₂O комплекса (калијумови јони су изостављени ради јасноће)

Слика 25 приказује фрагмент тродимензионалне кристалне структуре изолованог *s-cis*-K[Co(*S,S*-eddp)(ox)]·0,5H₂O комплекса са главним водоничним везама. Атоми кисеоника O4 и O3 другог пропионат прстена, као и O9 из воде остају без одговарајућег донора атома водоника лепљењем и стога ови атоми формирају прилично кратке контакте са катјоном калијумом са K...O растојањем од 2,742(5), 2,678(7) и 3,007(8) Å. Два најкраћа контакта припадају пропионато карбоксилној групи која је део Co/N2/C6/C8/O3 хелатног прстена. Утицај ових електростатичких контаката може бити у вези са горе поменути разликама у N–C–O торзионим угловима два аксијална хелатна прстена који показују повећано савијање Co/N2/C6/C8/O3 у односу на Co/N1/C2/C1/O1 хелатни прстен. Слична разлика у планарности аксијалних хелатних прстенова је примећена код изоструктурног комплекса *s-cis*-K[Cr(*S,S*-eddp)(ox)]·0,5H₂O [98], где први аксијални пропионато прстен (торзиони угао N–C–O = -25,4°) образује два K...O контакта са 2,63 и 2,71 Å за разлику од другог (торзиони угао N–C–O = 9,0°) где су карбоксилатни кисеоникови атоми укључени у грађење водоничних веза.

3.4.4. *In vitro* испитивање антимикуробне активности

Резултати *in vitro* испитивања антибактеријске и антифунгалне активности H_2-S,S -eddp лиганда и одговарајућих s -*cis*-[Co(*S,S*-eddp)(ox)]⁻ и s -*cis*-[Co(*S,S*-eddp)(mal)]⁻ комплекса су приказани у Табели 20. Ради поређења, МИК и ММК наведени вредности активности и за доксициклин и флуконазол у Табели 20.

Уопште, H_2-S,S -eddp лиганд и одговарајућих s -*cis*-[Co(*S,S*-eddp)(ox)]⁻ и s -*cis*-[Co(*S,S*-eddp)(mal)]⁻ комплекси да имају широк спектар активности, од благе до умерене активности ка већини сојева [110,111,114]. Испитивана једињења су мање ефикасна од комерцијалних антибиотика против бактерија и гљивица [109-111]. Иако су неки комплекси кобалта(III), у поређењу са позитивном контролом, показали већи ефекат инхибиције против свих патогена [113].

Табела 20. *In vitro* антимикуробна активност H_2-S,S -eddp лиганда и одговарајућих s -*cis*-[Co(*S,S*-eddp)(ox)]⁻ и s -*cis*-[Co(*S,S*-eddp)(mal)]⁻ комплекса

Врсте	H_2-S,S -eddp		[Co(<i>S,S</i> eddp)(ox)] ⁻		[Co(<i>S,S</i> -eddp)(mal)] ⁻		Доксициклин	Флуконазол
	МИС*	ММС**	МИС	ММС	МИС	ММС	МИС/ММС	МИС/ММС
<i>Escherichia coli</i>	1000	>1000	1000	>1000	1000	>1000	7.81/15.63	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	15.63/31.25	-
<i>Pseud. aeruginosa</i> ATCC 27853	1000	>1000	1000	>1000	1000	>1000	62.5/125	-
<i>Enter. faecalis</i> ATCC 29212	125	>1000	31.25	>1000	125	>1000	7.81/62.5	-
<i>Proteus mirabilis</i>	15.63	>1000	1000	>1000	1000	>1000	250/> 250	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	7.81	500	500	>1000	7.81	62.5	0.45/7.81	-
<i>Bacillus subtilis</i> IP 5832	500	>1000	250	500	250	>1000	1.95/15.63	-
<i>Saccharomyces boulardii</i>	500	>1000	500	>1000	500	>1000	-	31.25/1000
<i>Candida albicans</i>	500	>1000	500	>1000	500	>1000	-	62.5/1000
<i>Aspergillus restrictus</i>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	-	500/2000
<i>Aspergillus niger</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	-	500/1000
<i>Aspergillus flavus</i>	1000	1000	1000	1000	>1000	>1000	-	1000/1000
<i>Aspergillus fumigatus</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	-	500/1000

