

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Milica J. Savić

**SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I ISPITIVANJE
BIOLOŠKE AKTIVNOSTI KOMPLEKSA $Zn(II)$ I
 $Mn(II)$ SA HIDRAZONIMA
HETEROAROMATIČNIH KETONA**

doktorska disertacija

Beograd, 2026.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Milica J. Savić

**SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND
INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL
ACTIVITY OF Zn(II) AND Mn(II) COMPLEXES
WITH HYDRAZONES OF HETEROAROMATIC
KETONES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026

Mentor

Vanredni profesor dr Božidar Čobeljić
Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

Članovi komisije

Redovni profesor dr Maja Gruden Pavlović
Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

Redovni profesor dr Sanja Grgurić Šipka
Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

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

Naučni savetnik dr Ivana Matić
Institut za onkologiju i radiologiju Srbije

Naučni savetnik dr Matija Zlatar
Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju

Datum odbrane _____2026.

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija urađena je na Katedri za opštu i neorgansku hemiju, Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta. Izrada ove doktorske disertacije predstavljala je put ispunjen izazovima, učenjem, profesionalnim sazrevanjem i dragocenim susretima sa ljudima koji su svojim znanjem, podrškom i poverenjem ostavili neizbrisiv trag u mom naučnom i ličnom razvoju. Svima njima dugujem iskrenu i duboku zahvalnost.

Pre svega, najdublju zahvalnost dugujem svom mentoru, dr Božidaru Čobeljiću, koji je obeležio čitav moj akademski put – od osnovnih studija, preko izrade diplomskog i master rada, pa sve do završetka doktorskih studija. Hvala Vam na ukazanom poverenju, nesebičnom deljenju znanja, strpljenju i spremnosti da u svakom trenutku zajedno tražimo odgovore na naučne izazove i prevazilazimo prepreke koje su se tokom istraživanja pojavljivale. Vaša vrata su mi uvek bila otvorena, bilo da su u pitanju bile naučne dileme ili životni izazovi, a Vaš optimizam, podrška i vera u mene davali su mi sigurnost da nijedan problem nije nerešiv. Posebno sam zahvalna što ste me podsticali da se usavršavam, učestvujem na konferencijama i gradim međunarodnu saradnju. Zahvaljujući Vašoj inicijativi ostvarena je saradnja sa Univerzitetom u Ljubljani i profesorom dr Istokom Turelom i dr Andrejem Pevecom, iz koje je proistekla i Erasmus razmena koja je značajno obogatila moje profesionalno iskustvo. Izuzetna mi je čast što sam imala priliku da učim od Vas i razvijam se uz Vaše mentorstvo.

Veliku zahvalnost dugujem dr Matiji Zlataru i prof. dr Maji Gruden Pavlović na kontinuiranoj podršci, korisnim savetima i poverenju koje su mi ukazivali tokom doktorskih studija. Posebno sam zahvalna na prilici da od samog početka doktorskih studija budem deo projekta IDEJE, što je u velikoj meri doprinelo mom profesionalnom sazrevanju i razvoju kao istraživača. Hvala Vam i na uspostavljenoj saradnji sa Univerzitetom u Groningenu i profesorom Wesleyjem Brownom, koja mi je omogućila da proširim svoje naučne vidike i steknem dragocena iskustva u međunarodnom okruženju.

Posebnu zahvalnost upućujem prof. dr Maji Šumar-Ristović i prof. dr Sanji Grgurić-Šipki, koje su još od prve godine studija svojim znanjem, posvećenošću i entuzijazmom probudile moje interesovanje za opštu i neorgansku hemiju. Hvala Vam što ste od samog početka pratile moj razvoj i bile važan deo mog naučnog puta.

Iskreno zahvaljujem dr Ireni Novaković i dr Ivani Matić na velikoj pomoći tokom izvođenja eksperimenata, brojnim stručnim savetima, izdvojenom vremenu i spremnosti da svaku nedoumicu zajedno razjasnimo. Vaše iskustvo bilo je od izuzetnog značaja za realizaciju ove doktorske disertacije.

Zahvalnost dugujem svojim koleginicama iz laboratorije – Mimi, Sneži, Neveni, Teodori i Mariji – koje su svojim vedrim duhom i međusobnom podrškom učinile da svaki radni dan bude lepši i lakši. Posebno hvala Mimi, koja me je uvela u svet nauke i nesebično prenosila svoje znanje, iskustvo i prijateljske savete. Sneži dugujem posebnu zahvalnost za zajedničke saradnje, stručna usavršavanja u inostranstvu i brojne profesionalne i prijateljske trenutke koji su obeležili jedan od najlepših perioda mog dosadašnjeg naučnog puta.

Hvala i kolegama iz druge laboratorije – Peđi, Jovani, Sanji i Mariji Šuljagić. Neki od vas su nekada bili moji asistenti, a danas ste cenjene kolege i prijatelji. Veliko mi je zadovoljstvo što sam imala priliku da učim od vas i da zajedno gradimo profesionalne i prijateljske odnose.

Od srca zahvaljujem svojim prijateljima – Jeli, Emi, Tijani, Fići, Sari, Milici, Jovani i svima koji su tokom svih ovih godina bili uz mene. Hvala vam na podršci, razumevanju i iskrenim razgovorima.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici – mami, tati, sestri i vereniku, koji su sve ove godine verovali u mene i moje snove, radovali se svakom mom uspehu i željno ga iščekivali. Posebno

sam zahvalna svojim roditeljima koji su, uprkos svim izazovima i odricanjima, učinili sve da moje obrazovanje nikada ne trpi. Njihova vera da je znanje najveća vrednost oblikovala je moj životni put i omogućila mi da ostvarim svoje snove.

Posebnu zahvalnost dugujem svom ocu. Još od detinjstva učio me je radnim navikama, upornosti i odgovornosti, a upravo smo zajedno rešavali i moje prve zadatke iz hemije. Verujem da je tada nastala ljubav prema nauci koja me je dovela do ovog trenutka.

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem svom ocu.

SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I ISPITIVANJE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI KOMPLEKSA Zn(II) I Mn(II) SA HIDRAZONIMA HETEROAROMATIČNIH KETONA

REZIME

Ispitivanja u okviru ove doktorske disertacije obuhvataju izučavanje koordinacionih i bioloških svojstava kondenzacionih proizvoda 2-acetil-6-bromopiridina, 2-acetiltiazola i 2-acetilpirazina sa Žirarovim T reagensom i sa tiosemikarbazidom kroz sintezu i potpunu strukturnu karakterizaciju njihovih kompleksa Zn(II) i Mn(II) sa različitim monodentatima (NCO^- , NCS^- i N_3^-) i bez njihovog prisustva.

Sintetisani su sledeći ligandi:

1. derivat 2-acetil-6-bromopiridina i Žirarovog T reagensa: (*E*)-2-(2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazinil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminium (**HL¹Cl**);
2. derivat 2-acetil-6-bromopiridina i tiosemikarbazida: (*E*)-2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid (**HL²**);
3. derivat 2-acetilpirazina i tiosemikarbazida: (*E*)-2-(1-(pirazin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid (**HL³**);
4. derivat 2-acetiltiazola i tiosemikarbazida: (*E*)-2-(1-(tiazol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid (**HL⁴**).

Navedeni ligandi korišćeni su za sintezu novih kompleksa:

1. $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2]$;
2. $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2](\text{BF}_4)_2$;
3. $[\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2]$;
4. $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$;
5. $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$;
6. $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2]$;
7. $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$.

Za poređenje eksperimentalnih rezultata korišćeni su prethodno sintetisani kompleksi:

8. $[\text{Zn}(\text{L}^4)_2]$;
9. $[\text{Mn}(\text{L}^4)_2]$.

Sintetisani kompleksi okarakterisani su rendgenskom strukturnom analizom, elementalnom analizom, IR spektroskopijom, UV-Vis spektroskopijom, ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom. Kristalografska analiza pokazala je da sintetisani kompleksi formiraju mononuklearne koordinacione jedinice u kojima se hidrazonski ligandi vezuju tridentatno, preko NNO ili NNS donorskog seta, pri čemu nastaju pentakoordinovane ili oktaedarske strukture u zavisnosti od prirode liganda, metalnog centra i prisustva dodatnih anjonskih liganada. Spektroskopski podaci bili su u saglasnosti sa rezultatima rendgenske strukturne analize i potvrdili su koordinaciju preko azometinskog azota i karbonilnog kiseonika ili tioamidnog sumpora. Antimikrobna aktivnost ispitana je mikrodelucionom metodom na sledećim sojevima Gram-negativnih bakterija: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Proteus hauseri* (ATCC 13315), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031); sojevima Gram-pozitivnih bakterija: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Micrococcus luteus* (ATCC 10240); i sojevima gljivica: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404); i na jednom soju kvasca: *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763). Citotoksična aktivnost ispitana je MTT testom na pet humanih malignih ćelijskih linija: ćelijama adenokarcinoma

grlića materice (HeLa), ćelijama mijeloidne leukemije (K562), ćelijama adenokarcinoma dojke (MDA-MB-231), ćelijama adenokarcinoma debelog creva (LS 174T) i ćelijama karcinoma pluća (A549), kao i na ćelijama normalnih humanih fibroblasta (MRC-5). Biološka ispitivanja pokazala su da kompleksiranje hidrazonskih liganada sa Zn(II) i Mn(II) jonima značajno utiče na antimikrobnu i citotoksičnu aktivnost, pri čemu su pojedini kompleksi pokazali izraženiju aktivnost i povoljniju selektivnost u odnosu na odgovarajuće slobodne ligande. Za procenu stabilnosti kompleksa u rastvoru primenjeni su DFT proračuni, dok su za odabrane komplekse korišćeni i TDDFT proračuni radi interpretacije elektronskih apsorpcionih spektara. Dobijeni rezultati ukazuju na značaj racionalnog dizajna hidrazonskih kompleksa Zn(II) i Mn(II) kao potencijalno bioaktivnih koordinacionih sistema.

Ključne reči: hidrazonski ligandi, Zn(II) kompleksi, Mn(II) kompleksi, kristalna struktura, antimikrobna aktivnost, citotoksični efekat, teorijski proračuni.

Naučna oblast: Neorganska hemija

Uža naučna oblast: Koordinaciona hemija

UDK broj: 546

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF Zn(II) AND Mn(II) COMPLEXES WITH HYDRAZONES OF HETEROAROMATIC KETONES

SUMMARY

Investigations within this doctoral dissertation include the study of the coordination and biological properties of the condensation products of 2-acetyl-6-bromopyridine, 2-acetylthiazole and 2-acetylpyrazine with Girard's T reagent and with thiosemicarbazide through the synthesis and complete structural characterization of their Zn(II) and Mn(II) complexes with different monodentates (NCO^- , NCS^- and N_3^-) and without their presence.

The following ligands were synthesized:

1. derivative of 2-acetyl-6-bromopyridine and Girard's T reagent: (*E*)-2-(2-(1-(6-bromopyridin-2-yl)ethylidene)hydrazineyl)-*N,N,N*-trimethyl-2-oxoethan-1-aminium (**HL**¹Cl);
2. derivative of 2-acetyl-6-bromopyridine and thiosemicarbazide: (*E*)-2-(1-(6-bromopyridin-2-yl)ethylidene)hydrazine-1-carbothioamide (**HL**²);
3. derivative of 2-acetylpyrazine and thiosemicarbazide: (*E*)-2-(1-(pyrazin-2-yl)ethylidene)hydrazine-1-carbothioamide (**HL**³);
4. derivative of 2-acetylthiazole and thiosemicarbazide: (*E*)-2-(1-(thiazol-2-yl)ethylidene)hydrazine-1-carbothioamide (**HL**⁴).

The mentioned ligands were used for the synthesis of new complexes:

1. $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2]$;
2. $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2](\text{BF}_4)_2$;
3. $[\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2]$;
4. $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$;
5. $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$;
6. $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2]$;
7. $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$.

Previously synthesized complexes were used to compare the experimental results:

8. $[\text{Zn}(\text{L}^4)_2]$;
9. $[\text{Mn}(\text{L}^4)_2]$.

The synthesized complexes were characterized by X-ray structural analysis, elemental analysis, IR spectroscopy, UV-Vis spectroscopy, ¹H NMR and ¹³C NMR spectroscopy. Crystallographic analysis showed that the synthesized complexes form mononuclear coordination units in which the hydrazone ligands bind tridentately, through the NNO or NNS donor set, resulting in pentacoordinated or octahedral structures depending on the nature of the ligand, the metal center and the presence of additional anionic ligands. The spectroscopic data were in agreement with the results of X-ray structural analysis and confirmed the coordination via azomethine nitrogen and carbonyl oxygen or thioamide sulfur. Antimicrobial activity was tested by the microdilution method on the following strains of Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Proteus hauseri* (ATCC 13315), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031); strains of Gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Micrococcus luteus* (ATCC 10240); and fungal strains: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404); and on one yeast strain: *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763). Cytotoxic activity was tested by MTT test on five human malignant cell lines: cervical adenocarcinoma cells (HeLa), myeloid leukemia cells

(K562), breast adenocarcinoma cells (MDA-MB-231), colon adenocarcinoma cells (LS 174T) and lung carcinoma cells (A549), as well as on normal human fibroblast cells (MRC-5). Biological tests showed that the complexation of hydrazone ligands with Zn(II) and Mn(II) ions significantly affects the antimicrobial and cytotoxic activity, whereby certain complexes showed more pronounced activity and more favorable selectivity compared to the corresponding free ligands. DFT calculations were used to evaluate the stability of the complex in solution, while TDDFT calculations were used for the selected complexes to interpret the electronic absorption spectra. The obtained results indicate the importance of the rational design of Zn(II) and Mn(II) hydrazone complexes as potentially bioactive coordination systems.

Key words: hydrazone ligands, Zn(II) complexes, Mn(II) complexes, crystal structure, antimicrobial activity, cytotoxic effect, theoretical calculations.

Scientific field: Inorganic chemistry

Scientific subfield: Coordination chemistry

UDC number: 546

Lista skraćenica

ATR – tehnika oslabljene totalne refleksije (engl. Attenuated Total Reflection)

CCDC – jedinstveni broj deponovane kristalne strukture (engl. Cambridge Crystallographic Data Centre)

CFU/ml – jedinice koje formiraju kolonije po mililitru (engl. colony-forming units per milliliter)

COSMO – solvatacioni model (engl. Conductor-like Screening Model)

COX – ciklooksigenaza

DFT – teorija funkcionala gustine (engl. Density Functional Theory)

DMSO – dimetil-sulfoksid

DMSO-*d*₆ – deuterisani dimetil-sulfoksid

FabH – β-ketoacil-ACP sintaza III

FBS – fetalni goveđi serum (engl. Fetal Bovine Serum)

FDA – Američka Agencija za hranu i lekove (engl. Food and Drug Administration)

FT-IR – infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (engl. Fourier Transform Infrared spectroscopy)

HEPES – 4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansulfonat (pH stabilizujući pufer)

HL¹Cl – (*E*)-2-(2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazinil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminium

HL² – (*E*)-2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid

HL³ – (*E*)-2-(1-(pirazin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid

HL⁴ – (*E*)-2-(1-(tiazol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid

IC₅₀ – inhibitorna koncentracija (engl. Inhibitory concentration)

MeOH – metanol

MIK – minimalna inhibitorna koncentracija (engl. Minimum inhibitory concentration)

MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum bromid

MtDXR – 1-deoksi-D-ksilulozo 5-fosfat reduktaza iz *Mycobacterium tuberculosis*

NAD⁺ – nikotinamid adenin dinukleotid

NADP⁺ – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NAH – N-acil hidrazoni

NMR – nuklearno magnetna rezonanca (engl. Nuclear magnetic resonance)

ORTEP – reprezentacija molekulske strukture dobijene rendgenskom strukturnom analizom (engl. Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot)

PI – propidijum jodid

ROS – reaktivne kiseonične vrste (engl. Reactive Oxygen Species)

RPMI – kultivacioni medijum za ćelije

SMD – implicitni model solvatacije (engl. Solvation Model based on Density)

SOD – superoksid dismutaza

TDDFT – vremenski zavisna teorija funkcionala gustine (engl. Time-Dependent Density Functional Theory)

TZP – tip baznog seta u DFT proračunima (engl. Triple-Zeta plus Polarization)

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

WHO – svetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization)

XRD – difrakcija X-zraka (engl. X-ray Diffraction)

ZORA – regularna aproksimacija nultog reda (engl. Zeroth-Order Regular Approximation)

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	OPŠTI DEO	3
2.1.	Tipovi hidrazonskih liganada	3
2.2.	Kompleksi sa piridinil-hidrazonskim ligandom	5
2.3.	Kompleksi sa tiazolil-hidrazonskim ligandom	12
2.4.	Kompleksi sa pirazinil-hidrazonskim ligandom	17
2.5.	Koordinaciona svojstva i biološki značaj cinka i mangana	23
3.	EKSPERIMENTALNI DEO	26
3.1.	Materijal i metode	26
3.1.1.	Hemikalije i reagensi	26
3.1.2.	Elementalna analiza	26
3.1.3.	Spektroskopska karakterizacija	26
3.2.	Sinteza liganada	26
3.2.1.	Sinteza liganda HL¹Cl (<i>E</i>)-2-(2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazinil)- <i>N,N,N</i> -trimetil-2-oksoetan-1-aminium	26
3.2.2.	Sinteza liganda HL² (<i>E</i>)-2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid	27
3.2.3.	Sinteza liganda HL³ (<i>E</i>)-2-(1-(pirazin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid	27
3.2.4.	Sinteza liganda HL⁴ (<i>E</i>)-2-(1-(tiazol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid	28
3.3.	Sinteza kompleksa	28
3.3.1.	Sinteza kompleksa 1 [ZnL ¹ (NCO) ₂]	28
3.3.2.	Sinteza kompleksa 2 [Zn(L ¹) ₂](BF ₄) ₂	28
3.3.3.	Sinteza kompleksa 3 [ZnL ¹ (N ₃) ₂]	29
3.3.4.	Sinteza kompleksa 4 [Zn(L ²) ₂]	29
3.3.5.	Sinteza kompleksa 5 [Mn(L ²) ₂]	30
3.3.6.	Sinteza kompleksa 6 [Mn(L ³) ₂] · ½H ₂ O	30
3.3.7.	Sinteza kompleksa 7 [ZnL ⁴ (NCS)(H ₂ O)]	30
3.4.	Biološka aktivnost	31
3.4.1.	Antimikrobna aktivnost	31
3.4.2.	Citotoksična aktivnost	31
3.4.3.	Analiza ćelijskog ciklusa protočnom citometrijom	32
3.4.4.	FITC Annexin V/propidijum-jodid (PI) bojenje – analiza protočnom citometrijom	32
3.4.5.	Merenje intraćelijskih nivoa reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) protočnom citometrijom	33
3.5.	XRD analiza	33
3.5.1.	Rendgenska strukturna analiza kompleksa	33
3.6.	Teorijski proračuni	37

3.6.1.	DFT proračuni stabilnosti kompleksa u rastvoru	37
3.6.2.	TDDFT proračuni	38
3.6.3.	Konceptualni DFT.....	38
3.6.4.	Analiza interakcija između fragmenata.....	38
3.6.5.	Molekulski doking	39
4.	REZULTATI I DISKUSIJA	41
4.1.	Sinteze	41
4.2.	Opis i analiza kristalnih struktura kompleksa 1–7	48
4.3.	Rezultati teorijskih proračuna	58
4.3.1.	DFT proračuni stabilnosti kompleksa u rastvoru	58
4.3.2.	Konceptualni DFT deskriptori kompleksa 1–3	60
4.3.3.	TDDFT analiza elektronskih prelaza kompleksa 7 i 8	65
4.4.	Biološka aktivnost	66
4.4.1.	Antimikrobna aktivnost.....	66
4.4.2.	Molekulski doking kompleksa 1–3	70
4.4.3.	Citotoksična aktivnost.....	72
4.4.4.	Uticaj na ćelijski ciklus.....	76
4.4.5.	Uticaj na ćelijsku smrt.....	79
4.4.6.	Efekti cinkovog i manganovih kompleksa na intraćelijski nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) u MRC-5 ćelijama	81
5.	ZAKLJUČAK	84
6.	REFERENCE.....	87
7.	PRILOZI	103
8.	BIOGRAFIJA	127

1. UVOD

Jedinjenja na bazi hidrazona, koja karakteriše prisustvo azometinske (ili iminske) grupe ($R_1R_2C=N-R_3$), kao i njihovi odgovarajući metalni kompleksi, predstavljaju jednu od najintenzivnije proučavanih klasa bioaktivnih jedinjenja. U zavisnosti od prirode supstituenata R_1 , R_2 i R_3 , odnosno od prisustva dodatnih donorskih atoma i mogućnosti tautomerizacije/deprotonacije, hidrazoni mogu pokazivati različite načine koordinovanja – bidentatno, tridentatno ili tetradentatno. Pri tome kao donorski atomi najčešće učestvuju N, O i/ili S, omogućavajući formiranje stabilnih kompleksa sa metalnim jonima [1]. Zbog svog raznovrsnog farmakološkog potencijala i jednostavne sinteze, ova jedinjenja su predmet brojnih istraživanja. Istraživanja hidrazona kao dijagnostičkih i terapijskih agenasa zasnivaju se na optimizaciji ovih jedinjenja u smislu selektivnosti i biokompatibilnosti, što bi unapredilo njihovu praktičnu primenu [2].

Poseban izazov u savremenoj medicini predstavljaju maligne bolesti i rastuća rezistencija mikroorganizama na postojeće antibiotike [3]. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (WHO) i globalnim procenama GLOBOCAN-a za 2022. godinu, maligne bolesti su vodeći uzrok smrtnosti, odgovorne za jedan od svakih šest smrtnih slučajeva [4]. U tom kontekstu, razvoj novih bioaktivnih metalnih kompleksa baziranih na hidrazonima ima potencijal da ponudi alternativne terapijske pristupe.

Posebno su interesantni kompleksi $Zn(II)$ i $Mn(II)$ sa hidrazonskim ligandima, jer ovi biometali već imaju potvrđene uloge u ključnim biohemijskim procesima. Cink je esencijalan mikroelement prisutan u katalitičkim centrima više od 300 enzima, gde učestvuje u regulaciji transkripcije, sintezi proteina i imunskom odgovoru [5-7]. $Zn(II)$ kompleksi su interesantni za razvoj bioaktivnih jedinjenja pokazujući potencijal u lečenju malignih oboljenja zahvaljujući svojoj niskoj toksičnosti, redoks stabilnosti i izraženoj biokompatibilnosti [8]. Kompleksi $Zn(II)$ sa hidrazonima pokazali su značajnu antimikrobnu, antifungalnu i antitumorsku aktivnost, pri čemu se često ističe poboljšana selektivnost i smanjena toksičnost u odnosu na slobodne ligande [9]. S druge strane, mangan je kofaktor brojnih oksidoredukcionih enzima, uključujući superoksid dismutazu, čime doprinosi antioksidativnoj zaštiti ćelija i homeostazi oksidativnog stresa [10]. Hidrazonski kompleksi $Mn(II)$ pokazali su izraženu antimikrobnu, antifungalnu i citotoksičnu aktivnost, često uporedivu sa standardnim lekovima poput cisplatine ili amfotericina B [11].

Imajući u vidu navedena farmakološki značajna svojstva ovih jedinjenja, cilj ove teze jeste sinteza i karakterizacija novih kompleksa $Zn(II)$ i $Mn(II)$ sa hidrazonima heteroaromatičnih ketona, uz detaljno ispitivanje njihove biološke aktivnosti. Posebna pažnja posvećena je tridentatnim načinima koordinacije, pri kojima NNO i NNS donorski setovi omogućavaju formiranje dva stabilna spojena petočlana helatna prstena. Na taj način mogu nastati bis-ligandni kompleksi, dok dodatak ko-liganada, poput azida i tiocijanata, omogućava formiranje mono-ligandnih kompleksa u kojima je koordinaciona sfera jona cinka(II) i mangana(II) dopunjena monodentatnim ligandima.

Hipoteze rada su:

- Da će koordinacija hidrazonskih liganada sa $Zn(II)$ i $Mn(II)$ dovesti do formiranja stabilnih kompleksa sa specifičnim strukturnim svojstvima.
- Da će dobijeni kompleksi pokazati izraženiju biološku aktivnost u odnosu na slobodne ligande, zahvaljujući sinergiji metalnog centra i hidrazonskog fragmenta.
- Da će rezultati doprineti razumevanju odnosa struktura–aktivnost ovih jedinjenja i potencijalno otvoriti put ka razvoju novih terapijskih kandidata.

- Da će DFT proračuni doprineti proceni/podržati tumačenje stabilnosti formiranih kompleksa u ispitivanom rastvoru.

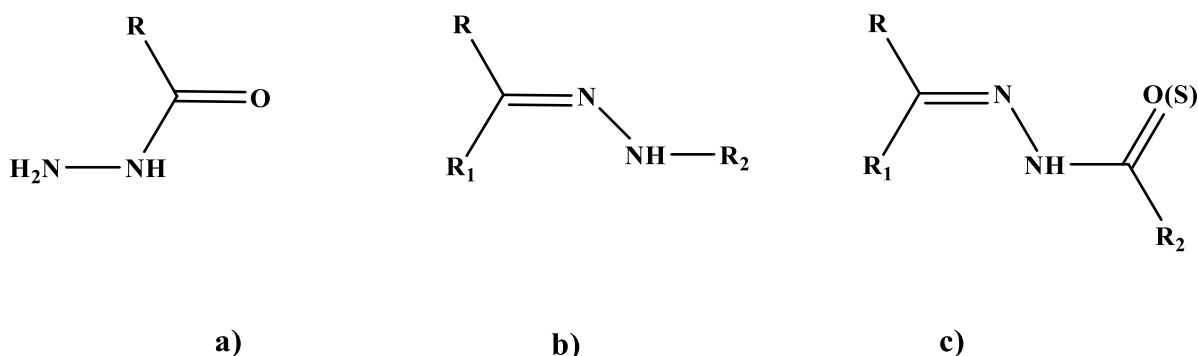
Teza je organizovana u sledeće celine:

- U prvom delu (OPŠTI DEO) prikazan je teorijski okvir i pregled literature o hidrazonima i njihovim kompleksima sa piridinskim, tiazolskim i pirazinskim ligandima, kao i biološki aktivnih jedinjenja koja u svojoj strukturi sadrže pomenute fragmente. Takođe, pomenuta je uloga Zn(II) i Mn(II) kao bioelemenata u ključnim procesima u organizmu.
- U drugom delu rada (EKSPERIMENTALNI DEO) detaljno su opisani postupci sinteze liganada i kompleksnih jedinjenja, kao i primenjene metode strukturne karakterizacije, teorijskih proračuna i ispitivanja biološke aktivnosti.
- Treći deo (REZULTATI I DISKUSIJA) predstavlja rezultate spektroskopske karakterizacije i rendgenske strukturne analize sintetisanih kompleksnih jedinjenja, kao i rezultate ispitivanja antimikrobne i citotoksične aktivnosti.
- Završni deo rada (ZAKLJUČAK) sadrži sistematizovane ključne uvide i istaknute doprinose sprovedenog istraživanja.

2. OPŠTI DEO

2.1. Tipovi hidrazonskih liganada

Hidrazidi, hidrazoni i hidrazid-hidrazoni (prikazani na šemi 1) predstavljaju značajnu klasu organskih jedinjenja koja sadrže azot kao ključni heteroatom, što im omogućava raznovrsnu reaktivnost i široku primenu u organskoj sintezi, medicinskoj hemiji, dizajnu lekova, koordinacionoj i supramolekularnoj hemiji [12-15]. Njihova međusobna povezanost proizilazi iz hemijskih transformacija koje omogućavaju prelazak iz jedne klase jedinjenja u drugu, što doprinosi strukturnoj raznolikosti i mogućnosti finog podešavanja fizičko-hemijskih i bioloških svojstava.

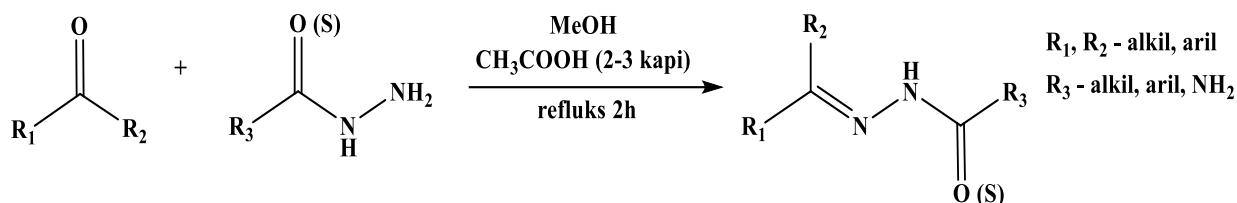


Šema 1. a) Struktura segmenata hidrazida, b) hidrazona i c) hidrazid-hidrazona

Hidrazidi su derivati karboksilnih kiselina koji kao funkcionalnu grupu sadrže --C=O--NH--NH_2 (šema 1. a). Nastaju reakcijom karboksilnih kiselina ili njihovih derivata (najčešće hlorida, estara ili anhidrida) sa hidrazinom (N_2H_4). Opšta formula hidrazida može se predstaviti kao R--C=O--NH--NH_2 , gde R predstavlja organski ostatak (alkilni, arilni ili heteroarilni). Dva direktno povezana azotova atoma u strukturi pretežno su odgovorna za interakcije sa određenim enzimima i receptorima [16]. Hidrazidi su značajni kao intermedijeri u sintezi raznovrsnih jedinjenja, zahvaljujući prisustvu nukleofilnih i elektrofilnih centara [17]. Oni lako ulaze u kondenzacione reakcije sa karbonilnim jedinjenjima, pri čemu se formiraju hidrazoni.

Hidrazoni predstavljaju klasu jedinjenja koja nastaje kondenzacijom hidrazina (ili njihovih derivata) sa aldehidima ili ketonima stvarajući --C=N--NH-- fragment (šema 1. b). Oni su fleksibilni u sintezi i korisni u medicinskoj hemiji, što pokazuju brojni primeri sinteze i ispitivanja biološke aktivnosti hidrazona (u domenu antibakterijske, antitumorske aktivnosti itd.). Opšta struktura hidrazona prikazuje se formulom $\text{RR}_1\text{--C=N--NH--R}_2$, pri čemu priroda supstituenata na R-mestima značajno determiniše varijacije u njihovoj biološkoj aktivnosti. Hidrazoni se takođe široko primenjuju kao ligandi u koordinacionoj hemiji, kao i u dizajnu senzora zbog mogućnosti reverzibilne reakcije sa karbonilnim jedinjenjima [18,19]. Hidrazoni poseduju nukleofilne azotove atome i ugljenikov atom koji može delovati i kao elektrofil i kao nukleofil zbog C=N veze konjugovane sa slobodnim elektronskim parom na atomu azota. Takođe, prisustvo kiselog N-H protona značajno doprinosi reaktivnosti i međumolekulskim interakcijama ovih jedinjenja, prvenstveno kroz formiranje intermolekulskih vodoničnih veza tipa $\text{N--H}\cdots\text{O=C}$. Pored toga, stabilizacija elektronske strukture ostvaruje se putem orbitalnih donor-akceptor interakcija (npr. $\pi\rightarrow\pi^*$, $n\rightarrow\sigma^*$ i $n\rightarrow\pi^*$), kao i kroz delokalizaciju elektronske gustine, što dodatno utiče na stabilnost i reaktivnost molekula [20]. Zbog njihovih farmakoloških i bioloških karakteristika, hidrazoni su ključni prekursori pri sintezi heterocikličnih molekula [20].

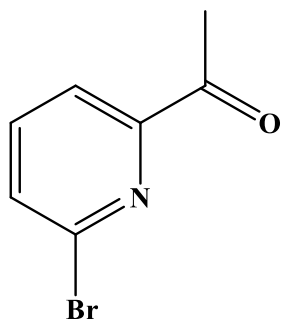
Hidrazid-hidrazoni predstavljaju klasu strukturno složenih jedinjenja koja u okviru istog molekula objedinjuju karakteristike hidrazida i hidrazona, tj. imaju fragment $-C=N-NH-CO(S)-$ (šema 1. c). Ova jedinjenja, poznata pod nazivom N-acil hidrazoni (NAH), predstavljaju specifičnu klasu hidrazonskih derivata kod kojih je azotov atom hidrazonske grupe supstituisan acilnim fragmentom. Dobijaju se reakcijom hidrazida sa aldehidima ili ketonima, što čini most između ova dva funkcionalna sistema (šema 2). Ova klasa jedinjenja je posebno interesantna jer kombinuje reaktivnost obe funkcionalne grupe: amidne i iminske, što omogućava dodatne modifikacije i interakcije sa biološkim sistemima, naročito u smislu antitumorskih svojstava [21-24].



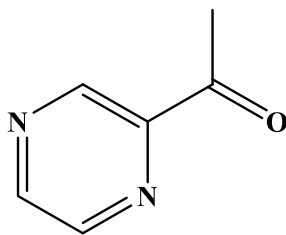
Šema 2. Opšta reakcija sinteze hidrazid-hidrazona

Zbog ove dualne prirode, hidrazid-hidrazoni su često prisutni u dizajnu bioaktivnih molekula, kao i u razvoju novih koordinacionih kompleksa i senzora. Mogu pokazivati jaču biološku aktivnost u odnosu na odgovarajuće hidrazide ili hidrazone, zahvaljujući sinergiji funkcionalnih grupa [25]. Trenutno, neki lekovi koji se koriste u lečenju, kao što su Furazolidon (antibiotik, antiprotozoik), Nitrofurazon (antibiotik), Nifuroksazid (anti-infektiv) i Aldoksorubicin (hemioterapeutik), sadrže hidrazid-hidrazonski fragment kao farmakoforu [26-28]. Pored širokog spektra aktivnosti, hidrazid-hidrazoni su veoma korisni intermedijeri u sintezi heterocikličnih molekula kao što su 1,3-tiazolidin-4-oni [29], 2-azetidinoni [30], 1,3,4-oksadiazolini [31]. Takođe, ova klasa jedinjenja pokazala je potencijal da moduliše ključne biohemijske puteve uključene u inflamatorne procese. Njihova strukturna raznolikost omogućava fino podešavanje farmakokinetičkih i farmakodinamičkih svojstava za razvoj derivata sa ciljanim dejstvom. Farmakofora koja sadrži N-acil hidrazonsku grupu odgovorna je za vezivanje i inhibiciju izoformi COX-1 (ciklooksigenaze-1) i COX-2 (ciklooksigenaze-2) čime se ostvaruje antiinflamatorni efekat [32-36].

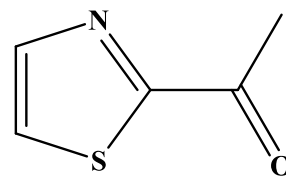
Uzimajući u obzir multifunkcionalno dejstvo i jedinstvena svojstva hidrazid-hidrazona, u okviru ove disertacije sintetisana je serija hidrazonskih derivata na bazi 2-acetil-6-bromopiridina, 2-acetiltiazola, i 2-acetilpirazina sa Žirarovim T reagensom i tiosemikarbazidom (šema 3).



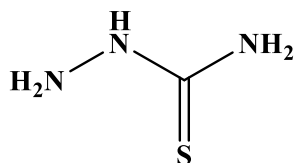
2-acetil-6-bromopiridin



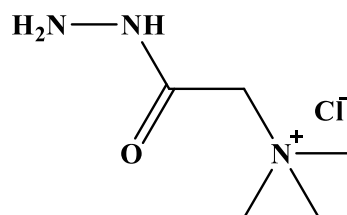
2-acetilpirazin



2-acetiltiazol



tiosemikarbazid



Žirarov T reagens

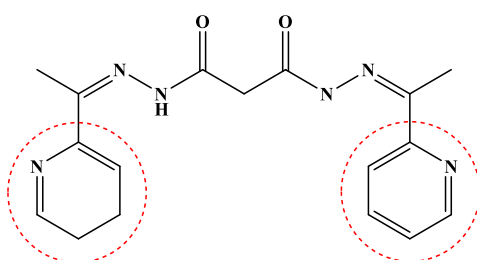
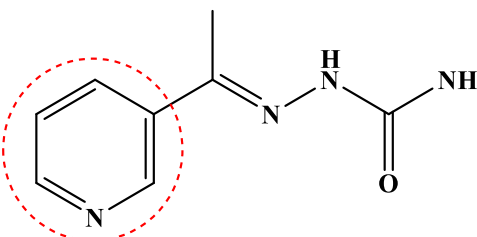
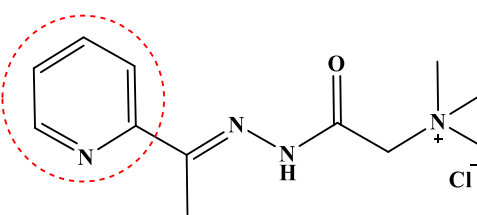
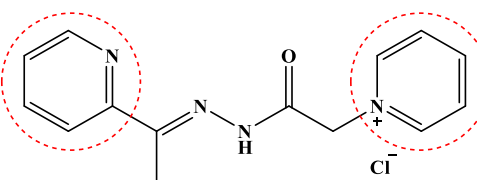
Šema 3. Prekursori korišćeni za sintezu liganada $\text{HL}^1\text{Cl}-\text{HL}^4$

2.2. Kompleksi sa piridinil-hidrazonskim ligandom

Većina azotnih heterocikličnih jedinjenja je biološki aktivna i često se koristi u dizajnu lekova. Šestočlani heteroaromatični prsten, posebno **piridinski**, prisutan je u važnim biološkim molekulima poput alkaloida (nikotin), vitamina (niacin, B3; piridoksin, B6), i koenzima (NAD^+ , NADP^+) [37]. Prema podacima FDA (Agencija za hranu i lekove, SAD), oko 60 % lekova sadrži azotne heterociklične strukture [38]. Takođe u jednoj od analiza FDA-odobrenih lekova iz perioda 2014–2023 identifikovani su lekovi koji sadrže piridinske prstenove, što pokazuje učestalost ove vrste azotnih heterocikličnih struktura [39].

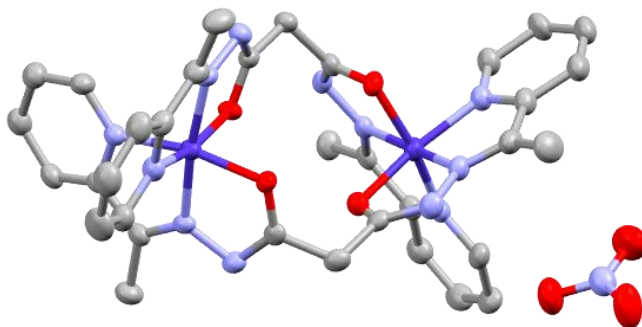
Piridinilhidrazoni iz tog razloga predstavljaju zanimljivu klasu liganada jer u svojoj strukturi kombinuju piridinski prsten sa hidrazonskom funkcionalnom grupom, koja omogućava keto-enolnu tautomeriju i koordinaciju putem više donorskih mesta (obično N i O atoma). Zbog ovoga, ligandi se često ponašaju kao polidentatni, formirajući stabilne helatne komplekse sa različitim prelaznim metalima [40,41]. Jedinjenja sa piridinom u svom sastavu, privukla su značajnu pažnju u više istraživačkih oblasti. To je uglavnom povezano sa njihovom jedinstvenom funkcionalnom ulogom u organskoj hemiji [42], lakom konverzijom u različite derivate [43], značajnim uticajem na farmakološku aktivnost, kao i primenom kao farmakofora u medicinskoj hemiji [44,45]. Zbog svojih svojstava, uključujući baznost, rastvorljivost u vodi, stabilnost, sposobnost formiranja vodoničnih veza i malu molekulsku masu [46–48], piridinilhidrazoni su bili predmet istraživanja u okviru naše istraživačke grupe, te se pregled literature fokusira na dosadašnja istraživanja njihovih metalnih kompleksa (tabela 1).

Tabela 1. Pregled piridinil-hidrazonskih liganada i odgovarajućih metalnih kompleksa

Ligand	Oznaka	Kompleks	Ref.
	H₂L	(1) [Co ₂ L ₂](NO ₃) ₂ ·2H ₂ O·0.5C ₂ H ₅ OH	[49]
	HL¹	(2) [ZnCl ₂ (HL ¹) ₂]	[50]
	HL¹Cl	(3) [Co(L ¹) ₂][Co(NCS) ₄]BF ₄	[51]
		(4) [ZnL ¹ (SCN) ₂]	[52]
		(5) [Cd(HL ¹)(SCN) ₃]	[52]
		(6) [Cu ₂ (L ¹) ₂ (μ-1,1-N ₃) ₂](ClO ₄) ₂	[53]
		(7) [CuL ¹ Cl]ClO ₄	[53]
		(8) [CuL ¹ Cl]NO ₃	[54]
	HL²Cl	(10) [Co(L ²)(N ₃) ₃]	[55]
		(11) [Zn(L ²)(N ₃) ₂]	[56]
		(12) [Ni(L ²)(N ₃) ₃]	[57]

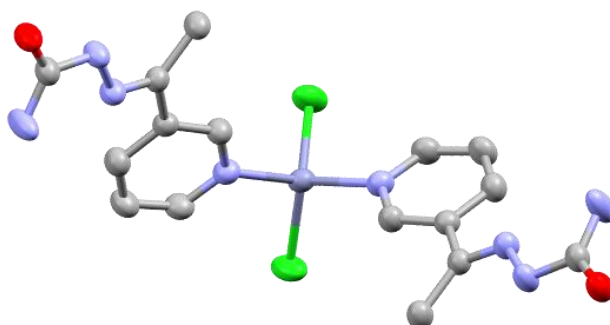
Navedene reference odnose se na publikovane radove u kojima je opisana sinteza i/ili kristalna struktura datih jedinjenja. Crvenom isprekidanom linijom na strukturnoj formuli liganda istaknut je piridinski prsten kao zajednički heteroaromatični fragment ove serije jedinjenja. Oznake liganada (npr. HL¹, H₂L i dr.) preuzete su iz originalnih publikacija i služe isključivo za označavanje jedinjenja u tim radovima; one nisu povezane sa oznakama novosintetisanih liganada i kompleksa korišćenim u ovoj tezi.

U reakciji liganda **H₂L** sa 2,2'-dipiridilaminom i Co(NO₃)₂·6H₂O u etanolu (1:1:1 molski odnos), dobijen je kompleks [Co₂L₂](NO₃)₂·2H₂O·0.5C₂H₅OH (**1**) (slika 1). Jon Co(III) u ovom kompleksu je heksakoordinovan preko piridinskog atoma azota, azometinskog atoma azota i karbonilnog atoma kiseonika iz deprotonovanog hidrazonskog liganda (NNO koordinacija). Geometrija oko jona Co(III) može se opisati kao iskrivljena oktaedarska gde su parovi kiseonika iz karbonilne grupe i atomi azota iz piridina međusobno u *cis* položaju, dok hidrazidni atomi azota zauzimaju *trans* položaj jedan u odnosu na drugi [49].



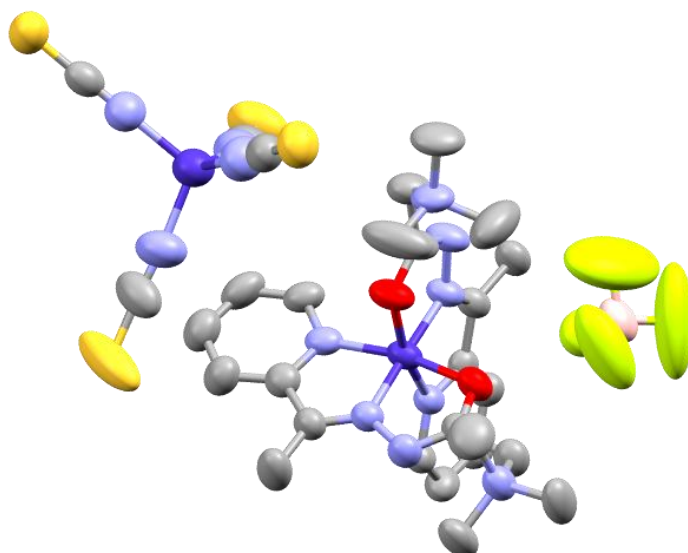
Slika 1. Prikaz strukture kompleksa [Co₂L₂](NO₃)₂·2H₂O·0.5C₂H₅OH (**1**)

U reakciji liganda **HL¹** sa Zn(CH₃COO)₂·2H₂O u metanolu (1:1 molski odnos), dobijen je kompleks [ZnCl₂(**HL¹**)₂] (**2**) (Slika 2). Geometrija oko jona Zn(II) je tetraedarska, gde su dva liganda monodentatno koordinovana preko azotovog atoma iz piridina, a preostala dva koordinaciona mesta zauzimaju hlorido ligandi [50].



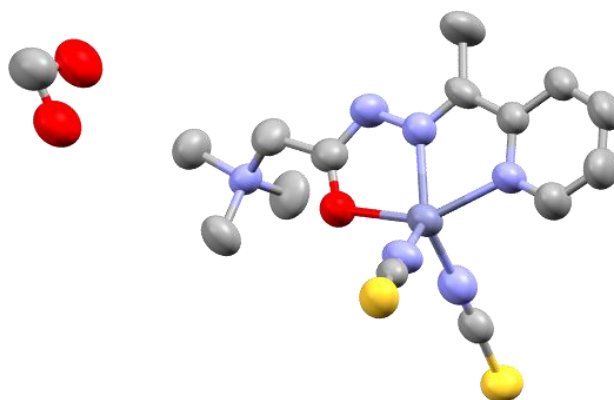
Slika 2. Prikaz strukture kompleksa [ZnCl₂(**HL¹**)₂] (**2**)

U reakciji liganda **HL¹Cl** sa Co(BF₄)₂·6H₂O u metanolu i nakon dodatka NH₄SCN (1:1:3 molski odnos), dobijen je kompleks [CoL¹₂][Co(NCS)₄]BF₄ (**3**) (slika 3). U [CoL¹₂]³⁺ kompleksnom katjonu dva molekula liganda u cviterjonskom (*zwitter*) jonskom obliku koordinovana su za centralni metalni jon u *mer* položaju, formirajući oktaedarski kompleks gde su dva azota i kiseonik donorski atomi (NNO koordinacija) [51].

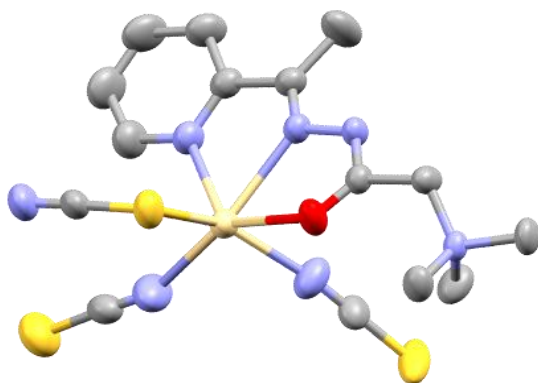


Slika 3. Prikaz strukture kompleksa $[\text{CoL}^1]_2[\text{Co}(\text{NCS})_4]\text{BF}_4$ (**3**)

U reakciji liganda HL^1Cl prethodno rastvorenog u metanolu sa $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ u vodi i nakon dodatka rastvora NH_4SCN (1:1:4 molski odnos), dobijen je kompleks $[\text{ZnL}^1(\text{SCN})_2]$ (**4**) (slika 4). U istim reakcionim uslovima samo sa $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dobijen je kompleks $[\text{Cd}(\text{HL}^1)(\text{SCN})_3]$ (**5**) (slika 5). Geometrija oko jona $\text{Zn}(\text{II})$ u prvom kompleksu je iskrivljena kvadratna piramida gde je τ_5 vrednost 0,32, dok je kod kompleksa sa $\text{Cd}(\text{II})$ iskrivljena oktaedarska. Parametar τ_5 služi za kvantifikaciju geometrije oko pentakoordinovanog metalnog centra. Njegova vrednost se računa na osnovu najvećih $\text{L}-\text{M}-\text{L}$ uglova i omogućava razlikovanje između idealnih kvadratno-piramidalnih ($\tau_5 = 0$) i idealnih trigonalno-bipiramidalnih ($\tau_5 = 1$) koordinacionih okruženja. Vrednosti između 0 i 1 ukazuju na delimično iskrivljenu geometriju. Donorski set atoma je NNO kod oba kompleksa, gde se razlikuje broj vezanih pseudohalogenida. Tridentatni ligand kod oba kompleksa doprinosi formiranju dva petočlana helatna prstena koja su manje planarna kod kompleksa $\text{Cd}(\text{II})$ u odnosu na kompleks $\text{Zn}(\text{II})$ [52].

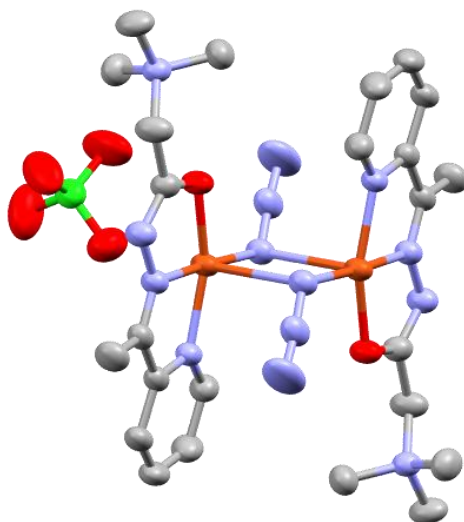


Slika 4. Prikaz strukture kompleksa $[\text{ZnL}^1(\text{SCN})_2]$ (**4**)

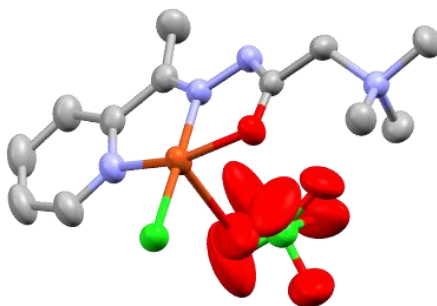


Slika 5. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Cd}(\text{HL}^1)(\text{SCN})_3]$ (5)

U reakciji između $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ prethodno rastvorenog u vodi i liganda HL^1Cl rastvorenog u metanolu u prisustvu viška NaN_3 (1:1:3 molski odnos), dobijen je dinuklearni $\text{Cu}(\text{II})$ kompleks opšte formule $[\text{Cu}_2(\text{L}^1)_2(\mu\text{-}1,1\text{-N}_3)_2](\text{ClO}_4)_2$ (6) (slika 6). U istim reakcionim uslovima samo bez prisustva pseudohalogenida dobijen je mononuklearni kompleks $\text{Cu}(\text{II})$ opšte formule $[\text{CuL}^1\text{Cl}]\text{ClO}_4$ (7) (slika 7). Dinuklearni kompleks $\text{Cu}(\text{II})$ je pentakoordinovan pri čemu osim NNO atoma imamo i dva mostna azido liganda. Geometrija oko oba $\text{Cu}(\text{II})$ jona je aksijalno izdužena kvadratna piramida gde je τ_5 vrednost 0,27. Kod mononuklearnog kompleksa $\text{Cu}(\text{II})$ jon je tetrakoordinovan, sa NNO donorskim setom atoma i Cl^- koji zauzima četvrto koordinaciono mesto. Geometrija oko $\text{Cu}(\text{II})$ jona u ovom kompleksu je iskrivljena kvadratno planarna gde je τ_4 vrednost 0,15 [53]. Parametar τ_4 se koristi za kvantitativnu procenu geometrije oko četvorokoordinovanog metalnog centra. Njegova vrednost se određuje na osnovu dva najveća L-M-L ugla i omogućava razlikovanje idealne tetraedarske ($\tau_4 = 1$) od idealne kvadratno-planarne geometrije ($\tau_4 = 0$). Vrednosti između 0 i 1 ukazuju na stepen odstupanja od idealne geometrije, odnosno na izraženost distorzije u koordinacionom okruženju.

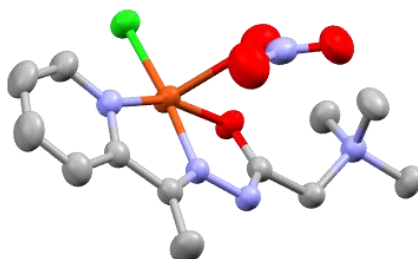


Slika 6. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Cu}_2(\text{L}^1)_2(\mu\text{-}1,1\text{-N}_3)_2](\text{ClO}_4)_2$ (6)



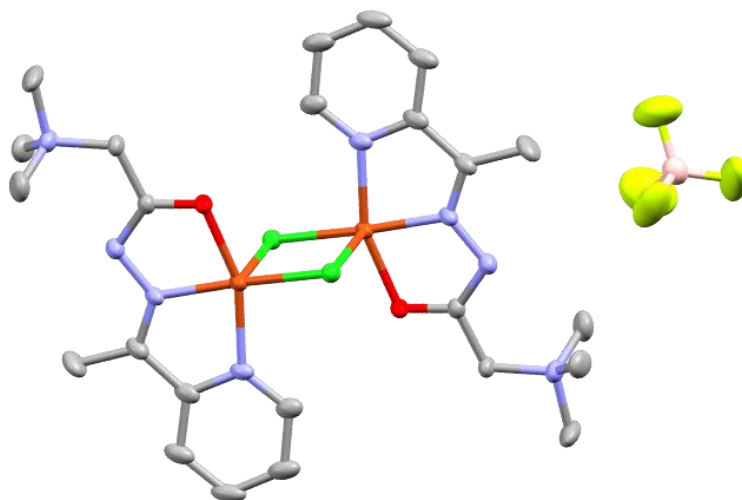
Slika 7. Prikaz strukture kompleksa $[\text{CuL}^1\text{Cl}]\text{ClO}_4$ (**7**)

U reakciji liganda HL^1Cl sa $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ u metanolu kao rastvaraču (1:1 molski odnos), dobijen je kompleks $[\text{CuL}^1\text{Cl}]\text{NO}_3$ (**8**) (slika 8). Geometrija oko jona $\text{Cu}(\text{II})$ je iskrivljena kvadratno planarna gde je τ_4 vrednost 0,19. Kompleks (**8**) je sličan kompleksu (**7**) gde je jedina razlika u kontra jonu [54].



