

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Teodora S. Vitomirov

**SINTEZA I KARAKTERIZACIJA KOMPLEKSA  
BAKRA(II) SA  
4-(DIETILAMINO)SALICILALDEHIDOM I  
DIIMINSKIM LIGANDIMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2024.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Teodora S. Vitomirov

**SYNTHESIS AND CHARACTERISATION OF  
COPPER(II) COMPLEXES WITH  
4-(DIETHYLAMINO)SALICYLALDEHYDE  
AND DIIMINE LIGANDS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024

## **Mentor**

---

Vanredni profesor dr Maja Šumar Ristović  
Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet

## **Članovi komisije**

---

Vanredni profesor dr Božidar Čobeljić  
Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet

---

Vanredni profesor dr Dušan Veljković  
Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet

---

Redovni profesor dr Lada Živković  
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

**Datum odbrane:** \_\_\_\_\_

## *Zahvalnica*

Ova doktorska disertacija urađena je pri Katedri za opštu i neorgansku hemiju Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta.

Želela bih da se zahvalim vanrednom profesoru dr Maji Šumar Ristović, pre svega na tome što je pristala da bude moj mentor i što me je velikodušno prihvatila kao deo svoje laboratorije. Hvala na podršci, idejama i konstruktivnim savetima koji su u velikoj meri doprineli izradi ove disertacije, a najviše hvala na pruženoj prilici da napredujem onda kada su za mene mnoga vrata bila zatvorena.

Veoma sam zahvalna i vanrednom profesoru dr Božidaru Čobeljiću čije mnogobrojne korisne savete, kao i volju i spremnost da u svakom trenutku pomogne, izuzetno cenim. Hvala na velikoj motivaciji i pomoći u izradi i pisanju ove teze, kao i na pristanku da bude deo Komisije za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se vanrednom profesoru dr Dušanu Veljkoviću koga još iz studentskih dana pamtim kao izuzetnog nastavnika i naučnika, uvek voljnog da svoje znanje i iskustvo prenese svojim kolegama. Hvala na velikoj pomoći i izuzetno konstruktivnim smernicama u izradi ove teze, kao i na tome što je pristao da bude deo Komisije za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije. Posebno mu se zahvaljujem na kolegijalnoj podršci i prijateljskim savetima tokom svih godina zajedničkog poznanstva.

Veliku zahvalnost dugujem prof. dr Ladi Živković sa Univerziteta u Beogradu – Farmaceutskog fakulteta, prvenstveno na zajedničkoj saradnji u okviru koje je objavljen i jedan od radova iz ove teze, kao i na pruženim savetima, sugestijama i pomoći prilikom njene izrade. Takođe, želim da se zahvalim profesorki što je pristala da bude deo Komisije za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se i redovnom profesoru Farmaceutskog fakulteta, dr Biljani Potparević, na omogućenoj uspešnoj zajedničkoj saradnji i velikoj ukazanoj pomoći prilikom izrade ove teze. Ništa manju zahvalnost dugujem i divnoj dr Andrei Čabarkapa sa Instituta za primenu nuklearne energije – hvala na pomoći, strpljenju i požrtvovanosti u eksperimentalnom radu, kao i na svim korisnim savetima, lepim rečima i podršci. Bilo je zadovoljstvo saradivati sa tako vrednom i inspirativnom osobom.

Zahvalila bih se i dr Ivani Matić, višem naučnom saradniku Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, na svom angažovanju i ostvarenoj saradnji koja predstavlja bitan deo ove disertacije. Takođe, zahvaljujem se i dr Ireni Novaković, naučnom savetniku Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, na angažovanju u eksperimentalnom radu i značajnoj pomoći prilikom izrade ove disertacije.

Želela bih da se posebno zahvalim i svojim kolegamicama iz laboratorije 527 – dr Mimi Romanović, dr Neveni Stevanović, Snežani Selaković i Milici Savić. Svaka od njih na svoj poseban način doprinela je izradi ove teze – hvala za pomoć u eksperimentalnom i teorijskom radu, hvala za sve korisne savete, razmene mišljenja i iskustava, hvala za druženje i uvek vedru atmosferu u laboratoriji. Zahvaljujem se i dr Dejanu Jeremiću, neizostavnom članu laboratorije 527, na svom naučnom entuzijazmu, savetima i volji da svoje znanje uvek prenese drugima. Takođe, zahvaljujem se i prof. dr Iliji Brčeskom na svim iskrenim, konstruktivnim i lepim razgovorima u kojima se uvek mnogo toga moglo naučiti.

Zahvaljujem se i dragim kolegama iz laboratorije 559 – dr Predragu Ristiću, dr Jovani Araškov i Sanji Marković. Hvala vam na nesebičnoj pomoći prilikom pisanja ove teze, na prenesenom znanju, mnogobrojnim savetima i uvek zanimljivim razgovorima. Zahvaljujem se i svim dragim kolegama sa Katedre za opštu i neorgansku hemiju koji su mi kroz svoje znanje, iskustvo i razgovore ulepšali rad na Hemijskom fakultetu i od kojih sam mnogo naučila.

Najveću zahvalnost dugujem svojim divnim roditeljima i bratu koji su uvek bili moj najveći oslonac i bezrezervna podrška, čija me je neizmerna ljubav uvek pratila i ohrabivala. Hvala što ste verovali u mene i što ste svojim rečima i delima uvek bili primer za divljenje i uzor.

Hvala mom Dušanu za svu požrtvovanost, podršku i ljubav bez koje ništa ne bi bilo ovako lako i lepo. Hvala ti što si mom životu pružio najbolji smisao i razlog postojanja – našu divnu malu porodicu.

Najviše od svega i svih, hvala mojoj Kristini. Za sve što danas jesam, zaslužna je ona.

# SINTEZA I KARAKTERIZACIJA KOMPLEKSA BAKRA(II) SA 4-(DIETILAMINO)SALICILALDEHIDOM I DIIMINSKIM LIGANDIMA

## SAŽETAK

Primena metala u medicini ne predstavlja tekovinu moderne civilizacije jer je milenijumima unazad već poznato korišćenje metala u lečenju različitih bolesti. Ipak, savremena medicina omogućila je specifičniju i svrsishodniju primenu lekova na bazi metala koji su pokazali odličan potencijal u lečenju kancera, artritisa, kao i bolesti uzrokovanih bakterijskim i gljivičnim infekcijama i različitim inflamatornim procesima. Samim tim, koordinaciona jedinjenja metala predstavljaju posebnu sferu interesovanja u neorganskoj i bioneorganskoj hemiji.

Cilj ovog rada bila je sinteza i potpuna strukturna karakterizacija kompleksnih jedinjenja bakra(II) sa 4-(dietilamino)salicilaldehidom i diiminskim ligandima, određivanje njihove kristalne strukture, kao i ispitivanje biološke aktivnosti novonastalih kompleksa. Sintetisana su tri kompleksa Cu(II): kompleks **1** koji kao ligande sadrži 4-(dietilamino)salicilaldehid (**HL**<sup>1</sup>) i 2,2'-bipiridin, kompleks **2** koji sadrži 4-(dietilamino)salicilaldehid (**HL**<sup>1</sup>) i 1,10-fenantrolin, i kompleks **3** koji je nastao u sintezi soli Cu(II) sa (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirol[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminijum-hloridom (**HL**<sup>2</sup>Cl) i natrijum-azidom. Svi kompleksi okarakterisani su rendgenskom strukturnom analizom, IC spektroskopijom i elementalnom analizom.

Kompleks **1** predstavlja mononuklearni kompleks bakra(II) sa centralnim jonom metala u iskrivljenoj kvadratno-planarnoj geometriji koju čine dva donorska atoma azota 2,2'-bipiridina, kao i fenolatni i karbonilni atomi kiseonika liganda **HL**<sup>1</sup> koji je koordinovan u svom deprotonovanom, negativno naelektrisanom obliku, **L**<sup>1</sup>. Kompleks **2** sastoji se iz centrosimetričnog dimernog katjona sa geometrijom izdužene kvadratne piramide oko svakog Cu(II) jona u kojoj bazalnu ravan čine fenolatni i karbonilni atomi kiseonika deprotonovanog oblika liganda **L**<sup>1</sup> i dva donorska atoma azota 1,10-fenantrolina, dok apikalni položaj zauzima fenolatni kiseonikov atom koji pripada koordinacionoj sferi Cu(II) jona naspramne asimetrične jedinice. Ligand **HL**<sup>2</sup>Cl koordinovan je za Cu(II) u kompleksu **3** u svom deprotonovanom, formalno neutralnom, cvrterjonskom obliku, **L**<sup>2</sup>. Kompleks **3** sadrži centrosimetrični dimerni katjon, u kome jedna asimetrična jedinica oko centralnog jona Cu(II) ima geometriju aksijalno izdužene kvadratne piramide koju čine tri donorska NNO- atoma liganda **L**<sup>2</sup> i dva azotova atoma iz dva azidna mostna liganda, koji povezuju dva Cu(II) centra na dvostruki „end-to-end“ (di- $\mu$ -1,3-N<sub>3</sub>) koordinacioni način.

Za sva tri sintetisana kompleksa ispitana je antimikrobna aktivnost na četiri soja Gram-pozitivnih, četiri soja Gram-negativnih bakterija i tri soja gljivica, a urađeni su i test za procenu toksičnosti na račićima *Artemia salina* i DPPH test. Za komplekse **1** i **2** određena je citotoksična aktivnost prema pet malignih ćelijskih linija (HeLa, A375, MCF-7, A549 i PC-3) i jednoj normalnoj ćelijskoj liniji (HaCaT).

Ispitivani kompleksi bakra(II) ispoljili su značajnu antimikrobnu aktivnost, u nekim slučajevima uporedivu sa standardnim lekovima korišćenim u eksperimentima, ali se dinuklearni kompleks **2** posebno istakao tokom bioloških ispitivanja. Ovaj kompleks se pokazao ne samo kao odličan antibakterijski i antifungalni agens sa MIC vrednostima bliskim standardima, već i kao jedinjenje veoma potentne citotoksičnosti koja je u slučaju svih pet ispitivanih malignih ćelijskih linija bila veća od citotoksičnosti *cisplatin*a korišćenog kao standard. Poređenjem IC<sub>50</sub> vrednosti kompleksa **2** sa *cisplatinom* ustanovljeno je da ovo jedinjenje u svim slučajevima ispoljava citotoksičnu aktivnost koja je veća od aktivnosti standardnog leka i to u rasponu od 1,47 puta prema ćelijskim linijama A375 do 8,29 puta prema ćelijskim linijama MCF-7.

Određivanje uticaja kompleksa **1** i **2** na pojavu DNK oštećenja pokazalo je da ova jedinjenja ne ispoljavaju genotoksične efekte na humane ćelije cele krvi, dok je ispitivanjem njihove antigenotoksičnosti u post-tretmanu ustanovljeno da u najnižoj koncentraciji oba kompleksa pokazuju statistički značajan antigenotoksični efekat.

**Ključne reči:** kompleksi bakra(II), kristalna struktura, metali u medicini, antimikrobna aktivnost, citotoksična aktivnost.

**Naučna oblast:** Hemija

**Uža naučna oblast:** Neorganska hemija

**UDK broj:** 546

# SYNTHESIS AND CHARACTERISATION OF COPPER(II) COMPLEXES WITH 4-(DIETHYLAMINO)SALICYLALDEHYDE AND DIIMINE LIGANDS

## ABSTRACT

The use of metals in medicine does not represent a modern-day asset since for millennia it has been known that metals can be used for treating various kinds of disease. However, modern medicine has facilitated more specific and appropriate use of metal-based drugs that have shown great potential in the treatment of cancer, arthritis, the diseases caused by bacteria and fungi infections, as well as those caused by inflammatory processes. Therefore, coordination compounds represent a particular and important sphere of interest in inorganic and bioinorganic chemistry.

The aim of this study was the synthesis and complete structural characterisation of Cu(II) complex compounds with 4-(diethylamino)salicylaldehyde and diimine ligands, the determination of their crystal structures and the examination of their biological activities. Three complexes have been synthesised: complex **1** containing 2,2'-bipyridine and 4-(diethylamino)salicylaldehyde (**HL<sup>1</sup>**) and as ligands, complex **2** containing 4-(diethylamino)salicylaldehyde (**HL<sup>1</sup>**) and 1,10-phenanthroline, and complex **3** obtained in the synthetic reaction of Cu(II) salt with sodium azide and (*E*)-2-(2-(1-(1H-pyrrolo[2,3-*c*]pyridin-7-yl)ethylidene)hydrazineyl)-*N,N,N*-trimethyl-2-oxoethane-1-aminium-chloride (**HL<sup>2</sup>Cl**). All three complexes were characterised by X-ray crystallographic analysis, IR spectroscopy and elemental analysis.

Complex **1** is a mononuclear complex in which Cu(II) is placed in a slightly distorted square planar coordination environment formed by two nitrogen atoms of 2,2'-bipyridine and phenolate and carbonyl oxygen atoms of **HL<sup>1</sup>**, which is coordinated in its deprotonated, negatively charged form, **L<sup>1</sup>**. Complex **2** consists of a centrosymmetric dimeric cation with an elongated square pyramid geometry around each Cu(II) ion. The basal plane is formed by phenolate and carbonyl oxygen atoms of deprotonated **L<sup>1</sup>** ligand and two nitrogen atoms of 1,10-phenanthroline, whereas the apical position of the square pyramid is occupied by the phenolate oxygen atom belonging to the coordination sphere of the symmetry-related Cu(II) ion. In complex **3**, the ligand **HL<sup>2</sup>Cl** is coordinated to Cu(II) in its deprotonated, formally neutral, zwitter-ionic form **L<sup>2</sup>**. Complex **3** consists of a centrosymmetric dimeric cation with an axially elongated square pyramid geometry around each Cu(II) ion, formed by three NNO- donor atoms of **L<sup>2</sup>** and two nitrogen atoms from two azide-bridged ligands. These azide ligands bridge the two Cu(II) centres by adopting a double end-to-end (*di-μ*-1,3-N<sub>3</sub>) coordination mode.

Antimicrobial activity, brine shrimp assay and DPPH radical scavenging activity of all three complexes were evaluated. Antimicrobial activity was tested against four Gram-positive, four Gram-negative bacteria, as well as against three fungal strains. Cytotoxic activity of complexes **1** and **2** was tested against five malignant cell lines (HeLa, A375, MCF-7, A549 and PC-3) and one normal cell line (HaCaT).

All of the tested Cu(II) complexes exhibited significant antimicrobial activity which was, in some cases, comparable to standard drugs used in the experiments, but complex **2** especially stood out during biological examinations. This complex demonstrated not only good antibacterial and antifungal activity, with MIC values close to the ones of standard drugs, but also very potent cytotoxicity against all five tested malignant cell lines, which was in all cases higher than the cytotoxicity of standard drug *cisplatin*. Comparing the IC<sub>50</sub> values of complex **2** and *cisplatin*, it was



found that this complex's cytotoxic activity is higher than the activity of the standard drug, and the ratio goes from 1,47 against A375 cell lines to 8,29 against MCF-7 cell lines.

Experiments performed to determine the effects of complexes **1** and **2** on DNA damage showed that these compounds do not exhibit genotoxic effects on human whole blood cells. On the other hand, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced DNA damage assay revealed the antigenotoxic effect of tested compounds, with both complexes exhibiting statistically significant DNA damage reduction in their lowest concentrations.

**Keywords:** Cu(II) complexes, crystal structure, metals in medicine, antimicrobial activity, cytotoxic activity.

**Scientific field:** Chemistry

**Scientific subfield:** Inorganic chemistry

**UDC number:** 546

## *Lista skraćenica*

- ANOVA** – analiza varijansi (engl. *Analysis of variance*)
- ATR** – tehnika oslabljene totalne refleksije (engl. *Attenuated Total Reflection*)
- bipy** – 2,2'-bipiridin
- CCD** – senzor fotosenzitivnih dioda (engl. *Charge-coupled device*)
- CIF** – kristalografski informacioni fajl (engl. *Crystallographic Information File*)
- CSD** – Kembrička kristalografska baza podataka (engl. *Cambridge Structural Database*)
- DMSO** – dimetil-sulfoksid
- DNK** – dezoksiribonukleinska kiselina
- DPPH** – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal
- EE** – koordinacioni način povezivanja mostnih liganada preko krajnjih ligatorskih atoma (engl. *end-to-end*)
- EO** – koordinacioni način povezivanja mostnih liganada preko jednog ligatorskog atoma (engl. *end-on*)
- ESI** – elektrosprej jonizacija (engl. *Electrospray ionisation*)
- FT-IR** – infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (engl. *Fourier Transform Infrared spectroscopy*)
- HEPES** – 2-[4-(2-hidroksietil)piperazin-1-il]etan-1-sulfonska kiselina
- HL<sup>1</sup>** – 4(dietilamino)salicilaldehid
- HL<sup>2</sup>Cl** – (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirol[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminijum-hlorid
- IC<sub>50</sub>** – inhibitorna koncentracija (engl. *Inhibitory concentration*)
- LC<sub>50</sub>** – letalna koncentracija (engl. *Lethal concentration*)
- LMPA** – agarozna niske tačke topljenja (engl. *Low melting point agarose*)
- MeOH** – metanol
- MIC** – minimalna inhibitorna koncentracija (engl. *Minimum inhibitory concentration*)
- MTP** – mikrotitar ploča sa 96 bunara
- MTT** – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid
- NaOMe** – natrijum-metoksid
- NMPA** – agarozna normalne tačke topljenja (engl. *Normal melting point agarose*)
- ORTEP** – reprezentacija molekulske strukture dobijene rendgenskom strukturnom analizom (engl. *Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot*)
- PBS** – fosfatom puferisan fiziološki rastvor (engl. *Phosphate-buffered saline*)
- phen** – 1,10-fenantrolin
- ROS** – reaktivne kiseonične vrste (engl. *Reactive Oxygen Species*)
- SD** – standardna devijacija
- SDS** – natrijum-dodecil-sulfat (engl. *Sodium dodecyl sulfate*)

**SEM** – standardna greška srednje vrednosti (engl. *Standard error of mean*)

**TMS** – tetrametilsilan

**TRIS** – tris(hidroksimetil)aminometan

**UV-Vis** – ultraljubičasta spektroskopija (engl. *Ultraviolet-visible spectroscopy*)

# Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Opšti deo .....	2
2.1. Geometrija i koordinacioni brojevi kompleksnih jedinjenja bakra.....	2
2.2. Uloga bakra i njegovih kompleksnih jedinjenja u bioneorganskoj hemiji.....	6
2.3. Diimini, Šifove baze i Žirarovi reagensi kao ligandi u kompleksnim jedinjenjima .....	11
2.3.1. Diiminski ligandi.....	11
2.3.2. Šifove baze .....	13
2.3.3. Žirarovi reagensi .....	15
3. Eksperimentalni deo .....	20
3.1. Materijali i metode .....	20
3.1.1. Supstance korišćene u analizama .....	20
3.1.2. Elementalna analiza .....	20
3.1.3. UV/Vis spektroskopija.....	20
3.1.4. IC spektroskopija .....	20
3.1.5. NMR spektroskopija .....	20
3.1.6. Masena spektrometrija .....	20
3.1.7. Pretraga Kembričke kristalografske baze podataka .....	20
3.2. Sinteza liganda $HL^2Cl$ .....	21
3.3. Sinteze kompleksa.....	21
3.3.1. Sinteza kompleksa <b>1</b> $[Cu(L^1)(bipy)]BF_4 \cdot 0,5H_2O$ .....	21
3.3.2. Sinteza kompleksa <b>2</b> $[Cu_2(L^1)_2(phen)_2](BF_4)_2$ .....	22
3.3.3. Sinteza kompleksa <b>3</b> $[Cu_2(L^2)_2(\mu_{1,3-N_3})_2](BF_4)_2$ .....	22
3.4. Rendgenska strukturna analiza kompleksa .....	23
3.4.1. Rendgenska strukturna analiza kompleksa <b>1</b> i <b>2</b> .....	23
3.4.2. Rendgenska strukturna analiza kompleksa <b>3</b> .....	24
3.5. Biološka aktivnost.....	26
3.5.1. Antimikrobna aktivnost.....	26
3.5.2. Test toksičnosti na račićima <i>Artemia salina</i> .....	26
3.5.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti (DPPH test) .....	26
3.5.4. Citotoksičnost kompleksa <b>1</b> i <b>2</b> .....	27
3.5.5. Genotoksičnost i antigenotoksičnost kompleksa <b>1</b> i <b>2</b> .....	28
3.5.5.1. Elektroforeza pojedinačnih ćelija – <i>komet test</i> .....	28
4. Rezultati i diskusija.....	31
4.1. Sinteze.....	31

4.1.1. Sinteza liganda <b>HL<sup>2</sup>Cl</b> .....	31
4.1.2. Sinteze kompleksa <b>1 i 2</b> .....	32
4.1.3. Sinteza kompleksa <b>3</b> .....	33
4.2. Opis kristalnih struktura.....	35
4.2.1. Rendgenska strukturna analiza kompleksa <b>1</b> .....	35
4.2.2. Rendgenska strukturna analiza kompleksa <b>2</b> .....	39
4.2.3. Rendgenska strukturna analiza kompleksa <b>3</b> .....	44
4.3. Pretraga Kembričke kristalografske baze podataka .....	48
4.4. Biološka aktivnost.....	52
4.4.1. Antimikrobna aktivnost.....	52
4.4.2. Test toksičnosti na račićima <i>Artemia salina</i> .....	55
4.4.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti (DPPH test) .....	56
4.4.4. Citotoksičnost kompleksa <b>1 i 2</b> .....	57
4.4.5. Ispitivanje genotoksičnosti i antigenotoksičnosti kompleksa <b>1 i 2</b> .....	58
4.4.5.1. Procena genotoksičnog potencijala kompleksa <b>1 i 2</b> .....	58
4.4.5.2. Procena antigenotoksičnog potencijala kompleksa <b>1 i 2</b> .....	59
5. Zaključak .....	60
6. Literatura.....	62
Prilog.....	77
Biografija .....	85

## 1. Uvod

Kompleksna jedinjenja na bazi metala predstavljaju novu grupu antifungalnih i antibakterijskih agenasa i sve su veći predmet interesovanja zbog svoje potencijalne primene u lečenju infekcija izazvanih ovim mikroorganizmima. Među njima, veoma se ističu kompleksi bakra(II) za koje literaturni podaci pokazuju raznovrsnu biološku aktivnost, poput: antibakterijske [1–3], antifungalne [4,5], antitumorske [4,6], antiinflamatorne aktivnosti [6–12], kao i interakcije sa DNK [13,14].

Diiminski ligandi korišćeni za sintezu kompleksa u ovom radu, 1,10-fenantrolin i 2,2'-bipiridin, i sami pokazuju odličnu antibakterijsku i antifungalnu aktivnost prema velikom broju patogenih bakterija i gljivica [15–17]. Pored njih, u literaturi je zabeležen i veliki broj NNO donorskih hidrazonskih liganada koji u koordinaciji sa metalima pokazuju značajnu antimikrobnu aktivnost [18–20]. Sa druge strane, salicilaldehid i njegovi derivati imaju dobra koordinaciona svojstva i pokazuju tendenciju vezivanja za 3d metale kao bidentatni helatni ligandi, formirajući najčešće komplekse kvadratno-planarne [21] i oktaedarske [22] geometrije oko centralnog metalnog jona. Derivati salicilaldehida takođe ispoljavaju značajnu biološku aktivnost prema patogenima [23,24]. Pregledom literature pronađeno je i da određeni kompleksi bakra(II) sa Šifovim bazama ispoljavaju značajan antigenotoksični efekat što ih čini potencijalno dobrim hemopreventivnim agensima [25].

Imajući sve ovo u vidu, može se očekivati da će koordinaciona jedinjenja bakra(II) sa derivatima salicilaldehida i diiminima ispoljavati različite biološke aktivnosti. Pošto su koordinaciona jedinjenja prelaznih metalnih jona sa diiminima sa jedne strane, i salicilaldehidnim derivatima sa druge strane, predmet mnogobrojnih naučnih istraživanja, odlučeno je da se ove hemijske vrste implementiraju u nova jedinjenja, kako bi se ispitala njihova potencijalno sinergična biološka aktivnost. Konkretno, cilj ovog rada bio je sinteza, karakterizacija i određivanje strukture, kao i ispitivanje biološke aktivnosti novih kompleksa bakra(II) sa 4-(dietilamino)salicilaldehidom i diiminskim ligandima.

Ovaj rad se nadalje sastoji iz četiri dela:

- U **Opštem delu** sadržan je pregled literature u kome su opisane strukturne karakteristike kompleksnih jedinjenja bakra(II), uloga bakra kao bioelementa, kao i biološka aktivnost njegovih kompleksa. Takođe, prikazane su osnovne karakteristike Žirarovih reagenasa, Šifovih baza i diimina, koji nalaze veliku upotrebu kao ligandi u koordinacionoj hemiji.
- U **Eksperimentalnom delu** opisane su sinteze kompleksnih jedinjenja, kao i liganda na bazi Žirarovog T reagenasa. Dat je takođe i detaljan opis tehnika i metoda koje su korišćene za strukturnu karakterizaciju jedinjenja i ispitivanje njihove biološke aktivnosti.
- U okviru dela **Rezultati i diskusija** prikazani su rezultati spektroskopske karakterizacije i rendgenske strukturne analize sintetisanih kompleksa, kao i rezultati ispitivanja njihove antimikrobne i citotoksične aktivnosti. Dat je osvrt i na pretragu Kembričke kristalografske baze podataka, a prikazani su i rezultati ispitivanja genotoksičnosti i antigenotoksičnosti kompleksâ.
- **Zaključak** sadrži prikaz najvažnijih rezultata ostvarenih u okviru ove doktorske disertacije.

## 2. Opšti deo

### 2.1. Geometrija i koordinacioni brojevi kompleksnih jedinjenja bakra

Bakar je prelazni element atomskog broja 29 i elektronske konfiguracije  $[\text{Ar}]3d^{10}4s^1$  koji se nalazi u četvrtoj periodi i 11. grupi Periodnog sistema elemenata (**Slika 1**). U svojim jedinjenjima može postojati u oksidacionim stanjima od +1 do +4, pri čemu su najčešća oksidaciona stanja bakra +2 i +1. U svim navedenim oksidacionim stanjima bakar gradi i kompleksna jedinjenja različitih koordinacionih brojeva i geometrija [26].

Slika 1 prikazuje periodni sistem elemenata. Element bakar (Cu) je istaknut u žutoj kutiji sa brojem 29, simbolom Cu, masenom brojem 63,55 i nazivom Cuprum. Elektronska konfiguracija je data kao [Ar]4s<sup>1</sup>3d<sup>10</sup>. Plava strelica ukazuje na poziciju bakra u periodnom sistemu. Elementi su grupisani u boje: H (plavo), Li-Be (crveno), Na-Mg (crveno), K-Ca-Sc (crveno), Rb-Sr-Y (crveno), Cs-Ba-La (crveno), Fr-Ra-Ac (crveno), Ti-V-Cr-Mn-Fe-Co-Ni-Cu-Zn (žuto), Zr-Nb-Mo-Tc-Ru-Rh-Pd-Ag-Cd (žuto), Hf-Ta-W-Re-Os-Ir-Pt-Au-Hg (žuto), Rf-Db-Sg-Bh-Hs-Mt-Ds-Rg (žuto), Cu-Zn (žuto), Ga-Ge-As-Se-Br-Kr (zeleno), In-Sn-Sb-Te-I-Xe (zeleno), Tl-Pb-Bi-Po-At-Rn (zeleno), Nh-Fl-Mc-Lv-Ts-Og (zeleno), Ce-Pr-Nd-Pm-Sm-Eu-Gd-Tb-Dy-Ho-Er-Tm-Yb-Lu (narančasto), Th-Pa-U-Np-Pu-Am-Cm-Bk-Cf-Es-Fm-Md-No-Lr (narančasto).

**Slika 1.** Periodni sistem elemenata (slika prilagođena i preuzeta sa sajta canva.com [27]).

Sferno simetrični jon bakra(I) elektronske konfiguracije  $3d^{10}$  gradi dijamagnetične komplekse najčešće koordinacionih brojeva 2 i 3, linearne i trigonalno planarne geometrije [26,28], mada može graditi i komplekse koordinacionog broja 4 sa tetraedarskom geometrijom [29]. Bakar(I) pokazuje tendenciju formiranja polinuklearnih jedinjenja [30], ali izborom pogodnih liganada može se favorizovati stvaranje mononuklearnih kompleksa [26].

Kao „meka“ kiselina po Pirsonovoj teoriji [31,32], bakar(I) favorizuje meke ligande u formiranju kompleksa. Kada govorimo o halogenim elementima kao ligatorima, bakar(I) lako gradi komplekse sa jodidima i bromidima, ali i sa hloridima sa kojima je zabeležen veliki broj ovih jedinjenja. donorski ligandi takođe su česti u kompleksima bakra(I), pri čemu stabilnije komplekse grade N- aromatični ligandi od aaminskih [26]. Ligandi koji sadrže fosfor kao meku bazu veoma su pogodni za kompleksiranje bakra(I), pa je tako u literaturi zabeležen značajan broj kompleksa bakra(I) sa fosfinskim ligandima [33,34]. Još jedan čest ligatorski atom je sumpor koji kao meka baza gradi veliki broj kompleksa sa Cu(I), a vrlo često se ligandi na bazi sumpora ponašaju kao mostni ligandi u polinuklearnim kompleksima bakra(I) [35].

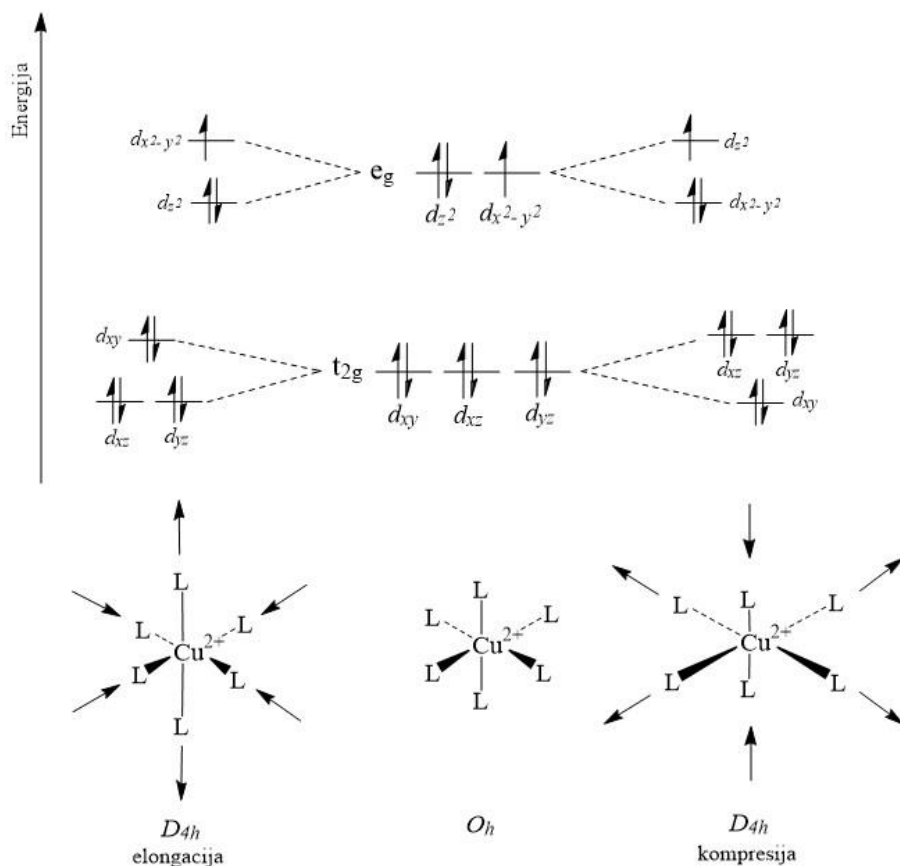
Jedan od možda i najbolje proučenih jona prelaznih metala je Cu(II) jon, a razlog tome u velikoj meri jesu stabilnost, biološki i tehnološki značaj koji njegova jedinjenja imaju [36]. Raznovrsna biološka aktivnost kompleksnih jedinjenja bakra(II), kao i uloga samog bakra u biološkim procesima detaljnije je opisana u *Poglavlju 2.2*.

Činjenica da jon bakra(II) elektronske konfiguracije  $d^9$  ne poseduje sfernu simetriju utiče na njegovu stereohemijsku fleksibilnost zbog koje gradi komplekse velikog broja različitih i distorgovanih geometrija [36,37]. Najčešće geometrije koje jon Cu(II) zauzima u svojim kompleksima su kvadratno-planarna i oktaedarska, a postoji i veliki broj kompleksa koordinacionog

broja 5 distorgovane geometrije – u vodenim rastvorima ovih kompleksa postoji ravnoteža između geometrija kvadratne piramide i trigonalne bipiramide [38]. Tetraedarska geometrija kod Cu(II) kompleksa nije toliko česta zato što su ovi kompleksi skloni preuređenju liganada i eventualnoj koordinaciji rastvarača ili kontra-jona u cilju formiranja termodinamički stabilnije pentakoordinovane geometrije poput kvadratne piramide ili trigonalne bipiramide [39].

Oktaedarska geometrija kompleksa bakra(II) u koordinacionom broju 6 od posebnog je značaja zbog prisustva Jan-Telerovog efekta koji je jako izražen kod sistema  $d^9$  konfiguracije. Jan-Telerov efekat objašnjava geometrijsku distorziju molekula/jona koja se javlja kao posledica elektronske konfiguracije. Glavni postulat Jan-Telerove teoreme kaže da „stabilnost i degeneracija nisu istovremeno mogući osim ukoliko je molekul linearan“ [40] i da su svi nelinearni molekuli/joni u kojima je osnovno stanje elektronski degenerisano nestabilni, pa zbog toga dolazi do geometrijske distorzije koja snižava simetriju i energiju molekula/jona i uklanja degeneraciju [41]. Za komplekse oktaedarske geometrije čiji centralni joni metala imaju sledeće elektronske konfiguracije Jan-Telerov efekat je najizraženiji: visokospinski  $d^4$ , niskospinski  $d^7$  i  $d^9$ . Jan-Telerova distorzija kod oktaedarskih kompleksa ogleđa se u produženju aksijalnih veza u odnosu na ekvatorijalne (tetragonalna  $D_{4h}$  elongacija) ili u skraćivanju aksijalnih veza u odnosu na ekvatorijalne (tetragonalna  $D_{4h}$  kompresija). Na **Slici 2.** prikazan je Jan-Telerov efekat na oktaedarske komplekse bakra(II) – kod Cu(II) kompleksa generalno je favorizovana tetragonalna elongacija u odnosu na tetragonalnu kompresiju [36,42].

Kompleksna jedinjenja koja kao centralni jon metala sadrže Cu(II) zaista su mnogobrojna. Bakar(II) se nalazi na granici između mekih i tvrdih kiselina i stoga najveći broj kompleksa gradi sa N- i O- donorskim ligandima, a potom i sa ligandima koji sadrže hloridni anjon i sumpor [26]. Raznovrsnost N- donorskih liganada koji mogu kompleksirati jon Cu(II) je velika – to mogu biti alifatični i aromatični amini, nitro- jedinjenja, azidi, cijanati, imini, diimini i mnoga druga jedinjenja koja sadrže neku azotovu funkcionalnu grupu. U kompleksima bakra(II) vrlo su česti i polidentatni ligandi NO- donorskog tipa, kao i tiokarbamatni ligandi [26].



**Slika 2.** Jan-Telerova distorzija na primeru oktaedarskog ( $O_h$ ) kompleksa bakra(II).



Oksidaciono stanje +3 za bakar nije uobičajeno, iz tog razloga i jedinjenja bakra(III) nisu toliko česta, uglavnom su nestabilna i lako se redukuju. Koordinaciono okruženje jona bakra(III) elektronske konfiguracije  $3d^8$  najčešće je ili oktaedarsko, kao u slučaju kalijum-heksafluorokuprata(III),  $K_3[CuF_6]$ , ili kvadratno-planarno, kao u slučaju mešovitog oksida  $KCuO_2$ . Retko, u strukturama sličnim perovskitu, bakar(III) se može naći u distorgovanom tetraedarskom okruženju [43]. Najstabilnija i najpoznatija jedinjenja bakra u oksidacionom stanju +3 su telurati i perjodati nastali oksidacijom soli bakra(II) persulfatom i hipohloritom u baznoj sredini, u prisustvu teluratnog i perjodatnog jona. Ovako dobijena kompleksna jedinjenja bakra(III) imaju kvadratno-planarnu geometriju i različitih su formula:  $Na_7[Cu(IO_6)_2] \cdot 16H_2O$ ,  $K_9[Cu(TeO_6)_2]$ ,  $K_7[Cu(IO_6)_2] \cdot 20H_2O$ ,  $Na_9[Cu(TeO_6)_2] \cdot 20H_2O$  [44,45]. Ditiokarbamatni ligandi takođe grade veoma stabilne komplekse sa bakrom(III), formirajući najčešće kompleksni jon tipa  $[Cu(S_2CNR_2)_2]^+$  kvadratno-planarne geometrije [46]. Zbog svoje sposobnosti da delokalizuju pozitivno naelektrisanje metala na periferne delove kompleksa, ditiokarbamati grade komplekse sa metalima visokih oksidacionih stanja uz sprečavanje njihove redukcije [46,47]. Ovo je svojstvo od velikog praktičnog značaja sa stanovišta sinteze novih kompleksa bakra(III) koji se onda mogu dobiti u reakciji  $[Cu(S_2CNR_2)_2]^+$  jona sa oksidujućim reagensima gde kao proizvod nastaju analogni Cu(III) kompleksi. U literaturi su poznati i kompleksi bakra(III) sa makrocikličnim ligandima porfirinskog tipa u kojima se jon Cu(III) nalazi u kvadratno-planarnom okruženju [48,49].

Koordinaciono okruženje bakra u svom najvišem i najnestabilnijem oksidacionom stanju +4 mora sadržati ligande koji se teško oksiduju i samim tim stabilizuju jon Cu(IV), a takvi su oni ligandi koji sadrže fluoridni i oksidni anjon [45]. Upravo zbog svoje velike nestabilnosti jedinjenja bakra(IV) veoma su retka, a jedno od strukturno okarakterisanih jeste kompleks cezijum-heksafluorokuprat(IV),  $Cs[CuF_6]$  [50]. Pored ovog, bakar(IV) se još može naći u nekim oksidima poput, na primer,  $BaCuO_{2.63}$  koji se dobija zagrevanjem  $BaCuO_2$  u prisustvu kiseonika [51]. Pretragom novije literature može se naići na radove koji se bave proračunima vezanim za verovatnoću postojanja i stabilnosti kompleksa bakra(IV) sa N- donorskim makrocikličnim helatnim ligandima koji u apikalnim položajima poliedarske geometrije sadrže fluoridne ili oksidne anjone u cilju stabilizacije jona Cu(IV) [52,53].

Kratak rezime karakterističnih koordinacionih brojeva i geometrija kompleksa svih postojećih jona bakra prikazan je u **Tabeli 1**.

**Tabela 1.** Pregled karakterističnih geometrija i koordinacionih brojeva različitih jona bakra, kao i najčešćih liganada koji kompleksiraju odgovarajuće jone bakra.

Jon bakra i elektronska konfiguracija	Koordinacioni brojevi kompleksa	Geometrije kompleksa	Najčešći ligandi
Cu(I), [Ar] $3d^{10}$	2	linearna	P- i S- donorski (najčešći),
	3	trigonalno planarna	N- donorski (aromatični),
	4	tetraedar (ređe)	Cl <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> (ređe)
Cu(II), [Ar] $3d^9$	4	kvadratno-planarna tetraedar (ređe)	N- i O- donorski (najčešći), mešoviti NO-donorski,
	5	trigonalna bipiramida kvadratna piramida	Cl <sup>-</sup> , S- donorski (tiokarbamati)
	6	oktaedar	
Cu(III), [Ar] $3d^8$	4	kvadratno-planarna (najčešće) tetraedar (ređe)	IO <sub>6</sub> <sup>5-</sup> , TeO <sub>6</sub> <sup>6-</sup> , ditiokarbamati,
	6	oktaedar	makrocikli porfirinskog tipa
Cu(IV), [Ar] $3d^7$	6	oktaedar	F <sup>-</sup> , O <sup>2-</sup> (stabilizuju), N- donorski makrocikli (potencijalno)

## 2.2. Uloga bakra i njegovih kompleksnih jedinjenja u bioneorganskoj hemiji

Bakar predstavlja esencijalni bioelement koji je neophodan za normalno funkcionisanje velikog broja organizama, kako prokariota, tako i eukariota. On je glavni konstituent različitih metaloproteina koji se nalaze u mnogobrojnim organelama u ljudskom organizmu i obavljaju veliki broj funkcija [54–56]. Biološka uloga bakra je raznovrsna pa tako on, između ostalog, učestvuje u ćelijskom disanju u mitohondrijama, apsorpciji gvožđa, kros-linkingu kolagena i elastina i neutralisanju slobodnih radikala. U svim navedenim primerima bakar se ponaša kao katalitički kofaktor u redoks hemiji enzima, a to mu omogućava njegova sposobnost oksidoredukcije koja mu, samim tim, daje i veliku važnost u ćelijskoj fiziologiji [57]. Neki od enzima u kojima je bakar kofaktor navedeni su u **Tabeli 2**.

**Tabela 2.** Određeni enzimi koji sadrže bakar kao kofaktor, njihova uloga i posledice njihovog nedostatka [58].

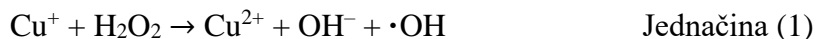
Enzim	Uloga	Posledica nedostatka
Ceruloplazmin	transport Cu i Fe	akumulacija gvožđa, neurološka oštećenja (aceruloplazminemija)
Citohrom C oksidaza	prenos elektrona	poremećaji u mozgu, slabost u mišićima, hipotermija
Dopamin $\beta$ -monooksigenaza	formiranje kateholamina	neurološki efekti, moguća hipotermija
Lizil oksidaza	kros-linking kolagena i elastina	poremećaji vezivnog tkiva
Superoksid dismutaza	odbrana od slobodnih radikala	veća izloženost oksidativnom stresu
Tirozinaza	formiranje melanina	hipopigmentacija

Biološki dostupni oblici bakra su isključivo Cu(II) jon koji predstavlja oksidovani oblik, i Cu(I) jon koji predstavlja redukovani oblik ovog bioelementa. U aktivnim mestima enzima Cu(I) jon se najčešće nalazi vezan za bočni niz cisteina ili metionina, formirajući uglavnom tetraedarsku geometriju oko centralnog jona metala, dok se Cu(II) jon najčešće nalazi u kvadratno-planarnom okruženju koordinovan za: histidin, serin, treonin, tirozin ili vodu [59].