- МИС* $\mu\text{g/ml}$, ММС** $\mu\text{g/ml}$, - није тестиран;

Сва тестирана једињења показала селективну антибактеријску активност у односу на тестиране врсте. МИК и ММК вредности за лиганд и комплексе биле у опсегу 7,81 до > 1000 $\mu\text{g/mL}$. Није било разлике у активностима између лиганда и одговарајућих комплекса. Неки радови о антимикуробним особинама кобалт(III)-комплекса често наглашавају повећану ефикасност кобалт јона након координације на одређени лиганд у односу на сам лиганд [115], што у овом раду није случај.

Испитивани комплекси показују изванредан инхибиције раста неких микроорганизама [109]. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 су биле осетљивије од

осталих бактерија, што је у складу са радовима [113]. МИК вредности су у распону од 31,25 до 125 $\mu\text{g/mL}$, али ММК вредности су $> 1000 \mu\text{g/mL}$.

Тестирана једињења не утичу на раст клиничких изолата и стандардних сојева грам-негативних бактерија или њихове активности су врло ниске (МИК и ММК у распону од 1000 до $> 1000 \mu\text{g/mL}$). *Proteus mirabilis* (клинички изолат) је посебно осетљив на лиганд (МИК је 15,63 $\mu\text{g/mL}$, али ММК је $> 1000 \mu\text{g/mL}$).

И пробиотици су показали већу осетљивост слично као тестирана једињења према другим микроорганизмима. МИК вредности биле су у распону од 7,81 до 500 $\mu\text{g/mL}$, ММК вредности су од 62,5 до $> 1000 \mu\text{g/mL}$. Најосетљивији се показао *Lactobacillus plantarum* према $\text{H}_2\text{-S,S-eddp}$ лиганду и одговарајућем *s-cis*-[Co(S,S-eddp)(ox)]⁻ комплексу (МИК је 7,81 $\mu\text{g/mL}$).

Тестирани $\text{H}_2\text{-S,S-eddp}$ лиганд и одговарајући кобалт(III) комплекси су показали ниску антигљивичну активност. МИК су од 500 до $> 1000 7,81 \mu\text{g/mL}$, док ММК су од 1000 до $> 1000 7,81 \mu\text{g/mL}$.

Имајући у виду ниску антимикуробну активност $\text{H}_2\text{-S,S-eddp}$ лиганда и одговарајућих кобалт(III) комплекса, сматрали смо да испитивање антимикуробне активности $\text{H}_2\text{-S,S-eddv}$ лиганда и одговарајућих кобалт(III) комплекса није вредно труда.

4. ЗАКЉУЧАК

У првом делу ове Докторске дисертације описана је синтеза и карактеризација паладијум(II)-комплекса, прво са N,N бидентатним лигандима едда-типа опште формуле $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2\text{-S,S-eddl})]^-$ а потом и са дериватом кумарина, 3-(1-(2-хидрокси-етиламино)етилиден)хроман-2,4-дионом. $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2\text{-S,S-eddl})]^-$ комплекси су окарактерисани микроанализом, инфрацрвеном и електронском апсорпционом спектроскопијом. Извршено је *in vitro* тестирање антимикробне активности синтетисаних лиганата и одговарајућих $[\text{PdCl}_2(\text{R}_2\text{-S,S-eddl})]^-$ комплекса против 15 врста бактерија и гљивица. Паладијум(II) комплекси имају статистички значајно већу активност него одговарајући лиганди.

Паладијум(II)-комплекс са 3-(1-(2-хидрокси-етиламино)етилиден)хроман-2,4-дионом окарактерисани микроанализом, инфрацрвеном и електронском апсорпционом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопијом. Предложена структура комплекса је потврђена на основу резултата рентгенске структурне анализе. Синтетисани комплекс је тестиран *in vitro* на ћелијама рака, Л929 фибросарком миша, У251 људски глиом и Б16 меланом миша. Резултати испитивања указују да синтетизовани паладијум(II)-комплекс показује веома значајну антитуморску активност према наведеним ћелијама рака и да може бити потенцијални кандидат за антиканцерогену терапију.