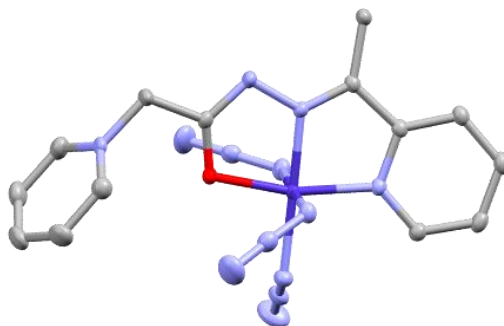
Slika 8. Prikaz strukture kompleksa $[\text{CuL}^1\text{Cl}]\text{NO}_3$ (**8**)

U reakciji liganda HL^1Cl i $\text{Cu}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ u metanolu (1:1 molski odnos) dobijen je dinuklearni $\text{Cu}(\text{II})$ kompleks opšte formule $[\text{Cu}_2\text{L}^1_2\text{Cl}_2](\text{BF}_4)_2$ (**9**) (slika 9). Svaki od metalnih centara koordinovan je preko tri donorska atoma liganda (NNO) i dva mostna hlorido atoma. $\text{Cu}(\text{II})$ jon u ovom kompleksu zauzima distorgovanu kvadratno piramidalnu geometriju sa vrednošću τ_5 0,17 [54].

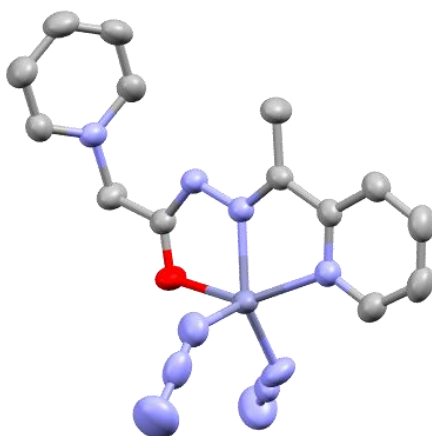


Slika 9. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Cu}_2(\text{L}^1)_2\text{Cl}_2](\text{BF}_4)_2$ (**9**)

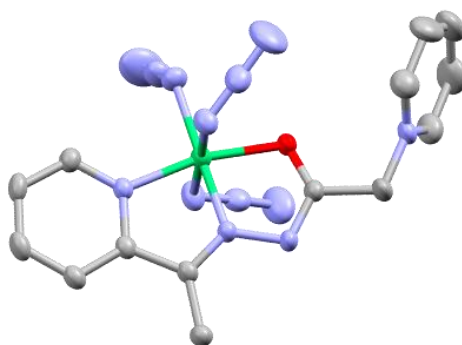
U reakciji liganda **HL**²Cl i Co(BF₄)₂·6H₂O i prisustva viška NaN₃ u rastvoru smeše metanola, acetonitrila i vode (1:1:4 molski odnos liganda, soli i pseudohalogenida) dobijen je Co(III) kompleks [Co(**L**²)(N₃)₃] (**10**) (slika 10). Pri istim reakcionim uslovima samo sa Zn(BF₄)₂·6H₂O dobijen je kompleks [Zn(**L**²)(N₃)₂] (**11**) (slika 11), dok je u reakciji sa Ni(BF₄)₂·6H₂O dobijen je kompleks [Ni(**L**²)(N₃)₃] (**12**) (slika 12). Geometrija oko Co(III) i Ni(III) je oktaedarska, gde je ligand tridentatno koordinovan preko tri donorska atoma (NNO), dok preostala tri mesta zauzimaju meridijalno koordinovani azidni anjoni. Geometrija oko jona Zn(II) je neznatno distorgovana kvadratna piramida, gde je ligand koordinovan na isti način kao i kod prethodno pomenutih kompleksa sa dva azido anjona. (τ₅ vrednost je 0,08) [55-57].



Slika 10. Prikaz strukture kompleksa [Co(**L**²)(N₃)₃] (**10**)



Slika 11. Prikaz strukture kompleksa [Zn(**L**²)(N₃)₂] (**11**)



Slika 12. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Ni}(\text{L}^2)(\text{N}_3)_3]$ (12)

2.3. Kompleksi sa tiazolil-hidrazonskim ligandom

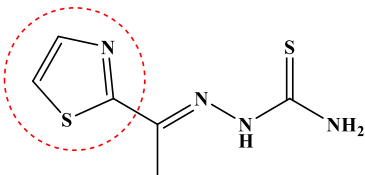
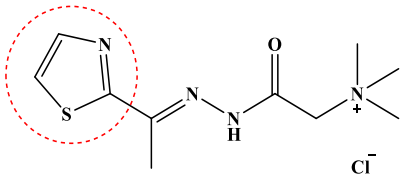
Tiazol, petočlani heterocikl sa sumporom i azotom, takođe ima široku biološku primenu [58,59]. Tiazol pripada klasi organskih jedinjenja poznatih kao 1,3-azoli, u kojima se pored atoma azota u prstenu nalazi i atom sumpora. Tiazol je aromatični prsten nastao delokalizacijom elektronskog para sa sumpora. Nekoliko lekova i prirodnih proizvoda kao što su Epothilones [60], Thiazofurine (antikancerski lek) [61], Thiamine (vitamin B1) [61], Dasatinib (koristi se za određene tipove leukemije) [62], Sulfathiazole (antimikrobni agens) [61], Cefotaxime (antibiotik) [63], sadrže tiazolski prsten.

Tiazoli i njihovi derivati poslednjih decenija predstavljaju predmet intenzivnih istraživanja usled izraženog farmakološkog značaja i raznovrsnih bioloških aktivnosti. Ova heterociklična jedinjenja pokazuju širok spektar delovanja, uključujući antikancerska [64,65], antituberkulozna [66,67], antimikrobna [61], antiinflamatorna [68], antioksidativna [69], antidepresivna [70], antivirusna [71], antidijabetička [72], antiparazitska svojstva [73], a posebno se ističe njihova uloga kao inhibitor FabH-a [74]. Zbog navedenih svojstava, tiazoli zauzimaju istaknuto mesto u savremenim istraživanjima u oblasti medicinske i farmaceutske hemije.

Brojna istraživanja ukazuju da tiazolilhidrazoni poseduju značajan antikancerski potencijal, uz izražene različite biološke aktivnosti [75]. Ligandi na bazi tiazola [76,77] kao i njihovi kompleksi sa različitim metalima [78-81] uključujući cink [82] pokazali su obećavajuća fotoluminiscentna svojstva. Rezultujući hibridni sistem, formiran konjugacijom tiazolskih i hidrazonskih fragmenata, karakteriše poboljšana ćelijska propustljivost i povoljniji farmakodinamički profil [83,84].

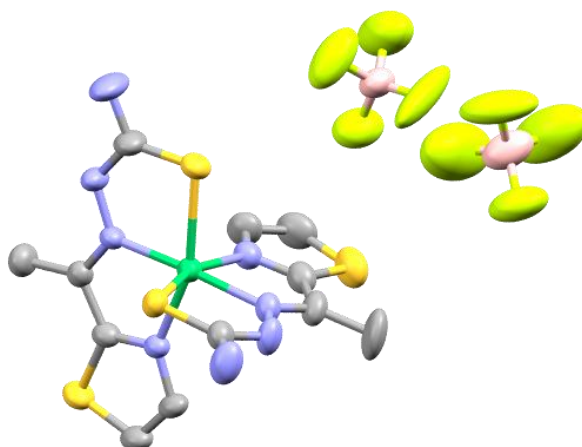
Pregled literature usmeren je na tiazolil-hidrazonska jedinjenja koja su prethodno sintetisana u okviru naše laboratorije, a koja sadrže i hidrazonske i 1,3-tiazolne funkcionalne grupe, odnosno poznate farmakofore (tabela 2):

Tabela 2. Pregled tiazolil-hidrazonskih liganada i odgovarajućih metalnih kompleksa

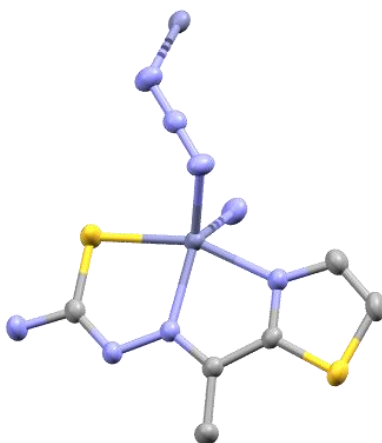
Ligand	Oznaka	Kompleks	Ref.
	HL¹	(13) [Ni(HL¹) ₂](BF ₄) ₂ ·H ₂ O	[57]
		(14) [Zn(L¹)(N ₃)] _n	[56]
		(15) [Fe(L¹) ₂]BF ₄ ·H ₂ O	[85]
		(16) [Co(L¹) ₂]BF ₄ ·H ₂ O	[55]
	HL²Cl	(17) [Zn(L²)(NCS) ₂]·2H ₂ O	[86]
		(18) Cu L² (N ₃)(CH ₃ OH)]BF ₄	[11]
		(19) [Mn ₂ L² ₂ (μ _{-1,1} -N ₃) ₂ (N ₃) ₂]· ·2CH ₃ OH	[11]
		(20) [Zn L² (N ₃) ₂]	[11]
		(21) [Bi HL²Cl] ₄]·1/2CH ₃ OH	[87]
		(22) [Ni ₂ L² ₂ (μ _{-1,1} -N ₃) ₂ (N ₃) ₂]· ·2H ₂ O	[88]

Navedene reference odnose se na publikovane radove u kojima je opisana sinteza i/ili kristalna struktura datih jedinjenja. Crvenom isprekidanom linijom na strukturnoj formuli liganda istaknut je tiazolski prsten kao zajednički heteroaromatični fragment ove serije jedinjenja. Oznake liganada (npr. **HL¹**, **HL²Cl** i dr.) preuzete su iz originalnih publikacija i služe isključivo za označavanje jedinjenja u tim radovima; one nisu povezane sa oznakama novosintetisanih liganada i kompleksa korišćenim u ovoj tezi.

U reakciji liganda **HL¹** sa Ni(BF₄)₂·6H₂O i NaN₃ u molskom odnosu 1:1:4 u smeši metanol/acetonitril/voda dobijen je kompleks Ni(II) (13) opšte formule [Ni(**HL¹**)₂](BF₄)₂·H₂O (slika 13). U ovom kompleksu dva molekula liganda koordinovana su za Ni(II) jon meridijalno, pri čemu se uspostavlja geometrija iskrivljenog oktaedra, sa NNS setom donorskih atoma. Odnosno, svaki ligand je vezan za centralni metalni jon preko atoma azota iz tiazolskog i iminskog fragmenta, kao i atoma sumpora iz tiokarbonilne grupe [57].

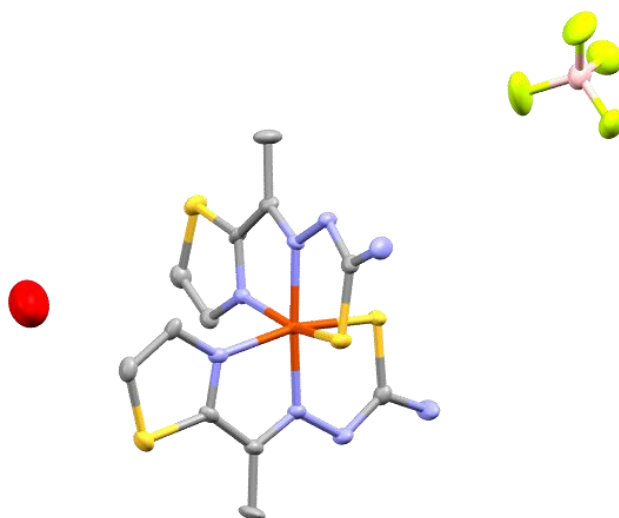
Slika 13. Prikaz strukture kompleksa [Ni(**HL¹**)₂](BF₄)₂·H₂O (13)

U reakciji liganda **HL**¹ sa Zn(BF₄)₂·6H₂O i NaN₃ u molaskom odnosu 1:1:4 u smeši rastvarača metanola i vode dobijen je mononuklearni Zn(II) kompleks (**14**) [Zn(L¹)(N₃)]_n (slika 14). Jon Zn(II) je pentakoordinovan gde koordinaciona mesta zauzimaju tridentatni ligand (NNS set donorskih atoma) i dva azido liganda koji se ponašaju kao mostni. Azidni anjoni povezuju Zn(II) jone na $\mu_{1,3}$ način, pri čemu se stvaraju cik-cak polimerni lanci. Koordinaciono okruženje jona Zn(II) pokazuje distorziju koja odgovara geometriji između kvadratne piramide i trigonalne bipiramide, sa vrednošću parametra τ_5 od 0,46 [56].

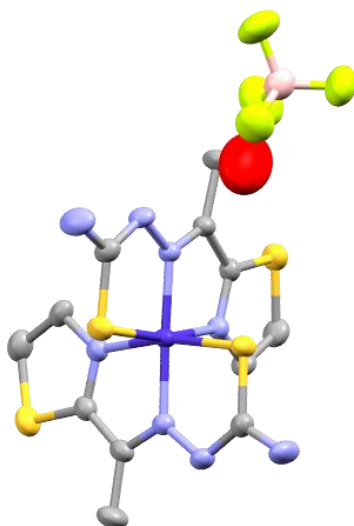


Slika 14. Prikaz strukture kompleksa [Zn(L¹)(N₃)]_n (**14**)

U reakciji liganda **HL**¹ sa Fe(BF₄)₂·6H₂O u molaskom odnosu 1:1 u metanolu dobijen je mononuklearni Fe(III) kompleks (**15**) [Fe(L¹)₂]BF₄·H₂O (slika 15). U istim reakcionim uslovima sa Co(BF₄)₂·6H₂O dobijen je kompleks [Co(L¹)₂]BF₄·H₂O (**16**) (slika 16). Dva molekula deprotonovanog liganda **L**¹ koordinovana su za oba jona Fe(III)/Co(III) u *mer* okruženju, formirajući oktaedarski kompleks helacijom preko NNS donorskog seta atoma [55,85].

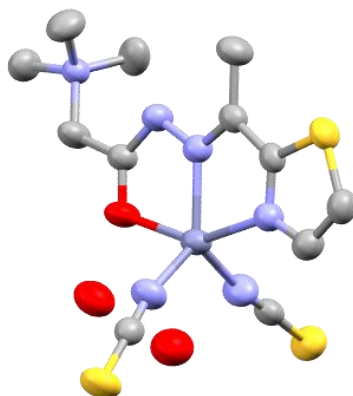


Slika 15. Prikaz strukture kompleksa [Fe(L¹)₂]BF₄·H₂O (**15**)



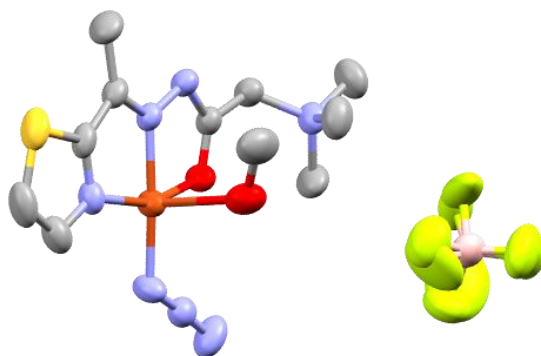
Slika 16. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Co}(\text{L}^1)_2]\text{BF}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**)

U reakciji liganda HL^2Cl i $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ uz dodatak viška NH_4SCN u molskom odnosu 1:1:3, u smeši rastvarača vode i metanola formiran je mononuklearni kompleks $[\text{Zn}(\text{L}^2)(\text{NCS})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**17**) (slika 17). Jon $\text{Zn}(\text{II})$ je pentakoordinovan, pri čemu je ligand vezan preko tiazolskog i azometinskog atoma azota, kao i atoma kiseonika iz deprotonovane karbonilne grupe, dok su dva tiocijanatna jona koordinovana preko azotovih atoma. Izračunata vrednost parametra τ_5 od 0,36 ukazuje da je geometrija oko $\text{Zn}(\text{II})$ jona najbliža distorgovanoj kvadratnoj piramidi (36 % u odnosu na idealan oblik) [86].

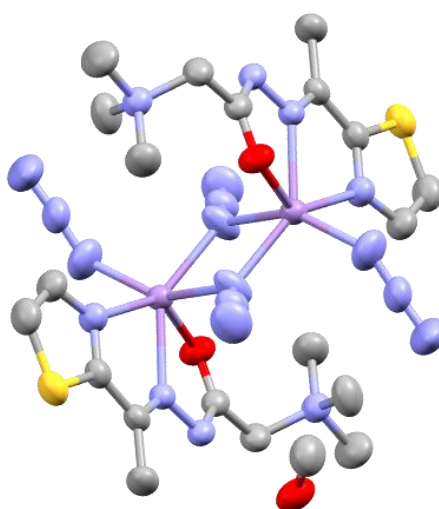


Slika 17. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Zn}(\text{L}^2)(\text{NCS})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**17**)

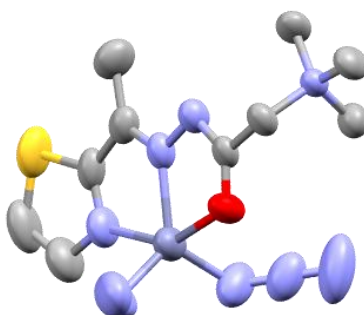
U reakciji liganda HL^2Cl sa $\text{Cu}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i nakon dodatka viška NaN_3 (1:1:4 molski odnos) u metanolu dobijen je mononuklearni kompleks $\text{CuL}^2(\text{N}_3)(\text{CH}_3\text{OH})]\text{BF}_4$ (**18**) (slika 18). U istim reakcionim uslovima u prisustvu $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dobijen je dinuklearni kompleks $\text{Mn}(\text{II})$ $[\text{Mn}_2\text{L}^2(\mu_{-1,1}\text{-N}_3)_2(\text{N}_3)_2] \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ (**19**) (slika 19). Dok je u reakciji sa $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dobijen mononuklearni $\text{Zn}(\text{II})$ kompleks $[\text{ZnL}^2(\text{N}_3)_2]$ (**20**) (slika 20). Geometrija oko jona $\text{Cu}(\text{II})$ je iskrivljena kvadratna piramida (τ_5 vrednost 0,26), dok je kod $\text{Zn}(\text{II})$ između kvadratne piramide i trigonalne bipiramide (τ_5 vrednost 0,43), a jon $\text{Mn}(\text{II})$ ima distorgovanu trigonalnu prizmu [11].



Slika 18. Prikaz strukture kompleksa $\text{CuL}^2(\text{N}_3)(\text{CH}_3\text{OH})]\text{BF}_4$ (**18**)

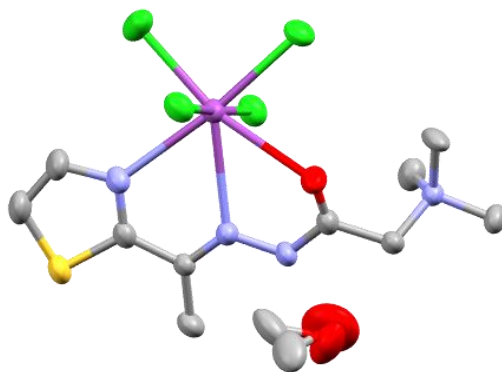


Slika 19. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Mn}_2\text{L}^2_2(\mu\text{-}1,1\text{-N}_3)_2(\text{N}_3)_2] \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ (**19**)



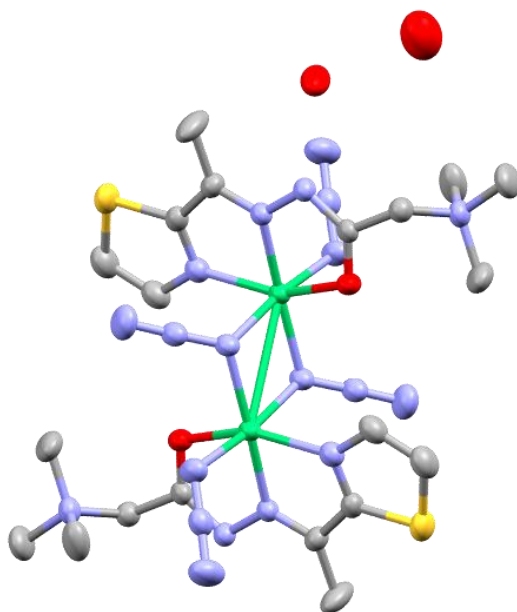
Slika 20. Prikaz strukture kompleksa $[\text{ZnL}^2(\text{N}_3)_2]$ (**20**)

U reakciji liganda HL^2Cl sa BiCl_3 (1:1 molski odnos) u smeši metanola i acetonitrila dobijen je mononuklearni kompleks $[\text{BiHL}^2\text{Cl}_4] \cdot 1/2\text{CH}_3\text{OH}$ (**21**) (slika 21). Geometrija oko jona Bi(III) je izdužena pentagonalna bipiramida, sa NNO koordinacijom liganda i još četiri hlorido jona. Kod datog kompleksa imamo dve izdužene veze Bi–N (azometinski azot) i Bi–O što objašnjava hidrolizu ovog kompleksa u rastvoru usled oslabljene helacije [87].



Slika 21. Prikaz strukture kompleksa $[\text{BiHL}^2\text{Cl}_4] \cdot 1/2\text{CH}_3\text{OH}$ (**21**)

Kompleks (**22**) opšte formule $[\text{Ni}_2\text{L}^2_2(\mu_{-1,1}\text{-N}_3)_2(\text{N}_3)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sintetisan je na isti način kao i Mn(II) kompleks (**19**). Svaki Ni(II) centar je heksakoordinovan sa tridentatnim ligandom (NNO koordinacija) i tri azido grupe. Jedna azido grupa je terminalna, dok su druge dve mostne, pri čemu formiraju zajedničku ivicu unutar binuklearnih jedinica, što dovodi do oktaedarske strukture [88].



Slika 22. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Ni}_2\text{L}^2_2(\mu_{-1,1}\text{-N}_3)_2(\text{N}_3)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**22**)

2.4. Kompleksi sa pirazinil-hidrazonskim ligandom

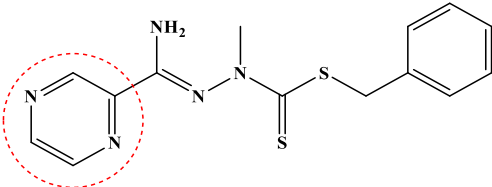
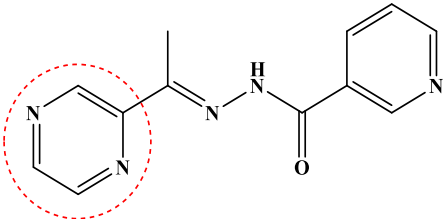
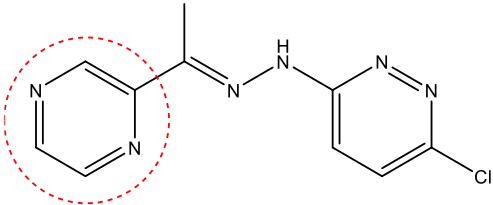
Šestočlani aromatični prsten sa dva azotova atoma – **pirazin**, kao i njegovi derivati, prepoznati su kao bioaktivni molekuli [89]. Jedinjenja na bazi pirazina pokazuju širok spektar bioloških aktivnosti, najpoznatiji među njima su Pyrazinamide i Morinamide (antituberkulotici), Glipizide (antidijabetik), kao i Amiloride i Benzamil (diuretici) [90]. Odnos piridinskih i pirazinskih lekova,

kako odobrenih tako i onih koji su u fazi kliničkog ispitivanja, procenjuje se na približno 10:1. Ovakva disproporcija ukazuje na to da su pirazinski fragmenti nedovoljno zastupljeni u istraživanjima iz oblasti medicinske hemije, što se, između ostalog, može objasniti njihovom ograničenom dostupnošću u komercijalnim katalozima dobavljača [91]. Stoga, u okviru ove doktorske disertacije nastojimo da pružimo novu perspektivu o pirazinu i njegovim hidrazonskim kompleksima.

Zbog svoje heteroaromatične prirode, pirazin objedinjuje svojstva heteroatoma, koja se ispoljavaju kroz polarne interakcije, sa svojstvima aromatičnih sistema, karakterističnih po nepolarnim interakcijama. Kao biološki aktivna jedinjenja, pirazini mogu učestvovati u različitim vrstama molekulskih interakcija: kao akceptori vodoničnih veza preko jednog ili oba azotova atoma, kao donori vodoničnih veza putem $C_{pir}-H$ jedinice, ili kao izosterne zamene benzenovog prstena ostvarujući različite tipove π -interakcija. Pored toga, atomi azota u pirazinskom prstenu mogu uspostaviti koordinacione veze sa metalnim jonima koji se nalaze u aktivnim mestima proteina [91].

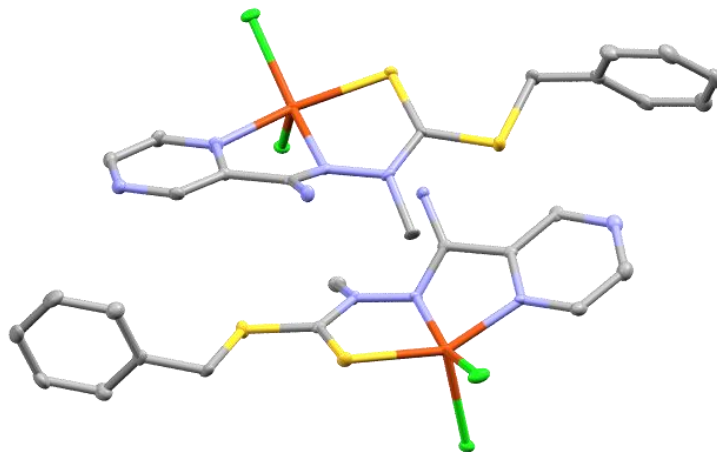
Tokom poslednje decenije, koordinaciona jedinjenja zasnovana na pirazinskim i pirazinil-hidrazonskim ligandima privukla su značajnu pažnju u istraživanjima usmerenim na razvoj novih antikancerskih agenasa [92]. Njihov potencijal ogleda se u mogućnosti modulacije biološke aktivnosti kombinovanja organskih liganada sa metalnim jonima, pri čemu nastali kompleksi često pokazuju povoljnija farmakološka svojstva u odnosu na odgovarajuće slobodne ligande. Razvoj ovih jedinjenja zasniva se na pažljivom izboru pirazinskog skeleta i odgovarajućih metalnih centara. Pregled do sada ispitivanih i sintetisanih jedinjenja na bazi pirazinil-hidrazona dat je u tabeli 3:

Tabela 3. Pregled pirazinil-hidrazonskih liganada i odgovarajućih metalnih kompleksa

Ligand	Oznaka	Kompleks	Ref.
	L	(23) $[Cu(L)(Cl_2)]$	[93]
	HL	(24) $[Mn(HL)Cl_2]$ (25) $[Mn(L)_2]$ (26) $\{[Cd(L)(CH_3COO)] \cdot 2CHCl_3\}_n$	[94] [94] [94]
	HL	(27) $[Cu_2L_2Cl_2]$ (28) $[Cu(HL)(NO_3)(H_2O)_2](NO_3)(H_2O)$ (29) $\{[Cu(HL)(H_2O)](ClO_4)_2(H_2O)\}_n$ (30) $[Cu_2L_2(OH)](NO_3)(H_2O)_2$	[95] [95] [95] [95]

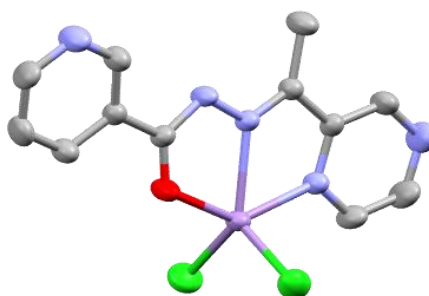
Navedene reference odnose se na publikovane radove u kojima je opisana sinteza i/ili kristalna struktura datih jedinjenja. Crvenom isprekidanom linijom na strukturnoj formuli liganda istaknut je pirazinski prsten kao zajednički heteroaromatični fragment ove serije jedinjenja. Oznake liganada (npr. HL, L i dr.) preuzete su iz originalnih publikacija i služe isključivo za označavanje jedinjenja u tim radovima; one nisu povezane sa oznakama novosintetisanih liganada i kompleksa korišćenim u ovoj tezi.

U reakciji liganda **L** sa $\text{Cu}(\text{Cl})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ u molaskom odnosu 1:1 u etanolu dobijen je mononuklearni Cu(II) kompleks (**23**) $[\text{Cu}(\text{L})(\text{Cl}_2)]$ (slika 23). Geometrija oko jona Cu(II) je distorgovana trigonalna bipiramida. Koordinacionu sferu čine donorski atomi azota iz pirazinskog prstena, azometinskog azota, kao i sumpor iz tiokarbonilne grupe, dok preostala dva koordinaciona mesta zauzimaju hloridni anjoni. Hidrazonski azot i hloridni ligandi smešteni su u ekvatorijalnoj ravni, dok su ostali ligandi raspoređeni u aksijalnim položajima. Stabilizacija strukture ostvarena je putem intermolekulskih vodoničnih veza tipa $\text{N}-\text{H} \cdots \text{Cl}$ [93].

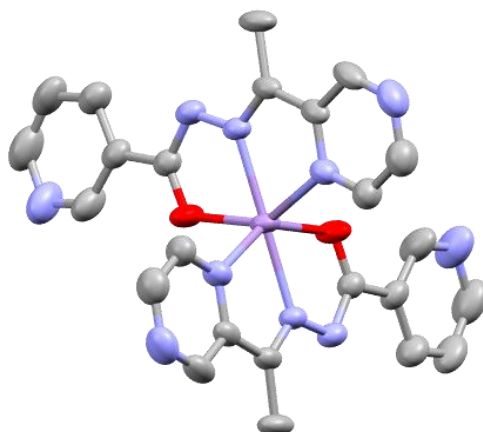


Slika 23. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Cu}(\text{L})(\text{Cl}_2)]$ (**23**)

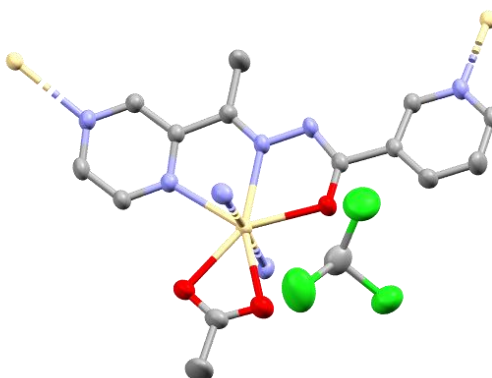
U reakciji liganda **HL** sa $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ u metanolu u molaskom odnosu 1:2, dobijen je kompleks (**24**) $[\text{Mn}(\text{HL})\text{Cl}_2]$, dok je u reakciji sa $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dobijen kompleks (**25**) $[\text{Mn}(\text{L})_2]$, a sa $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ nastao (**26**) $\{[\text{Cd}(\text{L})(\text{CH}_3\text{COO})] \cdot 2\text{CHCl}_3\}_n$ (slike 24, 25, 26 redom). Kompleksi mangana(II) pokazuju međusobne razlike u koordinacionoj geometriji centralnog jona. U kompleksu **24** uspostavljena je iskrivljena kvadratno-piramidalna geometrija, pri čemu koordinacionu sferu čini NNO donorski set atoma, dopunjen sa dva hloridna anjona. Nasuprot tome, kompleks **25** karakteriše distorgovana oktaedarska geometrija, ostvarena koordinacijom dva deprotonovana liganda. Geometrija oko Cd(II) jona je pentagonalna bipiramida [94].



Slika 24. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Mn}(\text{HL})\text{Cl}_2]$ (**24**)

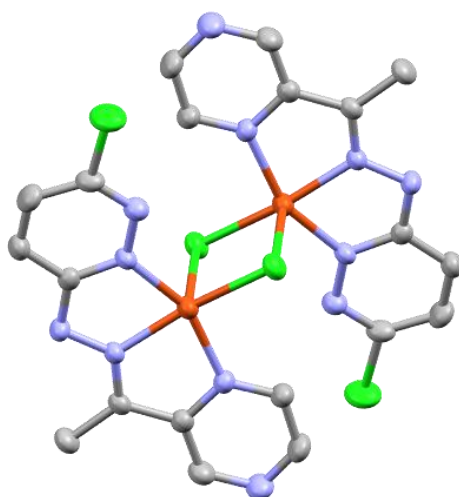


Slika 25. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Mn}(\text{L})_2]$ (**25**)

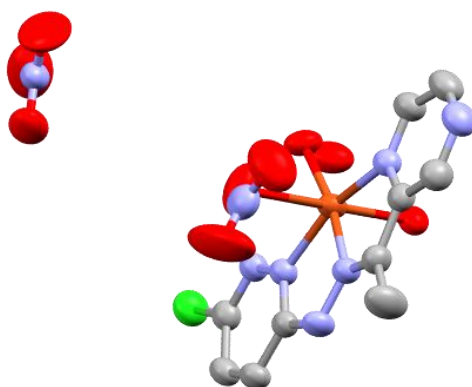


Slika 26. Prikaz strukture kompleksa $\{[\text{Cd}(\text{L})(\text{CH}_3\text{COO})] \cdot 2\text{CHCl}_3\}_n$ (**26**)

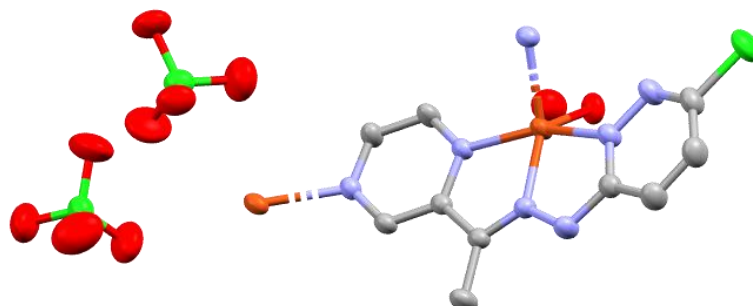
U reakciji liganda **HL** sa $\text{Cu}^{\text{II}}\text{X}$ ($\text{X}=\text{Cl}^-$, NO_3^- i ClO_4^-) u metanolu u molaskom odnosu 1:1, dobijeni su sledeći kompleksi: (**27**) $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2]$, (**28**) $[\text{Cu}(\text{HL})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$, (**29**) $\{[\text{Cu}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})\}_n$, i (**30**) $[\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{OH})](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2$. Kod strukture **27** dobijen je dinuklearni kompleks gde je geometrija oko oba $\text{Cu}(\text{II})$ jona distorgovana kvadratna piramida ($\tau_5 = 0,224$). Koordinacija je uspostavljena preko NNN donorskog seta atoma tridentatnog deprotonovanog liganda i dva mostna hlorido liganda. Kod strukture **28** geometrija je pseudooktaedarska, pri čemu ekvatorijalna ravan uključuje ligand i molekul vode, dok su u aksijalnim položajima vezani atom kiseonika iz nitratnog anjona i drugi molekul vode. Kod strukture **29** $\text{Cu}(\text{II})$ je pentakoordinovan sa geometrijom koja predstavlja prelaz između kvadratno planarne i trigonalno bipiramidalne ($\tau_5 = 0,5$). Donorski set atoma čine NNN fragment liganda, molekul vode i azot iz susednog liganda. Dinuklearni kompleks **30** pokazuje sličnu geometriju kao struktura **27**, s tim da je distorzija manja ($\tau_5 = 0,17$). Ekvatorijalnu ravan čine tri donorska atoma deprotonovanog liganda, dok u aksijalnom položaju je N iz pirazina drugog liganda [95].



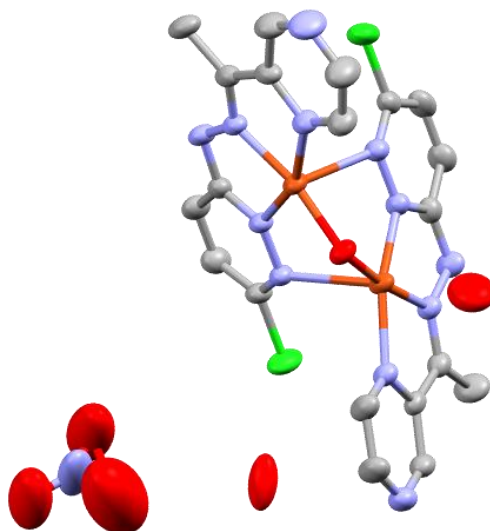
Slika 27. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{Cl}_2]$ (**27**)



Slika 28. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Cu}(\text{HL})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})$ (**28**)



Slika 29. Prikaz strukture kompleksa $\{[\text{Cu}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})\}_n$ (**29**)



Slika 30. Prikaz strukture kompleksa $[\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{OH})](\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2$ (**30**)

Među prikazanim sistemima, posebnu pažnju privlače kompleksi koji su, pored strukturne karakterizacije, bili podvrgnuti i ispitivanju biološke aktivnosti. Od ukupno 30 prikazanih kristalnih struktura, biološka aktivnost ispitana je za svega osam kompleksa. Kompleks **1** $[\text{Co}_2\text{L}_2](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 0.5\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ [49] pokazao je najveći citotoksični potencijal prema ćelijskoj liniji epitelnog karcinoma dojke MDA-361. Kompleks **2**, $[\text{ZnCl}_2(\text{HL}^1)_2]$ [50] ispoljio je umerenu antibakterijsku, antifungalnu i citotoksičnu aktivnost, pri čemu se pretpostavlja da je njegov mehanizam delovanja povezan sa povećanom produkcijom reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS). Takođe, utvrđeno je da ovaj kompleks indukuje autofagiju u tumorskim ćelijskim linijama, što predstavlja zaštitni odgovor ćelije na njegov citotoksični efekat. Niskospinski Fe(III) kompleks **15** $[\text{Fe}(\text{L}^1)_2]\text{BF}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [85] pokazao je dobru antimikrobnu, umerenu antifungalnu i citotoksičnu aktivnost, kao i slabiju antioksidativnu aktivnost. Utvrđeno je da biološka aktivnost ovog kompleksa u velikoj meri zavisi od njegovog spinskog stanja i koordinacione geometrije. Antimikrobna aktivnost kompleksa **18** $\text{CuL}^2(\text{N}_3)(\text{CH}_3\text{OH})\text{BF}_4$, **19** $[\text{Mn}_2\text{L}^2_2(\mu_{-1,1}\text{-N}_3)_2(\text{N}_3)_2] \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ i **20** $[\text{ZnL}^2(\text{N}_3)_2]$ [11] ispitana je na panelu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, dve vrste kvasaca i jednoj gljivi. Binuklearni Mn(II) kompleks **19** pokazao je antifungalnu aktivnost uporedivu sa aktivnošću amfotericina B. Na osnovu rezultata testa na račićima *Artemia salina* i sposobnosti neutralizacije DPPH radikala, Cu(II) kompleks **18** i Mn(II) kompleks **19** odabrani su za ispitivanje citotoksičnosti prema pet malignih ćelijskih linija (HeLa, A375, MCF-7, PC-3 i A549) i jednoj normalnoj ćelijskoj liniji (HaCaT). Oba kompleksa pokazala su značajnu citotoksičnu aktivnost, pri čemu je Mn(II) kompleks **19** prema ćelijskoj liniji karcinoma dojke MCF-7 pokazao samo neznatno nižu aktivnost u odnosu na cisplatin, ali je za razliku od nje pokazao izraženu selektivnost prema tumorskim ćelijama u odnosu na normalne HaCaT ćelije. Biološka aktivnost Bi(III) kompleksa **21** $[\text{BiHL}^2\text{Cl}_4] \cdot 1/2\text{CH}_3\text{OH}$ [87] ispitana je na više bakterijskih sojeva i tumorskih ćelijskih linija primenom MTT testa, pri čemu je kompleks pokazao znatno izraženiju antibakterijsku i citotoksičnu aktivnost u poređenju sa odgovarajućim slobodnim ligandom. Kompleks **23** $[\text{Cu}(\text{L})(\text{Cl}_2)]$ [93] pokazao je dobru antitumorsku aktivnost prema ćelijskim linijama A375, PANC-1, MKN-74, T-47D, HeLa i NCI-H1563, pri čemu je prema HeLa ćelijama ostvarena IC_{50} vrednost od 17,50 μM , što predstavlja značajno bolji rezultat u odnosu na odgovarajući organski ligand. Istovremeno, ovaj kompleks nije pokazao izraženu toksičnost prema zdravim ćelijama, što dodatno potvrđuje njegov potencijal za dalja biološka i farmakološka istraživanja.

2.5. Koordinaciona svojstva i biološki značaj cinka i mangana

Metali predstavljaju esencijalne elemente u ćelijama i imaju ključnu ulogu u mnogim biološkim procesima, zbog čega su tokom evolucije postali važan deo bioloških sistema [96]. Njihova prisutnost u katalitičkim domenima brojnih enzima od suštinskog je značaja za pravilno odvijanje različitih biohemijskih procesa, uključujući prenos elektrona, katalitičke reakcije i održavanje strukturne stabilnosti biomolekula [97]. Među elementima od posebnog značaja izdvajaju se cink i mangan, koji, iako prisutni u veoma malim koncentracijama, učestvuju u regulaciji i pokretanju niza vitalnih enzimskih reakcija, čime doprinose očuvanju metaboličke ravnoteže i funkcionalnog integriteta ćelije [98]. U tom kontekstu, uspostavljanje fine homeostatske ravnoteže između ćelijskih potreba za ovim metalima i njihove dostupnosti u organizmu predstavlja ključni mehanizam za održavanje optimalnog fiziološkog i metaboličkog balansa organizma.

25

[Ar]4s²3d⁵

Mn

54,94

Mangan

30

[Ar]4s²3d¹⁰

Zn

65,38

Cink

1																	2															
H																	He															
Hidrogen																	Helijum															
3	4															10																
Li	Be															Ne																
Litijum	Berilijum															Neon																
11	12															18																
Na	Mg															Ar																
Natrijum	Magnezijum															Argon																
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36															
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr															
Kalijum	Kalcijum	Skandijum	Titanijum	Vanadijum	Hrom	Mangan	Gvožđe	Kobalt	Niki	Bakar	Cink	Gallijum	Germanijum	Arsen	Selen	Brom	Kripton															
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54															
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe															
Rubidijum	Stroncijum	Itrijum	Cirkonijum	Niobijum	Molibden	Tehnecijum	Rutenijum	Rodijum	Paladijum	Srebro	Kadmijum	Indijum	Kalaj	Antimon	Telur	Jod	Ksenon															
55	56	57-71		72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86														
Cs	Ba	La-Lu		Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	Rn															
Cezijum	Barijum	Lantanidi		Hafnijum	Tantal	Volfram	Renijum	Osmijum	Indijum	Platina	Zlato	Živa	Talijum	Olovo	Bizmut	Polonijum	Radon															
87	88	89-103		104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118														
Fr	Ra	Ac-Lr		Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Nh	Fl	Mc	Lv	Og															
Francijum	Radijum	Aktinidi		Raderfordijum	Dubnijum	Seaborgijum	Bohrnijum	Hasijum	Meitnerijum	Darmstadijum	Reintgenijum	Kopernicijum	Nihonijum	Flerovijum	Moskovijum	Livermorijum	Oganesson															
																		57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
																		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
																		Lantan	Cerijum	Praseodimijum	Neodimijum	Prometijum	Samarijum	Europijum	Gadolijum	Terbijum	Disprozijum	Holmijum	Erbijum	Tulijum	Iterbijum	Lutecijum
																		89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
																		Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr
																		Aktinijum	Torijum	Protaktinijum	Uranijum	Neptunijum	Plutonijum	Americijum	Kurijum	Berkelijum	Kalifornijum	Ajnstajnijum	Fermijum	Mendelevijum	Nobelijum	Lorenzijum

Slika 31. Periodni sistem elemenata (izvor: Canva [99], prilagođeno od strane autora)

Cink je prelazni metal atomskog broja 30 i elektronske konfiguracije $[\text{Ar}]3d^{10}4s^2$, koji se u svojim jedinjenjima najčešće nalazi u oksidacionom stanju +2, pri čemu nastaje jon Zn(II) elektronske konfiguracije $3d^{10}$. Zbog potpuno popunjene d-podljuske, Zn(II) ne poseduje nesparene elektrone i pokazuje dijamagnetična svojstva, dok je energija stabilizacije u ligandnom polju (LFSE, Ligand Field Stabilization Energy) jednaka nuli. Odsustvo stabilizacije u ligandnom polju dovodi do toga da geometrija i koordinacioni broj kompleksa Zn(II) prvenstveno zavisi od prirode, veličine i načina koordinacije liganada [100,101]. Zn(II) pokazuje izraženu fleksibilnost u koordinacionoj hemiji i može formirati komplekse različitih koordinacionih brojeva, među kojima su najčešći 4 i 6. U skladu s tim, najzastupljenije geometrije su tetraedarska i oktaedarska, dok se u specifičnim ligandnim okruženjima mogu javiti i deformisane pentakoordinovane strukture. Zbog svoje d^{10} konfiguracije, Zn(II) ne pokazuje preferenciju prema visoko- ili niskospinskim kompleksima, budući da su sve d-orbitale potpuno popunjene [102].

Prema Pearsonovoj teoriji tvrdih i mekih kiselina i baza (HSAB, Hard and Soft Acids and Bases), Zn(II) se klasifikuje kao granična, odnosno relativno meka Lewisova kiselina, sa izraženim afinitetom prema ligandima koji sadrže donorske atome azota, kiseonika i sumpora. Zbog redoks stabilnosti i odsustva promene oksidacionog stanja u biološkim sistemima, Zn(II) često ima strukturnu i katalitičku ulogu koja nije zasnovana na redoks procesima kako u koordinacionim jedinjenjima tako i u metaloenzimima [103].

Cink je drugi najzastupljeniji element u tragovima u ljudskom organizmu. On je esencijalna komponenta velikog broja proteina — procenjuje se da je uključen u strukturu i funkciju oko 2500 različitih proteina, među kojima su brojni transkripcioni faktori i enzimi, čime ostvaruje ključnu ulogu u procesima inflamacije, imunskog odgovora i zarastanja rana [104-106]. Prosečna količina cinka u ljudskom telu iznosi približno 2–3 g, pri čemu je oko 90 % ukupnog sadržaja lokalizovano u mišićnom i koštanom tkivu [107]. Nedostatak cinka dovodi do poremećaja brojnih fizioloških funkcija i povezan je sa povećanom osetljivošću na infektivne bolesti, uključujući HIV, tuberkulozu, male boginje, upalu pluća i malariju, kao i sa metaboličkim poremećajima poput dijabetesa [108].

Mangan je prelazni metal atomskog broja 25 i elektronske konfiguracije $[\text{Ar}]3d^5 4s^2$, koji u stabilnim koordinacionim jedinjenjima najčešće se javlja u oksidacionom stanju +2, pri čemu formira Mn(II) jon konfiguracije $3d^5$. Ova konfiguracija odgovara polupopunjenoj d-podljusci, što značajno utiče na magnetna i koordinaciona svojstva kompleksa. U većini koordinacionih okruženja Mn(II) gradi visokospinske komplekse, pri čemu u oktaedarskom ligandnom polju elektroni zauzimaju raspored $t_{2g}^3 e_g^2$ sa pet nesparenih elektrona. Kao posledica toga, Mn(II) pokazuje izražen paramagnetizam i veliki magnetni moment. Stabilnost visokospinskog stanja potiče od relativno male vrednosti stabilizacione energije kristalnog polja u odnosu na energiju sparivanja elektrona, zbog čega je sparivanje elektrona nepovoljno za $3d^5$ konfiguraciju [109,110].

Mn(II) najčešće gradi heksakoordinovane komplekse oktaedarske geometrije, mada su poznati i brojni tetraedarski kompleksi. Prema Pearsonovoj teoriji tvrdih i mekih kiselina i baza (HSAB), Mn(II) se klasifikuje kao srednje tvrda Lewisova kiselina, sa izraženim afinitetom prema O-donorskim ligandima, dok su N-donorski ligandi takođe često prisutni u stabilnim kompleksima. Zbog stabilnosti oksidacionog stanja +2, dodatno favorizovane polupopunjenom d^5 konfiguracijom, Mn(II) predstavlja važan metalni centar u koordinacionoj i bioneorganskoj hemiji [111,112].

Mangan je esencijalni mikroelement značajan za normalno funkcionisanje brojnih biohemijskih sistema u ljudskom organizmu. Uključen je u sintezu i aktivaciju brojnih enzima kao što su oksidoreduktaza, transferaza, hidrolaza, lijaza, izomeraza i ligaza, učestvujući u metabolizmu glukoze, lipida i aminokiselina, kao i u regulaciji imunske funkcije [113]. On je kofaktor mnogih enzima, kao što su mangan-superoksid dismutaza, arginaza, glutamin sintetaza, koji štite ćeliju direktno ili indirektno od oštećenja izazvanih slobodnim radikalima [114-118]. Iako je važan za opšte zdravlje, organizmu su potrebne samo male količine, a preporučeni dnevni unos za odrasle iznosi približno 3,5–7,0 mg [119]. Kompleksi koji sadrže jone mangana pokazali su značajan potencijal za primenu u medicini kao MnSOD mimetici ili kao inhibitori proteasoma u terapiji malignih oboljenja [120,121]. Pored toga, Mn(II) jon u metal-ligand fragmentima pokazao je potencijal kao inhibitor enzima MtDXR iz bakterije *Mycobacterium tuberculosis* [122-124].

Jedan od najznačajnijih primera enzima koji direktno zavise od ovih metala jesu superoksid dismutaze (SOD), koje su ključni antioksidativni enzimi koji katalizuju konverziju superoksidnog anjona O_2^- u manje toksične produkte – vodonik-peroksid i molekulski kiseonik, čime direktno štite ćeliju od oksidativnog stresa i doprinose održavanju ćelijskog redoks balansa [115,125,126]. Kod eukariota su identifikovane različite izoforme ovog enzima koje se razlikuju prema subćelijskoj lokalizaciji i metalnim kofaktorima. Cu/Zn-SOD (SOD1) je lokalizovana u citoplazmi i koristi Zn(II) i Cu(II) – pri čemu Zn(II) ima važnu strukturnu ulogu u stabilizaciji enzima, dok je Cu(II) aktivni redoks centar [125]. S druge strane, Mn-SOD (SOD2) nalazi se u mitohondrijama, sadrži jon mangana Mn(II) u aktivnom mestu, koji je neophodan za katalitičku konverziju superoksidnih radikala nastalih

tokom oksidativne fosforilacije, čime ovaj enzim ima ključnu ulogu u zaštiti mitohondrijske DNK, proteina i membranskih struktura od oksidativnih oštećenja [115,126]. Zajedno, Cu/Zn-SOD i Mn-SOD predstavljaju ključne komponente ćelijskog antioksidativnog sistema, dok se poremećaji njihove ekspresije ili aktivnosti povezuju sa razvojem brojnih patoloških stanja, uključujući neurodegenerativne i kardiovaskularne bolesti.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Materijal i metode

3.1.1. Hemikalije i reagensi

Sve hemikalije korišćene u sintezama u okviru ove teze bile su analitičke čistoće i korišćene bez dodatnog prečišćavanja. Metalne soli $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, NaN_3 i NH_4SCN nabavljene su od komercijalnih proizvođača (Sigma-Aldrich, Riedel-de Haën, Zorka–Šabac). Rastvarači metanol, etanol, dimetilsulfoksid (DMSO) i voda bili su „pro analysis” kvaliteta. Kao prekursori za sintezu liganada korišćeni su Žirarov T reagens, 2-acetil-6-bromopiridin, 2-acetilpirazin, tiosemikarbazid (Aldrich) i 2-acetiltiazol (Acros).

3.1.2. Elementalna analiza

Elementalni sastav (ugljenika, vodonika, azota i sumpora) sintetisanih liganada i njihovih metalnih kompleksa određen je standardnom mikrometodom korišćenjem Elementar Vario ELIII C.H.N.S.O. analizatora. Dobijene eksperimentalne vrednosti upoređene su sa teorijski proračunatim, čime je potvrđena odgovarajuća stehiometrija i visoka čistoća sintetisanih jedinjenja.