Imajući u vidu rasprostranjenost i uloge proteina koji sadrže bakar, kao i činjenicu da ovi proteini nisu pronađeni u arhejama (ranije *arhebakterijama*) koje žive u anaerobnim uslovima, ustanovljeno je da je bakar postao biološki značajan element tek nakon oksigenacije atmosfere. Razlog tome je činjenica da u prve dve milijarde godina života na planeti Zemlji, kada je atmosfera bila redukujuća, bakar je dominantno postojao u obliku Cu(I) jona, a visoka koncentracija vodonik-sulfida dovodila je do stvaranja bakar(I)-sulfida, precipitata koji je onemogućavao organizmima apsorpciju ovog elementa [54].

Pored toga što je izuzetno važan za normalno funkcionisanje organizma, bakar može biti i veoma toksičan. Upravo zbog svojih redoks svojstava slobodni joni bakra mogu katalizovati reakciju sličnu Fentonovoj [60], kako je prikazano u jednačini (1), i dovesti do proizvodnje reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) koje mogu oštetiti ćelijske membrane, proteine i nukleinske kiseline [61]. Iz tog razloga, ćelijski unos i međućelijska distribucija bakra moraju biti sprovedeni kroz strogo regulisane procese. Homeostaza bakra održava se koordinisanom aktivnošću određenih proteina, na

prvom mestu visoko-afinitetnih membranskih transportera koji su zaduženi za unos bakra u ćelije [62,63], a potom specifičnih rastvorljivih Cu šaperona koji vezuju jone bakra i time omogućavaju njihovo dostavljanje do tačno određenih ćelijskih organela i proteina, bez usputnog oslobađanja jona bakra koji mogu oštetiti ćelije [64,65].



Poremećaji u homeostazi bakra uzrokovani genetskim abnormalnostima dovode do ozbiljnih neuroloških oboljenja kao što su Vilsonova i Menkesova bolest [66–69]. Kod Vilsonove bolesti dolazi do toksikoze bakrom usled mutacije na ATP7B genu koja onemogućava transport bakra i njegovu bilijarnu ekskreciju, što ima za posledicu njegovu akumulaciju u jetri, a često i u mozgu i drugim tkivima i organima [70]. Terapija u lečenju Vilsonove bolesti podrazumeva korišćenje cinka ili helatnih agenasa poput D-penicilamina [71]. Sa druge strane, Menkesova bolest posledica je mutacije na ATP7A genu koja dovodi do značajne prenatalne i postnatalne deficijencije bakra, što uzrokuje ozbiljna oštećenja mozga i mentalnu retardaciju [72]. Jedina terapija u lečenju Menkesove bolesti podrazumeva parenteralnu administraciju bakra koja počinje u prvim danima života pacijenta, ali ona ne garantuje njegovo izlečenje i sprečavanje neurološke degeneracije [57]. Još jedna bolest koja nastaje kao posledica nedostatka bakra jeste aceruloplazminemija. Ovu bolest karakteriše smanjenje koncentracije ceruloplazmina u krvnom serumu, što za posledicu ima poremećaj u metabolizmu gvožđa i njegovo taloženje u različitim organima [73,74].

Takođe, sve veći broj studija u prethodne dve decenije ukazuje na bitnu ulogu bakra u patogenezi nekih progresivnih neurodegenerativnih oboljenja, poput Alchajmerove bolesti [58,73,75–79] i prionskih bolesti [80]. Iako detaljna patogeneza ovih bolesti još uvek nije ustanovljena, postoje utemeljene naučne pretpostavke o tome šta mogu biti uzroci ovih oboljenja. Naime, jedna od glavnih patohistoloških promena kod Alchajmerove bolesti jeste formiranje ekstracelularnih amiloidnih plakova [81]. Ovi plakovi se sastoje od amiloida-beta ( $A\beta$ ), peptida koji nastaje proteolitičkim razlaganjem amiloidnog prekursorskog proteina (APP), transmembranskog glikoproteina. Ustanovljeno je da APP i  $A\beta$  učestvuju u metabolizmu bakra i imaju sposobnost vezivanja za ovaj element preko bočnih nizova histidina. Iz tog razloga amiloidni plakovi sadrže velike količine bakra, ali i drugih metala poput cinka i gvožđa, za koje se smatra da potom dovode do formiranja reaktivnih kiseoničnih vrsta, što za posledicu ima gubitak neurona i oštećenje mozga [76,77,82]. Sa druge strane, prionske bolesti (*i.e.* spongiformne encefalopatije) predstavljaju grupu fatalnih neurodegenerativnih oboljenja koja nastaju kao posledica konformacionih promena na prionskim proteinima, što dalje rezultuje taloženjem abnormalnih izoformi ovih proteina [73,76,78,80]. Prionski proteini (prioni) su membranski glikoproteini koji se uglavnom nalaze u mozgu i kičmenoj moždini i imaju ulogu vezivanja bakra i njegovog transporta do superoksid dismutaze i ostalih bakar-zavisnih proteina, čime obezbeđuju homeostazu bakra u centralnom nervnom sistemu [80]. Takođe imaju i zaštitnu ulogu u odbrani od oksidativnog stresa. Kao što je već napomenuto, tačna uloga bakra u nastanku prionskih bolesti još uvek nije ustanovljena, ali svakako nije zanemarljiva [83].

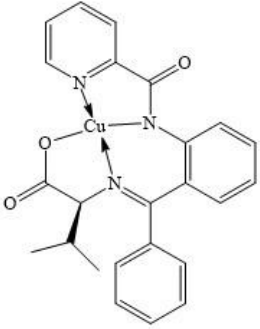
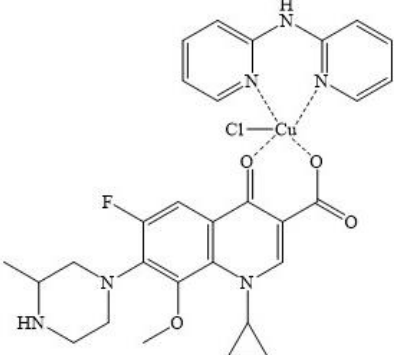
Pored važnih funkcija koje bakar ima kao bioelement, pronađeno je i da nanočestice bakra predstavljaju dobre baktericidne [84–87], citotoksične [88,89] i fungicidne agense [90–92], što nadalje povećava značaj njegovih koordinacionih jedinjenja u biološkim ispitivanjima [1,2,4,5,93–95]. Sledeći pretpostavku da su endogeni metali manje toksični prema normalnim ćelijama u odnosu na ćelije kancera, velikom broju kompleksa bakra ispitana je antitumorska aktivnost [96]. Iako je poznato da zbog svojih redoks svojstava bakar u organizmu može biti i toksičan, činjenica da je metabolizam, a samim tim i odgovor tumorskih ćelija na bakar značajno izmenjen u odnosu na metabolizam i ponašanje normalnih ćelija, uticala je na ispitivanje jedinjenja bakra kao potencijalnih antineoplastika. Zaista, veliki broj literaturnih podataka pokazuje da kompleksi bakra(II) ispoljavaju značajnu antitumorsku aktivnost [4,6], ali i druge raznovrsne biološke aktivnosti poput: antibakterijske [1–3], antifungalne [4,5] i antiinflamatorne aktivnosti [6–12,97].

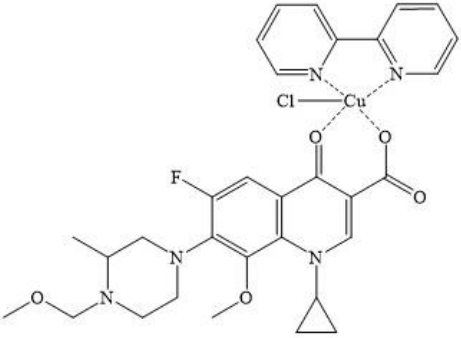
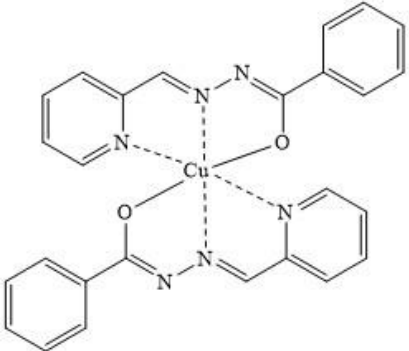
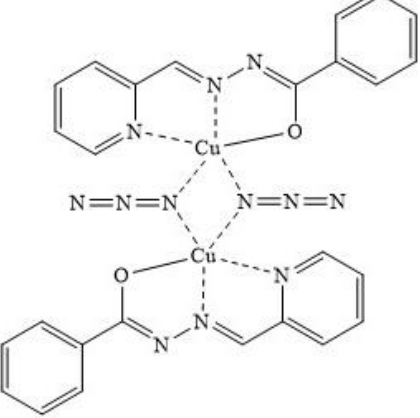
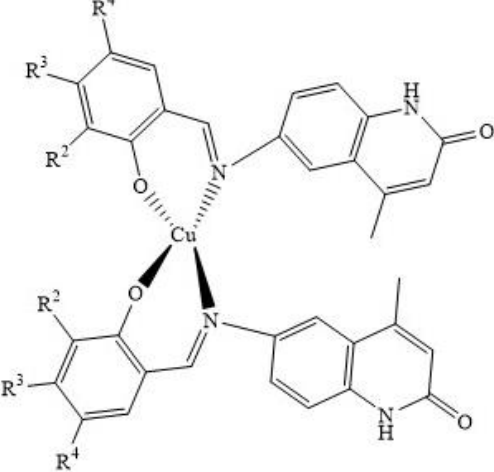
Ispitivanje antibakterijske aktivnosti kompleksa bakra(II) najčešće pokazuje povećanu aktivnost samih kompleksa u odnosu na prekursorska jedinjenja. Povećanje antibakterijske aktivnosti prekursorskih jedinjenja njihovom koordinacijom za jone metala i formiranjem adekvatnih kompleksa može se objasniti helatnom teorijom [98,99]. Heliranjem, odnosno koordinacijom, značajno se smanjuje polarnost jona metala (usled parcijalnog deljenja pozitivnog naelektrisanja metala sa donorskim atomima liganada, kao i zbog moguće delokalizacije  $\pi$ -elektrona po čitavom helatnom prstenu), a ujedno se povećava i lipofilni karakter koordinacionog jedinjenja. Samim tim, favorizovana je reakcija između jona metala i ćelijskog zida bakterije što rezultira ometanjem normalnog ćelijskog procesa. Ukoliko geometrija i distribucija naelektrisanja oko molekula nisu kompatibilne sa geometrijom i distribucijom naelektrisanja oko pora ćelijskih zidova bakterija, onda penetracija ovih molekula nije moguća, a toksična reakcija se prevenira unutar pora ćelijskih zidova [100].

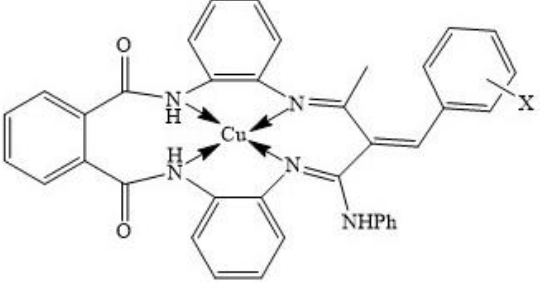
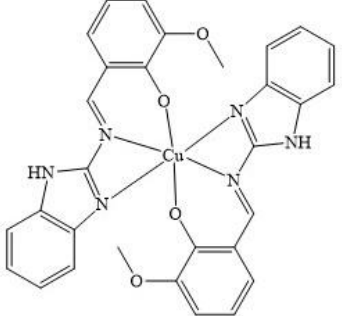
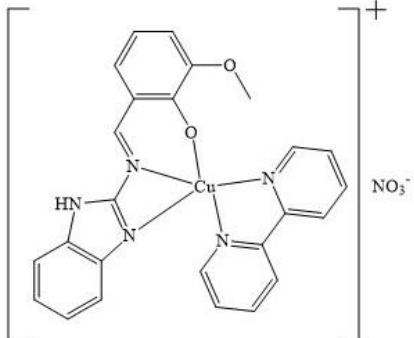
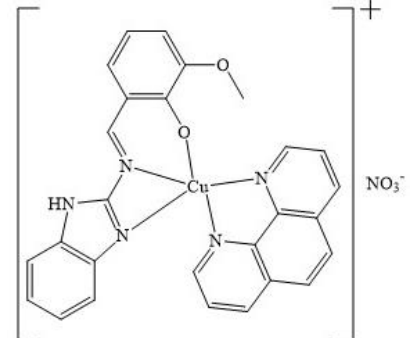
Antiinflamatorna uloga samog bakra poznata je od davnina, a prvi put je zabeležena još na Ebersovom papirusu, skupu medicinskih recepata nastalom u Starom Egiptu oko 1550 p.n.e. [101]. Jedan od najdužih sačuvanih pisanih dokumenata iz egipatske civilizacije sadrži čak 776 recepata za lečenje raznih oboljenja, a neki od njih podrazumevaju upotrebu bakar(II)-acetata, bakar(II)-sulfata, kao i fino sprasenog metalnog bakra, za lečenje upalnih procesa. Od posebne je zanimljivosti činjenica da bakar koordinacijom za neke antiinflamatorne agense povećava njihovu aktivnost [8–12], kao i da neke supstance stiču antiinflamatornu sposobnost tek nakon kompleksiranja bakrom [7]. Smatra se da se uloga ovih jedinjenja u sprečavanju inflamatornih procesa zasniva na sprečavanju proliferacije ćelija i indukovanju njihove apoptoze, a sve je to olakšano oksidoredukcionim reakcijama karakterističnim za redoks sistem  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$  [97].

U **Tabeli 3.** dat je pregled određenih kompleksa bakra(II) sa različitim iminskim ligandima kojima je ispitana biološka aktivnost. U svim navedenim primerima kompleksi bakra(II) pokazuju značajnu antibakterijsku, antifungalnu i citotoksičnu aktivnost koja je uporediva sa aktivnošću odgovarajućih standardnih lekova.

**Tabela 3.** Određeni iminski kompleksi bakra(II) sa značajnom biološkom aktivnošću.

Strukturalna formula kompleksa	Ispitana biološka aktivnost	Referenca
	antibakterijska, antifungalna	[1]
	antibakterijska	[2]

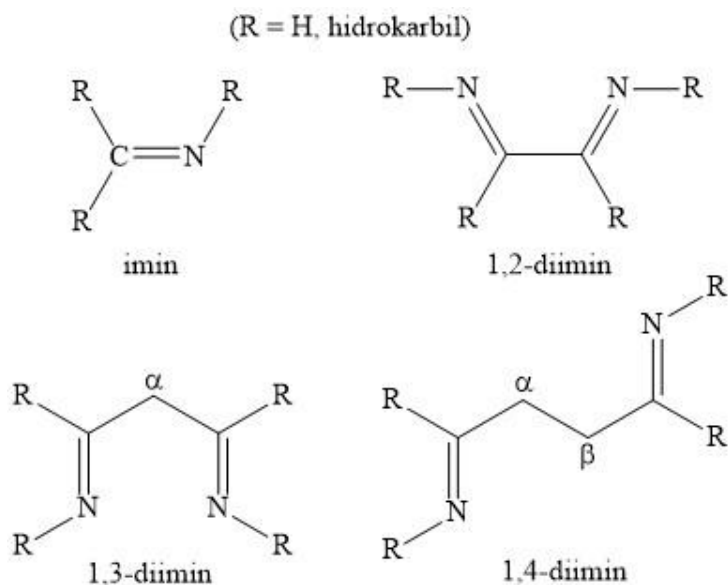
	antibakterijska	[2]
	antibakterijska	[3]
	antibakterijska	[3]
 <p> <math>R^2 = -H, -OH, -OC_2H_5, -OCH_3, -tBu</math>  <math>R^3 = -OH, -H, -OCH_3</math>  <math>R^4 = -H, -tBu, -Br, -Cl, -F, -I</math> </p>	antifungalna, citotoksična	[4]

 <p style="text-align: center;">X = -H, -Cl, -OCH<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub></p>	antifungalna	[5]
	citotoksična	[6]
		
		

## 2.3. Diimini, Šifove baze i Žirarovi reagensi kao ligandi u kompleksnim jedinjenjima

### 2.3.1. Diiminski ligandi

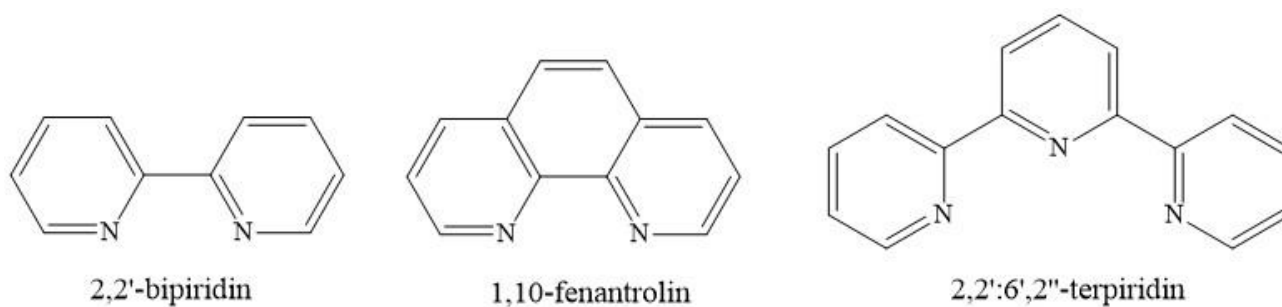
Diimini su organska jedinjenja koja u svojoj strukturi sadrže dve iminske funkcionalne grupe  $RN=CR_2$  ( $R = H$ , hidrokarbil). Opšta strukturna formula imina, kao i strukture različitih vrsta diimina prikazane su na **Slici 3**. U zavisnosti od međusobnog položaja iminskih grupa, diimini se mogu podeliti na 1,2- ili  $\alpha$ -diimine, 1,3- ili  $\beta$ -diimine i na 1,4- ili  $\gamma$ -diimine, a postoje naravno i oni kod kojih se iminske grupe nalaze i na dužem rastojanju u molekulu. Zbog preglednosti struktura u slučaju 1,3-diimina i 1,4-diimina, supstituenti na  $\alpha$ -, odnosno  $\alpha$ - i  $\beta$ - C atomima su izostavljeni.



**Slika 3.** Opšte strukture imina, 1,2-diimina, 1,3-diimina i 1,4-diimina.

1,2-diimini, odnosno  $\alpha$ -diimini, predstavljaju veoma pogodne i često korišćene ligande u koordinacionoj hemiji zahvaljujući elektron-donorskim svojstvima baznih azotovih atoma koji mogu kompleksirati veliki broj prelaznih metala. Prostorna udaljenost azotovih atoma iminskih grupa omogućava ovim bidentatnim ligandima formiranje petočlanih helatnih prstenova sa centralnim jonom metala, što rezultuje stvaranjem veoma stabilnih kompleksa. Strukturna raznovrsnost  $\alpha$ -diiminskih liganada zaista je velika, pogotovo kada govorimo o aromatičnim predstavnicima ove klase jedinjenja, prvenstveno zahvaljujući lakom uvođenju dodatnih funkcionalnih grupa na aromatična jezgra ovih diimina. Najznačajniji i najčešći predstavnici aromatičnih  $\alpha$ -diiminskih liganada prikazani su na **Slici 4**, a treba imati u vidu da postoji i veliki broj supstituisanih oblika ovih liganada, sa supstituentima u različitim položajima aromatičnih prstenova.





**Slika 4.** Najpoznatiji i najčešće korišćeni  $\alpha$ -diiminski ligandi.

Kompleksna jedinjenja koja sadrže  $\alpha$ -diiminske ligande imaju različitu i veoma značajnu tehnološku i biološku primenu. Na primer, pronađeno je da neki kompleksi Ni(II) sa  $\alpha$ -diiminskim ligandima pokazuju dobra katalitička svojstva u reakcijama polimerizacije olefina [102,103], dok određeni kompleksi Zn(II) sa 2,2'-bipiridinom i 1,10-fenantrolinom ispoljavaju luminescenciju na sobnoj temperaturi [104]. Kod nekih kompleksa Mn(II), Ni(II), Cu(II) i Zn(II) sa ovim ligandima ustanovljena je antioksidaciona aktivnost [105], dok su antimikrobna i citotoksična svojstva ispitana na velikom broju  $\alpha$ -diiminskih kompleksa pokazala dobre rezultate [106–108].

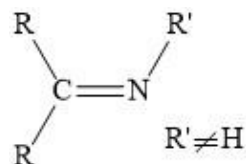
Među mnogobrojnim  $\alpha$ -diiminskim ligandima dva se posebno ističu zbog svoje strukturne jednostavnosti (**Slika 4**), izražene sposobnosti kompleksiranja velikog broja metala, kao i svoje redoks stabilnosti – 2,2'-bipiridin (**bipy**) i 1,10-fenantrolin (**phen**). Upravo zbog ovih svojstava, **bipy** se još od svog otkrića krajem 19. veka koristi kao ligand u sintezi velikog broja kompleksnih jedinjenja [109]. Ovaj bidentatni ligand sam pokazuje raznovrsnu biološku aktivnost: antibakterijsku [110], antifungalnu i citotoksičnu [111]. Ustanovljeno je da kompleksiranjem, u velikom broju slučajeva, biološka aktivnost novonastalih jedinjenja postaje veća u odnosu na sam bipiridinski ligand [15,111].

Nalik 2,2'-bipiridinu, i 1,10-fenantrolin pokazuje odličnu antibakterijsku i antifungalnu aktivnost prema velikom broju patogenih bakterija i gljivica koja je poznata decenijama unazad [16,110]. Samim tim, s obzirom na to da je i **phen** veoma efikasan bidentatni ligand, i njegovi kompleksi sa jonima prelaznih metala takođe ispoljavaju jaku antimikrobnu aktivnost [16,112]. U literaturi je zabeležena i značajna antitumorska aktivnost kompleksnih jedinjenja koji kao ligande sadrže 1,10-fenantrolin i njegove derivate [17,113,114], a citotoksičnost ovih kompleksa je u nekim slučajevima bolja i od standardnog hemoterapeutika *cisplatina* [114].

2,2':6',2''-terpiridin je još jedan čest i pogodan  $\alpha$ -diiminski ligand koji se u kompleksima vezuje za metale preko svoja tri azotova atoma kao tridentatni ligand, gradeći pritom veoma stabilna jedinjenja. Neki kompleksi Zn(II) sa ovim ligandom predmet su ispitivanja na poljima supramolekulske hemije [115], luminescencije, LED i OLED tehnologije [116]. Kako je već napomenuto, postoji veliki broj  $\alpha$ -diiminskih liganada koji su nastali supstitucijom aromatičnih jezgara pomenuta tri  $\alpha$ -diimina, sa podjednako dobrom tehnološkom primenom i biološkim svojstvima [114–118].

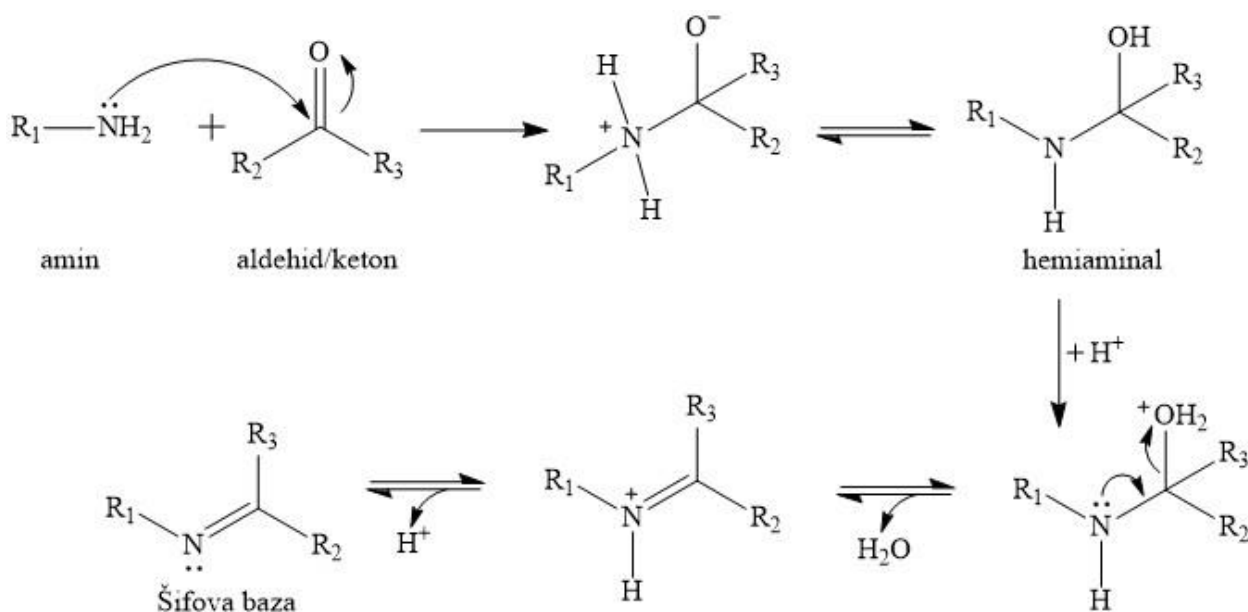
### 2.3.2. Šifove baze

Šifove baze se često poistovećuju sa azometinima i predstavljaju podgrupu imina koji sadrže funkcionalnu grupu  $R_2C=NR'$  ( $R' \neq H$ ), opšte strukture prikazane na **Slici 5** [119]. Iako se u literaturi često može naići na poistovećivanje termina *imin* i *Šifova baza* treba imati na umu da postoji razlika između ova dva pojma – kod imina iminski ugljenik i azot mogu imati za sebe vezane bilo koje različite supstituente, dok kod Šifovih baza to nije slučaj, atomi vodonika ne mogu biti supstituenti na iminskom azotu. Iz ovoga se može zaključiti da nisu svi imini Šifove baze, ali da su sve Šifove baze imini.



**Slika 5.** Opšta struktura Šifovih baza.

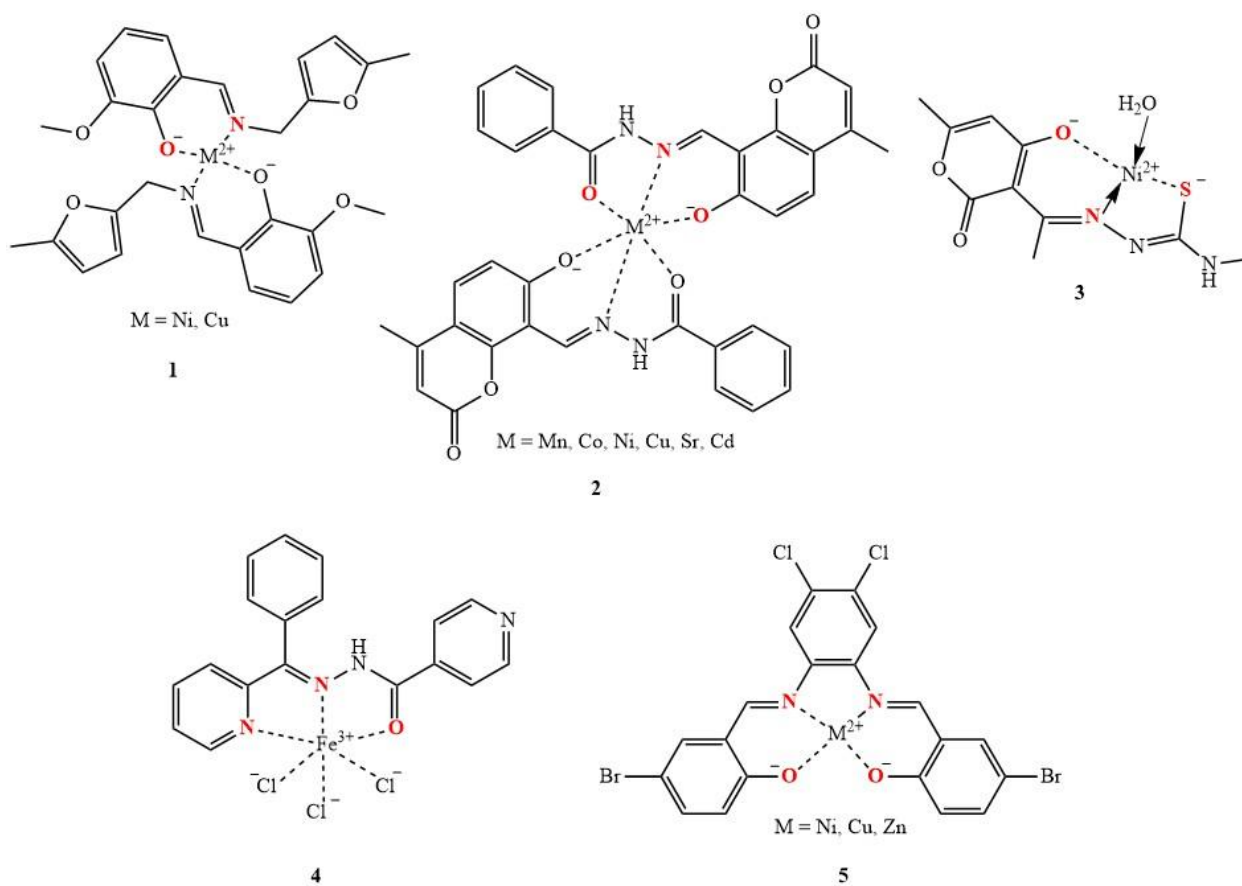
Šifove baze dobile su ime po nemačkom hemičaru Hugu Šifu koji ih je prvi sintetisao još 1864. godine i opisao kao proizvode reakcija primarnih amina sa karbonilnim jedinjenjima (aldehidima i ketonima) [120,121]. Reakcija započinje nukleofilnom adicijom alifatičnog ili aromatičnog amina na aldehyd ili keton, u prisustvu kiseline ili baze kao katalizatora, pri čemu u prvom koraku nastaje hemiaminal koji potom dehidratacijom prelazi u azometin, tj. Šifovu bazu (**Slika 6**). U reakciji formiranja azometina aldehidi su znatno reaktivniji od ketona, prvenstveno zbog veće sterne zaklonjenosti karbonilnog ugljenika kod ketona, ali i zbog toga što dve hidrokarbil grupe ketona smanjuju elektrofilitnost karbonilnog ugljenika. Iz ovih razloga, reakcije dobijanja Šifovih baza iz ketona su znatno sporije i zahtevaju pažljiv odabir reakcionih uslova – pogodnog rastvarača, katalizatora, pH vrednosti reakcione smeše, kao i temperature [120].



**Slika 6.** Mehanizam kiselokatalizovane sinteze Šifovih baza.

Prva zabeležena primena Šifovih baza kao liganada u sintezi kompleksnih jedinjenja pominje se još krajem devetnaestog veka [122], a već od 1930. godine [123] njihova upotreba u te svrhe postaje široko rasprostranjena. Generalno, kompleksi metala sa Šifovim bazama veoma su stabilni, a na ovu stabilnost utiče kako priroda samog metala, tako i supstituenti u Šifovim bazama koji mogu povećati ili smanjiti njihovu baznost. Sintaza ovih kompleksnih jedinjenja može da se odvija na nekoliko različitih načina: direktnom reakcijom soli metala sa Šifovom bazom, kondenzacijom aldehida, amina i soli metala, ili kondenzacijom aldehydnih kompleksa sa aminima [120,124,125].

Zahvaljujući prisustvu slobodnog elektronskog para na iminskom azotu Šifove baze se ponašaju kao odlični  $\sigma$ -donori, a prisustvo C=N veze obezbeđuje im i  $\pi$ -akceptorska svojstva, što dodatno stabilizuje vezu sa centralnim jonom metala i omogućuje kompleksiranje velikog broja prelaznih metala. Pored ovog baznog azota, u strukturi Šifovih baza mora postojati i neka funkcionalna grupa (najčešće -OH ili -SH) blizu iminske veze koja može lako da se deprotonuje i tako ostvari dodatnu vezu sa metalom formirajući stabilan petočlani ili šestočlani helatni prsten. S obzirom na to da su Šifove baze polidentatni ligandi, one se mogu klasifikovati na osnovu vrste vrste ligatorskih atoma najčešće na: NO-, ONO-, ONS-, NNO- i ONNO- donorske sisteme [126–130]. Primeri određenih odabranih kompleksa koji sadrže spomenute donorske sisteme prikazani su na **Slici 7**.



**Slika 7.** Primeri određenih kompleksa metala sa Šifovim bazama kao NO- (1) [126], ONO- (2) [127], ONS- (3) [128], NNO- (4) [129] i ONNO- (5) [130] donorskim ligandima.

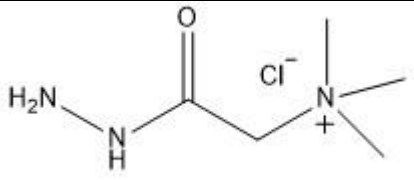
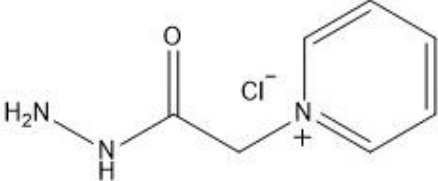
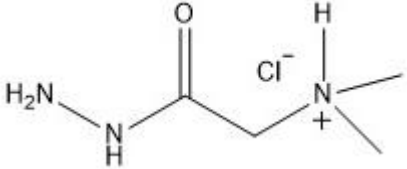
Primena Šifovih baza i njihovih kompleksa veoma je raznovrsna i opisana od strane mnogobrojnih autora. Jedna od izuzetno bitnih bioloških uloga koju same Šifove baze imaju jeste učestvovanje u biosintezi aminokiselina kao intermedijera u procesima transaminacije [131]. Komplexna jedinjenja Šifovih baza pokazuju veoma značajnu antivirusnu, antibakterijsku, antifungalnu i antitumorsku aktivnost [132–134] što dodatno povećava interesovanje za sintezom i ispitivanjem novih vrsta ovih kompleksa. Ova jedinjenja se takođe koriste u farmaceutskoj industriji, industriji hrane i boja, medicini, agrikulturi, hemijskoj katalizi i analitičkoj hemiji [132,135].

### 2.3.3. Žirarovi reagensi

Za potrebe izolovanja ketosteroidnih polnih hormona iz prirodnih proizvoda, francuski hemičar Andre Žirar i rumunski hemičar Žorž Sandulesko razvili su 1936. godine metodu poznatu pod imenom „Žirarova reakcija“ [136]. Ova metoda zasnivala se na reakciji aldehida i ketona sa Žirarovim T i Žirarovim P reagensom i na prevođenju ovih karbonilnih jedinjenja u njihove hidrazonske derivate rastvorne u vodi, što je onda omogućavalo ostalim nekarbonilnim jedinjenjima iz smeše lakšu ekstrakciju pomoću nepolarnih rastvarača [137].

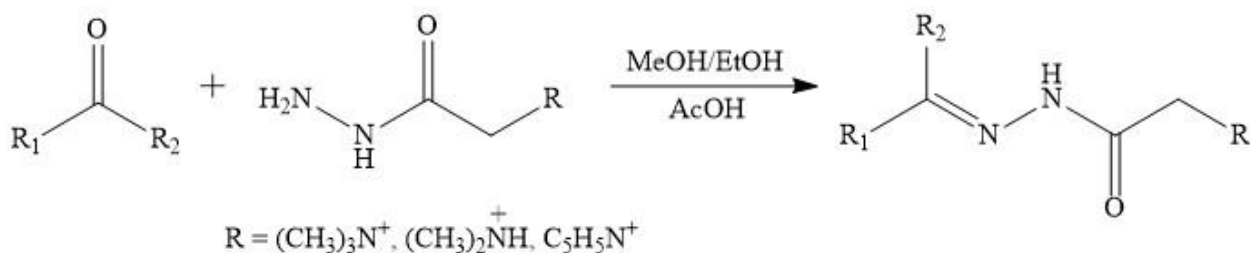
Žirarovi reagensi su po svojoj strukturi *N*-supstituisani glicinski hidrazidi, a u zavisnosti od prirode *N*-supstituenta postoje: Žirarov T reagens, Žirarov P reagens i Žirarov D reagens. Prikaz molekulskih struktura i nomenklature ovih jedinjenja dat je u **Tabeli 4**. U reakciji etil-hloroacetata sa trimetilaminom, odnosno piridinom, nastaju kvaternerni amonijum estri koji potom reaguju sa hidrazinom i grade Žirarov T, odnosno Žirarov P reagens [138]. Žirarov D reagens sintetisan je nešto kasnije, i to u reakciji između *N,N*-dimetilglicin estra i hidrazin hidrata u prisustvu koncentrovane HCl [139].

**Tabela 4.** Vrste Žirarovih reagenasa i njihove molekulske strukture.

Vrsta reagensa	Naziv jedinjenja	Molekulska struktura
Žirarov T reagens	trimetilacetilhidrazid hidrohlorid	
Žirarov P reagens	piridinioacetohidrazid hlorid	
Žirarov D reagens	<i>N,N</i> -dimetilglicin- hidrazid hidrohlorid	

Žirarovi reagensi imaju nekoliko potencijalnih ligatorskih atoma – dva azota iz hidrazinske grupe, kao i karbonilni kiseonik, dok u slučaju Žirarovog D reagensa u neutralnom i monoanjonskom obliku, to može biti i aaminski azotov atom. Literaturni podaci pokazuju da se u koordinacionim jedinjenjima Žirarovi reagensi najčešće vezuju preko karbonilnog kiseonikovog atoma i terminalnog hidrazinskog azotovog atoma, formirajući pritom petočlani helatni prsten sa centralnim jonom metala.

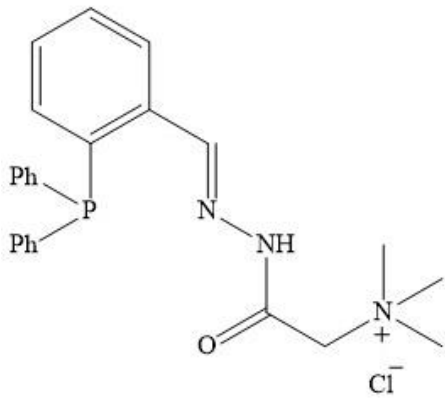
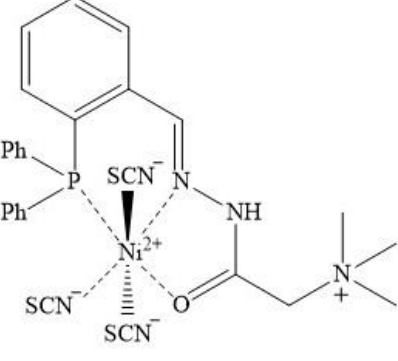
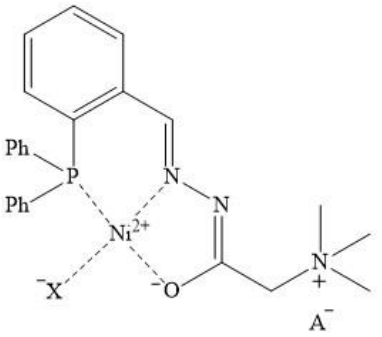
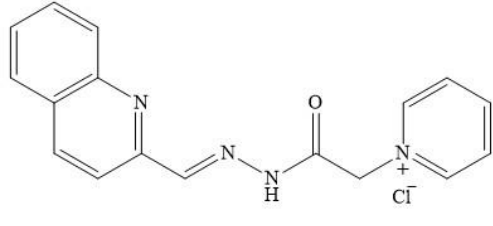
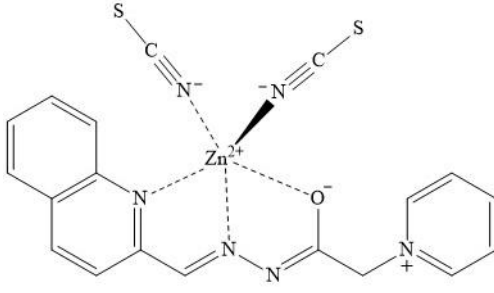
Svojstvo Žirarovih reagenasa da sa karbonilnim jedinjenjima grade hidrazone često se koristi u cilju sinteze novih liganada, a reakcija dobijanja ovih hidrazona uglavnom se izvodi u metanolu ili etanolu kao rastvaraču, u prisustvu sirćetne kiseline (**Slika 8**).