У овом раду извршена је синтеза хрома(III)-комплекса са (S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-метил)бутаноато јон оксалато и малонато лигандима као додатним лигандима. Карактеризација је извршена на бази резултата микроанализе, инфрацрвене и електронске апсорпционе спектроскопије. $\Delta\Delta\Delta$ (нето Δ) апсолутна конфигурација изолованих хрома(III)-комплекса је предвиђена на основу облика и знака CD спектра и то је у сагласности са чињеницом да стереоспецифични лиганди са S конфигурацијом атома угљеника формирају комплексне јоне са поменутом Δ апсолутном конфигурацијом. Иако се очекује да C вицинални ефекат да буде мали, из овде приказаних резултата може се видети да повећање величине алкил група на хиралном атому угљеника прилично смањује CD интензитете. Али ови примери још увек не увек дозвољавају да са сигурношћу изведемо општи закључак о величини вициалног ефекта.

Резултати су показали да антимикробне активности тестираних хром(III)-комплекса генерално показују ниску антибактеријску и антифунгалну активност.

Синтетисани су и октаедарски комплекси кобалта(III) са (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропионском киселином (*S,S*-eddp) и (*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-метил)бутерном киселином (*S,S*-eddv) који садрже и окалато и малонато лиганде, као додатне бидентатне лиганде. Геометрија комплекса је претпостављена на основу инфрацрвених и електронских апсорпционих спектра,. $\Delta\Delta\Delta$ (нето Δ) апсолутна конфигурација изолованих кобалт(III)-комплекса је предвиђена на основу облика и знака CD спектра и то је у сагласности са чињеницом да стереоспецифични лиганди са *S* конфигурацијом атома угљеника формирају комплексне јоне са поменутом Δ апсолутном конфигурацијом што је потврђено резултатима рентгенске структурне анализе у случају *s-cis*- $K[Co(S,S\text{-eddp})(ox)]\cdot 0,5H_2O$. Резултати испитивања антимикробне активности су показали да тестирани лиганд и кобалт(III) комплекси немају различит степен антимикробне активности према тестираним врстама микроорганизама. Није било разлике у активностима лиганда и комплекса. У принципу, тестирани лиганд и комплекси, показују ниско или умерено антимикробно дејство.

5. ЛИТЕРАТУРА

1. D. J. Radanović, *Coord. Chem. Rev.* **54** (1984) 159
2. H.A. Weakliem, J. L. Hoard, *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959) 549
3. R. Nagao, F. Marumo, Y. Saito, *Acta Cryst. Sect. B* **28** (1972) 1852
4. L. J. Halloran, R. E. Caputo, R. D. Willett, L. I. Legg, *Inorg. Chem.* **14** (1975) 1762
5. M. Mori, M. Shibata, E. Kyuno, F. Maruyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **35** (1962) 75
6. J. I. Legg, D. W. Cooke, *Inorg. Chem.* **4** (1965) 1576
7. J. I. Legg, D. W. Cooke, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 700
8. J. I. Legg, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **7** (1968) 1452
9. C. W. Van Saun, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **8** (1969) 115
10. P. F. Coleman, J. I. Legg, J. Steele, *Inorg. Chem.* **9** (1970) 937
11. K. Kuroda, K. Watanabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **44** (1971) 1034; *ibid.* **44** (1971) 2550
12. K. Kuroda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **45** (1972) 2176
13. K. Kuroda, *Chem. Lett.* (1972) 197; *ibid.* (1974) 17
14. C. W. Maricondi, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **11** (1972) 688
15. W. T. Jordan, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **12** (1973) 403
16. C. W. Maricondi, C. Maricondi, *Inorg. Chem.* **12** (1973) 1524
17. W. T. Jordan, J. I. Legg, *Inorg. Chem.* **13** (1974) 955
18. L. J. Halloran, J. I. Legg, *Inorg. Chem.* **13** (1974) 2193
19. P. J. Garnett, D. W. Watts, *Inorg. Chim. Acta* **8** (1974) 293; P. J. Garnett, D. W. Watts, J. I. Legg, *Inorg. Chem.* **8** (1969) 2534
20. D. J. Radanović, D. S. Veselinović, S. A. Grujić, *Bull. Soc. Chim. Beograd* **44** (1979) 503
21. G. Srdanov, R. Herak, D. J. Radanović, D. S. Veselinović, *Inorg. Chim. Acta* **38** (1980) 37
22. J. A. Weyh, *Inorg. Chem.* **16** (1977) 2968
23. J. A. Weyh, A. K. Newlun, T. J. Baker, T. K. Shioyama, *Inorg. Chem.* **12** (1973) 2374; J. A. Weyh, R. B. Maynard, T. J. Baker, *Inorg. Chem.* **15** (1976) 2298
24. K. Igi, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **13** (1974) 425
25. K. Igi, B. E. Douglas, *Inorg. Chim. Acta* **10** (1974) 109