3.1.3. Spektroskopska karakterizacija

FT-IR spektri svih jedinjenja snimljeni su na Thermo Scientific Nicolet 6700 spektrometru u opsegu $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ korišćenjem tehnike atenuirane totalne refleksije (ATR tehnika). Skraćenice korišćene za određivanje intenziteta traka u infracrvenom regionu: vj - veoma jaka, j - jaka, sj - srednje jaka i s - slaba. ^1H i ^{13}C NMR spektri liganada i kompleksa zabeleženi su na Varian/Agilent 400 MHz spektrometru u $\text{DMSO-}d_6$ na sobnoj temperaturi, dok su pomeranja data u ppm vrednostima. U NMR spektrima multipleti signala su označeni skraćenicama: s (singlet), d (dublet) i t (triplet). Asignacija svih atoma izvršena je na osnovu šema prikazanih u poglavlju 4.1. *Sinteze*. Za snimanje UV-Vis spektara korišćen je Agilent Cary 3500 spektrofotometar (u DMSO-u), u kome je praćena i stabilnost kompleksa (nakon 24 h).

3.2. Sinteza liganada

3.2.1. Sinteza liganda **HL**¹Cl (*E*)-2-(2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazinil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminium

U reakciji kondenzacije između 2-acetil-6-bromopiridina (0,60 g, 3,00 mmol) i Žirarovog T reagensa (0,50 g, 3,00 mmol) u metanolu (15 mL) dobijen je ligand **HL**¹Cl. Reakciona smeša zakišeljena je dodatkom dve kapi glacijalne sirćetne kiseline (CH_3COOH) i refluktovana dva sata na temperaturi od $70\text{ }^\circ\text{C}$. S obzirom na to da je početna komponenta, 2-acetil-6-bromopiridin, osetljiva na svetlost, reakcija je sprovedena u zatamnjenom balonu. Nakon isparavanja rastvarača u vakuum-uparivaču, dobijen je beli čvrsti proizvod koji je proceden i osušen. Prinos: 0,67 g (64 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{BrClN}_4\text{O}$: C, 41,22; N, 16,02; H, 5,19. Pronađeno (%): C, 41,36; N, 16,55; H, 5,13.

IR (ATR, cm^{-1}): 3377,4 (sj), 3068,5 (sj), 3019,4 (sj), 2976,5 (s), 2940,6 (s), 2879,9 (s), 1703,4 (vj), 1618,3 (s), 1571,8 (sj), 1550,4 (sj), 1491,2 (sj), 1481,9 (s), 1457,5 (sj), 1398,4 (j), 1333,1 (sj),

1280,2 (j), 1231,0 (sj), 1164,0 (sj), 1125,8 (j), 1094,3 (s), 1079,1 (s), 987,3 (sj), 947,3 (s), 818,5 (sj), 800,1 (sj), 655,4 (sj) (slika P1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 11,46 (s, 1H, N-H), 8,11 (d, 1H, $\text{C3}_{\text{ar-H}}$), 7,82 (t, 1H, $\text{C4}_{\text{ar-H}}$), 7,68 (d, 1H, $\text{C5}_{\text{ar-H}}$), 4,88 (s, 2H, C10-H), 3,32 (s, 9H, C11-H), 2,47 (s, 3H, C8-H) (slika P2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 167,20 (C9 iz C=O), 156,25 (C2_{ar}), 149,54 (C7), 140,76 (C6_{ar}), 140,40 (C4_{ar}), 128,98 (C5_{ar}), 120,19 (C3_{ar}), 63,16 (C10), 53,70 (C11), 12,69 (C8) (slika P3).

3.2.2. Sinteza liganda **HL²** (*E*)-2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid

Sinteza **HL²** liganda izvedena je kondenzacionom reakcijom 2-acetil-6-bromopiridina (1,00 g, 5,00 mmol) i tiosemikarbazida (0,46 g, 5,00 mmol) u 20 mL smeše etanola i vode (zapreminski odnos 3:1), u zatamnjenom balonu sa okruglim dnom. Reakciona smeša je zagrevana tokom 2 sata na 70 °C. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu, posle 1-2 dana došlo je do formiranja belog taloga koji je zatim proceden i osušen. Prinos: 0,96 g (71 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $\text{C}_8\text{H}_9\text{BrN}_4\text{S}$: C, 35,18; N, 20,51; S, 11,74; H, 3,32. Pronađeno (%): C, 35,20; N, 20,52; S, 11,71; H, 3,32.

IR (ATR, cm^{-1}): 3427,0 (sj), 3182,7 (j), 3140,8 (j), 1597,2 (j), 1566,6 (sj), 1543,6 (sj), 1504,0 (vj), 1470,1 (sj), 1429,6 (vj), 1391,3 (j), 1361,2 (sj), 1313,8 (s), 1293,4 (j), 1154,1 (j), 1113,3 (j), 1074,6 (sj), 1051,8 (sj), 984,1 (sj), 853,6 (sj), 791,9 (sj), 606,7 (sj), 540,6 (s), 471,0 (sj) (slika P4).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 10,44 (s, 1H, N-H), 8,51 (d, 1H, $\text{C3}_{\text{ar-H}}$), 8,23 (s, 1H, NH_2), 7,76 (t, 1H, $\text{C4}_{\text{ar-H}}$), 7,65 (d, 1H, $\text{C5}_{\text{ar-H}}$), 7,64 (s, 1H, NH_2), 2,34 (s, 3H, C8-H) (slika P5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 179,65 (C9 iz C=S), 156,68 (C2_{ar}), 146,73 (C7), 140,47 (C6_{ar}), 140,09 (C4_{ar}), 128,41 (C5_{ar}), 120,70 (C3_{ar}), 12,57 (C8) (slika P6).

3.2.3. Sinteza liganda **HL³** (*E*)-2-(1-(pirazin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid

Sinteza **HL³** liganda izvedena je reakcijom 2-acetilpirazina (0,61 g, 5,0 mmol) i tiosemikarbazida (0,46 g, 5,0 mmol) u 20 mL smeše metanola i vode (zapreminski odnos 3:1). Reakciona smeša je zakišeljena sa 3–4 kapi 2M CH_3COOH i zagrevana tokom 2 sata na 70 °C. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu, formiran je beli talog koji je proceden i osušen na vazduhu. Prinos: 0,74 g (76 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_5\text{S}$: C, 43,06; N, 35,87; S, 16,42; H, 4,65. Pronađeno (%): C, 43,06; N, 35,86; S, 16,40; H, 4,65.

IR (ATR, cm^{-1}): 3360,5 (sj), 3240,5 (j), 3160,2 (j), 2980,8 (j), 1615,3 (j), 1499,5 (j), 1466,8 (j), 1401,4 (j), 1362,6 (j), 1312,7 (sj), 1284,5 (sj), 1171,6 (sj), 1107,9 (sj), 1058,2 (j), 1012,0 (j), 851,3 (sj), 667,1 (s), 575,2 (sj), 555,6 (sj) (slika P7).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 10,41 (s, 1H, N-H), 8,91 (s, 1H, $\text{C3}_{\text{ar-H}}$), 8,36 (d, 1H, $\text{C5}_{\text{ar-H}}$), 8,34 (d, 1H, $\text{C6}_{\text{ar-H}}$), 8,17; 7,67 (s, 2H, NH_2), 2,33 (s, 3H, C8-H) (slika P8).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 179,58 (C9 iz C=S), 149,18 (C2_{ar}), 144,87 (C7), 137,68 (C5_{ar}), 133,55 (C6_{ar}), 127,94 (C3_{ar}), 14,15 (C8) (slika P9).

3.2.4. Sinteza liganda **HL**⁴ (*E*)-2-(1-(tiazol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid

Ligand **HL**⁴ sintetisan je reakcijom 2-acetiltiazola i tiosemikarbazida u vodi prema metodi opisanoj ranije [51]. Prinos 1,82 g (91 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za C₆H₈N₄S₂: C, 35,98; S, 32,02; N, 27,98; H, 4,03. Pronađeno (%): C, 35,84; S, 32,04; N, 27,89; H, 4,10.

IR (ATR, cm⁻¹): 3434,3 (j), 3244,5 (j), 3188,1 (j), 3099,2 (sj), 3071,4 (j), 2983,5 (s), 1590,0 (j), 1510,7 (j), 1487,0 (j), 1452,1 (s), 1428,4 (j), 1367,0 (s), 1283,7 (j), 1165,8 (s), 1109,3 (j), 1071,3 (sj), 1041,9 (s), 959,3 (s), 892,6 (s), 880,1 (s), 848,8 (s), 758,7 (s), 714,6 (s), 639,0 (s), 602,7 (s), 550,2 (s), 505,7 (s) (slika P10).

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 10,70 (s, 1H, N-H), 8,56 (s, 1H, NH₂), 7,91 (d, 1H, C5_{ar}-H), 7,82 (d, 1H, C4_{ar}-H), 7,72 (s, 1H, NH₂), 2,46 (s, 3H, C7-H) (slika P11).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 178,99 (C8), 167,07 (C2_{ar}), 144,26 (C6), 143,30 (C5_{ar}), 122,61 (C4_{ar}), 13,68 (C7) (slika P12).

3.3. Sinteza kompleksa

3.3.1. Sinteza kompleksa **1** [ZnL¹(NCO)₂]

U rastvor liganda **HL**¹Cl (0,087 g, 0,25 mmol) u metanolu (20 mL), dodat je Zn(BF₄)₂·6H₂O (0,087 g, 0,25 mmol) rastvoren u vodi (10 mL) i čvrsti NaOCN u višku (0,065 g, 1,00 mmol). Reakciona smeša zagrevana je na 70 °C tokom dva sata uz mešanje. Žuti kristali pogodni za rendgensku strukturnu (X-ray) analizu dobijeni su nakon postepenog procesa isparavanja rastvarača na 4 °C tokom tri meseca. Prinos: 0,096 g (83 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za C₁₄H₁₇BrN₆O₃Zn: C, 36,35; N, 18,17; H, 3,70. Pronađeno (%): C, 36,51; N, 18,12; H, 3,80.

IR (ATR, cm⁻¹): 3537,5 (s), 3104,5 (s), 3065,7 (s), 2964,5 (s), 2209,3 (j), 1625,0 (s), 1559,2 (j), 1530,2 (j), 1492,0 (sj), 1414,0 (sj), 1390,2 (sj), 1373,3 (sj), 1344,5 (sj), 1309,8 (sj), 1189,1 (sj), 1119,6 (sj), 1061,2 (j), 1027,8 (j), 919,1 (sj), 824,6 (sj), 799,8 (sj), 734,4 (sj), 702,8 (sj), 519,7 (s) (slika P13).

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 8,10 (d, 1H, C3_{ar}-H), 7,95 (t, 1H, C4_{ar}-H), 7,80 (d, 1H, C5_{ar}-H), 4,11 (s, 2H, C10-H), 3,24 (s, 9H, C11-H), 2,51 (s, 3H, C8-H) (slika P14).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 170,52 (C9), 152,03 (C7), 151,40 (C2_{ar}), 142,32 (C6_{ar}), 141,92 (C4_{ar}), 131,03 (C5_{ar}), 125,62 (C12), 122,79 (C3_{ar}), 66,83 (C10), 53,76 (C11), 13,91 (C8) (slika P15).

3.3.2. Sinteza kompleksa **2** [Zn(L¹)₂](BF₄)₂

U rastvor liganda **HL**¹Cl (0,087 g, 0,25 mmol) u metanolu (20 mL), dodat je Zn(BF₄)₂·6H₂O (0,087 g, 0,25 mmol) rastvoren u vodi (10 mL) i čvrsti NaN₃ u višku (0,065 g, 1 mmol). Reakciona smeša zagrevana je na 70 °C tokom dva sata uz mešanje. Žuti kristali pogodni za rendgensku

strukturnu (X-ray) analizu dobijeni su nakon postepenog procesa isparavanja rastvarača na 4 °C tokom dva meseca. Prinos: 0,092 g (85 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $C_{24}H_{34}Br_2B_2F_8N_8O_2Zn$: C, 33,31; N, 12,95; H, 3,96. Pronađeno (%): C, 33,40; N, 12,98; H, 3,70.

IR (ATR, cm^{-1}): 1626,0 (s), 1558,3 (sj), 1528,8 (j), 1491,7 (sj), 1433,0 (sj), 1413,0 (sj), 1390,2 (sj), 1373,0 (sj), 1344,1 (sj), 1309,5 (sj), 1252,9 (s), 1189,4 (sj), 1026,3 (j), 918,2 (sj), 798,5 (sj), 733,6 (sj), 644,6 (s) (slika P16).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 8,12 (d, 1H, $C3_{ar}$ -H), 8,08 (t, 1H, $C4_{ar}$ -H), 7,81 (d, 1H, $C5_{ar}$ -H), 4,08 (s, 2H, $C10$ -H), 3,14 (s, 9H, $C11$ -H), 2,61 (s, 3H, $C8$ -H) (slika P17).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 171,74 ($C9$), 153,50 ($C7$), 152,20 ($C2_{ar}$), 144,24 ($C6_{ar}$), 142,74 ($C4_{ar}$), 132,10 ($C5_{ar}$), 124,46 ($C3_{ar}$), 67,98 ($C10$), 54,54 ($C11$), 14,92 ($C8$) (slika P18).

3.3.3. Sinteza kompleksa 3 [$ZnL^1(N_3)_2$]

U rastvor liganda HL^1Cl (0,087 g, 0,25 mmol) u metanolu (20 mL), dodat je čvrsti $Zn(BF_4)_2 \cdot 6H_2O$ (0,087 g, 0,25 mmol) rastvoren u vodi (10 mL) i čvrsti NaN_3 u višku (0,195 g, 3 mmol). Reakciona smeša je mešana uz zagrevanje na 70 °C tokom pet sati. Nakon skoro dva meseca sporog isparavanja rastvarača u frižideru na 4 °C, dobijeni su beli kristali pogodni za rendgensku strukturnu (X-ray) analizu. Prinos: 0,087 g (75 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $C_{12}H_{17}BrN_{10}OZn$: C, 31,16; N, 30,28; H, 3,70. Pronađeno (%): C, 31,19; N, 30,43; H, 3,72.

IR (ATR, cm^{-1}): 3370,3 (s), 3092,2 (s), 3037,4 (s), 2060,4 (vj), 1612,0 (s), 1556,2 (sj), 1536,1 (sj), 1486,1 (sj), 1431,5 (sj), 1408,6 (sj), 1341,8 (sj), 1310,1 (sj), 1290,1 (s), 1120,6 (sj), 1070,1 (sj), 1020,6 (s), 824,6 (s), 808,9 (sj), 794,6 (s), 703,7 (s), 653,2 (s) (slika P19).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 8,01 (d, 1H, $C3_{ar}$ -H), 7,97 (t, 1H, $C4_{ar}$ -H), 7,85 (d, 1H, $C5_{ar}$ -H), 4,12 (s, 2H, $C10$ -H), 3,23 (s, 9H, $C11$ -H), 2,51 (s, 3H, $C8$ -H) (slika P20).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 170,86 ($C9$), 151,80 ($C7$), 151,78 ($C2_{ar}$), 142,60 ($C6_{ar}$), 141,78 ($C4_{ar}$), 130,89 ($C5_{ar}$), 122,78 ($C3_{ar}$), 66,84 ($C10$), 53,74 ($C11$), 13,69 ($C8$) (slika P21).

3.3.4. Sinteza kompleksa 4 [$Zn(L^2)_2$]

U rastvor liganda HL^2 (0,028 g, 0,10 mmol) u metanolu (10 mL) dodati su $Zn(BF_4)_2 \cdot 6H_2O$ (0,035 g, 0,10 mmol) rastvoren u vodi (10 mL) i čvrsti NaN_3 u višku (0,026 g, 0,40 mmol). Reakciona smeša je mešana uz zagrevanje na 70 °C tokom dva sata. Nakon jedne nedelje sporog isparavanja rastvarača na 4 °C dobijeni su žuti kristali pogodni za rendgensku strukturnu (X-ray) analizu. Prinos: 0,0204 g (67 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $C_{16}H_{16}N_8Br_2S_2Zn$: C, 31,52; N, 18,38; S, 10,52; H, 2,65. Pronađeno (%): C, 31,55; N, 18,40; S, 10,71; H, 2,65.

IR (ATR, cm^{-1}): 3470,6 (sj), 3348,3 (j), 3147,9 (s), 3072,48 (s), 1632,7 (s), 1577,2 (j), 1540,2 (j), 1463,9 (j), 1411,7 (j), 1391,1 (vj), 1320,3 (j), 1300,0 (j), 1249,6 (s), 1193,0 (j), 1162,7 (j), 1130,5 (sj), 1032,7 (s), 995,3 (s), 823,4 (s), 800,4 (s), 744,7 (s), 677,7 (s), 634,5 (s) (slika P22).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 7,87 (d, 1H, $C3_{ar}$ -H), 7,86 (t, 1H, $C4_{ar}$ -H), 7,53 (d, 1H, $C5_{ar}$ -H), 6,79 (s, 2H, NH_2), 2,52 (s, 3H, $C8$ -H) (slika P23).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 181,05 (C9), 154,10 (C7), 143,28 (C2_{ar}), 141,22 (C6_{ar}), 141,09 (C4_{ar}), 128,66 (C5_{ar}), 121,80 (C3_{ar}), 14,96 (C8) (slika P24).

3.3.5. Sinteza kompleksa 5 $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$

U rastvor liganda **HL**² (0,028 g, 0,10 mmol) u metanolu (15 mL) dodati su $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,020 g, 0,10 mmol) rastvoren u vodi (10 mL) i čvrsti NaN_3 u višku (0,026 g, 0,40 mmol). Reakciona smeša je mešana uz zagrevanje na 70 °C tokom dva sata. Nakon jedne nedelje sporog isparavanja rastvarača na 4 °C dobijeni su crveni kristali pogodni za rendgensku strukturnu (X-ray) analizu. Prinos: 0,023 g (77 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{N}_8\text{S}_2\text{Mn}$: C, 32,07; N, 18,70; S, 10,70; H, 2,69. Pronađeno (%): C, 32,06; N, 18,70; S, 10,69; H, 2,70.

IR (ATR, cm^{-1}): 3474,6 (sj), 3352,2 (j), 3071,5 (s), 1575,1 (j), 1536,2 (j), 1461,9 (j), 1410,4 (vj), 1388,7 (vj), 1315,0 (sj), 1296,1 (j), 1248,0 (s), 1189,6 (sj), 1156,9 (j), 1128,9 (sj), 997,0 (s), 801,6 (s), 737,9 (s), 633,1 (s) (slika P25).

3.3.6. Sinteza kompleksa 6 $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$

U rastvor liganda **HL**³ (0,020 g, 0,10 mmol) u metanolu (15 mL) dodati su $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,020 g, 0,10 mmol) rastvoren u vodi (10 mL) i čvrsti NaN_3 u višku (0,026 g, 0,40 mmol). Reakciona smeša je mešana uz zagrevanje na 70 °C tokom dva sata. Nakon dve nedelje sporog isparavanja rastvarača na 4 °C dobijeni su crveni kristali pogodni za rendgensku strukturnu (X-ray) analizu. Prinos: 0,0201 g (89 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_{10}\text{O}_{0,5}\text{S}_2\text{Mn}$: C, 37,17; N, 30,96; S, 14,18; H, 3,79. Pronađeno (%): C, 37,20; N, 30,98; S, 14,19; H, 3,80.

IR (ATR, cm^{-1}): 3474,4 (s), 3396,4 (s), 3349,6 (s), 3271,7 (sj), 3152,8 (sj), 1609,8 (sj), 1579,4 (sj), 1512,6 (s), 1482,1 (s), 1398,3 (vj), 1294,2 (j), 1193,1 (sj), 1143,2 (sj), 1117,8 (sj), 1019,6 (s), 733,3 (s), 654,9 (s), 509,4 (s) (slika P26).

3.3.7. Sinteza kompleksa 7 $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$

U rastvor liganda **HL**⁴ (0,10 g, 0,50 mmol) u metanolu (10 mL) dodati su $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,17 g, 0,50 mmol) rastvoren u vodi (10 mL) i čvrsti NH_4SCN u višku (0,46 g, 6 mmol). Reakciona smeša je zagrejana na 70 °C tokom dva sata uz kontinuirano mešanje. Nakon skoro mesec dana sporog isparavanja rastvarača na 4 °C, dobijeni su žuti kristali pogodni za rendgensko ispitivanje. Prinos: 0,129 g (76 %).

Elementalna analiza (izražena u %) izračunata za $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_5\text{OS}_3\text{Zn}$: S, 28,23; C, 24,67; N, 20,55; H, 2,66. Pronađeno (%): S, 28,25; C, 24,71; N, 20,63; H, 2,61.

IR (ATR, cm^{-1}): 3464,2 (s), 3350,2 (j), 3259,3 (j), 3178,0 (sj), 3124,4 (sj), 3106,0 (sj), 3090,8 (sj), 2909,4 (s), 2077,2 (vj), 1605,9 (j), 1585,8 (sj), 1547,5 (sj), 1493,1 (sj), 1430,0 (sj), 1407,7 (sj), 1378,1 (j), 1339,9 (s), 1303,0 (s), 1208,1 (sj), 1164,1 (sj), 1091,1 (sj), 889,1 (s), 788,6 (s), 775,6 (s), 645,9 (s), 601,1 (s), 462,8 (s), 424,7 (s) (slika P27).

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 8,00 (d, 1H, C4_{ar}-H), 7,91 (d, 1H, C5_{ar}-H), 7,53 (s, 2H, NH₂), 2,46 (s, 3H, C7-H) (slika P28).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 181,07 (C8), 167,00 (C2_{ar}), 143,27 (C5_{ar}), 141,37 (SCN), 138,59 (C6), 122,50 (C4_{ar}), 15,28 (C7) (slika P29).

3.4. Biološka aktivnost

3.4.1. Antimikrobna aktivnost

In vitro, ispitivanje antibakterijske i antifungalne aktivnosti obuhvatilo je četiri soja Gram-pozitivnih (*Bacillus spizizenii* ATCC 6633, *Clostridium sporogenes* ATCC 19404, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) i četiri soja Gram-negativnih bakterija (*Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031), dva soja gljivica (*Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231) i jedan soj kvasca (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763).

Testiranje je sprovedeno mikrodilucionom metodom (metodom dvostrukog razblaživanja) u mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića. Antibakterijska aktivnost određena je korišćenjem *Mueller–Hinton* bujona, dok je antifungalna aktivnost ispitana pomoću *Sabouraud* dekstroznog bujona. Koncentracija osnovnih rastvora ispitivanih jedinjenja iznosila je 10 mg/mL u DMSO-u. Nakon dodavanja 100 µL odgovarajućeg bujona u svaki bunarić mikrotitarske ploče, dodatno je naneto 100 µL jedinjenja koje je zatim dvostruko razblaženo. Suspenzije bakterija i gljivica pripremljene su u sterilnom 0,9 % fiziološkom rastvoru, a po 10 µL razblažene suspenzije dodato je u svaki bunarić, tako da je konačna koncentracija za bakterije iznosila 5×10^5 CFU/mL i za gljivice 5×10^3 CFU/mL.

Ampicilin je korišćen kao pozitivna kontrola za bakterije, amfotericin B kao pozitivna kontrola za gljivice, dok je DMSO služio kao negativna kontrola. Mikrotitarske ploče inkubirane su 24 sata na 37 °C za bakterije i 48 sati na 28 °C za gljivice. Nakon inkubacije, u svaki bunarić dodato je 10 µL 10 % rastvora rezazurina radi vizuelizacije rasta mikroorganizama pri čemu plava boja ukazuje na odsustvo rasta mikroorganizama, odnosno na inhibiciju rasta, dok ružičasta boja označava prisustvo rasta i samim tim neefikasnost testirane koncentracije jedinjenja. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) definisana je kao najniža koncentracija jedinjenja koja inhibira rast bakterija i izražena je u milimolarnim (mM) koncentracijama.

3.4.2. Citotoksična aktivnost

Citotoksičnost kompleksa i njihovih prekursora ispitana je na pet humanih malignih ćelijskih linija: adenokarcinom cerviksa (HeLa), karcinom pluća (A549), adenokarcinom dojke (MDA-MB-231), hronična mijeloidna leukemija (K562) i kolorektalni adenokarcinom (LS 174T), kao i na normalnim humanim fibroblastima pluća (MRC-5).

Sve ćelijske linije nabavljene su od American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, Virginia, USA). Ćelije su posejane u ploče za ćelijske kulture sa 96 bunarića u RPMI-1640 hranljivom medijumu pri sledećim gustinama sejanja:

- 2000 ćelija po bunariću za HeLa ćelije;
- 5000 ćelija po bunariću za A549, MDA-MB-231, K562 i MRC-5 ćelije;
- 7000 ćelija po bunariću za LS 174T ćelije.

Ćelijske linije su održavane u RPMI-1640 medijumu za ćelijske kulture, koji sadrži 10 % fetalni goveđi serum (FBS, fetal bovine serum), 2 mM L-glutamin, 25 mM HEPES pufera (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansulfonska kiselina) i rastvor penicilina (100 U/mL) i streptomicina (0,1 mg/mL). Ćelijske kulture su gajene u CO₂ inkubatoru na temperaturi od 37 °C, u atmosferi vlažnog vazduha (95 %) sa 5 % CO₂. Ćelije su tretirane sa pet različitih koncentracija testiranih kompleksa i njihovih prekursora (12,5, 25, 50, 100 i 200 µM) tokom 72 sata. Nakon perioda inkubacije, preživljavanje ćelija određeno je MTT kolorimetrijskim testom, prema protokolu koji je

prvi opisao Mosmann [127], koji je kasnije modifikovali Ohno i Abe [128]. MTT test (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolijum-bromid) predstavlja metodu koja se koristi za određivanje ćelijskog preživljavanja i citotoksičnosti različitih jedinjenja. Princip testa zasniva se na sposobnosti živih ćelija da redukuju žutu tetrazolijumsku so MTT u nerastvorni ljubičasti formazan. Količina formiranog formazana proporcionalna je broju živih, metabolički aktivnih ćelija, pa se intenzitet boje može kvantitativno izmeriti spektrofotometrijski. Merenje apsorbancije izvršeno je na 570 nm pomoću mikrotitarskog spektrofotometra Thermo Scientific Multiskan SkyHigh. Sva ispitivanja sprovedena su u tri nezavisna eksperimenta, pri čemu je svaki eksperiment izveden u triplicatu radi obezbeđivanja pouzdanosti i reproducibilnosti rezultata. Rezultati MTT testa izraženi su kao IC₅₀ vrednosti (μM), predstavljene u obliku srednje vrednosti ± standardna devijacija (SD), pri čemu IC₅₀ vrednost predstavlja koncentraciju jedinjenja koja smanjuje preživljavanje ćelija za 50 % u odnosu na kontrolu. Cisplatina, standardni hemoterapeutski agens, korišćena je kao pozitivna kontrola u ispitivanju citotoksične aktivnosti. Svi reagensi korišćeni u eksperimentima sa ćelijskim kulturama nabavljeni su od kompanije *Sigma Aldrich*, dok su ploče sa 96 bunarića za ćelijske kulture kupljene od kompanije *Thermo Scientific*.

3.4.3. Analiza ćelijskog ciklusa protočnom citometrijom

Analiza ćelijskog ciklusa je sprovedena radi ispitivanja uticaja metalnih kompleksa na raspodelu faza ćelijskog ciklusa u HeLa ćelijama. Ćelije (200 000 po bunariću) su zasejane u RPMI-1640 kompletnom medijumu u pločama sa 6 bunarića i tretirane IC₅₀, 2IC₅₀ i 4IC₅₀ koncentracijama Zn(II) i Mn(II) kompleksa tokom 24 h i/ili 48 h, u zavisnosti od eksperimentalnog dizajna. Nakon tretmana, kontrolne i tretirane ćelije su sakupljene tripsinizacijom, isprane fosfatnim puferom (PBS) i fiksirane u hladnom 70 % etanolu na ledu, prema prethodno opisanim protokolima [129]. Fiksirani uzorci su čuvani na -20 °C najmanje nedelju dana pre analize. Pre protočne citometrije, ćelije su centrifugirane, resuspendovane u PBS-u sa RNazom A i inkubirane 30 min na 37 °C, nakon čega je dodat rastvor propidijum-jodida (PI). Raspodela ćelija u fazama subG1, G1, S i G2/M određena je pomoću BD FACSCalibur™ protočnog citometra (BD Biosciences) i BD CellQuest™ Pro softvera. Svi eksperimenti su izvedeni najmanje dva puta nezavisno. Korišćeni reagensi bili su nabavljeni od kompanije *Sigma Aldrich*, dok su korišćene Thermo Scientific™ Biolite™ ploče sa 6 bunarića za adherentne ćelije.

3.4.4. FITC Annexin V/propidijum-jodid (PI) bojenje – analiza protočnom citometrijom

Analiza tipa ćelijske smrti sprovedena je kako bi se ispitao efekat metalnih kompleksa na indukciju ćelijske smrti u HeLa ćelijama. Ćelije (200 000 po bunariću) su zasejane u RPMI-1640 kompletnom medijumu u pločama sa 6 bunarića i tretirane IC₅₀, 2IC₅₀ i 4IC₅₀ koncentracijama Zn(II) i Mn(II) kompleksa tokom 24 h. Nakon inkubacije, ćelije su sakupljene tripsinizacijom, isprane fosfatnim puferom (PBS) i obojene FITC Annexin V i propidijum-jodidom (PI) tokom 15 minuta na sobnoj temperaturi u mraku, u skladu sa preporukama proizvođača ranije opisanim [130]. Nakon bojenja, procenat Annexin V⁻/PI⁻ vijabilnih ćelija, Annexin V⁺/PI⁻ ranih apoptotskih ćelija, Annexin V⁺/PI⁺ kasnih apoptotskih/sekundarno nekrotičnih ćelija, kao i Annexin V⁻/PI⁺ mrtvih ćelija određen je protočnom citometrijom koristeći BD FACSCalibur™ (BD Biosciences) i BD CellQuest™ Pro softver. Svi eksperimenti su izvedeni najmanje dva puta nezavisno. FITC Annexin V i Annexin V Binding Buffer bili su proizvodi kompanije BD Pharmingen, dok su ostali reagensi, uključujući propidijum-jodid, nabavljeni od kompanije *Sigma Aldrich*; korišćene su Thermo Scientific™ Biolite™ ploče sa 6 bunarića.

3.4.5. Merenje intraćelijskih nivoa reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) protočnom citometrijom

Merenje intraćelijskih nivoa reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) sprovedeno je protočnom citometrijom u MRC-5 ćelijama. Ćelije (200 000 po bunariću) su zasejane u RPMI-1640 kompletnom hranljivom medijumu u pločama sa 6 bunarića i inkubirane tokom 24 h sa subtoksičnim IC₂₀ koncentracijama kompleksa 1–3, kao i sa IC₅₀ koncentracijama kompleksa 4, 5, 6 i 9. Nakon inkubacije, ćelije su sakupljene tripsinizacijom, isprane PBS-om i obojene sa 30 µM rastvorom 2',7'-dihlorodihidrofluorescein-diacetata tokom 45 min na 37 °C, prema ranije opisanim protokolima [131]. Intenzitet fluorescencije dihlorofluoresceina, kao mera nivoa ROS unutar ćelija, određen je korišćenjem BD FACSCalibur™ protočnog citometra i BD CellQuest™ Pro softvera. U cilju ispitivanja potencijalnih citoprotektivnih svojstava kompleksa, kontrolne i tretirane MRC-5 ćelije su dodatno izložene 5 mM vodonik-peroksidu (H₂O₂) u PBS-u na 37 °C u trajanju od 15–20 min pre određivanja nivoa ROS. Svi eksperimenti su izvedeni u najmanje dva nezavisna ponavljanja. Korišćeni reagensi bili su nabavljeni od kompanije *Sigma Aldrich*, dok su korišćene Thermo Scientific™ Biolite™ ploče sa 6 bunarića za adherentne ćelije.

3.5. XRD analiza

3.5.1. Rendgenska strukturna analiza kompleksa

Kristalne strukture kompleksa [ZnL¹(NCO)₂] (1), [Zn(L¹)₂](BF₄)₂ (2), [ZnL¹(N₃)₂] (3), [Zn(L²)₂] (4), [Mn(L²)₂] (5), [Mn(L³)₂] (6) i [ZnL⁴(NCS)(H₂O)] (7) određene su metodom difrakcije X-zraka na monokristalu. Rezultati dobijeni rendgenskom strukturnom analizom, kao i dodatni relevantni parametri ispitivanih kompleksa, prikazani su u tabeli 4, 5 i 6. Difrakcioni podaci prikupljeni su pomoću Agilent SuperNova difraktometra sa dvostrukim izvorom i Atlas detektorom, opremljenog monohromatskim Mo-Kα zračenjem ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$), pri sobnoj temperaturi za [ZnL¹(N₃)₂], [ZnL⁴(NCS)(H₂O)] i na 150 K za [ZnL¹(NCO)₂], [Zn(L¹)₂](BF₄)₂, [Zn(L²)₂], [Mn(L²)₂], [Mn(L³)₂], respektivno. Podaci su obrađeni korišćenjem softvera CrysAlisPRO [132]. Strukture su rešene korišćenjem softverskog paketa Olex [133] u kombinaciji sa SHELXT [134], a modeli struktura su optimizovani metodom najmanjih kvadrata pune matrice na osnovu F^2 vrednosti uz primenu SHELXL [135]. Svi atomi, osim vodonikovih, modelovani su anizotropno. Atomi vodonika uključeni su u kristalnu strukturu na geometrijski izračunatim pozicijama i utačnjeni su korišćenjem riding modela. Atomi C14 i O3 jednog NCO liganda u [ZnL¹(NCO)₂] pokazali su neuređenost duž dva pravca i modelovani su korišćenjem PART instrukcija. Popunjenost C14a i C14, odnosno O3a i O3b, optimizovana je na odnos od 58:42 %, respektivno. Atomi vodonika vezani za azot i kiseonik određeni su na diferencijalnoj Furijeovoj mapi i modelovani uz primenu ograničenja rastojanja (DFIX) sa $d(\text{N-H}) = 0,88 \text{ \AA}$ ili $d(\text{O-H}) = 0,98 \text{ \AA}$ i sa $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}(\text{N})$ ili $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,5 U_{\text{eq}}(\text{O})$, redom.

Tabela 4. Kristalografski podaci i parametri utajavanja za komplekse **1**, **2** i **3**.

Oznaka	1	2	3
Empirijska formula	C ₁₄ H ₁₇ BrN ₆ O ₃ Zn	C ₂₄ H ₃₄ B ₂ Br ₂ F ₈ N ₈ O ₂ Zn	C ₁₂ H ₁₇ BrN ₁₀ OZn
Molarna masa (g/mol)	462,61	865,40	462,63
CCDC broj	2339925	2339926	2339927
Veličina kristala (mm)	0,50 × 0,20 × 0,10	0,40 × 0,40 × 0,30	0,20 × 0,20 × 0,10
Boja kristala	bezbojna	žuta	žuta
Kristalni sistem	triklinični	ortorombični	triklinični
Prostorna grupa	<i>P</i> –1	<i>Pbcn</i>	<i>P</i> –1
<i>a</i> (Å)	7,4852(3)	22,9095(8)	7,7113(5)
<i>b</i> (Å)	9,8974(5)	12,4317(6)	9,6246(9)
<i>c</i> (Å)	13,2682(6)	12,1295(6)	13,1176(9)
α (°)	95,579(4)	90	100,371(7)
β (°)	92,748(4)	90	106,222(6)
γ (°)	110,231(4)	90	100,696(7)
<i>V</i> (Å ³)	914,44(8)	3454,5(3)	890,39(12)
<i>Z</i>	2	4	2
Izačunata gustina (g/cm ³)	1,680	1,664	1,726
<i>F</i> (000)	464	1728	464
Broj prikupljenih refleksija	10 782	17 331	7401
Broj nezavisnih refleksija	4195	3959	4073
<i>R</i> _{int}	0,0343	0,0398	0,0264
Broj parametara	249	217	230
<i>R</i> [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)] ^a	0,0553	0,0407	0,0389
<i>wR</i> ₂ (svi podaci) ^b	0,1735	0,0916	0,0892
Faktor primerenosti, <i>S</i> ^c	1,057	1,049	1,009
Maksimum/minimum preostale elektronske gustine (e/Å ³)	+2,30/–0,79	+1,16/–1,08	+0,58/–0,60

^a $R = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. ^b $wR_2 = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2] \}^{1/2}$.

^c $S = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n-p) \}^{1/2}$ gde je *n* broj refleksija, a *p* ukupan broj utajenih parametara.

Tabela 5. Kristalografski podaci i parametri utajavanja za komplekse 4 i 5.

Oznaka	4	5
Empirijska formula	C ₁₆ H ₁₆ Br ₂ N ₈ S ₂ Zn	C ₁₆ H ₁₆ Br ₂ N ₈ S ₂ Mn
Molarna masa (g/mol)	609,68	599,25
CCDC broj	2533490	2454819
Veličina kristala (mm)	0,40 × 0,15 × 0,10	0,25 × 0,15 × 0,10
Boja kristala	žuta	crvena
Kristalni sistem	ortorombični	ortorombični
Prostorna grupa	<i>Pbcn</i>	<i>Pbcn</i>
<i>a</i> (Å)	13,7666(9)	13,7242(7)
<i>b</i> (Å)	9,7475(8)	9,9291(6)
<i>c</i> (Å)	15,4591(9)	15,4123(10)
α (°)	90	90
β (°)	90	90
γ (°)	90	90
<i>V</i> (Å ³)	2074,5(2)	2100,2(2)
<i>Z</i>	4	4
Izračunata gustina (g/cm ³)	1,952	1,895
<i>F</i> (000)	1200	1180
Broj prikupljenih refleksija	8996	6444
Broj nezavisnih refleksija	2377	1618
<i>R</i> _{int}	0,0316	0,0251
Broj parametara	139	139
<i>R</i> [<i>I</i> > 2σ (<i>I</i>)] ^a	0,0266	0,0233
<i>wR</i> ₂ (svi podaci) ^b	0,0638	0,0564
Faktor primerenosti, <i>S</i> ^c	1,121	1,077
Maksimum/minimum preostale elektronske gustine (e/Å ³)	+0,36/−0,65	+0,38/−0,29

^a $R = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. ^b $wR_2 = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2] \}^{1/2}$.

^c $S = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n-p) \}^{1/2}$ gde je *n* broj refleksija, a *p* ukupan broj utajenih parametara.

Tabela 6. Kristalografski podaci i parametri utajavanja za komplekse 6 i 7.

Oznaka	6	7
Empirijska formula	C ₁₄ H ₁₇ N ₁₀ O _{0.5} S ₂ Mn	C ₇ H ₉ N ₅ OS ₃ Zn
Molarna masa (g/mol)	452,43	340,74
CCDC broj	2454820	2427821
Veličina kristala (mm)	0,30 × 0,08 × 0,02	0,25 × 0,15 × 0,10
Boja kristala	crvena	žuta
Kristalni sistem	monoklinični	triklinični
Prostorna grupa	<i>P</i> 21/ <i>c</i>	<i>P</i> -1
<i>a</i> (Å)	10,8440(5)	8,2115(6)
<i>b</i> (Å)	25,5586(12)	8,7693(8)
<i>c</i> (Å)	14,2441(7)	10,1180(8)
α (°)	90	110,190(7)
β (°)	105,663(5)	97,137(6)
γ (°)	90	109,185(7)
<i>V</i> (Å ³)	3801,3(3)	622,20(10)
<i>Z</i>	8	2
Izračunata gustina (g/cm ³)	1,581	1,819
<i>F</i> (000)	1856	344
Broj prikupljenih refleksija	32657	5223
Broj nezavisnih refleksija	8686	2845
<i>R</i> _{int}	0,0910	0,0239
Broj parametara	530	167
<i>R</i> [<i>I</i> > 2σ (<i>I</i>)] ^a	0,0631	0,0337
<i>wR</i> ₂ (svi podaci) ^b	0,1266	0,0790
Faktor primerenosti, <i>S</i> ^c	1,029	1,052
Maksimum/minimum preostale elektronske gustine (e/Å ³)	+0,71/−0,56	+0,39/−0,44

^a $R = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. ^b $wR_2 = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2] \}^{1/2}$.

^c $S = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n-p) \}^{1/2}$ gde je *n* broj refleksija, a *p* ukupan broj utajenih parametara.

3.6. Teorijski proračuni

3.6.1. DFT proračuni stabilnosti kompleksa u rastvoru

Računarska hemija predstavlja značajan metod za proučavanje termodinamičke stabilnosti i geometrijske strukture metalnih kompleksa. Metode zasnovane na teoriji funkcionala gustine (DFT) omogućavaju detaljnu analizu elektronske strukture i prirode metal–ligand veza [86,136-138]. Takođe, značaj ove metode se ogleda u tome da omogućava određivanje strukture molekula u rastvoru [139]. Njihova primena u proučavanju koordinacionih jedinjenja dodatno naglašava značaj ovih sistema u modernoj hemiji [140-142].

Kvantno-hemijski proračuni u okviru ove disertacije izvedeni su primenom komplementarnih metodoloških pristupa u programskim paketima ADF i ORCA, u zavisnosti od elektronske strukture ispitivanih sistema (zatvorena ljuska kod d^{10} Zn(II) kompleksa u odnosu na otvorenu ljusku i visokospinska stanja Mn(II) jona) i metodoloških okvira objavljenih radova koji čine celinu ove teze. Za komplekse **1–3**, kao i **7** i **8** proračuni su rađeni korišćenjem ADF programa [143] u okviru Amsterdam Modeling Suite paketa (verzije 2023.104 i 2024.101), dok je za komplekse **4–6** i kompleks **9** korišćen ORCA program (verzija 6.1.1) [144].

U ADF proračunima relativistički efekti su uzeti u obzir korišćenjem skalarno-relativističke aproksimacije nultog reda (ZORA) [145-147], zajedno sa sve-elektronskim triple-zeta Slaterovim baznim skupom sa jednom polarizacionom funkcijom (TZP). Efekti rastvarača opisani su COSMO implicitnim solvatacionim modelom [148,149] sa DMSO-om kao rastvaračem, u skladu sa eksperimentalnim uslovima.

Kompleksi **1**, **2** i **3** optimizovani su na ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO nivou teorije (BP86 [150-152]; D4 [153]). Kompleksi **4–6** i **9** optimizovani su primenom hibridnog funkcionala sa razdvajanjem opsega ω B97X-D4rev [154], koji koristi revidirane D4 parametre i zamenjuje VV10 nelokalni korelacioni član D4 disperzionom korekcijom, uz def2-TZVP(-f) bazni skup. Efekti rastvarača uključeni su korišćenjem SMD implicitnog solvatacionog modela [155] sa DMSO-om kao rastvaračem. Mn(II) kompleksi tretirani su u visokospinskom sekstetnom stanju primenom nespregnutog formalizma, dok je Zn(II) kompleks računat kao singlet bez nesparenih elektrona.

Za komplekse **7** i **8** geometrije su optimizovane na istom ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO nivou kao i kod **1–3**, dok su elektronske energije dodatno evaluirane meta-hibridnim TPSSh-D4 [156,157] i MN15 [158] funkcionalima na prethodno optimizovanim strukturama.

Analiza harmonijskih vibracionih frekvencija sprovedena je na istom nivou teorije kao i geometrijska optimizacija kako bi se potvrdilo da optimizovane strukture svih kompleksa odgovaraju pravim minimumima na površini potencijalne energije. Gibbsove slobodne energije dobijene su iz termalnih korekcija izračunatih u rastvoru na 298 K. Pri tome su za procenu entropijskih doprinosa vibracionih modova niskih frekvencija primenjene korekcije slobodnog rotora prema Li i Head-Gordonu [159], kao i QRRHO (quasi-rigid-rotor harmonic oscillator) pristup prema Grimmeu [160], uz graničnu frekvenciju od 100 cm^{-1} , čime je obezbeđena pouzdana procena termodinamičkih parametara kako u ADF, tako i u ORCA softverskom paketu.

Prilikom termodinamičkih izračunavanja za sve reakcione vrste primenjena je standardna korekcija za promenu stanja iz idealnog gasa (1 atm) u idealni rastvor (koncentracija od 1 mol dm^{-3}), što iznosi $1,89\text{ kcal mol}^{-1}$ na 298 K. Kada DMSO molekul učestvuje u reakciji, a istovremeno je i rastvarač, korekcija za promenu stanja iz idealnog gasa u čisti rastvarač iznosi $3,46\text{ kcal mol}^{-1}$ na 298 K.

3.6.2. TDDFT proračuni

Proračuni ekscitovanih elektronskih stanja izvedeni su primenom vremenski zavisne teorije funkcionala gustine (TDDFT) [161], pri čemu je metodologija prilagođena ispitivanim kompleksima.

Za kompleks **4** vertikalne energije elektronskih prelaza izračunate su uz uključivanje ravnoteže rastvarača specifične za pobuđeno stanje (CPCM), odnosno primenom pune statičke dielektrične konstante DMSO. Za analizu karaktera dominantnih elektronskih prelaza generisane su prirodne tranzicione orbitale (NTO) [162,163].

Za komplekse **7** i **8** TDDFT proračuni vertikalnih energija elektronskih prelaza i odgovarajućih jačina oscilatora izvedeni su korišćenjem hibridnog funkcionala razdvojenog dometa CAM-B3LYP [164], dok su efekti rastvarača uključeni primenom COSMO modela solvatacije, pri čemu je kao rastvarač korišćen DMSO.

3.6.3. Konceptualni DFT

Elektronski hemijski potencijal (μ), molekulska tvrdoća (η), molekulska mekoća (S) i indeks elektrofilnosti (ω), koji predstavljaju globalne deskriptore konceptualnog DFT-a, izračunati su primenom aproksimacije linearizacije konačnih razlika (FDL, Finite Difference Linearization) [165], zasnovane na proračunima elektronskih energija ispitivanog molekula, kao i sistema sa jednim elektronom više i jednim elektronom manje (N , $N+1$ i $N-1$ elektronski sistemi) prema sledećim izrazima:

$$\mu = \frac{E_e(N+1) - E_e(N-1)}{2} \quad (1)$$

$$\eta = E_e(N+1) - 2E_e(N) + E_e(N-1) \quad (2)$$

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (3)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (4)$$

gde $E_e(N)$, $E_e(N+1)$ i $E_e(N-1)$ predstavljaju ukupne elektronske energije N , $N+1$ i $N-1$ elektronskih sistema, izračunate na optimizovanoj geometriji neutralnog molekula.

Za proračune konceptualnog DFT-a korišćeni su funkcional CAM-B3LYP [153] TZP bazni skup i COSMO model solvatacije sa vodom kao rastvaračem, pri čemu su proračuni izvedeni na geometrijama optimizovanim na nivou teorije ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO (voda). Za proračune energija sistema sa jednim elektronom više ili manje, neophodnih za primenu FDL aproksimacije, korišćen je nesprengnutni formalizam.

3.6.4. Analiza interakcija između fragmenata

Priroda hemijske veze između fragmenata $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots \text{L}^1$, $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{NCO})_2^{2-}$, $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{N}_3)_2^{2-}$, $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{OCN})_2^{2-}$ ispitana je primenom analize dekompozicije energije EDA (Energy Decomposition Analysis) [166-168], implementirane u programskom paketu ADF, na ZORA-BP86-D4/TZP nivou teorije, koristeći odgovarajuće optimizovane geometrije. Energija interakcije između fragmenata (E_{int}) prikazana je kao zbir elektrostatičke interakcije (E_{elst}), energije Paulijevog odbijanja (E_{Pauli}), orbitalne interakcije (E_{orb}) i disperzionih interakcija (E_{disp}): $E_{\text{int}} = E_{\text{elst}} + E_{\text{Pauli}} + E_{\text{orb}} + E_{\text{disp}}$. Pri tome, E_{elst} predstavlja Kulonovu interakciju između raspodela naelektrisanja fragmenata, E_{Pauli} opisuje destabilizaciono odbijanje koje nastaje usled preklapanja

popunjenih orbitala fragmenata, E_{orb} predstavlja stabilizacioni doprinos koji potiče od mešanja orbitala fragmenata, uključujući prenos naelektrisanja i polarizaciju, dok E_{disp} opisuje stabilizaciju usled disperzionih (van der Waalsovih) interakcija.

Pored toga, izvršena je analiza prirodnih orbitala za hemijsku valencu (NOCV, Natural Orbitals for Chemical Valence) [169,170] kojom je deformacija elektronske gustine razložena na pojedinačne kanale prenosa naelektrisanja, radi identifikacije različitih mehanizama prenosa elektronske gustine i određivanja njihovog energetskog doprinosa orbitalnoj interakciji (E_{orb}). Prenos naelektrisanja između fragmenata kvantifikovan je primenom Hiršfeldove analize naelektrisanja [171].

3.6.5. Molekulski doking

Molekulski doking je računarska metoda koja se koristi za predviđanje najpovoljnijeg načina vezivanja ispitivanih jedinjenja za ciljni biološki makromolekul. Metoda se zasniva na pretraživanju mogućih položaja i orijentacija ispitivane molekulske vrste u vezivnom, odnosno aktivnom mestu ciljnog enzima, uz primenu empirijskih funkcija ocenjivanja za procenu afiniteta vezivanja. Na taj način molekulski doking omogućava identifikaciju mogućih intermolekulskih interakcija i koristi se kao pomoćni alat za tumačenje eksperimentalno uočene biološke aktivnosti i predlaganje mogućih mehanizama dejstva ispitivanih jedinjenja.

Priprema liganada. Polazeći od geometrija kompleksa **1**, **2** i **3** optimizovanih na nivou teorije ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO (voda), Mertz–Kollman-ove parcijalne naelektrisanosti izračunate su primenom RESP postupka [172], koristeći hibridni funkcional B3LYP [173,174] i bazni skup 6-31(d,p) [175] za nemetalne atome, odnosno bazni skup lanl2dz sa efektivnim potencijalom jezgra za atom cinka. U ovim proračunima radijus jona Zn^{2+} postavljen je na 1,0 Å. Proračuni su izvedeni pomoću programa Gaussian09 [176] i RESP 2.4 [177]. Datoteke u formatu pdbqt, pogodne za eksperimente molekulskog dokinga, inicijalno su kreirane u programu AutoDockTools (verzija 1.5.6) [178], a prethodno izračunate Mertz–Kollman-ove parcijalne naelektrisanosti naknadno su ručno dodeljene.

Priprema proteina. Od šest enzima biosintetskog puta sterola kod kvasca *Saccharomyces cerevisiae* – 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A reduktaze (HMG-CoA reduktaza), geranilgeranil pirofosfat sintaze (GGPPS), skvalen sintaze (SQS), skvalen epoksidaze (SQE), sterol 24-C-metiltransferaze (SMT) i lanosterol 14 α -demetilaze (CYP51) – u Protein Data Bank (PDB) pronađene su kristalne strukture samo dva enzima (GGPPS i CYP51).

Za GGPPS, kristalna struktura sa PDBID oznakom 2dh4 [179] preuzeta je iz baze podataka PDB, a molekuli vode su uklonjeni iz strukture, pri čemu je ostavljen katalitički važan jon Mg^{2+} . Iz kristalne strukture CYP51 (PDBID: 8dl4) uklonjeni su svi heteroatomi, osim HEM grupe. Za enzime HMG-CoA reduktazu, SQS, SQE i SMT, korišćeni su homološki modeli kreirani pomoću dve različite strategije modelovanja (Swiss Model Repository [180] i AlphaFold2 [181]).

Nakon toga, za sve proteinske strukture određena su protonaciona stanja svih jonizujućih (titrabilnih) aminokiselinskih ostataka korišćenjem programa H++ [182], koji se zasniva na metodi kontinuumске elektrostatičke rešavanjem Poason–Bolcmanove jednačine metodom konačnih razlika (FDPB, finite difference Poisson–Boltzmann). Na kraju, proteinskim strukturama su pomoću programa AutoDockTools [178] dodati su parcijalni atomski naboji prema Kollmanovom modelu i standardni tipovi atoma aminokiselinskih ostataka, neophodni za proračune molekulskog dokovanja.

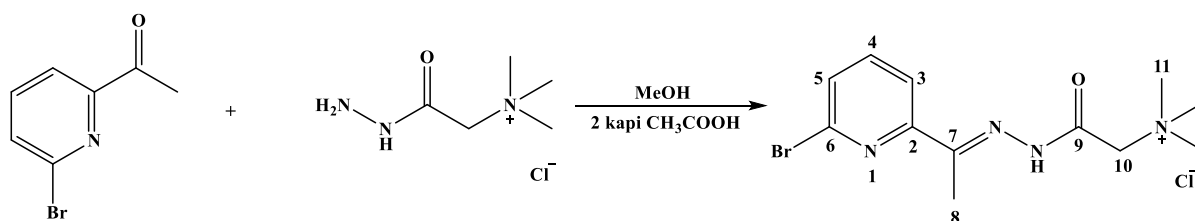
Za protein GGPPS, naboj jona Mg^{2+} postavljen je na +2, dok su za HEM grupu u CYP51 pojedinačni atomski naboji izračunati pomoću gore opisane Mertz–Kollman/RESP procedure i ručno uneti u pdbqt datoteku.