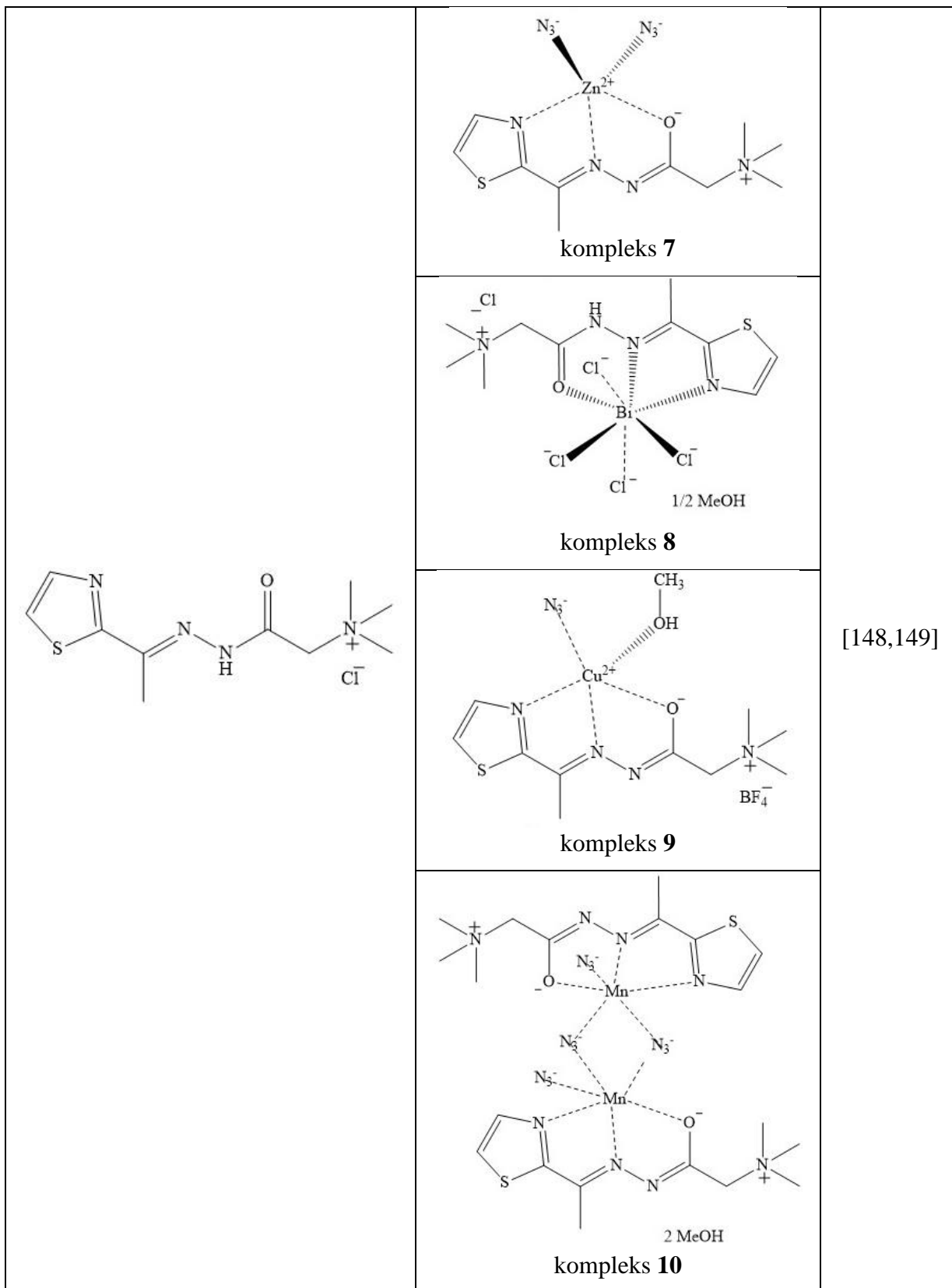


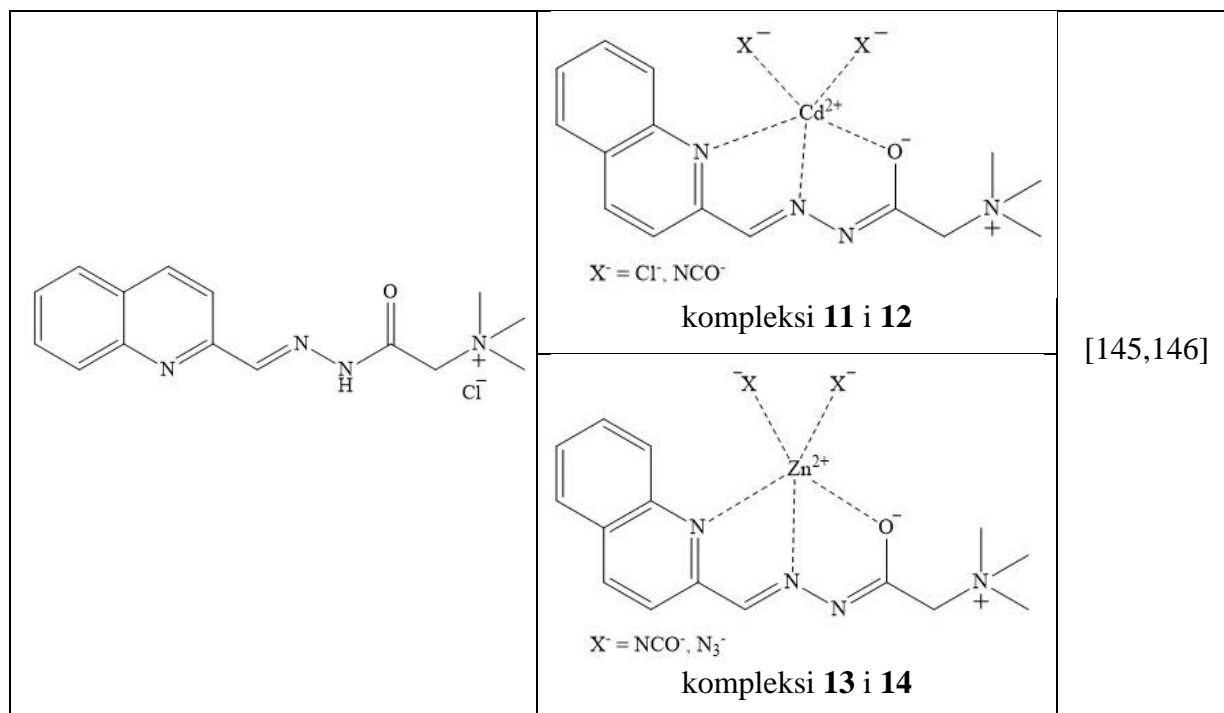
**Slika 8.** Opšti prikaz sinteze Žirarovih hidrazona [138].

Prvi primeri sintetisanih kompleksa sa Žirarovim T i Žirarovim D reagensom opisani su 1969. godine u reakciji sa solima bakra(II) [140] gde su se Žirarovi reagensi pokazali kao bidentatni NO donorski ligandi. 2000. godine objavljena je sinteza kompleksa Cu(I) i Cu(II) sa Žirarovim T reagensom koordinovanim u oba slučaja preko NO donorskog seta atoma [141]. Za ove komplekse je kasnije utvrđena značajna antitumorska aktivnost [142] što je povećalo interesovanje za kompleksima na bazi Žirarovih reagenasa. Kompleksna jedinjenja koja kao ligande sadrže hidrazone bazirane na Žirarovim T i P reagensima bila su predmet istraživanja i naše istraživačke grupe, a neki od sintetisanih hidrazonskih liganada i kompleksa kojima je ispitana biološka aktivnost prikazani su u **Tabeli 5** [143–149]. Navedenim kompleksima ispitana je antibakterijska i antifungalna aktivnost, a u nekim slučajevima određena je i njihova citotoksičnost. Posmatranjem MIC i IC<sub>50</sub> vrednosti kompleksa, i njihovim upoređivanjem sa vrednostima inhibitornih koncentracija standarda korišćenih u eksperimentima, uočava se da neki kompleksi ne pokazuju značajnu antimikrobnu i citotoksičnu aktivnost, dok neki imaju aktivnost reda veličine aktivnosti standardnih lekova [149].

**Tabela 5.** Kompleksi sa hidrazonskim ligandima baziranim na Žirarovim T i P reagensima sa ispitanom biološkom aktivnošću, sintetisani od strane naše istraživačke grupe.

Ligand	Kompleks	Reference
	 <p style="text-align: center;">kompleks 1</p>  <p style="text-align: center;">kompleksi 2–5</p> <p> <math>X^- = Cl^-, A^- = BF_4^-</math>  <math>X^- = NCO^-, A^- = BF_4^-</math>  <math>X^- = NCS^-, A^- = BF_4^-</math>  <math>X^- = NCS^-, A^- = SCN^-</math> </p>	[143,144]
	 <p style="text-align: center;">kompleks 6</p>	[147]





U svim navedenim kompleksima hidrazonski ligandi su tridentatni i ostvaruju koordinativnu vezu sa centralnim jonom metala uvek preko NO- donorskog seta atoma – iminskog azota i karbonilnog kiseonika, formirajući pritom petočlani helatni prsten sa jonom metala. Treći ligatorski atom je heteroatom koji pripada bočnom nizu hidrazona. U slučaju kompleksa **6–14** treća koordinativna veza ostvaruje se preko azotovog atoma heteroaromatičnog prstena koji formira još jedan petočlani helatni prsten sa jonom metala, dok je u slučaju kompleksa **1–5** treći ligatorski atom fosfor iz (difenilfosfino)benzil- grupe koji sa jonom metala gradi šestočlani helatni prsten.

Od svih sintetisanih kompleksnih jedinjenja navedenih u **Tabeli 5**, samo kompleks **9** sadrži Cu(II) kao centralni jon metala, pri čemu rezultati ispitivanja biološke aktivnosti ovog jedinjenja pokazuju visoku antibakterijsku i antifungalnu aktivnost, dok je citotoksičnost kompleksa **9** reda veličine citotoksične aktivnosti *cisplatin*a. Značajna biološka aktivnost kompleksa bakra(II) bila je povod za sintezu novih kompleksnih jedinjenja na bazi ovog metala, a proistekli rezultati prikazani su u narednim poglavljima ove teze.



### 3. Eksperimentalni deo

#### 3.1. Materijali i metode

##### 3.1.1. Supstance korišćene u analizama

Svi reagensi i rastvarači korišćeni u izradi ove teze bili su analitičkog kvaliteta i korišćeni su bez daljeg prečišćavanja. 4-(Dietilamino)salicilaldehid (**HL**<sup>1</sup>) je korišćen od proizvođača *Acros*, NaN<sub>3</sub> od proizvođača *Riedel-de Haën*, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> od proizvođača *Zorka Pharma – Hemija d.o.o.*, dok su sve ostale hemikalije korišćene od proizvođača *Sigma-Aldrich*.

##### 3.1.2. Elementalna analiza

Elementalne analize (C, H i N) su izvedene standardnim mikro-metodama koristeći „ELEMENTAR Vario ELIII C.H.N.S.O“ analitički instrument.

##### 3.1.3. UV/Vis spektroskopija

UV-Vis spektri su snimani na „LLG/uniSPEC“ spektrofotometru koristeći rastvorenje svih supstanci u DMSO-u.

##### 3.1.4. IC spektroskopija

Infracrvena spektrofotometrija je rađena na „Nicolet 6700 FT-IR“ spektrofotometru koristeći ATR metodu u opsegu talasnih brojeva 4000 – 400 cm<sup>-1</sup>. U interpretaciji rezultata su korišćene sledeće skraćenice koje se odnose na jačinu signala u IC spektrima: w (*weak*, slaba), m (*medium*, srednja) i s (*strong*, jaka).

##### 3.1.5. NMR spektroskopija

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (125 MHz) i 2D NMR (COSY, HSQC, HMBC) spektri liganda **HL**<sup>2</sup>**Cl** snimljeni su na Varian 400/54 PS spektrometru u deuterisanom dimetil-sulfoksidu (DMSO-*d*<sub>6</sub>) na sobnoj temperaturi, uz upotrebu TMS kao internog standarda za <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C. Hemijska pomeranja su izražena u ppm ( $\delta$ ) vrednostima, a prilikom interpretacije rezultata korišćene su sledeće skraćenice: s (singlet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet).

##### 3.1.6. Masena spektrometrija

Masena spektrometrija je takođe rađena na rastvorima supstanci u DMSO-u koristeći instrument „Agilent Technologies 6210 Time-of-Flight LC/MS“ sa ESI jonizujućim izvorom u pozitivnom jonskom režimu rada.

##### 3.1.7. Pretraga Kembričke kristalografske baze podataka

Kembrička baza kristalografskih podataka (verzija 5.45, novembar 2023.) pretražena je na sve strukture koje sadrže bakar koordinovan za bipiridin i fenantrolin. Za pretragu je korišćen program ConQuest (verzija 2023.3.0) [150]. Prilikom pretrage korišćeni su sledeći filteri: određene 3D koordinate, R faktor manji od 0,05, nisu razmatrane neuređene strukture, nisu razmatrane strukture sa nepouzdanim koordinatama po kriterijumima CSD kao i polimerne strukture.

### 3.2. Sinteza liganda HL<sup>2</sup>Cl

Sinteza liganda **HL<sup>2</sup>Cl** ((*E*)-2-(2-(1-(1H-pirol[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminijum) je izvedena u dva koraka – prvi je bio dobijanje 7-acetil-6-azaindola iz 7-bromo-6-azaindola kao polazne supstance, a drugi je bio sinteza kondenzacionog proizvoda ovako dobijenog 7-acetil-6-azaindola sa Žirarovim T reagensom. Prva faza sinteze je izvedena pravljjenjem Grinjarovog reagensa dodavanjem 0,75 mmol (18,2 mg) Mg u 0,75 mmol (147 mg) 7-bromo-6-azaindola rastvorenog u anhidrovanom dietil-etu, u prisustvu male količine (2 mol. %) FeCl<sub>3</sub> kao katalizatora. Ova reakcija je izvođena na -60 °C, hlađenjem suvim ledom.

Sledeći korak u sintezi liganda **HL<sup>2</sup>Cl** je bilo rastvaranje 0,5 mmol (80 mg) 7-acetil-6-azaindola u metanolu, uz dodavanje 0,5 mmol (83,8 mg) Žirarovog T reagensa u reakcionu smešu, koja je potom refluktovana 3 h. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu, svetlo žuti precipitat je filtriran i ispran etanolom. Prinos reakcije bio je 81 % (125,2 mg), a ovako dobijeni ligand je potom okarakterisan elementalnom analizom, IC i NMR spektroskopijom.

- Elementalna analiza izračunata za C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>5</sub>O (%): C 54,28; H 6,51; N 22,61. Pronađeno (%): C 54,68; H 7,09; N 22,13.
- Izabrani pikovi u IC-u (cm<sup>-1</sup>): 3377 (m), 3068 (m), 3019 (m), 2976 (m), 1703 (s), 1618 (w), 1571 (m), 1550 (m), 1491 (m), 1431 (m), 1398 (s), 1333 (m), 1280 (m), 1231 (m), 1164 (m), 1125 (m), 987 (m), 947 (m), 919 (m), 858 (w), 818 (m), 800 (m), 710 (m), 655 (m), 609 (w).
- <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm): 11,66 (s, 1H, N2-H), 11,50 (s, 1H, N4-H), 8,15 – 7,72 (4H, C1-H, C2-H, C4-H, C5-H), 4,91 (s, 2H, C11-H), 3,34 (t, 9H, C12-H), 2,32 (s, 3H, C9-H).
- <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm): 167,24 (C10), 161,48 (C8), 156,29 – 120,21 (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7), 63,21 (C11), 53,74 (C12), 12,73 (C9).

### 3.3. Sinteze kompleksa

#### 3.3.1. Sinteza kompleksa 1 [Cu(L<sup>1</sup>)(bipy)]BF<sub>4</sub>·0,5H<sub>2</sub>O

U cilju deprotonovanja 4-(dietilamino)salicilaldehida (**HL<sup>1</sup>**) 0,5 mmol (96,5 mg) liganda je rastvoreno u 7,5 mL metanola, a potom je u ovako dobijen rastvor dodato 0,5 mmol (27,0 mg) natrijum-metoksida i smeša je refluktovana 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon deprotonovanja, u reakcionu smešu je dodato 0,25 mmol (86,0 mg) polazne soli bakra, Cu(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, rastvorene u 5 mL metanola, kao i 0,25 mmol (39,0 mg) 2,2'-bipiridina rastvorenog u 5 mL metanola. Ova reakciona smeša je refluktovana 2 h uz zagrevanje na 50 °C. Po završenoj sintezi smeša je procedena, a iz filtrata su nakon 10 dana iskristalisali monokristali kompleksa **1** braon boje. Prinos reakcije je bio 65 % (82,5 mg).

- Molarna masa jedinjenja: 507,78 g/mol
- Elementalna analiza izračunata za C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>BCuF<sub>4</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2,5</sub> (%): C 49,77; H 4,38; N 8,29. Pronađeno (%): C 47,98; H 4,44; N 8,11.
- Izabrani pikovi u IC-u (cm<sup>-1</sup>): 3437 (w), 1612 (s), 1575 (s), 1519 (s), 1487 (s), 1428 (m), 1382 (s), 1351 (m), 1252 (m), 1145 (s), 1057 (s), 987 (m), 832 (w), 704 (w), 629 (w), 522 (w).
- ESI-MS za C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>CuN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: *m/z* 411,0993.

### 3.3.2. Sinteza kompleksa 2 [Cu<sub>2</sub>(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>

Prilikom sinteze kompleksa **2** prvobitno je rađeno deprotonovanje liganda **HL**<sup>1</sup> 4-(dietilamino)salicilaldehida na prethodno opisan način – u 7,5 mL metanola dodato je 0,5 mmol (96,5 mg) liganda i 0,5 mmol (27,0 mg) natrijum-metoksida. Nakon refluktovanja na sobnoj temperaturi u trajanju od 30 minuta, u reakcionu smešu je dodato 0,25 mmol (86,0 mg) polazne soli bakra, Cu(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, rastvorene u 5 mL metanola i 0,25 mmol (45,0 mg) 1,10-fenantrolina u obliku soli 1,10-fenantrolin-hlorid monohidrata, takođe rastvorene u 5 mL metanola. Ovako dobijena reakciona smeša je refluktovana 2 h na temperaturi od 50 °C, a po završenoj sintezi smeša je procedena. Iz filtrata su nakon 10 dana iskristalisali zeleni monokristali kompleksa **2**. Prinos reakcije je bio 84 % (109,8 mg).

- Molarna masa jedinjenja: 1045,56 g/mol
- Elementalna analiza izračunata za C<sub>46</sub>H<sub>44</sub>B<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub>F<sub>8</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> (%): C 52,80; H 4,24; N 8,04. Pronađeno (%): C 51,61; H 4,02; N 8,03.
- Izabrani pikovi u IC-u (cm<sup>-1</sup>): 1611 (s), 1566 (s), 1519 (s), 1484 (s), 1428 (m), 1378 (s), 1347 (s), 1252 (s), 1225 (w), 1145 (s), 1099 (m), 1055 (s), 844 (m), 774 (w), 716 (w), 621 (w).
- ESI-MS za C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>CuN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: *m/z* 435,0993.

### 3.3.3. Sinteza kompleksa 3 [Cu<sub>2</sub>(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>(μ<sub>1,3</sub>-N<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>

Reakcija sinteze kompleksa **3** izvedena je rastvaranjem 0,25 mmol (77,3 mg) liganda **HL**<sup>2</sup>**Cl**, (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-*c*]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan--aminijum-hlorida, u 20 mL metanola, i praćena dodavanjem ekvimolarne količine (86,3 mg) Cu(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, prethodno rastvorenog u 5 mL vode, nakon čega je direktno u reakcionu sud dodat 1 mmol (65 mg) NaN<sub>3</sub> direktno u reakcionu sud. Reakciona smeša je refluktovana tokom 2 h. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu, iz matičnog rastvora su posle 10 dana iskristalisali tamnozeleni monokristali kompleksa **3**. Prinos reakcije je bio 73 % (169,6 mg).

- Elementalna analiza izračunata za C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>B<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub>F<sub>8</sub>N<sub>16</sub>O<sub>2</sub> (%): C 36,11; H 4,11; N 24,06. Pronađeno (%): C 35,74; H 4,25; N 24,58.
- Izabrani pikovi u IC-u (cm<sup>-1</sup>): 3350 (w), 3098 (w), 3044 (w), 2988 (w), 2063 (s), 1583 (s), 1557 (s), 1530 (s), 1501 (m), 1483 (s), 1441 (m), 1400 (m), 1347 (m), 1319 (m), 1296 (m), 1248 (m), 1185 (m), 1118 (m), 1034 (s), 997 (m), 972 (m), 926 (m), 910 (m), 815 (m), 733 (m), 655 (w).

### 3.4. Rendgenska strukturna analiza kompleksa

#### 3.4.1. Rendgenska strukturna analiza kompleksa 1 i 2

Rendgenska strukturna analiza rađena je na uzorcima monokristala na *Oxford Gemini S* difraktometru opremljenom CCD detektorom koji koristi monohromatsko MoK $\alpha$  zračenje ( $\lambda = 0,71073$  Å). Difrakcioni podaci su prikupljeni korišćenjem programskog paketa *CrysAlisPRO* [151]. Kristalne strukture su rešene direktnom metodom koristeći *SIR97* [152] i utačnjene metodom najmanjih kvadrata pune matrice na  $F^2$  pomoću programa *SHELXL* [153], korišćenjem *SADI* i *RIGU* instrukcija. Svi atomi izuzev vodonika su utačnjeni anizotropno. Vodonikovi atomi vezani za ugljenikove atome su smešteni u geometrijski izračunate položaje i utačnjeni koristeći *riding* model sa  $U_{iso}$  vrednostima ograničenim na 1,2  $U_{eq}$  ili 1,5  $U_{eq}$  odgovarajućih C atoma. Molekul vode u kompleksu **1** je utačnjen sa okupacionim faktorom položaja 0,5, dok su tri fluorova atoma iz  $BF_4^-$  anjona utačnjena i modelovana u razmeri 76,5:23,5. Geometrijska izračunavanja su izvedena primenom *PARST* softvera [154], dok je grafički prikaz struktura urađen pomoću programskih paketa *ORTEP-3* [155] i *MERCURY* [156].

Kristalografski informacioni fajlovi su deponovani u CSD pod sledećim brojevima: 1887975 (kompleks **1**), 1887976 (kompleks **2**). Svi podaci proistekli iz rendgenske strukturne analize sumirani su u **Tabeli 6**.

**Tabela 6.** Kristalografski podaci za komplekse **1** i **2**.

	<b>1</b>	<b>2</b>
Molekulska formula	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> BCuF <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2,5</sub>	C <sub>46</sub> H <sub>44</sub> B <sub>2</sub> Cu <sub>2</sub> F <sub>8</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub>
Molarna masa (g/mol)	507,78	1045,56
Temperatura (K)	293(2)	293(2)
Talasna dužina (Å)	0,71073	0,71073
Kristalni sistem	Triklinični	Monoklinični
Prostorna grupa	$\bar{P}1$	$P2_1/c$
$a$ (Å)	7,4564(4)	8,2040(3)
$b$ (Å)	11,5246(5)	13,8863(3)
$c$ (Å)	12,9235(5)	19,8427(5)
$\alpha$ (°)	82,059(4)	90
$\beta$ (°)	80,452(4)	97,454(2)
$\gamma$ (°)	80,656(4)	90
$V$ (Å <sup>3</sup> )	1073,55(9)	2241,44(11)
$Z$	2	4
Izračunata gustina (Mg/m <sup>3</sup> )	1,571	1,549
$\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	1,078	1,034
$\theta$ opseg (°)	2,55 – 29,99	2,537 – 29,095

Broj prikupljenih refleksija	12985	19733
Nezavisne refleksije, $R_{\text{int}}$	0.0256	0.0244
Podaci/parametri	5009/300	5362/337
Faktor primerenosti, $S^c$	1,044	1,163
Krajnji $R_1/wR_2$ indeksi [ $I > 2\sigma(I)$ ]	0,0426/0,1062	0,0598/0,1470
Krajnji $R_1/wR_2$ indeksi (svi podaci)	0,0537/0,1127	0,0702/0,1528
Maksimum/minimum preostale elektronske gustine, $\Delta\rho_{\text{max}}/\Delta\rho_{\text{min}}$ ( $\text{e}/\text{\AA}^3$ )	0,600/−0,435	0,704/−0,620

### 3.4.2. Rendgenska strukturna analiza kompleksa 3

Kristalna struktura kompleksa **3** je takođe određena rendgenskom strukturnom analizom monokristala, pri čemu su difrakcioni podaci za ovo jedinjenje prikupljeni na *Agilent SuperNova* difraktometru opremljenom ogledalskim monohromatskim  $\text{MoK}\alpha$  zračenjem ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) sa dvostrukim izvorom zračenja i Atlas detektorom. Podaci su obrađeni korišćenjem *CrysAlis PRO* programa [151], a kristalna struktura je rešena pomoću softvera *SIR92* [157] i utačnjena metodom najmanjih kvadrata pune matrice na  $F^2$  pomoću programa *SHELXL-2016* [158]. Svi atomi osim vodonika utačnjeni su anizotropno. Vodonikov atom vezan za atom azota označen kao N2 je lociran na diferentnoj Furijeovoj mapi i utačnjen korišćenjem *DFIX* instrukcije o ograničenju rastojanja gde je  $d(\text{N-H}) = 0,86 \text{ \AA}$ , sa  $U_{\text{iso}}(\text{H})$  vrednošću ograničenom na  $1,2 U_{\text{eq}}$  odgovarajućeg N atoma. Svi ostali vodonikovi atomi su smešteni u geometrijski izračunate položaje i utačnjeni korišćenjem *riding* modela. Fluorov atom označen kao F4 iz  $\text{BF}_4^-$  anjona je utačnjen korišćenjem *PART* instrukcije i modelovan u dva položaja u razmeri 55:45. Svi rezultati proistekli iz kristalografske analize, kao i parametri za utačnjavanje kristalne strukture, prikazani su u **Tabeli 7**. Kristalografski informacioni fajl za kompleks **3** je deponovan u CSD pod brojem 2271001.

**Tabela 7.** Kristalografski podaci za kompleks **3**.

Molekulska formula	$C_{28}H_{38}B_2Cu_2F_8N_{16}O_2$
Molarna masa (g/mol)	931,44
Veličina kristala (mm)	0,50×0,40×0,10
Boja kristala	Zelena
Kristalni sistem	Triklinični
Prostorna grupa	$\bar{P}1$
$a$ (Å)	7,8476(3)
$b$ (Å)	9,8765(6)
$c$ (Å)	13,2990(9)
$\alpha$ (°)	110,341(6)
$\beta$ (°)	103,742(5)
$\gamma$ (°)	92,524(4)
$V$ (Å <sup>3</sup> )	929,70(10)
$Z$	1
Izračunata gustina (Mg/m <sup>3</sup> )	1,664
$F(000)$	474
Broj prikupljenih refleksija	8891
Broj nezavisnih refleksija	4259
$R_{int}$	0,0430
Broj uočenih refleksija	3639
Broj parametara	279
$R [I > 2\sigma(I)]^a$	0,0595
$wR_2$ (svi podaci) <sup>b</sup>	0,1815
Faktor primerenosti, $S^c$	1,051
Maksimum/minimum preostale elektronske gustine, $\Delta\rho_{max}/\Delta\rho_{min}$ (e/Å <sup>3</sup> )	0,88/−0,80

$$^a R = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|}$$

$$^b wR_2 = \left\{ \frac{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]}{\sum [w(F_o^2)^2]} \right\}^{1/2}$$

$$^c S = \left\{ \frac{\sum [(F_o^2 - F_c^2)^2]}{(n/p)} \right\}^{1/2}, \text{ gde je } n \text{ broj refleksija, a } p \text{ ukupan broj utaćnjenih parametara.}$$

## 3.5. Biološka aktivnost

### 3.5.1. Antimikrobna aktivnost

In vitro antibakterijska aktivnost je ispitana na četiri soja Gram-pozitivnih bakterija: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Clostridium sporogenes* ATCC 19404, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 i *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, kao i na četiri soja Gram-negativnih bakterija: *Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 i *Salmonella enterica* ATCC 13076. Antifungalna aktivnost je ispitana na tri soja gljivica: *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231 i *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763.

Za ispitivanje antimikrobne aktivnosti kompleksa primenjena je dupla diluciona metoda u mikrotitar pločama. Za određivanje antibakterijske aktivnosti korišćen je *Müller-Hinton* bujon, a za određivanje antifungalne aktivnosti korišćen je *Sabouraud* dekstrozni bujon. Za potrebe ovog eksperimenta korišćena je mikrotitar ploča sa 96 bunarčića koji su punjeni sa po 100  $\mu\text{L}$  *Müller-Hinton* bujona, za bakterije, odnosno *Sabouraud* dekstroznog bujona, za gljivice. Potom je u svaki bunarčić dodato po 100  $\mu\text{L}$  rastvora ispitivanih jedinjenja rastvorenih u DMSO, koncentracije 10 mg/mL. Svaki bunar je inokulisan sa 10  $\mu\text{L}$  bakterijskih kultura ( $10^6$  ćelija/ $\mu\text{L}$ ), odnosno sa 10  $\mu\text{L}$  gljivičnih sojeva ( $10^5$  spora/ $\mu\text{L}$ ). Bakterijski sojevi su inkubirani na 37 °C tokom 24 h. Kao pozitivna kontrolna proba korišćen je amikacin, a kao negativna kontrolna proba voda. Gljivični sojevi su inkubirani na 28 °C tokom 48 h. Flukonazol je korišćen kao pozitivna kontrolna proba, a DMSO kao negativna kontrolna proba. MIC vrednost je određena kao najniža koncentracija jedinjenja pri kojoj se ne uočava vidljivi rast mikroorganizama.

### 3.5.2. Test toksičnosti na račićima *Artemia salina*

Test toksičnosti na račićima je rađen na sveže izleglim larvama račića *Artemia salina*. Jedinjenja su rastvorena u DMSO i različite mase (0,01–1 mg) su dodate u veštačku morsku vodu sa 10–20 larvi. Nakon 24 h osvetljavanja na sobnoj temperaturi, žive i mrtve larve su prebrojane i statistički analizirane. LC<sub>50</sub> je definisana kao koncentracija jedinjenja koja je uzrokovala smrt 50 % larvi račića. Svi uzorci su rađeni u triplikatu.

### 3.5.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti (DPPH test)

Antioksidativna aktivnost inicijalne soli bakra(II), odgovarajućih liganada i sintetisanih kompleksa određena je DPPH testom koji se zasniva na neutralisanju 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. Sve ispitivane supstance rastvorene su u DMSO, u koncentraciji 10 mg/mL. Po 50  $\mu\text{L}$  rastvora svake od ispitivanih supstanci dodato je u bunarčiće mikrotitar ploče, i to u dva reda: u prvom redu je merena apsorbanca rastvora samih supstanci pri čemu je u svaki bunarčić dodavano još po 100  $\mu\text{L}$  metanola, dok je u drugom redu ispitivana njihova antioksidativna aktivnost i u ove bunarčiće je dodavano još po 100  $\mu\text{L}$  sveže pripremljenog metanolnog rastvora DPPH, koncentracije  $6,85 \cdot 10^{-5}$  mol/L. Kontrolna proba je sadržala 50  $\mu\text{L}$  DMSO. Krajnji opseg koncentracija ispitivanih supstanci bio je od 3330  $\mu\text{g/mL}$  do 3,3  $\mu\text{g/mL}$ . Nakon inkubacije na 37 °C u trajanju od 30 minuta, u mraku, izmerena je apsorbanca na 517 nm. Sva merenja su rađena u triplikatu i antioksidativna aktivnost ispitivanih jedinjenja izračunata je primenom sledeće jednačine (2):

$$\text{Aktivnost neutralisanja DPPH (\%)} = \frac{100 \times (A_{\text{kontrola}} - (A_{\text{uzorak}} - A_0))}{A_{\text{kontrola}}}; \quad \text{Jednačina (2)}$$

pri čemu je  $A_{\text{kontrola}}$  apsorbanca rastvora DPPH u kontrolnoj probi,  $A_{\text{uzorak}}$  je apsorbanca rastvora DPPH u ispitivanim supstancama, dok je  $A_0$  apsorbanca rastvora ispitivanih jedinjenja s obzirom na to da su i sama obojena. IC<sub>50</sub> (inhibitorna koncentracija) je definisana kao koncentracija

antioksidativnog agensa koja je potrebna da se koncentracija početnog DPPH smanji za 50 % i izračunata je na osnovu grafika zavisnosti antioksidativne aktivnosti jedinjenja od njihove koncentracije. Askorbinska kiselina je korišćena kao pozitivna kontrolna proba.

### 3.5.4. Citotoksičnost kompleksa 1 i 2

Citotoksičnost kompleksa **1** i **2**, kao i njihovih prekursora, ispitivana je na pet ljudskih malignih ćelijskih linija: ćelijama adenokarcinoma cerviksa (HeLa), ćelijama melanoma (A375), ćelijama raka pluća (A549), ćelijama adenokarcinoma prostate (PC-3), ćelijama adenokarcinoma dojke (MCF-7), kao i na normalnim ljudskim keratinocitnim ćelijama (HaCaT). Navedene ćelijske linije su održavane u RPMI-1640 nutritivnom medijumu koji je sadržao 10 % goveđeg fetalnog seruma, 2 mM L-glutamin, 25 mM HEPES pufer i rastvor smeše penicilina i streptomicina (100 U/mL penicilina i 0,1 mg/mL streptomicina). Ćelije su gajene na 37 °C u atmosferi sa povećanom vlažnošću vazduha i 5 % CO<sub>2</sub>. HeLa (3000 ćelija po bunaru), A375 (3000 ćelija po bunaru), A549 (5000 ćelija po bunaru), PC-3 (5000 ćelija po bunaru), MCF7 (7000 ćelija po bunaru) i HaCaT (7000 ćelija po bunaru) ćelije su zasejane na mikrotitar ploču i nakon 20 sati su tretirane sa pet različitih koncentracija kompleksa **1** i **2**, kao i njihovih prekursora. Opseg koncentracija svih ispitanih jedinjenja dat je u **Tabeli 8**. U kontrolne uzorke ćelija dodat je samo nutritivni medijum.

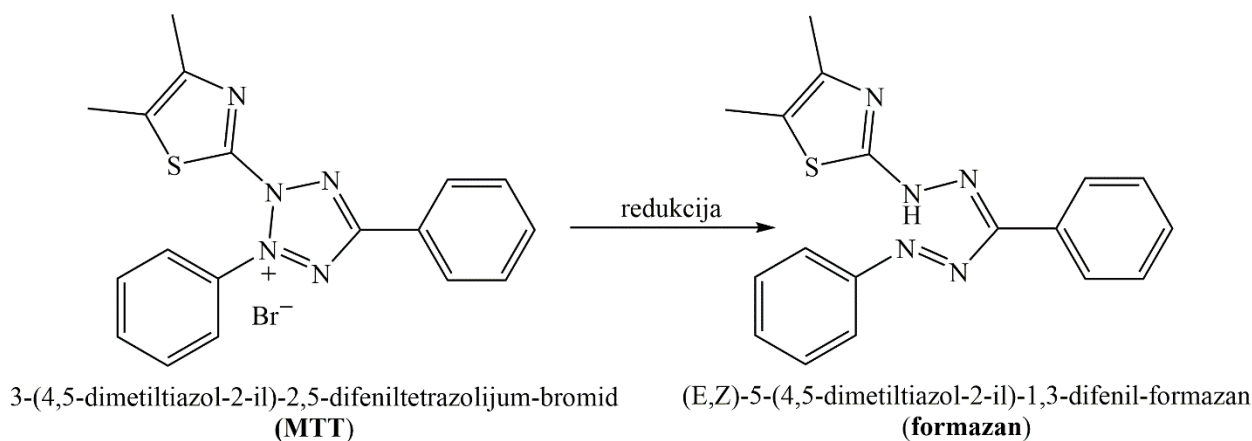
**Tabela 8.** Opseg koncentracija ispitivanih jedinjenja tokom određivanja njihove citotoksičnosti.

Ispitivane supstance	Opseg koncentracija (μM)
Cu(BF <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	12,5 – 200
<b>bipy</b>	12,5 – 200
<b>phen</b> ·HCl	6,25 – 100
<b>HL</b> <sup>1</sup>	12,5 – 200
kompleks <b>1</b>	6,25 – 100
kompleks <b>2</b>	0,625 – 10

Nakon 72 h inkubacije ćelija sa ispitivanim jedinjenjima njihova citotoksičnost određena je primenom MTT testa po metodi koju je prvobitno osmislio *Mosmann* [159], a modifikovali su je *Ohno* i *Abe* [160]. MTT test predstavlja kolorimetrijski test kojim se određuje sposobnost živih ćelija da redukuju tetrazolijum so (MTT) žute boje u formazan, koji se tom prilikom izdvaja kao precipitat ljubičaste boje (**Slika 9**). U cilju rastvaranja nastalog taloga smeši se dodaje SDS, a ovako rastvoren formazan apsorbuje svetlost u vidljivom delu spektra, sa apsorpcionim maksimumom na oko 570 nm. Količina formazana koji nastaje redukcijom MTT direktno je u korelaciji sa brojem vijabilnih (preživelih) ćelija.

Konkretno, u našim eksperimentima u svaki bunar sa zasejanim ćelijama i ispitivanim jedinjenjima dodato je po 10 μL MTT rastvora, koncentracije 5 mg/mL u PBS-u, a potom su uzorci inkubirani na 37 °C tokom 4 h. Nakon inkubacije, u svaki uzorak u bunaru dodato je po 100 μL 10 % rastvora SDS. Apsorbanca je merena sledećeg dana na 570 nm.





**Slika 9.** Redukcija žute tetrazolijum soli (MTT) u ljubičasti formazan.

$IC_{50}$  je definisana kao koncentracija jedinjenja koja smanjuje vijabilnost (sposobnost za preživljavanje) ćelija za 50 %. Svi eksperimenti su izvedeni u triplikatu. Hemoterapeutski lek *cisplatin* korišćen je kao pozitivna kontrolna proba.

### 3.5.5. Genotoksičnost i antigenotoksičnost kompleksa 1 i 2

Za potrebe ispitivanja genotoksičnog i antigenotoksičnog potencijala kompleksa **1** i **2** pripremljeni su rastvori ovih jedinjenja u smeši PBS/DMSO (98:2, v:v), i to u različitim koncentracijama: 100  $\mu$ M, 50  $\mu$ M, 25  $\mu$ M, 10  $\mu$ M i 5  $\mu$ M. Uzorci periferne krvi prikupljeni su u heparizovane posude uzorkovanjem kapilarne krvi iz prsta tri zdrava volontera (dve žene i jednog muškarca, uzrasta od 18 do 40 godina) i korišćeni su sveži u daljem toku eksperimenata. Protokol i dozvola za izradu eksperimenata odobreni su od strane Etičke komisije Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu (dozvola br. 1103/2).

Dva eksperimentalna dizajna su izvedena za potrebe ovog rada – ispitivanje genotoksičnog i ispitivanje antigenotoksičnog potencijala. Ispitivanje genotoksičnog potencijala određeno je inkubiranjem ćelija sa rastvorima kompleksa **1** i **2**, na temperaturi od 37 °C u trajanju od 30 min. Za potrebe ovog eksperimenta ćelije tretirane samo PBS-om korišćene su kao kontrolna proba. Za ispitivanje antigenotoksičnog potencijala kompleksa na humanim perifernim ćelijama krvi korišćen je „post-tretman“ protokol u kome su ćelije prvo izložene oksidativnom stresu pomoću vodonik-peroksida, a potom tretirane ispitivanim kompleksima. Na staklene mikroskopske pločice naneti su uzorci pune krvi koji su odmah tretirani 70  $\mu$ M  $H_2O_2$  i ostavljeni na 4 °C tokom 20 min, zatim su ćelije isprane PBS-om i inkubirane na 37 °C tokom 30 min zajedno sa rastvorima kompleksa **1** i **2** gorepomenutih koncentracija. Kao kontrolna proba u ovom eksperimentu korišćene su ćelije tretirane samo vodonik-peroksidom.

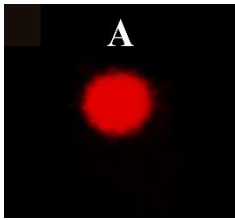
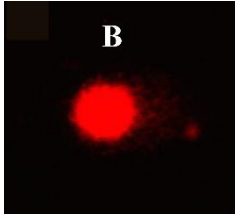
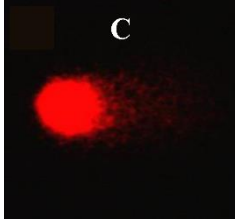
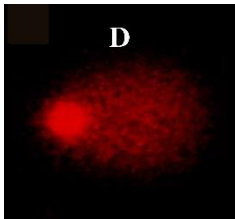
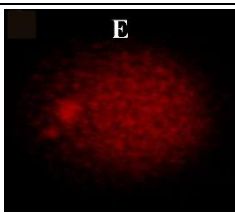
#### 3.5.5.1. Elektroforeza pojedinačnih ćelija – komet test

U cilju određivanja nivoa DNK oštećenja izvedena je elektroforeza pojedinačnih ćelija, odnosno komet test, po protokolu od ranije poznatom u literaturi [161]. Komet test predstavlja jednostavnu, brzu i osetljivu metodu za detekciju primarnih oštećenja DNK [162] koja se može primeniti u *in vitro*, *ex vivo* i *in vivo* sistemima, a razvijena je još 1984. godine [163]. Prednosti komet testa u odnosu na druge citogenetičke metode za praćenje oštećenja DNK su mnogobrojne, a pored jednostavnosti i visoke osetljivosti, ovom metodom je moguće dobiti pouzdan rezultat na relativno malom broju ćelija – dovoljno je analizirati do 100 ćelija po uzorku. Iz ovih razloga, komet test je

postao veoma primenjiv u genotoksikološkim istraživanjima, kao i u evaluaciji antigenotoksičnih svojstava prirodnih antioksidanasa [164].

Komet test se zasniva na migraciji denaturisane DNK u toku elektroforeze, što zapravo podrazumeva da negativno naelektrisani fragmenti DNK migriraju kroz agarozni gel u električnom polju ka pozitivno naelektrisanom anodi. U slučaju oštećenja DNK na mikroskopu su uočljive strukture koje podsećaju na komete, sa glavom koja predstavlja nukleoid (regija koja sadrži neoštećeni genetski materijal poreklom iz nukleusa, ali nije ogradaena jedrovom membranom) i repom koji sadrži DNK fragmente koji su migrirali. Daljina migracije i količina migrirane DNK direktno ukazuju na nivo oštećenja DNK [165,166]. U zavisnosti od stepena oštećenja – dužine repa i gustine fragmentisane DNK u repu, komete se mogu vizuelno okarakterisati i svrstati u pet klasa, što je prikazano u **Tabeli 9** [167].

**Tabela 9.** Klasifikacija kometa uz vizuelni prikaz oštećenja DNK tokom komet testa.

Klasa kometa	Procenat oštećenja DNK	Klasifikacija nivoa oštećenja DNK	Vizuelni prikaz
<b>A</b>	< 5 %	neoštećena	
<b>B</b>	5-20 %	oštećenja niskog nivoa	
<b>C</b>	20-40 %	srednji nivo oštećenja	
<b>D</b>	40-95 %	visok nivo oštećenja	
<b>E</b>	> 95 %	potpuno oštećenje	

Za potrebe naših eksperimenata, mikroskopske pločice su pripravljene oblaganjem 1 % agarozom normalne tačke topljenja (NMPA) i ostavljene da se suše na sobnoj temperaturi dva dana. Nakon toga, suspenzija koja je sadržala 6  $\mu$ L cele krvi suspendovane u 94  $\mu$ L 0,67 % agaroze niske tačke topljenja (LMPA) pipetirana je na mikroskopske pločice, ravnomerno raširena pokrovnim staklom i ostavljena na 4 °C tokom 10 min da se učvrsti. Nakon pažljivog uklanjanja pokrovnih stakala, suspenzije ćelija na pločicama podvrgnute su odgovarajućim prethodno opisanim tretmanima, zavisno od vrste eksperimenta.