26. K. D. Gailey, K. Igi, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **14** (1975) 2956
27. M. Okabayashi, K. Igi, J. Hidaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **52** (1979) 753
28. D. J. Radanović, M. I. Djuran, V. D. Miletić, R. R. Parijez, *J. Serb. Chem. Soc. Beograd* **2** (1985)
29. D. J. Radanović, M. I. Djuran, D. Č. Stamenović, S. A. Grujić, *Bull. soc. Chim. Beograd* **6** (1984) 315
30. J. L. Sudmeier, A. J. Senzel, G. L. Blackmer, *Inorg. Chem.* **10** (1971) 90
31. J. L. Sudmeier, G. Occupati, *Inorg. Chem.* **7** (1968) 2524
32. J. Fujita, K. Nakamoto, M. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **78** (1956) 3295
33. K. Nakamoto, Y. Morimoto, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* **83** (1961) 4528
34. K. Nakamoto, "Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds", John Wiley & Sons, New York, 1963, p. 238
35. D. H. Busch, J. C. Bailar, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **75** (1953) 4574
36. M. L. Morris, D. H. Busch, *J. Am. Chem. Soc.* **78** (1956) 5178
37. M. B. Čelap, S. R. Niketić, T. J. Janjić, V. N. Nikolić, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 2063
38. J. A. Neal, N. J. Rose, *Inorg. Chem.* **7**(1968) 2405; *ibid.* **12** (1973) 1226
39. D. J. Radanović, B. E. Douglas, *J. Coord. Chem.* **4** (1975) 191
40. J. A. Broomhead, M. Dwyer, N. Kane-Maquire, *Inorg. Chem.* **7** (1968) 1388
41. K. Nakamoto, J. Fujita, S. Tanaka, M. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **79** (1957) 4904
42. M. Linhard, M. Weigel, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **264** (1951) 321
43. C. J. Ballhausen, C. K. Jørgensen, *K. Dan. Vidensk. Selsk. Mat. Phys. Medd.* **29** No 14 (1955)
44. W. J. Moffit, C. J. Ballhausen, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **3** (1956) 178
45. H. Yamatera, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **31** (1958) 95
46. S. Yamada, R. Tsuchida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **26** (1953) 15
47. R. A. D. Wentworth, T. S. Piper, *Inorg. Chem.* **4** (1965) 709
48. T. S. Piper, R. L. Carlin, *J. Chem. Phys.* **35** (1961) 1809
49. J. A. Weyh, R. E. Hamm, *Inorg. Chem.* **7** (1968) 2431
50. R. Wernicke, H. H. Schmidtke, P. E. Hoggard, *Inorg. Chim. Acta* **24** (1977) 145 and references there in
51. C. M. Schafer, C. K. Jørgensen, *K. Dan. Vidensk. Selsk. Mat. Phys. Medd.* **34** No 13 (1965)
52. C. K. Jørgensen, *Adv. Chem. Phys.* **5** (1963) 33
53. J. R. Perumareddi, *J. Phys. Chem.* **71** (1967) 3144