Eksperiment molekuskog dokovanja izveden je pomoću programa AutoDock 4.2 [172] korišćenjem Lamarckovog genetičkog algoritma sa populacijom od 150 jedinki i 25000000 procena energije. Softver Discovery Studio [183] korišćen je za analizu i vizuelizaciju rezultata studije molekuskog dokovanja.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Sinteze

Ligand **HL**¹Cl naziva (*E*)-2-(2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazinil)-*N,N,N*-trimetil-2-oksoetan-1-aminium, sintetisan je kondenzacionom reakcijom 2-acetil-6-bromopiridina i Žirarovog T reagensa u molskom odnosu 1:1 u metanolu (šema 4). Dobijeni proizvod okarakterisan je standardnim metodama strukturne analize, uključujući elementalnu analizu, infracrvenu (IR) spektroskopiju, kao i ¹H i ¹³C NMR spektroskopiju. Svi sintetisani ligandi okarakterisani su identičnim skupom standardnih metoda strukturne analize primenjenih pri karakterizaciji prvog liganda.



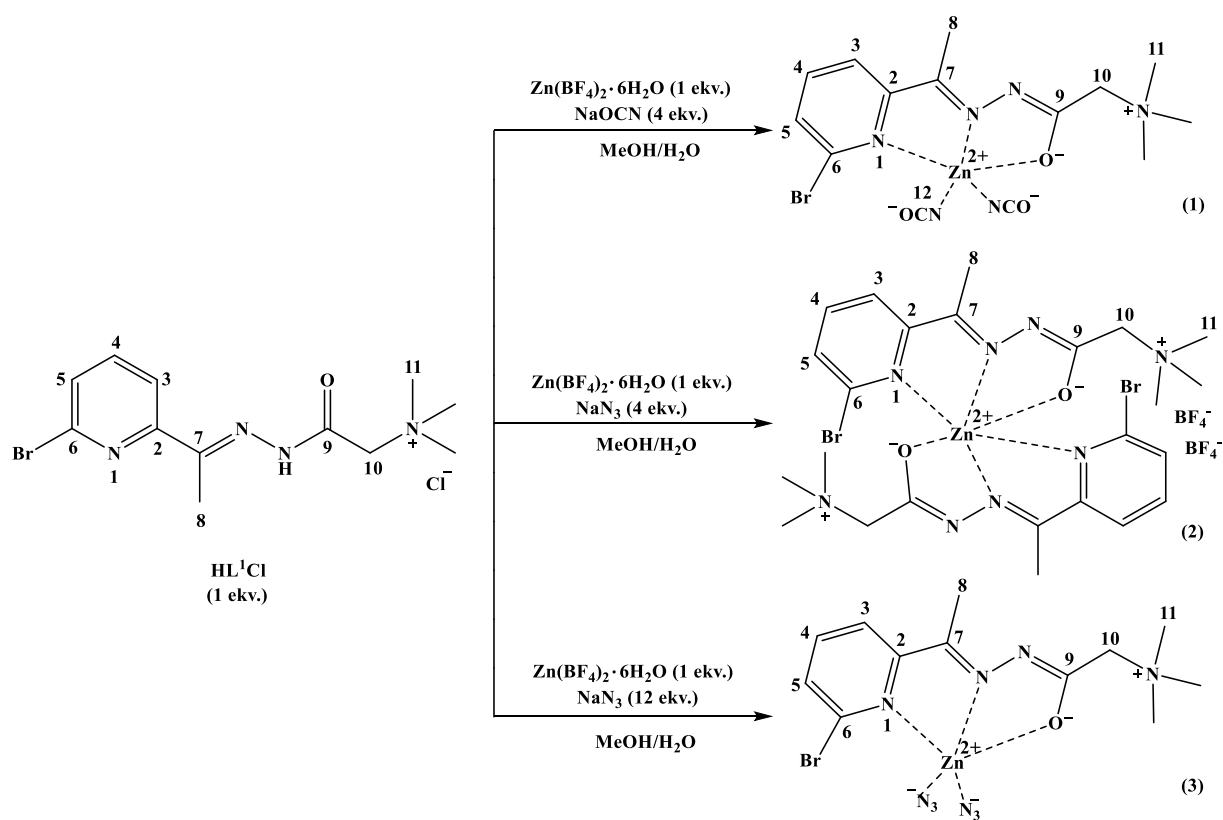
Šema 4. Sinteza **HL**¹Cl liganda

Reakcijom $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sa ligandom **HL**¹Cl i NaOCN u molskom odnosu 1:1:4 u rastvoru vode i metanola (1:2, v/v) sintetisan je kompleks **1**. U ovom kompleksu, sastava $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2]$, jon Zn(II) je pentakoordinovan, sa distorgovanom trigonalno-bipiramidalnom geometrijom. Kompleks **2**, oktaedarske geometrije koji sadrži dva molekula koordinovanog liganda $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2](\text{BF}_4)_2$, dobijen je reakcijom liganda **HL**¹Cl sa $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i NaN_3 u istom molskom odnosu i smeši rastvarača kao i kod prvog kompleksa. Polazeći od ranije objavljenih podataka [55], ispitan je uticaj povećanja koncentracije azidnog jona na sastav i strukturu formiranja cinkovih kompleksa. Poseban akcenat stavljen je na ispitivanje uticaja količine azida nakon sinteze kompleksa **2**, u smislu mogućeg formiranja novog reakcionog proizvoda, što bi predstavljalo značajan doprinos razumevanju reakcionog toka i omogućilo preciznije usmeravanje dirigovanih sintetskih postupaka. Stoga, reakcijom **HL**¹Cl sa $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i NaN_3 u velikom višku azida (1:1:12), primenom iste kombinacije rastvarača i istih reakcionih uslova kao u prethodnim sintezama formiran je mononuklearni Zn(II) kompleks **3**, sastava $[\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2]$ slične geometrije kao i kompleks **1** (šema 5). Ukratko, povećanje količine azida favorizuje formiranje kompleksa **3**, u kome su jedan deprotonovan ligand i dva azidna liganda koordinovana za centralni metalni jon Zn(II).

Koordinacija liganda preko iminskog azota, kiseonika iz karbonilne grupe i piridinskog azota potvrđena je IR spektroskopijom. IR spektar liganda pokazuje široku traku na $3377,4 \text{ cm}^{-1}$, koja predstavlja vibraciju istezanja N–H grupe. Trake uočene na frekvencijama iznad 3300 cm^{-1} u spektrima kompleksa **1** i **3** potiču od prisustva atmosferske vlage. U spektru liganda uočava se izrazito intenzivna traka na $1703,4 \text{ cm}^{-1}$, koja se pripisuje vibraciji istezanja karbonilne C=O grupe, dok je ista traka odsutna u spektrima sva tri kompleksa. Umesto toga, jake trake koje potiču od vibracije istezanja C–O grupe mogu se videti na $1027,8 \text{ cm}^{-1}$ (kompleks **1**), $1026,3 \text{ cm}^{-1}$ (kompleks **2**) i $1120,6 \text{ cm}^{-1}$ (kompleks **3**). Ove činjenice ukazuju na delokalizaciju elektronskog para karbonilne grupe ka kiseoniku, što potom omogućava koordinaciju liganda preko negativno naelektrisanog atoma kiseonika. Traka na 2209 cm^{-1} , uočena u IR spektru kompleksa **1**, odgovara koordinaciji cijanatnog jona, dok prisustvo N_3^- grupe u strukturi kompleksa **3** pokazuje karakteristična traka na $2060,4 \text{ cm}^{-1}$. IR spektri liganda i Zn(II) kompleksa dati su u prilogu (P1, P13, P16 i P19).

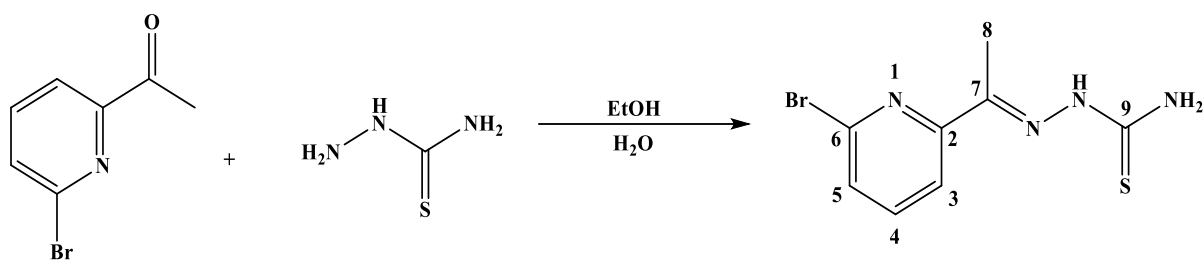
Kompleksi **1–3** nisu pokazali NH signal koji je uočljiv u ^1H NMR spektru liganda **HL** ^1Cl na 11,46 ppm, što ukazuje da je ligand koordinovan u svom deprotonovanom obliku. Kompleksi imaju tri koordinaciona mesta: kiseonik iz karbonilne grupe, azot iz piridina i iminski azot što se može videti iz ^{13}C NMR spektara. Pomeranje karbonilnog ugljenika (C9), sa 167,20 ppm u spektru **HL** ^1Cl na 170,52 ppm u spektru kompleksa **1**, 171,74 ppm u spektru kompleksa **2**, i 170,86 ppm u spektru kompleksa **3**, ukazuje na koordinaciju preko karbonilnog kiseonika. Koordinacija **HL** ^1Cl preko iminskog azota rezultira pomakom signala (C7), sa 149,54 ppm na 152,03 ppm u spektru kompleksa **1**, na 153,50 ppm u spektru kompleksa **2**, i na 151,80 ppm u spektru kompleksa **3**. NMR spektri liganda i Zn(II) kompleksa dati su u prilogu (P2, P3, P14, P15, P17, P18, P20, P21).

Stabilnost sva tri cinkova kompleksa pri koncentraciji 10^{-4} M u DMSO-u ispitivana je praćenjem promene apsorpcionog spektra tokom 24 h na sobnoj temperaturi primenom UV-Vis spektrometrije. Poređenje spektara snimljenih u sveže pripremljenim rastvorima i nakon 24 h nije pokazalo značajnije razlike, što ukazuje na stabilnost kompleksa koja je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim DFT proračunima. Reprezentativni UV-Vis spektri ovih kompleksa snimljeni neposredno nakon pripreme rastvora i posle 24 h dati u prilogu P30. Pošto je jon Zn(II) d^{10} sistem, kod njega su svi d elektronski nivoi potpuno popunjeni, što znači da nema d-d elektronskih prelaza u vidljivom delu spektra. Trake koje se uočavaju na slikama P30 i kasnije P31 (intenzivne trake u UV i bliskom vidljivom regionu sa maksimumima između 300 i 400 nm) mogu se pripisati prvenstveno intraligandskim elektronskim prelazima ($\pi \rightarrow \pi^*$ i/ili $n \rightarrow \pi^*$). Kod kompleksa ove trake su batohromno pomerene (pomerene ka višim talasnim dužinama) u odnosu na slobodne ligande (prilog P33). Ovakvo pomeranje posledica je koordinacije liganda za metalni centar, koja menja elektronsku raspodelu u ligandu, dovodi do smanjenja energetskog razmaka između orbitala i utiče na stabilizaciju ligandnih orbitala.



Šema 5. Sinteza kompleksa **1**, **2** i **3**

Ligand **HL**² naziva (*E*)-2-(1-(6-bromopiridin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid, sintetisan je kondenzacionom reakcijom 2-acetil-6-bromopiridina i tiosemikarbazida u molskom odnosu 1:1 u smeši etanola i vode (3:1, v/v) (šema 6).



Šema 6. Sinteza **HL**² liganda

Reakcijom liganda **HL**² sa $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i NaN_3 u rastvoru metanola i vode (u molskom odnosu 1:1:4) sintetisan je kompleks **4**, dok je pod istim reakcionim uslovima sa $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dobijen kompleks **5**. Kod oba kompleksa, sastava $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$ i $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$, metalni centri $\text{Zn}(\text{II})$ i $\text{Mn}(\text{II})$ su heksakoordinovani za dva liganda, pri čemu formiraju distorgovanu oktaedarsku geometriju (šema 7).

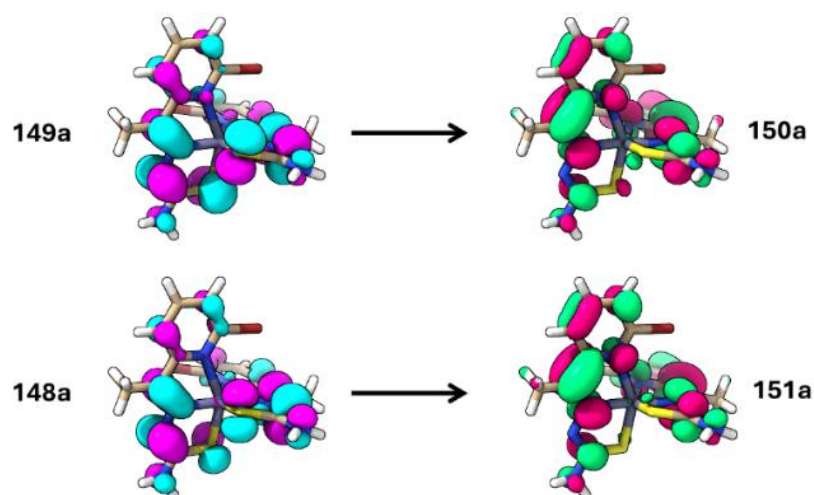
Upoređivanje IR spektara slobodnog liganda i njegovih kompleksa $\text{Zn}(\text{II})$ i $\text{Mn}(\text{II})$ pokazuje karakteristična pomeranja koja potvrđuju koordinaciju liganda za jonski centar metala. Trake $\nu(\text{C}=\text{N})$, koje se u spektru slobodnog liganda javljaju na 1566,6 i 1543,6 cm^{-1} , pomerene su na 1577,2 i 1540,2 cm^{-1} u spektru kompleksa $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$, dok su na 1575,1 i 1536,2 cm^{-1} u spektru kompleksa $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$, što ukazuje na koordinaciju preko iminskog azota. U regionu tioamida (1300–1000 cm^{-1}) više traka postaje izraženije i blago je pomereno (npr. 1293,4 $\rightarrow$ 1300,0; 1154,1 $\rightarrow$ 1162,7; 1113,3 $\rightarrow$ 1130,5 cm^{-1}) kod kompleksa $\text{Zn}(\text{II})$, dok su kod kompleksa $\text{Mn}(\text{II})$ sledeća pomeranja: 1293,4 $\rightarrow$ 1296,1; 1154,1 $\rightarrow$ 1156,9; 1113,3 $\rightarrow$ 1128,9 cm^{-1} , što je u skladu sa učešćem sumpora u vezivanju. Traka karakteristična za tioamidno pomeranje $\nu(\text{N}-\text{H})$ (fragment $\text{C}(\text{S})-\text{NH}-$) u IR spektru može se videti kao široka vibracija u opsegu 3300–3100 cm^{-1} . Ovaj signal je jasno prisutan u spektru slobodnog liganda. Međutim, uočen je izostanak te trake u spektrima odgovarajućih metalnih kompleksa što potvrđuje očekivanu deprotonaciju tioamidne grupe i koordinaciju preko nastalog tiolatnog anjona (S^-) što je u skladu sa formiranjem tiolatnog oblika liganda nakon kompleksiranja. Sveukupno, ligand deluje kao tridentatni NNS donor, koordinovan preko piridinskog i iminskog azota, kao i deprotonovanog sumporovog atoma iz tioamidne grupe. IR spektri liganda i odgovarajućih kompleksa prikazani su u prilogu (P4, P22, P25).

Protonski spektar **HL**² liganda (^1H NMR) pokazuje singlet na 10,44 ppm, karakterističan za tioamidnu $\text{N}-\text{H}$ grupu. Ovaj signal potpuno je odsutan u spektru kompleksa $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$, što jasno ukazuje na deprotonovanje tokom formiranja kompleksa i generisanje tiolatnog S^- donora. Aromatični i piridinski protoni, koji se u spektru slobodnog liganda pojavljuju u opsegu 7,7–8,5 ppm, u kompleksu pokazuju blaga, ali konzistentna pomeranja (7,6–7,9 ppm), što je posledica promenjenog elektronskog okruženja usled koordinacije. U ^{13}C NMR spektrima najznačajnija promena je pomeranje signala $\text{C}=\text{S}$ grupe naniže u magnetnom polju, sa 179,65 ppm kod liganda na 181,05 ppm u kompleksu, što je u skladu sa deprotonacijom i jačom vezom sumpora prema $\text{Zn}(\text{II})$ jonu. Iminski ugljenik ($\text{C}=\text{N}$) pokazuje pomeranje ka nižim magnetnim poljima, sa 146,73 ppm na 154,10 ppm, što je tipično za koordinaciju preko azometinskog azota. Aromatični i piridinski ugljenici pokazuju manje, ali sistematske promene (120–146 ppm kod liganda, 121–143 ppm u spektru kompleksa), potvrđujući preraspodelu elektronske gustine nakon koordinacije. Svi opisani NMR spektri dosledno potvrđuju tridentatni NNS način vezivanja liganda, uključujući koordinaciju piridinskog i iminskog azota i tiolatnog atoma sumpora, uz obaveznu deprotonaciju tioamidne $\text{N}-\text{H}$ grupe pri formiranju

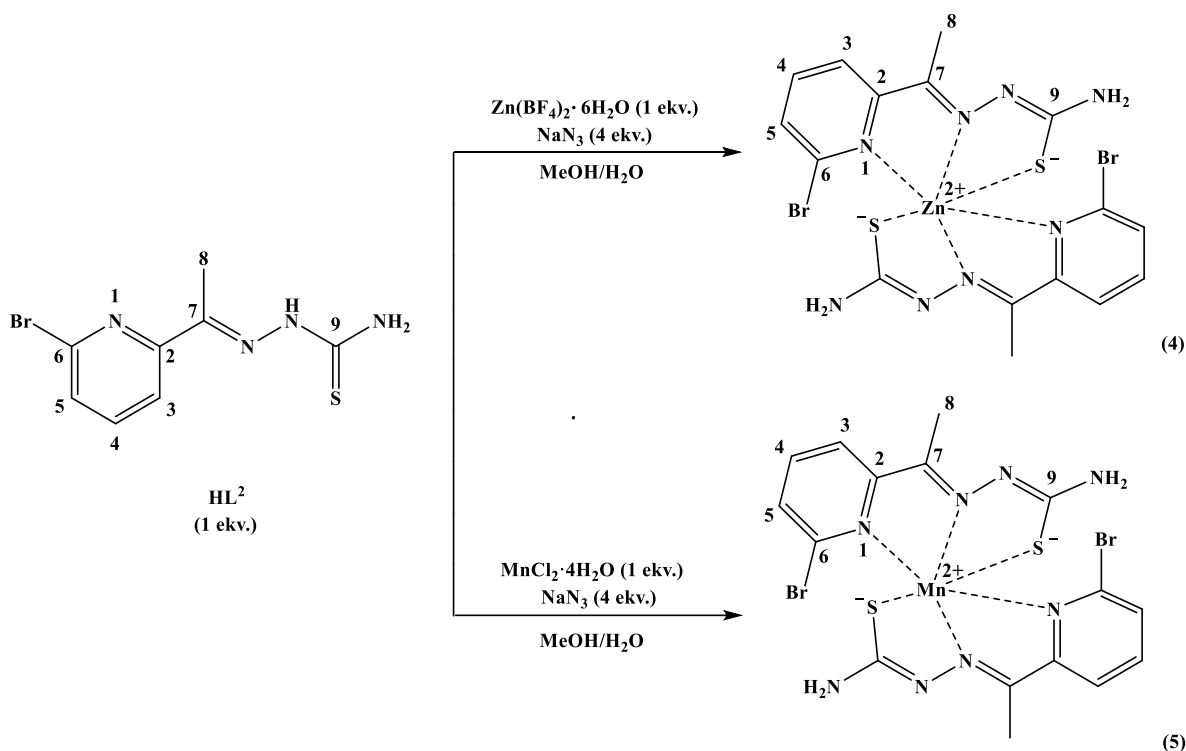
kompleksa (prilozi P5, P6, P23, P24). Karakterizacija Mn(II) kompleksa pomoću NMR spektroskopije je otežana usled paramagnetizma Mn(II) jona, koji izaziva izuzetno brzu relaksaciju i široke signale. Zbog toga su za strukturnu analizu kompleksa korišćene druge standardne metode.

Da bi se utvrdila stabilnost, apsorpcioni spektri sveže pripremljenih rastvora kompleksa **4** i **5** (10^{-5} M) su poređeni sa spektrima snimljenim nakon 24 sata. Nije primećena značajna promena u obliku kao ni u intenzitetu apsorpcionih pikova u oba sistema. Odsustvo bilo kakvih značajnijih spektroskopskih promena tokom perioda praćenja potvrđuje dobru stabilnost cinkovog i manganovog kompleksa u DMSO-u (P31 i P32).

Radi interpretacije eksperimentalnog UV-Vis spektra kompleksa **4**, $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$, urađeni su i TDDFT proračuni na $\omega\text{B97X D4rev/def2 TZVP}(-f)\text{-SMD(DMSO)}$ nivou teorije. Dva intenzivna singlet–singlet prelaza dobijena su na 3,72 eV (333 nm) i 3,75 eV (330 nm), što je u odličnom skladu sa eksperimentalnom apsorpcionom trakom sa maksimumom na 3,78 eV (328 nm). Izračunati apsorpcioni profil prikazan je u prilogu na slici P34. Analiza prirodnih tranzicionih orbitala (NTO) pokazuje da su oba singletna ekscitovana stanja, S_1 i S_2 , izgrađena od ista dva dominantna prelaza između popunjenih i nepopunjenih orbitala, $149a \rightarrow 150a$ i $148a \rightarrow 151a$. Odgovarajuće NTO orbitale prikazane su na slici 32 i potvrđuju da ovi prelazi imaju $\pi \rightarrow \pi^*$ karakter lokalizovan na ligandu. Radi potpunosti, odgovarajuće molekulske orbitale (HOMO–1, HOMO, LUMO i LUMO+1) povezane sa ova dva prelaza prikazane su na slici P35 u prilogu.

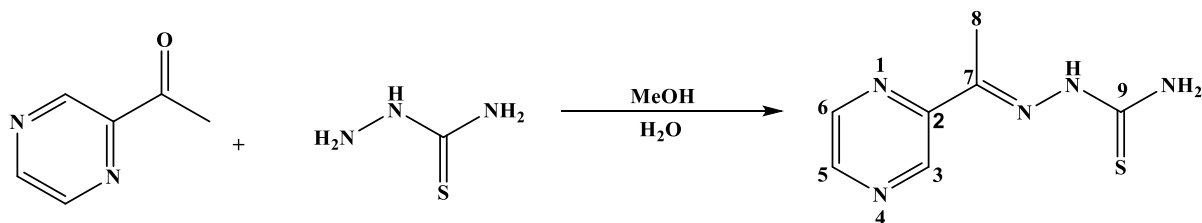


Slika 32. Prirodne tranzicione orbitale (NTO) za dva dominantna prelaza između popunjenih i nepopunjenih orbitala koji doprinose najnižim singletnim pobuđenim stanjima kompleksa **4** $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$. U gornjem redu prikazan je dominantni NTO par ($149a \rightarrow 150a$), dok je u donjem redu prikazan drugi NTO par ($148a \rightarrow 151a$). Oba pobuđena stanja, S_1 i S_2 , izgrađena su od ova dva NTO para, pri čemu okupacioni brojevi iznose $n = 0,55$ i $0,41$ za stanje S_1 , odnosno $n = 0,54$ i $0,43$ za stanje S_2 , za doprinose prelaza $149a \rightarrow 150a$ i $148a \rightarrow 151a$, respektivno. Zauzete NTO orbitale prikazane su magenta i cijan bojom, dok su nezauzete NTO orbitale prikazane ružičastom i svetlozelenom bojom.



Šema 7. Sinteza kompleksa 4 i 5

Ligand **HL³** (*E*)-2-(1-(pirazin-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid, sintetisan je kondenzacionom reakcijom 2-acetilpirazina i tiosemikarbazida u molskom odnosu 1:1 u smeši metanola i vode (3:1, v/v) (šema 8).



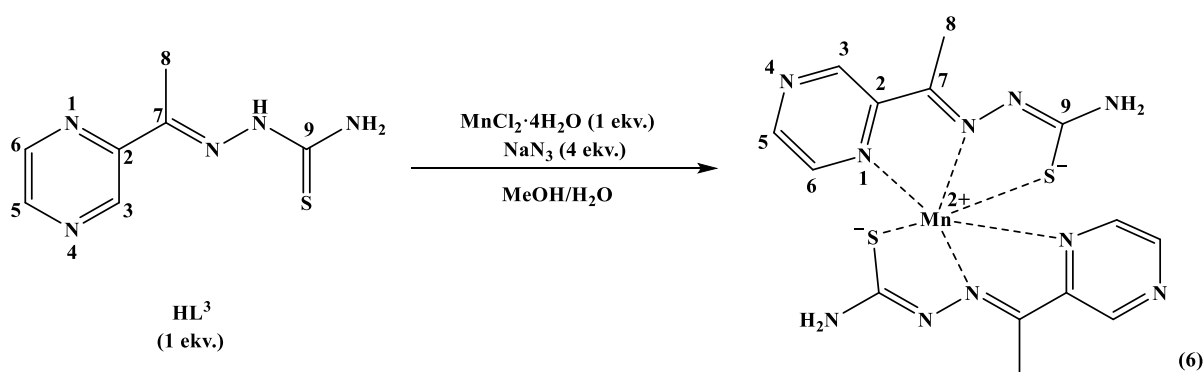
Šema 8. Sinteza **HL³** liganda

Reakcijom liganda **HL³** sa $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i NaN_3 uz prisustvo viška azida (molski odnos 1:1:4, redom), primenom kombinacije rastvarača i istih reakcionih uslova kao u sintezi liganda, formiran je mononuklearni Mn(II) kompleks **6**, sastava $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, gde je jon Mn(II) koordinovan sa dva deprotonovana liganda (L^3)⁻, koji formiraju distorgovanu oktaedarsku geometriju (šema 9).

Upoređivanje IR spektra slobodnog liganda i njegovog kompleksa Mn(II) **6** jasno pokazuje karakteristična pomeranja koja potvrđuju način koordinacije liganda za jonski centar metala. Traka $\nu(\text{C}=\text{N})$, koja se u IR spektru slobodnog liganda javlja na $1615,3 \text{ cm}^{-1}$, pomeren je na $1609,8 \text{ cm}^{-1}$ u spektru kompleksa $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2]$, što ukazuje na smanjenu elektronsku gustinu na iminskom azotu i potvrđuje koordinaciju preko iminskog N-atoma. U regionu tioamidnih vibracija ($1300\text{--}1000 \text{ cm}^{-1}$) uočavaju se više jasnih pomeranja nakon kompleksiranja. Trake koje se u IR spektru slobodnog liganda javljaju na $1284,5$; $1171,6$; $1107,9 \text{ cm}^{-1}$ pokazuju promene položaja i intenziteta u kompleksu, gde se pojavljuju na $1294,2$; $1193,1$; $1117,8 \text{ cm}^{-1}$. Ova pomeranja, posebno u fragmentu $\text{C}=\text{S}/\text{C}-\text{N}/\text{C}-\text{S}$, u potpunosti su u skladu sa uključivanjem tioamidnog sumpora u koordinaciju. U spektru liganda javljaju se tri jasno razdvojene trake u području $3500\text{--}3000 \text{ cm}^{-1}$: $3360,5$ i

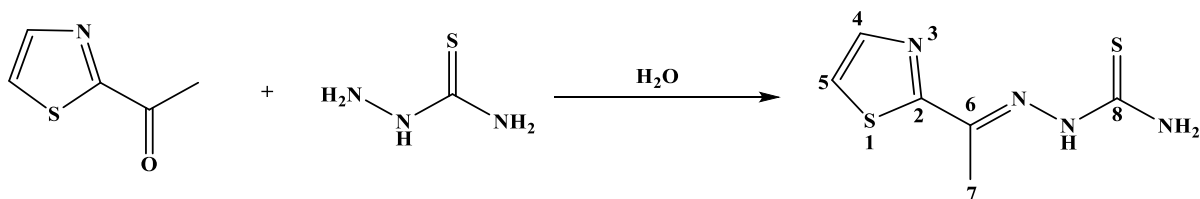
3240,5 cm^{-1} koje potiču od asimetričnog i simetričnog istežanja slobodne NH_2 grupe, kao i oštar vrh na 3160,2 cm^{-1} koji pripada iminskom N–H. U kompleksu ove trake menjaju oblik i položaj: karakteristična traka koja potiče od iminskog protona nestaje, što potvrđuje deprotonaciju i koordinaciju preko azometinskog azota, dok se NH_2 istežanje javlja samo kao pomeren, slabiji signal na oko 3271,7 cm^{-1} dok se druga traka ne uočava zbog jake interferencije sa širokom O–H trakom vode, vodoničnih veza i efekta koordinacije. U delu spektra koji odgovara oblasti 3479–3349 cm^{-1} pojavljuje se tipična široka traka, koja potiče od $\nu(\text{O–H})$ iz molekula vode. Slaba traka na 3152,8 cm^{-1} kod kompleksa deo je ove široke O–H apsorpcije, čime se potvrđuje da kompleks sadrži vodu, iako apsorpcija nije visoka već samo široka i raširena. Sveukupno, IR analiza potvrđuje da ligand deluje kao tridentatni NNS donor, koordinovan preko pirazinskog i iminskog azota i deprotonovanog sumporovog atoma iz tioamidne grupe. IR spektri liganda i Mn(II) kompleksa dati su u prilogu (P7 i P26).

U prilogu (P8 i P9) prikazani su NMR spektri liganda, dok je kao i kod prethodnog kompleksa mangana, zbog paramagnetnih svojstava Mn(II) jona nemoguće snimiti NMR spektre. UV-Vis spektar ovog kompleksa potvrđuje njegovu stabilnost u dimetil sulfoksidu. Spektri rastvora kompleksa **6** koncentracije 10^{-5} M, snimljeni neposredno nakon pripreme i posle 24 h, ne pokazuju značajne promene u spektru (prilog P32). Mangan(II) u ovim kompleksima se nalazi u visokospinskom sekstetnom stanju. Kod visokospinskog d^5 sistema svi d-d prelazi su spin zabranjeni, a usled centrosimetričnog koordinacionog okruženja dodatno i Laporte-zabranjeni, pa su njihovi intenziteti veoma niski i ove trake nisu uočljive u spektrima.



Šema 9. Sinteza kompleksa **6**

Ligand **HL⁴** naziva (*E*)-2-(1-(tiazol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid, prethodno je sintetisan kondenzacionom reakcijom 2-acetiltiazola i tiosemikarbazida u vodi kao rastvaraču (šema 10).



Šema 10. Sinteza **HL⁴** liganda (ranije sintetisan [51])

Mononuklearni kompleks Zn(II) (**7**), $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$, sintetisan je u reakciji liganda **HL**⁴ (*E*)-2-(1-(tiazol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotioamid, $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i NH_4SCN u molskom odnosu 1:1:12 u smeši rastvarača metanol/voda (2:1, v/v). Prethodno dobijeni kompleksi sa ovim ligandom $[\text{Zn}(\text{L}^4)_2]$ (**8**) [86] i $[\text{Mn}(\text{L}^4)_2]$ (**9**) [85] korišćeni su za poređenje rezultata biološke aktivnosti, a u cilju pronalaženja veze između jona metala, strukture i same aktivnosti (šema 11).

Koordinacija liganda za jon Zn(II), preko azota tiazola, iminskog azota i tiolatnog atoma sumpora, potvrđena je IR spektroskopijom. U IR spektru ovog kompleksa trake na 1493 i 889 cm^{-1} odgovaraju $\nu(\text{C}=\text{S}) + \nu(\text{C}=\text{N})$ i $\nu(\text{C}=\text{S}) + \gamma(\text{CH})$, respektivno, dok se u spektru slobodnog liganda trake $\nu(\text{C}=\text{S}) + \nu(\text{C}=\text{N})$ i $\nu(\text{C}=\text{S}) + \gamma(\text{CH})$ javljaju na 1487 i 1071 cm^{-1} . Pored toga, koordinovani izotiocijanatni jon (NCS^-) odgovoran je za jako izraženu traku na 2077 cm^{-1} u spektru kompleksa. IR spektri liganda i IR spektar kompleksa $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$ dati su u prilogu P10 i P27.

¹H NMR spektar kompleksa **7** ne sadrži NH signal koji se u ¹H NMR spektru liganda **HL**⁴ javlja na 10,6 ppm [51], što potvrđuje da je ligand koordinovan u kompleksu u deprotonovanom obliku. Mesta koordinacije donorskih atoma (NNS), potvrđena poređenjem IR spektra liganda i kompleksa, takođe su potvrđena i u ¹³C NMR spektru. Pomak naniže signala tiolatnog ugljenika (C8), sa 178,99 ppm u spektru **HL**⁴ na 181,07 ppm u spektru kompleksa **7**, ukazuje na koordinaciju tiolatnog sumpora. Signal atoma ugljenika azometinske grupe (C6) na 144,26 ppm u spektru liganda pomeren je naviše u odnosu na spektar kompleksa **7**, gde se nalazi na 138,59 ppm. Dodatni signal koji potiče od NCS grupe u kompleksu **7**, na 141,37 ppm, nije prisutan u spektru liganda (prilozi P11, P12, P28, P29).

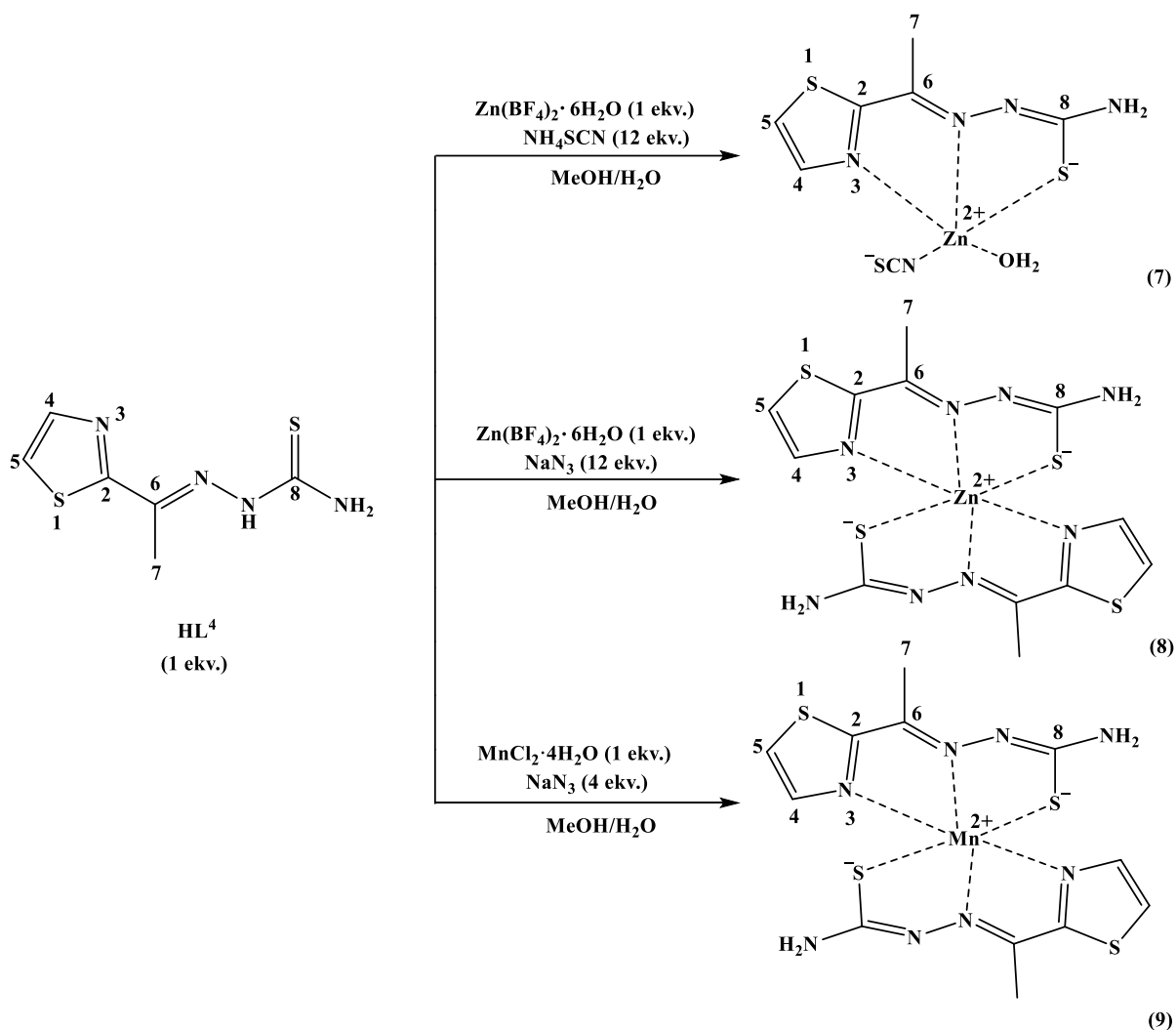
UV-Vis spektroskopija je takođe korišćena za karakterizaciju kompleksa cinka(II) sa ovim ligandom u rastvoru. Spektri kompleksa **7** i **8** snimljeni su pri koncentraciji rastvora od $0,5 \times 10^{-4}$ M u DMSO-u i nakon 24 h, pri čemu ne dolazi do značajnih promena u spektru (prilog P31). Takođe, snimljen je i UV-Vis spektar kompleksa **9** u DMSO-u koncentracije rastvora 10^{-5} M koji je prikazan zajedno sa manganovim kompleksima u prilogu P32.

U cilju dodatnog tumačenja elektronskih apsorpcionih spektara Zn(II) kompleksa **7** i **8**, izvršeni su TDDFT proračuni. Konkretno, izračunate su energije vertikalnih ekscitacija i jačine oscilatora primenom CAM-B3LYP funkcionala, hibridnog funkcionala sa razdvajanjem dometa, uz korišćenje COSMO(DMSO) solvatacionog modela. Dobijene vrednosti zatim su upoređene sa UV-Vis apsorpcionim spektrima kompleksa u rastvoru DMSO.

Slobodan ligand **HL**⁴ pokazao je apsorpcionu traku na 334 nm (približno 3,71 eV). Nakon kompleksiranja uočeni su značajni batohromni (crveni) pomaci maksimuma apsorpcije: kompleks **7** $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$ pokazao je maksimum apsorpcije na 400 nm ($\approx 3,10$ eV), dok je kompleks **8** $[\text{Zn}(\text{L}^4)_2]$ imao maksimum apsorpcije na 384 nm ($\approx 3,23$ eV). Ovi pomaci ukazuju na značajne promene u elektronskom okruženju usled koordinacije liganda za Zn(II) jon.

TDDFT-izračunate ekscitacione energije za slobodan ligand i komplekse pokazale su dobro slaganje sa eksperimentalnim podacima. Za slobodan ligand **HL**⁴ izračunato pobuđenje od 3,81 eV (≈ 325 nm) blisko je eksperimentalnom maksimumu apsorpcije λ_{max} od 334 nm (3,71 eV). Za kompleks **7**, izračunato pobuđenje od 3,08 eV (≈ 403 nm) veoma dobro odgovara eksperimentalnoj apsorpciji na 400 nm (3,10 eV). Za kompleks **8**, izračunata pobuđenja od 3,10 eV (≈ 400 nm) i 3,11 eV (≈ 398 nm) u dobroj su saglasnosti sa uočenim maksimumom apsorpcije na 384 nm (3,23 eV).

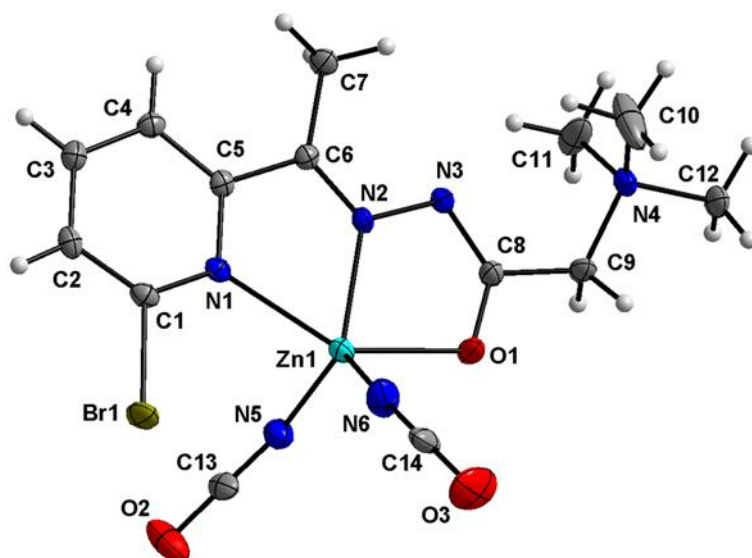
Za $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{DMSO})]$, izračunato pobuđenje od 3,06 eV (≈ 405 nm) ukazuje da zamena koordinisanog molekula vode molekulom DMSO ne dovodi do značajne promene energije elektronskog prelaza. Ovo nedvosmisleno potvrđuje da supstitucija labilnog molekula vode u rastvoru DMSO-a teče trenutno, ali bez značajnog uticaja na energiju ključnih elektronskih prelaza, koji zadržavaju dominantno $\pi \rightarrow \pi^*$ karakter.



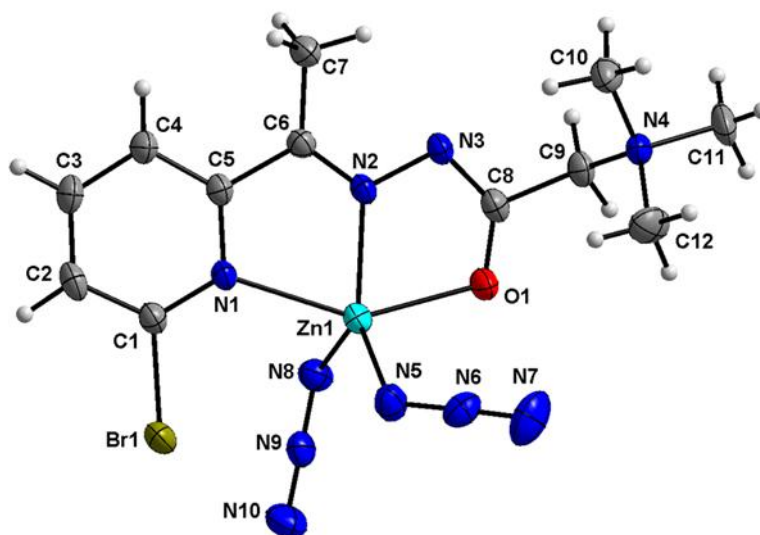
Šema 11. Sinteza kompleksa **7**, **8** (ranije sintetisan [86]) i **9** (ranije sintetisan [85])

4.2. Opis i analiza kristalnih struktura kompleksa 1–7

Kompleksi (**1**) $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2]$ i (**3**) $[\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2]$ kristališu u trikliničnom kristalnom sistemu, prostorne grupe *P*-1. Molekulske strukture sa označenim atomima prikazane su na slici 33 i 34. Dva atoma azota (N1 i N2) i jedan atom kiseonika (O1) iz tridentatnog liganda **HL¹Cl** koordinovani su za jon Zn(II) kod obe strukture. Dva N_3^- ili dva NCO^- liganda popunjavaju koordinacionu sferu i daju distorgovanu trigonalno-bipiramidalnu koordinaciju. Ova tridentatna NNO koordinacija liganda za jon Zn(II) formira dva petočlana helatna prstena ($\text{Zn}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{N}$ i $\text{Zn}-\text{N}-\text{N}-\text{C}-\text{O}$), koji su gotovo koplanarni, što pokazuje diedarski ugao između ravni helatnih prstenova od $3,4^\circ$ u kompleksu **3** i $1,6^\circ$ u kompleksu **1**. Dužine veza $\text{Zn}-\text{N}_{\text{Ar}}$ (2,332(2) i 2,319(4) Å), $\text{Zn}-\text{N}_{\text{imin}}$ (2,046(3) i 2,057(4) Å) i $\text{Zn}-\text{O}$ (2,161(2) i 2,133(4) Å) veoma su slične kod oba kompleksa. Veze $\text{Zn}-\text{N}_{\text{azid}}$ (1,971(3) i 1,978(3) Å) i $\text{Zn}-\text{N}_{\text{cijanat}}$ (1,940(5) i 1,954(5) Å) gotovo su iste kao u sličnim kompleksima cinka [184]. Azido ligandi u kompleksu **3** su skoro linearni (ugao $\text{N}-\text{N}-\text{N}$ iznosi 177°) i blago asimetrični ($\text{N5}-\text{N6} = 1,183(4)$ Å i $\text{N6}-\text{N7} = 1,144(4)$ Å; $\text{N8}-\text{N9} = 1,187(4)$ Å i $\text{N9}-\text{N10} = 1,158(4)$ Å), što ukazuje da su kraće veze koje se javljaju u kompleksu **3** udaljene od metalnog centra. Slična situacija javlja se i kod kompleksa **1** cijanatni ligandi pokazuju asimetriju (npr. $\text{N5}-\text{C13} = 1,153(7)$ Å i $\text{C13}-\text{O2} = 1,196(7)$ Å). Uglovi veze $\text{N}-\text{N}-\text{Zn}$ u kompleksu **3** iznose $121,5(3)^\circ$ i $123,2(2)^\circ$, što ukazuje na savijenu koordinaciju anjonskih terminala. Takva koordinacija je manje izražena u kompleksu **1** (npr. $153,2(4)^\circ$). Svi termalni elipsoidi na slikama 33-39 prikazani su sa 30 % verovatnoće.



Slika 33. ORTEP prikaz kompleksa $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2]$



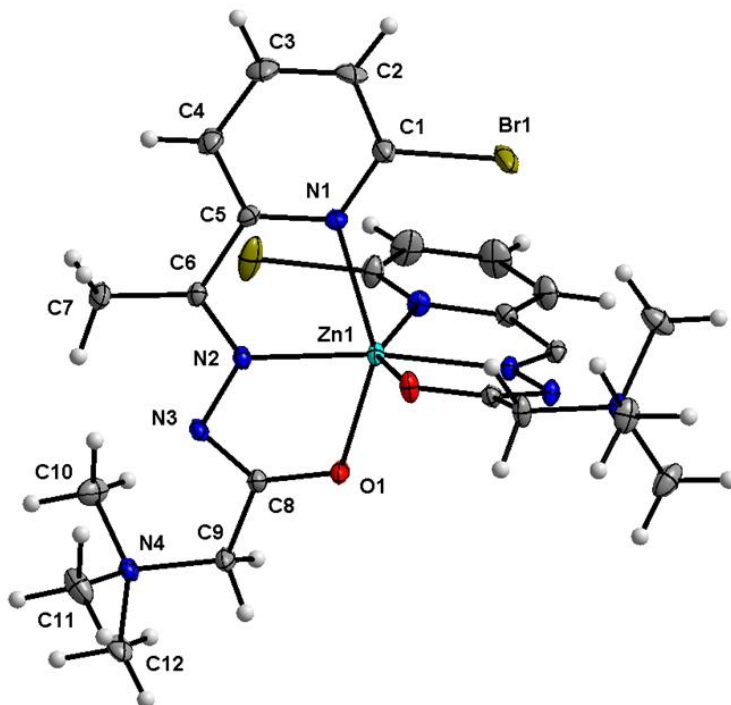
Slika 34. ORTEP prikaz kompleksa $[\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2]$

Kompleks 2 $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2](\text{BF}_4)_2$ kristališe u ortorombičnom kristalnom sistemu, prostorne grupe *Pbcn* kao jedan nezavisan kompleksni katjon $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2]^{2+}$ i dva BF_4^- anjona. Molekulska struktura $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2]^{2+}$ sa označenim atomima prikazana je na slici 35. Dva molekula liganda $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2]^{2+}$ koordinovana su za jon $\text{Zn}(\text{II})$ meridionalno, formirajući distorgovanu centrosimetričnu oktaedarsku strukturu putem helacije kroz dva seta NNO atoma. Svaki ligand je vezan za $\text{Zn}(\text{II})$ jon preko atoma azota iz 2-bromopiridinskog prstena, iminskog azota i enolatnog kiseonika. Tridentatna koordinacija svakog liganda podrazumeva formiranje dva spojena petočlana helatna prstena: $\text{Zn}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{N}$ i $\text{Zn}-\text{N}-\text{N}-\text{C}-\text{O}$.

Par petočlanih helatnih prstenova $\text{Zn1}-\text{N1}-\text{C5}-\text{C6}-\text{N2}$ i $\text{Zn1}-\text{N2}-\text{N3}-\text{C8}-\text{O1}$ je skoro koplanaran, što pokazuje diedarski ugao od $9,27^\circ$. Helatne ravni koje sadrže atome N, N, O i $\text{Zn}(\text{II})$ skoro su ortogonalne, sa dijedarskim uglom od $84,9^\circ$. Dužine veza su $\text{Zn}-\text{N}_{\text{Ar}} = 2,272(2) \text{ \AA}$,

$Zn-N_{imin} = 2,047(2) \text{ \AA}$, $Zn-O = 2,114(2) \text{ \AA}$, što je uporedivo sa vrednostima primećenim za jedan ligand u $Zn(II)$ kompleksima **1** i **3**.

Dužine veza i valentni uglovi za pomenute komplekse dati su u tabeli 7.



Slika 35. ORTEP prikaz kompleksnog katjona $[Zn(L^1)_2]^{2+}$ u $[Zn(L^1)_2](BF_4)_2$

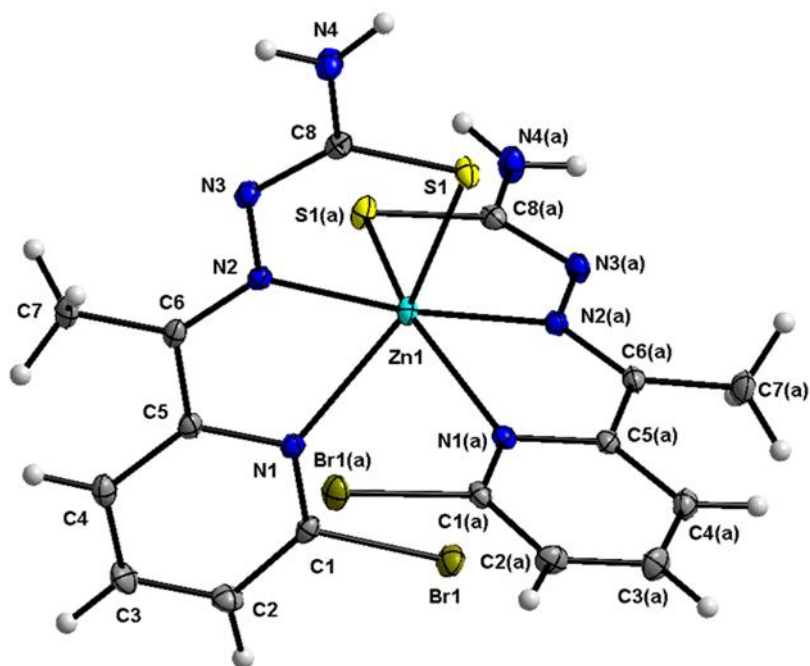
Tabela 7. Izabrane dužine veza ($\text{\AA}$) i uglovi ($^\circ$) kompleksa **1**, **2** i **3**.