Nakon adekvatnih ćelijskih tretmana, mikroskopske pločice su isprane PBS-om, prekrivene još jednim slojem 0,5 % LMPA i ostavljene na 4 °C tokom 10 min da bi se agarozni gel na njima učvrstio. Posle pažljivog uklanjanja pokrovnih stakala kako se gel ne bi ošteti, sve pločice su uronjene u hladni lizirajući pufer koji je sadržao 2,5 M NaCl, 100 mM EDTA i 10 mM TRIS pufer pH vrednosti podešene pomoću NaOH na pH 10. Pločice su ostavljene u lizirajućem puferu na 4 °C tokom noći. Nakon ovoga, pločice su postavljene u horizontalnu kadicu za elektroforezu i ostavljene 30 min u hladnom sveže pripremljenom rastvoru za elektroforezu (10 M NaOH, 200 mM EDTA, dH<sub>2</sub>O) kako bi došlo do odmotavanja DNK lanaca. Elektroforeza je rađena na 25 V sa strujom od 300 mA, u trajanju od 30 min, a po njenom završetku mikroskopske pločice su isprane tri puta neutrališućim puferom (0,4 M TRIS pufer pH vrednosti 7,5) a potom i destilovanom vodom, nakon čega je na pločice nanet etidijum-bromid. Komete su vizuelno analizirane 15 min nakon nanošenja etidijum-bromida, a evaluacija DNK oštećenja izvedena je određivanjem količine DNK koja je otpuštena iz jedra. Za svaku mikroskopsku pločicu analizirano je po 100 kometa koje su potom klasifikovane u kategorije/klase na prethodno opisan način, prikazan u **Tabeli 9**. Ukupni stepen DNK oštećenja izražen je kao srednja vrednost  $\pm$  standardna greška srednje vrednosti (SEM) broja kometa sa migriranom DNK (broja kometa koje pripadaju klasama B, C, D i E).

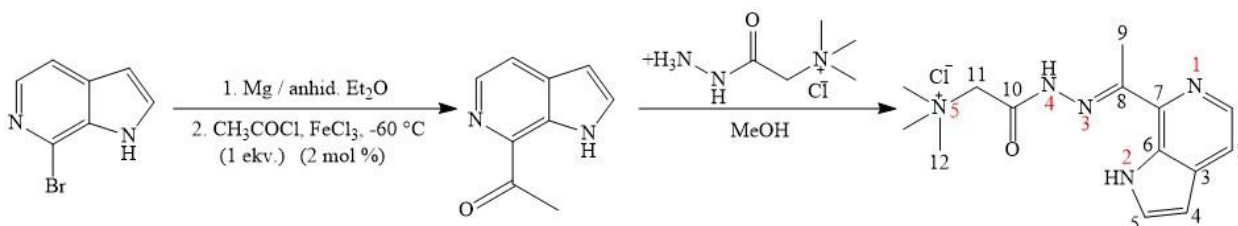
Statistički značaj dobijenih rezultata određen je primenom analize varijansi (ANOVA) sa Tukey-ovim *post-hoc* testom za upoređivanje vrednosti različitih tretmana sa odgovarajućom kontrolom. Razlike na nivou  $P < 0,05$  su uzete kao statistički značajne, a analiza je izvedena primenom GraphPad Prism 5.0 softvera [168].

## 4. Rezultati i diskusija

### 4.1. Sinteze

#### 4.1.1. Sinteza liganda HL<sup>2</sup>Cl

Sinteza liganda **HL<sup>2</sup>Cl**, (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirol[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminijum-hlorida, izvršena je u dva koraka prikazana na **Slici 10**. Nakon acetilovanja 7-bromo-6-azaindola, dobijeni 7-acetil-6-azaindol je reagovao sa Žirarovim T reagensom u molarnom odnosu 1:1 i tom prilikom nastao je ligand **HL<sup>2</sup>Cl**.



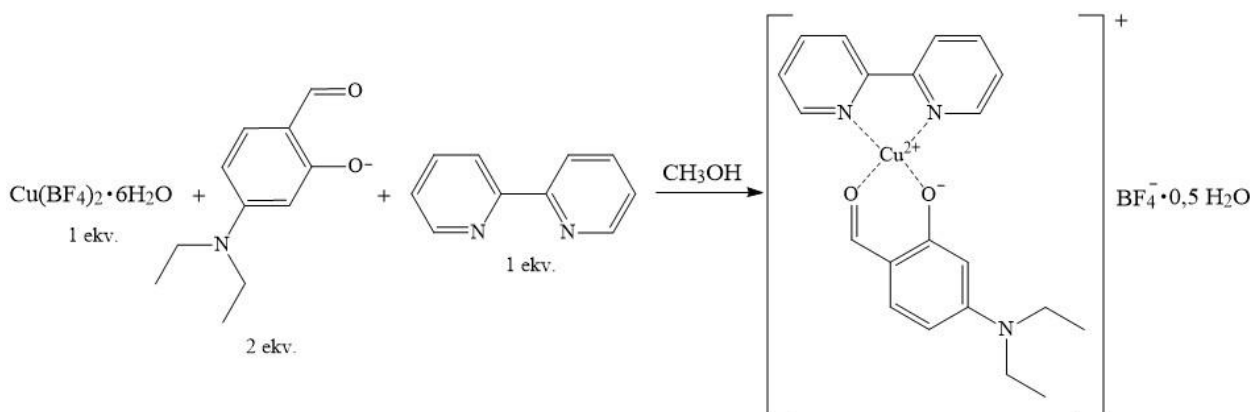
**Slika 10.** Skraćeni prikaz sinteze liganda **HL<sup>2</sup>Cl**.

Ligand **HL<sup>2</sup>Cl** okarakterisan je IC i NMR spektroskopijom. U IC spektru uočavaju se široka valenciona vibraciona traka na  $3377\text{ cm}^{-1}$ , koja odgovara N–H vezi pirolovog azotovog atoma, kao i traka velikog intenziteta na  $1703\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencione vibracije C=O veze karbonilne grupe. NMR spektroskopijom omogućena je detaljnija karakterizacija nastalog liganda, pri čemu je numeracija atoma identična onoj sa **Slike 10**. U <sup>1</sup>H NMR spektru (Slika P9) uočava se signal na 11,66 ppm koji potiče od H atoma vezanog za N2 atom (azotov atom pirolovog prstena), kao i signal na 11,50 ppm koji pripada H atomu vezanom za N4 atom. Signali protona vezanih za atome C1, C2, C4 i C5 uočavaju se kao multipleti sa pomeranjima u opsegu 7,72 – 8,15 ppm. Dva metilenska vodonikova atoma daju signal na pomeranju 4,91 ppm, a u HSQC spektru (Slika P11) uočava se njihovo sprezanje sa atomom ugljenika C11 (63,21 ppm u <sup>13</sup>C NMR-u, Slika P10). Devet vodonikovih atoma koji pripadaju trima metil-grupama ugljenika označenih kao C12 nalaze se na pomeranju 3,34 ppm i u HSQC spektru potvrđeno je njihovo sprezanje sa C12 atomima (53,74 ppm u <sup>13</sup>C NMR-u).

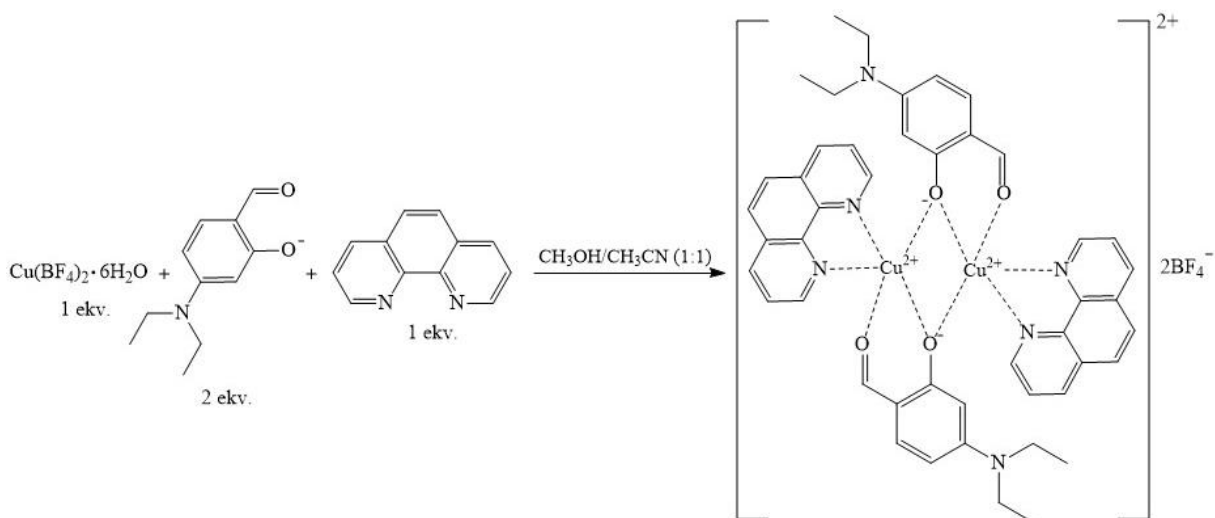
Ligand **HL<sup>2</sup>Cl**, predstavlja  $\alpha$ -diiminski ligand koji pored dva iminska azota (N1 i N3) ima još tri potencijalna ligatorska atoma – karbonilni kiseonik, azotov atom pirolovog prstena (N2), kao i terminalni hidrazonski azot (N4). Detaljniji podaci o načinu koordinacije liganda **HL<sup>2</sup>Cl** za jon bakra(II) u kompleksu **3**, dobijeni spektroskopskom i rendgenskom analizom, biće opisani u *Poglavljima 4.1.3. i 4.2.3.*

#### 4.1.2. Sinteze kompleksa 1 i 2

Kompleksi **1** i **2** su dobijeni u reakciji  $\text{Cu}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , deprotonovanog oblika 4-(dietilamino)salicilaldehida ( $\text{L}^1$ ) i  $\alpha$ -diiminskog liganda (2,2'-bipiridina i 1,10-fenantrolina, redom) u molaskom odnosu 1:2:1. Obe reakcije izvođene su u metanolu, a njihove sinteze prikazane su na **Slikama 11** i **12**, redom.



**Slika 11.** Shematski prikaz sinteze kompleksa 1.



**Slika 12.** Shematski prikaz sinteze kompleksa 2.

Posmatranjem UV spektara liganada i kompleksa (Slike P1 i P2) uočava se intenzivan pik na 342 nm koji se pojavljuje i u spektru liganada  $\text{HL}^1$  i u spektrima kompleksa **1** i **2**. Traka na 342 nm odgovara zabranjenom  $n \rightarrow \pi^*$  prelazu koji potiče od apsorpcije benzenovog prstena supstituisanog alhidnom hromoforom, kao i auksohromama  $-\text{OH}$  i  $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$  u *orto*- i *para*-položajima, redom [169]. Intenzivne trake u spektrima liganada 2,2'-bipiridina i 1,10-fenantrolina potiču od dozvoljenih  $\pi \rightarrow \pi^*$  prelaza, a pojavljuju se na talasnim dužinama 277 nm i 259 nm, redom. Ove trake javljaju se i u spektrima odgovarajućih kompleksa na približno sličnim vrednostima talasnih dužina, 256 nm u kompleksu **1**, odnosno 266 nm u kompleksu **2**. Ovi podaci zajedno ukazuju na koordinaciju gorepomenutih liganada za jone  $\text{Cu}(\text{II})$ . Vis spektar kompleksa **1** i **2** (Slika P3) pokazuje jednu široku traku na 615 nm za kompleks **1**, odnosno na 627 nm za kompleks **2**. Ove trake odgovaraju prelazima  $d_{z^2}, d_{xy}, d_{xz}, d_{yz} \rightarrow d_{x^2-y^2}$ . Apsorpcioni maksimum koji je u kompleksu **1** pomeren ka nižoj talasnoj dužini (višoj energiji) u odnosu na

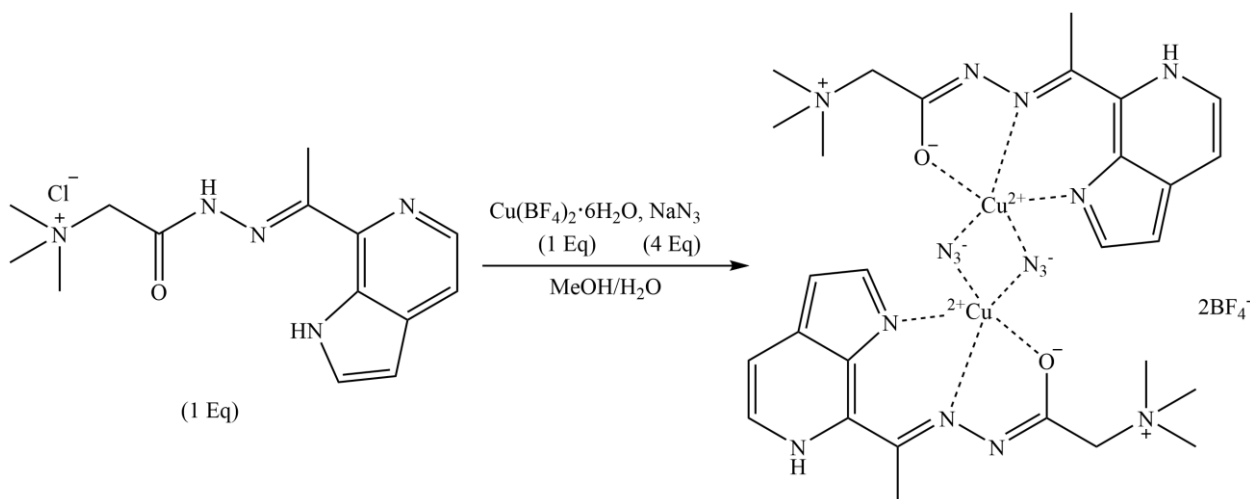
maksimum u kompleksu **2** odgovara činjenici da je ligandno polje u kvadratno-planarnom kompleksu **1** jače od ligandnog polja u kvadratno-piramidalnom kompleksu **2**.

IC spektroskopijom potvrđeno je deprotonovanje liganda **HL**<sup>1</sup>, 4-(dietilamino)salicilaldehida, kao i način na koji se on i  $\alpha$ -diiminski ligandi vezuju za centralni jon metala. Naime, valencione i deformacione vibracione trake karakteristične za fenolnu grupu pojavljuju se u IC spektru liganda **HL**<sup>1</sup> na talasnim brojevima 3200 cm<sup>-1</sup>, odnosno 1410 cm<sup>-1</sup>, redom (Slika P4). Ove trake izostaju u spektrima kompleksa **1** (Slika P5) i kompleksa **2** (Slika P6), što jasno ukazuje na deprotonovanje fenolatnog kiseonikovog atoma. Traka koja potiče od C–O valencione vibracije fenolatne grupe u IC spektru liganda nalazi se na 1242 cm<sup>-1</sup>, dok se u spektrima kompleksa **1** i **2** ova traka pomera na 1252 cm<sup>-1</sup>, što je posledica koordinacije fenolatnog kiseonika za jon Cu(II). Takođe, traka koja potiče od valencione vibracije C=O veze aldehidne grupe u spektru liganda nalazi se na 1629 cm<sup>-1</sup>, dok se u spektrima kompleksa ova traka pomera ka nižim talasnim brojevima, konkretno na 1612 cm<sup>-1</sup> za kompleks **1**, odnosno na 1611 cm<sup>-1</sup> za kompleks **2**. Ovo ukazuje na mogućnost bidentatnog vezivanja liganda **HL**<sup>1</sup> i njegovu koordinaciju i preko karbonilnog kiseonikovog atoma za jon Cu(II). Trake jakog intenziteta na ~1580 cm<sup>-1</sup> koje odgovaraju valencionim vibracijama aromatičnih C=N veza  $\alpha$ -diiminskih liganada prisutne su u spektrima kompleksa **1** i **2**, što govori o koordinaciji  $\alpha$ -diiminskih liganada preko azotovih atoma.

ESI-MS spektar kompleksa **1** (Slika P7) pokazao je prisustvo molekuskog jona [C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>CuN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> sa vrednošću *m/z* 411,0993, što odgovara ovom mononuklearnom kompleksu. Maseni spektar kompleksa **2** (Slika P8) pokazuje kao osnovni jon zapravo molekulski jon [C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>CuN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> sa *m/z* vrednošću 435,0993. Na osnovu ovog podatka, može se zaključiti da u rastvoru DMSO-a dinuklearni kompleks **2** postoji u svom monomernom obliku.

#### 4.1.3. Sinteza kompleksa 3

Kompleks **3** je dobijen u reakciji polazne soli bakra, Cu(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, liganda **HL**<sup>2</sup>Cl i natrijum-azida, u molskom odnosu 1:1:4. Kao rastvarač korišćena je smeša metanola i vode u zapreminskom odnosu 1:4, a sinteza kompleksa **3** prikazana je na **Slici 13**.



**Slika 13.** Shematski prikaz sinteze kompleksa **3**.

Primenom IC spektroskopije i poređenjem spektara samog liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (Slika P12) i kompleksa **3** (Slika P13) potvrđeno je deprotonovanje liganda i njegova koordinacija za jon Cu(II) preko pirolovog azotovog atoma iz 6-azaindolskog prstena. Naime, široka valencionna vibraciona traka koja odgovara ovoj N–H vezi u spektru liganda nalazi se na 3377 cm<sup>-1</sup>, a izostaje u spektru kompleksa. Intenzivna traka koja se pojavljuje samo u spektru kompleksa na 2063 cm<sup>-1</sup> jasno ukazuje na prisustvo N<sub>3</sub><sup>-</sup> grupe u strukturi kompleksa.

U spektru liganda takođe se nalazi veoma intenzivna traka na 1703 cm<sup>-1</sup> koja potiče od valencione vibracije C=O veze karbonilne grupe. U spektru kompleksa ova traka izostaje, a umesto nje pojavljuje se intenzivna traka na 1034 cm<sup>-1</sup> koja potiče od valencione vibracije C–O veze. Ovi podaci ukazuju na postojanje amid-iminol tautomerije koja dovodi do delokalizacije elektronskog para karbonilne grupe prema kiseoniku, što ima za posledicu koordinaciju liganda preko sada negativno naelektrisanog kiseonikovog atoma. Kao NNO- donorska Šifova baza ligand **HL<sup>2</sup>Cl** koordinacijom za jon Cu(II) formira jedan petočlani i jedan šestočlani helatni prsten koji značajno stabilizuju strukturu novonastalog kompleksa **3**, o čemu će više biti reči u *Poglavljju 4.2.3*.

## 4.2. Opis kristalnih struktura

Deprotonovani oblik liganda 4-(dietilamino)salicilaldehida,  $L^1$ , sa jonom Cu(II) i dva različita  $\alpha$ -diiminska liganda, **bipy** i **phen**, formira dva kompleksa različite nuklearnosti – mononuklearni kompleks **1** i dinuklearni kompleks **2**. Mononuklearni kompleks **1** ima kvadratno-planarnu geometriju oko centralnog jona metala koju formiraju fenolatni i karbonilni kiseonikovi atomi liganda  $L^1$ , i dva atoma azota iz 2,2'-bipiridina. Ovaj kompleks kristališe u trikliničnom kristalnom sistemu i pripada prostornoj grupi  $P\bar{1}$ .

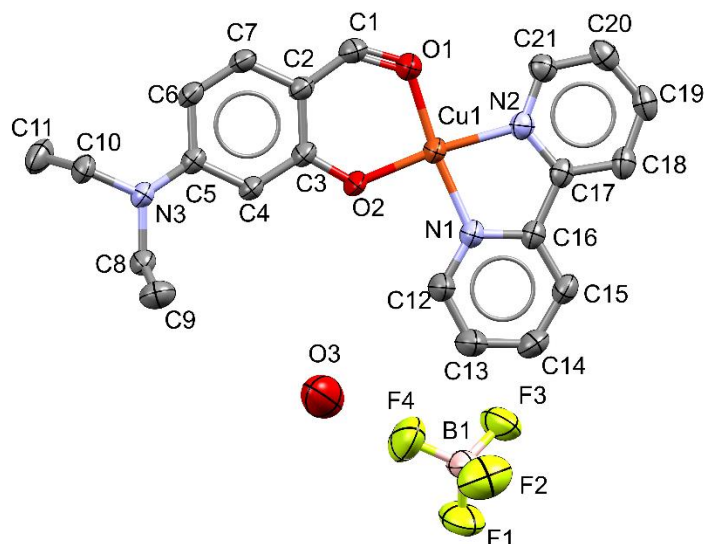
Dinuklearni kompleks **2** nastao u reakciji deprotonovanog liganda  $L^1$  sa jonom Cu(II) i 1,10-fenantrolinom kristališe u monokliničnom kristalnom sistemu i pripada prostornoj grupi  $P2_1/c$ . Geometrija oko svakog jona Cu(II) je izdužena kvadratna piramida sa bazalnom ravni koju čine fenolatni i karbonilni kiseonikovi atomi deprotonovanog liganda  $L^1$ , i dva atoma azota iz 1,10-fenantrolina, dok apikalni položaj pripada fenolatnom kiseonikovom atomu koji je koordinovan za jon Cu(II) naspramne asimetrične jedinice.

Ligand  $HL^2Cl$  zajedno sa azidnim ligandom i jonom Cu(II) učestvuje u formiranju dinuklearnog kompleksa **3** koji kristališe u trikliničnoj kristalnom sistemu prostorne grupe  $P\bar{1}$ . Ovaj kompleks karakteriše geometrija izdužene kvadratne piramide oko svakog jona Cu(II), pri čemu se koordinacija za centralni jon metala vrši preko NNO donorskog seta atoma liganda  $HL^2Cl$  i dva azotova atoma iz dva mostna azidna liganda, koji povezuju dve asimetrične jedinice ovog dinuklearnog kompleksa na dvostruki „end-to-end“ (di- $\mu$ -1,3-N<sub>3</sub>) koordinacioni način.

### 4.2.1. Rendgenska strukturalna analiza kompleksa **1**

ORTEP prikaz molekulske strukture kompleksa **1** dat je na **Slici 14**, dok su vrednosti odabranih dužina i uglova veza ovog kompleksa navedeni u **Tabeli 10**. Asimetrična jedinica kompleksa **1** sastoji se iz  $[Cu(L^1)(bipy)]^+$  kompleksnog katjona,  $BF_4^-$  anjona i molekula kristalne vode sa okupacionim faktorom od 0,5. U kompleksnom katjonu, Cu(II) jon se nalazi u blago distorgovanom kvadratno-planarnom koordinacionom okruženju koje čine fenolatni i karbonilni kiseonikovi atomi 4-(dietilamino)salicilaldehida, kao i dva donorska atoma azota iz 2,2'-bipiridina. Vrednosti dužine veza i uglova u saglasnosti su sa geometrijskim parametrima sličnih kvadratno-planarnih kompleksa koji sadrže  $CuO_2N_2$  hromoforu, a čije su strukture i refkodovi prikazani u **Tabeli 11**. Kao što je i očekivano, dužina Cu1–O2 veze koju centralni jon metala bakra(II) ostvaruje sa fenolatnim kiseonikom kraća je od Cu1–O1 veze koja se ostvaruje sa karbonilnim kiseonikom, dok su dve Cu–N veze sa azotovim atomima iz bipiridinskog prstena približno istih dužina. U koordinacionom okruženju bakra(II) najveća angularna devijacija od kvadratno-planarne geometrije uočena je kod N1–Cu1–N2 ugla, u kome centralni jon metala ostvaruje vezu sa atomima azota bipiridinskog prstena.



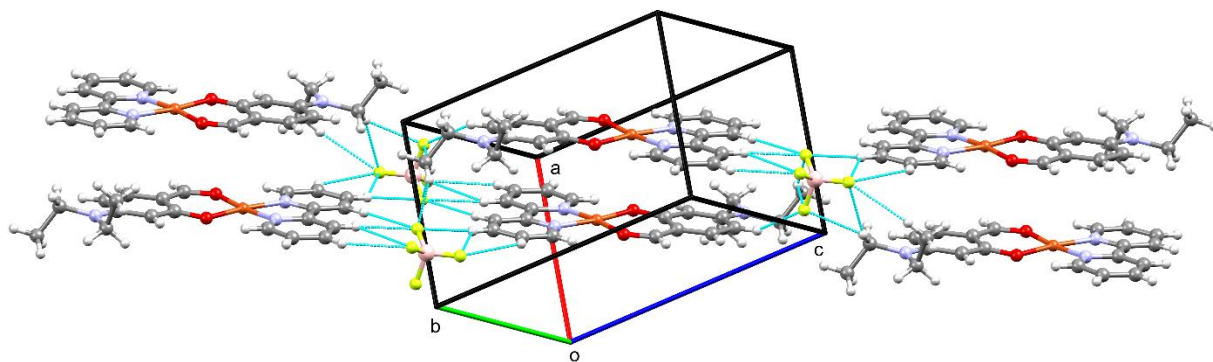


**Slika 14.** ORTEP prikaz molekulske strukture kompleksa **1**. Termalni elipsoidi su prikazani sa 50 % verovatnoće, a atomi vodonika su uklonjeni zbog preglednosti slike.

**Tabela 10.** Odabrane dužine i uglovi veza u kompleksu **1**.

Tip veze	Dužine veza [Å]
Cu1 – O1	1,913(2)
Cu1 – O2	1,875(2)
Cu1 – N1	1,987(2)
Cu1 – N2	1,981(2)
C1 – O1	1,271(3)
C3 – O2	1,316(3)
C5 – N3	1,348(3)
Tip veze	Uglovi veza [°]
O1 – Cu1 – O2	94,84(8)
N1 – Cu1 – N2	81,59(8)
O1 – Cu1 – N2	92,15(8)
O2 – Cu1 – N1	91,55(8)
O1 – Cu1 – N1	172,83(8)
O2 – Cu1 – N2	172,67(8)

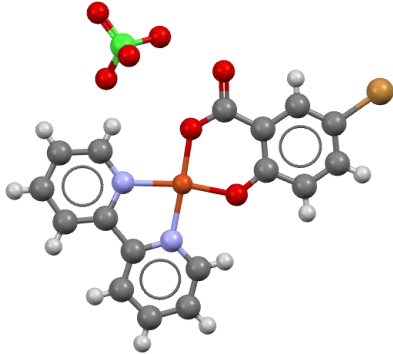
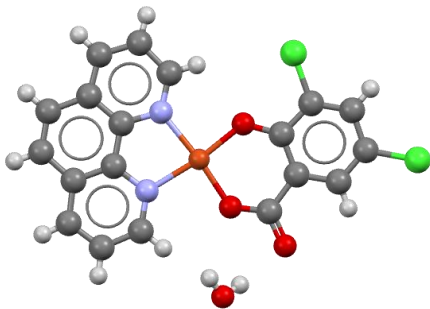
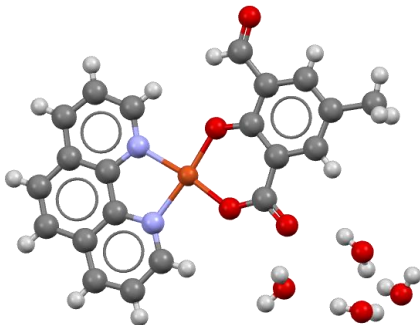
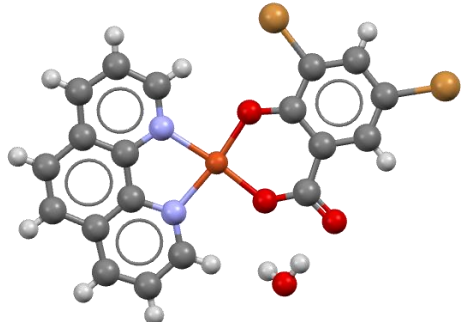
Četiri donorska atoma iz koordinacione sfere Cu(II) jona su približno koplanarna (srednja vrednost devijacije utaćnjenih atoma iznosi 0,049) pri čemu se najveća devijacija od srednje ravni uočava kod bipiridinskog N1 atoma i iznosi 0,051(1) Å. Sam Cu(II) jon pokazuje neznatnu devijaciju od koordinacione ravni koja iznosi 0,008(1) Å. Šestočlani i petočlani helatni prstenovi koje centralni jon metala gradi sa ligandima su takođe gotovo u ravni (najveće devijacije iznose -0,054(2) Å za O2 i 0,020(1) Å za N2), dok diedarski uglovi između koordinacione ravni i glavnih ravni aromatičnih prstenova liganada iznose 4,76(9) ° za 4-(dietilamino)salicilaldehid i 3,93(7) ° za 2,2'-bipiridin. Navedeni parametri ukazuju na to da je kompleksni katjon skoro planaran, sa izuzetkom C atoma koji pripadaju dietilamino- grupi deprotonovanog liganda **L**<sup>1</sup>.



**Slika 15.** Kristalno pakovanje kompleksa **1** u kome su prikazane C–H···F vodonične interakcije zadužene za formiranje lanca duž [111] pravca.

Planarne kompleksne jedinice poređane su u kristalnu strukturu u vidu slojeva (**Slika 15**), pri čemu rastojanje između dve naspramne kompleksne jedinice susednih ravni iznosi 3,382 Å, dok diedarski ugao između ovih ravni iznosi 0,0 ° (glavna ravan jedne planarne kompleksne jedinice definisana je svim atomima koji se nalaze u toj ravni izuzev vodonika). U ovakvom uređenju, fenolati O2 atom iz centrosimetričnog [Cu(**L**<sup>1</sup>)(**bipy**)]<sup>+</sup> katjona prilazi slobodnom aksijalnom mestu susednog jona metala na rastojanju koje iznosi 3,166 Å za Cu···O2<sup>i</sup>, gradeći pritom Cu1 – O2<sup>i</sup> – Cu1<sup>i</sup> ugao od 89,19 ° (simetrijske operacije: (i) -x + 1, -y + 1, -z + 1). Rastojanje između najbližih Cu(II) jona u ovakvoj strukturi iznosi 3,657(1) Å. U okviru slabih π···π steking interakcija između kompleksnih jedinica, najkraća rastojanja između dva centroida ostvaruje helatni prsten koji **bipy** gradi sa jonom Cu(II) jedne kompleksne jedinice i to sa: helatnim prstenom koje deprotonovani ligand **L**<sup>1</sup> gradi sa jonom Cu(II) druge kompleksne jedinice (3,669(1) Å), i benzenovim prstenom deprotonovanog liganda **L**<sup>1</sup> druge kompleksne jedinice (3,633(1) Å).

**Tabela 11.** Kvadratno-planarni kompleksi bakra(II) koji sadrže CuO<sub>2</sub>N<sub>2</sub> hromoforu.

Kompleks	Ligand (HL <sup>n</sup> )	Refkod [referenca]	Struktura
[Cu(bipy)(L <sup>1</sup> )]ClO <sub>4</sub>	3-bromosalicilna kiselina	FUJPAD [170]	
[Cu(phen)(L <sup>2</sup> )]	3,5-dihlorosalicilna kiselina	DEYCAM [171]	
[Cu(phen)(L <sup>3</sup> )]·4H <sub>2</sub> O	3-formilsalicilna kiselina	QIKBAP [172]	
[Cu(phen)(L <sup>4</sup> )]·H <sub>2</sub> O	3,5-dibromosalicilna kiselina	VIDBAM [173]	

Vodonične interakcije zadužene za formiranje 1D lanca duž pravca  $[11\bar{1}]$  u kristalnoj strukturi kompleksa **1** navedene su u **Tabeli 12**, a ostvaruju se između vodonikovih atoma aromatičnih prstenova i fluorovih atoma iz  $\text{BF}_4^-$  jona.

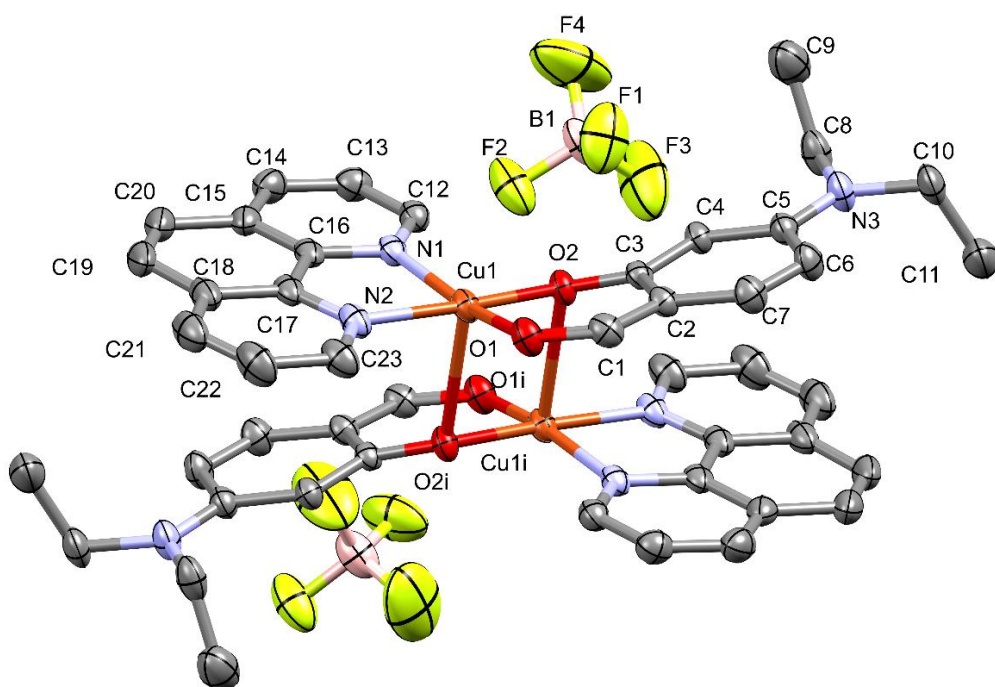
**Tabela 12.** Vodonične interakcije zadužene za formiranje 1D lanca duž pravca  $[11\bar{1}]$  u kristalnoj strukturi kompleksa **1**.

D–H...A	D–H [Å]	H...A [Å]	D...A [Å]	D–H...A [°]
C14–H14...F3	0,930	2,855	3,471	124,85
C15–H15...F3	0,929	2,824	3,453	126,03
C15–H15...F1	0,929	2,518	3,444	174,18
C18–H18...F1	0,931	2,715	3,643	175,43
C19–H19...F1	0,930	2,741	3,660	169,65
C19–H19...F4	0,930	2,897	3,527	126,19
C20–H20...F4	0,929	2,911	3,533	125,52

#### 4.2.2. Rendgenska strukturna analiza kompleksa **2**

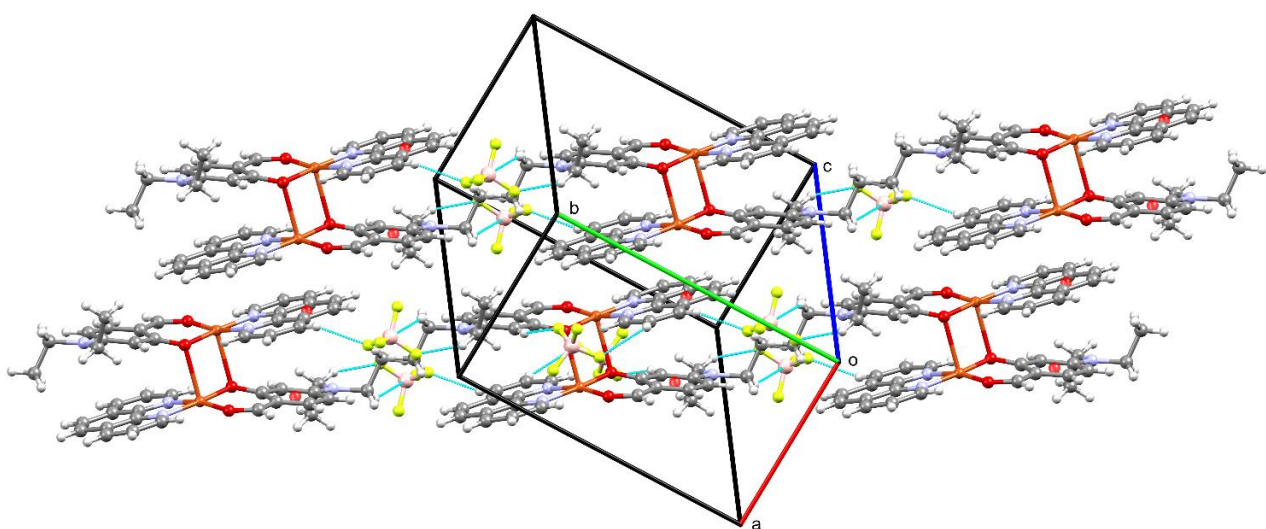
Kristalna struktura kompleksa **2** sastoji se iz centrosimetričnog dimernog katjona  $[\text{Cu}_2(\text{L}^1)_2(\text{phen})_2]^{2+}$  i dva  $\text{BF}_4^-$  anjona. U kompleksnom dimeru koordinaciona geometrija svakog Cu(II) centralnog jona metala se može opisati kao izdužena kvadratna piramida sa bazalnom ravni koju čine fenoladni i karbonilni O donorski atomi liganda 4-(dietilamino)salicilaldehida, i dva N donorska atoma 1,10-fenantrolina (**Slika 16**). Apikalni položaj kvadratne piramide zauzima fenoladni  $\text{O}2^i$  donorski atom koji pripada koordinacionoj sferi  $\text{Cu}(\text{II})^i$  jona naspramne asimetrične jedinice (simetrijske operacije: (i)  $-x + 2, -y + 1, -z + 1$ ). Dužina Cu– $\text{O}2^i$  veze od 2,500(2) Å utiče na rastojanje između dva Cu(II) centra dve susedne asimetrične jedinice dimernog katjona, koje iznosi 3,170(1) Å, stvarajući pritom ugao Cu– $\text{O}2^i$ –Cu<sup>i</sup> veze od 91,4(2) °.

Asimetrična jedinica kompleksa **2**, koja predstavlja jednu polovinu dimera, liči na kompleks **1**. U poređenju sa monomernim kompleksom **1**, kod kompleksa **2** uočava se očekivana elongacija Cu–O i Cu–N koordinacionih veza koja je posledica 4 + 1 koordinacione geometrije oko centralnog jona metala. Odabrani uglovi i dužine veza kod kompleksa **2** prikazani su u **Tabeli 13**. Donorski atomi pokazuju malo veće odstupanje od glavne koordinacione ravni (srednja vrednost devijacije utućjenih atoma iznosi 0,107) pri čemu se najveća devijacija od ravni uočava kod fenantrolinskog N1 atoma i iznosi 0,111(1) Å. Sam Cu(II) jon leži 0,096(1) Å van ove ravni, približen apikalnom  $\text{O}2^i$  donorskom atomu. Ono što predstavlja najznačajniju razliku između jedne asimetrične jedinice kompleksa **2** i monomernog kompleksa **1** jeste diedarski ugao između glavne koordinacione ravni i 4-(dietilamino)salicilaldehidnog prstena, koji u kompleksu **1** iznosi 5,3(1) °, a u kompleksu **2** njegova je vrednost 15,3(1) °. Ove vrednosti ukazuju na značajno pomeranje 4-(dietilamino)salicilaldehidnog prstena u odnosu na glavnu koordinacionu ravan u dimernoj strukturi kompleksa **2**.



**Slika 16.** ORTEP prikaz molekulske strukture kompleksa **2**. Termalni elipsoidi su prikazani sa 30 % verovatnoće, a atomi vodonika su uklonjeni zbog preglednosti slike. Neoznačeni deo dimernog molekula generisan je primenom simetrijske operacije: (i)  $-x + 2, -y + 1, -z + 1$ .

U kristalnom pakovanju kompleksa **2** prikazanom na **Slici 17**, uočava se nekoliko različitih  $\pi \cdots \pi$  steking interakcija. Unutar dinuklearnog kompleksnog katjona ostvaruju se steking interakcije između benzenovog prstena **phen** liganda jedne asimetrične jedinice i benzenovog prstena deprotonovanog liganda **L<sup>1</sup>** druge asimetrične jedinice. Rastojanje između centroida ova dva prstena iznosi 3,710 Å, dok diedarski ugao između ravni koje sadrže ova dva prstena iznosi 17,42 °. Posmatrajući dve susedne dimerne jedinice u kristalnom pakovanju kompleksa **2** uočavaju se i  $\pi \cdots \pi$  steking interakcije između fenantrolinskih prstenova dva susedna kompleksna katjona. Rastojanje između ravni koje sadrže ova dva fenantrolinska prstena iznosi 3,377 Å, sa diedarskim uglom između ravni od 0,007 °. C–H $\cdots$ F vodonične interakcije ilustrovane na **Slici 17**, zadužene su za formiranje lanca duž [110] pravca, a njihovi parametri prikazani su u **Tabeli 14**.



**Slika 17.** Kristalno pakovanje kompleksa **2** u kome su prikazane vodonične interakcije zadužene za formiranje lanca duž [110] pravca.

**Tabela 13.** Odabrane dužine i uglovi veza u kompleksu **2**.

Tip veze	Dužine veza [Å]
Cu1 – O1	1,922(3)
Cu1 – O2	1,889(2)
Cu1 – O1 <sup>i</sup>	2,500(2)
Cu1 – N1	2,004(3)
Cu1 – N2	1,993(3)
C1 – O1	1,255(4)
C3 – O2	1,311(4)
C5 – N3	1,351(5)
Tip veze	Uglovi veza [°]
O1 – Cu1 – O2	94,62(10)
N1 – Cu1 – N2	82,42 (13)
O1 – Cu1 – N2	92,09(12)
O2 – Cu1 – N1	91,00(11)
O1 – Cu1 – N1	166,87(12)
O2 – Cu1 – N2	173,28(12)
O2 – Cu1 – O2 <sup>i</sup>	88,61(9)
O1 – Cu1 – O2 <sup>i</sup>	103,10(10)
N1 – Cu1 – O2 <sup>i</sup>	88,87(10)
N2 – Cu1 – O2 <sup>i</sup>	89,90(10)

Simetrijska operacija: (i)  $-x + 2, -y + 1, -z + 1$ .