54. R. Krishnamurthy, W. B. Schaap, J. R. Perumareddi, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 1338
55. L. N. Schoenberg, D. W. Cooke, C. F. Liu, *Inorg. Chem.* **7** (1968) 2368
56. G. G. Hawn, C. Maricondi, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.* **18** (1979) 2542
57. 1970 IUPAC rules, *Pure Appl. Chem.* **28** (1971) 1; *Inorg. Chem.* **9** (1970) 1
58. J. I. Legg, B. E. Douglas, *J. Am. Chem. Soc.* **88** (1966) 2697
59. R. Kuroda, S. F. Mason, *J. Chem. Soc. Dalton. Trans.* (1977) 1016
60. A. J. McCaffery, S. F. Mason, B. J. Norman, *J. Chem. Soc.* (1965) 5094
61. Y. Saito, K. Nakatsu, M. Shiro, H. Kuroya, *Acta Cryst.* **8** (1955) 729
62. F. S. Richardson, *Inorg. Chem.* **11** (1972) 2366
63. B. N. Figgis, "Introduction to Ligand Fields" Interscience Division, John Wiley & Sons, New York 1966, p. 242.
64. J.M. Vujić, M. Cvijović, G.N. Kaludjerović, M. Milovanović, B.B. Zmejkovski, V. Volarević, N. Arsenijević, T. J. Sabo, S. R. Trifunović, *Eur. J. Med. Chem.*, **45** (2010) 3601–3606.
65. J.M. Andrews, *J. Antimicrob. Chemother.*, **56** (2005) 60–76.
66. S.D. Sarker, L. Nahar, Y. Kumarasamy, *Methods*, **42** (2007) 321–324.
67. Agilent, CrysAlis PRO, Agilent Technologies, Yarnton, Oxfordshire, England (2010).
68. (a) A. Altomare, M.C. Burla, M. Cavalli, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Gagliardi, A.G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, *Sir97*, CNR, Bari (1997);
b) A. Altomare, M.C. Burla, M. Cavalli, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Gagliardi, G.G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Cryst.* **32** (1999) 115.
69. G.M. Sheldrick, SHELXS-97 and SHELXL-97, *Acta Crystallogr.* **A64** (2008) 112.
70. L.J. Farrugia, WinGX, University of Glasgow, Scotland, 1998;
J. Appl. Cryst. **32** (1999) 837.
71. L.J. Farrugia, ORTEP-3 for Windows, University of Glasgow, Scotland, 1997;
J. Appl. Cryst. **30** (1997) 565.
72. A.L. Spek, *Acta Crystallogr.* **D65** (2009) 148.
73. G. N. Kaludjerović, D. Miljković, M. Momčilović, V. M. Djinović, M. Mostarica-Stojković, T. J. Sabo, V. Trajković, *Int. J. Cancer.*, **2005**, 116, 479-486.
74. L.N. Schoenberg, D.W. Cooke, C.F. Liu, *Inorg. Chem.*, **7** (1968), p. 2386
75. Agilent (2013). CrysAlis PRO., Agilent Technologies, Yarnton, Oxfordshire, England.
76. M. C. Burla, M. Camalli, B. Carrozzini, G. L. Cascarano, C. Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.*, **36** (2003) 1103.
77. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr.*, **A64** (2008) 112–122.