	$[ZnL^1(OCN)_2]$	$[Zn(L^1)_2](BF_4)_2$	$[ZnL^1(N_3)_2]$
Zn1–N1	2,319(4)	2,272(2)	2,332(2)
Zn1–N2	2,057(4)	2,047(2)	2,046(3)
Zn1–N5	1,940(5)		1,971(3)
Zn1–N6	1,954(5)		
Zn1–N8			1,978(3)
Zn1–O1	2,133(4)	2,1136(18)	2,161(2)
N2–C6	1,277(6)	1,289(4)	1,283(4)
N2–N3	1,382(5)	1,381(3)	1,392(3)
N3–C8	1,320(6)	1,319(4)	1,322(4)
N5–N6			1,183(4)
N5–C13	1,153(7)		
N6–N7			1,144(4)

N8–N9			1,187(4)
N9–N10			1,158(4)
O1–C8	1,262(6)	1,267(3)	1,261(4)
C1–Br1	1,909(5)	1,897(3)	1,890(3)
C13–O2	1,196(7)		
B1–F1		1,396(4)	
B1–F2		1,376(4)	
B1–F3		1,377(5)	
B1–F4		1,372(4)	
N1–Zn1–N1 ⁱ		94,38(12)	
N1–Zn1–N2	73,41(14)	74,39(9)	73,51(9)
N1–Zn1–N5	97,37(16)		102,32(11)
N1–Zn1–N6	99,9(2)		
N1–Zn1–N8			95,36(11)
N1–Zn1–O1	148,61(14)	148,59(8)	148,78(9)
N2–Zn1–N2 ⁱ		171,59(14)	
N2–Zn1–N5	121,31(18)		125,45(12)
N2–Zn1–N6	122,8(2)		
N2–Zn1–N8			123,85(11)
N2–Zn1–O1	75,31(14)	75,79(8)	75,36(9)
O1–Zn1–O1 ⁱ		106,86(12)	
N5–N6–N7			177,6(4)
N5–C13–O2	178,0(6)		
N8–N9–N10			177,2(4)

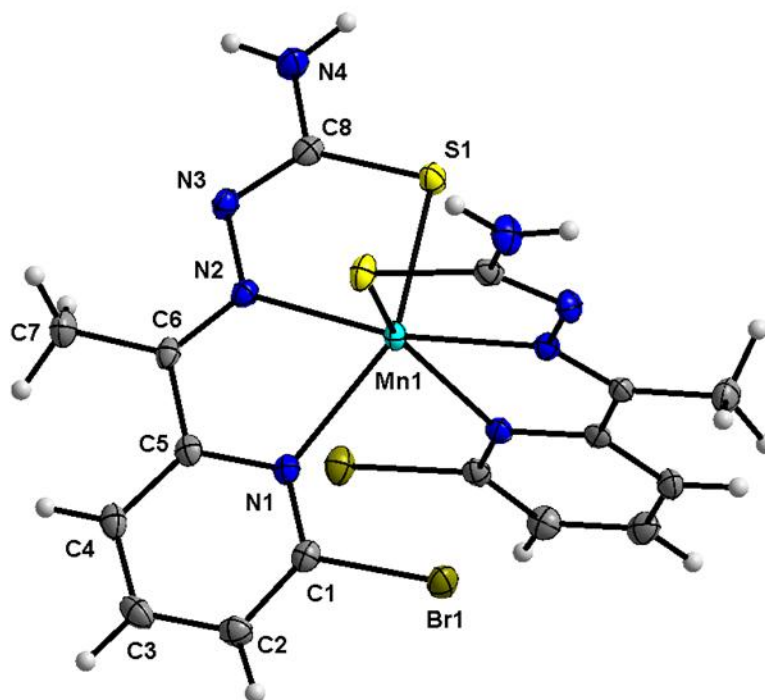
Simetrijske transformacije: (i) $-x+1$, y , $-z+1/2$.

Kompleks **4**, $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$, kristališe u ortorombičnom kristalnom sistemu, prostorne grupe *Pbcn*, pri čemu se Zn(II) nalazi na dvostrukoj osi rotacije. Struktura kompleksa $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$ sa numerisanim atomima prikazana je na slici 36. Dva deprotonovana molekula liganda $(\text{L}^2)^-$ koordinovana su za Zn(II) jon i formiraju distorgovanu oktaedarsku strukturu helacijom preko dva seta NNS atoma. Svaki ligand povezan je za centralni metalni jon preko 2-bromopiridinskog azota, iminskog azota i sumpora. Tridentatna koordinacija svakog liganda omogućava formiranje dva spojena petočlana helatna prstena, Zn–N–C–C–N i Zn–N–N–C–S. Par petočlanih helatnih prstenova Zn–N1–C5–C6–N2 i Zn–N2–N3–C8–S1 je skoro koplanaran, što potvrđuje diedarski ugao od 8,77°. Helatne ravni, koje se sastoje od atoma C, N, S i Zn(II), međusobno su gotovo ortogonalno postavljene, sa diedarskim uglom od 88,2°. Dužine veza Zn–N_{Ar} 2,290(2) Å, Zn–N_{imin} 2,117(2) Å i Zn–S 2,4660(7) Å uporedive su sa onima u izostrukturalnom Mn(II) kompleksu $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$.



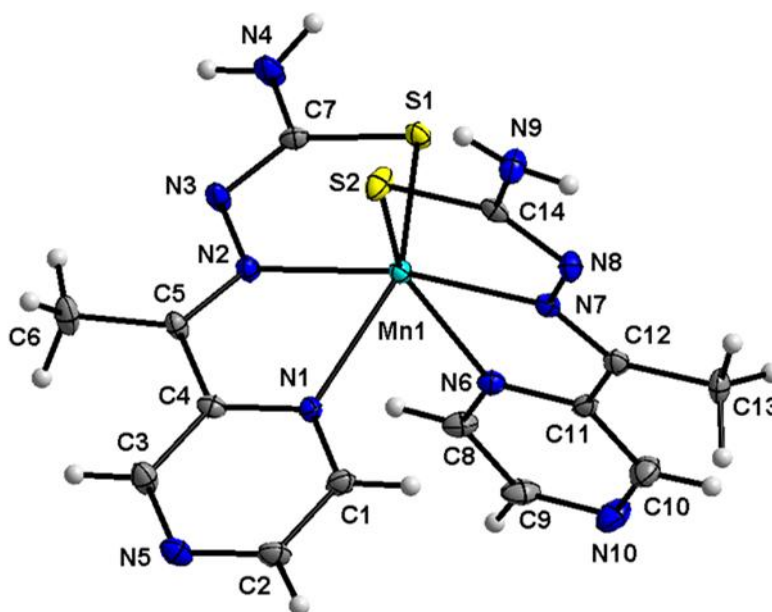
Slika 36. ORTEP prikaz kompleksa $[Zn(L^2)_2]$

Kompleks 5, $[Mn(L^2)_2]$, kristališe u ortorombičnom kristalnom sistemu, prostorne grupe *Pbcn*, pri čemu se Mn(II) nalazi na dvostrukoj osi rotacije. Struktura kompleksa $[Mn(L^2)_2]$ sa šemom atomskog označavanja prikazana je na slici 37. Ligand je koordinovan za jon Mn(II) na isti način kao i kod kompleksa 4, formirajući identičnu geometriju distorgovanog oktaedara. Tridentatna koordinacija svakog liganda omogućava formiranje dva spojena petočlana helatna prstena, Mn–N–C–C–N i Mn–N–N–C–S. Par petočlanih helatnih prstenova Mn–N1–C5–C6–N2 i Mn1–N2–N3–C8–S1 je skoro koplanaran, što potvrđuje diedarski ugao od $9,67^\circ$. Helatne ravni, koje se sastoje od atoma N, N, S i Mn(II), međusobno su gotovo ortogonalno postavljene, sa diedarskim uglom od $86,7^\circ$. Dužine veza Mn–N_{Ar} 2,306(2) Å, Mn–N_{imin} 2,235(2) Å i Mn–S 2,5462(8) Å uporedive su sa onima zabeleženim za ligand $(L^3)^-$ u Mn(II) kompleksu $[Mn(L^3)_2] \cdot \frac{1}{2}H_2O$.



Slika 37. ORTEP prikaz kompleksa $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$

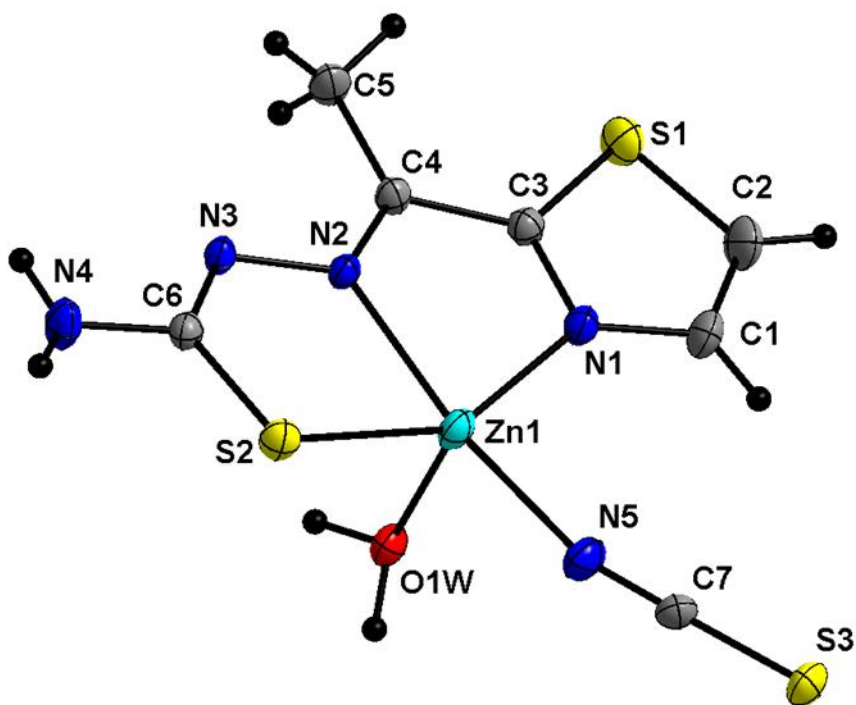
Kompleks **6**, $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, kristališe u monokliničnom kristalnom sistemu, prostorne grupe $P2_1/c$. Asimetrična jedinica sadrži molekul vode i dva nezavisna, blago različita kompleksna molekula, od kojih je jedan prikazan na slici 38. U svakom kompleksnom molekulu, jon $\text{Mn}(\text{II})$ je koordinovan sa dva deprotonovana liganda $(\text{L}^3)^-$, koji formiraju istu geometriju kao i kompleksi **4** i **5**. U oba kristalografski nezavisna kompleksa $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2]$, dva atoma azota i jedan atom sumpora tridentatnog liganda $(\text{L}^3)^-$ koordiniraju $\text{Mn}(\text{II})$ jon. Tridentatna NNS koordinacija liganda uspostavljena je preko atoma azota iz pirazinskog prstena, iminskog azota i atoma sumpora. Dva spojena petočlana helatna prstena ($\text{Mn}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{N}$ i $\text{Mn}-\text{N}-\text{N}-\text{C}-\text{S}$), približno su koplanarni, sa vrednošću diedarskih uglova između ravni helatnih prstenova od $5,6^\circ$. Helatne ravni sa atomima N, N, S i $\text{Mn}(\text{II})$ u dva nezavisna kompleksa u kristalnoj strukturi jedinjenja $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ međusobno su gotovo ortogonalno postavljene (diedarski uglovi iznose $87,2^\circ$ i $87,7^\circ$, respektivno). Prosečne vrednosti dužina veza iznose $\text{Mn}-\text{N}_{\text{Ar}}$ ($2,272 \text{ \AA}$), $\text{Mn}-\text{N}_{\text{imin}}$ ($2,253 \text{ \AA}$) i $\text{Mn}-\text{S}$ ($2,481 \text{ \AA}$) slične su u oba kompleksa, a takođe su uporedive sa odgovarajućim vrednostima u kompleksu **5** $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$.



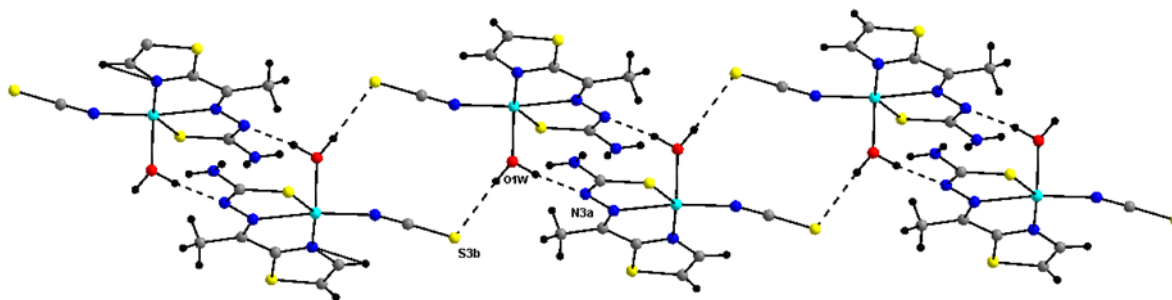
Slika 38. ORTEP prikaz jednog molekula $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2]$ iz kompleksa $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$

Kompleks 7, $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$, kristališe u trikliničnom kristalnom sistemu, prostorne grupe $P-1$, pri čemu asimetrična jedinica obuhvata čitav kompleksni molekul. Struktura kompleksa $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$ sa šemom atomskog označavanja prikazana je na slici 39. Struktura sadrži jedan deprotonovani molekul liganda (L^4) koordinovan za $\text{Zn}(\text{II})$ jon, pri čemu NNS donorski skup atoma formira dva petočlana helatna prstena ($\text{Zn}-\text{S}-\text{C}-\text{N}-\text{N}$ i $\text{Zn}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{N}$) povezana duž veze $\text{Zn1}-\text{N2}$. Helatni prsteni nisu koplanarni, što potvrđuje diedarski ugao od $9,9^\circ$. Azotov atom tiocijanata i kiseonik molekula vode kompletiraju pentakoordinovan $\text{Zn}(\text{II})$ jon. Vrednost τ_5 parametra od 0,33 ukazuje da $\text{Zn}(\text{II})$ poseduje geometriju distorgovane kvadratne piramide. Jon $\text{Zn}(\text{II})$ je izmaknut iz ravni četiri atoma liganda u ravni (N1 , N2 , N5 i S2) za rastojanje od $0,1750(10)$ Å. Zbir uglova oko $\text{Zn}(\text{II})$ jona u kvadratnoj osnovi iznosi približno 360° . Rastojanje $\text{Zn1}-\text{O1W}$ iznosi $2,1228(19)$ Å, a uglovi prema atomima liganda u ravni kreću se od $91,44(7)^\circ$ za $\text{O1W}-\text{Zn1}-\text{N2}$ do $100,41(6)^\circ$ za $\text{O1W}-\text{Zn1}-\text{S2}$. Tiocijanatni ligand u kompleksu $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$ gotovo je linearno koordinovan za $\text{Zn}(\text{II})$ jon, sa uglom $\text{Zn}-\text{N5}-\text{C7}$ od $164,5(3)^\circ$. Intermolekulske interakcije prisutne u čvrstom stanju kompleksa $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$ prikazane su na slici 40. Vodonične veze tipa $\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}$ i $\text{O}-\text{H}\cdots\text{S}$ povezuju kompleksne molekule u beskonačan lanac. Podaci o vodoničnim vezama u datom kompleksu prikazani su u tabeli 8.

Dužine veza i uglovi za pomenute komplekse dati su u tabeli 9 i 10.



Slika 39. ORTEP prikaz kompleksa $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$



Slika 40. Interakcije vodoničnih veza u strukturi kompleksa $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$

Tabela 8. Geometrija vodoničnih veza za $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$

D – H $\cdots$ A	d(D – H)/ Å	d(H $\cdots$ A)/ Å	d(D $\cdots$ A)/ Å	$\angle(\text{DHA})/^\circ$	Simetrijske transformacije
O1W–	0,899(17)	1,861(19)	2,744(3)	167(3)	$-x+1, -y+1, -z+1$
O1W–	0,919(18)	2,448(19)	3,362(2)	173(3)	$-x, -y+1, -z$

Tabela 9. Izabrane dužine veza (Å) i uglovi (°) kompleksa **5** i **6**.

	[Mn(L ²) ₂]	[Mn(L ³) ₂] · ½H ₂ O
Mn1–N1	2,306(2)	2,299(3)
Mn1–N2	2,235(2)	2,224(3)
Mn1–N6		2,240(3)
Mn1–N7		2,276(3)
Mn1–S1	2,5462(8)	2,4871(12)
Mn1–S2		2,4523(12)
N2–N3	1,379(3)	1,370(4)
N7–N8		1,372(4)
N2–C5		1,297(5)
N2–C6	1,299(3)	
N3–C7		1,330(5)
N3–C8	1,323(4)	
N7–C12		1,311(5)
N8–C14		1,340(5)
S1–C7		1,723(4)
S1–C8	1,728(3)	
S2–C14		1,709(4)
N1– Mn1–N1 ⁱ	92,53(11)	
N1–Mn1–N2	72,24(8)	71,90(11)
N1– Mn1–N6		86,28(11)
N1– Mn1–S1	145,97(6)	147,56(9)
N2– Mn1–N2 ⁱ	168,78(11)	
N2–Mn1–N7		168,76(11)
N2–Mn1–S1	76,18(6)	77,05(9)
N2 ⁱ – Mn1–S1	96,97(6)	
N6–Mn1–N7		71,42(12)
N7–Mn1–S1		113,51(8)
N7– Mn1–S2		76,30(9)
S1– Mn1–S1 ⁱ	106,17(4)	
S1– Mn1–S2		105,84(4)

Simetrijske transformacije: (i) –x+1, y, –z+3/2.

Tabela 10. Izabrane dužine veza (Å) i uglovi (°) kompleksa **4** i **7**.

[Zn(L ²) ₂]		[ZnL ⁴ (NCS)(H ₂ O)]	
Zn1–N1	2,290(2)	Zn1–N1	2,147(2)
Zn1–N2	2,117(2)	Zn1–N2	2,152(2)
Zn1–S1	2,4660(7)	Zn1–N5	2,012(2)
N2–N3	1,375(3)	Zn1–S2	2,4022(8)
N2–C6	1,291(3)	Zn1–O1W	2,1228(19)
N3–C8	1,322(3)	N1–C3	1,315(3)
N4–C8	1,363(3)	N2–N3	1,371(3)
S1–C8	1,727(3)	N2–C4	1,275(3)
		N3–C6	1,312(3)
N1– Zn1–N1(a)	87,95(10)	N5–C7	1,155(3)
N1–Zn1–N2	74,48(7)	C3–S1	1,705(3)
N1–Zn1–N2(a)	110,91(8)	C6–S2	1,737(3)
N1– Zn1–S1	151,52(5)	C7–S3	1,632(2)
N1– Zn1–S1(a)	89,62(5)		
N2– Zn1–N2(a)	172,88(12)	N1–Zn1–N2	75,57(8)
N2–Zn1–S1	79,96(6)	N1–Zn1–N5	96,74(10)
N2– Zn1–S1(a)	95,69(6)	N1–Zn1–O1W	92,80(8)
N2– N3–C8	113,7(2)	N1–Zn1–S2	151,62(6)
N3– N2–C6	116,7(2)	N2–C4–C3	112,9(2)
N3– C8–N4	114,9(2)	N2–N3–C6	112,81(19)
N3– C8–S1	128,77(19)	N2–Zn1–N5	171,38(10)
N4– C8–S1	116,3(2)	N2–Zn1–O1W	91,44(7)
S1– Zn1–S1(a)	105,39(4)	N2–Zn1–S2	79,07(6)
C8– S1–Zn1	94,10(9)	N5–Zn1–O1W	92,84(8)
		N5–Zn1–S2	107,47(8)
		S2–Zn1–O1W	100,41(6)

Simetrijske transformacije: (a) $-x+1, y, -z+1/2$ za kompleks **4** i (a) $-x+1, -y+1, -z+1$; (b) $-x, -y+1, -z$ za **7**.

4.3. Rezultati teorijskih proračuna

4.3.1. DFT proračuni stabilnosti kompleksa u rastvoru

U cilju boljeg razumevanja stabilnosti i ponašanja sintetisanih kompleksa cinka i mangana u rastvoru, primenjeni su proračuni zasnovani na teoriji funkcionala gustine (DFT). Posebna pažnja posvećena je ispitivanju termodinamičke stabilnosti koordinacionih jedinjenja u odnosu na moguće reakcije supstitucije ko-liganada. U tu svrhu geometrije, elektronske energije i termodinamičke korekcije za sve slobodne vrste koje učestvuju u ispitivanim reakcijama kao reaktanti ili proizvodi (slobodni ligandi, ko-ligandi N_3^- , OCN^- i NCS^- , kao i molekul rastvarača DMSO) izračunate su na identičnom nivou teorije u odgovarajućem softverskom paketu (ADF ili ORCA), čime je obezbeđena metodološka konzistentnost.

Polazeći od struktura kompleksa **1–3** određenih rendgenskom strukturnom analizom, ispitana je termodinamika njihovih mogućih reakcija u rastvoru. Promene slobodne energije ($\Delta_r G$ na 298 K) date su u tabeli 11. Optimizacija geometrije, proračun normalnih vibracionih modova i elektronskih energija izvedeni su korišćenjem ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO i ZORA-CAM-B3LYP/TZP-COSMO nivoa teorije, redom kao što je opisano u odeljku 3.6. *Teorijski proračuni*. Rezultati potvrđuju stabilnost kompleksa u rastvoru i ukazuju da se cijanatni ligand vezuje preko azota u kompleksu **1**. Supstitucija liganda N_3^- ili OCN^- ima nižu vrednost $\Delta_r G$ u poređenju sa supstitucijom molekulima rastvarača, što zahteva višak azida ili cijanata pri sintezi kompleksa **1** i **3**.

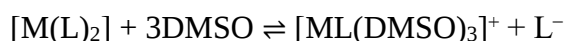
Tabela 11. Promene Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$, kcal mol⁻¹) kao mera stabilnosti kompleksa **1**, **2** i **3** u dimetil sulfoksidu uz reakcije izmene pseudohalogenidnih liganada u metanolu i vodi.

Reakcije	$\Delta_r G$ (298 K)
R1 $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2]^{2+} + 2\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^1(\text{DMSO})_2]^{2+} + \text{L}^1$	+36,2 ^c
R2 $[\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2] + 2\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^1(\text{DMSO})_2]^{2+} + 2\text{N}_3^-$	+29,2 ^c
R3 $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2] + 2\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^1(\text{DMSO})_2]^{2+} + 2\text{OCN}^-$	+30,4 ^c
R4 $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2] \rightleftharpoons [\text{ZnL}^1(\text{OCN})_2]$	+18,5 ^a (+18,5) ^b
R5 $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2]^{2+} + 2\text{N}_3^- \rightleftharpoons [\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2] + \text{L}^1$	+4,9 ^b
R6 $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2]^{2+} + 2\text{OCN}^- \rightleftharpoons [\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2] + \text{L}^1$	+3,8 ^b
Rastvarači: a-H ₂ O, b-MeOH, c-DMSO	

Dobijene vrednosti $\Delta_r G$ jasno ukazuju na to da su kompleksi **1–3** termodinamički stabilni u rastvoru i da nisu skloni koordinaciji molekula rastvarača. Naime, zamena postojećih liganada sa dva molekula DMSO-a izrazito je nepovoljna, što se ogleda u visokim pozitivnim vrednostima $\Delta_r G$ reakcije **R1**, **R2** i **R3** (+36,2, +29,2 i +30,4 kcal mol⁻¹ za komplekse $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2]^{2+}$, $[\text{ZnL}^1(\text{N}_3)_2]$ i $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2]$, redom). Ovakvi rezultati ukazuju da koordinacija $(\text{L}^1)^-$, N_3^- i OCN^- značajno stabilizuje Zn(II) centar i da formiranje DMSO–koordinovanih vrsta nije termodinamički favorizovano pod uobičajenim uslovima. Posebno je zanimljivo da je zamena kod azidnog kompleksa najmanje nepovoljna, što sugerise nešto slabije vezivanje N_3^- u odnosu na ligand i cijanat, ali i dalje nedovoljno da bi se supstitucija odvijala spontano. Pored toga, proračuni ukazuju da je N-vezani izomer cijanatnog kompleksa stabilniji od njegovog O-vezanog oblika, budući da je prelazak $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2] \rightarrow [\text{ZnL}^1(\text{OCN})_2]$, praćen pozitivnom promenom slobodne energije od +18.5 kcal mol⁻¹ (reakcija **R4**). Ovaj rezultat potvrđuje da Zn(II) jon preferira koordinaciju cijanata preko azotovog atoma. Supstitucija jednog liganda L^1 sa dva azidna ili dva cijanatna liganda u reakcijama **R5** i **R6** pokazuje se kao blago nepovoljna ($\Delta_r G = +4.9$ i $+3.8$ kcal mol⁻¹). Iako se ovi kompleksi

mogu sintetisati, njihovo formiranje u ekvimolarnim uslovima prirodno nije favorizovano, jer sistem teži formiranju termodinamički stabilnijeg homoleptičkog bis-ligandnog kompleksa **2**. Stoga je za efikasnu supstituciju i pomeranje ove ravnoteže u smeru mono-ligandnih proizvoda **1** i **3** neophodno primeniti Le Šateljeov princip kroz obezbeđivanje velikog viška azidnog ili cijanatnog anjona u reakcionoj smeši, čime se uspešno potiskuje konkurentna koordinacija drugog molekula hidrazona. Blago povoljnija (tj. manje pozitivna) vrednost $\Delta_r G$ za supstituciju cijanatom ukazuje na nešto veći afinitet Zn(II) prema NCO^- u odnosu na N_3^- , što dodatno objašnjava stabilnost cijanatnog kompleksa u rastvoru (**R6**). Sveukupno, termodinamički trendovi dobijeni DFT proračunima omogućavaju konzistentno razumevanje stabilnosti kompleksa **1–3**, potvrđujući da su formirani kompleksi postojani u rastvoru, da se njihova struktura ne menja koordinacijom molekula rastvarača i da je supstitucija liganada uslovljena prisustvom viška odgovarajućih anjona. Ovi rezultati na jasan i kvantitativan način povezuju eksperimentalne i teorijske nalaze i doprinose potpunijem razumevanju koordinacionog okruženja Zn(II) u ispitivanim sistemima.

U cilju dalje procene stabilnosti ispitivanih jedinjenja, DFT proračuni su urađeni i za komplekse **4**, **5**, **6** i **9**, kako bi se razjasnilo njihovo ponašanje u DMSO rastvoru i podržala interpretacija dobijenih spektroskopskih i bioloških rezultata (tabela 12). Svi proračuni su izvedeni na nivou teorije $\omega\text{B97X-D4rev/def2-TZVP}(-f)\text{--SMD(DMSO)}$, u skladu sa metodologijom opisanom u odeljku 3.6. *Teorijski proračuni*. Promene reakcione slobodne energije ($\Delta_r G$, 298 K) određene su na osnovu razlika izračunatih slobodnih energija produkata i reaktanata u rastvoru. Razmatrane su reakcije supstitucije tipa:



gde je M = Mn(II) ili Zn(II), a L = L^2 , L^3 , L^4 (tabela 12), što odgovara kompleksima **4** (Zn); **5**, **6** i **9** (Mn).

Izračunate $\Delta_r G$ vrednosti pokazuju da je supstitucija tridentatnog liganda DMSO-om izrazito endergona za sve Mn(II) komplekse, sa $\Delta_r G$ vrednostima od $+15,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ (L^2 i L^3) i $+13,6 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ (L^4) (**R7**, **R9**, **R10**, redom). Za Zn(II) kompleks **4** analogna reakcija je takođe nepovoljna, sa $\Delta_r G = +17,8 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**R8**). S obzirom na moguću preferenciju Zn(II) za niže koordinacione brojeve, dodatno je ispitan i supstitucionni put koji vodi do $[\text{ZnL}(\text{DMSO})_2]^+$, pri čemu su dobijene slično pozitivne promene slobodne energije ($\Delta_r G = +18,6 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Ovi rezultati pokazuju da bis-tridentatni kompleksi **4–6** i **9** ostaju termodinamički stabilni u DMSO-u pod uslovima korišćenim za spektroskopska i biološka merenja.

Tabela 12. Promene Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$, kcal mol^{-1}) kao mera stabilnosti kompleksa **4–6** i **9** u dimetil sulfoksidu.

Reakcije	$\Delta_r G$ (298 K)
R7 $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2] + 3\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{MnL}^2(\text{DMSO})_3]^+ + (\text{L}^2)^-$	+15,9
R8 $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2] + 3\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^2(\text{DMSO})_3]^+ + (\text{L}^2)^-$	+17,8
R9 $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2] + 3\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{MnL}^3(\text{DMSO})_3]^+ + (\text{L}^3)^-$	+15,9
R10 $[\text{Mn}(\text{L}^4)_2] + 3\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{MnL}^4(\text{DMSO})_3]^+ + (\text{L}^4)^-$	+13,6

Za cink-komplekse **7** i **8** optimizacije geometrije sprovedene su na nivou teorije BP86-D4/TZP-COSMO(DMSO), dok su elektronske energije dodatno rafinisane primenom meta-hibridnih funkcionala TPSSh-D4 i MN15, u skladu sa metodologijom opisanom u odeljku 3.6. *Teorijski proračuni*. Izračunate vrednosti $\Delta_r G$ za odgovarajuće reakcije prikazane su u tabeli 13.

Tabela 13. Promene Gibbsove slobodne energije ($\Delta_r G$, kcal mol⁻¹) kao mera stabilnosti kompleksa **7** i **8** u dimetil sulfoksidu.

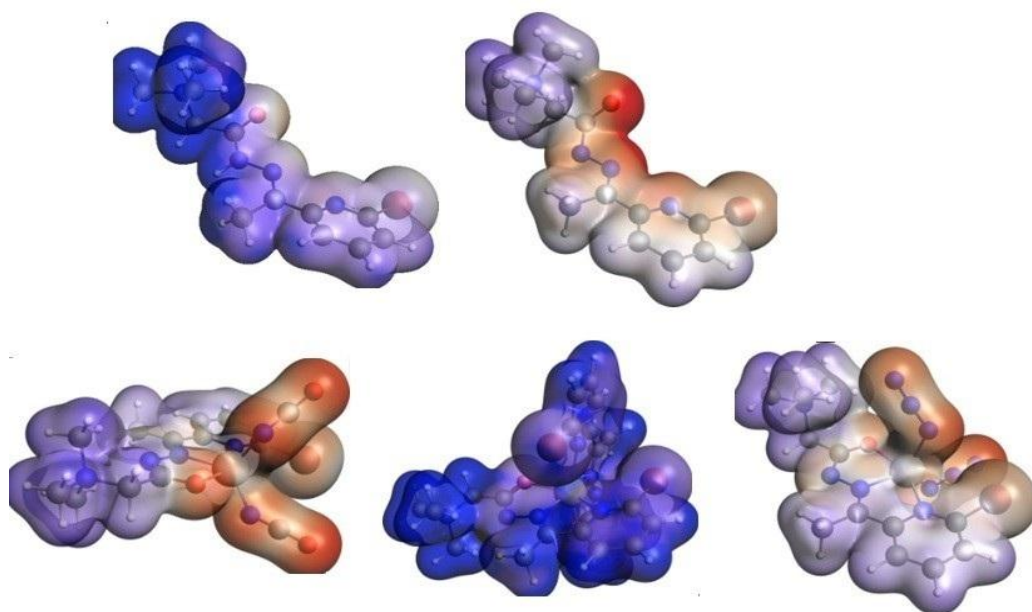
Reakcije	$\Delta_r G$ (298 K)	
	TPSSh-D4	MN15
R11 $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})] + \text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{DMSO})] + \text{H}_2\text{O}$	-8.6	-8.4
R12 $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{DMSO})] + \text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{DMSO})_2]$	+3.6	+4.4
R13 $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})] \rightleftharpoons [\text{ZnL}^4(\text{H}_2\text{O})]^+ + \text{NCS}^-$	+11.5	+10.6
R14 $[\text{Zn}(\text{L}^4)_2] + 2\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^4(\text{DMSO})_2]^+ + (\text{L}^4)^-$	+20.6	+24.1
R15 $[\text{Zn}(\text{L}^4)_2] + 3\text{DMSO} \rightleftharpoons [\text{ZnL}^4(\text{DMSO})_3]^+ + (\text{L}^4)^-$	+21.5	+26.5

Izračunati podaci ukazuju na to da je supstitucija koordinovane vode DMSO-om u kompleksu $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$ termodinamički povoljna. Reakcija **R11** (tabela 13) ima negativnu vrednost $\Delta_r G$, što sugerise da u rastvoru DMSO-a, kompleks **7** lako podleže izmeni liganda i formira kompleks $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{DMSO})]$. Nasuprot tome, pozitivna vrednost $\Delta_r G$ za reakciju **R12** ukazuje da uvođenje drugog molekula DMSO u koordinacionu sferu Zn(II) centra nije povoljno pod standardnim uslovima. Pozitivna promena Gibbsove energije dobijena za reakciju **R13** potvrđuje da disocijacija NCS^- nije termodinamički prihvatljiva, čime se ističe visok afinitet Zn(II) jona prema tiocijanatu. Prema tome, NCS^- ostaje koordinovan u rastvoru i doprinosi stabilnosti kompleksa. Reakcije **R14** i **R15**, koje uključuju zamenu liganda molekulima DMSO-a daju izrazito pozitivne vrednosti $\Delta_r G$, što ukazuje da je vezivanje liganda izuzetno stabilizujuće i da kompleks **8** u rastvoru pokazuje otpornost na razmenu liganda sa rastvaračem pod standardnim uslovima. Saglasnost između TPSSh-D4 i MN15 funkcionala u svim izračunatim $\Delta_r G$ vrednostima dodatno potvrđuje pouzdanost dobijenih računskih rezultata. Uprkos različitom matematičkom tretmanu energije izmene i korelacije, oba funkcionala daju međusobno usaglašene termodinamičke trendove.

4.3.2. Konceptualni DFT deskriptori kompleksa 1–3

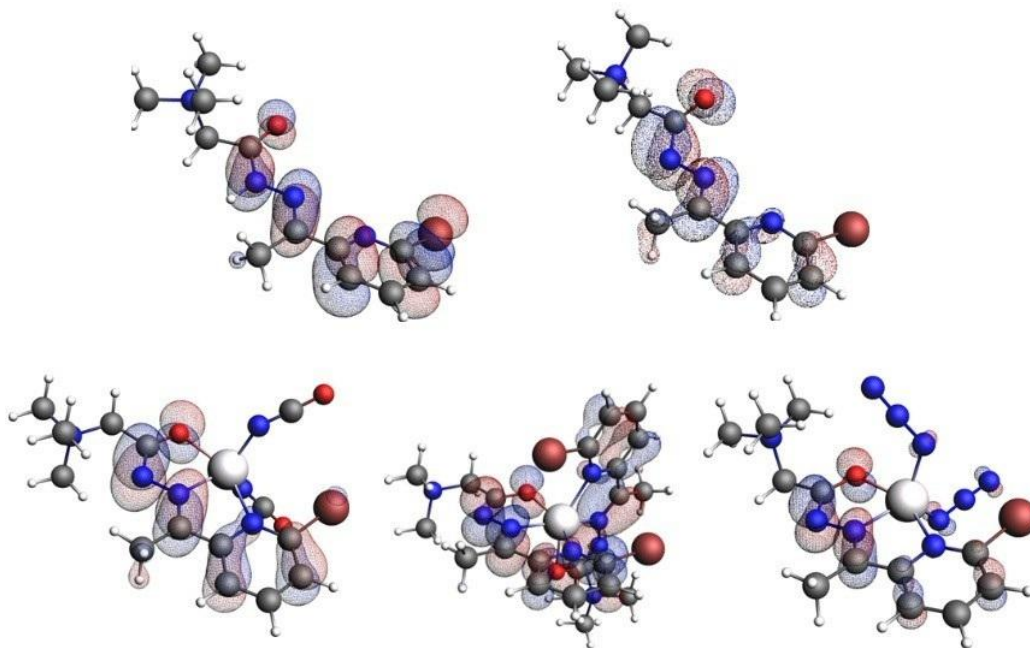
Nakon što je utvrđeno da su kompleksi **1–3** termodinamički stabilni u ispitivanom rastvaraču, analizirana su i njihova elektronsko-strukturna svojstva primenom konceptualnog DFT pristupa.

Površine elektrostatičkog potencijala liganda $(\text{HL}^1)^+$, L^1 i kompleksa **1–3** prikazane su na slici 41 primenom divergentne skale boja (*divergent colormap*). Raspodela naelektrisanja predstavljena je crvenom i plavom bojom, koje odgovaraju negativno, odnosno pozitivno naelektrisanim oblastima. Pozitivno naelektrisane oblasti uglavnom su lokalizovane na kvaternarnoj amonijumskoj grupi. Kod kompleksa **1** i **3** negativno naelektrisane oblasti koncentrisane su oko monodentatnih anjonskih liganada i atoma broma liganda L^1 . U kompleksu **2** najmanje pozitivne oblasti nalaze se u okolini atoma broma koordinovanih liganada L^1 . Sa slike 41 jasno se uočava negativno naelektrisana NNO koordinaciona oblast deprotonovanog liganda L^1 , koja učestvuje u koordinaciji sa jonom Zn(II).



Slika 41. Površine elektrostatičkog potencijala, izračunate na ZORA-CAM-B3LYP/TZP-COSMO(voda)//ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO(voda) nivou teorije, za ligande $(\text{HL}^1)^+$ i L^1 (gornji red) i komplekse **1–3** (donji red). Primenjena je divergentna skala boja u opsegu od $-0,15$ (crvena) do $+0,22$ (plava).

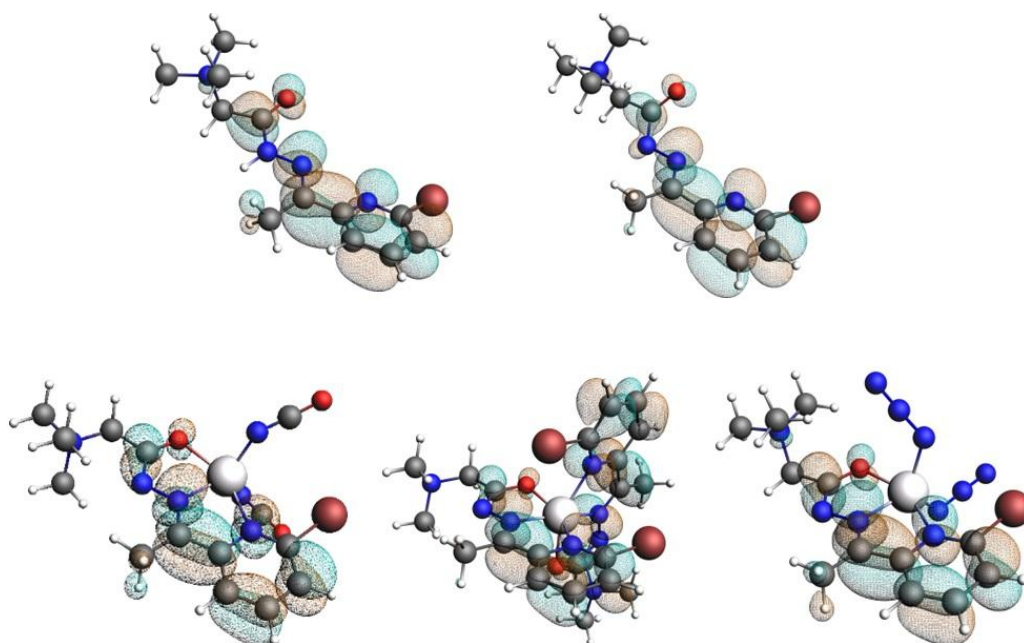
Najviša popunjena molekulska orbitala HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) i najniža nepopunjena molekulska orbitala LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) ispitivanih molekula prikazane su na slikama 42 i 43. Granične molekulske orbitale sva tri kompleksa lokalizovane su na tridentatnom ligandu. Osim blage delokalizacije HOMO orbitale kompleksa **3** na monodentatnim azidnim ligandima, granične orbitale ovih kompleksa u velikoj meri odgovaraju orbitalama samog tridentatnog liganda.



Slika 42. Najviša zauzeta molekulska orbitala HOMO, izračunata na ZORA-CAM-B3LYP/TZP-COSMO(voda)//ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO(voda) nivou teorije za ligande $(\text{HL}^1)^+$ i L^1 (gornji red) i komplekse **1–3** (donji red).

Konceptualni DFT deskriptori ispitivanih kompleksa **1–3** i slobodnog liganda (**HL**)¹⁺ određeni su na CAM-B3LYP/TZP-COSMO(voda)//ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO(voda) nivou teorije primenom pristupa linearizacije konačnih razlika FDL [165]. Fokus je usmeren na četiri ključna globalna molekulska deskriptora: hemijski potencijal elektrona (μ), koji odražava energiju potrebnu za dodavanje ili uklanjanje elektrona iz sistema i pruža uvid u sklonost sistema ka elektronskim promenama; molekulsku tvrdoću (η), koja predstavlja meru otpornosti molekula na prenos elektrona. U orbitalnoj aproksimaciji, razlika između energija HOMO i LUMO orbitala (HOMO–LUMO energetski jaz) povezuje se sa molekulskom tvrdoćom; molekulsku mekoću (S), koja opisuje odziv molekula na spoljašnje perturbacije, pri čemu je veća mekoća povezana sa većom polarizabilnošću; i indeks elektrofilnosti (ω), koji predstavlja meru sklonosti molekula da prihvati elektrone. Ovi deskriptori predstavljaju svojstvene molekulske osobine koje se direktno izračunavaju DFT proračunima, a njihove vrednosti prikazane su u tabeli 14.

Kationski ligand (**HL**)¹⁺ odlikuje se niskom vrednošću hemijskog potencijala (μ) i relativno visokom vrednošću indeksa elektrofilnosti (ω), što ukazuje na izraženu sklonost ka prihvatanju elektrona. Istovremeno, (**HL**)¹⁺ predstavlja tvrd molekul. Koordinacija tridentatnog liganda za Zn(II) dovodi do promene molekulskih svojstava. Kompleksi **1–3** pokazuju veću mekoću, odnosno veću polarizabilnost u odnosu na slobodni ligand. Kompleksi **1** i **3** imaju slična svojstva, pri čemu ih karakterišu visoka molekulska mekoća, visoke vrednosti indeksa elektrofilnosti (ω) i relativno niske vrednosti hemijskog potencijala (μ). Dvostruki deskriptor Fukuijeve funkcije prikazan je u prilogu (slika P36). Kao i kod graničnih molekulskih orbitala, raspodela dvostrukog Fukuijevog deskriptora kod sva tri kompleksa veoma je slična raspodeli kod liganda (**HL**)¹⁺.



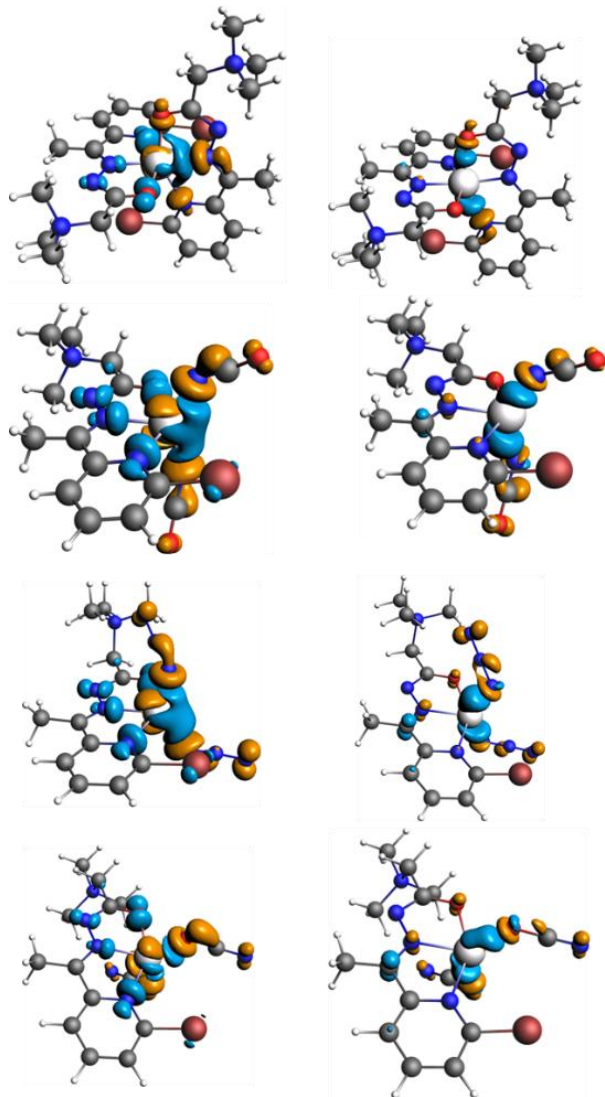
Slika 43. Najniža nezauzeta molekulska orbitala LUMO, izračunata na ZORA-CAM-B3LYP/TZP-COSMO(voda)//ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO(voda) nivou teorije za ligande (**HL**)¹⁺ i **L** (gornji red) i komplekse **1–3** (donji red).

Tabela 14. Konceptualni DFT deskriptori reaktivnosti ispitivanih kompleksa **1–3** i slobodnog liganda (**HL**¹)⁺.

	μ	η	S	ω
(HL ¹) ⁺	-0,170	0,159	6,282	0,090
[Zn L ¹ (NCO) ₂]	-0,158	0,129	7,731	0,096
[Zn(L ¹) ₂] ²⁺	-0,158	0,148	6,757	0,084
[Zn L ¹ (N ₃) ₂]	-0,165	0,138	7,232	0,098

Detaljniji uvid u prirodu hemijske veze u kompleksima **1–3** dobijen je primenom analize dekompozicije energije u okviru metode proširenog prelaznog stanja EDA (Energy Decomposition Analysis) [166-168]. U ovom pristupu hemijska veza između fragmenata analizira se postupno, pri čemu se ukupna energija interakcije E_{int} razlaže na hemijski smislene komponente. Prvu komponentu čini kvaziklasična elektrostatička interakcija između fragmenata E_{elst} . Drugu komponentu predstavlja odbojna Paulijeva interakcija E_{Pauli} , dok treću čini stabilizacioni doprinos orbitalnih interakcija E_{orb} . Konačno, ukoliko je uključena Grimova D4 korekcija disperzione energije, uzima se u obzir i doprinos disperzionih interakcija E_{disp} . Paulijeva i orbitalna deformaciona gustina prikazane su u prilogu (slika P37).

Rezultati EDA analize, izračunati na ZORA-BP86-D4/TZP nivou teorije, za interakcije između fragmenata $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots \text{L}^1$, $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{NCO})_2^{2-}$, $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{N}_3)_2^{2-}$ prikazani su u tabeli 15. Radi boljeg razumevanja preferencijalne koordinacije preko atoma azota u kompleksu sa cijanatnim ligandom, razmatran je i sistem $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{OCN})_2^{2-}$.



Elektrostatičke interakcije predstavljaju dominantan stabilizacioni doprinos u ispitivanim strukturama, naročito kod sistema sastavljenih od naelektrisanih fragmenata, kao što su $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{NCO})_2^{2-}$, $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{N}_3)_2^{2-}$, $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{OCN})_2^{2-}$, gde čine približno 70–75–85 % ukupne stabilizacije. Doprinos orbitalnih interakcija E_{orb} iznosi oko 25 % ukupne stabilizacije u ova tri slučaja, dok za sistem $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots \text{L}$ iznosi približno 35 %. Radi razjašnjenja doprinosa kovalentnosti orbitalnoj komponenti interakcije, sprovedena je NOCV analiza. Najznačajniji kanali deformacije elektronske gustine povezani sa σ -kovalentnošću prikazani su na slici 44 i kvantitativno analizirani. Njihov energetski doprinos dat je u tabeli 15 ($E_{\sigma 1}$ i $E_{\sigma 2}$). Uzimajući u obzir mogućnost ambidentatne koordinacije cijanatnog liganda, pokazano je da σ -kovalentnost ima ključnu ulogu u preferencijalnom vezivanju cinka preko atoma azota (Zn–N).

Slika 44. Najznačajniji kanali kovalentne deformacije elektronske gustine dobijeni NOCV analizom sistema $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots \text{X}$ ($\text{X} = \text{L}^1$, $(\text{NCO})_2^{2-}$, $(\text{N}_3)_2^{2-}$, $(\text{OCN})_2^{2-}$): $\sigma 1$ (levo) i $\sigma 2$ (desno). Žuta boja označava odliv elektronske gustine, dok plava boja označava priliv elektronske gustine.

Tabela 15. Analiza dekompozicije energije (EDA) sistema $[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots \text{X}$ ($\text{X} = \text{L}^1$, $(\text{NCO})_2^{2-}$, $(\text{N}_3)_2^{2-}$, $(\text{OCN})_2^{2-}$), izračunata na ZORA-BP86-D4/TZP nivou teorije. Energetske komponente izražene su u kcal mol^{-1} u odnosu na izabrane fragmente, dok Δq predstavlja Hiršfeldov naboj prenet između fragmenata.

	E_{Pauli}	E_{elst}	E_{orb}	$E_{\sigma 1}$	$E_{\sigma 2}$	E_{disp}	E_{int}	Δq
$[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots \text{L}^1$	134,6	-160,4	-105,8	-43,9	-15,3	-21,9	-153,6	0,55
$[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{NCO})_2^{2-}$	195,6	-429,3	-166,3	-73,5	-25,5	-12,8	-412,9	0,57
$[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{N}_3)_2^{2-}$	186,4	-423,4	-154,7	-65,3	-24,8	-13,8	-405,5	0,60
$[\text{ZnL}^1]^{2+} \cdots (\text{OCN})_2^{2-}$	155,5	-392,5	-122,9	-47,3	-18,0	-14,0	-373,9	0,51

4.3.3. TDDFT analiza elektronskih prelaza kompleksa 7 i 8

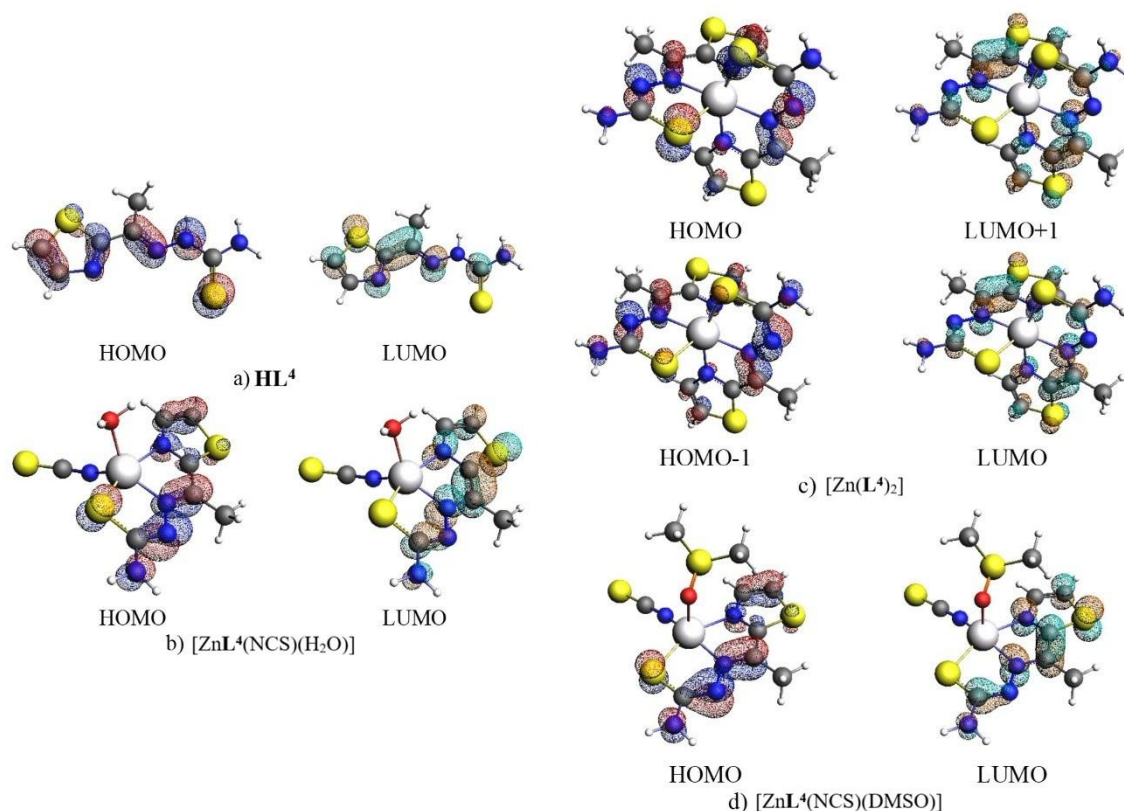
Analiza molekularskih orbitala koje učestvuju u elektronskim prelazima pokazala je da su oni pretežno intraligandni $\pi \rightarrow \pi^*$ prelazi liganda $\mathbf{L}^4$, kao što je prikazano na slici 45.

Kod slobodnog liganda $\mathbf{HL}^4$, za apsorpciju na 334 nm odgovoran je prelaz sa najviše zauzete molekulske orbitale (HOMO) na najnižu nezauzetu molekulsku orbitalu (LUMO), odnosno $\pi \rightarrow \pi^*$ prelaz. Kod kompleksa 7 [$\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})$], intraligandni HOMO $\rightarrow$ LUMO prelaz odgovoran je za apsorpciju na 400 nm.

Za kompleks 8 [$\text{Zn}(\mathbf{L}^4)_2$], na slici 45 prikazane su orbitale HOMO–1, HOMO, LUMO i LUMO+1, budući da pobuđenja uključuju kombinacije ovih orbitala, čime se objašnjavaju prelazi izračunati na 398 i 400 nm.

Kod kompleksa [$\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{DMSO})$], HOMO i LUMO orbitale veoma su slične onima u kompleksu 7, što ukazuje da koordinacija molekula DMSO izaziva samo minimalne promene u elektronskoj strukturi.

Koordinacija liganda za Zn(II) jon utiče na energije ovih molekularskih orbitala, što dovodi do uočenih batohromnih (crvenih) pomaka u apsorpcionim spektrima nakon kompleksiranja. Smanjenje energetskog razmaka između HOMO i LUMO orbitala pri koordinaciji objašnjava batohromni pomak apsorpcije sa 334 nm kod slobodnog liganda na veće talasne dužine kod kompleksa 7 i 8.