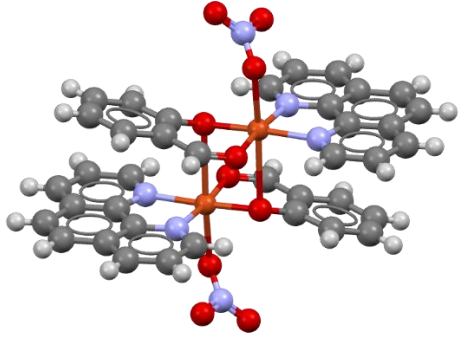
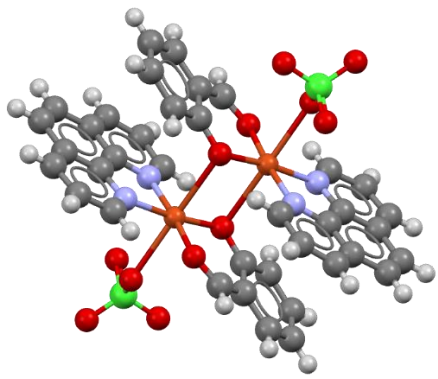
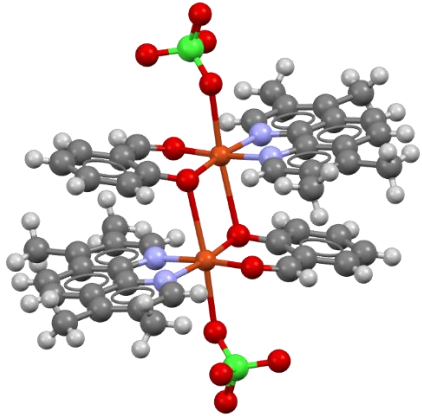
**Tabela 14.** Vodonične interakcije zadužene za formiranje lanca duž pravca [110] u kristalnoj strukturi kompleksa **2**.

D–H...A	D–H [Å]	H...A [Å]	D...A [Å]	D–H...A [°]
C14–H14...F4A	0,930	2,333	3,109	140,72
C8–H8B...F2A	0,970	2,426	3,340	156,79

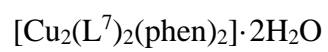
Pretragom Kembričke kristalografske baze podataka pronađeni su strukturni podaci za šest dimernih kompleksa koji sadrže Cu(II) kao centralni metalni jon, i ligande na bazi salicilaldehida i fenantrolina. U **Tabeli 15.** dat je pregled struktura, kao i refkodovi ovih kompleksa. Od šest pronađenih kompleksa, tri imaju oktaedarsku geometriju oko centralnog metalnog jona Cu(II) sa malo dužim Cu – O2 apikalnim vezama u odnosu na kompleks **2** (2,500 Å), a koje imaju vrednosti: 2,765 Å za FEPJAL01, 2,622 Å za FUJYAK i 2,701 Å za WIXBUC. Kod preostala tri kompleksa centralni metalni jon Cu(II) ima koordinacioni broj 5 i geometriju izdužene iskrivljene kvadratne piramide, pri

čemu dužine Cu–O2 apikalnih veza iznose: 2,569 Å za KURQIY, 2,462 Å za LIFGEO i 2,579 Å za NARZOY.

**Tabela 15.** Dinuklearni kompleksi bakra(II) koji sadrže ligande na bazi fenantrolina i salicilaldehida.

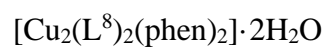
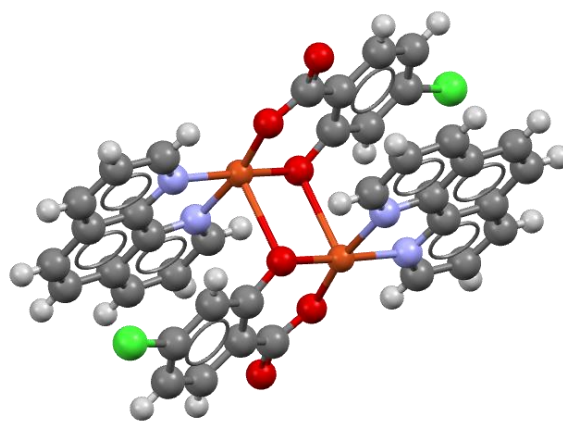
Kompleks	Ligand (HL <sup>n</sup> )	Refkod	Struktura
[Cu <sub>2</sub> (phen) <sub>2</sub> (L <sup>5</sup> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]	salicilaldehyd	FEJPAL01 [174]	
[Cu <sub>2</sub> (phen) <sub>2</sub> (L <sup>5</sup> ) <sub>2</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ]	salicilaldehyd	FUJYAK [175]	
[Cu <sub>2</sub> (L <sup>5</sup> ) <sub>2</sub> (L <sup>6</sup> ) <sub>2</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ]	3,4,7,8-tetrametil- -1,10-fenantrolin	WIXBUC [174]	





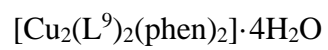
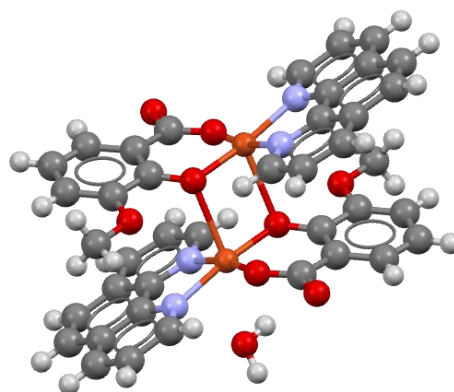
4-hlorosalicilna  
kiselina

KURQIY  
[176]



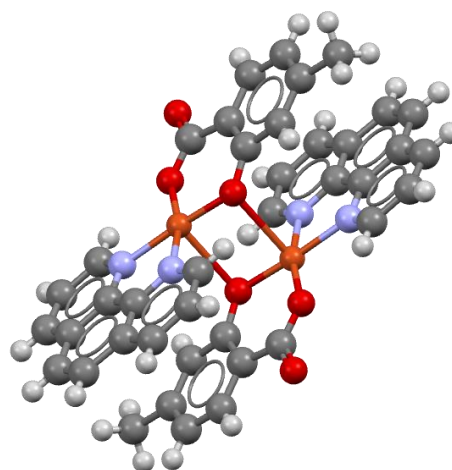
3-metoksisalicilna  
kiselina

LIFGEO  
[177]



4-metilsalicilna  
kiselina

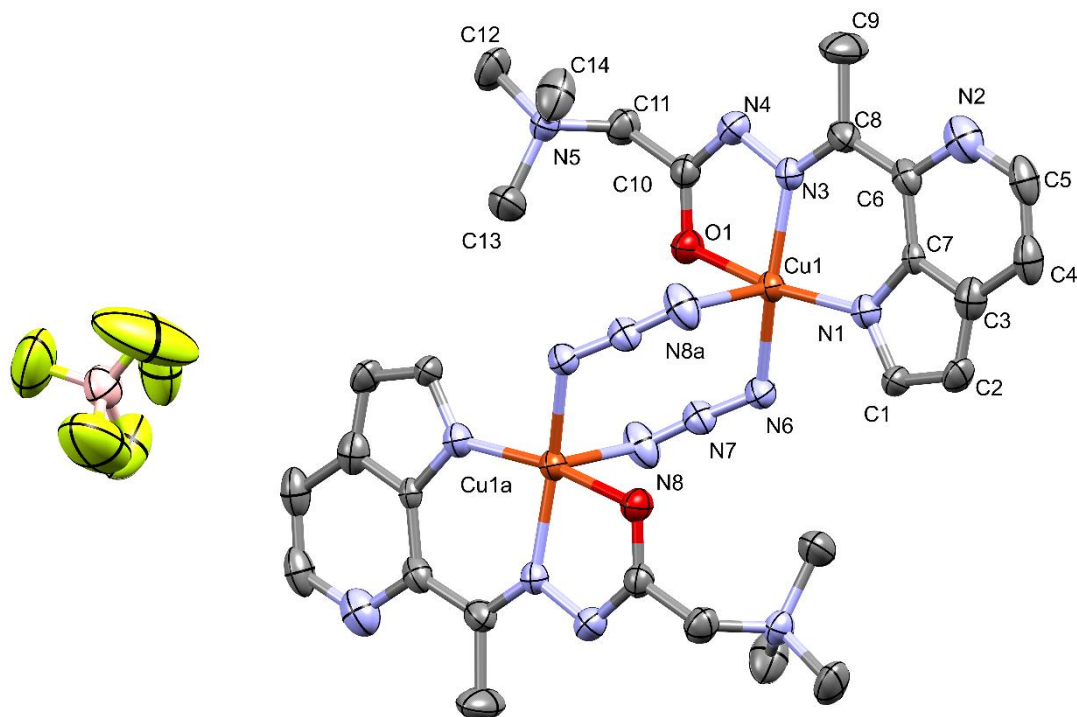
NARZOY  
[178]





### 4.2.3. Rendgenska strukturna analiza kompleksa 3

Kristalna struktura kompleksa **3** sastoji se iz centrosimetričnog dinuklearnog kompleksnog katjona  $[\text{Cu}_2(\text{L}^2)(\mu_{1,3}\text{-N}_3)_2]^{2+}$  i dva  $\text{BF}_4^-$  anjona, pri čemu jedna asimetrična jedinica sadrži jedan Cu(II) jon, cviterjonski ligand  $\text{HL}^2\text{Cl}$ , azidni ligand  $\text{N}_3^-$  i jedan  $\text{BF}_4^-$  kontra-jon. ORTEP prikaz molekulske strukture kompleksa **3**, kao i numeracija atoma, prikazani su na **Slici 18**. Centralni metalni jon Cu(II) nalazi se u pentakoordinovanom okruženju koje čine tri donorska atoma liganda  $\text{HL}^2\text{Cl}$  (N1, N3 i O1) kao i dva N atoma (N6 i N8<sup>a</sup>) iz dva azidna mostna liganda koja povezuju dva Cu(II) centra na dvostruki „end-to-end“ (di- $\mu_{-1,3}\text{-N}_3$ ) koordinacioni način (simetrijske operacije za (a):  $-x, -y, -z + 1$ ).  $\text{Cu1}\cdots\text{Cu1}^a$  rastojanje između dva Cu(II) centra, povezana mostnim azidnim ligandima na ovaj način, iznosi 4,8232(6) Å. Odabrane dužine i uglovi veza prikazani su u **Tabeli 16**.



**Slika 18.** ORTEP prikaz molekulske strukture kompleksa **3**. Termalni elipsoidi su prikazani sa 50 % verovatnoće, a atomi vodonika su uklonjeni zbog preglednosti slike. Neoznačeni delovi dimernog molekula generisani su simetrijskom operacijom (a):  $-x, -y, -z + 1$ .

**Tabela 16.** Odabrane dužine i uglovi veza u kompleksu **3**.

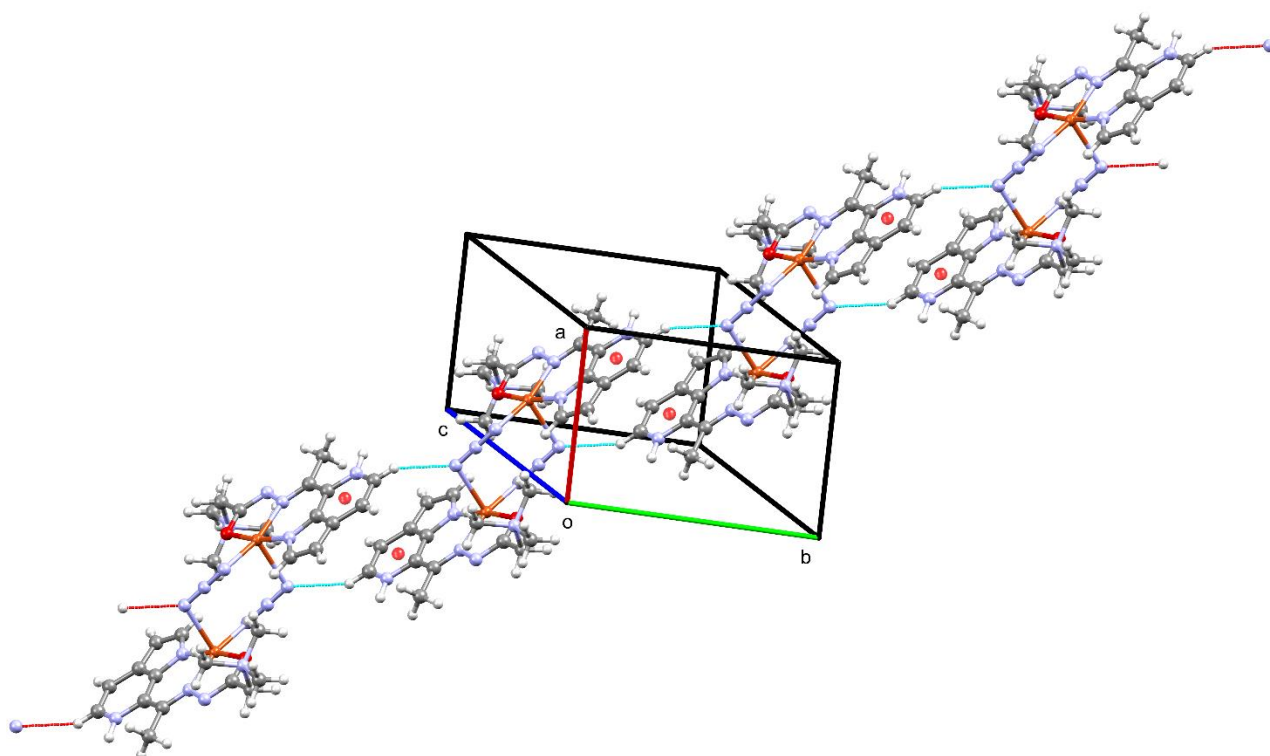
Tip veze	Dužine veza [Å]	Tip veze	Uglovi veza [°]
Cu1–O1	1,930(3)	O1–Cu1–N6	92,72(13)
Cu1–N1	1,972(3)	O1–Cu1–N1	170,34(13)
Cu1–N3	1,975(3)	N6–Cu1–N1	93,99(14)
Cu1–N6	1,957(3)	O1–Cu1–N3	82,34(13)
Cu1–N8 <sup>a</sup>	2,426(4)	N6–Cu1–N3	167,13(14)
N3–C8	1,297(5)	N1–Cu1–N3	89,64(14)
N3–N4	1,391(5)	O1–Cu1–N8 <sup>a</sup>	91,62(14)
N4–C10	1,301(5)	N6–Cu1–N8 <sup>a</sup>	95,51(14)
O1–C10	1,287(5)	N1–Cu1–N8 <sup>a</sup>	94,65(14)
N6–N7	1,188(5)	N3–Cu1–N8 <sup>a</sup>	96,49(14)
N7–N8	1,157(5)		

Simetrijska operacija: (a)  $-x, -y, -z + 1$

Koordinaciono okruženje oko Cu(II) jona se opisuje kao aksijalno izdužena kvadratna piramida sa indeksom trigonalnosti ( $\tau_5$ ) = 0,05. Parametar  $\tau_5$  se računa po jednačini (3) i može imati vrednosti od 0 za geometriju kvadratne piramide, do 1,00 za regularnu trigonalno-bipiramidalnu geometriju:

$$\tau_5 = \frac{(\beta - \alpha)}{60} \quad \text{Jednačina (3)}$$

pri čemu su  $\alpha$  i  $\beta$  dva najveća ugla oko centralnog metalnog jona. Konkretno, u kompleksu **3**, dužine četiri veze u bazalnoj ravni kvadratne piramide iznose: za Cu1–N1 1,972(3) Å, za Cu1–N3 1,975(3) Å, za Cu1–O1 1,930(3) Å i za Cu1–N6 1,957(3) Å, dok dužina apikalne veze Cu1–N8<sup>a</sup> iznosi 2,426(4) Å. Mostni azidni ligandi su na asimetrični (bazalno-apikalni) način vezani za centralne metalne jone, tako da se bazalne i apikalne Cu–N veze znatno razlikuju u dužinama. Tridentatna NNO koordinacija za Cu(II), koja potiče od liganda **HL<sup>2</sup>Cl**, formira jedan šestočlani helatni prsten (Cu–N–C–C–C–N) i jedan petočlani helatni prsten (Cu–N–N–C–O) sa zajedničkom Cu1–N3 vezom. Ovi helatni prstenovi nisu koplanarni, na šta ukazuje diedarski ugao od 3,8 Å između ravni prstenova. Kao što je pomenuto kod dužina veza u bazalnoj ravni kvadratne piramide ovog kompleksa, dužina Cu1–N1 veze, koju centralni metalni jon gradi sa N atomom iz aromatičnog prstena liganda **HL<sup>2</sup>Cl**, iznosi 1,972(3) Å i slična je dužini Cu1–N3 veze, koju bakar(II) formira sa N atomom iz imino- grupe liganda **HL<sup>2</sup>Cl**, a koja iznosi 1,975(3) Å. U drugim Cu(II) kompleksima sa NNO donorskim hidrazonskim ligandima, gde ostvarivanjem veze sa centralnim metalnim jonom nastaju dva petočlana helatna prstena, veze između bakra(II) i aromatičnog azota (Cu–N<sub>Ar</sub>) duže su nego veze između bakra(II) i iminskog azota (Cu–N<sub>imin</sub>) [179,180].



**Slika 19.** Kristalno pakovanje kompleksa **3** u kome su prikazane C–H...N vodonične interakcije, kao i  $\pi\cdots\pi$  steking interakcije između obeleženih centroida, koje se prostiru duž [110] pravca.

Kompleksni katjoni formiraju slojevitú strukturu prikazanu na **Slici 19**, zahvaljujući intermolekulskim C5–H5...N8 vodoničnim interakcijama, kao i  $\pi\cdots\pi$  steking interakcijama koje se prostiru duž pravca [110]. Rastojanje između centroida dva heteroaromatična prstena (N2–C5–C4–C3–C7–C6) koji ostvaruju ove  $\pi\cdots\pi$  steking interakcije iznosi 3,460 Å, pri čemu diedarski ugao između ravni koje sadrže ove prstenove iznosi 0,0 °. Pored ovih interakcija, između kompleksnih katjona i jona  $\text{BF}_4^-$  ostvaruju se N–H...F i C–H...F vodonične interakcije koje dodatno stabilizuju kristalno pakovanje. Parametri svih navedenih vodoničnih interakcija prikazani su u **Tabeli 17**.

**Tabela 17.** Vodonične interakcije zadužene za formiranje kristalnog pakovanja kompleksa **3**.

D–H...A	D–H [Å]	H...A [Å]	D...A [Å]	D–H...A [°]
N2–H2N...F3	0,925	2,484	3,390	166,27
C4–H4...F4A	0,930	2,385	3,247	154,25
C5–H5...N8	0,930	2,522	3,369	151,47
C11–H11A...F2	0,970	2,478	3,350	149,45
C11–H11B...F2	0,970	2,374	3,313	162,86
C14–H14A...F1	0,960	2,547	3,459	158,67
C14–H14A...F4A	0,960	2,485	3,182	129,44

Pretragom Kembričke kristalografske baze podataka, koja je obuhvatala dinuklearne Cu(II) komplekse sa mostnim azidnim ligandima i hidrazonskim NNO- donorskim ligandima, pronađeno je 12 kristalnih struktura sa dvostrukim „end-on“ ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ ) načinom koordinacije mostnih azidnih liganada [18–20,181–189]. Primenjenim parametrima pretrage ustanovljeno je da ne postoje slični kompleksi koji sadrže dvostruki „end-to-end“ ( $\text{di-}\mu_{-1,3}\text{-N}_3$ ) koordinacioni način vezivanja mostnih azidnih liganada, kakav postoji u kompleksu **3**. Rezultati pretrage kristalografske baze podataka prikazani su u **Tabeli 18**.

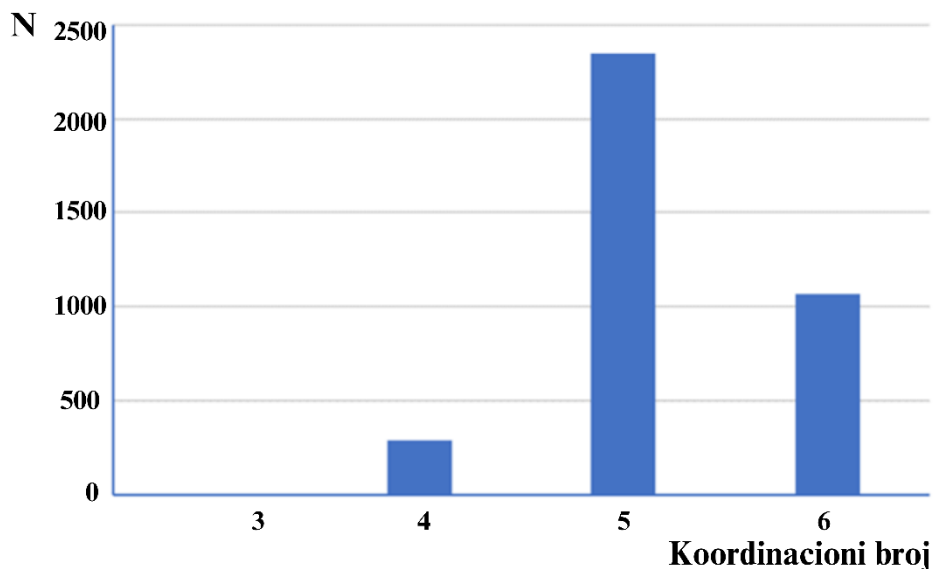
**Tabela 18.** Dinuklearni Cu(II) kompleksi sa azidnim mostnim ligandima i hidrazonskim NNO-donorskim ligandima.

CCDC brojevi kompleksa	Način vezivanja mostnih azidnih liganada	Broj atoma u helatnim Cu(II)-ligand prstenovima	Reference
978363	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[19]
843830	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[20]
615282	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[181]
704271	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[182]
649737	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[183]
1920797	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[184]
1886535	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[185]
902698	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[186]
1569840	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[187]
797642	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[188]
1945216	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[18]
1983984	dvostruki EO ( $\text{di-}\mu_{-1,1}\text{-N}_3$ )	5-5	[189]
2271001 <sup>a</sup>	dvostruki EE ( $\text{di-}\mu_{-1,3}\text{-N}_3$ )	6-5	[190]

<sup>a</sup>Ovaj CCDC broj pripada kompleksu **3**.

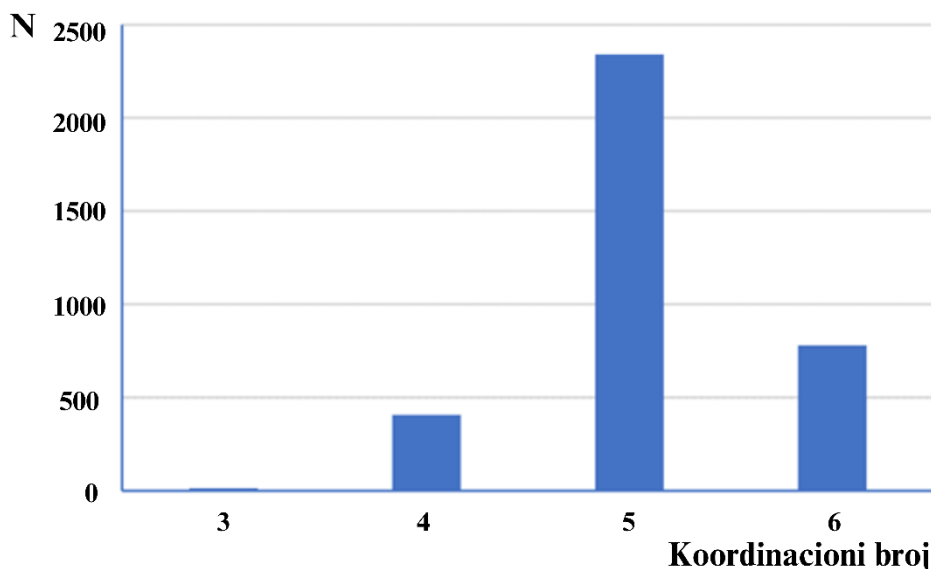
### 4.3. Pretraga Kembričke kristalografske baze podataka

Pretragom Kembričke kristalografske baze podataka uz korišćenje datih kriterijuma pronađena je 761 kristalna struktura bipiridinskih kompleksa sa ukupno 3704 fragmenata koji odgovaraju uslovima pretrage. Sa druge strane, u slučaju fenantrolinskih kompleksa pronađeno je 809 struktura sa ukupno 3536 fragmenata. Histogram zavisnosti broja struktura bipiridinskih kompleksa od koordinacionog broja bakra prikazan je na **Slici 20**.



**Slika 20.** Histogram zavisnosti broja struktura od koordinacionog broja bakra u bipiridinskim kompleksima.

Analiza pokazuje da je u najvećem broju pronađenih fragmenata bipiridinskih kompleksa koordinacioni broj bakra pet (2350 fragmenata), zatim šest (1066 fragmenata), četiri (285 fragmenata), dok je u najmanjem broju slučajeva koordinacioni broj bakra tri (3 fragmenta). Slična raspodela može se primetiti i u slučaju fenantrolinskih kompleksa bakra (**Slika 21**).

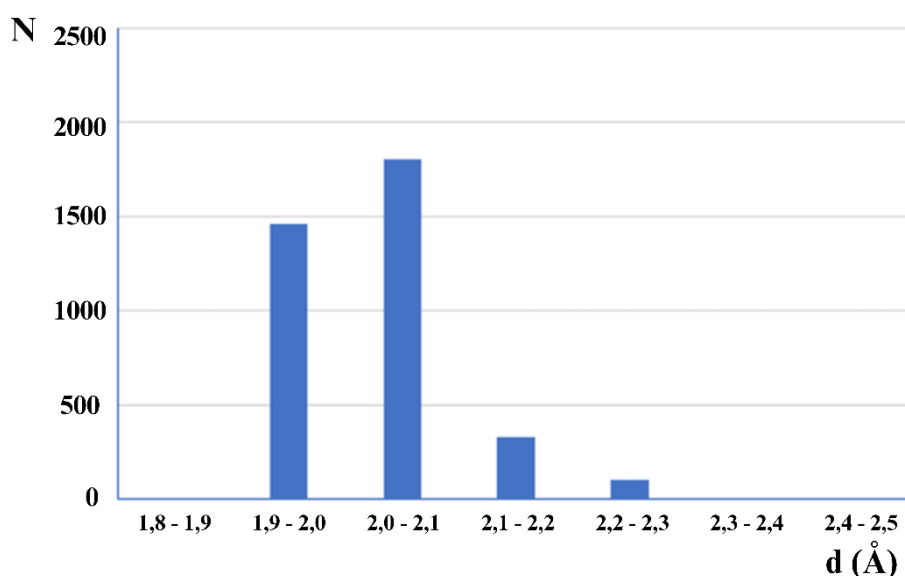


**Slika 21.** Histogram zavisnosti broja struktura od koordinacionog broja bakra u fenantrolinskim kompleksima.

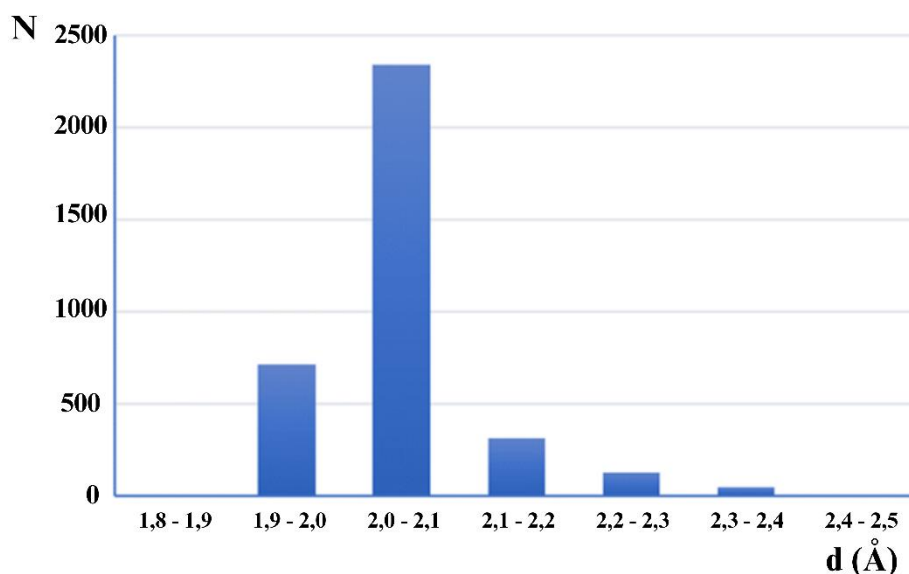
Analiza pokazuje da je u najvećem broju pronađenih fragmenata fenantrolinskih kompleksa koordinacioni broj bakra pet (2340 fragmenata), zatim šest (781 fragmenata), koordinacioni broj četiri je primećen u 405 fragmenata dok je u najmanjem broju slučajeva koordinacioni broj bakra tri (10 fragmenata).

Geometrijski parametri preuzeti iz kristalnih struktura analizirani su i korišćeni za proučavanje dužine veza između centralnog jona metala i donorskog atoma iz liganada (Cu–N veza). Rezultati su pokazali da prosečna dužina Cu–N veze u bipiridinskim kompleksima bakra iznosi 2,027 Å, dok prosečna dužina Cu–N veze u fenantrolinskim kompleksima bakra iznosi 2,043 Å. Raspodela broja fragmenata u zavisnosti od dužina Cu–N veze data je na **Slici 22.** za bipiridinske komplekse, odnosno na **Slici 23.** za fenantrolinske komplekse.

Analiza raspodele dužina Cu–N veza kod bipiridinskih kompleksa pokazuje da se u najvećem broju fragmenata dužine Cu–N veza nalaze u intervalu od 2,0 do 2,1 Å, uz veliki broj dužina veza u rastojanju od 1,9 do 2,0 Å. Upravo u ovom opsegu nalaze se i dužine Cu–N veza u kompleksu 1 – za Cu1–N1 vezu dužina iznosi 1,987 Å, dok za Cu1–N2 vezu dužina je 1,981 Å.



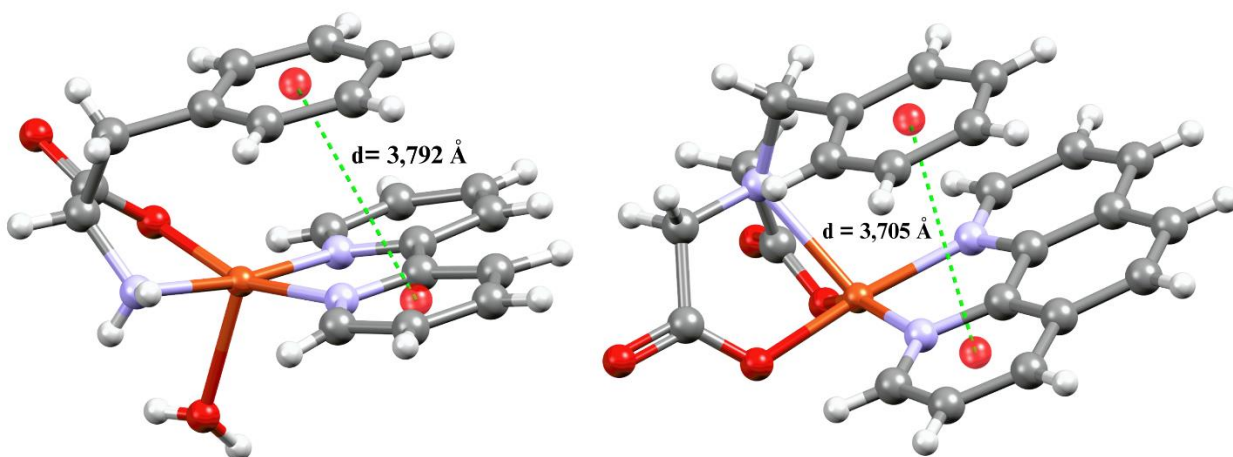
**Slika 22.** Histogram zavisnosti broja struktura od dužine Cu–N veze u bipiridinskim kompleksima.



**Slika 23.** Histogram zavisnosti broja struktura od dužine Cu–N veze u fenantrolinskim kompleksima.

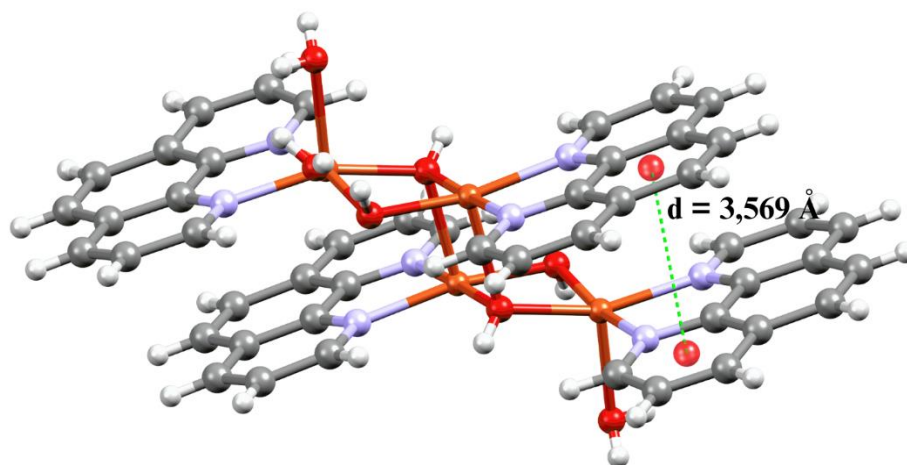
U slučaju fenantrolinskih kompleksa, analiza raspodele dužina Cu–N veza pokazuje da se u najvećem broju fragmenata dužine Cu–N veza nalaze u intervalu od 2,0 do 2,1 Å. Može se reći da je ovo donekle u skladu sa dužinama Cu–N veza u kompleksu 2, s obzirom na to da vrednosti za dužinu ovih veza iznose 2,004 Å za Cu1–N1 vezu, odnosno 1,993 Å za Cu1–N2 vezu.

Vizuelna analiza kristalnih struktura izdvojenih biperidinskih i fenantrolinskih kompleksa bakra pokazala je da nekovalentne interakcije liganada imaju značajnu ulogu u definisanju trodimenzionalne strukture navedenih kompleksa. Biperidinski, kao i fenantrolinski ligandi mogu da stupaju u  $\pi \cdots \pi$  steking interakcije sa drugim aromatičnim fragmentima u kristalnim strukturama (Slika 24).



**Slika 24.** Primer steking interakcija koji uključuju biperidinski ligand u strukturi YEQQUG01 (levo) i steking interakcija koje uključuju fenantrolinski ligand u strukturi TUCQUF (desno).

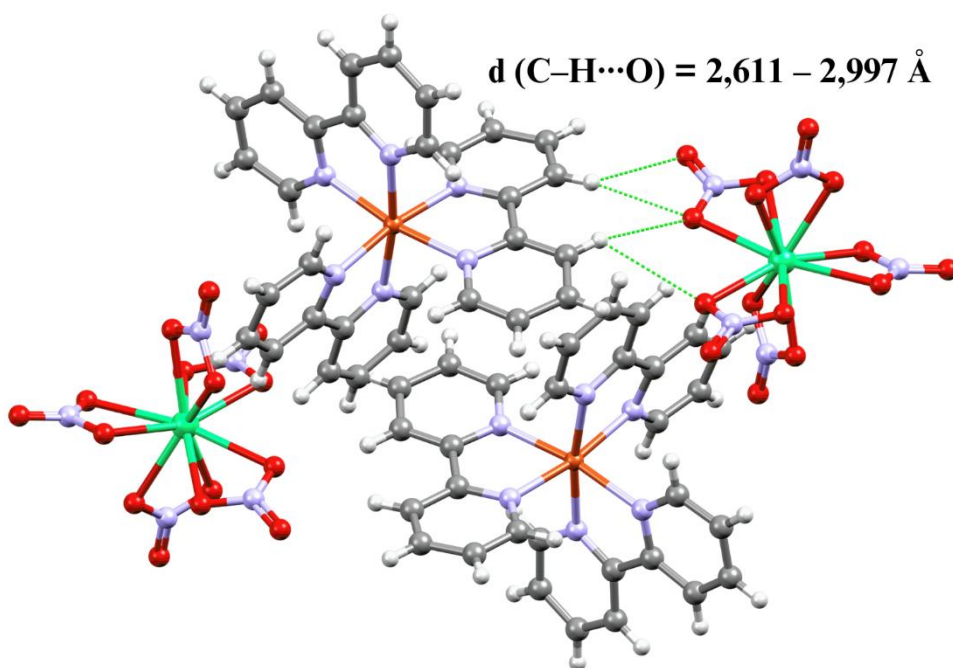
Međutim, aromatični sistem fenantrolinskih liganada uključuje tri kondenzovana prstena, dok u biperidinskim ligandima postoji samo dva aromatična prstena, tako da su površine koje učestvuju u steking interakcijama fenantrolinskih liganada veće. Ovo je posebno izraženo kod dinuklearnih kompleksa sa fenantrolinskim ligandima (Slika 25).



**Slika 25.** Steking interakcije između fenantrolinskih liganada u kristalnoj strukturi CADCUG.

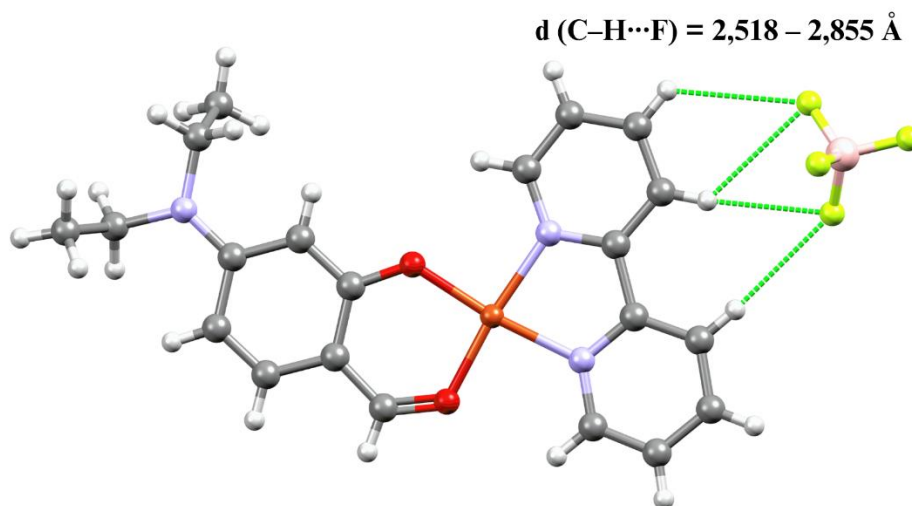
Analiza kristalnih struktura pokazuje da su C–H grupe biperidinskih liganada često uključene u bifurkovane C–H $\cdots$ O interakcije sa atomima kiseonika koji su deo voluminoznih grupa ili molekula i koji ometaju uspostavljanje dodatnih  $\pi \cdots \pi$  steking interakcija (Slika 26).





**Slika 26.** Prikaz C–H···O interakcija između C–H grupa bipiridinskih liganda i kiseonika iz koordinovane –NO<sub>3</sub> grupe u kristalnoj strukturi IYUJEU. Dužine označenih C–H···O interakcija su u intervalu od 2,611 do 2,997 Å.

U slučaju kompleksa **1** interakcije ovog tipa su takođe prisutne, ali u vidu četiri C–H···F interakcije koje bipiridinski vodonikovi atomi ostvaruju sa fluorovim atomima BF<sub>4</sub><sup>–</sup> jona, a dužine ovih veza u rasponu su od 2,518 do 2,855 Å (**Slika 27**). Ove interakcije zadužene su za formiranje 1D lanca duž pravca [11 $\bar{1}$ ] u kristalnoj strukturi kompleksa **1** (**Slika 15**).



**Slika 27.** Prikaz C–H···F interakcija između C–H grupa bipiridinskog liganda i fluorovih atoma iz BF<sub>4</sub><sup>–</sup> jona u kristalnoj strukturi kompleksa **1**. Dužine označenih C–H···F interakcija su u intervalu od 2,518 do 2,855 Å.



## 4.4. Biološka aktivnost

### 4.4.1. Antimikrobna aktivnost

Antibakterijska aktivnost kompleksa **1**, **2** i **3**, kao i njihovih prekursorskih jedinjenja, ispitivana je određivanjem MIC vrednosti na četiri soja Gram-pozitivnih i četiri soja Gram-negativnih bakterija. Vrednosti dobijene ispitivanjem antibakterijske aktivnosti date su u **Tabeli 19**.

Na osnovu prikupljenih podataka primećuje se da početna so bakra(II),  $\text{Cu}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , kao i ligandi 2,2'-bipiridin i **HL**<sup>1</sup> generalno pokazuju slabu aktivnost prema svim ispitivanim sojevima bakterija, ali njihovom koordinacijom antibakterijska aktivnost finalnih proizvoda, tj. kompleksa **1** i **2**, znatno se povećava. Posmatranjem antibakterijskih aktivnosti  $\alpha$ -diiminskih liganada uočava se ne samo da oba pokazuju značajno veću aktivnost u odnosu na ligand **HL**<sup>1</sup>, već i da je 1,10-fenantrolin znatno aktivniji prema svim ispitivanim sojevima bakterija u odnosu na 2,2'-bipiridin, a odnos njihovih MIC vrednosti se kreće u rasponu 4 – 18,3 (najmanji je za *S. aureus*, dok je najveći odnos za *C. sporogenes*, *S. enterica* i *P. aeruginosa*). U skladu sa tim, i antibakterijska aktivnost kompleksa **2** znatno je veća u odnosu na kompleks **1** (3,8 – 7,6 puta), i može se porediti sa aktivnošću kontrolnog antibiotika amikacina. Kada se porede MIC vrednosti kompleksa **1** i **2** sa njihovim odgovarajućim  $\alpha$ -diiminskim ligandima dolazi se do zaključka da oba kompleksa ispoljavaju veću antibakterijsku aktivnost u odnosu na adekvatne  $\alpha$ -diiminske ligande, osim u slučaju *S. aureus*. Kao što je već objašnjeno u *Poglavlju 2.2*, antibakterijska aktivnost prekursorskih jedinjenja može se povećati njihovom koordinacijom za metale i formiranjem odgovarajućih kompleksa, što se objašnjava helatnom teorijom [98,99].

Upoređivanjem MIC vrednosti za ligand **HL**<sup>2</sup>**Cl** i kompleks **3** uočava se da je kompleks **3** od 1,5 do 3 puta aktivniji od prekursorskog liganda, osim u slučaju *P. hauseri* i *S. enterica* gde **HL**<sup>2</sup>**Cl** pokazuje 1,3 puta veću aktivnost u odnosu na kompleks **3**. Oba ispitivana jedinjenja pokazuju nižu antibakterijsku aktivnost u odnosu na eritromicin koji je u ovom slučaju korišćen kao standard.