78. M. Nardelli, *J. Appl. Crystallogr.*, **28** (1995) 659.
79. A. L. Spek, *J. Appl. Crystallogr.*, **36** (2003) 7–13.
80. L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.*, **45** (2012) 849–854.
81. T.J. Sabo, G.N. Kaluđerović, S.R. Grgurić-Šipka, F.W. Heinemann, S.R. Trifunović, *Inorg. Chem. Commun.*, **7** (2004) 241–244.
82. G.N. Kaluđerović, V.M. Đinović, Z.D. Juranić, T.P. Stanojković, T.J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.* **99** (2005) 488–496.
83. B.B. Krajčinović, G.N. Kaluđerović, D. Steinborn, H. Schmidt, Ch. Wagner, Ž. Žižak, Z.D. Juranić, S.R. Trifunović, T.J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 892–900.
84. B.B. Krajčinović, G.N. Kaluđerović, D. Steinborn, Ch. Wagner, K. Merzweiler, S.R. Trifunović, T.J. Sabo, *J. Serb. Chem. Soc.*, **74** (2009) 389–400.
85. B. B. Zmejkovski, G. N. Kaluđerović, S. Gómez-Ruiz, T. J. Sabo, *J. Serb. Chem., Soc.*, **11** (2009) 1249–1258.
86. L.I. Elding, L.F. Olsson, *J. Phys. Chem.*, **82** (1978) 69–74.
87. L. I. Elding, *Inorg. Chim. Acta*, **6** (1972) 647–651.
88. S.O. Podunavac-Kuzmanović, V.M. Leovac, N.U. Perišić-Janjić, J. Rogan, G. Balaš, *J. Serb. Chem. Soc.*, **64** (1999) 381–388.
89. G.P. Vasić, V.V. Glodjović, I.D. Radojević, O.D. Stefanović, Lj.R. Čomić, V.M. Djinović, S.R. Trifunović, *Inorg. Chim. Acta*, **363** (2010) 3606–3610.
90. B. Karakašević, *Microbiology and Parasitology, Medicinska knjiga*, Beograd-Zagreb, 1987.
91. S. Sukdolak, N. Vuković, S. Solujić, N. Manojlović, Lj., *J. Heterocyclic Chem.*, **41** (2004) 593–596.
92. E. Budzisz, E. Brzezinska, U. Krajewska, M. Rozalski, *E. J. Med. Chem.*, **38** (2003) 597–603.
93. F.H. Allen, O. Kennard, D.G. Watson, L. Brammer, A.G. Orpen, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*
94. D.J. Radanović, S.R. Trifunović, S.A. Grujić, C. Maricondi, M. Parvez, B.E. Douglas, *Inorg. Chim. Acta*, **157** (1989), p. 33
95. D.J. Radanović, D.S. Veselinović, S.A. Grujić, *J. Serb. Chem. Soc.*, **44** (1979), p. 503
96. V.V. Glođović, M.D. Joksović, S.R. Trifunović, *J. Serb. Chem. Soc.*, **70** (2005), p. 1
97. D.J. Radanović, S.R. Trifunović, S.A. Grujić, C. Maricondi, M. Parvez, B.E. Douglas, *Inorg. Chim. Acta*, **157** (1989), p. 33

98. V.V. Glodović, F.W. Heinemann, S.R. Trifunović, *J. Chem. Crystallogr.*, **38** (2008), p. 883
99. P.G. Bedoe, S.F. Mason, *Inorg. Nucl. Chem. Lett.*, **4** (1968), p. 433
- 100 K.R. Butler, M.R. Snow, *Chem. Commun.* (1971), p. 550
- 101.a) S. Kaizaki, J. Hidaka, Y. Shimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **42** (1969), p. 988,
b) S. Kaizaki, J. Hidaka, Y. Shimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **43** (1970), p. 1100
102. K. Swaminathan, D. H. Busch, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **20** (1961) 159
103. D. J. Radanović, M.I. Djuran, D. C. Stamenović, S.A. Grujić, *J. Serb. Chem. Soc.*, **6** (1984) 315
104. Brubaker GR, Schaefer DP, Worrell JH, J.I.Legg., (*Coord. Chem. Rev.*, **7**, (1971)161
105. Sabo TJ, Grgurić, SR, Trifunović SR *Synth React Inorg Met Org Chem (Rev)*, **32** (2002) 1661
106. M.J. Jun, Y.B. Park, S.R. Choi, *Polyhedron* **8** (1989) 120
107. F. H. Allen, *Acta Cryst. B58* (2002) 380–388. CSD release 5.34, May 2013.
108. I. Bernal, J. Cai, W. T. Jordan, *J. Coord. Chem.* **37** (1996) 283-298
109. E. Canpolat, M. Kaya, *Turk. J. Chem.* **28** (2004) 235.
110. A.Mishra, N.K. Kaushik, A.K. Verma, R. Gupta, *European J Med Chem* **43** (2008) 2189.
111. S. Martin, A. Dayalan, *Indian J. Sci. Technology.* **2:9** (2009) 59.
112. S. Srinivasan, J. Annaraj, P.R. Athappan, *J. Inorganic Biochem* **99** (2005) 876.
113. K. Sasikala, S. Arunachalam, *Chem Sci Trans.* **2(S1)** (2013) S157.
114. R.S Kumar, Arunachalam S, Periasamy VS, Preethy CP, Riyasdeen A, Akbarsha MA, *J Inorg Biochem.*, **103**(2009) 117-127.
115. E.L. Chang, C. Simmers, D. A. Knight, *Pharmaceuticals.* **3** (2010) 1711.