Slika 45. Molekulske orbitale uključene u ključne elektronske prelaze slobodnog liganda i kompleksa cinka. (a) $\mathbf{HL}^4$: HOMO (levo) i LUMO (desno). (b) Kompleks 7: HOMO (levo) i LUMO (desno). (c) Kompleks 8: HOMO–1 i HOMO (levo), LUMO i LUMO+1 (desno). (d) [$\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{DMSO})$]: HOMO (levo) i LUMO (desno). Sve orbitale vizualizovane su pri izovrednosti od 0,02.

4.4. Biološka aktivnost

4.4.1. Antimikrobna aktivnost

Antibakterijska aktivnost sintetisanih kompleksa **1-9**, odgovarajućih liganada **HL¹Cl–HL⁴** i polaznih soli ispitana je na panelu od četiri Gram-pozitivna i četiri Gram-negativna bakterijska soja (tabela 16). Rezultati ispitivanja minimalne inhibitorne koncentracije pomenutih jedinjenja pokazuju jasne trendove u pogledu uticaja kompleksiranja na antibakterijsku aktivnost. U celini posmatrano, kompleksiranje u većini slučajeva dovodi do značajnog povećanja aktivnosti u odnosu na slobodne ligande i metalne soli, ali je ovaj porast izrazito zavisao od strukture liganda, prirode metala i mikrobiološkog soja. Najveći porast aktivnosti zabeležen je kod sistema baziranog na ligandu **HL²**, gde oba sintetisana kompleksa (kompleks **4** sa Zn(II) i kompleks **5** sa Mn(II) jonom) pokazuju višestruko niže MIK vrednosti u poređenju sa samim ligandnim prekursorom. Posebno se ističe kompleks **5**, čije MIK vrednosti (0,26–1,04 mM) spadaju među najniže u čitavoj seriji, što ukazuje na snažan sinergizam između liganda i Mn(II) centra. Ligandi **HL¹Cl** i **HL³** pokazuju umerenu početnu aktivnost, ali kod obe grupe kompleksiranje dovodi do poboljšanja – naročito kod kompleksa **2** i kompleksa **6**, pri čemu je ovaj efekat izraženiji prema Gram-pozitivnim bakterijama. Za razliku od ovih sistema, ligand **HL⁴** već kao slobodan pokazuje vrlo dobru antibakterijsku aktivnost (0,42–0,84 mM), ali pri koordinaciji sa Zn(II) (kompleksi **7** i **8**) dolazi do opadanja bioaktivnosti, što sugeriše da stabilna Zn-kompleksacija može „zaključati“ farmakoforu i smanjiti njenu sposobnost interakcije sa bakterijskim metama. Kompleks **9** pokazuje selektivno povećanje aktivnosti prema Gram-pozitivnim sojevima (npr. *Bacillus spizizenii* i *Micrococcus luteus*), što ukazuje da Mn(II) u kombinaciji sa **HL⁴** može učiniti kompleks pogodnijim za delovanje na ćelije sa debljim peptidoglikanskim zidom i jednostavnom membranskom strukturom.

Poređenje aktivnosti prema Gram-negativnim i Gram-pozitivnim sojevima ukazuje da Gram-negativne bakterije (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. hauseri*, *K. pneumoniae*) generalno pokazuju višu otpornost na većinu ispitivanih spojeva, što je očekivano s obzirom na prisustvo spoljne membrane bogate lipopolisaharidima, koja predstavlja efikasnu barijeru za ulazak molekula. S druge strane, Gram-pozitivni mikroorganizmi (*S. aureus*, *C. sporogenes*, *M. luteus*, *B. spizizenii*) često su osetljiviji na komplekse, naročito Mn(II) derivate, što može ukazivati na to da mehanizam dejstva uključuje povećanu membransku permeabilnost, interakciju sa komponentama ćelijskog zida ili potencijalno generisanje reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS), za šta je Mn(II) posebno poznat u koordinacionim sistemima. U tom kontekstu, Mn-kompleksi (posebno **5** i **9**) mogu ostvarivati efekat koji prevazilazi doprinos liganda ili metala pojedinačno, što je u skladu sa poznatim modelima helacionog pojačanja aktivnosti [185,186].

Upoređivanje aktivnosti slobodnih metalnih soli Zn(BF₄)₂·6H₂O i MnCl₂·4H₂O sa njihovim kompleksima dodatno potvrđuje da je forma metala u vidu kompleksnog jona ključna za antibakterijsko dejstvo. Soli metala pokazuju visoke MIK vrednosti i spadaju u slabije aktivne komponente u čitavom skupu ispitivanih supstanci, dok njihovi kompleksi, zahvaljujući formiranju stabilnih, lipofilnijih struktura, postižu znatno bolji efekat. Ovakav rezultat je u potpunosti u skladu sa pravilima helacionog poboljšanja aktivnosti, prema kojima kompleksiranje može povećati lipofilnost, olakšati prolazak kroz membranu i omogućiti bolju intracelularnu raspodelu [186,187].

Iako referentni antibiotik ampicilin pokazuje veću aktivnost od sintetisanih koordinacionih jedinjenja (MIK u mikromolarnom opsegu), rezultati ovog istraživanja nude važan uvid u odnose strukture i aktivnosti ispitivanih jedinjenja. Posebno se ističe da **HL²** najviše dobija na aktivnosti kompleksiranjem, da **HL⁴** poseduje intrinzičnu antibakterijsku potentnost ali je osetljiv na tip metala sa kojim gradi kompleks, te da Mn-kompleksi u nekoliko slučajeva pokazuju selektivniju aktivnost prema Gram-pozitivnim bakterijama.

Antifungalna aktivnost slobodnih liganada **HL**¹Cl–**HL**⁴, njihovih Zn(II) i Mn(II) kompleksa (**1–9**), kao i polaznih soli korišćenih u sintezi, određena je na dva soja gljivica *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*, kao i na jednom soju kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, gde su rezultati minimalne inhibitorne koncentracije izraženi u milimolarnim koncentracijama (tabela 17), što omogućava direktno poređenje biološke efikasnosti ispitivanih jedinjenja.

Slobodni ligandi pokazuju umerenu do slabu antifungalnu aktivnost, sa MIK vrednostima u opsegu 0,80–3,58 mM, pri čemu **HL**¹Cl, dobijen iz 2-acetil-6-bromopiridina i Žirarovog T reagensa, pokazuje najnižu aktivnost, naročito prema *C. albicans* (MIK = 3,58 mM), što ukazuje da bromsupstituisani piridinski prsten sam po sebi ne doprinosi značajno antifungalnom efektu. Ligandi **HL**² i **HL**³, bazirani na tiosemikarbazonima, pokazuju poboljšanu aktivnost, pri čemu **HL**³, dobijen reakcijom 2-acetilpirazina i tiosemikarbazida, pokazuje najbolju aktivnost među slobodnim ligandima (MIK = 0,80 mM za sva tri soja), što se može pripisati povećanom broju azotovih donor atoma u pirazinskom jezgru, koji omogućavaju efikasnije vodonične veze i interakcije sa metal-zavisnim enzimima u ćeliji gljivica [188,189]. Iako sve tri ispitivane gljivične vrste poseduju ćelijsku membranu bogatu ergosterolom, ligand **HL**⁴ pokazuje izraženiju aktivnost prema *C. albicans* i *S. cerevisiae* (MIK = 0,84 mM), dok je slabija aktivnost prema *A. brasiliensis* verovatno posledica složenije strukture ćelijskog zida i filamentne morfologije ove vrste.

Uvođenje metalnog centra dovodi do značajnog poboljšanja antifungalne aktivnosti u gotovo svim slučajevima, što se jasno vidi kod Zn(II) kompleksa sa **HL**¹Cl ligandom, gde kompleksi **1–3** pokazuju MIK vrednosti niže i za više od jednog reda veličine u odnosu na slobodni ligand. Ovakav efekat je u skladu sa tzv. helacionom teorijom, prema kojoj koordinacija liganda za metalni jon dovodi do delimične delokalizacije elektronske gustine, povećanja lipofilnosti i olakšanog prolaska kompleksa kroz ćelijsku membranu mikroorganizama [187]. Posmatrano pojedinačno prema ispitivanim mikroorganizmima, kompleks **3** pokazuje najveću aktivnost prema *A. brasiliensis* (MIK = 0,08 mM), dok najveću aktivnost prema *S. cerevisiae* dele kompleksi **1** i **3** (MIK = 0,04 mM). Međutim, kada se uzme u obzir prosečna MIK vrednost za sva tri ispitivana soja, kompleks **2** pokazuje najniži prosečni MIK (≈0,12 mM), što ukazuje da poseduje najuravnoteženiji antifungalni profil u celoj seriji. Iako nije najaktivniji ni prema jednom pojedinačnom mikroorganizmu, ispoljava veoma dobru aktivnost prema sve tri ispitivane vrste. Kompleks **3**, uprkos izuzetnoj aktivnosti prema *A. brasiliensis* i *S. cerevisiae*, ostvaruje nešto višu prosečnu MIK vrednost zbog slabije aktivnosti prema *C. albicans* (0,33 mM).

Tabela 16. Antibakterijska aktivnost ispitivanih jedinjenja (MIK u mM).

	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. hauseri</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. sporogenes</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. spizizenii</i>
HL¹Cl	7,16	7,16	7,16	3,58	3,58	3,58	3,58	3,58
HL²	4,58	4,58	4,58	4,58	4,58	4,58	4,58	4,58
HL³	3,21	1,60	3,21	3,21	1,60	3,21	3,21	1,60
HL⁴	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,42	0,84
1	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62
2	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58
3	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62
4	1,03	1,03	0,51	1,03	1,03	0,51	1,03	0,51
5	1,04	1,04	1,04	1,04	0,26	0,52	0,52	0,26
6	1,47	1,47	2,94	2,94	1,47	0,74	1,47	0,74
7	1,83	1,83	1,83	1,83	1,83	1,83	1,83	1,83
8	2,69	2,69	2,69	2,69	2,69	2,69	2,69	2,69
9	1,35	2,77	2,77	1,35	1,35	0,69	0,69	0,35
Zn(BF ₄) ₂ ·6H ₂ O	7,20	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	7,20	3,60
MnCl ₂ ·4H ₂ O	12,64	6,32	6,32	12,64	6,32	6,32	6,32	6,32
NH ₄ SCN	32,84	16,42	16,42	16,42	32,84	32,84	16,42	16,42
NaN ₃	2,41	2,41	4,82	4,82	2,41	4,82	2,41	4,82
NaOCN	19,23	19,23	19,23	19,23	19,23	19,23	19,23	38,46
Ampicilin	0,013	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,007	0,003

Kod **HL**² sistema primećuje se izražen metalni efekat, pri čemu [Mn(L²)₂], kompleks **5** pokazuje znatno bolju aktivnost (MIK = 0,13 mM za sva tri soja) u poređenju sa [Zn(L²)₂], kompleksom **4**, (MIK = 0,26-0,51 mM). Kompleks **5** pokazuje gotovo podjednako povoljan prosečni MIK (≈0,13 mM) kao i kompleks **2** i izdvaja se kao najaktivniji prema *C. albicans*. Ovo ukazuje da Mn(II) jon u ovom slučaju može doprineti povoljnijim interakcijama sa biološkim metama, što je u skladu sa literaturom koja ukazuje na ulogu Mn(II) u modulaciji metaboličkih i redoks-povezanih procesa u ćelijama gljivica, uključujući potencijalno narušavanje oksidativne ravnoteže unutar ćelija [190].

Kompleks **6**, koji sadrži Mn(II) jon koordinovan sa dva deprotonovana liganda (L³)⁻, pokazuje poboljšanu antifungalnu aktivnost u odnosu na slobodni ligand **HL**³, sa MIK vrednošću od 0,37 mM prema svim ispitivanim sojevima. Ovaj rezultat jasno ukazuje da kompleksiranje liganda sa Mn(II) jonom dovodi do povećanja biološke aktivnosti, što je u skladu sa poznatim efektom helacije.

Kompleksi sa **HL**⁴ ligandom pokazuju izraženu zavisnost aktivnosti od sastava koordinacione sfere, pri čemu kompleks **8** pokazuje najbolju aktivnost (MIK = 0,18–0,34 mM), naročito prema *C. albicans*, dok prisustvo koordinovanih molekula vode i NCS⁻ liganda u kompleksu **7** značajno smanjuje antifungalnu efikasnost, što se može dovesti u vezu sa smanjenom lipofilnošću i slabijom sposobnošću interakcije sa hidrofobnim domenima ćelijske membrane [191]. Kompleks **9** pokazuje umerenu aktivnost sa varijabilnom osetljivošću gljivica, što sugerise da priroda metalnog jona utiče na stabilnost i biološki potencijal kompleksa. Ovi rezultati potvrđuju da antifungalna efikasnost **HL**⁴ zavisi ne samo od tiazolne heterociklične jedinice, već i od prirode metalnog centra i stepena koordinacije, čime se naglašava važnost kompleksiranja u optimizaciji bioaktivnosti liganada.

Aktivnost polaznih soli (Zn(BF₄)₂·6H₂O, MnCl₂·4H₂O, NH₄SCN, NaOCN) znatno je slabija u poređenju sa odgovarajućim kompleksima, čime se jasno potvrđuje da je uočena antifungalna aktivnost rezultat sinergijskog efekta metala i liganda, a ne samih jona ili anjona. Izuzetak među polaznim solima je NaN₃, koja pokazuje veću biološku aktivnost jer deluje specifično i direktno na mitohondrijsku citohrom c oksidazu, blokirajući respiratorni lanac i dovodeći do brzog smanjenja sinteze ATP-a. Zbog ovog mehanizma ispoljava toksičnost već pri niskim koncentracijama [192,193].

Sveukupno, rezultati ukazuju da kompleksi pokazuju različite profile antifungalne aktivnosti u zavisnosti od ispitivanog mikroorganizma. Kompleks **2** izdvaja se kao jedinjenje sa najuravnoteženijim antifungalnim profilom, dok kompleksi **3** i **5** pokazuju najveću aktivnost prema pojedinačnim vrstama gljivica. Dobijeni rezultati ukazuju da se mehanizam njihovog delovanja najverovatnije zasniva na kombinovanom efektu povećane permeabilnosti ćelijske membrane usled helacije, inhibicije metal-zavisnih enzima i narušavanja intracelularne homeostaze jona i oksidativnog stresa, što je u skladu sa prethodno opisanim mehanizmima delovanja srodnih metal-ligand sistema [194,195].

Tabela 17. Antifungalna aktivnost ispitivanih jedinjenja (MIK u mM).

	<i>A. brasiliensis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
HL¹Cl	1,79	3,58	1,79
HL²	1,14	1,14	1,14
HL³	0,80	0,80	0,80
HL⁴	1,68	0,84	0,84
1	0,16	0,33	0,04
2	0,10	0,20	0,05
3	0,08	0,33	0,04
4	0,51	0,26	0,26
5	0,13	0,13	0,13
6	0,37	0,37	0,37
7	0,92	0,92	0,92
8	0,34	0,18	0,34
9	0,69	0,69	1,35
Zn(BF ₄) ₂ ·6H ₂ O	3,60	3,60	3,60
MnCl ₂ ·4H ₂ O	6,32	12,64	6,32
NH ₄ SCN	16,42	16,42	16,42
NaN ₃	0,21	0,42	1,68
NaOCN	2,40	2,40	2,40
Amfotericin B	0,04	0,02	0,01

4.4.2. Molekulski doking kompleksa 1–3

Imajući u vidu izraženu i selektivnu antifungalnu aktivnost kompleksa **1–3**, a da konceptualni DFT deskriptori ukazuju na razlike u njihovoj elektronskoj reaktivnosti i polarizabilnosti, molekulski doking primenjen je za ispitivanje mogućeg mehanizma njihovog dejstva.

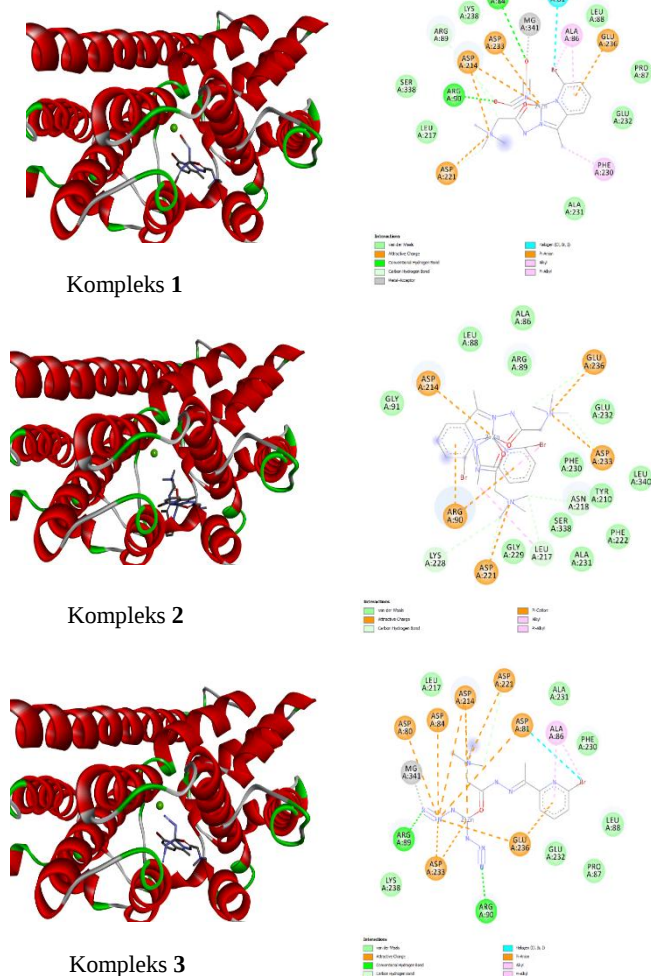
S obzirom na to da mnogi poznati antimikotici deluju kao inhibitori enzima neophodnih za biosintezu sterola i da sintetisani kompleksi cinka pokazuju značajnu antifungalnu aktivnost prema soju kvasca *S. cerevisiae*, za analizu molekulskog dokinga odabrano je šest enzima *S. cerevisiae* uključenih u biosintetski put sterola. Izabrani enzimi su: HMG-CoA reduktaza (UniProtKB: P12683), geranilgeranil pirofosfat sintaza (GGPPS) (Q12051), skvalen sintaza (SQS) (P29704), skvalen epoksidaza (SQE) (P32476), sterol 24-C-metiltransferaza (SMT) (P25087) i lanosterol 14 α -demetilaza (CYP51) (P10614). Predviđene vrednosti energija vezivanja u aktivnim mestima ovih enzima prikazane su u tabeli 18.

Kao što je prikazano u tabeli 18, nijedan od ispitivanih kompleksa ne može da se veže za aktivno mesto enzima HMG-CoA reduktaze, SQE i SMT, već su identifikovana samo nespecifična mesta

vezivanja na površini ovih proteina. Manji, pentakoordinovani kompleksi **1** i **3** vezuju se za aktivna mesta enzima SQS i CYP51, dok je veći, šestokoordinovani kompleks **2** suviše glomazan da bi se uklopio u aktivna mesta ovih enzima. Analiza molekulskog dokinga pokazala je da je jedino aktivno mesto enzima GGPPS dovoljno prostrano da primi sva tri ispitivana kompleksa.

Nadalje, energije vezivanja za komplekse **1** i **3** u aktivnom mestu enzima GGPPS značajno su povoljnije u poređenju sa ostalim enzimima. Najpovoljnije konformacije vezivanja (binding poses) ispitivanih kompleksa u aktivnom mestu enzima GGPPS, kao i dvodimenzionalni dijagram interakcija pri vezivanju ovih kompleksa, prikazani su na slici 46.

Slika 46. Najpovoljnije konformacije vezivanja kompleksa **1**, **2** i **3** u aktivnom mestu enzima GGPPS (leva strana), kao i dvodimenzionalni dijagram interakcija pri vezivanju kompleksa **1**, **2** i **3** sa aminokiselinim ostacima iz aktivnog mesta enzima GGPPS (desna strana). Napomena: jon Mg^{2+} prikazan je zelenom sferom.



Važno je napomenuti da enzim GGPPS u svom aktivnom mestu sadrži jon Mg^{2+} , sa kojim i ambidentatni ligandi NCO^- (kompleks **1**) i N_3^- (kompleks **3**) formiraju koordinativnu vezu. Ove interakcije nisu prisutne kod kompleksa **2** (slika 46, desna strana), što dovodi do niže ukupne energije vezivanja (tabela 18) i objašnjava razliku u izmerenoj antifungalnoj aktivnosti. Ostale značajne interakcije između kompleksa i aminokiselnih ostataka aktivnog mesta uključuju: 1) privlačne elektrostatičke interakcije između ostataka Asp i Glu sa jedne strane i jona $Zn(II)$ i kvaternarnog amonijuma iz liganda sa druge strane; 2) π -katjonske i π -anjonske interakcije; i 3) halogene interakcije između ostatka Asp i bromidnog anjona.

Imajući u vidu da su MIK vrednosti za *S. cerevisiae* uporedive za sva tri ispitivana kompleksa, rezultati molekulskog dokinga ukazuju da GGPPS može predstavljati jednu od potencijalnih molekulskih meta koja doprinosi antifungalnom dejstvu $Zn(II)$ kompleksa **1–3**. Analiza rezultata molekulskog dokinga za ostale specifične enzime prikazana je u prilogu (slike P38–P40).

Tabela 18. Energije vezivanja kcal mol⁻¹ kompleksa **1–3** u aktivnim mestima šest odabranih enzima, dobijene molekulskim dokovanjem.

Enzim/Kompleks	1	2	3
HMG-CoA reductase	Nema vezivanja u aktivnom mestu	Nema vezivanja u aktivnom mestu	Nema vezivanja u aktivnom mestu
GGPPS	-6,39	-5,15	-6,12
SQS	-4,62	Nema vezivanja u aktivnom mestu	-4,81
SQE	Nema vezivanja u aktivnom mestu	Nema vezivanja u aktivnom mestu	Nema vezivanja u aktivnom mestu
SMT	Nema vezivanja u aktivnom mestu	Nema vezivanja u aktivnom mestu	Nema vezivanja u aktivnom mestu
CYP51	-4,57	Nema vezivanja u aktivnom mestu	-5,16

4.4.3. Citotoksična aktivnost

Rezultati citotoksične aktivnosti ispitivanih liganada, njihovih kompleksa sa cinkom i manganom, kao i odgovarajućih prekursora, određeni na panelu humanih malignih ćelijskih linija (HeLa, A549, MDA-MB-231, K562 i LS 174T), kao i na neizmenjenim humanim fibroblastima pluća MRC-5, prikazani su u tabeli 19. Dobijeni rezultati jasno ukazuju da struktura liganda, priroda heterocikličnog sistema, tip metalnog jona, stehiometrija i koordinaciona geometrija imaju presudan uticaj na biološku aktivnost. Slobodni ligand **HL**¹Cl pokazuje vrlo slabu citotoksičnu aktivnost prema svim ispitivanim malignim ćelijskim linijama, sa IC₅₀ vrednostima uglavnom većim od 100 µM, što ukazuje na odsustvo značajnog antiproliferativnog potencijala. Za razliku od **HL**¹Cl, tiosemikarbazonski ligand **HL**² pokazuje izrazito selektivnu aktivnost. Najniža IC₅₀ vrednost zabeležena je za HeLa ćelije (9,82 ± 1,36 µM), dok su vrednosti za ostale maligne ćelijske linije znatno više (191,97 ± 13,91 µM za A549; 197,61 ± 4,13 µM za MDA-MB-231; 76,13 ± 3,91 µM za K562; >200 µM za LS 174T). Istovremeno, IC₅₀ vrednost za normalne MRC-5 ćelije iznosi 166,12 ± 3,32 µM, što jasno ukazuje na povoljnu selektivnost prema HeLa ćelijama. Ovakvo ponašanje može se povezati sa sposobnošću tiosemikarbazonske grupe da ostvaruje specifične interakcije sa intraćelijskim metalima i enzimima uključenim u proliferaciju HeLa ćelija adenokarcinoma cerviksa. Ligand **HL**³, koji sadrži pirazinski prsten, pokazuje uravnoteženiji, ali manje selektivan citotoksični profil. Vrednosti IC₅₀ za HeLa i MRC-5 ćelije su slične (20,47 ± 0,43 i 23,55 ± 2,52 µM), dok je izrazito jaka aktivnost uočena prema K562 ćelijama (11,70 ± 0,06 µM). Citotoksična aktivnost prema A549, MDA-MB-231 i LS 174T ćelijama se kreće između 89 i 97 µM. Ovi rezultati ukazuju da pirazinski sistem povećava opštu citotoksičnost liganda, ali istovremeno smanjuje selektivnost prema malignim u odnosu na normalne ćelije. Najširi spektar aktivnosti među ligandima pokazuje **HL**⁴, tiazolski tiosemikarbazon. Vrednosti IC₅₀ su relativno niske za sve maligne ćelijske linije (13,95 ± 0,08 µM za HeLa; 51,17 ± 3,66 µM za A549; 23,96 ± 0,34 µM za MDA-MB-231; 35,08 ± 1,19 µM za K562; 47,71 ± 0,65 µM za LS 174T), ali su slične vrednosti dobijene i za MRC-5 ćelije (46,39 ± 1,98 µM). Ovo ukazuje da **HL**⁴ poseduje snažan, ali slabo selektivan citotoksični potencijal, što se može dovesti u vezu sa većom lipofilnošću i boljom sposobnošću prolaska kroz ćelijsku membranu.

Kompleksi **1–3**, dobijeni koordinacijom **HL**¹Cl sa Zn(II) jonima u prisustvu različitih anjonskih liganada (OCN⁻ i N₃⁻), takođe pokazuju slabu citotoksičnu aktivnost, bez značajnog poboljšanja u odnosu na slobodni ligand. Kompleks **1**, koji sadrži jedan **HL**¹Cl ligand i dva OCN⁻ liganda, pokazuje IC₅₀ vrednosti uporedive sa ligandom, dok kompleks **2**, sa dva koordinovana liganda, ispoljava tek blago poboljšanu aktivnost prema K562 ćelijama (93,62 µM). Kompleks **3**, koji

sadrži jedan ligand i dva N_3^- liganda, pokazuje najnižu aktivnost, sa IC_{50} vrednostima većim od 200 μM za većinu ćelijskih linija. Suprotan trend uočen je kod **HL**² liganda gde pri formiranju oktaedarskog Zn(II) kompleksa **4** dolazi do značajnog povećanja citotoksičnosti u odnosu na slobodan ligand, naročito prema A549 ($43,83 \pm 5,72 \mu\text{M}$) i K562 ćelijama ($26,76 \pm 0,24 \mu\text{M}$). Dalje poboljšanje postiže se zamenom Zn(II) jona manganom u kompleksu **5**, gde IC_{50} vrednosti iznose $7,86 \pm 0,56 \mu\text{M}$ za HeLa, $12,16 \pm 1,30 \mu\text{M}$ za K562 i $24,25 \pm 2,74 \mu\text{M}$ za LS 174T ćelije. Ovi podaci jasno ukazuju da Mn(II) doprinosi jačoj biološkoj aktivnosti, verovatno usled njegove redoks-aktivnosti i sposobnosti generisanja reaktivnih kiseoničnih vrsta. Sličan obrazac uočen je i kod **HL**³ liganda pri formiranju Mn(II) kompleksa **6** koji pokazuje izuzetno niske IC_{50} vrednosti za sve ispitivane maligne ćelijske linije ($8,08 \pm 1,00 \mu\text{M}$ za HeLa; $9,55 \pm 1,20 \mu\text{M}$ za K562; $12,71 \pm 1,30 \mu\text{M}$ za MDA-MB-231; $14,63 \pm 1,71 \mu\text{M}$ za LS 174T), uz umereno višu vrednost za MRC-5 ćelije ($23,10 \pm 2,45 \mu\text{M}$). Ovaj kompleks se po jačini dejstva približava cisplatini, ali pokazuje povoljniji odnos aktivnosti i toksičnosti, što ga čini jednim od najperspektivnijih sistema u ovoj studiji. Kod **HL**⁴ liganda, kompleksiranje sa Zn(II) i Mn(II) dodatno moduliše citotoksični efekat. Zn(II) kompleks **7**, koji sadrži SCN^- i molekul vode, pokazuje niže IC_{50} vrednosti u odnosu na ligand, dok kompleks **8**, sa dva $(\text{L}^4)^-$ liganda, dodatno poboljšava citotoksičnu aktivnost ($8,86 \pm 0,03 \mu\text{M}$ za HeLa; $11,38 \pm 1,94 \mu\text{M}$ za K562). Najizraženija razlika u aktivnosti primećena je kod ćelijskih linija LS 174T i A549, gde kompleks **8** pokazuje gotovo dvostruko niže IC_{50} vrednosti u poređenju sa kompleksom **7** ($25,29$ naspram $42,41 \mu\text{M}$ za LS 174T i $30,59$ naspram $46,64 \mu\text{M}$ za A549). Mn(II) kompleks **9** pokazuje nešto slabiju aktivnost u poređenju sa Zn analogom, ali značajno višu IC_{50} vrednost za MRC-5 ćelije ($61,21 \pm 2,40 \mu\text{M}$), što ukazuje na poboljšanu selektivnost.

Uporedna analiza sa kontrolnim jedinjenjima, uključujući $\text{Zn(BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i odgovarajuće pseudohalidne soli (NaN_3 , NH_4SCN i NaOCN), pokazala je da ove supstance, kada se ispituju samostalno, ne ispoljavaju značajnu citotoksičnu aktivnost prema većini ispitivanih ćelijskih linija. Ovi rezultati potvrđuju da uočeni biološki efekti potiču od specifične strukture koordinacionih sistema, a ne od prisustva slobodnih metalnih jona ili anjona. Iako se cisplatina koristi kao referentno jedinjenje u *in vitro* citotoksičnim ispitivanjima, poređenje IC_{50} vrednosti ukazuje da pojedini ispitivani kompleksi (**5**, **6**, i **8**) postižu uporediv nivo aktivnosti prema određenim malignim ćelijskim linijama, uz istovremeno povoljniji odnos citotoksičnosti prema normalnim ćelijama. Posebno se izdvaja mangan(II) kompleks **6**, kao najaktivniji i najkonzistentniji u celoj seriji, pokazujući niske IC_{50} vrednosti na svim ispitivanim malignim ćelijskim linijama, čime se identifikuje kao vodeći kandidat za dalja mehanistička i farmakološka ispitivanja.

Indeks selektivnosti (SI) u antitumorskom dejstvu, definisan kao odnos IC_{50} vrednosti dobijene za normalne fibroblaste pluća MRC-5 i IC_{50} vrednosti za odgovarajuće maligne ćelijske linije, korišćen je kao kvantitativni parametar za procenu relativne toksičnosti ispitivanih liganada i njihovih metalnih kompleksa prema malignim u odnosu na normalne ćelije. Vrednosti SI veće od 1 ukazuju na povoljniji terapijski raspon, odnosno izraženiju selektivnost prema malignim ćelijama, dok vrednosti SI bliske ili manje od 1 ukazuju na odsustvo selektivnosti ili potencijalno izraženiju toksičnost prema normalnom tkivu. Jedinjenja koja imaju selektivnost u citotoksičnom dejstvu prema malignim u odnosu na normalne ćelije koja je veća od 2,5 imaju potencijal da se dalje ispituju u *in vivo* istraživanjima.

Analiza rezultata prikazanih u tabeli 20 pokazuje da slobodni tiosemikarbazonski ligand **HL**² poseduje izrazito visok indeks selektivnosti prema HeLa ćelijama ($\text{SI} = 16,9$), što jasno ukazuje na snažno preferencijalno dejstvo prema ovoj ćelijskoj liniji. Nasuprot tome, vrednosti SI za ostale maligne ćelijske linije su znatno niže ($\leq 2,18$), što potvrđuje da je selektivnost ovog liganda usko usmerena i zavisna od tipa malignih ćelija. Ovakav profil sugerise postojanje specifičnih molekularnih meta ili metaboličkih puteva u HeLa ćelijama koji doprinose povećanoj osetljivosti na ovaj ligand. Formiranjem Zn(II) kompleksa **4** dolazi do smanjenja ekstremne selektivnosti uočene kod **HL**² liganda, ali se istovremeno ostvaruje umeren i stabilniji selektivni efekat prema HeLa i K562 ćelijama, sa SI vrednostima od 4,72 i 1,47, respektivno. Ovaj trend ukazuje da koordinacija liganda

za metalni jon dovodi do redistribucije citotoksičnog efekta, verovatno usled promenjene lipofilnosti, stabilnosti i ćelijskog unosa kompleksa, čime se postiže uravnoteženiji odnos između aktivnosti i selektivnosti. Dalje povećanje indeksa selektivnosti uočava se kod Mn(II) kompleksa **5**, posebno prema HeLa (SI = 5,03) i K562 ćelijama (SI = 3,26). Ove vrednosti ukazuju na povoljniji antikancerski potencijal u poređenju sa Zn(II) analogom, što može biti povezano sa redoks-aktivnim karakterom Mn(II) jona i njegovom sposobnošću da selektivno indukuje oksidativni stres u malignim ćelijama. Istovremeno, SI vrednosti bliske ili nešto veće od 1 za ostale maligne ćelijske linije ukazuju da je selektivnost kompleksa **5** izraženija, ali ne univerzalna. Mangan(II) kompleks **6** pokazuje uravnotežen selektivni profil, sa SI vrednostima koje se kreću između 2,86 i 1,58 za većinu ispitivanih malignih ćelijskih linija (sa izuzetkom linije A549 gde je SI 0,94). Iako ove vrednosti ne dostižu ekstremne nivoe uočene kod **HL**² liganda, njihova konzistentnost ukazuje na smanjenu verovatnoću izražene toksičnosti prema normalnim ćelijama. Kompleksi **7**, **8** i **9**, izvedeni iz **HL**⁴ liganda, pokazuju naročito interesantan selektivni profil. Kompleks **7** se izdvaja najvišim SI vrednostima u ovoj seriji za više malignih ćelijskih linija, naročito HeLa (SI = 5,30) i K562 ćelije (SI = 4,52), što ukazuje na izraženu selektivnost uz umerenu citotoksičnost. Kompleks **8** pokazuje niže, ali i dalje povoljne SI vrednosti, što je praćeno znatno jačom citotoksičnom aktivnošću, dok kompleks **9** kombinuje umerenu aktivnost sa povećanim SI vrednostima, naročito prema HeLa i K562 ćelijama. Ovi rezultati jasno ukazuju da priroda metalnog jona, kao i koordinaciona stehiometrija, imaju ključnu ulogu u modulaciji selektivnosti u citotoksičnom dejstvu.

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da indeks selektivnosti predstavlja ključni dopunski parametar u proceni antikancerskog potencijala novih metalnih kompleksa. U ovom istraživanju, nekoliko ispitivanih sistema pokazuje povoljniji odnos citotoksičnosti prema malignim i normalnim ćelijama u poređenju sa cisplatinom, što ih čini relevantnim kandidatima za dalja farmakološka i mehanistička ispitivanja.

Tabela 19. Citotoksični efekat ispitivanih liganada, kompleksa i prekursora (IC₅₀ [μM] prosečna vrednost ± standardna devijacija).

	HeLa	A549	MDA-MB-231	K562	LS 174T	MRC-5
HL¹Cl	149,45 ± 3,32	>200	195,61 ± 6,21	111,36 ± 13,36	≈200	>200
HL²	9,82 ± 1,36	191,97 ± 13,91	197,61 ± 4,13	76,13 ± 3,91	>200	166,12 ± 3,32
HL³	20,47 ± 0,43	97,45 ± 3,61	97,13 ± 2,48	11,70 ± 0,06	89,96 ± 1,17	23,55 ± 2,52
HL⁴	13,95 ± 0,08	51,17 ± 3,66	23,96 ± 0,34	35,08 ± 1,19	47,71 ± 0,65	46,39 ± 1,98
1	133,10 ± 4,80	>200	169,50 ± 8,81	109,59 ± 5,83	189,26 ± 10,08	158,16 ± 13,11
2	136,47 ± 2,53	>200	197,79 ± 3,84	93,62 ± 5,78	196,21 ± 4,38	199,26 ± 1,28
3	173,65 ± 5,84	>200	>200	132,61 ± 17,81	>200	>200
4	8,34 ± 1,15	43,83 ± 5,72	45,61 ± 6,77	26,76 ± 0,24	58,66 ± 4,05	39,35 ± 0,28
5	7,86 ± 0,56	32,74 ± 2,41	45,48 ± 0,15	12,16 ± 1,30	24,25 ± 2,74	39,57 ± 2,70
6	8,08 ± 1,00	24,62 ± 0,66	12,71 ± 1,30	9,55 ± 1,20	14,63 ± 1,71	23,10 ± 2,45
7	9,87 ± 0,11	46,64 ± 2,85	21,01 ± 0,88	11,56 ± 1,32	42,41 ± 0,74	52,27 ± 2,41
8	8,86 ± 0,03	30,59 ± 0,66	18,78 ± 1,85	11,38 ± 1,94	25,29 ± 1,01	26,46 ± 0,15
9	11,74 ± 0,02	45,18 ± 3,27	32,66 ± 4,99	16,50 ± 2,35	31,27 ± 2,10	61,21 ± 2,40
Zn(BF ₄) ₂ ·6H ₂ O	159,20 ± 4,20	>200	174,05 ± 1,74	108,13 ± 12,07	197,20 ± 3,96	152,49 ± 3,49
NaN ₃	159,19 ± 17,04	>200	>200	96,22 ± 10,86	>200	>200
MnCl ₂ ·4H ₂ O	>200	>200	>200	117,60 ± 1,13	>200	>200
NH ₄ SCN	188,81 ± 10,03	>200	>200	174,21 ± 9,19	>200	>200
NaOCN	183,51 ± 13,65	>200	>200	133,88 ± 4,36	>200	>200
Cisplatina	4,94 ± 0,25	15,77 ± 2,24	12,94 ± 2,55	5,72 ± 0,17	19,28 ± 1,92	7,76 ± 1,03

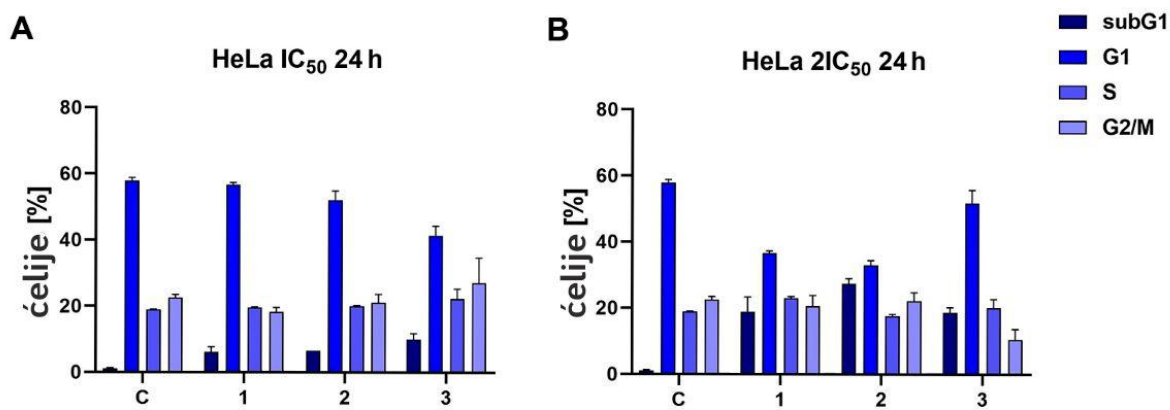
Tabela 20. Indeks selektivnosti u citotoksičnom dejstvu ispitivanih liganda, kompleksa i prekursora.

	IC ₅₀ MRC-5/ IC ₅₀ HeLa	IC ₅₀ MRC-5/ IC ₅₀ K562	IC ₅₀ MRC-5/ IC ₅₀ MDA-MB-231	IC ₅₀ MRC-5/ IC ₅₀ LS 174T	IC ₅₀ MRC-5/ IC ₅₀ A549
HL²	16,9	2,18	0,84	<0,83	0,87
4	4,72	1,47	0,86	0,67	0,90
5	5,03	3,26	0,87	1,63	1,21
6	2,86	2,42	1,82	1,58	0,94
7	5,30	4,52	2,49	1,23	1,12
8	2,99	2,33	1,41	1,05	0,86
9	5,21	3,71	1,87	1,96	1,35
MnCl ₂ ·4H ₂ O	>1	~1,70	>1	>1	>1
NH ₄ SCN	>1,06	>1,15	>1	>1	>1
Zn(BF ₄) ₂ ·6H ₂ O	0,96	1,41	0,88	0,77	<0,76
Cisplatina	1,57	1,36	0,60	0,40	0,49

4.4.4. Uticaj na ćelijski ciklus

Uticaj ispitivanih kompleksa cinka(II) i mangana(II) na ćelijski ciklus analiziran je na HeLa ćelijama metodom protočne citometrije nakon bojenja ćelija propidijum-jodidom. Izbor ćelijske linije HeLa zasniva se na njenoj širokoj primeni kao standardnog modela humanog adenokarcinoma, visokoj proliferativnoj aktivnosti, genetskoj stabilnosti u kulturi i izraženoj osetljivosti na citotoksične agense, što omogućava pouzdanu procenu antiproliferativnih i proapoptotskih efekata novih metal-ligandnih sistema. Mehanizam odabranih jedinjenja je dalje ispitan na HeLa ćelijama, jer su jedinjenja ostvarila najviši intenzitet citotoksičnog dejstva na ovoj humanoj malignoj ćelijskoj liniji.

Na slici 47 zabeležene su značajne promene u raspodeli HeLa ćelija u određenim fazama ćelijskog ciklusa nakon 24 h tretmana Zn(II) hidrazonskim kompleksima **1**, **2** i **3**. Kao što se može videti, svaki od tri kompleksa izazvao je koncentraciono zavisno povećanje procenta HeLa ćelija u subG1 fazi u poređenju sa kontrolnim ćelijama. Povećanje subG1 frakcije ukazuje na porast ćelija sa hipodiploidnim sadržajem DNK, što je u skladu sa indukcijom programirane ćelijske smrti (apoptoze). Kompleks **3**, na IC₅₀ koncentraciji, izazvao je veće povećanje procenta mrtvih HeLa ćelija nego kompleksi **1** i **2** na IC₅₀ koncentracijama (10,05 % naspram 6,75 % i 6,10 %). S druge strane, kompleks **2** pri 2IC₅₀ koncentraciji izazvao je veće povećanje procenta HeLa ćelija u subG1 fazi u poređenju sa kompleksima **1** i **3** (27,61 % naspram 19,40 % i 18,60 %). Istovremeno primećeno je smanjenje procenta ćelija u G1 fazi, uz redistribuciju populacije u S i/ili G2/M fazu, naročito pri višim koncentracijama kompleksa, što ukazuje na poremećaj progresije ćelijskog ciklusa.

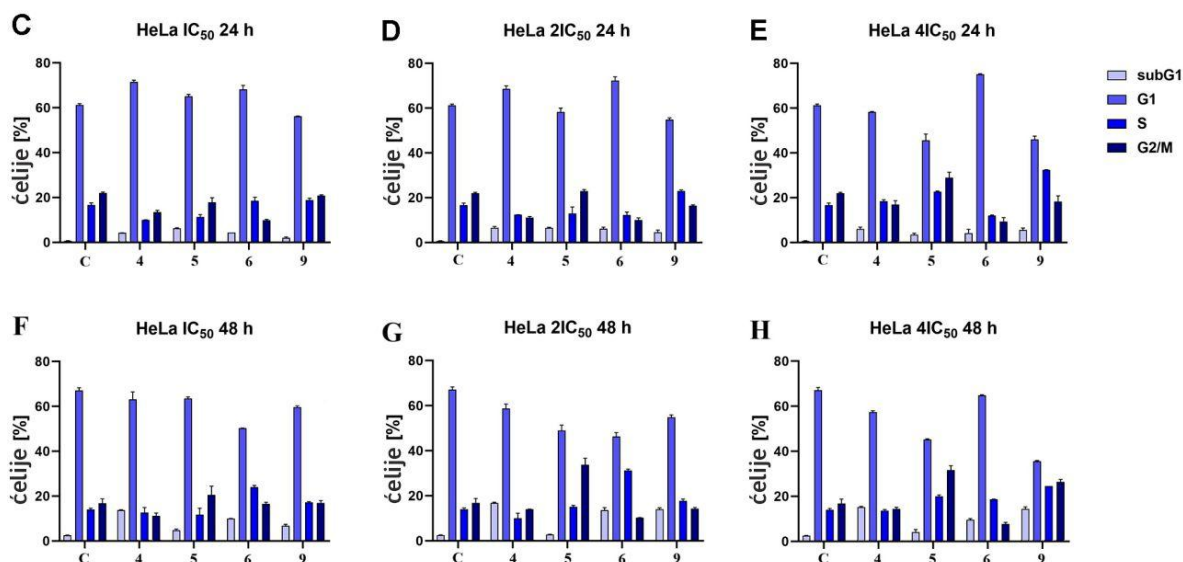


Slika 47. Uticaj Zn(II) kompleksa **1**, **2** i **3** na promene u distribuciji HeLa ćelija u određenim fazama ćelijskog ciklusa primenjenim u koncentracijama IC₅₀ (A) i 2IC₅₀ (B) tokom 24 h. C – kontrolne HeLa ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost ± standardnu devijaciju iz dva nezavisna eksperimenta.

Na slici 48 zabeležene su značajne promene u distribuciji HeLa ćelija u fazama ćelijskog ciklusa nakon 24 h i 48 h tretmana Zn(II) kompleksom **4** i manganovim kompleksima (**5**, **6** i **9**) sa tri različite koncentracije (IC₅₀, 2IC₅₀ i 4IC₅₀) ovih kompleksa, u cilju sagledavanja mehanizama njihove citotoksične aktivnosti.

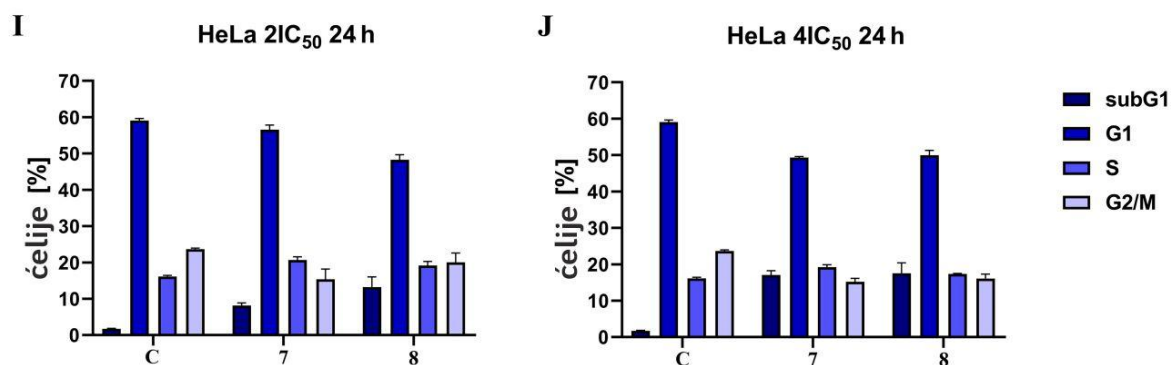
Svaki od ispitivanih kompleksa izazvao je povećanje procenta HeLa ćelija u subG1 fazi ćelijskog ciklusa nakon 24 h inkubacije u poređenju sa kontrolnim uzorkom HeLa ćelija. Neočekivano, ovo povećanje nije bilo koncentraciono zavisno. Kompleks mangana **6** indukovao je koncentraciono zavisno povećanje procenta HeLa ćelija u G1 fazi ćelijskog ciklusa. Kompleks cinka **4** takođe je doveo do povećanja procenta HeLa ćelija u G1 fazi pri IC₅₀ i 2IC₅₀ koncentracijama nakon 24 h inkubacije. U HeLa ćelijama tretiranim kompleksom mangana **9** tokom 24 h uočen je koncentraciono zavisni zastoj u S fazi. Povećanje procenta ćelija u S i G2/M fazama ćelijskog ciklusa detektovano je u HeLa ćelijama tretiranim 4IC₅₀ koncentracijom kompleksa mangana **5**.

Tretman HeLa ćelija svakim od četiri ispitivana kompleksa tokom 48 h doveo je do povećanja procenta mrtvih HeLa ćelija u subG1 fazi ćelijskog ciklusa. Nakon 48 h inkubacije, kompleks mangana **6** izazvao je povećanje procenta HeLa ćelija u S fazi pri sve tri ispitivane koncentracije. Zastoj HeLa ćelija u S fazi takođe je uočen u uzorcima tretiranim 2IC₅₀ i 4IC₅₀ koncentracijama kompleksa mangana **9**, kao i 4IC₅₀ koncentracijom kompleksa mangana **5**. Nadalje, zastoj u G2/M fazi ćelijskog ciklusa primećen je u ćelijama izloženim IC₅₀, 2IC₅₀ i 4IC₅₀ koncentracijama kompleksa mangana **5**, kao i 4IC₅₀ koncentraciji kompleksa mangana **9**.



Slika 48. Uticaj cinkovog kompleksa **4**, kao i manganovih kompleksa **5**, **6** i **9** na promene u distribuciji HeLa ćelija u određenim fazama ćelijskog ciklusa primenjenim u koncentracijama IC_{50} (C, F), $2IC_{50}$ (D, G) i $4IC_{50}$ (E, H) tokom 24 h (C–E) i 48 h (F–H). C – kontrolne HeLa ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost $\pm$ standardnu devijaciju dva nezavisna eksperimenta.

Na slici 49 analizirani su efekti strukturno drugačijih Zn(II) hidrazonskih kompleksa **7** i **8** na ćelijski ciklus HeLa ćelija. Testirani kompleksi izazvali su značajno, koncentraciono zavisno povećanje procenta mrtvih ćelija u subG1 fazi ćelijskog ciklusa u poređenju sa kontrolnim uzorkom ćelija. Kompleks **7** i kompleks **8** primenjeni pri $4IC_{50}$ koncentracijama izazvali su slično povećanje procenta ćelija u subG1 fazi (17,53 % naspram 17,04 %). Ovaj efekat je bio praćen smanjenjem procenta HeLa ćelija u G1 i G2/M fazama ćelijskog ciklusa. Ovo smanjenje je bilo značajno za uzorke ćelija inkubirane $4IC_{50}$ koncentracijama oba kompleksa. Pored toga, u HeLa ćelijama inkubiranim sa kompleksom **7** na $2IC_{50}$ i $4IC_{50}$ zabeleženo je blago povećanje procenta ćelija u S fazi ćelijskog ciklusa.



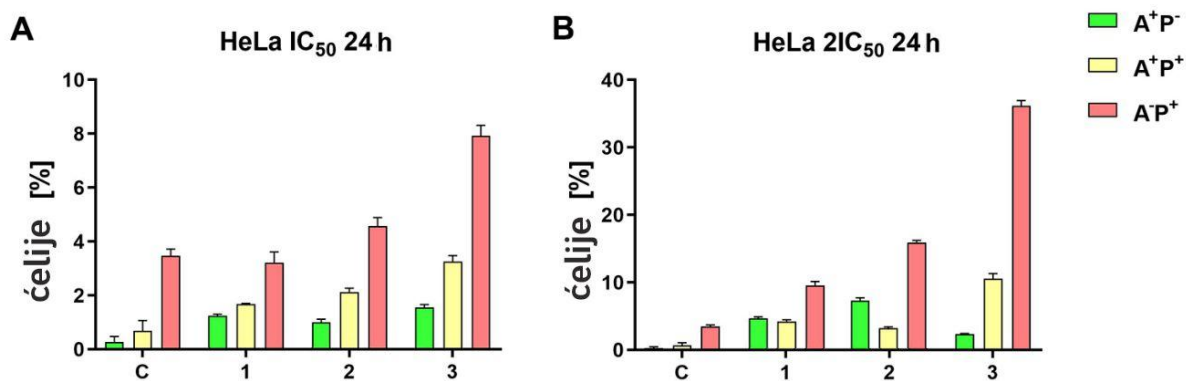
Slika 49. Uticaj Zn(II) kompleksa **7** i **8** na promene u distribuciji HeLa ćelija u određenim fazama ćelijskog ciklusa primenjenim pri koncentracijama 2IC₅₀ (I) i 4IC₅₀ (J) tokom 24 h. C – kontrolne HeLa ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost ± standardnu devijaciju dva nezavisna eksperimenta.

4.4.5. Uticaj na ćelijsku smrt

Mehanizam ćelijske smrti izazvan ispitivanim kompleksima analiziran je protočnom citometrijom primenom FITC Annexin V antitela i propidijum-jodida. Metoda omogućava razlikovanje živih ćelija, ćelija u ranoj fazi apoptoze, ćelija u kasnoj fazi apoptoze i/ili sekundarnoj nekrozi, i mrtvih ćelija. Ova metoda pruža detaljan uvid u prirodu citotoksičnog efekta i omogućava razlikovanje kontrolisane apoptotske smrti od nespecifične nekroze.