**Tabela 19.** Antibakterijska aktivnost ispitivanih jedinjenja (MIC izražena u mM).

Bakterija	Cu(BF <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	bipy	phen	HL <sup>1</sup>	1	2	Standard <sup>a</sup>	HL <sup>2</sup> Cl	3	Standard <sup>b</sup>
<i>E. coli</i>	1,81	0,506	0,056	3,23	0,144	0,019	0,008	1,011	0,671	0,038
<i>P. hauseri</i>	3,62	8,00	0,871	6,47	0,286	0,076	0,012	1,011	1,342	0,038
<i>P. aeruginosa</i>	3,62	8,00	0,438	6,47	0,571	0,151	0,085	1,011	0,671	0,076
<i>S. enterica</i>	3,62	8,00	0,438	6,47	0,571	0,076	0,014	0,505	0,671	0,038
<i>S. aureus</i>	3,62	0,256	0,056	6,47	0,286	0,076	0,019	2,022	0,671	0,076
<i>B. subtilis</i>	3,62	8,00	0,871	6,47	0,571	0,076	0,071	1,011	0,671	0,076
<i>K. rhizophila</i>	3,62	1,00	0,056	6,47	0,286	0,038	0,003	2,022	1,342	0,076
<i>C. sporogenes</i>	3,62	8,00	0,438	6,47	0,571	0,151	0,026	1,011	0,671	0,076

<sup>a</sup>Standard koji je korišćen prilikom ispitivanja antibakterijske aktivnosti kompleksa **1** i **2** je bio amikacin.

<sup>b</sup>Standard koji je korišćen prilikom ispitivanja antibakterijske aktivnosti kompleksa **3** bio je eritromicin.

Antifungalna aktivnost svih ispitivanih supstanci prikazana je u **Tabeli 20**. Poređenjem antifungalne aktivnosti kompleksa **1** i **2** i njihovih prekursora sa jedne strane, i flukonazola koji je korišćen kao standard sa druge strane, uočava se da kompleksi **1** i **2** pokazuju veću ili približno sličnu antifungalnu aktivnost u poređenju sa standardom, ali i da sami  $\alpha$ -diiminski ligandi pokazuju izvanredno dobru antifungalnu aktivnost, bolju ne samo od kompleksa **1** i **2**, već i od flukonazola.

**Tabela 20.** Antifungalna aktivnost ispitivanih jedinjenja (MIC izražena u mM).

Ispitivana supstanca	<i>A. brasiliensis</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>
Cu(BF <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1,81	3,62	3,62
<b>bipy</b>	0,506	0,256	0,256
<b>phen</b>	0,111	0,028	0,028
<b>HL<sup>1</sup></b>	1,62	1,62	1,62
<b>1</b>	1,14	1,14	1,14
<b>2</b>	0,598	0,598	1,19
Standard <sup>a</sup>	2,044	1,022	1,022
<b>HL<sup>2</sup>Cl</b>	4,044	2,022	4,044
<b>3</b>	0,356	0,084	0,168
Standard <sup>b</sup>	0,044	0,011	0,022

<sup>a</sup>Standard koji je korišćen prilikom ispitivanja antifungalne aktivnosti kompleksa **1** i **2** je bio flukonazol.

<sup>b</sup>Standard koji je korišćen prilikom ispitivanja antifungalne aktivnosti kompleksa **3** bio je amfotericin B.

Antifungalna aktivnost kompleksa **3** znatno je veća, od 11,3 do 24 puta, u odnosu na njegov prekursorski ligand **HL<sup>2</sup>Cl**, pri čemu je u slučaju *S. cerevisiae* antifungalna aktivnost kompleksa reda veličine aktivnosti amfotericina B koji je korišćen kao standard.

#### 4.4.2. Test toksičnosti na račićima *Artemia salina*

Test na račićima je odlično sredstvo za predikciju toksičnog potencijala biološki aktivnih jedinjenja, a rezultati ovog testa mogu se ekstrapolirati na citotoksičnost na humanim ćelijama [191,192]. Sva tri kompleksa, kao i njihovi prekursorski ligandi, pokazuju umerenu toksičnost prema larvama račića *Artemia salina*, od kojih ligand **HL<sup>2</sup>Cl** i kompleks **2** pokazuju najvišu toksičnost, sa najnižim vrednostima IC<sub>50</sub>. Sa druge strane, polazna so bakra, 2,2'-bipiridin i 1,10-fenantrolin pokazuju nisku toksičnost prema račićima, sa visokim IC<sub>50</sub> vrednostima. Rezultati testa na račićima prikazani su u **Tabeli 21**.

**Tabela 21.** Rezultati testa na račićima.

Ispitivana supstanca	IC <sub>50</sub> (mM)
Cu(BF <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1,29 ± 0,11
<b>bipy</b>	2,16 ± 0,19
<b>phen</b>	1,07 ± 0,08
<b>HL<sup>1</sup></b>	0,46 ± 0,05
<b>HL<sup>2</sup>Cl</b>	0,24 ± 0,09
<b>1</b>	0,57 ± 0,07
<b>2</b>	0,42 ± 0,03
<b>3</b>	0,61 ± 0,05
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0,08 ± 0,02

#### 4.4.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti (DPPH test)

Antioksidativna aktivnost ispitivanih jedinjenja određena je DPPH testom. Dobijeni rezultati, prikazani u **Tabeli 22**, ukazuju na to da polazna so bakra i prekursori ligandi imaju visoke vrednosti  $IC_{50}$ , te stoga ne pokazuju značajnu mogućnost neutralisanja 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. Sa druge strane, kompleksi **1** i **3** pokazuju umerenu antioksidativnu aktivnost, dok kompleks **2**, sa najnižom vrednošću  $IC_{50}$ , ima antioksidativnu aktivnost koja je svega četiri puta slabija od aktivnosti askorbinske kiseline koja je korišćena kao standard.

**Tabela 22.** Rezultati DPPH testa.

Ispitivana supstanca	$IC_{50}$ (mM)
$Cu(BF_4)_2 \cdot 6H_2O$	>9,65
<b>bipy</b>	>21,3
<b>phen</b>	>15,4
<b>HL<sup>1</sup></b>	>17,2
<b>HL<sup>2</sup>Cl</b>	$7,834 \pm 0,126$
<b>1</b>	$2,179 \pm 0,691$
<b>2</b>	$0,339 \pm 0,011$
<b>3</b>	$1,450 \pm 0,036$
Askorbinska kiselina	$0,079 \pm 0,003$

#### 4.4.4. Citotoksičnost kompleksa 1 i 2

Intenziteti citotoksične aktivnosti kompleksa **1** i **2**, kao i njihovih prekursorskih jedinjenja, prema ćelijama kancera i normalnim humanim ćelijama keratinocita prikazani su u **Tabeli 23**.

Kompleks **2** pokazao je izuzetno visoku citotoksičnu aktivnost prema svim malignim ćelijama kancera, sa najvišom aktivnošću prema ćelijama adenokarcinoma cerviksa HeLa i ćelijama melanoma A375 ( $IC_{50}$  vrednosti iznose  $1,6 \mu\text{M}$  i  $1,7 \mu\text{M}$ , respektivno). Citotoksična aktivnost ovog kompleksa bakra(II) prema preostale tri ispitane maligne ćelijske linije nešto je niža, sa  $IC_{50}$  vrednostima u rasponu od  $2,0 \mu\text{M}$  do  $2,9 \mu\text{M}$ . Poređenjem vrednosti inhibitornih koncentracija kompleksa **2** sa *cisplatinom*, koji je korišćen kao standard, ustanovljeno je da su  $IC_{50}$  vrednosti za kompleks **2** niže kod svih ispitivanih ćelijskih kultura, te da ovaj kompleks pokazuje citotoksičnu aktivnost koja je veća od *cisplatina*, i to u rasponu od 1,47 puta prema ćelijskim linijama A375 do 8,29 puta prema MCF-7 ćelijskim linijama. Posmatranjem citotoksične aktivnosti jedinjenja prema normalnim humanim ćelijama keratinocita HaCaT, uočava se da kompleks **2** ima 1,34 puta veću citotoksičnu aktivnost u odnosu na *cisplatin*.

Za razliku od dinuklearnog kompleksa bakra(II), mononuklearni kompleks **1** pokazuje nižu citotoksičnu aktivnost od standardnog leka koja je u rasponu od  $20 \mu\text{M}$  do  $35 \mu\text{M}$ . Vrednosti inhibitornih koncentracija kompleksa **1** više su od  $IC_{50}$  vrednosti *cisplatina* od 1,94 puta prema MCF-7 ćelijskim linijama, do 8 puta prema A375 ćelijskim linijama. U odnosu na citotoksičnu aktivnost *cisplatina* prema normalnim humanim ćelijama keratinocita HaCaT, aktivnost kompleksa **1** je 12,27 puta slabija.

Posmatranjem vrednosti inhibitornih koncentracija svih ispitivanih jedinjenja prikazanih u **Tabeli 23**, jasno se uočava da su oba testirana kompleksa pokazala značajno veću citotoksičnu aktivnost prema svim ispitivanim ćelijama u odnosu na aktivnost svojih prekursorskih jedinjenja. Ligandi 4-(dietilamino)salicilaldehid i 2,2'-bipiridin imaju prilično visoke vrednosti inhibitornih koncentracija koje se kreću u opsegu od  $75 \mu\text{M}$  do preko  $200 \mu\text{M}$  za **HL<sup>1</sup>**, odnosno od  $41 \mu\text{M}$  do preko  $200 \mu\text{M}$  za **bipy**. Što se tiče 1,10-fenantrolina, njegove  $IC_{50}$  vrednosti su same po sebi niske i kreću se u opsegu od  $11 \mu\text{M}$  do  $14 \mu\text{M}$  prema ćelijskim linijama A375, PC-3, HeLa i A549, dok je vrednost inhibitorne koncentracije prema ćelijama adenokarcinoma dojke (MCF-7) nešto viša i iznosi  $54 \mu\text{M}$ . Podaci o citotoksičnim aktivnostima prekursorskih liganada **bipy** i **phen** mogu pomoći u razumevanju činjenice da je citotoksična aktivnost kompleksa **1**, koji sadrži 2,2'-bipiridin kao ligand, niža od citotoksične aktivnosti kompleksa **2**, koji ima dva molekula 1,10-fenantrolina u svojoj strukturi. Ipak, treba imati u vidu da citotoksičnost kompleksnih jedinjenja ne može biti posledica samo i isključivo toksičnosti njihovih prekursorskih jedinjenja.

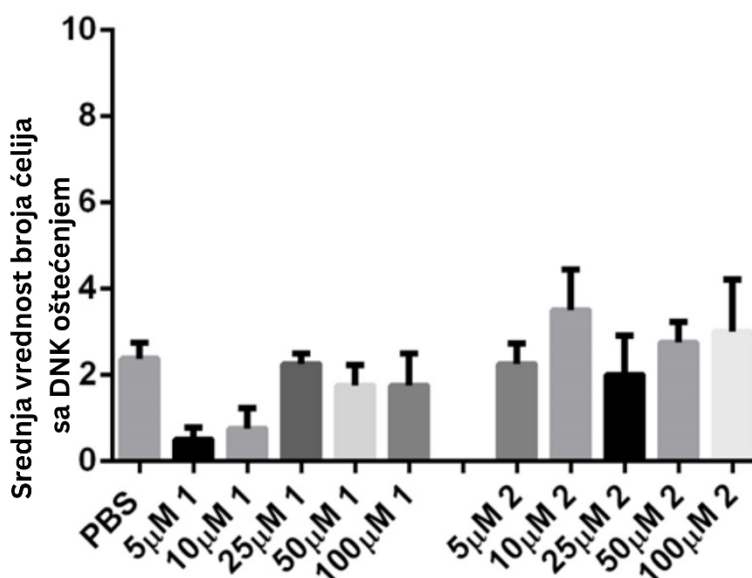
**Tabela 23.** Citotoksična aktivnost kompleksa **1** i **2**, i njihovih prekursora.

Ispitivana supstanca	HeLa	A375	PC-3	MCF-7	A549	HaCaT
	IC50 [ $\mu$ M] srednja vrednosti $\pm$ SD					
Cu(BF <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	12 $\pm$ 8	111 $\pm$ 3	97 $\pm$ 5	99 $\pm$ 7	159 $\pm$ 5	92 $\pm$ 2
<b>bipy</b>	98 $\pm$ 6	47 $\pm$ 2	85 $\pm$ 4	>200	187 $\pm$ 4	41 $\pm$ 1
<b>phen</b> ·HCl	11,9 $\pm$ 0,7	11 $\pm$ 1	11,3 $\pm$ 0,4	54 $\pm$ 5	14 $\pm$ 1	7,4 $\pm$ 0,2
<b>HL</b> <sup>1</sup>	75 $\pm$ 2	109 $\pm$ 9	199 $\pm$ 2	>200	138 $\pm$ 5	189 $\pm$ 18
<b>1</b>	20 $\pm$ 2	20 $\pm$ 3	29 $\pm$ 3	35 $\pm$ 2	35 $\pm$ 3	27 $\pm$ 1
<b>2</b>	1,6 $\pm$ 0,3	1,7 $\pm$ 0,1	2,0 $\pm$ 0,4	2,17 $\pm$ 0,05	2,9 $\pm$ 0,9	1,64 $\pm$ 0,01
<i>cisplatin</i>	4,0 $\pm$ 0,5	2,5 $\pm$ 0,3	13 $\pm$ 2	18 $\pm$ 3	13 $\pm$ 1	2,2 $\pm$ 0,2

#### 4.4.5. Ispitivanje genotoksičnosti i antigenotoksičnosti kompleksa **1** i **2**

##### 4.4.5.1. Procena genotoksičnog potencijala kompleksa **1** i **2**

Rezultati ispitivanja pokazuju da kompleksi **1** i **2** nisu doveli do značajnog porasta u oštećenju DNK ni u jednom opsegu koncentracija (**Slika 28**). Štaviše, kompleks **1** je pokazao manji stepen DNK oštećenja u odnosu na kontrolne ćelije tretirane PBS-om. Na osnovu datih rezultata može se zaključiti da ni kompleks **1** ni kompleks **2** ne ispoljavaju genotoksične efekte na ćelije cele krvi nakon inkubacije u trajanju od 30 min.

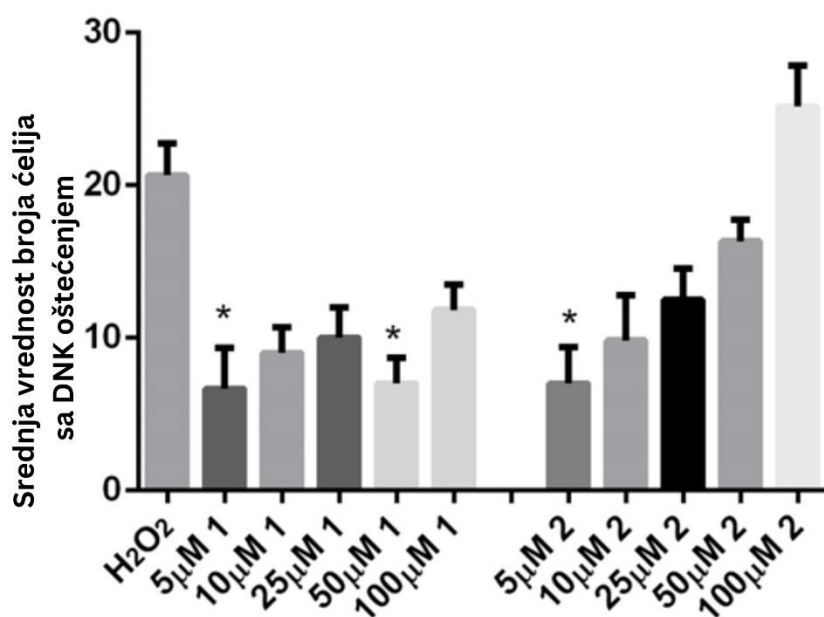


**Slika 28.** Procena genotoksičnog efekta kompleksa **1** i **2** za pet ispitivanih koncentracija, nakon inkubacije na 37 °C u trajanju od 30 min. Stubici predstavljaju srednju vrednost broja ćelija sa DNK oštećenjem  $\pm$  SEM. Statistička analiza rađena je primenom jednofaktorijalnog ANOVA testa sa Tukey-ovim *post-hoc* testom.

#### 4.4.5.2. Procena antigenotoksičnog potencijala kompleksa 1 i 2

DNK oštećenja indukovana su vodonik-peroksidom, a ćelije su potom izlagane odvojeno kompleksu **1** i **2** u različitim koncentracijama kako bi se odredio antigenotoksični efekat kompleksa **1** i **2** u humanim perifernim ćelijama krvi. Rezultati prikazani na **Slici 30**. ukazuju na to da se DNK oštećenja indukovana vodonik-peroksidom smanjuju u posttretmanu sa svim testiranim koncentracijama kompleksa **1**. Tretmani sa 5  $\mu\text{M}$  i 50  $\mu\text{M}$  koncentracijama kompleksa **1** pokazali su statistički značajan antigenotoksični efekat u odnosu kontrolu (ćelije tretirane vodonik-peroksidom). Rezultati dobijeni post-tretmanom sa različitim koncentracijama kompleksa **2** pokazuju dozno zavistan antigenotoksični efekat, gde je najniža koncentracija od 5  $\mu\text{M}$  pokazala statističku značajnost.

Može se zaključiti da su oba ispitivana jedinjenja pokazala antigenotoksični efekat u post-tretmanu nakon indukovanja DNK oštećenja vodonik-peroksidom. Rezultati prikazani na **Slici 29**. u saglasnosti su sa literaturnim podacima koji ukazuju na to da su kompleksi bakra(II) sa Šifovim bazama efikasni u sprečavanju DNK oštećenja [25]. Koncentracijski zavistan antigenotoksični efekat uočen kod kompleksa **2** takođe je u skladu sa prethodnim istraživanjima koja navode da je pri visokim koncentracijama Cu(II) kompleksa sa Šifovim bazama njihov zaštitni efekat umeren, dok je pri nižim koncentracijama ovih kompleksa njihov antigenotoksični efekat izraženiji [25]. Sa druge strane, porast DNK oštećenja pri većim koncentracijama kompleksa **2** može se objasniti činjenicom da jon Cu(II) u prisustvu velike količine 1,10-fenantrolina, redukujućeg agensa i  $\text{H}_2\text{O}_2$  uzrokuje oštećenje azotnih baza molekula DNK kao i kidanje lanca DNK [193]. Ovi rezultati ukazuju na značaj odabira adekvatnih koncentracija ispitivanih kompleksa u slučaju primene, s obzirom na činjenicu da se pojedine supstance u određenim koncentracijama mogu ponašati kao antioksidansi, dok u drugim koncentracijama mogu imati nepovoljna pro-oksidativna svojstva [194].



**Slika 29.** Procena antigenotoksičnog efekta kompleksa **1** i **2** na ćelije sa DNK oštećenjima indukovanim vodonik-peroksidom u post-tretmanu. Stubići predstavljaju srednju vrednost broja ćelija sa DNK oštećenjem  $\pm$  SEM. Rezultati označeni zvezdicom predstavljaju statistički značajnu razliku ( $*P < 0,05$ ) u odnosu na kontrolnu probu (ćelije tretirane samo sa  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Statistička analiza rađena je primenom jednofaktorijalnog ANOVA testa sa Tukey-ovim *post-hoc* testom.



## 5. Zaključak

Sintetisana su i detaljno strukturno okarakterisana tri nova kompleksna jedinjenja Cu(II). Elementalnom analizom potvrđeni su stehiometrijski sastav i čistoća jedinjenja, IC spektroskopijom je ustanovljen način koordinacije liganada za centralne jone metala, dok je finalna struktura dobijenih jedinjenja određena primenom rendgenske strukturne analize na monokristale sintetisanih kompleksa. Ligandi koji su korišćeni u sintezama su 4-(dietilamino)salicilaldehid (**HL**<sup>1</sup>) i diiminski ligandi: 2,2'-bipiridin, 1,10-fenantrolin i (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminijum-hlorid (**HL**<sup>2</sup>Cl).

Iako su kompleksi **1** i **2** sintetisani u istim reakcionim uslovima, sa istim molskim odnosom supstanci u reakcijama i strukturno sličnim  $\alpha$ -diiminskim ligandima, 2,2'-bipiridinom u slučaju kompleksa **1**, odnosno 1,10-fenantrolinom u slučaju kompleksa **2**, dobijena su jedinjenja različite nuklearnosti – mononuklearni kompleks **1** i dinuklearni kompleks **2**. Pretpostavka je da u slučaju dinuklearnog kompleksa **2** dodatni aromatični prsten u 1,10-fenantrolinu jedne asimetrične jedinice ostvaruje steking interakcije sa aromatičnim prstenom deprotonovanog liganda **L**<sup>1</sup> iz druge asimetrične jedinice, što dovodi do njihovog zbližavanja i utiče na olakšano formiranje koordinativne veze između jona Cu(II) i ovog pomenutog deprotonovanog liganda **L**<sup>1</sup>, i za posledicu ima stvaranje dinuklearnog kompleksa.

Iskrivljenu kvadratno-planarnu geometriju oko centralnog jona Cu(II) u kompleksu **1** čine fenolatni i karbonilni atomi kiseonika deprotonovanog liganda **L**<sup>1</sup> i dva atoma azota iz molekula **bipy**. Geometrija oko svakog centralnog jona Cu(II) dinuklearnog kompleksa **2** je izdužena kvadratna piramida, pri čemu se u bazalnoj ravni nalaze fenolatni i karbonilni atomi kiseonika deprotonovanog liganda **L**<sup>1</sup> i dva atoma azota iz molekula **phen**, a apikalni položaj zauzet je fenolatnim kiseonikovim atomom iz koordinacione sfere jona Cu(II) naspramne asimetrične jedinice. Kompleks **3** je dinuklearan, sa geometrijom aksijalno izdužene kvadratne piramide oko svakog centralnog jona Cu(II). U ovom slučaju, koordinacija za centralni jon metala ostvaruje se preko deprotonovanog cvrterjonskog oblika liganda **HL**<sup>2</sup>Cl, i to preko pirolovog atoma azota, azometinskog atoma azota i karbonilnog atoma kiseonika, dok su preostala dva mesta zauzeta azotovim atomima iz dva azidna mostna liganda. Ovi azidni ligandi mostno povezuju jone Cu(II) iz dve naspramne asimetrične jedinice na dvostruki „end-to-end“ (di- $\mu$ -1,3-N<sub>3</sub>) koordinacioni način.

Sva tri kompleksa bakra(II) pokazala su značajnu antimikrobnu aktivnost, koja je ispitivana na četiri soja Gram-pozitivnih, četiri soja Gram-negativnih bakterija i tri soja gljivica. Od svih ispitivanih jedinjenja, kompleks **2** ispoljio je najveću antibakterijsku aktivnost koja je u slučaju 50 % ispitivanih sojeva bakterija uporediva sa aktivnošću amikacina koji je korišćen kao standard. Sa druge strane, i kompleks **1** i kompleks **2** pokazali su antifungalnu aktivnost koja je prema sojevima *A. brasiliensis* i *S. cerevisiae* bila viša u odnosu na standardni lek flukonazol. Antimikrobna aktivnost kompleksa **3** je u svim slučajevima veća u odnosu na standardne lekove korišćene u eksperimentima, dok je antifungalna aktivnost ovog kompleksa prema soju *S. cerevisiae* reda veličine aktivnosti amfotericina B koji je korišćen kao standard. Posebno je važno napomenuti da su sva tri kompleksa pokazala bolje MIC vrednosti u antimikrobnim ispitivanjima od svojih prekursorskih jedinjenja, u najvećem broju slučajeva.

Za komplekse **1** i **2** ispitivana je i citotoksična aktivnost prema pet malignih ćelijskih linija i jednoj normalnoj ćelijskoj liniji, pri čemu je kao standardna kontrolna proba korišćen lek *cisplatin*. Iako su IC<sub>50</sub> vrednosti kompleksa **1** prema ispitivanim ćelijskim linijama u nekim slučajevima približno 2 puta veće od IC<sub>50</sub> vrednosti *cisplatin*a, kompleks **2** je pokazao svoju superiornu aktivnost u odnosu na kompleks **1** zbog toga što su njegove IC<sub>50</sub> vrednosti prema svim ispitivanim ćelijskim linijama niže od IC<sub>50</sub> vrednosti standardnog leka, i to u opsegu od 1,47 do 8,29 puta. Dakle, kompleks

**2** pokazao je bolju citotoksičnu aktivnost od standardnog hemoterapeutskog leka *cisplatina*. Poređenjem vrednosti inhibitornih koncentracija samih kompleksa i njihovih prekursorskih jedinjenja, uočava se da su IC<sub>50</sub> vrednosti ispitivanih kompleksa **1** i **2** u svim slučajevima niže.

Ispitivanje uticaja kompleksa **1** i **2** na pojavu DNK oštećenja pokazalo je da nijedno od ispitivanih jedinjenja ne pokazuje genotoksične efekte na ćelije cele krvi. Sa druge strane, ispitivanje antigenotoksičnog potencijala ovih jedinjenja pokazalo je da najniže ispitivane koncentracije oba kompleksa (5 µM) ispoljavaju statistički značajan antigenotoksični efekat u odnosu na oštećenja izazvana vodonik-peroksidom.

Zaključci dobijeni iz analize antimikrobne, citotoksične i antigenotoksične aktivnosti novosintetisanih kompleksa bakra(II) idu u prilog glavnoj pretpostavci iz koje je ova teza i nastala – objedinjavanje već biološki aktivnih diiminskih jedinjenja sa jedne strane, derivata salicilaldehida poznatih po svojoj značajnoj biološkoj aktivnosti sa druge strane, i bakra(II) čija su antibakterijska, antifungalna i antiinflamatorna svojstva poznata milenijumima unazad, zaista dovodi do pozitivnog sinergičnog delovanja iz kog proističu kompleksna jedinjenja potentne biološke aktivnosti.

## 6. *Literatura*

- [1] J. Lv, T. Liu, S. Cai, X. Wang, L. Liu, Y. Wang, Synthesis, structure and biological activity of cobalt(II) and copper(II) complexes of valine-derived schiff bases, *J Inorg Biochem* 100 (2006) 1888–1896. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.07.014>.
- [2] A. Kostelidou, S. Kalogiannis, O.-A. Begou, F. Perdih, I. Turel, G. Psomas, Synthesis, structure and biological activity of copper(II) complexes with gatifloxacin, *Polyhedron* 119 (2016) 359–370. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2016.09.012>.
- [3] S. Banerjee, S. Mondal, W. Chakraborty, S. Sen, R. Gachhui, R.J. Butcher, A.M.Z. Slawin, C. Mandal, S. Mitra, Syntheses, X-ray crystal structures, DNA binding, oxidative cleavage activities and antimicrobial studies of two Cu(II) hydrazone complexes, *Polyhedron* 28 (2009) 2785–2793. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2009.05.071>.
- [4] B.S. Creaven, B. Duff, D.A. Egan, K. Kavanagh, G. Rosair, V.R. Thangella, M. Walsh, Anticancer and antifungal activity of copper(II) complexes of quinolin-2(1H)-one-derived Schiff bases, *Inorganica Chim Acta* 363 (2010) 4048–4058. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2010.08.009>.
- [5] N. Raman, J. Joseph, A.S.K. Velan, C. Pothiraj, Antifungal Activities of Biorelevant Complexes of Copper(II) with Biosensitive Macrocyclic Ligands, *Mycobiology* 34 (2006) 214–218. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2006.34.4.214>.
- [6] A. Hussain, M.F. AlAjmi, Md.T. Rehman, S. Amir, F.M. Husain, A. Alsalmeh, M.A. Siddiqui, A.A. AlKhedhairi, R.A. Khan, Copper(II) complexes as potential anticancer and Nonsteroidal anti-inflammatory agents: In vitro and in vivo studies, *Sci Rep* 9 (2019) 5237. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41063-x>.
- [7] J.R.J. Sorenson, V. Kishore, A. Pezeshk, L.W. Oberley, S.W.C. Leuthauser, T.D. Oberley, Copper complexes: a physiological approach to the treatment of ‘inflammatory diseases,’ *Inorganica Chim Acta* 91 (1984) 285–294. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)81851-4](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)81851-4).
- [8] R.P. Sharma, S. Kumar, P. Venugopalan, V. Ferretti, A. Tarushi, G. Psomas, M. Witwicki, New copper(ii) complexes of the anti-inflammatory drug mefenamic acid: a concerted study including synthesis, physicochemical characterization and their biological evaluation, *RSC Adv* 6 (2016) 88546–88558. <https://doi.org/10.1039/C6RA14706B>.
- [9] S. Kumar, S. Garg, R.P. Sharma, P. Venugopalan, L. Tenti, V. Ferretti, L. Nivellet, M. Tarpin, E. Guillon, Four monomeric copper(ii) complexes of non-steroidal anti-inflammatory drug Ibuprofen and N-donor ligands: syntheses, characterization, crystal structures and cytotoxicity studies, *New Journal of Chemistry* 41 (2017) 8253–8262. <https://doi.org/10.1039/C7NJ00247E>.
- [10] G. Psomas, Copper(II) and zinc(II) coordination compounds of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Structural features and antioxidant activity, *Coord Chem Rev* 412 (2020) 213259. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213259>.
- [11] J.R.J. Sorenson, 6 Copper Complexes Offer a Physiological Approach to Treatment of Chronic Diseases, in: 1989: pp. 437–568. [https://doi.org/10.1016/S0079-6468\(08\)70246-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6468(08)70246-7).
- [12] G. Malis, E. Geromichalou, G.D. Geromichalos, A.G. Hatzidimitriou, G. Psomas, Copper(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drugs: Structural characterization, in vitro and in silico biological profile, *J Inorg Biochem* 224 (2021) 111563. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111563>.

- [13] A. Erxleben, Interactions of copper complexes with nucleic acids, *Coord Chem Rev* 360 (2018) 92–121. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.01.008>.
- [14] C. Liu, DNA damage by copper(II) complexes: coordination-structural dependence of reactivities, *J Inorg Biochem* 75 (1999) 233–240. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(99\)00037-9](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(99)00037-9).
- [15] E.K. Efthimiadou, H. Thomadaki, Y. Sanakis, C.P. Raptopoulou, N. Katsaros, A. Scorilas, A. Karaliota, G. Psomas, Structure and biological properties of the copper(II) complex with the quinolone antibacterial drug N-propyl-norfloxacin and 2,2'-bipyridine, *J Inorg Biochem* 101 (2007) 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.07.019>.
- [16] M. McCann, M. Geraghty, M. Devereux, D. O'Shea, J. Mason, L. O'Sullivan, Insights Into the Mode of Action of the Anti-Candida Activity of 1,10-Phenanthroline and its Metal Chelates, *Met Based Drugs* 7 (2000) 185–193. <https://doi.org/10.1155/MBD.2000.185>.
- [17] N.S. Ng, M.J. Wu, J.R. Aldrich-Wright, The cytotoxicity of some phenanthroline-based antimicrobial copper(II) and ruthenium(II) complexes, *J Inorg Biochem* 180 (2018) 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.11.022>.
- [18] M.M. Fousiamol, M. Sithambaresan, K.K. Damodaran, M.R.P. Kurup, Syntheses, spectral aspects and biological studies of bromide and azide bridged box dimer copper(II) complexes of an NNO donor aroylhydrazone, *Inorganica Chim Acta* 501 (2020) 119301. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.119301>.
- [19] B. Shaabani, A.A. Khandar, H. Mobaiyen, N. Ramazani, S.S. Balula, L. Cunha-Silva, Novel pseudohalide-bridged Cu(II) complexes with a hydrazone ligand: Evaluation of antimicrobial activity, *Polyhedron* 80 (2014) 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.03.033>.
- [20] B. Shaabani, A.A. Khandar, F. Mahmoudi, M.A. Maestro, S.S. Balula, L. Cunha-Silva, Novel binuclear Cu(II) complexes combining a semicarbazone Schiff base with distinct bridging ligands: Structure and antimicrobial activity, *Polyhedron* 57 (2013) 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.04.016>.
- [21] E.L. de Araújo, H.F.G. Barbosa, E.R. Dockal, É.T.G. Cavalheiro, Synthesis, characterization and biological activity of Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of biopolymeric Schiff bases of salicylaldehydes and chitosan, *Int J Biol Macromol* 95 (2017) 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.109>.
- [22] A. Zianna, M.Š. Ristiović, G. Psomas, A. Hatzidimitriou, E. Coutouli-Argyropoulou, M. Lalia-Kantouri, Cadmium(II) complexes of 5-bromo-salicylaldehyde and  $\alpha$ -diimines: Synthesis, structure and interaction with calf-thymus DNA and albumins, *Polyhedron* 107 (2016) 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2016.01.020>.
- [23] L.C. Felton, J.H. Brewer, Action of Substituted Salicylaldehydes on Bacteria and Fungi, *Science* (1979) 105 (1947) 409–410. <https://doi.org/10.1126/science.105.2729.409>.
- [24] A. Cinarli, D. Gürbüz, A. Tavman, A.S. Birteksöz, Spectral Characterization and Antimicrobial Activity of Some Schiff Bases Derived from 4-Chloro-2-aminophenol and Various Salicylaldehyde Derivatives, *Chin J Chem* 30 (2012) 449–459. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201180473>.
- [25] B. Iftikhar, K. Javed, M.S.U. Khan, Z. Akhter, B. Mirza, V. Mckee, Synthesis, characterization and biological assay of Salicylaldehyde Schiff base Cu(II) complexes and their precursors, *J Mol Struct* 1155 (2018) 337–348. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.11.022>.

- [26] R.R. Conry, Copper: Inorganic & Coordination Chemistry Based in part on the article Copper: Inorganic & Coordination Chemistry by Rebecca R. Conry & Kenneth D. Karlin which appeared in the *Encyclopedia of Inorganic Chemistry, First Edition*., in: *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, Wiley, 2005: pp. 940–958. <https://doi.org/10.1002/0470862106.ia052>.
- [27] P. Polak, Periodic Table of Elements, Canva (n.d.). [canva.com](https://www.canva.com) (accessed March 2, 2024).
- [28] F.H. Jardine, Copper (I) Complexes, in: H.J. Emeléus, A.G. Sharpe (Eds.), *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, 1975: pp. 115–163. [https://doi.org/10.1016/S0065-2792\(08\)60061-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2792(08)60061-8).
- [29] R. Balamurugan, M. Palaniandavar, R.S. Gopalan, Trigonal Planar Copper(I) Complex: Synthesis, Structure, and Spectra of a Redox Pair of Novel Copper(II/I) Complexes of Tridentate Bis(benzimidazol-2'-yl) Ligand Framework as Models for Electron-Transfer Copper Proteins, *Inorg Chem* 40 (2001) 2246–2255. <https://doi.org/10.1021/ic0003372>.
- [30] T.S. Lobana, Rimple, A. Castineiras, P. Turner, Copper–Selenium Interactions: Influence of Alkane Spacer and Halide Anion in the Synthesis of Unusual Polynuclear Copper(I) Complexes with Bis(diphenylselenophosphiny)alkanes, *Inorg Chem* 42 (2003) 4731–4737. <https://doi.org/10.1021/ic034010n>.
- [31] R.G. Pearson, Hard and Soft Acids and Bases, *J Am Chem Soc* 85 (1963) 3533–3539. <https://doi.org/10.1021/ja00905a001>.
- [32] R.G. Pearson, Hard and soft acids and bases—the evolution of a chemical concept, *Coord Chem Rev* 100 (1990) 403–425. [https://doi.org/10.1016/0010-8545\(90\)85016-L](https://doi.org/10.1016/0010-8545(90)85016-L).
- [33] E.S. Smirnova, F. Acuña-Parés, E.C. Escudero-Adán, C. Jelsch, J. Lloret-Fillol, Synthesis and Reactivity of Copper(I) Complexes Based on  $C_3$ -Symmetric Tripodal HTIM(PR<sub>2</sub>)<sub>3</sub> Ligands, *Eur J Inorg Chem* 2018 (2018) 2612–2620. <https://doi.org/10.1002/ejic.201800074>.
- [34] F. Endrizzi, P. Di Bernardo, P.L. Zanonato, F. Tisato, M. Porchia, A. Ahmed Isse, A. Melchior, M. Tolazzi, Cu(i) and Ag(i) complex formation with the hydrophilic phosphine 1,3,5-triaza-7-phosphadamantane in different ionic media. How to estimate the effect of a complexing medium, *Dalton Transactions* 46 (2017) 1455–1466. <https://doi.org/10.1039/C6DT04221J>.
- [35] S.R. Collinson, M. Schröder, S- Donor Ligands, in: *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, Wiley, 2005: pp. 4171–4197. <https://doi.org/10.1002/9781119951438.eibc0194>.
- [36] M.A. Halcrow, Interpreting and controlling the structures of six-coordinate copper(ii) centres – When is a compression really a compression?, *Dalton Trans.* (2003) 4375–4384. <https://doi.org/10.1039/B309242A>.
- [37] B.J. Hathaway, A new look at the stereochemistry and electronic properties of complexes of the copper(II) ion, in: *Complex Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1984: pp. 55–118. <https://doi.org/10.1007/BFb0111454>.
- [38] F.A. Mautner, R.C. Fischer, A. Torvisco, M.M. Henary, F.R. Louka, S.S. Massoud, N.M.H. Salem, Five-Coordinated Geometries from Molecular Structures to Solutions in Copper(II) Complexes Generated from Polydentate-N-Donor Ligands and Pseudohalides, *Molecules* 25 (2020) 3376. <https://doi.org/10.3390/molecules25153376>.
- [39] I. Shimizu, Y. Morimoto, D. Faltermeier, M. Kerscher, S. Paria, T. Abe, H. Sugimoto, N. Fujieda, K. Asano, T. Suzuki, P. Comba, S. Itoh, Tetrahedral Copper(II) Complexes with a

Labile Coordination Site Supported by a Tris-tetramethylguanidinato Ligand, *Inorg Chem* 56 (2017) 9634–9645. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b01154>.

- [40] H.A. Jahn, E. Teller, Stability of polyatomic molecules in degenerate electronic states - I—Orbital degeneracy, *Proc R Soc Lond A Math Phys Sci* 161 (1937) 220–235. <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0142>.
- [41] C. Housecroft, A.G. Sharpe, *Inorganic Chemistry*, 3rd ed., Prentice Hall, 2008.
- [42] H. Yamatera, I. Leden, T. Østvold, A. Holm, N.H. Toubro, A. Krantz, J. Laureni, Jahn-Teller Distortion in Copper(II) Complexes. Why Tetragonal Elongation Is Preferred to Tetragonal Compression., *Acta Chem Scand* 33a (1979) 107–111. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.33a-0107>.
- [43] A.S. Moskvina, A.A. Gippius, A. V. Tkachev, A. V. Mahajan, T. Chakrabarty, I.A. Presniakov, A. V. Sobolev, G. Demazeau, Direct evidence of non-Zhang-Rice  $\text{Cu}^{3+}$  centers in  $\text{La}_2\text{Li}_{0.5}\text{Cu}_{0.5}\text{O}_4$ , *Phys Rev B* 86 (2012) 241107. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.86.241107>.
- [44] M.W. Lister, THE STABILITY OF SOME COMPLEXES OF TRIVALENT COPPER, *Can J Chem* 31 (1953) 638–652. <https://doi.org/10.1139/v53-087>.
- [45] T. V. Popova, N. V. Aksenova, Complexes of Copper in Unstable Oxidation States, *Russian Journal of Coordination Chemistry* 29 (2003) 743–765. <https://doi.org/10.1023/B:RUCO.0000003432.39025.cc>.
- [46] G. Hogarth, D.C. Onwudiwe, Copper Dithiocarbamates: Coordination Chemistry and Applications in Materials Science, Biosciences and Beyond, *Inorganics (Basel)* 9 (2021) 70. <https://doi.org/10.3390/inorganics9090070>.
- [47] Y. Sulfab, F.M. Al-Sogair, Stabilization of the trivalent oxidation state of copper by tetradentate imine–oxime ligands, *Transition Metal Chemistry* 27 (2002) 299–306. <https://doi.org/10.1023/A:1014808910666>.
- [48] H. Furuta, H. Maeda, A. Osuka, Doubly N-Confused Porphyrin: A New Complexing Agent Capable of Stabilizing Higher Oxidation States, *J Am Chem Soc* 122 (2000) 803–807. <https://doi.org/10.1021/ja992679g>.
- [49] M. Pawlicki, I. Kańska, L. Latos-Grażyński, Copper(II) and Copper(III) Complexes of Pyrrole-Appended Oxacarbaporphyrin, *Inorg Chem* 46 (2007) 6575–6584. <https://doi.org/10.1021/ic700631t>.
- [50] W. Harnischmacher, R. Hoppe, Tetravalent Copper:  $\text{Cs}_2[\text{CuF}_6]$ , *Angewandte Chemie International Edition in English* 12 (1973) 582–583. <https://doi.org/10.1002/anie.197305822>.
- [51] M. Arjomand, D.J. Machin, Oxide chemistry. Part II. Ternary oxides containing copper in oxidation states -I, -II, -III, and -IV, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* (1975) 1061. <https://doi.org/10.1039/dt9750001061>.
- [52] O. V. Mikhailov, D. V. Chachkov, About possibility of stabilization of unusual copper(IV) oxidation state in complexes with porphyrazine and two fluorine ligands: Quantum-chemical design, *Inorg Chem Commun* 106 (2019) 224–227. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2019.05.025>.
- [53] O. V. Mikhailov, D. V. Chachkov, Copper (IV) Stabilization in Macrocyclic Complexes with 3,7,11,15-Tetraazaporphine, Its Di[benzo]- or Tetra[benzo] Derivatives and Oxide Anion: Quantum-Chemical Research, *Materials* 13 (2020) 3162. <https://doi.org/10.3390/ma13143162>.