СПИСАК РАДОВА ПРОИСТЕКЛИХ ИЗ РЕЗУЛТАТА ОВЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. **Dragoslav R. Ilić**, Jelena M. Vujić, Ivana D. Radojević, Olgica D. Stefanović, Ljiljana R. Čomić, Dragić D. Banković, Srećko R. Trifunović, *Stereospecific ligands and their complexes, Part VIII: Antimicrobial activity of Palla dium(II) complexes with O,O'-dialkyl esters of (S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(4-methyl)-pentanoic acid*
Hem. Ind. **66** (3) 349–355 (2012)
DOI:10.2298/HEMIND110928096I **M23**
2. **D. R. Ilić**, V. V. Jevtić, I. D. Radojević, S. M. Vasić, O. S. Stefanović, Lj. R. Čomić, M. M. Vasojević, M. Z. Jelić, T. V. Koval'chuk, N. V. Loginova, S. R. Trifunović, *Stereospecific ligands and their complexes. Part XIX. Synthesis, characterization, circular dichroism and antimicrobial activity of oxalato and malonato-(S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(3--methyl)butanoato-chromate(III) complexes,*
J. Mol. Struct., 1050 (2013) 133-139.
doi.org/10.1016/j.molstruc.2013.07.022; ISSN 0022-2860; **M23**
3. **D. R. Ilić**, V. V. Jevtić, G. P. Radić, K. Arsikin, B. Ristić, Lj Harhaji-Trajković, N. Vuković, S. Sukdolak, Olivera Klisurić, V. Trajković, S. R. Trifunović *Synthesis, characterization and cytotoxicity of a new palladium(II) complex with a coumarine-derived ligand*
Eur. J. Med. Chem., **74** (2014) 502-508
doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.12.051 **M21**

НАУЧНО-ИСТРАЖИВАЧКИ РАД

НАУЧНИ РАДОВИ ОБЈАВЉЕНИ У ПРОТЕКЛОМ ПЕРИОДУ

1. Živadin D. Bugarčić, Dragoslav Ilić and Miloš I. Djuran,
Kinetic Study of the Interactions of Palladium(II) Complexes with Thiols in Acidic Aqueous Solution,
Austr. J. Chem., 2001, **54**, p. 237-240;
ISSN 004-9425; DOI:10.1071/CH01031 **M21**

Саопштења на домаћим научним конференцијама:

1. D. Ilić, S. Milinković, B. V. Đorđević, Ž. D. Bugarčić, M. I. Đuran
Helatni kompleksi nekih prelaznih elemenata kao novi aditivi za stočnu hranu
XXXIX Savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, 1999, str. 170. **M64**
2. D. Ilić, L.J. Milosavjević, Z. Minić
Župahrom CM u službi ekologije
Savetovanje Vodni resursi sliva Velike Morave i njihovo korišćenje,
Kruševac, 1988 **M64**
3. D. Ilić, M. Perišić
Unapređenje tehnološkog prečišćavanja vode za piće i zaštite vodnih resursa
XXXI Konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštita voda,
Jugoslovensko društvo za zaštitu voda, Vrnjačka Banja, 2002, str. 421 **M64**

БИОГРАФИЈА

Мр Драгослав Р. Илић је рођен 20.VII 1961. у Миоковићу, општина Лепосавић. Основну и средњу школу завршио је у Лепосавићу са одличним успехом. На Природно-математички факултет у Крагујевцу, студијска група Хемија, уписао се 1981. године, где је и дипломирао 1985. године са просечном оценом 7,65. Након дипломирања запослио се у Хемијској индустрији Жупа у Крушевцу као стручни сарадник, а касније је постављен на радно место директора сектора Развој и инвестиције. Тренутно ради као предавач на Високој медицинској школи у Ћуприји.

Последипломске студије, смер Неорганска хемија, на Природно-математичком факултету у Крагујевцу уписао је 1998. године где је и одбранио магистарску тезу 2001. године под насловом **Механизам супституционих реакција комплекса паладијума(II) са тиолима.**

На докторске студије, смер Неорганска хемија, на Природно-математичком факултету у Крагујевцу уписао се 2007. године.

ПРИЛОГ