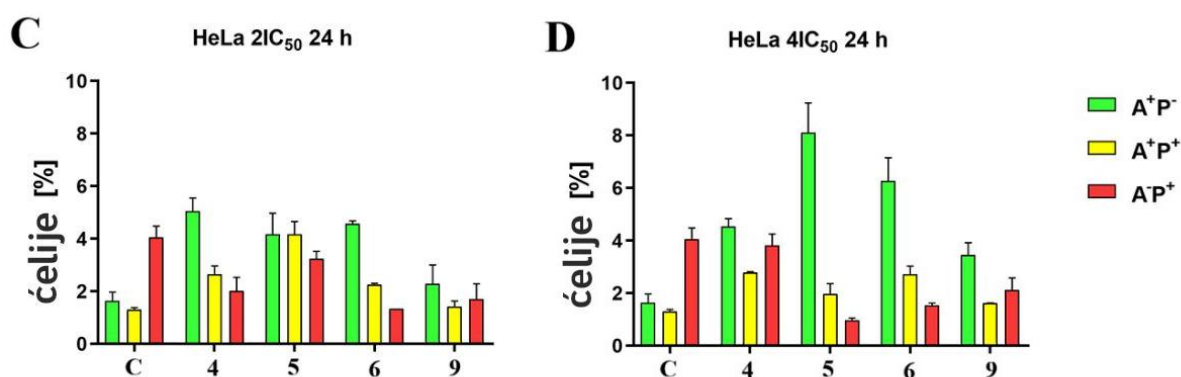
- **A⁺P⁻** (FITC Annexin V pozitivan, propidijum jodid negativan) – ćelije u ranoj apoptozi
- **A⁺P⁺** (FITC Annexin V pozitivan, propidijum jodid pozitivan) – ćelije u kasnoj apoptozi
- **A⁻P⁺** (FITC Annexin V negativan, propidijum jodid pozitivan) – mrtve ćelije ili ćelije u nekrozi

Mogući mehanizam ćelijske smrti, koji se aktivira pod uticajem kompleksa **1**, **2** i **3** dalje je ispitan u HeLa ćelijama. Svako od primenjenih jedinjenja u IC₅₀ koncentraciji izazvao je blago povećanje procenta ćelija u ranoj apoptozi i kasnoj apoptozi/sekundarnoj nekrozi u poređenju sa kontrolnim uzorkom ćelija (slika 50). Pored toga, kompleks **3** je povećao procenat mrtvih HeLa ćelija koje su obeležene samo PI bojom. Tretman HeLa ćelija tokom 24 časa sa dvostrukom IC₅₀ koncentracijom tri Zn(II) kompleksa izazvao je povećanje procenta ćelija u ranoj apoptozi (4,69 %, 7,45 %, i 2,39 % za komplekse **1**, **2** i **3**, naspram 0,28 % u kontrolnim ćelijama), kasnoj apoptozi/sekundarnoj nekrozi (4,24 %, 3,36 %, i 10,55 % za komplekse **1**, **2** i **3**, naspram 0,69 % u kontrolnim ćelijama), i povećanje procenta mrtvih ćelija obeleženih samo PI bojom u poređenju sa kontrolnim ćelijama (9,57 %, 16,05 % i 36,18 % za komplekse **1**, **2** i **3**, naspram 3,48 % u kontrolnim ćelijama). Ovi rezultati ukazuju na sposobnost svakog od tri ispitivana Zn(II) kompleksa da pokrene apoptozu u HeLa ćelijama. Međutim, oni takođe mogu aktivirati ćelijsku smrt i putem drugih mehanizama pored apoptoze.



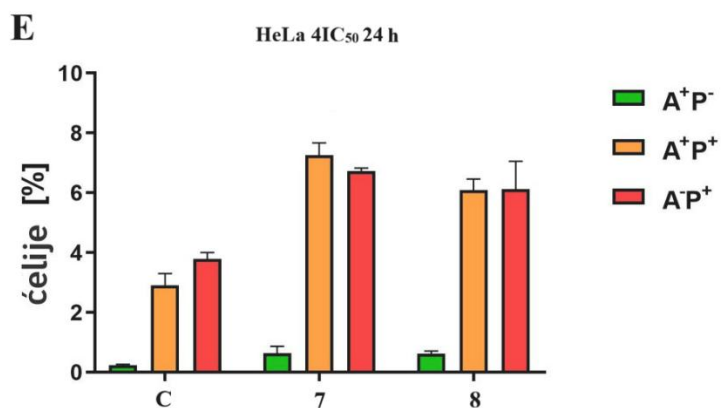
Slika 50. Ispitivanje protočnom citometrijom kontrolnih (C) i HeLa ćelija tretiranih Zn(II) kompleksima **1**, **2** i **3** primenjenim u koncentracijama IC₅₀ (A) i 2IC₅₀ (B) tokom 24 h. C – kontrolne HeLa ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost ± standardnu devijaciju iz dva nezavisna eksperimenta.

Da bi se ispitalo da li cinkov kompleks **4** i tri manganova kompleksa (**5**, **6** i **9**) mogu da indukuju apoptozu u HeLa ćelijama, njihovi efekti su analizirani nakon 24 časa inkubacije pri koncentracijama 2IC₅₀ i 4IC₅₀ ispitivanih kompleksa. Kao što se može videti na slici 51, svi testirani kompleksi, pri obe ispitivane koncentracije, doveli su do povećanja procenta HeLa ćelija u ranoj fazi apoptoze i u kasnoj fazi apoptoze u poređenju sa procentom u netretiranim kontrolnim HeLa ćelijama, sa izuzetkom kompleksa mangana **9** (ćelije u kasnoj fazi apoptoze). Efekti manganovih kompleksa bili su zavisni od koncentracije. Manganovi kompleksi **5** i **6** ispoljili su najjači proapoptotski efekat kada su primenjeni u koncentracijama 4IC₅₀.



Slika 51. Ispitivanje protočnom citometrijom kontrolnih (C) i HeLa ćelija tretiranih Zn(II) kompleksom **4** i manganovim kompleksima **5**, **6** i **9** primenjenim u koncentracijama 2IC₅₀ (C) i 4IC₅₀ (D) tokom 24 h, na smrt HeLa ćelija. C – kontrolne HeLa ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost ± standardnu devijaciju iz dva nezavisna eksperimenta.

Primetan značajan porast procenta ćelija u ranoj apoptozi i kasnoj apoptozi/sekundarnoj nekrozi u uzorcima HeLa ćelija izloženih četverostrukoj IC₅₀ koncentraciji Zn(II) kompleksa **7** i **8** tokom 24 sata uočen je u poređenju sa kontrolnim uzorkom ćelija (slika 52) (7,25 % i 6,09 % naspram 2,90 %, respektivno). Takođe detektovan je značajno veći procenat mrtvih ćelija koje su obeležene samo PI bojom u HeLa ćelijama inkubiranim sa oba kompleksa. Oba testirana Zn(II) kompleksa **7** i **8** pokazala su sposobnost da aktiviraju apoptozu u HeLa ćelijama nakon 24-satnog tretmana, što je potvrđeno povećanjem procenta ćelija u subG1 fazi i procenta ćelija obeleženih Annexin V FITC bojom ili dvostruko obeleženih Annexin V FITC i PI. Snažni proapoptotski efekti ispitivanih kompleksa ukazuju na njihov značajan potencijal da se dalje ispituju njihova antikancerska svojstva.



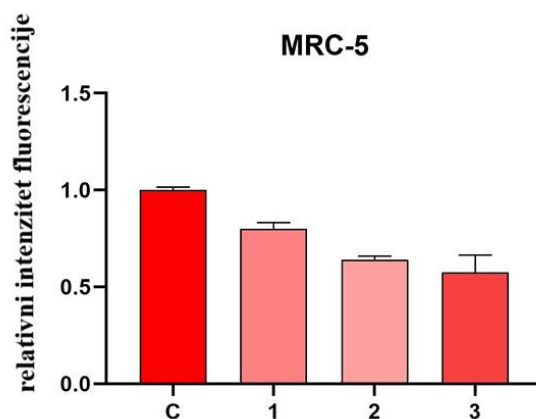
Slika 52. Ispitivanje protočnom citometrijom kontrolnih HeLa ćelija (C) i HeLa ćelija tretiranih Zn(II) kompleksima **7** i **8** u koncentracijama 4IC₅₀ tokom 24 h. C – kontrolne HeLa ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost ± standardnu devijaciju iz dva nezavisna eksperimenta.

Ispitivanje efekta kompleksa na ćelijsku smrt HeLa ćelija nakon 24 h inkubacije pokazuje da svi ispitivani kompleksi aktiviraju apoptozu tretiranih HeLa ćelija adenokarcinoma cerviksa. Kompleksi **1–3** dovode do povećanja procenta apoptotskih i/ili PI-pozitivnih mrtvih ćelija, pri čemu se kod pojedinih uočava izraženiji pomak ka kasnijim fazama ćelijske smrti. Kompleksi **4, 5 i 6** pokazuju dominantno povećanje rane apoptotske populacije, što ukazuje na aktivaciju programiranog mehanizma ćelijske smrti. Nasuprot tome, komplekse **7 i 8** karakteriše veći procenat ćelija u kasnoj apoptozi i PI-pozitivnih mrtvih ćelija, uz relativno manju zastupljenost ćelija u ranoj fazi apoptoze. Kompleks **9** je pokazao najslabije proapoptotsko dejstvo. Rezultati ispitivanja pokazuju da svi ispitivani kompleksi indukuju apoptozu HeLa ćelija.

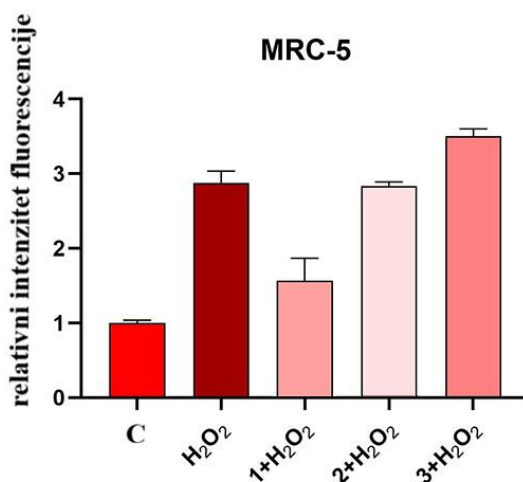
4.4.6. Efekti cinkovog i manganovih kompleksa na intraćelijski nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) u MRC-5 ćelijama

Svaki od tri ispitana Zn(II) kompleksa smanjio je nivoe ROS u MRC-5 ćelijama inkubiranim 24 h sa subtoksičnim IC₂₀ koncentracijama kompleksa **1, 2 i 3** u poređenju sa nivoima ROS u kontrolnim, netretiranim MRC-5 ćelijama (slika 53). Kompleks **2** i kompleks **3** smanjili su nivoe ROS za 35,49 % i 42,49 % u poređenju sa kontrolnim MRC-5 ćelijama, dok je kompleks **1** bio manje efikasan, uz smanjenje od 18,95 %.

Pošto su sva tri Zn(II) kompleksa pokazala antioksidativne efekte, ispitan je njihov citoprotektivni potencijal protiv stvaranja ROS izazvanog kratkotrajnom inkubacijom sa vodonik-peroksidom. Za razliku od prethodnih rezultata, kompleks **2** nije pokazao sposobnost da smanji nivo oksidativnog stresa u MRC-5 ćelijama izazvanog vodonik-peroksidom, dok je nivo oksidativnog stresa bio viši u ćelijama inkubiranim sa kompleksom **3** pre izlaganja vodonik-peroksidu. Dok je kompleks **1** smanjio nivoe ROS u MRC-5 ćelijama izloženim vodonik-peroksidu u poređenju sa kontrolnim ćelijama tretiranim vodonik-peroksidom (slika 54).



Slika 53. Efekti cinkovih kompleksa **1–3** primenjenih u IC_{20} koncentracijama tokom 24 h na intraćelijski nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) u normalnim fibroblastima pluća MRC-5. C – kontrolne MRC-5 ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost $\pm$ SD iz dva nezavisna eksperimenta.

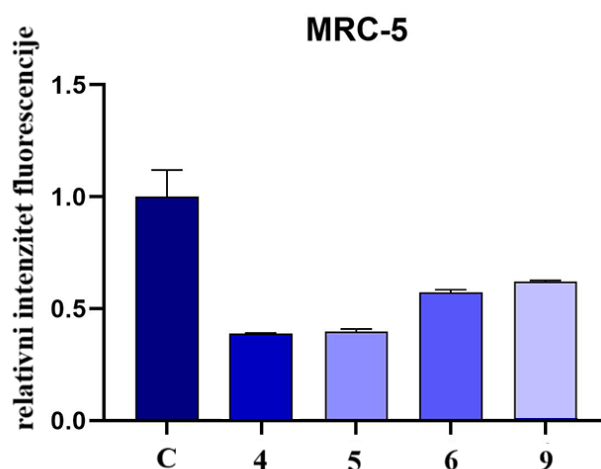


Slika 54. Efekti 24-časovnog pretretmana normalnih fibroblasta pluća MRC-5 cinkovim kompleksima **1–3** primenjenim u IC_{20} koncentracijama, na intraćelijski nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) indukovanih vodonik-peroksidom (H₂O₂). C – kontrolne MRC-5 ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost $\pm$ SD iz dva nezavisna eksperimenta.

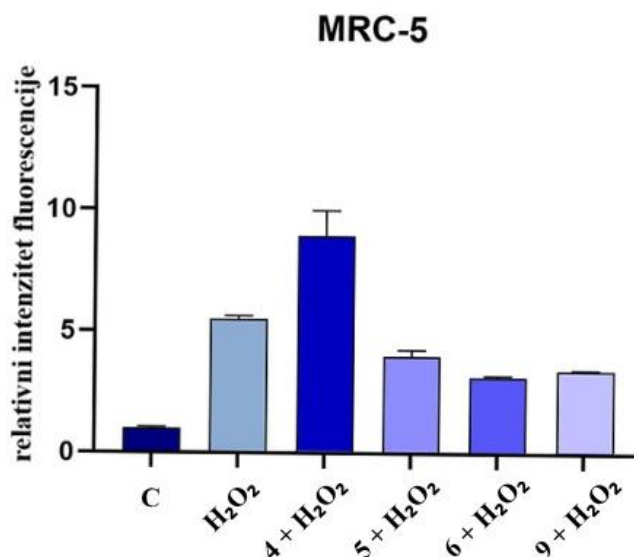
Izbor kompleksa **4, 5, 6 i 9** za dalja ispitivanja na MRC-5 ćelijama i u uslovima oksidativnog stresa zasnovan je na rezultatima ispitivanja mehanizama citotoksične aktivnosti kompleksa. Da bi se dodatno razjasnio njihov antikancerski potencijal, ispitan je njihov antioksidativni i citoprotektivni efekat u neizmenjenim fibroblastima pluća MRC-5. Kompleksi **7 i 8** nisu bili uključeni u ovu analizu, budući da nisu pripadali odabranom skupu jedinjenja za detaljniju procenu oksidativnog odgovora u MRC-5 ćelijama.

Antioksidativni efekti cinkovog kompleksa **4** i tri manganova kompleksa **5, 6 i 9** prikazani su na slici 55. Svaki ispitivani kompleks pokazao je sposobnost smanjenja nivoa intraćelijskih reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) u normalnim MRC-5 ćelijama nakon 24-časovne inkubacije sa IC_{50} koncentracijama, u poređenju sa nivoom ROS u kontrolnim ćelijama. Manganovi kompleksi **6 i 9** pokazali su sličan efekat na intraćelijski nivo ROS. Sličan efekat uočen je i kod manganovog kompleksa **5** i cinkovog kompleksa **4**, koji su ispoljili jače antioksidativno dejstvo u poređenju sa kompleksima **6 i 9**.

Kada su MRC-5 ćelije prethodno inkubirane 24 h sa ispitivanim kompleksima pre kratkotrajnog izlaganja vodonik-peroksidu, sva tri manganova kompleksa potvrdila su sposobnost smanjenja nivoa ROS u MRC-5 ćelijama, štiteći ćelije od oksidativnog stresa (slika 56). S druge strane, pretretman cinkovim kompleksom **4** u MRC-5 ćelijama izloženim vodonik-peroksidu doveo je do povećanja nivoa unutarćelijskog oksidativnog stresa.



Slika 55. Efekti cinkovog kompleksa **4** i manganovih kompleksa **5**, **6** i **9** primenjenih u IC_{50} koncentracijama tokom 24 h na unutarćelijski nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) u normalnim fibroblastima pluća MRC-5. C – kontrolne MRC-5 ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost $\pm$ SD iz dva nezavisna eksperimenta.



Slika 56. Efekti 24-časovnog pretretmana normalnih fibroblasta pluća MRC-5 cinkovim kompleksom **4** i manganovim kompleksima **5**, **6** i **9** primenjenim u IC_{50} koncentracijama, na unutarćelijski nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) indukovanih vodonik-peroksidom (H₂O₂). C – kontrolne MRC-5 ćelije. Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost $\pm$ SD iz dva nezavisna eksperimenta.

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove doktorske disertacije uspešno je sintetisana i detaljno okarakterisana nova serija hidrazonskih liganada dobijenih kondenzacijom 2-acetil-6-bromopiridina, 2-acetiltiazola i 2-acetilpirazina sa Žirarovim T reagensom i tiosemikarbazidom, kao i odgovarajući kompleksi cinka(II) i mangana(II). Istraživanje je koncipirano sa ciljem da se ispita kako priroda heteroaromatičnog fragmenta, donorski skup atoma i izbor metalnog centra utiču na strukturu, stabilnost, elektronske osobine i biološku aktivnost sintetisanih koordinacionih jedinjenja. Kombinovanjem eksperimentalnih i teorijskih metoda uspostavljen je sveobuhvatan pristup koji je omogućio sagledavanje odnosa između strukture i funkcije ovih sistema.

Sintetisani ligandi (HL^1Cl – HL^4) pokazali su očekivano polidentatno ponašanje pri koordinaciji, omogućavajući formiranje stabilnih helatnih kompleksa sa Zn(II) i Mn(II) jonima u prisustvu različitih monodentatnih anjona (NCO^- , NCS^- , N_3^-), kao i bez njihovog prisustva, čime je dobijena reprezentativna serija kompleksnih jedinjenja (**1**–**9**). Strukturna raznovrsnost postignuta je sistematskim variranjem liganada, vrste metalnog jona (Zn(II)/Mn(II)) i anjona, što je omogućilo poređenje uticaja donorskog seta (NNO/NNS) i koordinacione geometrije na fizičko-hemijska i biološka svojstva.

Kristalografska analiza nedvosmisleno je potvrdila formiranje mononuklearnih jedinjenja u kojima se ligandi koordinuju tridentatno putem NNO ili NNS donorskog seta. Formiranjem dva petočlana helatna prstena obezbeđena je stabilna koordinaciona sfera oko metalnog centra. Kod Zn(II) kompleksa **1** i **3** potvrđena je pentakoordinovana, distorgovana trigonalno-bipiramidalna geometrija uz učešće pseudohalogenidnih liganada, dok je kod kompleksa **2** i **4** utvrđena distorgovana oktaedarska geometrija pri čemu koordinacionu sferu čine dva vezana liganda L^1 i $(\text{L}^2)^-$. Manganovi kompleksi **5**, **6** i **9**, kao i Zn(II) kompleks **8** takođe pokazuju oktaedarsku geometriju sa dva vezana liganda $(\text{L}^2)^-$, $(\text{L}^3)^-$ i $(\text{L}^4)^-$, redom). Kompleks **7** odgovara geometriji distorgovane kvadratne piramide gde se u koordinacionom okruženju Zn(II) jona nalaze jedan ligand $(\text{L}^4)^-$, tiocijanatni anjon SCN^- i molekul vode. Ove strukturne razlike jasno pokazuju da izbor metalnog jona i prisustvo dodatnih liganada određuju koordinacioni broj, geometriju i trodimenzionalni raspored liganada oko metalnog centra.

Spektroskopski podaci bili su u potpunosti saglasni sa rezultatima kristalografske analize. Pomeranja karakterističnih IR traka, zajedno sa promenama u NMR spektrima, potvrdila su koordinaciju azometinskog azota i karbonilnog kiseonika ili sumpora, kao i deprotonaciju hidrazonskog fragmenta pri formiranju kompleksa. UV–Vis spektroskopija ukazala je na stabilnost ispitivanih kompleksa u rastvoru dimetil-sulfoksida tokom najmanje 24 časa, bez pojave novih apsorpcionih traka ili značajnih pomeranja apsorpcionih maksimuma, čime je ukazano na očuvanje koordinacione strukture u uslovima bioloških eksperimenata.

Eksperimentalni rezultati dodatno su potvrđeni kvantno-hemijskim proračunima, koji su omogućili sveobuhvatno razumevanje strukture, elektronskih osobina i biološke aktivnosti sintetisanih kompleksa. DFT analiza pokazala je da su kompleksi termodinamički stabilni u rastvoru i objasnila razlike u koordinacionim procesima tokom njihove sinteze, pri čemu su teorijski izračunate reakcione energije uspešno objasnile formiranje heteroleptičkih i homoleptičkih sistema. TDDFT proračuni omogućili su pouzdanu interpretaciju elektronskih apsorpcionih spektara, uz veoma dobro slaganje između teorijski izračunatih i eksperimentalno određenih energija elektronskih prelaza, dok je analiza prirodnih tranzicionih i graničnih molekulskih orbitala pokazala da najniža pobuđena stanja imaju dominantno ligandski $\pi \rightarrow \pi^*$ karakter, bez značajnog doprinosa prenosa naelektrisanja između metalnog centra i liganda. Konceptualna DFT analiza pružila je uvid u elektronsku strukturu i hemijsku reaktivnost kompleksa, dok je molekulski doking ukazao na moguće biološke mete odgovorne za njihovu antimikrobnu aktivnost.

Biološka evaluacija sintetisanih jedinjenja pokazala je da koordinacija hidrazonskih liganada za Zn(II) i Mn(II) jone značajno utiče na njihova biološka svojstva. Antimikrobna ispitivanja sprovedena na reprezentativnom panelu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, kao i odabranih sojeva gljivica i kvasca, pokazala su da većina sintetisanih kompleksa ispoljava izraženiju aktivnost od odgovarajućih slobodnih liganada i metalnih prekursora. Posebno izražena aktivnost uočena je prema Gram-pozitivnim bakterijama, dok su Gram-negativni mikroorganizmi pokazali veću otpornost, što je u skladu sa razlikama u građi njihovog ćelijskog zida. Antifungalna aktivnost potvrđena je kod više kompleksa, pri čemu su pojedini Zn(II) kompleksi **1–3** i Mn(II) kompleks **5** ostvarili značajno bolje efekte od odgovarajućih liganada. Ovi rezultati potvrđuju da koordinacija za metalni centar predstavlja efikasan način modulacije antimikrobne aktivnosti hidrazonskih liganada i dodatno potvrđuju značaj sinergijskog delovanja liganda i metalnog jona. Mogući mehanizam antifungalnog dejstva najaktivnijih Zn(II) kompleksa **1–3** dodatno je ispitan metodom molekulskog dokinga. Analiza interakcija sa više bioloških meta pokazala je da ovi ispitivani kompleksi ostvaruju najpovoljnije vezivanje za geranilgeranil pirofosfat sintazu (GGPPS), enzim uključen u biosintezu sterola. S obzirom na ulogu ovog enzima u sintezi sterola kod gljiva, ostvarene stabilne interakcije unutar njegovog aktivnog mesta ukazuju da bi inhibicija GGPPS mogla predstavljati jedan od mogućih mehanizama antifungalnog dejstva ispitivanih kompleksa.

Citotoksična aktivnost sintetisanih jedinjenja ispitana je na pet humanih malignih ćelijskih linija (HeLa, K562, MDA-MB-231, LS 174T i A549), uz paralelno određivanje efekata na normalnim fibroblastima pluća MRC-5, čime je omogućena procena njihove selektivnosti. Jedinjenja sa najvišim intenzitetom citotoksičnog dejstva (najniže IC₅₀) su pre svega kompleks **6**, koji dominira na većini ćelijskih linija (K562, MDA-MB-231 i LS 174T), dok se za HeLa ćelije kao najaktivniji izdvaja kompleks **5**, praćen kompleksima **6** i **4**. Kompleksi **5**, **7** i **8** takođe pokazuju konzistentno dobru aktivnost na više malignih linija. Jedinjenja sa indeksom selektivnosti (SI) većim od 2,5 mogu se smatrati posebno interesantnim kandidatima za dalja ispitivanja u *in vivo* istraživanjima zbog njihove sposobnosti da selektivno deluju na maligne u odnosu na neizmenjene, zdrave ćelije. Najveći indeks selektivnosti prema HeLa ćelijama zabeležen je za kompleks **7** (5,30), zatim kompleks **9** (5,21), kompleks **5** (5,03), kompleks **4** (4,72) i kompleks **8** (2,99). Kada je reč o K562 ćelijama, selektivnost veću od 2,5 pokazuju kompleks **7** (4,52), kompleks **9** (3,71) i kompleks **5** (3,26), pri čemu kompleks **7** ima najpovoljniji ukupni profil selektivnosti, jer istovremeno pokazuje izraženo selektivno dejstvo i prema HeLa i prema K562 ćelijama, dok ostali kompleksi ispunjavaju kriterijum selektivnosti samo u pojedinačnim linijama. Zanimljivo, slobodan ligand **HL**² pokazao je najviši stepen selektivnosti, naročito prema HeLa ćelijskoj liniji, gde je vrednost indeksa selektivnosti značajno viša u odnosu na odgovarajuće komplekse. Ovaj rezultat može ukazivati na različit mehanizam delovanja liganda u odnosu na njegove metalne komplekse, pri čemu koordinacija metalnog centra dovodi do povećanja citotoksičnosti, ali delimičnog gubitka selektivnosti.

Mehanizam antiproliferativnog dejstva dodatno je razjašnjen analizom ćelijskog ciklusa, određivanjem tipa ćelijske smrti i ispitivanjem promena nivoa reaktivnih kiseoničnih vrsta. Analiza ćelijskog ciklusa pokazala je da većina ispitivanih kompleksa indukuje povećanje procenta mrtvih ćelija u subG1 fazi. Zn(II) kompleksi **1–3** primarno deluju kroz indukciju ćelijske smrti, pri čemu kompleks **3** pokazuje izražen efekat već pri IC₅₀ koncentraciji, dok kompleks **2** dovodi do najznačajnijeg povećanja subG1 populacije pri višim koncentracijama. Nasuprot tome, Zn(II) kompleks **4** je doveo do povećanja procenta HeLa ćelija u G1 fazi, kao i povećanja procenta ćelija u subG1 frakciji. Za razliku od Zn(II) sistema, Mn(II) kompleksi pretežno izazivaju poremećaje u progresiji ćelijskog ciklusa. Kompleks **5** pokazuje izražen efekat u G2/M fazi pri višim koncentracijama nakon 48 h (2IC₅₀ i 4IC₅₀), dok kompleks **6** dovodi do akumulacije ćelija u G1 fazi tokom 24 h. Kompleks **9** indukuje koncentraciono zavisani zastoj u S fazi nakon 24 h tretmana, dok kompleksi **7** i **8** takođe povećavaju subG1 populaciju pri višim koncentracijama izraženije, uz istovremene promene u S i G2/M fazama. Najizraženije proapoptotsko dejstvo ispoljili su Mn(II) kompleksi **5** i **6** pri 4IC₅₀ koncentraciji, koji su doveli do najvećeg povećanja procenta ćelija u ranoj

i kasnoj apoptozi. Među Zn(II) kompleksima, kompleks **2** pokazao je izraženiji efekat u indukciji rane apoptoze u poređenju sa kompleksom **1**, dok je kompleks **3** bio efikasniji u indukciji kasne apoptoze i povećanju mrtvih ćelija pri 2IC₅₀ koncentraciji. Kompleksi **7** i **8** pokazali su srednje izražen proapoptotski efekat, kao i kompleks **4** dok je kompleks **9** ispoljio najslabije proapoptotsko dejstvo. Posmatrano u celini, dobijeni rezultati ukazuju da antiproliferativno dejstvo sintetisanih jedinjenja predstavlja posledicu kombinovanog poremećaja ćelijskog ciklusa i aktivacije apoptotskih puteva.

Ispitivanje uticaja sintetisanih jedinjenja na nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta u normalnim MRC-5 ćelijama dodatno je doprinelo razumevanju njihovog biološkog delovanja. U uslovima oksidativnog stresa izazvanog vodonik-peroksidom (H₂O₂), uočene su razlike između Zn(II) i Mn(II) kompleksa, što ukazuje da priroda metalnog centra značajno utiče na odgovor ćelije na oksidativni stres. Ovi rezultati, zajedno sa podacima o citotoksičnosti i selektivnosti, pružaju sveobuhvatniji uvid u biološki profil sintetisanih kompleksa i predstavljaju osnovu za dalja istraživanja njihovog mehanizma delovanja.

Rezultati ove doktorske disertacije pokazuju da se sistematskom modifikacijom strukture hidrazonskih liganada, izborom heteroaromatičnih prekursora (piridin, tiazol i pirazin), odgovarajućeg metalnog centra (Zn(II) ili Mn(II)) i kontrolom koordinacionih uslova mogu uspešno dizajnirati koordinaciona jedinjenja različitih strukturnih, elektronskih i bioloških svojstava. Integracijom kristalografske analize, spektroskopskih karakterizacija, teorijskog modelovanja i opsežnih bioloških ispitivanja uspostavljena je veza između strukture i aktivnosti sintetisanih jedinjenja. Dobijeni rezultati potvrđuju da koordinaciona hemija hidrazonskih liganada predstavlja racionalnu strategiju za dizajn i razvoj novih bioaktivnih Zn(II) i Mn(II) kompleksa sa potencijalnom primenom u antimikrobnoj i antiproliferativnoj terapiji.

Sveukupno, ova disertacija predstavlja originalan doprinos oblasti koordinacione hemije hidrazonskih liganada heteroaromatičnih ketona kroz: (i) sintezu i detaljnu strukturnu i spektroskopsku karakterizaciju novih liganada i njihovih Zn(II)/Mn(II) kompleksa; (ii) pouzdanu verifikaciju načina koordinacije i strukturnih motiva; (iii) primenu kvantno-hemijskih proračuna za procenu stabilnosti kompleksa u rastvoru, kao i za tumačenje elektronskih svojstava i reaktivnosti odabranih predstavnika pomoću TDDFT proračuna i konceptualnih DFT deskriptora; i (iv) sistematsku *in vitro* biološku evaluaciju na odabranim mikroorganizmima i ćelijskim linijama. Dobijeni rezultati uspostavljaju jasnu korelaciju između strukturnih, elektronskih, teorijskih i bioloških parametara, čime se formira čvrsta naučna osnova za dalju optimizaciju i racionalni razvoj novih bioaktivnih koordinacionih sistema.

6. REFERENCE

- [1] W. Al Zoubi, V. Y. Jirjees, V. T. Suleman, A. A. S. Al-Hamdani, S. D. Ahmed, Y. G. Kim, Y. G. Ko, 'Synthesis and bioactivity studies of novel Schiff bases and their complexes', *J. Phys. Org. Chem.*, vol. 32, no. 11, Nov. 2019, doi: <https://doi.org/10.1002/poc.4004>.
- [2] D. A. Tafere, M. Gebrezgiabher, F. Elemo, T. Sani, T. B. Atisme, T. G. Ashebr, I. N. Ahmed, 'Hydrazones, hydrazones-based coinage metal complexes, and their biological applications', *RSC Adv.*, vol. 15, no. 8, pp. 6191–6207, 2025, doi: <https://doi.org/10.1039/d4ra07794f>.
- [3] G. Muteeb, M. T. Rehman, M. Shahwan, M. Aatif, 'Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review', *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 11, p. 1615, Nov. 2023, doi: <https://doi.org/10.3390/ph16111615>.
- [4] F. Bray, M. Laversanne, H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, I. Soerjomataram, A. Jemal, 'Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries', *CA Cancer J. Clin.*, vol. 74, no. 3, pp. 229–263, Apr. 2024, doi: <https://doi.org/10.3322/caac.21834>.
- [5] A. S. Prasad, 'Zinc: Mechanisms of Host Defense', *J. Nutr.*, vol. 137, no. 5, pp. 1345–1349, May 2007, doi: <https://doi.org/10.1093/jn/137.5.1345>.
- [6] B. Chen, P. Yu, W. N. Chan, F. Xie, Y. Zhang, L. Liang, K. T. Leung, K. W. Lo, J. Yu, G. M. K. Tse, W. Kang, K. F. To, 'Cellular zinc metabolism and zinc signaling: from biological functions to diseases and therapeutic targets', *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 9, no. 1, p. 6, Jan. 2024, doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01679-y>.
- [7] S. Vasto, E. Mocchegiani, M. Malavolta, I. Cuppari, F. Listì, D. Nuzzo, V. Ditta, G. Candore, Calogero Caruso, 'Zinc and Inflammatory/Immune Response in Aging', *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1100, no. 1, pp. 111–122, Apr. 2007, doi: <https://doi.org/10.1196/annals.1395.009>.
- [8] L. C. Costello, C. C. Fenselau, R. B. Franklin, 'Evidence for operation of the direct zinc ligand exchange mechanism for trafficking, transport, and reactivity of zinc in mammalian cells', *J. Inorg. Biochem.*, vol. 105, no. 5, pp. 589–599, May 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.02.002>.
- [9] N. Ribeiro, I. Correia, 'A review of hydrazide-hydrazone metal complexes' antitumor potential', *Frontiers in Chemical Biology*, vol. 3, Apr. 2024, doi: <https://doi.org/10.3389/fchbi.2024.1398873>.
- [10] J. R. Anaconda, J. Diaz, 'Synthesis, characterization and superoxide dismutase activity of the manganese(ii) mixed ligand complexes containing sulfathiazole', *Journal of the Chilean Chemical Society*, vol. 53, no. 4, Dec. 2008, doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072008000400014>.
- [11] N. Stevanović, M. Zlatar, I. Novaković, A. Pevec, D. Radanović, I. Z. Matić, M. Đ. 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*, vol. 51, no. 1, pp. 185–196, 2022, doi: <https://doi.org/10.1039/d1dt03169d>.
- [12] R. Narang, B. Narasimhan, S. Sharma, 'A Review on Biological Activities and Chemical Synthesis of Hydrazide Derivatives', *Curr. Med. Chem.*, vol. 19, no. 4, pp. 569–612, Feb. 2012, doi: <https://doi.org/10.2174/092986712798918789>.

- [13] X. Su, I. Aprahamian, 'Hydrazone-based switches, metallo-assemblies and sensors', *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43, no.6, p. 1963, 2014, doi: <https://doi.org/10.1039/c3cs60385g>.
- [14] I. Czyżewska, L. Mazur, Ł. Popiołek, 'Transition metal complexes of hydrazones as potential antimicrobial and anticancer agents: A short review', *Chem. Biol. Drug Des.*, vol. 104, no. 1, Jul. 2024, doi: <https://doi.org/10.1111/cbdd.14590>.
- [15] S. N. Mali, B. R. Thorat, D. R. Gupta, A. Pandey, 'Mini-Review of the Importance of Hydrazides and Their Derivatives—Synthesis and Biological Activity', in *The 2nd International Electronic Conference on Applied Sciences*, Basel Switzerland: MDPI, Oct. 2021, p. 21. doi: <https://doi.org/10.3390/ASEC2021-11157>.
- [16] F. Tok, B. N. Sağlık, Y. Özkay, Z. A. Kaplancıklı, B. Koçyiğit-Kaymakçioğlu, 'Design, synthesis, biological activity evaluation and in silico studies of new nicotino-hydrazone derivatives as multi-targeted inhibitors for Alzheimer's disease', *J. Mol. Struct.*, vol. 1265, p. 133441, Oct. 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133441>.
- [17] S. Teixeira, E. M. S. Castanheira, M. A. Carvalho, 'Hydrazides as Powerful Tools in Medicinal Chemistry: Synthesis, Reactivity, and Biological Applications', *Molecules*, vol. 30, no. 13, p. 2852, Jul. 2025, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules30132852>.
- [18] M. A. Shah, A. Uddine, M. R. Shah, I. Ali, R. Ullah, P. A. Hannan, H. Hussain, 'Synthesis and Characterization of Novel Hydrazone Derivatives of Isonicotinic Hydrazide and Their Evaluation for Antibacterial and Cytotoxic Potential', *Molecules*, vol. 27, no. 19, p. 6770, Oct. 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27196770>.
- [19] J. O. C. Brum, T. C. C. França, S. R. LaPlante, J. D. F. Villar, 'Synthesis and Biological Activity of Hydrazones and Derivatives: A Review', *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 20, no. 5, pp. 342–368, Apr. 2020, doi: <https://doi.org/10.2174/1389557519666191014142448>.
- [20] V. V. Pelipko, K. A. Gomonov, 'Formation of five- and six-membered nitrogen-containing heterocycles on the basis of hydrazones derived from α -dicarbonyl compounds (microreview)', *Chem. Heterocycl. Compd. (N. Y.)*, vol. 57, no. 6, pp. 624–626, Jun. 2021, doi: <https://doi.org/10.1007/s10593-021-02958-8>.
- [21] Ł. Popiołek, 'The application of hydrazones and hydrazide-hydrazones in the synthesis of bioactive azetidin-2-one derivatives: A mini review', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 163, p. 114853, Jul. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114853>.
- [22] Ł. Popiołek, 'Hydrazide–hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010', *Medicinal Chemistry Research*, vol. 26, no. 2, pp. 287–301, Feb. 2017, doi: <https://doi.org/10.1007/s00044-016-1756-y>.
- [23] S. N. Mali, A. Pandey, U. Shah, R. D. Jawarkar, R. Somani, 'Hydrazide–Hydrazones as Potential Antitubercular Agents: An Overview of the Literature (1999–2023)', *SynOpen*, vol. 08, no. 03, pp. 173–184, Aug. 2024, doi: <https://doi.org/10.1055/a-2367-6993>.
- [24] I. Shabeeb, L. Al-Essa, M. Shtaiwi, E. Al-Shalabi, E. Younes, R. Okasha, M. A. Sini, 'New Hydrazide-hydrazone Derivatives of Quinoline 3-Carboxylic Acid Hydrazide: Synthesis, Theoretical Modeling and Antibacterial Evaluation', *Lett. Org. Chem.*, vol. 16, no. 5, pp. 430–436, Apr. 2019, doi: <https://doi.org/10.2174/1570178616666181227122326>.
- [25] S. Murugappan, S. Dastari, K. Jungare, N. M. Barve, N. Shankaraiah, 'Hydrazide-hydrazone/hydrazone as enabling linkers in anti-cancer drug discovery: A comprehensive review', *J. Mol. Struct.*, vol. 1307, p. 138012, Jul. 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138012>.

- [26] M. Munoz-Davila, 'Role of Old Antibiotics in the Era of Antibiotic Resistance. Highlighted Nitrofurantoin for the Treatment of Lower Urinary Tract Infections', *Antibiotics*, vol. 3, no. 1, pp. 39–48, Feb. 2014, doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics3010039>.
- [27] D. R. McCalla, A. Reuvers, C. Kaiser, 'Mode of Action of Nitrofurazone', *J. Bacteriol.*, vol. 104, no. 3, pp. 1126–1134, Dec. 1970, doi: <https://doi.org/10.1128/jb.104.3.1126-1134.1970>.
- [28] C. Bailly, 'Toward a repositioning of the antibacterial drug nifuroxazide for cancer treatment', *Drug Discov. Today*, vol. 24, no. 9, pp. 1930–1936, Sep. 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.06.017>.
- [29] Ł. Popiołek, I. P. Chmiel, M. G. Grzywacz, A. Biernasiuk, M. Izdebska, M. Herbet, M. Sysa, A. Malm, J. Dudka, M. Wujec, 'New hydrazide-hydrazones and 1,3-thiazolidin-4-ones with 3-hydroxy-2-naphthoic moiety: Synthesis, in vitro and in vivo studies', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 103, pp. 1337–1347, Jul. 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.163>.
- [30] R. V. Kusurkar, R. H. Rayani, D. R. Parmar, D. R. Patel, M. J. Patel, N. O. Pandey, V. Zunjar, J. Y. Soni, 'Phenyl substituted 3-chloro 2-azetidinones: Design, green synthesis, antimicrobial activity, and molecular docking studies', *J. Mol. Struct.*, vol. 1272, p. 134185, Jan. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134185>.
- [31] M. Y. Wani, A. R. Bhat, A. Azam, F. Athar, 'Nitroimidazolyl hydrazones are better amoebicides than their cyclized 1,3,4-oxadiazoline analogues: In vitro studies and Lipophilic efficiency analysis', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 64, pp. 190–199, Jun. 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.03.034>.
- [32] H. Zlatanova-Tenisheva, S. Vladimirova, 'Pharmacological Evaluation of Novel Hydrazide and Hydrazone Derivatives: Anti-Inflammatory and Analgesic Potential in Preclinical Models', *Molecules*, vol. 30, no. 7, p. 1472, Mar. 2025, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules30071472>.
- [33] R. do C. Maia, R. Tesch, C. A. M. Fraga, 'Acylhydrazone derivatives: a patent review', *Expert Opin. Ther. Pat.*, vol. 24, no. 11, pp. 1161–1170, Nov. 2014, doi: <https://doi.org/10.1517/13543776.2014.959491>.
- [34] T. R. F. De Melo, R. C. Chelucci, M. E. L. Pires, L. A. Dutra, K. P. Barbieri, P. L. Bosquesi, G. H. G. Trossini, M. C. Chung, J. L. D. Santos, 'Pharmacological Evaluation and Preparation of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Containing an N-Acyl Hydrazone Subunit', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 15, no. 4, pp. 5821–5837, Apr. 2014, doi: <https://doi.org/10.3390/ijms15045821>.
- [35] A. D. T. de O. Moraes, M. D. S. de Miranda, Í. T. T. Jacob, C. A. da C. Amorim, R. O. de Moura, S. Â. S. da Silva, M. B. P. Soares, S. M. V. de Almeida, T. R. C. de L. Souza, J. F. de Oliveira, T. G. da Silva, C. M. L. de Melo, D. R. M. Moreira, M. do C. A. de Lima, 'Synthesis, in vitro and in vivo biological evaluation, COX-1/2 inhibition and molecular docking study of indole-N-acylhydrazone derivatives', *Bioorg. Med. Chem.*, vol. 26, no. 20, pp. 5388–5396, Nov. 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.07.024>.
- [36] J. Mikus, P. Świątek, P. Przybyła, E. Krzyżak, A. Marciniak, A. Kotynia, A. Redzicka, B. Wiatrak, P. Jawień, T. Gębarowski, Ł. Szczukowski, 'Synthesis, Biological, Spectroscopic and Computational Investigations of Novel N-Acylhydrazone Derivatives of Pyrrolo[3,4-d]pyridazinone as Dual COX/LOX Inhibitors', *Molecules*, vol. 28, no. 14, p. 5479, Jul. 2023, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules28145479>.
- [37] Md. B. Islam, Md. I. Islam, N. Nath, T. B. Emran, Md. R. Rahman, R. Sharma, M. M. Matin, 'Recent Advances in Pyridine Scaffold: Focus on Chemistry, Synthesis, and Antibacterial

Activities', *Biomed Res. Int.*, vol. 2023, no. 1, Jan. 2023, doi: <https://doi.org/10.1155/2023/9967591>.

- [38] M. M. Heravi, V. Zadsirjan, 'Prescribed drugs containing nitrogen heterocycles: an overview', *RSC Adv.*, vol. 10, no. 72, pp. 44247–44311, 2020, doi: <https://doi.org/10.1039/d0ra09198g>.
- [39] A. R. Dwivedi, S. Jaiswal, D. Kukkar, R. Kumar, T. G. Singh, M. P. Singh, A. M. Gaidhane, S. Lakhanpal, K. N. Prasad, B. Kumar, 'A decade of pyridine-containing heterocycles in US FDA approved drugs: a medicinal chemistry-based analysis', *RSC Med. Chem.*, vol. 16, no. 1, pp. 12–36, 2025, doi: <https://doi.org/10.1039/d4md00632a>.
- [40] K. Schwitalla, F. Sad, M. Schmidtman, R. Beckhaus, 'Syntheses, Characterization, and Multifaceted Coordination Chemistry of Hydrazonido Titanium Complexes', *Inorg. Chem.*, vol. 63, no. 6, pp. 3165–3172, Feb. 2024, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.3c04301>.
- [41] H. Kargar, M. Fallah-Mehrjardi, K. S. Munawar, 'Metal complexes incorporating tridentate ONO pyridyl hydrazone Schiff base ligands: Crystal structure, characterization and applications', *Coord. Chem. Rev.*, vol. 501, p. 215587, Feb. 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215587>.
- [42] S. De, A. Kumar, S. K. Shah, S. Kazi, N. Sarkar, S. Banerjee, S. Dey, 'Pyridine: the scaffolds with significant clinical diversity', *RSC Adv.*, vol. 12, no. 24, pp. 15385–15406, 2022, doi: <https://doi.org/10.1039/d2ra01571d>.
- [43] T. Tahir, M. Ashfaq, M. Saleem, M. Rafiq, M. I. Shahzad, K. K. Mojzych, M. Mojzych, 'Pyridine Scaffolds, Phenols and Derivatives of Azo Moiety: Current Therapeutic Perspectives', *Molecules*, vol. 26, no. 16, p. 4872, Aug. 2021, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26164872>.
- [44] T. L. S. Kishbaugh, 'Six-Membered Ring Systems: Pyridine and Benzo Derivatives', 2012, pp. 343–391. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096807-0.00012-9>.
- [45] S. Wang, X.-H. Yuan, S.-Q. Wang, W. Zhao, X.-B. Chen, B. Yu, 'FDA-approved pyrimidine-fused bicyclic heterocycles for cancer therapy: Synthesis and clinical application', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 214, p. 113218, Mar. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113218>.
- [46] T. R. Allaka, N. K. Katari, 'Synthesis of pyridine derivatives for diverse biological activity profiles: A review', in *Recent Developments in the Synthesis and Applications of Pyridines*, Elsevier, 2023, pp. 605–625. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91221-1.00005-1>.
- [47] E. Khan, 'Pyridine Derivatives as Biologically Active Precursors; Organics and Selected Coordination Complexes', *ChemistrySelect*, vol. 6, no. 13, pp. 3041–3064, Apr. 2021, doi: <https://doi.org/10.1002/slct.202100332>.
- [48] G. M. Abu-Taweel, M. M Ibrahim, S. Khan, H. M Al-Saidi, M. Alshamrani, F. A Alhumaydhi, S. S Alharthi, 'Medicinal Importance and Chemosensing Applications of Pyridine Derivatives: A Review', *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 54, no. 3, pp. 599–616, Apr. 2024, doi: <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2089839>.
- [49] R. Eshkourfu, B. Čobeljić, M. Vujčić, I. Turel, A. Pevec, K. Sepčić, M. Zec, S. Radulović, T. S. Radić, D. Mitić, K. Andjelković, D. Sladić, 'Synthesis, characterization, cytotoxic activity and DNA binding properties of the novel dinuclear cobalt(III) complex with the condensation product of 2-acetylpyridine and malonic acid dihydrazide', *J. Inorg. Biochem.*, vol. 105, no. 9, pp. 1196–1203, Sep. 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.05.024>.
- [50] B. Čobeljić, A. Pevec, I. Turel, M. Swart, D. Mitić, M. Milenković, I. Marković, M. Jovanović, D. Sladić, M. Jeremić, K. Andelković, 'Synthesis, characterization, DFT calculations and

biological activity of derivatives of 3-acetylpyridine and the zinc(II) complex with the condensation product of 3-acetylpyridine and semicarbazide', *Inorganica Chim. Acta*, vol. 404, pp. 5–12, Aug. 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2013.04.017>.

- [51] B. Čobeljić, I. Turel, A. Pevec, Z. Jagličić, D. Radanović, K. Anđelković, M. Milenković, 'Synthesis, structures and magnetic properties of octahedral Co(III) complexes of heteroaromatic hydrazones with tetrakisothiocyanato Co(II) anions', *Polyhedron*, vol. 155, pp. 425–432, Nov. 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.08.070>.
- [52] B. Čobeljić, A. Pevec, S. Stepanović, M. R. Milenković, I. Turel, M. Gruden, D. Radanović, K. Anđelković, 'Structural diversity of isothiocyanato Cd(II) and Zn(II) Girard's T hydrazone complexes in solution and solid state: effect of H-bonding on coordination number and supramolecular assembly of Cd(II) complex in solid state', *Struct. Chem.*, vol. 29, no. 6, pp. 1797–1806, Dec. 2018, doi: <https://doi.org/10.1007/s11224-018-1155-8>.
- [53] 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*, vol. 165, pp. 22–30, Jun. 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.03.001>.
- [54] T. Keškić, B. Čobeljić, M. Gruden, K. Anđelković, A. Pevec, I. Turel, D. Radanović, M. Zlatar, 'What Is the Nature of Interactions of BF_4^- , NO_3^- , and ClO_4^- to Cu(II) Complexes with Girard's T Hydrazine? When Can Binuclear Complexes Be Formed?', *Cryst. Growth Des.*, vol. 19, no. 8, pp. 4810–4821, Aug. 2019, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00760>.
- [55] D. Darmanović, D. Radanović, M. Jevtović, I. Turel, A. Pevec, M. Milčić, M. Gruden, M. Zlatar, N. Đorđević, K. Anđelković, B. Čobeljić, 'Coordination preferences of NNO and NNS Schiff base ligands with Co(III) complexes: Synthesis, characterization and DFT calculation', *J. Mol. Struct.*, vol. 1266, p. 133509, Oct. 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133509>.
- [56] T. T. Adejumo, M. Danopoulou, L. P. Zorba, A. Pevec, M. Zlatar, D. Radanović, M. Savić, M. Gruden, K. Anđelković, I. Turel, B. Čobeljić, G. C. Vougioukalakis, 'Correlating Structure and KA^2 Catalytic Activity of Zn^{II} Hydrazone Complexes', *Eur. J. Inorg. Chem.*, vol. 26, no. 33, Nov. 2023, doi: <https://doi.org/10.1002/ejic.202300193>.
- [57] M. Jevtović, A. Pevec, I. Turel, D. Radanović, M. Milčić, M. Gruden, M. Zlatar, D. Mitić, K. Anđelković, B. Čobeljić, 'Nickel(II) and nickel(III) thiosemicarbazone and hydrazone complexes: An unexpected journey', *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 158, p. 111582, Dec. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.111582>.
- [58] L. R. P. de Siqueira, P. A. T. de Moraes Gomes, L. P. de Lima Ferreira, M. J. B. de Melo Rêgo, A. C. L. Leite, 'Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 170, pp. 237–260, May 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.024>.
- [59] A. Ayati, S. Emami, A. Asadipour, A. Shafiee, A. Foroumadi, 'Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 97, pp. 699–718, Jun. 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.015>.
- [60] H. Cheng, H. Huang, G. Huang, 'Synthesis and antitumor activity of epothilone B', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 157, pp. 925–934, Sep. 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.055>.

- [61] Y. R. Sable, R. A. Shinde, H. K. A. Yasin, N. Ghanwate, S. N. Mali, S. K. Ghotekar, D.P. Gawari, D. A. Sasane, V. A. Adole, 'Furan-thiazole hydrazone scaffolds as promising antitubercular and antibacterial agents: synthesis, characterization, bioevaluation and computational analysis', *RSC Adv.*, vol. 15, no. 36, pp. 30001–30025, 2025, doi: <https://doi.org/10.1039/d5ra04238k>.
- [62] B. J. Deadman, M. D. Hopkin, I. R. Baxendale, S. V. Ley, 'The synthesis of Bcr-Abl inhibiting anticancer pharmaceutical agents imatinib, nilotinib and dasatinib', *Org. Biomol. Chem.*, vol. 11, no. 11, pp. 1766–1800, 2013, doi: <https://doi.org/10.1039/c2ob27003j>.
- [63] Z.-X. Niu, Y.-T. Wang, S.-N. Zhang, Y. Li, X.-B. Chen, S.-Q. Wang, H.-M. Liu, 'Application and synthesis of thiazole ring in clinically approved drugs', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 250, p. 115172, Mar. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115172>.
- [64] A. F. Kassem, R. H. Althomali, M. M. Anwar, W. I. El-Sofany, 'Thiazole moiety: A promising scaffold for anticancer drug discovery', *J. Mol. Struct.*, vol. 1303, p. 137510, May 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.137510>.
- [65] R. Raveesha, A.M. Anusuya, A. V. Raghu, K. S. Y. Kumar, M. G. D. Kumar, S. B. B. Prasad, M. K. Prashanth, 'Synthesis and characterization of novel thiazole derivatives as potential anticancer agents: Molecular docking and DFT studies', *Computational Toxicology*, vol. 21, p. 100202, Feb. 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2021.100202>.
- [66] N. Bhanwala, V. Gupta, L. Chandrakar, G. L. Khatik, 'Thiazole Heterocycle: An Incredible and Potential Scaffold in Drug Discovery and Development of Antitubercular Agents', *ChemistrySelect*, vol. 8, no. 46, Dec. 2023, doi: <https://doi.org/10.1002/slct.202302803>.
- [67] K. Veena, M. S. Raghu, K. Y. Kumar, C. B. P. Kumar, F. A. Alharti, M. K. Prashanth, B. H. Jeon, 'Design and synthesis of novel benzimidazole linked thiazole derivatives as promising inhibitors of drug-resistant tuberculosis', *J. Mol. Struct.*, vol. 1269, p. 133822, Dec. 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133822>.
- [68] M. M. Al-Sanea, M. S. A.-Maksoud, M. F. El-Behairy, A. Hamdi, H. U. Rahman, D. G. T. Parambi, R. M. Elbargisy, A. A. B. Mohamed, 'Anti-inflammatory effect of 3-fluorophenyl pyrimidinylimidazo[2,1-b]thiazole derivatives as p38 α inhibitors', *Bioorg. Chem.*, vol. 139, p. 106716, Oct. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106716>.
- [69] F. Lemilemu, M. Bitew, T. B. Demissie, R. Eswaramoorthy, M. Endale, 'Synthesis, antibacterial and antioxidant activities of Thiazole-based Schiff base derivatives: a combined experimental and computational study', *BMC Chem.*, vol. 15, no. 1, p. 67, Dec. 2021, doi: <https://doi.org/10.1186/s13065-021-00791-w>.
- [70] K. Singh, R. Pal, S. A. Khan, B. Kumar, M. J. Akhtar, 'Insights into the structure activity relationship of nitrogen-containing heterocyclics for the development of antidepressant compounds: An updated review', *J. Mol. Struct.*, vol. 1237, p. 130369, Aug. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130369>.
- [71] V. Kovalishyn, O. Severin, M. Kachaeva, I. Semenyuta, K. A. Keith, E. A. Harden, C. B. Hartline, S. H. James, L. Metelytsia, V. Brovarets, 'Design and experimental validation of the oxazole and thiazole derivatives as potential antivirals against of human cytomegalovirus', *SAR QSAR Environ. Res.*, vol. 34, no. 7, pp. 523–541, Jul. 2023, doi: <https://doi.org/10.1080/1062936x.2023.2232992>.
- [72] M. A. Abid, A. A. Abed, M. Musa, T. Izuagie, E. C. Agwamba, 'Anti-diabetic, anti-bacterial and anti-oxidant potential of new biologically active thiazole-derivatives: Experimental and

molecular docking studies', *J. Mol. Struct.*, vol. 1321, p. 139482, Feb. 2025, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.139482>.