- [54] A. Messerschmidt, Copper Metalloenzymes, in: L. Mander, H. Liu (Eds.), *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2010: pp. 489–545.
- [55] R.A. Festa, D.J. Thiele, Copper: An essential metal in biology, *Current Biology* 21 (2011) R877–R883. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.09.040>.
- [56] J. Osredkar, N. Sustar, Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance, *J Clin Toxicol* s3 (2011) 001. <https://doi.org/10.4172/2161-0495.S3-001>.
- [57] Edward J. Massaro, *Handbook of Copper Pharmacology and Toxicology*, Humana Press, Totowa, New Jersey, 2002.
- [58] J.F.B. Mercer, The molecular basis of copper-transport diseases, *Trends Mol Med* 7 (2001) 64–69. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(01\)01920-7](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(01)01920-7).
- [59] F. Fusetti, K.H. Schröter, R.A. Steiner, P.I. van Noort, T. Pijning, H.J. Rozeboom, K.H. Kalk, M.R. Egmond, B.W. Dijkstra, Crystal Structure of the Copper-Containing Quercetin 2,3-Dioxygenase from *Aspergillus japonicus*, *Structure* 10 (2002) 259–268. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(02\)00704-9](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(02)00704-9).
- [60] R. Ameta, A. K. Chohadia, A. Jain, P.B. Punjabi, Fenton and Photo-Fenton Processes, in: Suresh C. Ameta, Rakshit Ameta (Eds.), *Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment*, Elsevier, 2018: pp. 49–87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-810499-6.00003-6>.
- [61] I. Fridovich, The Biology of Oxygen Radicals, *Science* (1979) 201 (1978) 875–880. <https://doi.org/10.1126/science.210504>.
- [62] M.M.O. Peña, J. Lee, D.J. Thiele, A Delicate Balance: Homeostatic Control of Copper Uptake and Distribution, *J Nutr* 129 (1999) 1251–1260. <https://doi.org/10.1093/jn/129.7.1251>.
- [63] J. Camakaris, I. Voskoboinik, J.F. Mercer, Molecular Mechanisms of Copper Homeostasis, *Biochem Biophys Res Commun* 261 (1999) 225–232. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1073>.
- [64] R.A. Pufahl, C.P. Singer, K.L. Peariso, S.-J. Lin, P.J. Schmidt, C.J. Fahrni, V.C. Culotta, J.E. Penner-Hahn, T. V. O’Halloran, Metal Ion Chaperone Function of the Soluble Cu(I) Receptor Atx1, *Science* (1979) 278 (1997) 853–856. <https://doi.org/10.1126/science.278.5339.853>.
- [65] T.D. Rae, P.J. Schmidt, R.A. Pufahl, V.C. Culotta, T. V. O’Halloran, Undetectable Intracellular Free Copper: The Requirement of a Copper Chaperone for Superoxide Dismutase, *Science* (1979) 284 (1999) 805–808. <https://doi.org/10.1126/science.284.5415.805>.
- [66] M.T. Lorincz, Wilson disease and related copper disorders, in: D.E. Geschwind, H.L. Paulson, C. Klein (Eds.), *Handb Clin Neurol*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2018: pp. 279–292. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63233-3.00018-X>.
- [67] G.N. Wilson, Wilson Disease, in: R. Rosenberg, J. Pascual (Eds.), *Rosenberg’s Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease*, Academic Press, 2015: pp. 443–453. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410529-4.00040-1>.
- [68] J.M. Pascual, J.H. Menkes, Menkes Disease and Other ATP7A Disorders, in: R. Rosenberg, J. Pascual (Eds.), *Rosenberg’s Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease*, Academic Press, 2015: pp. 455–462. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410529-4.00041-3>.
- [69] O. Bandmann, K.H. Weiss, S.G. Kaler, Wilson’s disease and other neurological copper disorders, *Lancet Neurol* 14 (2015) 103–113. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70190-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70190-5).

- [70] G.J. Brewer, Recognition, Diagnosis, and Management of Wilson's Disease, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 223 (2000) 39–46. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1373.2000.22305.x>.
- [71] G.J. Brewer, R.D. Dick, V.D. Johnson, J.A. Brunberg, K.J. Kluin, J.K. Fink, Treatment of Wilson's disease with zinc: XV long-term follow-up studies, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 132 (1998) 264–278. [https://doi.org/10.1016/S0022-2143\(98\)90039-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2143(98)90039-7).
- [72] J.F.B. Mercer, J. Livingston, B. Hall, J.A. Paynter, C. Begy, S. Chandrasekharappa, P. Lockhart, A. Grimes, M. Bhave, D. Siemieniak, T.W. Glover, Isolation of a partial candidate gene for Menkes disease by positional cloning, *Nat Genet* 3 (1993) 20–25. <https://doi.org/10.1038/ng0193-20>.
- [73] D.J. Waggoner, T.B. Bartnikas, J.D. Gitlin, The Role of Copper in Neurodegenerative Disease, *Neurobiol Dis* 6 (1999) 221–230. <https://doi.org/10.1006/nbdi.1999.0250>.
- [74] M. do R.F. Roberti, H.M. Borges Filho, C.H. Gonçalves, F.L. Lima, Aceruloplasminemia, *Rev Bras Hematol Hemoter* 33 (2011) 389–392. <https://doi.org/10.5581/1516-8484.20110104>.
- [75] G. Brewer, Copper in medicine, *Curr Opin Chem Biol* 7 (2003) 207–212. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(03\)00018-8](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(03)00018-8).
- [76] R.M. Llanos, J.F.B. Mercer, The Molecular Basis of Copper Homeostasis Copper-Related Disorders, *DNA Cell Biol* 21 (2002) 259–270. <https://doi.org/10.1089/104454902753759681>.
- [77] I.G. Macreadie, Copper transport and Alzheimer's disease, *European Biophysics Journal* 37 (2008) 295–300. <https://doi.org/10.1007/s00249-007-0235-2>.
- [78] G. Rotilio, M.T. Carr', L. Rossi, M.R. Ciriolo, Copper-Dependent Oxidative Stress and Neurodegeneration, *IUBMB Life* 50 (2000) 309–314. <https://doi.org/10.1080/713803724>.
- [79] D. Strausak, J.F.B. Mercer, H.H. Dieter, W. Stremmel, G. Multhaup, Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer's, Menkes, and Wilson diseases, *Brain Res Bull* 55 (2001) 175–185. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00454-3](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00454-3).
- [80] D.R. Brown, Copper and prion disease, *Brain Res Bull* 55 (2001) 165–173. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00453-1](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00453-1).
- [81] Dragan M. Pavlović, Aleksandra M. Pavlović, Stana Žugić, Patogeneza Alchajmerove bolesti, *Vojnosanit Pregl* 64 (2007) 765–772.
- [82] A. Bush, Metals and neuroscience, *Curr Opin Chem Biol* 4 (2000) 184–191. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(99\)00073-3](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(99)00073-3).
- [83] G. Giachin, P.T. Mai, T.H. Tran, G. Salzano, F. Benetti, V. Migliorati, A. Arcovito, S. Della Longa, G. Mancini, P. D'Angelo, G. Legname, The non-octarepeat copper binding site of the prion protein is a key regulator of prion conversion, *Sci Rep* 5 (2015) 15253. <https://doi.org/10.1038/srep15253>.
- [84] S.C. Chidurala, V.R. Kalagadda, P. Tambur, Antimicrobial activity of pure Cu nano particles synthesized by surfactant varied chemical reduction method, *Environ Nanotechnol Monit Manag* 6 (2016) 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2016.06.004>.
- [85] C. Hahn, M. Hans, C. Hein, R.L. Mancinelli, F. Mücklich, R. Wirth, P. Rettberg, C.E. Hellweg, R. Moeller, Pure and Oxidized Copper Materials as Potential Antimicrobial Surfaces for Spaceflight Activities, *Astrobiology* 17 (2017) 1183–1191. <https://doi.org/10.1089/ast.2016.1620>.



- [86] T. Kruk, K. Szczepanowicz, J. Stefańska, R.P. Socha, P. Warszyński, Synthesis and antimicrobial activity of monodisperse copper nanoparticles, *Colloids Surf B Biointerfaces* 128 (2015) 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.02.009>.
- [87] Q. Lv, B. Zhang, X. Xing, Y. Zhao, R. Cai, W. Wang, Q. Gu, Biosynthesis of copper nanoparticles using *Shewanella loihica* PV-4 with antibacterial activity: Novel approach and mechanisms investigation, *J Hazard Mater* 347 (2018) 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.12.070>.
- [88] D. Solairaj, P. Rameshthangam, G. Arunachalam, Anticancer activity of silver and copper embedded chitin nanocomposites against human breast cancer (MCF-7) cells, *Int J Biol Macromol* 105 (2017) 608–619. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.078>.
- [89] C.A. Grillo, M.A. Reigosa, M.F. Lorenzo de Mele, Effects of copper ions released from metallic copper on CHO-K1 cells, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 672 (2009) 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.09.012>.
- [90] S.E.-D. Hassan, S.S. Salem, A. Fouda, M.A. Awad, M.S. El-Gamal, A.M. Abdo, New approach for antimicrobial activity and bio-control of various pathogens by biosynthesized copper nanoparticles using endophytic actinomycetes, *J Radiat Res Appl Sci* 11 (2018) 262–270. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2018.05.003>.
- [91] W.S. Hernández-Monjaraz, C. Caudillo-Pérez, P.U. Salazar-Sánchez, K.L. Macías-Sánchez, Influence of iron and copper on the activity of laccases in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Brazilian Journal of Microbiology* 49 (2018) 269–275. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.06.002>.
- [92] A. Llorens, E. Lloret, P. Picouet, A. Fernandez, Study of the antifungal potential of novel cellulose/copper composites as absorbent materials for fruit juices, *Int J Food Microbiol* 158 (2012) 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.004>.
- [93] N. Alvarez, L.F.S. Mendes, M.G. Kramer, M.H. Torre, A.J. Costa-Filho, J. Ellena, G. Facchin, Development of copper(II)-diimine-iminodiacetate mixed ligand complexes as potential antitumor agents, *Inorganica Chim Acta* 483 (2018) 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.07.052>.
- [94] R. Loganathan, S. Ramakrishnan, E. Suresh, M. Palaniandavar, A. Riyasdeen, M.A. Akbarsha, Mixed ligand  $\mu$ -phenoxo-bridged dinuclear copper(ii) complexes with diimine co-ligands: efficient chemical nuclease and protease activities and cytotoxicity, *Dalton Transactions* 43 (2014) 6177–6194. <https://doi.org/10.1039/c3dt52518j>.
- [95] M. Belicchi Ferrari, S. Capacchi, G. Pelosi, G. Reffo, P. Tarasconi, R. Albertini, S. Pinelli, P. Lunghi, Synthesis, structural characterization and biological activity of helicin thiosemicarbazone monohydrate and a copper(II) complex of salicylaldehyde thiosemicarbazone, *Inorganica Chim Acta* 286 (1999) 134–141. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(98\)00383-1](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(98)00383-1).
- [96] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents, *Chem Rev* 114 (2014) 815–862. <https://doi.org/10.1021/cr400135x>.
- [97] M. Simunkova, P. Lauro, K. Jomova, L. Hudecova, M. Danko, S. Alwasel, I.M. Alhazza, S. Rajcaniova, Z. Kozovska, L. Kucerova, J. Moncol, L. Svorc, M. Valko, Redox-cycling and intercalating properties of novel mixed copper(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drugs tolfenamic, mefenamic and flufenamic acids and phenanthroline functionality: Structure, SOD-mimetic activity, interaction with albumin, DNA damage study

- and anticancer activity, *J Inorg Biochem* 194 (2019) 97–113. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.02.010>.
- [98] K.N. Thimmaiah, W.D. Lloyd, G.T. Chandrappa, Stereochemistry and fungitoxicity of complexes of p-anisaldehydethiosemicarbazone with Mn(II), Fe(II), Co(II) and Ni(II), *Inorganica Chim Acta* 106 (1985) 81–83. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)82252-5](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)82252-5).
- [99] Stephen J. Lippard, Jeremy Berg, *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books, 1994.
- [100] P. Chakrabarti, Anion Binding Sites in Protein Structures, *J Mol Biol* 234 (1993) 463–482. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1993.1599>.
- [101] M.W. Whitehouse, W.R. Walker, Copper and inflammation, *Agents Actions* 8 (1978) 85–90. <https://doi.org/10.1007/BF01972407>.
- [102] B.K. B, G.W. Son, C.-S. Ha, I. Kim, Synthesis of active Ni(II)  $\alpha$ -diimine catalysts for ethylene polymerization: study on substituent and cocatalyst effects, in: 2006: pp. 853–856. [https://doi.org/10.1016/S0167-2991\(06\)81731-3](https://doi.org/10.1016/S0167-2991(06)81731-3).
- [103] J. Sung KIM, D. Chandran, D.-W. Park, C.-S. Ha, I. Kim, Polymerization of 1,3-Butadiene with Nickel(II)  $\alpha$ -Diimine Complexes Combined with Ethylaluminum Sesquichloride, in: 2007: pp. 525–526. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53202-2.50122-6>.
- [104] D. Dey, S. Roy, R.N. Dutta Purkayastha, R. Pallepogu, P. McArdle, Zinc carboxylates containing diimine: Synthesis, characterization, crystal structure, and luminescence, *J Mol Struct* 1053 (2013) 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2013.09.009>.
- [105] S. Jayakumar, D. Mahendiran, D. Rehana, A. Kalilur Rahiman, Heteroleptic metal(II) complexes of hydrotris(methimazolyl)borate and diimines: Synthesis, theoretical calculations, antimicrobial, antioxidant, in vitro cytotoxicity and molecular docking studies, *Microb Pathog* 109 (2017) 120–130. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.05.024>.
- [106] N. Rajendran, N. Kamatchi, A. Periyasamy, V. Solomon, DNA-interaction, antibacterial and *in vitro* cytotoxic properties of copper(II) complexes bearing ( *E* )-2-(2-(benzo[ *d* ]thiazol-2-ylthio)-1-phenylethylidene)thiosemicarbazone and diimine co-ligands, *J Coord Chem* 73 (2020) 969–985. <https://doi.org/10.1080/00958972.2020.1751830>.
- [107] D.S. Yambulatov, I.A. Lutsenko, S.A. Nikolaevskii, P.A. Petrov, I. V. Smolyaninov, I.K. Malyants, V.O. Shender, M.A. Kiskin, A.A. Sidorov, N.T. Berberova, I.L. Eremenko,  $\alpha$ -Diimine Cisplatin Derivatives: Synthesis, Structure, Cyclic Voltammetry and Cytotoxicity, *Molecules* 27 (2022) 8565. <https://doi.org/10.3390/molecules27238565>.
- [108] E. Zanda, N. Busto, L. Biancalana, S. Zacchini, T. Biver, B. Garcia, F. Marchetti, Anticancer and antibacterial potential of robust Ruthenium(II) arene complexes regulated by choice of  $\alpha$ -diimine and halide ligands, *Chem Biol Interact* 344 (2021) 109522. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109522>.
- [109] C. Kaes, A. Katz, M.W. Hosseini, Bipyridine: The Most Widely Used Ligand. A Review of Molecules Comprising at Least Two 2,2'-Bipyridine Units, *Chem Rev* 100 (2000) 3553–3590. <https://doi.org/10.1021/cr990376z>.
- [110] F. Dwyer, I. Reid, A. Shulman, G.M. Laycock, S. Dixson, THE BIOLOGICAL ACTIONS OF 1,10-PHENANTHROLINE AND 2,2'-BIPYRIDINE HYDROCHLORIDES, QUATERNARY SALTS AND METAL CHELATES AND RELATED COMPOUNDS, *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 47 (1969) 203–218. <https://doi.org/10.1038/icb.1969.21>.

- [111] M.M. Omar, H.F. Abd El-Halim, E.A.M. Khalil, Synthesis, characterization, and biological and anticancer studies of mixed ligand complexes with Schiff base and 2,2'-bipyridine, *Appl Organomet Chem* 31 (2017). <https://doi.org/10.1002/aoc.3724>.
- [112] R.N. Patel, N. Singh, K.K. Shukla, J. Nicolás-Gutiérrez, A. Castineiras, V.G. Vaidyanathan, B.U. Nair, Characterization and biological activities of two copper(II) complexes with diethylenetriamine and 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline as ligands, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 62 (2005) 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.12.034>.
- [113] M.K. Koley, N. Duraipandy, M.S. Kiran, B. Varghese, P.T. Manoharan, A.P. Koley, DNA binding and cytotoxicity of some Cu(II)/Zn(II) complexes containing a carbohydrazone Schiff base ligand along with 1,10-phenanthroline as a coligand, *Inorganica Chim Acta* 466 (2017) 538–550. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.06.068>.
- [114] R. Loganathan, S. Ramakrishnan, E. Suresh, M. Palaniandavar, A. Riyasdeen, M.A. Akbarsha, Mixed ligand  $\mu$ -phenoxo-bridged dinuclear copper(ii) complexes with diimine co-ligands: efficient chemical nuclease and protease activities and cytotoxicity, *Dalton Transactions* 43 (2014) 6177. <https://doi.org/10.1039/c3dt52518j>.
- [115] E. Delgado-Pinar, E. García-España, B. Verdejo, J. Pitarch-Jarque, Metal Complexes as Receptors, in: *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*, Elsevier, 2017: pp. 437–477. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12530-2>.
- [116] T. Pal, H. Nishihara, Synthesis of Two-Dimensional (2-D) Polymer in the Realm of Liquid–Liquid Interfaces, in: *Encyclopedia of Interfacial Chemistry*, Elsevier, 2018: pp. 453–471. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.13718-7>.
- [117] A. Bencini, V. Lippolis, 1,10-Phenanthroline: A versatile building block for the construction of ligands for various purposes, *Coord Chem Rev* 254 (2010) 2096–2180. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.04.008>.
- [118] F. Kučas, L. Posavec, V. Nemeč, N. Bedeković, D. Činčić, 2,2'-Bipyridine Derivatives as Halogen Bond Acceptors in Multicomponent Crystals, *Cryst Growth Des* 23 (2023) 8482–8487. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.3c01055>.
- [119] G.P. Moss, P.A.S. Smith, D. Tavernier, Glossary of class names of organic compounds and reactivity intermediates based on structure (IUPAC Recommendations 1995), *Pure and Applied Chemistry* 67 (1995) 1307–1375. <https://doi.org/10.1351/pac199567081307>.
- [120] N. Tuna Subasi, Overview of Schiff Bases, in: T. Akitsu (Ed.), *Schiff Base in Organic, Inorganic and Physical Chemistry*, IntechOpen, 2023. <https://doi.org/10.5772/intechopen.108178>.
- [121] H. Schiff, Untersuchungen über salicinderivate, *Justus Liebigs Ann Chem* 150 (1869) 193–200.
- [122] A. Combes, Sur l'action des diamines sur les diacétones (On the action of diamines on diketons), *CR Acad. Sci* 108 (1889) 1252–1255.
- [123] P. Pfeiffer, E. Breith, E. Lübbe, T. Tsumaki, Tricyclische orthokondensierte nebenvaleanzringe, *Justus Liebigs Ann Chem* 503 (1933) 84–130.
- [124] J.M. Fernández-G, F. del Rio-Portilla, B. Quiroz-García, R.A. Toscano, R. Salcedo, The structures of some ortho-hydroxy Schiff base ligands, *J Mol Struct* 561 (2001) 197–207. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(00\)00915-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(00)00915-7).
- [125] M.B. Smith, *March's advanced organic chemistry: reactions, mechanisms, and structure*, John Wiley & Sons, 2020.

- [126] C. Şenol, Z. Hayvali, H. Dal, T. Hökelek, Syntheses, characterizations and structures of NO donor Schiff base ligands and nickel(II) and copper(II) complexes, *J Mol Struct* 997 (2011) 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.04.037>.
- [127] K.H. Kumar Naik, S. Selvaraj, N. Naik, Metal complexes of ONO donor Schiff base ligand as a new class of bioactive compounds; Synthesis, characterization and biological evolution, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 131 (2014) 599–605. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.03.038>.
- [128] R.C. Maurya, B.A. Malik, J.M. Mir, P.K. Vishwakarma, D.K. Rajak, N. Jain, Nickel(II) complexes of ONS donor Schiff base ligands: synthesis, combined DFT-experimental characterization, redox, thermal, and *in vitro* biological investigation, *J Coord Chem* 68 (2015) 2902–2922. <https://doi.org/10.1080/00958972.2015.1064526>.
- [129] S.N. Shukla, P. Gaur, M.L. Raidas, B. Chaurasia, S.S. Bagri, Novel NNO pincer type Schiff base ligand and its complexes of Fe(III), Co(II) and Ni(II): Synthesis, spectroscopic characterization, DFT, antibacterial and anticorrosion study, *J Mol Struct* 1240 (2021) 130582. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130582>.
- [130] H.P. Gogoi, P. Barman, Salophen Type ONNO Donor Schiff Base Complexes: Synthesis, Characterization, Bioactivity, Computational, and Molecular Docking Investigation, *Inorganica Chim Acta* 556 (2023) 121668. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2023.121668>.
- [131] E.E. Snell, W.T. Jenkins, The mechanism of the transamination reaction, *J Cell Comp Physiol* 54 (1959) 161–177. <https://doi.org/10.1002/jcp.1030540413>.
- [132] S. Kumar, D.N. Dhar, P.N. Saxena, Applications of metal complexes of Schiff bases - A review, *J Sci Ind Res (India)* 68 (2009) 181–187.
- [133] G. Matela, Schiff Bases and Complexes: A Review on Anti-Cancer Activity, *Anticancer Agents Med Chem* 20 (2020) 1908–1917. <https://doi.org/10.2174/1871520620666200507091207>.
- [134] R. Sankar, T.M. Sharmila, Schiff bases-based metallo complexes and their crucial role in the realm of pharmacology. A review, *Results Chem* 6 (2023) 101179. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101179>.
- [135] R. Meena, P. Meena, A. Kumari, N. Sharma, N. Fahmi, Schiff Bases and Their Metal Complexes: Synthesis, Structural Characteristics and Applications, in: *Schiff Base in Organic, Inorganic and Physical Chemistry*, IntechOpen, 2023. <https://doi.org/10.5772/intechopen.108396>.
- [136] A. Girard, G. Sandulesco, Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle, leur utilisation à l'extraction des substances cétoniques et à la caractérisation microchimique des aldéhydes et cétones, *Helv Chim Acta* 19 (1936) 1095–1107. <https://doi.org/10.1002/hlca.193601901148>.
- [137] D.A. FORSS, E.A. DUNSTONE, The Girard Reaction, *Nature* 173 (1954) 401–402. <https://doi.org/10.1038/173401b0>.
- [138] L. Vojinovic-Jesic, S. Novakovic, V. Leovac, V. Cesljevic, Transition metal complexes with Girard reagents and their hydrazones, *Journal of the Serbian Chemical Society* 77 (2012) 1129–1155. <https://doi.org/10.2298/JSC120704083V>.
- [139] M. Viscontini, J. Meier, N-Dimethylglycin-hydrazid-hydrochlorid, Reagenz zur Isolierung und Charakterisierung von Carbonyl-Derivaten, *Helv Chim Acta* 33 (1950) 1773–1775. <https://doi.org/10.1002/hlca.19500330646>.

- [140] M. Masui, H. Ohmori, Copper(II) complexes with Girard-T and -D reagents, *Journal of the Chemical Society A: Inorganic, Physical, Theoretical* (1969) 153. <https://doi.org/10.1039/j19690000153>.
- [141] M.M. Mostafa, M.H. Abdel-Rhman, Spectroscopic studies of some novel CuI and CuII complexes derived from the tribochemistry reactions of KBr, KI and CaI<sub>2</sub> with CuII–Girard’s T complex [Cu(GT)Cl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(EtOH)]Cl·H<sub>2</sub>O, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 56 (2000) 2341–2349. [https://doi.org/10.1016/S1386-1425\(00\)00287-0](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(00)00287-0).
- [142] A.M.A. El-Sokkary, M.M. El-Naggar, A.F. Abdel-Aziz, M.M. Mostafa, Copper(II)–Girard’s T complex as a promising anti-tumor agent, *Appl Organomet Chem* 24 (2010) 439–445. <https://doi.org/10.1002/aoc.1637>.
- [143] M. Milenković, A. Pevec, I. Turel, M. Milenković, B. Čobeljić, D. Sladić, N. Krstić, K. Anđelković, Synthesis, crystal structures, and antimicrobial activity of square-planar chloride and isocyanate Ni(II) complexes with the condensation product of 2-(diphenylphosphino)benzaldehyde and Girard’s T reagent, *J Coord Chem* 68 (2015) 2858–2870. <https://doi.org/10.1080/00958972.2015.1055260>.
- [144] B. Čobeljić, M. Milenković, A. Pevec, I. Turel, M. Vujčić, B. Janović, N. Gligorijević, D. Sladić, S. Radulović, K. Jovanović, K. Anđelković, Investigation of antitumor potential of Ni(II) complexes with tridentate PNO acylhydrazones of 2-(diphenylphosphino)benzaldehyde and monodentate pseudohalides, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 21 (2016) 145–162. <https://doi.org/10.1007/s00775-015-1315-x>.
- [145] M.Č. Romanović, B. Čobeljić, A. Pevec, I. Turel, K. Anđelković, M. Milenković, D. Radanović, S. Belošević, M.R. Milenković, Synthesis, crystal structures and antimicrobial activity of azido and isocyanato Zn(II) complexes with the condensation product of 2-quinolinecarboxaldehyde and Girard’s T reagent, *J Coord Chem* 70 (2017) 2425–2435. <https://doi.org/10.1080/00958972.2017.1343945>.
- [146] M.Č. Romanović, B. Čobeljić, A. Pevec, I. Turel, S. Grubišić, D. Radanović, K. Anđelković, M. Milenković, M.R. Milenković, Synthesis, characterization, DFT calculations and antimicrobial activity of Cd(II) complexes with the condensation product of 2-quinolinecarboxaldehyde and Girard’s T reagent, *J Coord Chem* 70 (2017) 3702–3714. <https://doi.org/10.1080/00958972.2017.1405262>.
- [147] N. Stevanović, P.P. Mazzeo, A. Bacchi, I.Z. Matic, M. Đorđić Crnogorac, T. Stanojković, M. Vujčić, I. Novaković, D. Radanović, M. Šumar-Ristović, D. Sladić, B. Čobeljić, K. Anđelković, Synthesis, characterization, antimicrobial and cytotoxic activity and DNA-binding properties of d-metal complexes with hydrazones of Girard’s T and P reagents, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 26 (2021) 863–880. <https://doi.org/10.1007/s00775-021-01893-5>.
- [148] N. Stevanovic, M. Jevtovic, D. Mitic, I. Matic, M. Djordjic-Crnogorac, M. Vujcic, D. Sladic, B. Cobeljic, K. Andjelkovic, Evaluation of antitumor potential of Cu(II) complex with hydrazone of 2-acetylthiazole and Girard’s t reagent, *Journal of the Serbian Chemical Society* 87 (2022) 181–192. <https://doi.org/10.2298/JSC211203114S>.
- [149] N. Stevanović, M. Zlatar, I. Novaković, A. Pevec, D. Radanović, I.Z. Matic, M. Đorđić Crnogorac, T. Stanojković, M. Vujčić, M. Gruden, D. Sladić, K. Anđelković, I. Turel, B. Čobeljić, Cu(ii), Mn(ii) and Zn(ii) complexes of hydrazones with a quaternary ammonium moiety: synthesis, experimental and theoretical characterization and cytotoxic activity, *Dalton Transactions* 51 (2022) 185–196. <https://doi.org/10.1039/D1DT03169D>.

- [150] I.J. Bruno, J.C. Cole, P.R. Edgington, M. Kessler, C.F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson, R. Taylor, New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures, *Acta Crystallogr B* 58 (2002) 389–397. <https://doi.org/10.1107/S0108768102003324>.
- [151] CrysAlis PRO, Oxford Diffraction Ltd., Yarnton, England, (n.d.).
- [152] A. Altomare, M.C. Burla, M. Camalli, G.L. Casciarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A.G.G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, SIR97: a new tool for crystal structure determination and refinement, *J Appl Crystallogr* 32 (1999) 115–119. <https://doi.org/10.1107/S0021889898007717>.
- [153] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with SHELXL, *Acta Crystallogr C Struct Chem* 71 (2015) 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- [154] M. Nardelli, PARST95 – an update to PARST: a system of Fortran routines for calculating molecular structure parameters from the results of crystal structure analyses, *J Appl Crystallogr* 28 (1995) 659–659. <https://doi.org/10.1107/S0021889895007138>.
- [155] L.J. Farrugia, ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI), *J Appl Crystallogr* 30 (1997) 565–565. <https://doi.org/10.1107/S0021889897003117>.
- [156] C.F. Macrae, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G.P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. van de Streek, Mercury: visualization and analysis of crystal structures, *J Appl Crystallogr* 39 (2006) 453–457. <https://doi.org/10.1107/S002188980600731X>.
- [157] A. Altomare, G. Casciarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, Completion and refinement of crystal structures with *SIR* 92, *J Appl Crystallogr* 26 (1993) 343–350. <https://doi.org/10.1107/S0021889892010331>.
- [158] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with *SHELXL*, *Acta Crystallogr C Struct Chem* 71 (2015) 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- [159] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *J Immunol Methods* 65 (1983) 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- [160] M. Ohno, T. Abe, Rapid colorimetric assay for the quantification of leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin-6 (IL-6), *J Immunol Methods* 145 (1991) 199–203. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(91\)90327-C](https://doi.org/10.1016/0022-1759(91)90327-C).
- [161] N.P. Singh, M.T. McCoy, R.R. Tice, E.L. Schneider, A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells, *Exp Cell Res* 175 (1988) 184–191. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0).
- [162] V. Garaj-Vrhovac, The alkaline Comet assay as biomarker in assessment of DNA damage in medical personnel occupationally exposed to ionizing radiation, *Mutagenesis* 18 (2003) 265–271. <https://doi.org/10.1093/mutage/18.3.265>.
- [163] O. Ostling, K.J. Johanson, Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells, *Biochem Biophys Res Commun* 123 (1984) 291–298. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(84\)90411-X](https://doi.org/10.1016/0006-291X(84)90411-X).
- [164] E. CEMELI, A. BAUMGARTNER, D. ANDERSON, Antioxidants and the Comet assay, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 681 (2009) 51–67. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.05.002>.

- [165] D.B. Topalović, Procena antigenotoksičnog potencijala etanolnog ekstrakta lista masline (*Olea europaea L.*) u prisustvu hormona tiroksina, adrenalina, estradiola i dietilstilbestrola u leukocitima periferne krvi *in vitro* kod čoveka, Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet, 2019.
- [166] A. Čabarkapa, Uticaj etanolnog ekstrakta lista masline (*Olea europaea L.*) na genomsku nestabilnost, parametre oksidativnog stresa i inflamacije kod pacijenata sa reumatoidnim artritisom, Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet, 2016.
- [167] D. ANDERSON, T. YU, B. PHILLIPS, P. SCHMEZER, The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the COMET assay, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 307 (1994) 261–271. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90300-X](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90300-X).
- [168] GraphPad Software, Analysis of variance with Tukey-s post-hoc test for comparison of different treatments vs. the respective control using GraphPad Prism version 5.0, (2022). [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com).
- [169] E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl, W. Simon, Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1976. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-13076-6>.
- [170] A. Jayamani, N. Sengottuvelan, G. Chakkaravarthi, Synthesis, structural, electrochemical, DNA interaction, antimicrobial and molecular docking studies on dimeric copper(II) complexes involving some potential bidentate ligands, *Polyhedron* 81 (2014) 764–776. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.05.076>.
- [171] S.-H. Zhang, X.-Z. Feng, G.-Z. Li, L.-X. Jing, Z. Liu, (3,5-Dichloro-2-oxidobenzoato- $\kappa^2 O, O'$ )(1,10-phenanthroline- $\kappa^2 N, N'$ )copper(II) monohydrate, *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online* 63 (2007) m535–m536. <https://doi.org/10.1107/S160053680700195X>.
- [172] Q. Xiu-Ying, Y. Hong-Ning, O. Wen, Z. Shu-Hua, Water Chains in a Novel Copper(II) Compound [Cu(C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>)(C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>)]. 4H<sub>2</sub>O, *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry* 44 (2014) 242–246. <https://doi.org/10.1080/15533174.2013.770023>.
- [173] S.-H. Zhang, X.-Z. Feng, G.-Z. Li, L.-X. Jing, Z. Liu, (3,5-Dibromo-2-oxidobenzoato- $\kappa^2 O, O'$ )(1,10-phenanthroline- $\kappa^2 N, N'$ )copper(II) monohydrate, *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online* 63 (2007) m1156–m1157. <https://doi.org/10.1107/S1600536807012846>.
- [174] R. Loganathan, S. Ramakrishnan, E. Suresh, M. Palaniandavar, A. Riyasdeen, M.A. Akbarsha, Mixed ligand  $\mu$ -phenoxo-bridged dinuclear copper(ii) complexes with diimine co-ligands: efficient chemical nuclease and protease activities and cytotoxicity, *Dalton Transactions* 43 (2014) 6177. <https://doi.org/10.1039/c3dt52518j>.
- [175] M.T. Garland, D. Grandjean, E. Spodine, Structure of (1,10-phenanthroline)salicylaldehydatocopper(II) perchlorate, *Acta Crystallogr C* 43 (1987) 1910–1912. <https://doi.org/10.1107/S0108270187089650>.
- [176] J.-J. Nie, J.-H. Li, D.-J. Xu, Bis( $\mu$ -4-chloro-2-oxidobenzoato)bis[(1,10-phenanthroline)copper(II)] dihydrate, *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online* 66 (2010) m387–m388. <https://doi.org/10.1107/S1600536810008354>.
- [177] M. O'Connor, A. Kellett, M. McCann, G. Rosair, M. McNamara, O. Howe, B.S. Creaven, S. McClean, A. Foltyn-Arfa Kia, D. O'Shea, M. Devereux, Copper(II) Complexes of Salicylic Acid Combining Superoxide Dismutase Mimetic Properties with DNA Binding and Cleaving Capabilities Display Promising Chemotherapeutic Potential with Fast Acting *In Vitro*

Cytotoxicity against Cisplatin Sensitive and Resistant Cancer Cell Lines, *J Med Chem* 55 (2012) 1957–1968. <https://doi.org/10.1021/jm201041d>.

- [178] ZHU Wen-qing, WANG Juan, LI Zhuo, ZHAO Rong, Synthesis and Characterization of Copper Complex Based on 4-Methyl Salicylate Ligands, *Jingxi Huagong* (2014) 820–824.
- [179] T. Keškić, B. Čobeljić, M. Gruden, K. Anđelković, A. Pevec, I. Turel, D. Radanović, M. Zlatar, What Is the Nature of Interactions of  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , and  $\text{ClO}_4^-$  to Cu(II) Complexes with Girard's T Hydrazine? When Can Binuclear Complexes Be Formed?, *Cryst Growth Des* 19 (2019) 4810–4821. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00760>.
- [180] M.R. Milenković, A.T. Papastavrou, D. Radanović, A. Pevec, Z. Jagličić, M. Zlatar, M. Gruden, G.C. Vougioukalakis, I. Turel, K. Anđelković, B. Čobeljić, Highly-efficient N-arylation of imidazole catalyzed by Cu(II) complexes with quaternary ammonium-functionalized 2-acetylpyridine acylhydrazone, *Polyhedron* 165 (2019) 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.03.001>.
- [181] S. Sen, S. Mitra, D.L. Hughes, G. Rosair, C. Desplanches, Two new pseudohalide bridged di- and poly-nuclear copper(II) complexes: Synthesis, crystal structures and magnetic studies, *Polyhedron* 26 (2007) 1740–1744. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2006.12.015>.
- [182] R.N. Patel, Synthesis, characterization, and superoxide dismutase activity of two new copper(II) complexes of benzoylpyridine 4-phenylsemicarbazone, *J Coord Chem* 63 (2010) 1207–1219. <https://doi.org/10.1080/00958971003735432>.
- [183] A. Ray, S. Banerjee, Ray.J. Butcher, C. Desplanches, S. Mitra, Two new end-on azido bridged dinuclear copper(II) and cobalt(III) complexes derived from the (E)-N'-((pyridin-2-yl)methylene) acetohydrazide Schiff base ligand: Characterisation, crystal structures and magnetic study, *Polyhedron* 27 (2008) 2409–2415. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2008.04.018>.
- [184] L.-Y. Xie, Y. Zhang, H. Xu, C.-D. Gong, X.-L. Du, Y. Li, M. Wang, J. Qin, Synthesis, structure and bioactivity of  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  acylhydrazone complexes, *Acta Crystallogr C Struct Chem* 75 (2019) 927–934. <https://doi.org/10.1107/S2053229619008040>.
- [185] M.R. Milenković, A.T. Papastavrou, D. Radanović, A. Pevec, Z. Jagličić, M. Zlatar, M. Gruden, G.C. Vougioukalakis, I. Turel, K. Anđelković, B. Čobeljić, Highly-efficient N-arylation of imidazole catalyzed by Cu(II) complexes with quaternary ammonium-functionalized 2-acetylpyridine acylhydrazone, *Polyhedron* 165 (2019) 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.03.001>.
- [186] H. Hosseini-Monfared, R. Bikas, R. Szymczak, P. Aleshkevych, A.M. Owczarzak, M. Kubicki, Syntheses, crystal structures and magnetic studies of new copper(II) complexes of (E)-N'-(phenyl(pyridin-2-yl)methylene)isonicotinohydrazide containing azide and SCN anions, *Polyhedron* 63 (2013) 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.06.055>.
- [187] M.M. Fousiamol, M. Sithambaresan, V.A. Smolenski, J.P. Jasinski, M.R.P. Kurup, Halogen/azide bridged box dimer copper(II) complexes of 2-benzoylpyridine-3-methoxybenzhydrazone: Structural and spectral studies, *Polyhedron* 141 (2018) 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.11.024>.
- [188] A. Datta, K. Das, Y.-M. Jhou, J.-H. Huang, H.M. Lee, Di- $\mu$ -azido-bis({ N' -[1-(2-pyridyl)- $\kappa$  N )ethylidene]acetohydrazidato- $\kappa^2$  N ', O }dicopper(II)), *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online* 66 (2010) m1271–m1271. <https://doi.org/10.1107/S1600536810034860>.
- [189] R. Bikas, M.S. Krawczyk, T. Lis, Catalytic Activity of Azido-Bridged Dinuclear Cu(II)-Hydrazone Coordination Compound in Green Click Synthesis of 1,2,3-Triazoles, *ChemistrySelect* 5 (2020) 6759–6764. <https://doi.org/10.1002/slct.202001032>.



- [190] T. Vitomirov, B. Cobeljic, A. Pevec, D. Radanovic, I. Novakovic, M. Savic, K. Andjelkovic, M. Sumar-Ristovic, Binuclear azide-bridged hydrazone Cu(II) complex: Synthesis, characterization and evaluation of biological activity, *Journal of the Serbian Chemical Society* 88 (2023) 877–888. <https://doi.org/10.2298/JSC230623044V>.
- [191] B. Meyer, N. Ferrigni, J. Putnam, L. Jacobsen, D. Nichols, J. McLaughlin, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med* 45 (1982) 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.
- [192] J.E. Anderson, C.M. Goetz, J.L. McLaughlin, M. Suffness, A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens, *Phytochemical Analysis* 2 (1991) 107–111. <https://doi.org/10.1002/pca.2800020303>.
- [193] W.-J. Ma, E.-H. Cao, J.-F. Qin, The involvement of singlet oxygen in copper-phenanthroline/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA base damage: a chemiluminescent study, *Redox Report* 4 (1999) 271–276. <https://doi.org/10.1179/135100099101535115>.
- [194] E. Dilshad, B. Mirza, M. Shabbir, Z.-Haq, Z. Akhter, Biological evaluation of aza-heterocyclic derivatives and their intermediates, *World J Pharm Res* 3 (2014) 2111–2126.

## Prilog

**Slika P1.** UV spektri liganada 2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina i liganda **HL<sup>1</sup>** 4-(dietilamino)salicilaldehida.

**Slika P2.** UV spektri kompleksa **1** [Cu(**L<sup>1</sup>**)(bipy)]BF<sub>4</sub>·0,5H<sub>2</sub>O i kompleksa **2** [Cu<sub>2</sub>(**L<sup>1</sup>**)<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

**Slika P3.** Vis spektri kompleksa **1** [Cu(**L<sup>1</sup>**)(bipy)]BF<sub>4</sub>·0,5H<sub>2</sub>O i kompleksa **2** [Cu<sub>2</sub>(**L<sup>1</sup>**)<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

**Slika P4.** IC spektar liganda **HL<sup>1</sup>** 4-(dietilamino)salicilaldehida.

**Slika P5.** IC spektar kompleksa **1** [Cu(**L<sup>1</sup>**)(bipy)]BF<sub>4</sub>·0,5H<sub>2</sub>O.

**Slika P6.** IC spektar kompleksa **2** [Cu<sub>2</sub>(**L<sup>1</sup>**)<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

**Slika P7.** ESI-MS spektar kompleksa **1** [Cu(**L<sup>1</sup>**)(bipy)]BF<sub>4</sub>·0,5H<sub>2</sub>O.

**Slika P8.** ESI-MS spektar kompleksa **2** [Cu<sub>2</sub>(**L<sup>1</sup>**)<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

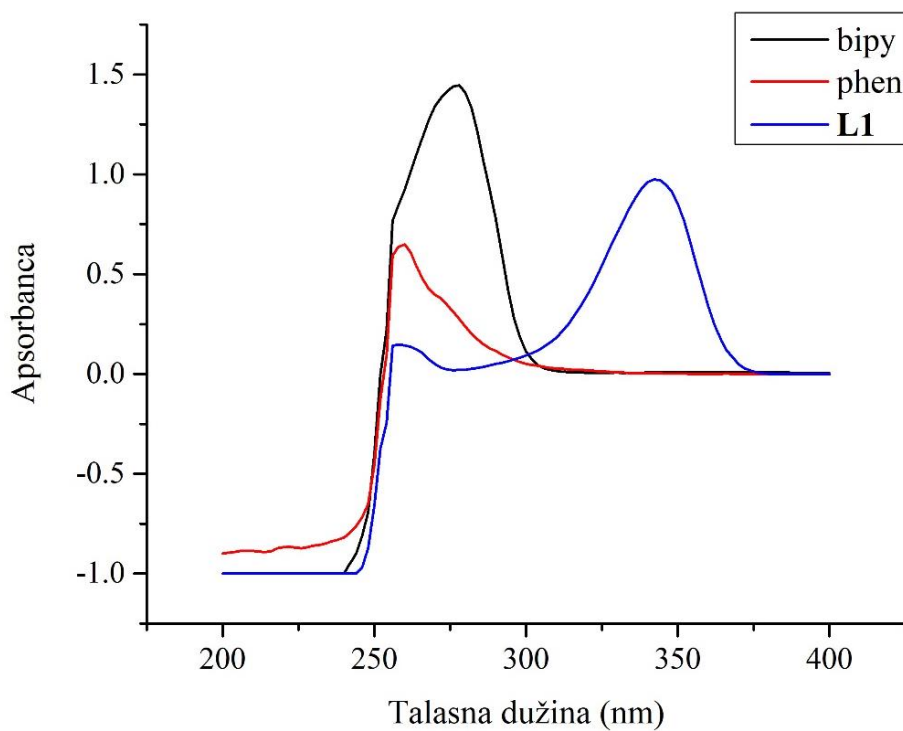
**Slika P9.** <sup>1</sup>H-NMR spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-*c*]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.

**Slika P10.** <sup>13</sup>C-NMR spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-*c*]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.

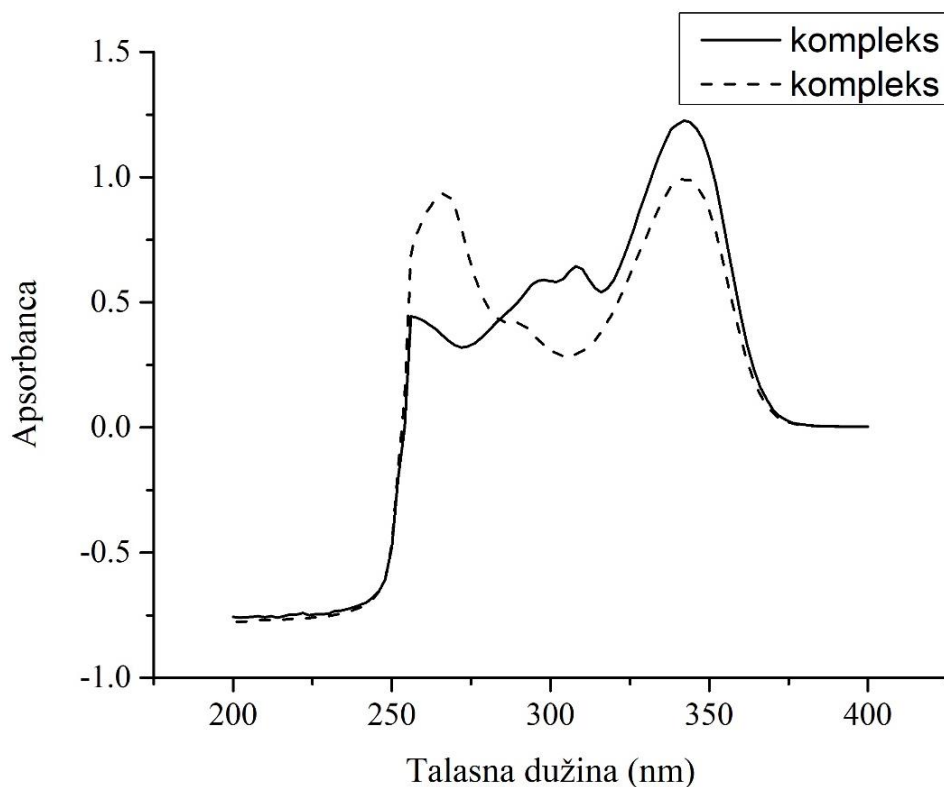
**Slika P11.** HSQC-NMR spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-*c*]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.

**Slika P12.** IC spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-*c*]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.

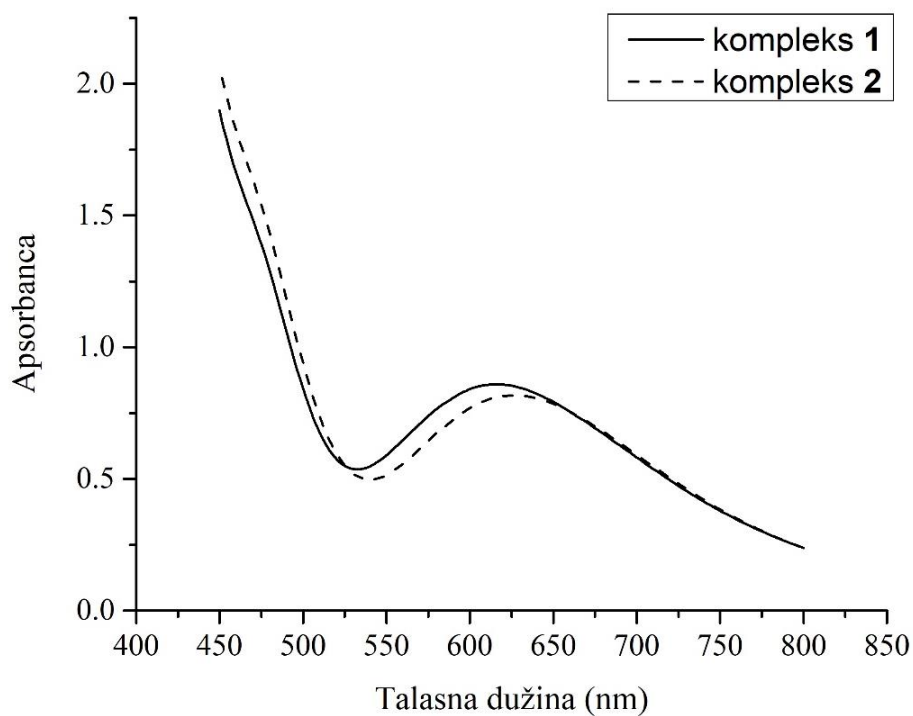
**Slika P13.** IC spektar kompleksa **3** [Cu<sub>2</sub>(**L<sup>2</sup>**)<sub>2</sub>(μ<sub>1,3</sub>-N<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.



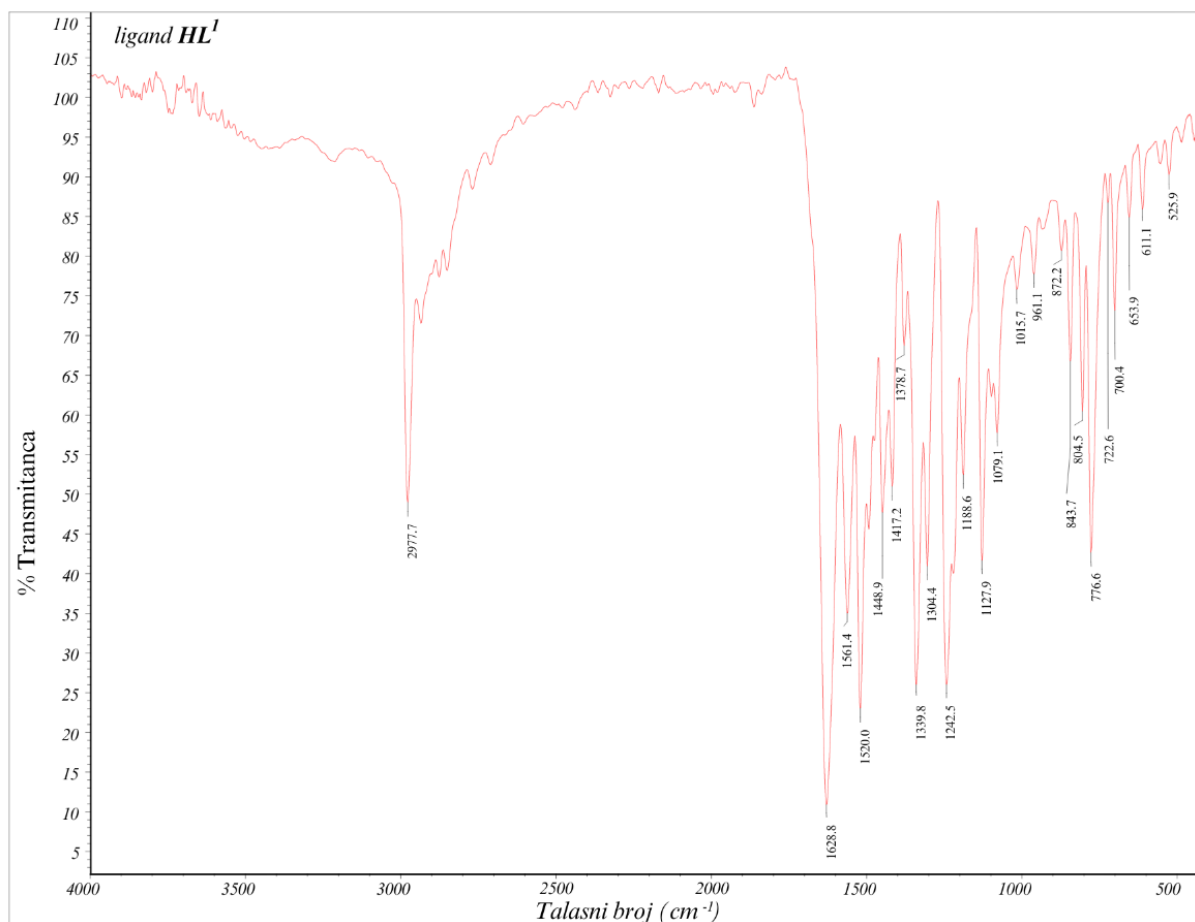
**Slika P1.** UV spektri liganada 2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina i liganda **HL<sup>1</sup>** 4-(dietilamino)salicilaldehida.



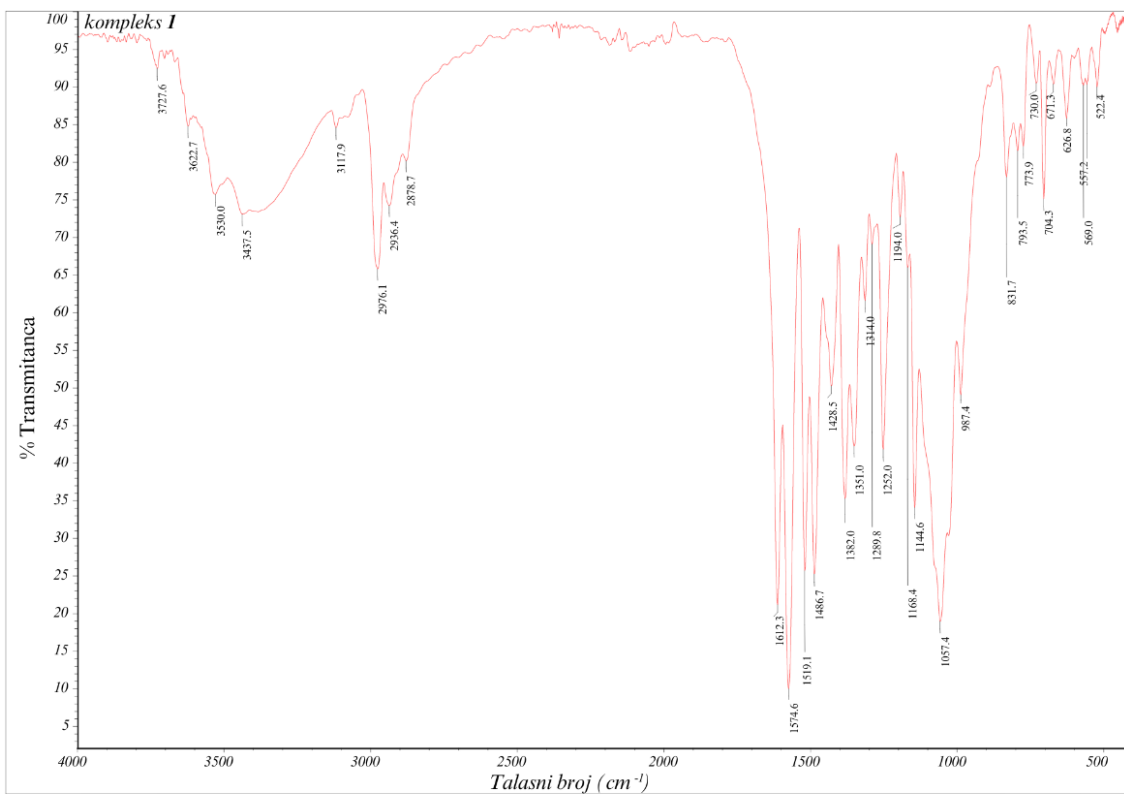
**Slika P2.** UV spektri kompleksa **1**  $[\text{Cu}(\text{L}^1)(\text{bipy})]\text{BF}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$  i kompleksa **2**  $[\text{Cu}_2(\text{L}^1)_2(\text{phen})_2](\text{BF}_4)_2$ .



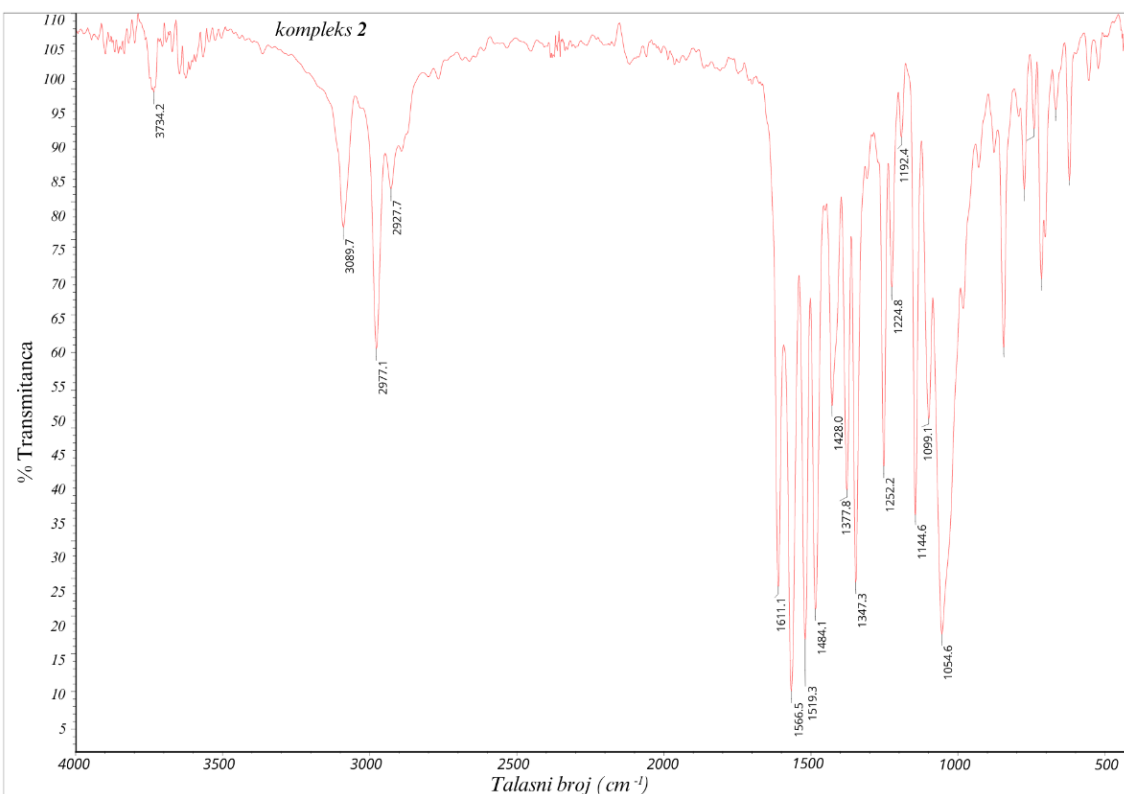
**Slika P3.** Vis spektri kompleksa **1**  $[\text{Cu}(\text{L}^1)(\text{bipy})]\text{BF}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$  i kompleksa **2**  $[\text{Cu}_2(\text{L}^1)_2(\text{phen})_2](\text{BF}_4)_2$ .



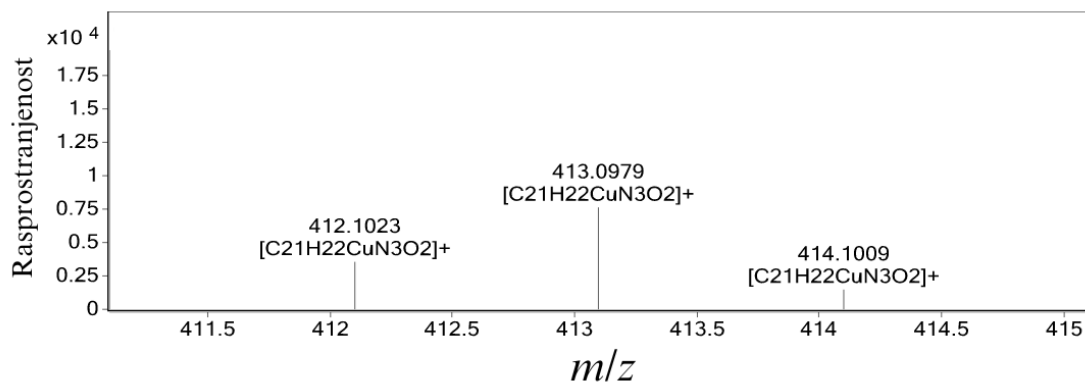
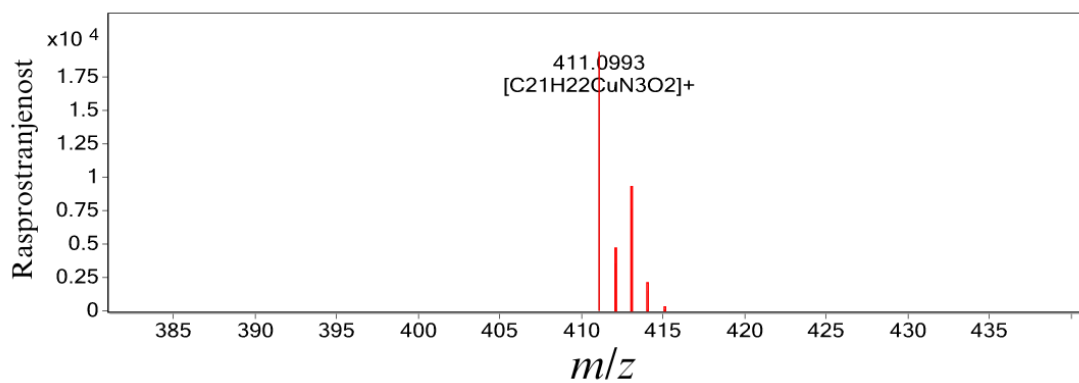
**Slika P4.** IC spektar liganda  $\text{HL}^1$  4-(dietilamino)salicilaldehida.



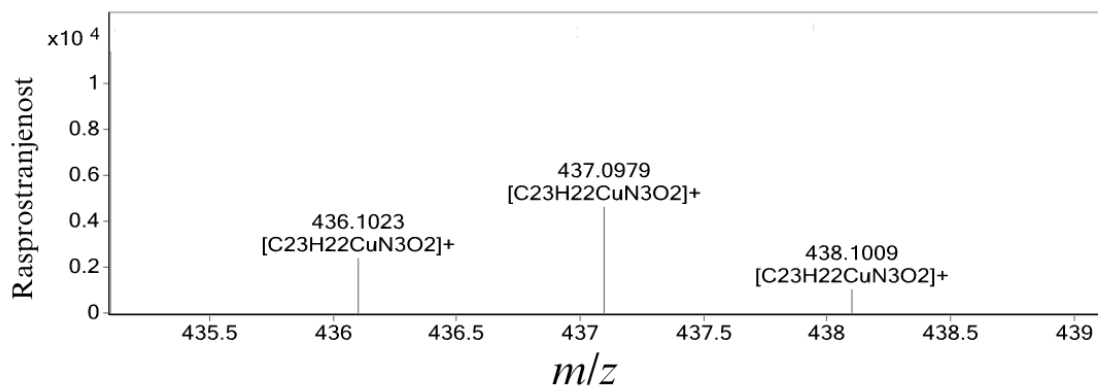
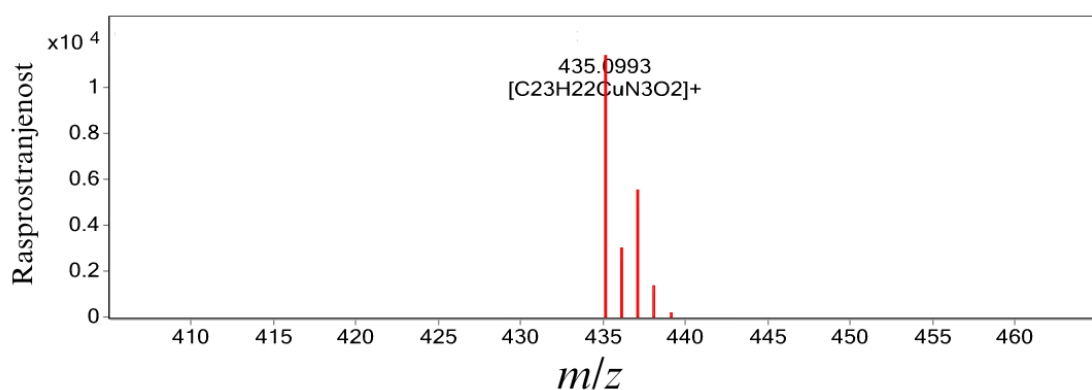
**Slika P5.** IC spektar kompleksa 1  $[\text{Cu}(\text{L}^1)(\text{bipy})]\text{BF}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ .



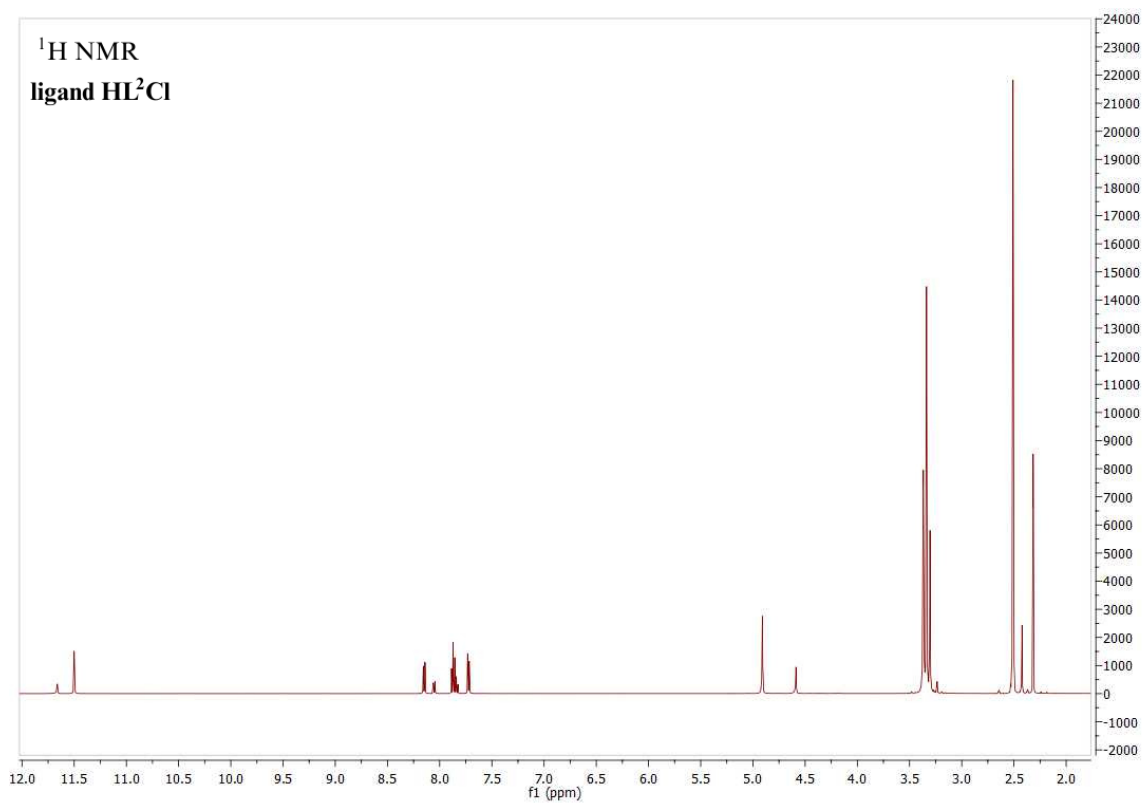
**Slika P6.** IC spektar kompleksa 2  $[\text{Cu}_2(\text{L}^1)_2(\text{phen})_2](\text{BF}_4)_2$ .



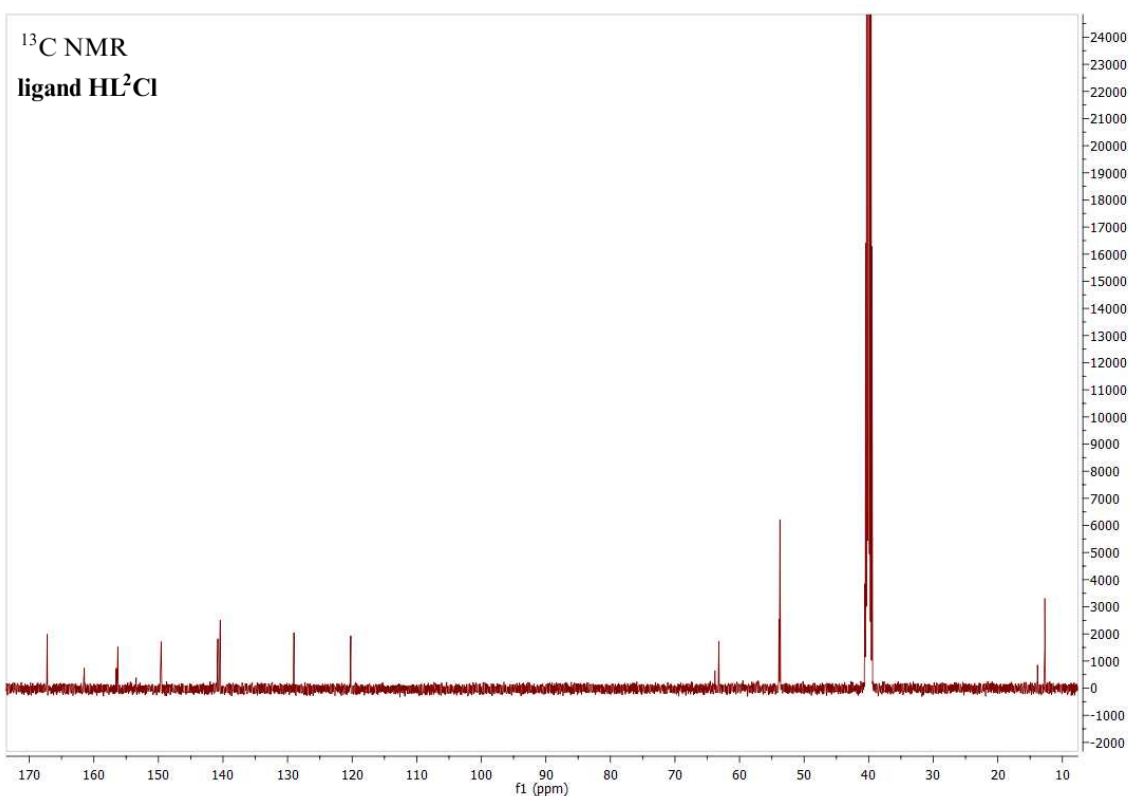
**Slika P7.** ESI-MS spektar kompleksa 1  $[Cu(L^1)(bipy)]BF_4 \cdot 0,5H_2O$ .



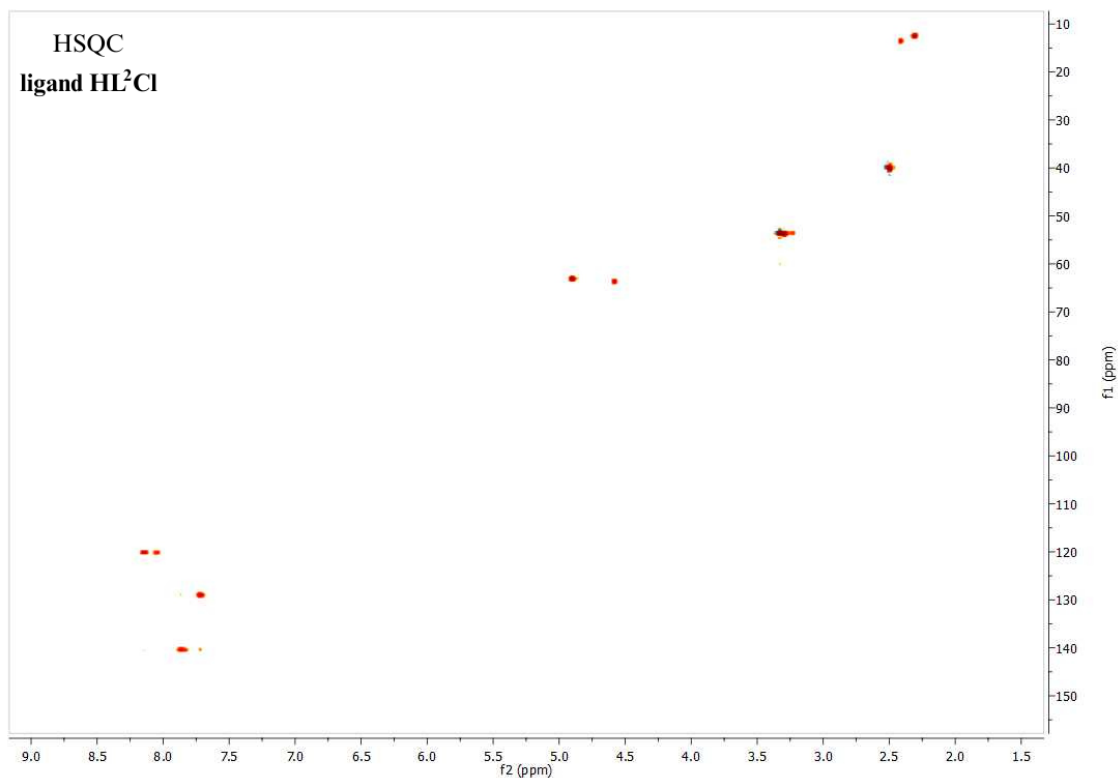
**Slika P8.** ESI-MS spektar kompleksa 2  $[Cu_2(L^1)_2(phen)_2](BF_4)_2$ .



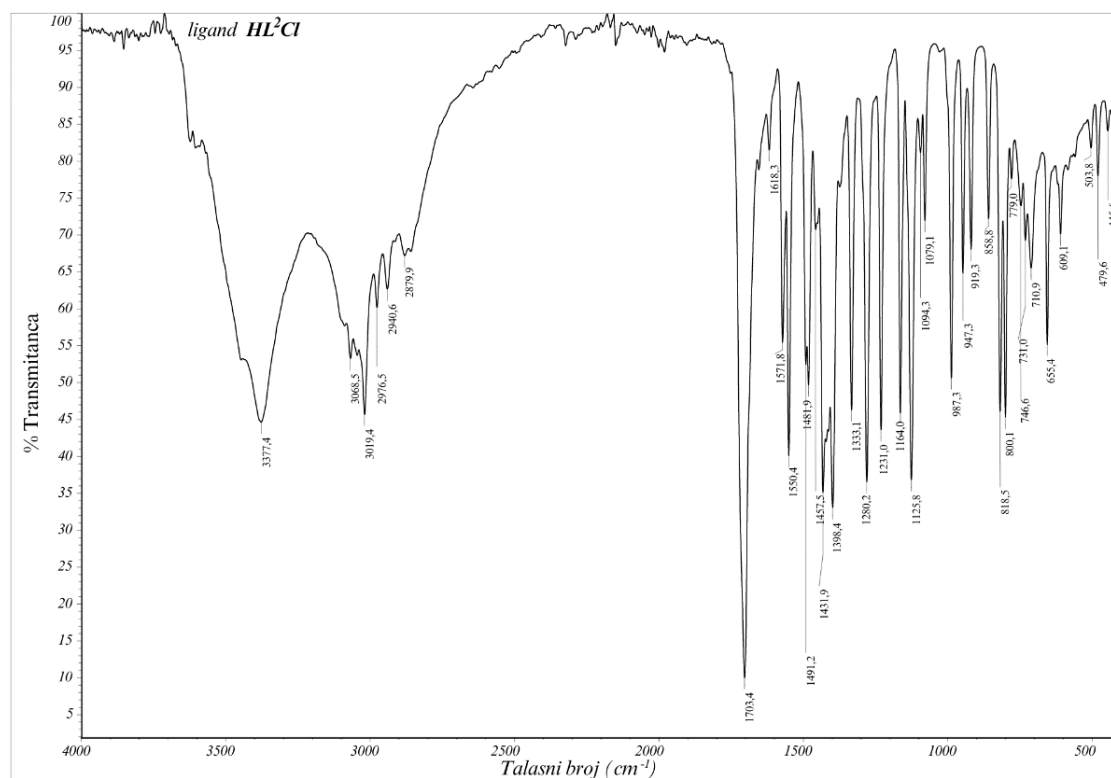
**Slika P9.** <sup>1</sup>H-NMR spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirol[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.



**Slika P10.** <sup>13</sup>C-NMR spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirol[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.

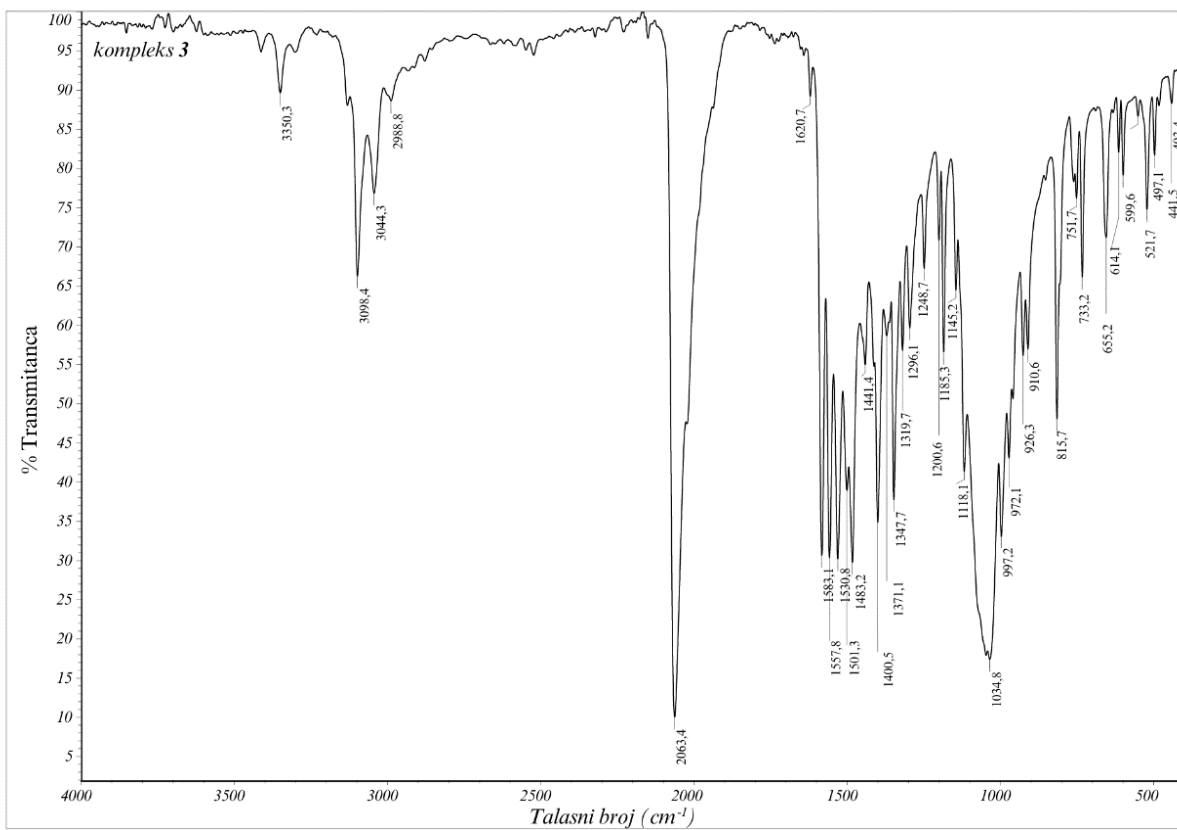


**Slika P11.** HSQC-NMR spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.



**Slika P12.** IC spektar liganda **HL<sup>2</sup>Cl** (*E*)-2-(2-(1-(1H-pirololo[2,3-c]piridin-7-il)etiliden)hidrazineil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-aminijum-hlorida.





Slika P13. IC spektar kompleksa 3  $[\text{Cu}_2(\text{L}^2)_2(\mu_{1,3}\text{-N}_3)_2](\text{BF}_4)_2$ .

## Biografija

Teodora S. Vitomirov (rođ. Dimitrijević) je rođena 11. 12. 1992. u Beogradu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju kao nosilac Vukove diplome. Studijski program „Hemija“ na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu upisala je 2011. godine, a završila 2015. godine sa prosečnom ocenom 9,68 kao najbolji student generacije navedenog studijskog programa. Završni rad pod nazivom „*Primena modifikovanih elektroda od ugljenične paste za amperometrijsko određivanje vodonik-peroksida i askorbinske kiseline*“ odbranila je na Katedri za analitičku hemiju sa ocenom 10. Master studije je završila 2016. godine sa prosečnom ocenom 10,00, a diplomski rad na temu „*Senzor za vodonik-peroksid na bazi modifikovane elektrode od ugljenične paste*“ odbranila je na Katedri za analitičku hemiju. Doktorske akademske studije upisala je 2016. godine na Katedri za opštu i neorgansku hemiju Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta.

Teodora Vitomirov je bila angažovana kao saradnik u nastavi – demonstrator, na Katedri za opštu i neorgansku hemiju Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta, od 2017. do 2018. godine, a 2018. godine izabrana je u zvanje asistenta za užu naučnu oblast Opšta i neorganska hemija. Od letnjeg semestra školske 2016/2017. godine do danas bila je saradnik u nastavi na kursevima: Praktikum iz Neorganske hemije 1 (102E1), Praktikum iz Opšte hemije (101E1), Mehanizmi neorganskih reakcija (133H1) i Odabrane oblasti neorganske hemije (149A1).

Tokom diplomskih i master studija uspešno se bavila naučnim istraživanjima što je rezultovalo koautorstvom na tri naučne publikacije (1 rad u vrhunskom međunarodnom časopisu iz kategorije M21, 1 rad u istaknutom međunarodnom časopisu iz kategorije M22 i 1 rad u međunarodnom časopisu iz kategorije M23). Za vreme trajanja doktorskih studija objavila je tri naučne publikacije (1 rad u vrhunskom međunarodnom časopisu iz kategorije M21 i 2 rada u međunarodnim časopisima iz kategorije M23). Učestvovala je na skupovima međunarodnog i nacionalnog značaja i ima ukupno 9 saopštenja sa ovih skupova (2 saopštenja u celini ili u obliku proširenog izvoda iz kategorije M33, 3 saopštenja u obliku kratkog izvoda iz kategorije M34, kao i 4 saopštenja u obliku kratkog izvoda iz kategorije M64). Prema bazi podataka „Web of Science“ za period od 2015. do marta 2024. godine, radovi u kojima je Teodora Vitomirov koautor, citirani su 106 puta (bez autocitata), h-index = 5. Tečno govori engleski i francuski, a služi se i španskim jezikom.

Dobitnik je sledećih priznanja i stipendija:

1. Specijalno priznanje Srpskog hemijskog društva za izuzetan uspeh u toku studija na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu – **2016.**
2. Diploma za najboljeg studenta na studijskom programu „Hemija“ Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu – **2015.**
3. Stipendija Fonda za mlade talente Republike Srbije za završnu godinu master studija – školska **2015/2016.**
4. Stipendija Fonda za mlade talente Republike Srbije za završnu godinu osnovnih akademskih studija – školska **2014/2015.**

## Objavljeni i saopšteni radovi koji čine deo disertacije:

### *M21 – radovi objavljeni u vrhunskim međunarodnim časopisima*

1. **T. Vitomirov**, F. Dimiza, I.Z. Matić, T. Stanojković, A. Pirković, L. Živković, B. Spremo-Potparević, I. Novaković, K. Anđelković, M. Milčić, G. Psomas, M. Šumar Ristović, *J. Inorg. Biochem.*, **235** (2022) 111942. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111942

### *M23 – radovi objavljeni u međunarodnim časopisima*

1. **T. Dimitrijević**, I. Novaković, D. Radanović, S.B. Novaković, M.V. Rodić, K. Anđelković, M. Šumar-Ristović, *J. Coord. Chem.*, **73** (2020) 702–716. DOI: 10.1080/00958972.2020.1740212
2. **T. Vitomirov**, B. Čobeljić, A. Pevec, D. Radanović, I. Novaković, M. Savić, K. Anđelković, M. Šumar-Ristović, *J. Serb. Chem. Soc.*, **88(9)** (2023) 877–888. DOI: 10.2298/JSC230623044V

### *M64 – Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu*

1. **T. Dimitrijević**, S. Selaković, M. Rodić, M. Šumar Ristović, *Synthesis and characterization of copper(II) complex with 4-(diethylamino)salicylaldehyde and 2,2'-bipyridine*, Šesta konferencija mladih hemičara Srbije, str. 51, oktobar 2018, Beograd, Srbija. ISBN 978-86-7132-072-6
2. S. Selaković, **T. Dimitrijević**, I. Novaković, M. Šumar Ristović, *Antimicrobial activity of two copper(II) complexes with 4-(diethylamino)salicylaldehyde and  $\alpha$ -diimine*, Šesta konferencija mladih hemičara Srbije, str. 88, oktobar 2018, Beograd, Srbija. ISBN 978-86-7132-072-6
3. **T. Dimitrijević**, S. Selaković, I. Novaković, M. Šumar Ristović, *Antioxidant activity of copper(II) complexes with salicylaldehyde derivatives and  $\alpha$ -diimines*, Sedma konferencija mladih hemičara Srbije, str. 122, novembar 2019, Beograd, Srbija. ISBN 978-86-7132-076-4
4. **T. Vitomirov**, T. Stanojković, I. Matić, M. Šumar Ristović, *Copper(II) complexes with 4-(diethylamino)salicylaldehyde and  $\alpha$ -diimines: Cytotoxic activity*, Osma konferencija mladih hemičara Srbije, str. 98, novembar 2022, Beograd, Srbija. ISBN 978-86-7132-080-1

## 6.1. Изјава о ауторству

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ Теодора С. Витомиров \_\_\_\_\_

Број индекса \_\_\_\_\_ ДХ17/2016 \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Синтеза и карактеризација комплекса бакра(II) са 4-(диетиламино)салицилалдехидом и дииминским лигандима“

---

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## 6.2. Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Теодора С. Витомиров

Број индекса ДХ17/2016

Студијски програм хемија

Наслов рада Синтеза и карактеризација комплекса бакра(II) са 4-(диетиламино)салицилалдехидом и дииминским лигандима

Ментор ванредни професор др Маја Шумар Ристовић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### 6.3. Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**„Синтеза и карактеризација комплекса бакра(II) са 4-(диетиламино)салицилалдехидом и дииминским лигандима“**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.