- [73] N. de F. N. Santos, N. da S. B. Junior, J. F. de Oliveira, D. M. F. A. Duarte, J. C. dos S. Soares, D. S. C. Marques, A. C. da S. Santos, F. Nogueira, V. R. A. Pereira, M. D. C. A. de Lima, I. J. da C. Filho, 'Synthesis, characterization, antioxidant and antiparasitic activities new naphthyl-thiazole derivatives', *Exp. Parasitol.*, vol. 248, p. 108498, May 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2023.108498>.
- [74] P.-C. Lv, K. R. Wang, Y. Yang, W.-J. Mao, J. Chen, J. Xiong, H.-L. Zhu, 'Design, synthesis and biological evaluation of novel thiazole derivatives as potent FabH inhibitors', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 19, no. 23, pp. 6750–6754, Dec. 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.09.111>.
- [75] J. B. Araškov, M. R. Nikolić, S. Armaković, S. J. Armaković, M. V. Rodić, A. Višnjevac, J. M. Padrón, T. R. Todorović, N. R. Filipović, 'Structural, antioxidant, antiproliferative and in-silico study of pyridine-based hydrazonyl-selenazoles and their sulphur isosteres', *J. Mol. Struct.*, vol. 1240, p. 130512, Sep. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130512>.
- [76] A. N. Woodward, J. M. Kolesar, S. R. Hall, N.-A. Saleh, D. S. Jones, M. G. Walter, 'Thiazolothiazole Fluorophores Exhibiting Strong Fluorescence and Viologen-Like Reversible Electrochromism', *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 139, no. 25, pp. 8467–8473, Jun. 2017, doi: <https://doi.org/10.1021/jacs.7b01005>.
- [77] M. Kaufmann, C. Müller, A. A. Cullen, M. P. Brandon, B. Dietzek, M. T. Pryce, 'Photophysics of Ruthenium(II) Complexes with Thiazole π -Extended Dipyridophenazine Ligands', *Inorg. Chem.*, vol. 60, no. 2, pp. 760–773, Jan. 2021, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c02765>.
- [78] L. M. T. Frija, A. J. L. Pombeiro, M. N. Kopylovich, 'Coordination chemistry of thiazoles, isothiazoles and thiadiazoles', *Coord. Chem. Rev.*, vol. 308, pp. 32–55, Feb. 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.10.003>.
- [79] N. Dannenbauer, A. Kuzmanoski, C. Feldmann, K. Müller-Buschbaum, '1,3-Thiazole as Suitable Antenna Ligand for Lanthanide Photoluminescence in $[\text{LnCl}_3(\text{thz})_4] \cdot 0.5\text{thz}$, Ln = Sm, Eu, Gd, Tb, Dy', *Zeitschrift für Naturforschung B*, vol. 69, no. 2, pp. 255–262, Feb. 2014, doi: <https://doi.org/10.5560/znb.2014-3292>.
- [80] H. Leopold, A. Tronnier, G. Wagenblast, I. Münster, T. Strassner, 'Photoluminescence of a New Material: Cyclometalated C[^]C* Thiazole-2-ylidene Platinum(II) Complexes', *Organometallics*, vol. 35, no. 7, pp. 959–971, Apr. 2016, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.5b00991>.
- [81] T.-O. Knedel, S. Buss, I. Maisuls, C. G. Daniliuc, C. Schlüsener, P. Brandt, O. Weingart, A. Vollrath, C. Janiak, C. A. Strasser, 'Encapsulation of Phosphorescent Pt(II) Complexes in Zn-Based Metal–Organic Frameworks toward Oxygen-Sensing Porous Materials', *Inorg. Chem.*, vol. 59, no. 10, pp. 7252–7264, May 2020, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00678>.
- [82] B. A. Yamgar, V. A. Sawant, B. G. Bharate, S. S. Chavan, 'Synthesis, spectral characterization, thermal and photoluminescence properties of Zn(II) and Cd(II)-azido/thiocyanato complexes with thiazolylazo dye and 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane', *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 78, no. 1, pp. 102–106, Jan. 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.09.004>.

- [83] A. M. El-Naggar, A. Zidan, E. B. Elkaeed, M. S. Taghour, W. A. Badawi, 'Design, synthesis and docking studies of new hydrazinyl-thiazole derivatives as anticancer and antimicrobial agents', *Journal of Saudi Chemical Society*, vol. 26, no. 4, p. 101488, Jul. 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101488>.
- [84] A. E. Evren, L. Yurttaş, B. Ekselli, O. Aksoy, G. Akalin-Çiftçi, 'Design and Efficient Synthesis of Novel 4,5-Dimethylthiazole-Hydrazone Derivatives and their Anticancer Activity', *Lett. Drug Des. Discov.*, vol. 18, no. 4, pp. 372–386, Apr. 2021, doi: <https://doi.org/10.2174/1570180817999201022192937>.
- [85] M. Stojičkov, M. Zlatar, P. P. Mazzeo, A. Bacchi, D. Radanović, N. Stevanović, M. Jevtović, I. Novaković, K. Anđelković, D. Sladić, B. Čobeljić, M. Gruden, 'The interplay between spin states, geometries and biological activity of Fe(III) and Mn(II) complexes with thiosemicarbazone', *Polyhedron*, vol. 237, p. 116389, Jun. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2023.116389>.
- [86] T. T. Adejumo, N. V. Tzouras, L. P. Zorba, D. Radanović, A. Pevec, S. Grubišić, D. Mitić, K. Anđelković, G. C. Vougioukalakis, B. Čobeljić, I. Turel, 'Synthesis, Characterization, Catalytic Activity, and DFT Calculations of Zn(II) Hydrazone Complexes', *Molecules*, vol. 25, no. 18, p. 4043, Sep. 2020, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25184043>.
- [87] N. Stevanović, P. P. Mazzeo, A. Bacchi, I. Z. Matić, M. Đ. Crnogorac, T. Stanojković, M. Vujčić, I. Novaković, D. Radanović, M. Š.-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*, vol. 26, no. 8, pp. 863–880, Dec. 2021, doi: <https://doi.org/10.1007/s00775-021-01893-5>.
- [88] T. Keškić, Z. Jagličić, A. Pevec, B. Čobeljić, D. Radanović, M. Gruden, I. Turel, K. Anđelković, I. Brčeski, M. Zlatar, 'Synthesis, X-ray structures and magnetic properties of Ni(II) complexes of heteroaromatic hydrazone', *Polyhedron*, vol. 191, p. 114802, Nov. 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2020.114802>.
- [89] W. Hou, W. Dai, H. Huang, S.-L. Liu, J. Liu, L.-J. Huang, X.-H. Huang, J.-L. Zeng, Z.-W. Gan, Z.-Y. Zhang, J.-X. Lan, 'Pharmacological activity and mechanism of pyrazines', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 258, p. 115544, Oct. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115544>.
- [90] G.-Q. Chen, H.-Y. Guo, Z.-S. Quan, Q.-K. Shen, X. Li, T. Luan, 'Natural Products–Pyrazine Hybrids: A Review of Developments in Medicinal Chemistry', *Molecules*, vol. 28, no. 21, p. 7440, Nov. 2023, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules28217440>.
- [91] M. Juhás, J. Zitko, 'Molecular Interactions of Pyrazine-Based Compounds to Proteins', *J. Med. Chem.*, vol. 63, no. 17, pp. 8901–8916, Sep. 2020, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02021>.
- [92] L. Riccardi, V. Genna, M. De Vivo, 'Metal–ligand interactions in drug design', *Nat. Rev. Chem.*, vol. 2, no. 7, pp. 100–112, Jun. 2018, doi: <https://doi.org/10.1038/s41570-018-0018-6>.
- [93] B. Rogalewicz, T. Sierański, M. Szczesio, A. Olczak, K. Gobis, C. Orlewska, I. Korona-Główniak, A. Korga-Plewko, M. Iwan, M. Iwan, M. Michalczuk, J. Kubik, G. Adamczuk, M. Korga, N. Rutkowska, T. Boruta, K. Gas, M. Sawicki, E. Poleszak, W. Maniukiewicz, M. Świątkowski, A. Czyłkowska, 'Physicochemical properties and mechanism of action of a new copper(II) pyrazine-based complex with high anticancer activity and selectivity towards cancer cells', *RSC Adv.*, vol. 14, no. 49, pp. 36295–36307, 2024, doi: <https://doi.org/10.1039/d4ra06874b>.

- [94] Y.-F. Liu, Y.-P. Liu, K.-K. Zhang, Q.-L. Ren, J. Qin, 'Mononuclear and three-dimensional metal complexes based on a multidentate hydrazone ligand', *Acta Crystallogr. C Struct. Chem.*, vol. 71, no. 2, pp. 116–121, Feb. 2015, doi: <https://doi.org/10.1107/S2053229615000698>.
- [95] J. Cao, J.-C. Liu, W.-T. Deng, N.-Z. Jin, 'Structurally diverse copper(ii) complexes with pyridazine-integrated with pyrazine–Schiff base ligand featuring an easily lost proton in the hydrazone backbone', *CrystEngComm*, vol. 15, no. 32, p. 6359, 2013, doi: <https://doi.org/10.1039/c3ce40605a>.
- [96] M. Frezza, S. Hindo, D. Chen, A. Davenport, S. Schmitt, D. Tomco, Q P. Dou, 'Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy', *Curr. Pharm. Des.*, vol. 16, no. 16, pp. 1813–1825, Jun. 2010, doi: <https://doi.org/10.2174/138161210791209009>.
- [97] P. C. Bruijninx, P. J. Sadler, 'New trends for metal complexes with anticancer activity', *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 12, no. 2, pp. 197–206, Apr. 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.11.013>.
- [98] V. Mouriño, J. P. Cattalini, A. R. Boccaccini, 'Metallic ions as therapeutic agents in tissue engineering scaffolds: an overview of their biological applications and strategies for new developments', *J. R. Soc. Interface*, vol. 9, no. 68, pp. 401–419, Mar. 2012, doi: <https://doi.org/10.1098/rsif.2011.0611>.
- [99] P. Polak, 'Periodic Table of Elements', Canva (n.d.). canva.com (accessed June 29, 2026).
- [100] M. Weller, T. Overton, J. Rourke, F. A. Armstrong, *Shriver & Atkins' Inorganic Chemistry*, 7th ed. Oxford University Press, 2018.
- [101] C. E. Housecroft, A. G. Sharpe, *Inorganic Chemistry*, 5th ed. Harlow: Pearson, 2018.
- [102] G. L. Miessler, P. J. Fischer, D. A. Tarr, *Inorganic Chemistry*, 5th ed. Boston: Pearson, 2014.
- [103] F. da Silva, J. J. R. R. J. P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements: The Inorganic Chemistry of Life*, 2nd ed. Oxford University Press, 2001.
- [104] C. Andreini, L. Banci, I. Bertini, A. Rosato, 'Counting the Zinc-Proteins Encoded in the Human Genome', *J. Proteome Res.*, vol. 5, no. 1, pp. 196–201, Jan. 2006, doi: <https://doi.org/10.1021/pr050361j>.
- [105] T. Kambe, T. Tsuji, A. Hashimoto, N. Itsumura, 'The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism', *Physiol. Rev.*, vol. 95, no. 3, pp. 749–784, Jul. 2015, doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2014>.
- [106] N. Gammoh, L. Rink, 'Zinc in Infection and Inflammation', *Nutrients*, vol. 9, no. 6, p. 624, Jun. 2017, doi: <https://doi.org/10.3390/nu9060624>.
- [107] L. M. Plum, L. Rink, H. Haase, 'The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health', *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 7, no. 4, pp. 1342–1365, Mar. 2010, doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph7041342>.
- [108] W. Maret, 'Zinc and Human Disease', 2013, pp. 389–414. doi: https://doi.org/10.1007/978-94-007-7500-8_12.
- [109] R. A. Layfield, 'Manganese(II): the black sheep of the organometallic family', *Chem. Soc. Rev.*, vol. 37, no. 6, p. 1098, 2008, doi: <https://doi.org/10.1039/b708850g>.
- [110] M. N. Collomb, A. Deronzier, 'Manganese: Inorganic and Coordination Chemistry Based in part on the article Manganese: Inorganic and Coordination Chemistry by Charles A.

McAuliffe, Stephen M. Godfrey, and Michael Watkinson, *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, Wiley, 2005. doi: <https://doi.org/10.1002/0470862106.ia126>.

- [111] L. M. Moreira, J. P. Lyon, C. Pereira, R. de S. Silva, M. S. Schultz, 'Manganês (Mn): Propriedades redox, química de coordenação e implicações biológicas', *Research, Society and Development*, vol. 13, no. 2, p. e13713245186, Mar. 2024, doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v13i2.45186>.
- [112] M. Melnik, O. Sprušanský, 'Isomers in the chemistry of manganese coordination compounds', *Reviews in Inorganic Chemistry*, vol. 31, no. 2–3, Jan. 2011, doi: <https://doi.org/10.1515/REVIC.2011.005>.
- [113] J. L. Aschner, M. Aschner, 'Nutritional aspects of manganese homeostasis', *Mol. Aspects Med.*, vol. 26, no. 4–5, pp. 353–362, Aug. 2005, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.003>.
- [114] L. A. Macmillan-Crow, D. L. Cruthirds, 'Manganese superoxide dismutase in disease', *Free Radic. Res.*, vol. 34, no. 4, pp. 325–336, Jan. 2001, doi: <https://doi.org/10.1080/10715760100300281>.
- [115] A. K. Holley, V. Bakthavatchalu, J. M. Velez-Roman, D. K. St. Clair, 'Manganese Superoxide Dismutase: Guardian of the Powerhouse', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 12, no. 10, pp. 7114–7162, Oct. 2011, doi: <https://doi.org/10.3390/ijms12107114>.
- [116] D. S. Avila, R. L. Puntel, M. Aschner, 'Manganese in Health and Disease', 2013, pp. 199–227. doi: https://doi.org/10.1007/978-94-007-7500-8_7.
- [117] J. Azadmanesh, G. Borgstahl, 'A Review of the Catalytic Mechanism of Human Manganese Superoxide Dismutase', *Antioxidants*, vol. 7, no. 2, p. 25, Jan. 2018, doi: <https://doi.org/10.3390/antiox7020025>.
- [118] L. Li, X. Yang, 'The Essential Element Manganese, Oxidative Stress, and Metabolic Diseases: Links and Interactions', *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2018, no. 1, Jan. 2018, doi: <https://doi.org/10.1155/2018/7580707>.
- [119] S. K. Obeng, M. Kulhánek, J. Balík, J. Černý, O. Sedlář, 'Manganese: From Soil to Human Health—A Comprehensive Overview of Its Biological and Environmental Significance', *Nutrients*, vol. 16, no. 20, p. 3455, Oct. 2024, doi: <https://doi.org/10.3390/nu16203455>.
- [120] Shagufta, I. Ahmad, 'Transition metal complexes as proteasome inhibitors for cancer treatment', *Inorganica Chim. Acta*, vol. 506, p. 119521, Jun. 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119521>.
- [121] L. A. Ba, M. Doering, T. Burkholz, C. Jacob, 'Metal trafficking: from maintaining the metal homeostasis to future drug design', *Metallomics*, vol. 1, no. 4, p. 292, 2009, doi: <https://doi.org/10.1039/b904533c>.
- [122] S. L. Williams, C. A. F. de Oliveira, H. Vazquez, J. A. McCammon, 'From Zn to Mn: The Study of Novel Manganese-binding Groups in the Search for New Drugs against Tuberculosis', *Chem. Biol. Drug Des.*, vol. 77, no. 2, pp. 117–123, Feb. 2011, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2010.01060.x>.
- [123] A. Ollivier, R. Foresti, Z. E. Ali, T. Martens, H. Kitagishi, R. Motterlini, M. Rivard, 'Design and Biological Evaluation of Manganese- and Ruthenium-Based Hybrid CO-RMs (HYCOs)', *ChemMedChem*, vol. 14, no. 18, pp. 1684–1691, Sep. 2019, doi: <https://doi.org/10.1002/cmdc.201900426>.

- [124] E. Bahar, G.-H. Lee, K. R. Bhattarai, H.-Y. Lee, H.-K. Kim, M. Handigund, M.-K. Choi, S.-Y. Han, H.-J. Chae, H. Yoon, 'Protective role of quercetin against manganese-induced injury in the liver, kidney, and lung; and hematological parameters in acute and subchronic rat models', *Drug Des. Devel. Ther.*, vol. Volume 11, pp. 2605–2619, Sep. 2017, doi: <https://doi.org/10.2147/dddt.s143875>.
- [125] J. J. P. Perry, D. S. Shin, E. D. Getzoff, J. A. Tainer, 'The structural biochemistry of the superoxide dismutases', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, vol. 1804, no. 2, pp. 245–262, Feb. 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.11.004>.
- [126] J. N. Keller, M. S. Kindy, F. W. Holtsberg, D. K. St. Clair, H.-C. Yen, A. Germeyer, S. M. Steiner, A. J. Bruce-Keller, J. B. Hutchins, M. P. Mattson, 'Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase Prevents Neural Apoptosis and Reduces Ischemic Brain Injury: Suppression of Peroxynitrite Production, Lipid Peroxidation, and Mitochondrial Dysfunction', *The Journal of Neuroscience*, vol. 18, no. 2, pp. 687–697, Jan. 1998, doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-02-00687.1998>.
- [127] T. Mosmann, 'Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays', *J. Immunol. Methods*, vol. 65, no. 1–2, pp. 55–63, Dec. 1983, doi: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- [128] M. Ohno, T. Abe, 'Rapid colorimetric assay for the quantification of leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin-6 (IL-6)', *J. Immunol. Methods*, vol. 145, no. 1–2, pp. 199–203, Dec. 1991, doi: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(91\)90327-C](https://doi.org/10.1016/0022-1759(91)90327-C).
- [129] M. G. Ormerod, Ed., *Flow Cytometry*. Oxford University Press Oxford, 2000. doi: <https://doi.org/10.1093/oso/9780199638253.001.0001>.
- [130] M. Savić, A. Pevec, N. Stevanović, I. Novaković, I. Z. Matić, N. Petrović, T. Stanojković, K. Milčić, M. Zlatar, I. Turel, B. Čobeljić, M. Milčić, M. Gruden, 'Synergy of experimental and computational chemistry: structure and biological activity of Zn($\text{H}_2\text{N-NH-NH-NH}_2$) hydrazone complexes', *Dalton Transactions*, vol. 53, no. 32, pp. 13436–13453, 2024, doi: <https://doi.org/10.1039/d4dt01353k>.
- [131] N. Mihailović, V. Marković, I. Z. Matić, N. S. Stanisavljević, Ž. S. Jovanović, S. Trifunović, S. Trifunović, 'Synthesis and antioxidant activity of 1,3,4-oxadiazoles and their diacylhydrazine precursors derived from phenolic acids', *RSC Adv.*, vol. 7, no. 14, pp. 8550–8560, 2017, doi: <https://doi.org/10.1039/c6ra28787e>.
- [132] Agilent, 'CrysAlis PRO', Agilent Technologies Ltd., 2014, Yarnton, Oxfordshire, England.
- [133] O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, 'OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program', *J. Appl. Crystallogr.*, vol. 42, no. 2, pp. 339–341, Apr. 2009, doi: <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>.
- [134] G. M. Sheldrick, 'SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination', *Acta Crystallogr. A Found. Adv.*, vol. 71, no. 1, pp. 3–8, Jan. 2015, doi: <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>.
- [135] G. M. Sheldrick, 'Crystal structure refinement with SHELXL', *Acta Crystallogr. C Struct. Chem.*, vol. 71, no. 1, pp. 3–8, Jan. 2015, doi: <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- [136] K. Anđelković, A. Pevec, S. Grubišić, I. Turel, B. Čobeljić, M. R. Milenković, T. Keškić, D. Radanović, 'Crystal structures and DFT calculations of mixed chloride-azide zinc(II) and chloride-isocyanate cadmium(II) complexes with the condensation product of 2-quinolinecarboxaldehyde and Girard's T reagent', *J. Mol. Struct.*, vol. 1162, pp. 63–70, Jun. 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.02.074>.

- [137] M. Zlatar, M. Gruden, 'Introduction to ligand field theory and computational chemistry', in *Practical Approaches to Biological Inorganic Chemistry*, Elsevier, 2020, pp. 17–67. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64225-7.00002-X>.
- [138] S. Stepanović, L. Andjelković, M. Zlatar, K. Andjelković, M. Gruden-Pavlović, M. Swart, 'Role of Spin State and Ligand Charge in Coordination Patterns in Complexes of 2,6-Diacetylpyridinebis(semioxamazide) with 3d-Block Metal Ions: A Density Functional Theory Study', *Inorg. Chem.*, vol. 52, no. 23, pp. 13415–13423, Dec. 2013, doi: <https://doi.org/10.1021/ic401752n>.
- [139] T. P. Andrejević, I. Aleksic, J. Kljun, M. Počkaj, M. Zlatar, S. Vojnovic, J. N.-Runic, I. Turel, M. I. Djuran, B. Đ. Glišić, 'Copper(II) and silver(I) complexes with dimethyl 6-(pyrazine-2-yl)pyridine-3,4-dicarboxylate (py-2pz): the influence of the metal ion on the antimicrobial potential of the complex', *RSC Adv.*, vol. 13, no. 7, pp. 4376–4393, 2023, doi: <https://doi.org/10.1039/d2ra07401j>.
- [140] Vipendra K. Singh, Vikas K. Singh, A. Mishra, Varsha, A. A. Singh, G. Prasad, Ankit K. Singh, 'Recent advancements in coordination compounds and their potential clinical application in the management of diseases: An up-to-date review', *Polyhedron*, vol. 241, p. 116485, Sep. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2023.116485>.
- [141] J. Malinowski, D. Zych, D. Jacewicz, B. Gawdzik, J. Drzeżdżon, 'Application of Coordination Compounds with Transition Metal Ions in the Chemical Industry—A Review', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 15, p. 5443, Jul. 2020, doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21155443>.
- [142] H. S. Mohammed, V. D. Tripathi, 'Medicinal Applications of Coordination Complexes', *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1664, no. 1, p. 012070, Nov. 2020, doi: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1664/1/012070>.
- [143] G. te Velde, F. M. Bickelhaupt, E. J. Baerends, C. F. Guerra, S. J. A. van Gisbergen, J. G. Snijders, T. Ziegler 'Chemistry with ADF', *J. Comput. Chem.*, vol. 22, no. 9, pp. 931–967, Jul. 2001, doi: <https://doi.org/10.1002/jcc.1056>.
- [144] F. Neese, 'Software Update: The <sc>ORCA</sc> Program System—Version 6.0', *WIREs Computational Molecular Science*, vol. 15, no. 2, Mar. 2025, doi: <https://doi.org/10.1002/wcms.70019>.
- [145] E. van Lenthe, E. J. Baerends, J. G. Snijders, 'Relativistic regular two-component Hamiltonians', *J. Chem. Phys.*, vol. 99, no. 6, pp. 4597–4610, Sep. 1993, doi: <https://doi.org/10.1063/1.466059>.
- [146] E. van Lenthe, E. J. Baerends, J. G. Snijders, 'Relativistic total energy using regular approximations', *J. Chem. Phys.*, vol. 101, no. 11, pp. 9783–9792, Dec. 1994, doi: <https://doi.org/10.1063/1.467943>.
- [147] C. van Wüllen, 'Molecular density functional calculations in the regular relativistic approximation: Method, application to coinage metal diatomics, hydrides, fluorides and chlorides, and comparison with first-order relativistic calculations', *J. Chem. Phys.*, vol. 109, no. 2, pp. 392–399, Jul. 1998, doi: <https://doi.org/10.1063/1.476576>.
- [148] A. Klamt, G. Schüürmann, 'COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient', *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, no. 5, pp. 799–805, 1993, doi: <https://doi.org/10.1039/P29930000799>.
- [149] A. Klamt, 'Conductor-like Screening Model for Real Solvents: A New Approach to the Quantitative Calculation of Solvation Phenomena', *J. Phys. Chem.*, vol. 99, no. 7, pp. 2224–2235, Feb. 1995, doi: <https://doi.org/10.1021/j100007a062>.

- [150] A. D. Becke, ‘Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior’, *Phys. Rev. A (Coll. Park)*, vol. 38, no. 6, pp. 3098–3100, Sep. 1988, doi: <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.3098>.
- [151] J. P. Perdew, ‘Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas’, *Phys. Rev. B*, vol. 33, no. 12, pp. 8822–8824, Jun. 1986, doi: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.33.8822>.
- [152] J. P. Perdew, ‘Erratum: Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas’, *Phys. Rev. B*, vol. 34, no. 10, pp. 7406–7406, Nov. 1986, doi: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.34.7406>.
- [153] E. Caldeweyher, S. Ehlert, A. Hansen, H. Neugebauer, S. Spicher, C. Bannwarth, S. Grimme, ‘A generally applicable atomic-charge dependent London dispersion correction’, *J. Chem. Phys.*, vol. 150, no. 15, Apr. 2019, doi: <https://doi.org/10.1063/1.5090222>.
- [154] M. Müller, A. Hansen, S. Grimme, ‘ ω B97X-3c: A composite range-separated hybrid DFT method with a molecule-optimized polarized valence double- ζ basis set’, *J. Chem. Phys.*, vol. 158, no. 1, Jan. 2023, doi: <https://doi.org/10.1063/5.0133026>.
- [155] A. V. Marenich, C. J. Cramer, D. G. Truhlar, ‘Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions’, *J. Phys. Chem. B*, vol. 113, no. 18, pp. 6378–6396, May 2009, doi: <https://doi.org/10.1021/jp810292n>.
- [156] J. Tao, J. P. Perdew, V. N. Staroverov, G. E. Scuseria, ‘Climbing the Density Functional Ladder: Nonempirical Meta-Generalized Gradient Approximation Designed for Molecules and Solids’, *Phys. Rev. Lett.*, vol. 91, no. 14, p. 146401, Sep. 2003, doi: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.91.146401>.
- [157] V. N. Staroverov, G. E. Scuseria, J. Tao, J. P. Perdew, ‘Comparative assessment of a new nonempirical density functional: Molecules and hydrogen-bonded complexes’, *J. Chem. Phys.*, vol. 119, no. 23, pp. 12129–12137, Dec. 2003, doi: <https://doi.org/10.1063/1.1626543>.
- [158] H. S. Yu, X. He, S. L. Li, D. G. Truhlar, ‘MN15: A Kohn–Sham global-hybrid exchange–correlation density functional with broad accuracy for multi-reference and single-reference systems and noncovalent interactions’, *Chem. Sci.*, vol. 7, no. 8, pp. 5032–5051, 2016, doi: <https://doi.org/10.1039/c6sc00705h>.
- [159] Y.-P. Li, J. Gomes, S. Mallikarjun Sharada, A. T. Bell, M. Head-Gordon, ‘Improved Force-Field Parameters for QM/MM Simulations of the Energies of Adsorption for Molecules in Zeolites and a Free Rotor Correction to the Rigid Rotor Harmonic Oscillator Model for Adsorption Enthalpies’, *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 119, no. 4, pp. 1840–1850, Jan. 2015, doi: <https://doi.org/10.1021/jp509921r>.
- [160] S. Grimme, ‘Supramolecular Binding Thermodynamics by Dispersion-Corrected Density Functional Theory’, *Chemistry – A European Journal*, vol. 18, no. 32, pp. 9955–9964, Aug. 2012, doi: <https://doi.org/10.1002/chem.201200497>.
- [161] S. J. A. van Gisbergen, J. G. Snijders, E. J. Baerends, ‘Implementation of time-dependent density functional response equations’, *Comput. Phys. Commun.*, vol. 118, no. 2–3, pp. 119–138, May 1999, doi: [https://doi.org/10.1016/S0010-4655\(99\)00187-3](https://doi.org/10.1016/S0010-4655(99)00187-3).
- [162] R. L. Martin, ‘Natural transition orbitals’, *J. Chem. Phys.*, vol. 118, no. 11, pp. 4775–4777, Mar. 2003, doi: <https://doi.org/10.1063/1.1558471>.

- [163] F. Plasser, H. Lischka, ‘Analysis of Excitonic and Charge Transfer Interactions from Quantum Chemical Calculations’, *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 8, no. 8, pp. 2777–2789, Aug. 2012, doi: <https://doi.org/10.1021/ct300307c>.
- [164] T. Yanai, D. P. Tew, N. C. Handy, ‘A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP)’, *Chem. Phys. Lett.*, vol. 393, no. 1–3, pp. 51–57, Jul. 2004, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2004.06.011>.
- [165] G. Hoffmann, V. Tognetti, L. Joubert, ‘Can molecular and atomic descriptors predict the electrophilicity of Michael acceptors?’, *J. Mol. Model.*, vol. 24, no. 10, p. 281, Oct. 2018, doi: <https://doi.org/10.1007/s00894-018-3802-9>.
- [166] F. M. Bickelhaupt, E. J. Baerends, ‘Kohn-Sham Density Functional Theory: Predicting and Understanding Chemistry’, 2000, pp. 1–86. doi: <https://doi.org/10.1002/9780470125922.ch1>.
- [167] T. Ziegler, A. Rauk, ‘On the calculation of bonding energies by the Hartree Fock Slater method’, *Theor. Chim. Acta*, vol. 46, no. 1, pp. 1–10, Oct. 1977, doi: <https://doi.org/10.1007/BF02401406>.
- [168] T. Ziegler, A. Rauk, ‘A theoretical study of the ethylene-metal bond in complexes between copper(1+), silver(1+), gold(1+), platinum(0) or platinum(2+) and ethylene, based on the Hartree-Fock-Slater transition-state method’, *Inorg. Chem.*, vol. 18, no. 6, pp. 1558–1565, Jun. 1979, doi: <https://doi.org/10.1021/ic50196a034>.
- [169] R. F. Nalewajski, J. Mrozek, G. Mazur, ‘Quantum chemical valence indices from the one-determinantal difference approach’, *Can. J. Chem.*, vol. 74, no. 6, pp. 1121–1130, Jun. 1996, doi: <https://doi.org/10.1139/v96-126>.
- [170] M. P. Mitoraj, A. Michalak, T. Ziegler, ‘A Combined Charge and Energy Decomposition Scheme for Bond Analysis’, *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 5, no. 4, pp. 962–975, Apr. 2009, doi: <https://doi.org/10.1021/ct800503d>.
- [171] F. L. Hirshfeld, ‘Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities’, *Theor. Chim. Acta*, vol. 44, no. 2, pp. 129–138, 1977, doi: <https://doi.org/10.1007/BF00549096>.
- [172] G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, A. J. Olson, ‘AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility’, *J. Comput. Chem.*, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791, Dec. 2009, doi: <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.
- [173] A. D. Becke, ‘Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange’, *J. Chem. Phys.*, vol. 98, no. 7, pp. 5648–5652, Apr. 1993, doi: <https://doi.org/10.1063/1.464913>.
- [174] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, ‘Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density’, *Phys. Rev. B*, vol. 37, no. 2, pp. 785–789, Jan. 1988, doi: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>.
- [175] R. Ditchfield, W. J. Hehre, J. A. Pople, ‘Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. IX. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules’, *J. Chem. Phys.*, vol. 54, no. 2, pp. 724–728, Jan. 1971, doi: <https://doi.org/10.1063/1.1674902>.
- [176] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, T. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A., Jr. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C.

- Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, 'Gaussian 09', 2009, *Wallingford*.
- [177] R. H. Henchman, J. W. Essex, 'Generation of OPLS-like charges from molecular electrostatic potential using restraints', *J. Comput. Chem.*, vol. 20, no. 5, pp. 483–498, Apr. 1999, doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19990415\)20:5%3C483::AID-JCC2%3E3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19990415)20:5%3C483::AID-JCC2%3E3.0.CO;2-4).
- [178] M. F. Sanner, 'Python: a programming language for software integration and development', *J. Mol. Graph. Model.*, vol. 17, pp. 57–61, 1999.
- [179] T.-H. Chang, R.-T. Guo, T.-P. Ko, A. H.-J. Wang, P.-H. Liang, 'Crystal Structure of Type-III Geranylgeranyl Pyrophosphate Synthase from *Saccharomyces cerevisiae* and the Mechanism of Product Chain Length Determination', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 281, no. 21, pp. 14991–15000, May 2006, doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.m512886200>.
- [180] S. Bienert, A. Waterhouse, T. A P de Beer, G. Tauriello, G. Studer, L. Bordoli, T. Schwede, 'The SWISS-MODEL Repository—new features and functionality', *Nucleic Acids Res.*, vol. 45, no. D1, pp. D313–D319, Jan. 2017, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1132>.
- [181] J. Jumper, R. Evans, A. Pritzel, T. Green, M. Figurnov, O. Ronneberger, K. Tunyasuvunakool, R. Bates, A. Židek, A. Potapenko, A. Bridgland, C. Meyer, S. A. A. Kohl, A. J. Ballard, A. Cowie, B. R.-Paredes, S. Nikolov, R. Jain, J. Adler, T. Back, S. Petersen, D. Reiman, E. Clancy, M. Zielinski, M. Steinegger, M. Pacholska, T. Berghammer, S. Bodenstein, D. Silver, O. Vinyals, A. W. Senior, K. Kavukcuoglu, P. Kohli, D. Hassabis, 'Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold', *Nature*, vol. 596, no. 7873, pp. 583–589, Aug. 2021, doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>.
- [182] R. Anandakrishnan, B. Aguilar, A. V. Onufriev, 'H++ 3.0: automating pK prediction and the preparation of biomolecular structures for atomistic molecular modeling and simulations', *Nucleic Acids Res.*, vol. 40, no. W1, pp. W537–W541, Jul. 2012, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gks375>.
- [183] Dassault Systèmes BIOVIA, 'Discovery Studio Modeling Environment', 2016, Release 2017.
- [184] H. S. Jena, V. Manivannan, 'Molecular structures of dinuclear zinc(II) complexes of chiral tridentate imine and amine ligands: Effect of ligand geometry on diastereoselectivity', *Inorganica Chim. Acta*, vol. 394, pp. 210–219, Jan. 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.06.041>.
- [185] M. S. Alhussaini, A. A. I. Alyahya, A. A. Al-Ghanayem, 'Chelation-driven antimicrobial potency of Cu(II) complexes with N- and O- donor ligands: A review (2022–2025)', *Dyes and Pigments*, vol. 243, p. 113040, Dec. 2025, doi: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2025.113040>.
- [186] N. Kumar, R. Kaushal, P. Awasthi, 'Transition Metal Complexes as Antibacterial Agents: An Overview', *J. Fluoresc.*, vol. 35, no. 10, pp. 10445–10461, Apr. 2025, doi: <https://doi.org/10.1007/s10895-025-04313-y>.
- [187] S. Noreen, S. H. Sumrra, 'Aminothiazole-Linked Metal Chelates: Synthesis, Density Functional Theory, and Antimicrobial Studies with Antioxidant Correlations', *ACS Omega*, vol. 6, no. 48, pp. 33085–33099, Dec. 2021, doi: <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05290>.

- [188] H. Beraldo, D. Gambino, 'The Wide Pharmacological Versatility of Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes', *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 4, no. 1, pp. 31–39, Jan. 2004, doi: <https://doi.org/10.2174/1389557043487484>.
- [189] T. S. Lobana, R. Sharma, G. Bawa, S. Khanna, 'Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals—An overview', *Coord. Chem. Rev.*, vol. 253, no. 7–8, pp. 977–1055, Apr. 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.07.004>.
- [190] K. Jomova, S. Y Alomar, R. Valko, E. Nepovimova, K. Kuca, M. Valko, 'The role of redox-active iron, copper, manganese, and redox-inactive zinc in toxicity, oxidative stress, and human diseases', *EXCLI J.*, vol. 24, pp. 880–954, Jul. 2025, doi: <https://doi.org/10.17179/excli2025-8449>.
- [191] B. Sharma, S. Shukla, R. Rattan, M. Fatima, M. Goel, M. Bhat, S. Dutta, R. K. Ranjan, M. Sharma, 'Antimicrobial Agents Based on Metal Complexes: Present Situation and Future Prospects', *Int. J. Biomater.*, vol. 2022, pp. 1–21, Dec. 2022, doi: <https://doi.org/10.1155/2022/6819080>.
- [192] M. W. Bowler, M. G. Montgomery, A. G. W. Leslie, J. E. Walker, 'How azide inhibits ATP hydrolysis by the F-ATPases', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103, no. 23, pp. 8646–8649, Jun. 2006, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0602915103>.
- [193] M. C. Bennett, G. W. Mlady, Y. Kwon, G. M. Rose, 'Chronic In Vivo Sodium Azide Infusion Induces Selective and Stable Inhibition of Cytochrome c Oxidase', *J. Neurochem.*, vol. 66, no. 6, pp. 2606–2611, Jun. 1996, doi: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.66062606.x>.
- [194] Y. Lin, H. Betts, S. Keller, K. Cariou, G. Gasser, 'Recent developments of metal-based compounds against fungal pathogens', *Chem. Soc. Rev.*, vol. 50, no. 18, pp. 10346–10402, 2021, doi: <https://doi.org/10.1039/d0cs00945h>.
- [195] K. Bajaj, R. M. Buchanan, C. A. Grapperhaus, 'Antifungal activity of thiosemicarbazones, bis(thiosemicarbazones), and their metal complexes', *J. Inorg. Biochem.*, vol. 225, p. 111620, Dec. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111620>.

7. PRILOZI

Slika P1. IR spektar liganda **HL**¹Cl.

Slika P2. ¹H NMR spektar liganda **HL**¹Cl.

Slika P3. ¹³C NMR spektar liganda **HL**¹Cl.

Slika P4. IR spektar liganda **HL**².

Slika P5. ¹H NMR spektar liganda **HL**².

Slika P6. ¹³C NMR spektar liganda **HL**².

Slika P7. IR spektar liganda **HL**³.

Slika P8. ¹H NMR spektar liganda **HL**³.

Slika P9. ¹³C NMR spektar liganda **HL**³.

Slika P10. IR spektar liganda **HL**⁴.

Slika P11. ¹H NMR spektar liganda **HL**⁴.

Slika P12. ¹³C NMR spektar liganda **HL**⁴.

Slika P13. IR spektar kompleksa **1** [ZnL¹(NCO)₂].

Slika P14. ¹H NMR spektar kompleksa **1** [ZnL¹(NCO)₂].

Slika P15. ¹³C NMR spektar kompleksa **1** [ZnL¹(NCO)₂].

Slika P16. IR spektar kompleksa **2** [Zn(L¹)₂](BF₄)₂.

Slika P17. ¹H NMR spektar kompleksa **2** [Zn(L¹)₂](BF₄)₂.

Slika P18. ¹³C NMR spektar kompleksa **2** [Zn(L¹)₂](BF₄)₂.

Slika P19. IR spektar kompleksa **3** [ZnL¹(N₃)₂].

Slika P20. ¹H NMR spektar kompleksa **3** [ZnL¹(N₃)₂].

Slika P21. ¹³C NMR spektar kompleksa **3** [ZnL¹(N₃)₂].

Slika P22. IR spektar kompleksa **4** [Zn(L²)₂].

Slika P23. ¹H NMR spektar kompleksa **4** [Zn(L²)₂].

Slika P24. ¹³C NMR spektar kompleksa **4** [Zn(L²)₂].

Slika P25. IR spektar kompleksa **5** [Mn(L²)₂].

Slika P26. IR spektar kompleksa **6** [Mn(L³)₂]·½H₂O.

Slika P27. IR spektar kompleksa **7** [ZnL⁴(NCS)(H₂O)].

Slika P28. ¹H NMR spektar kompleksa **7** [ZnL⁴(NCS)(H₂O)].

Slika P29. ¹³C NMR spektar kompleksa **7** [ZnL⁴(NCS)(H₂O)].

Slika P30. UV-Vis spektri cinkovih kompleksa **1–3** u DMSO-u (10⁻⁴ M), odmah nakon pripreme i posle 24 h.

Slika P31. UV-Vis spektri cinkovih kompleksa **4** (10^{-5} M), **7** i **8** ($0,5 \times 10^{-4}$ M) u DMSO-u, odmah nakon pripreme i posle 24 h.

Slika P32. UV-Vis spektri manganovih kompleksa **5**, **6** i **9** u DMSO-u (10^{-5} M), odmah nakon pripreme i posle 24 h.

Slika P33. UV-Vis spektri liganada **HL**¹**Cl**–**HL**⁴

Slika P34. TDDFT izračunati apsorpcioni spektar Zn(II) kompleksa **4** na ω B97X-D4rev/def2-TZVP(–f) nivou teorije uz primenu SMD modela solvatacije za DMSO.

Slika P35. Granične molekulske orbitale (HOMO–1, HOMO, LUMO i LUMO+1) Zn(II) kompleksa **4** izračunate na ω B97X-D4rev/def2-TZVP(–f) nivou teorije uz primenu SMD modela solvatacije za DMSO.

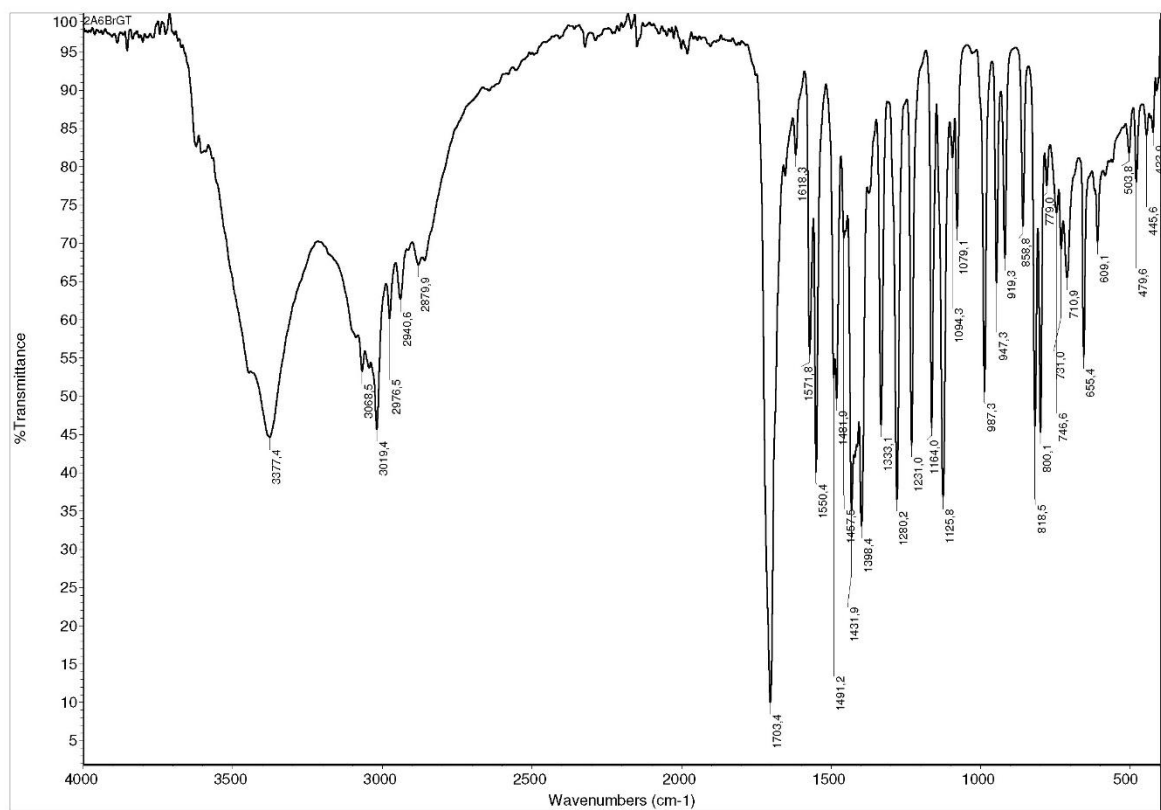
Slika P36. Dvostruki deskriptor Fukuijeve funkcije, izračunat na ZORA-CAM-B3LYP/TZP-COSMO(voda)//ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO(voda) nivou teorije za ligand (**HL**¹)⁺ i komplekse **1–3**.

Slika P37. Paulijeve deformacione gustine i orbitalne deformacione gustine izračunate za komplekse **1–3**.

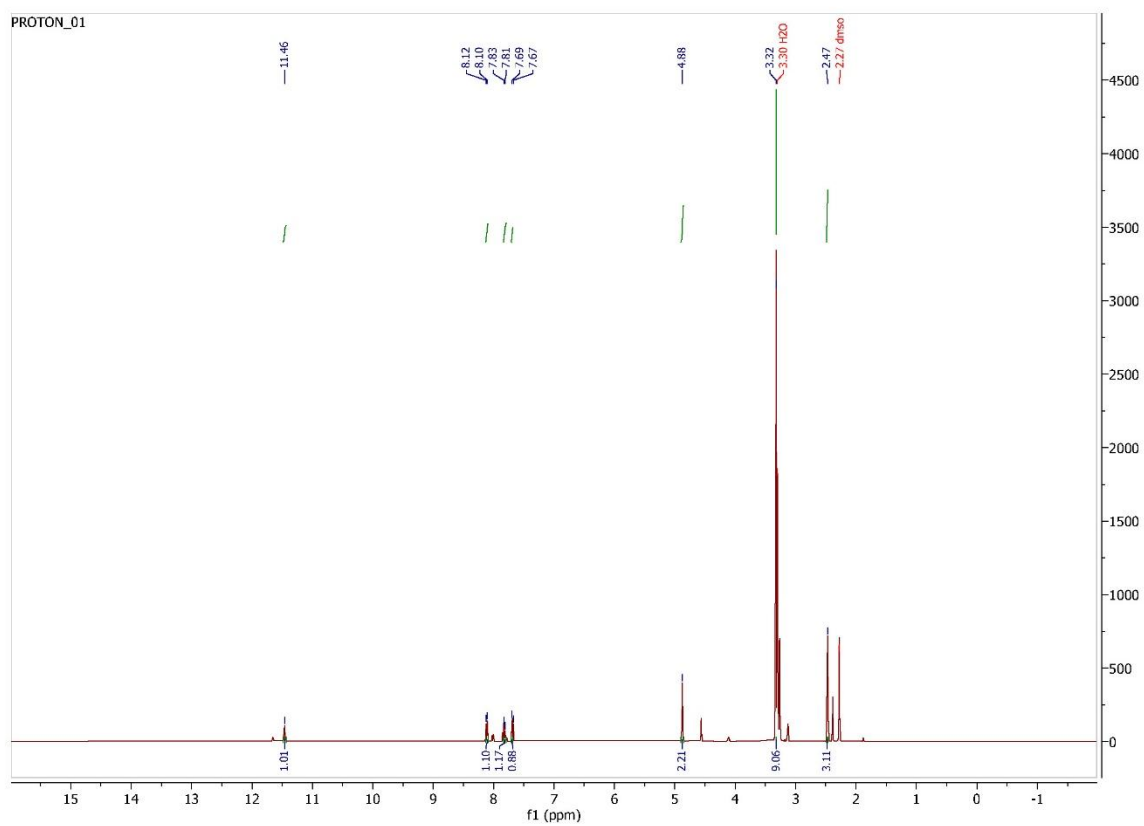
Slika P38. A) Najpovoljnije konformacije vezivanja ispitivanih kompleksa sa enzimom CYP51. B) i C) Dvodimenzionalni dijagrami interakcija kompleksa **1** i **3** sa aminokiselinskim ostacima aktivnog mesta enzima CYP51.

Slika P39. A) Najpovoljnije konformacije vezivanja kompleksa **2** (plavi štapići), kompleksa **1** (crni štapići) i kompleksa **3** (žuti štapići) sa enzimom SQS, dobijene studijom molekuskog dokinga. B) i C) Dvodimenzionalni dijagrami interakcija između kompleksa **1** i kompleksa **3**, respektivno, i aminokiselinskih ostataka aktivnog mesta enzima SQS.

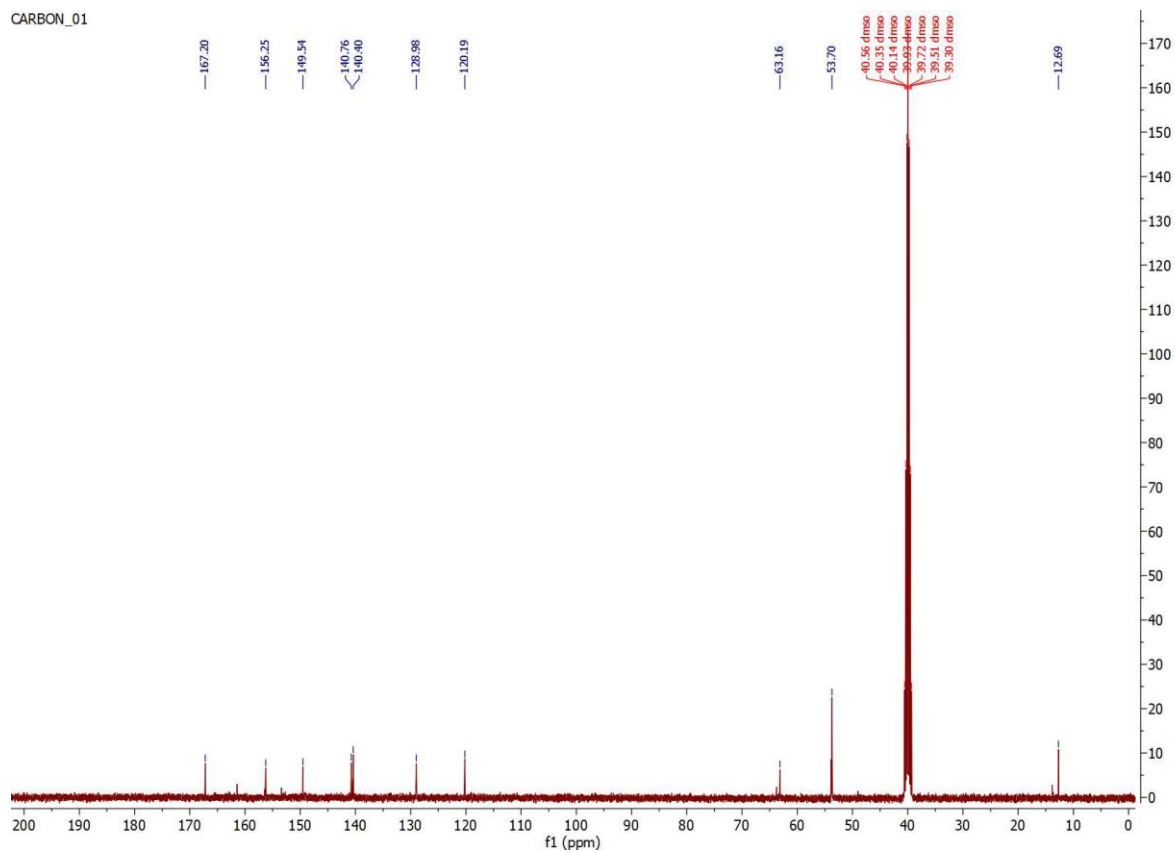
Slika P40. Najpovoljnije konformacije vezivanja ispitivanih kompleksa dobijene studijom molekuskog dokinga za enzime: A) HMG-CoA transferazu, B) SMT i C) SQE. Oznake boja: crni štapići – kompleks **1**, plavi štapići – kompleks **2**, žuti štapići – kompleks **3**.



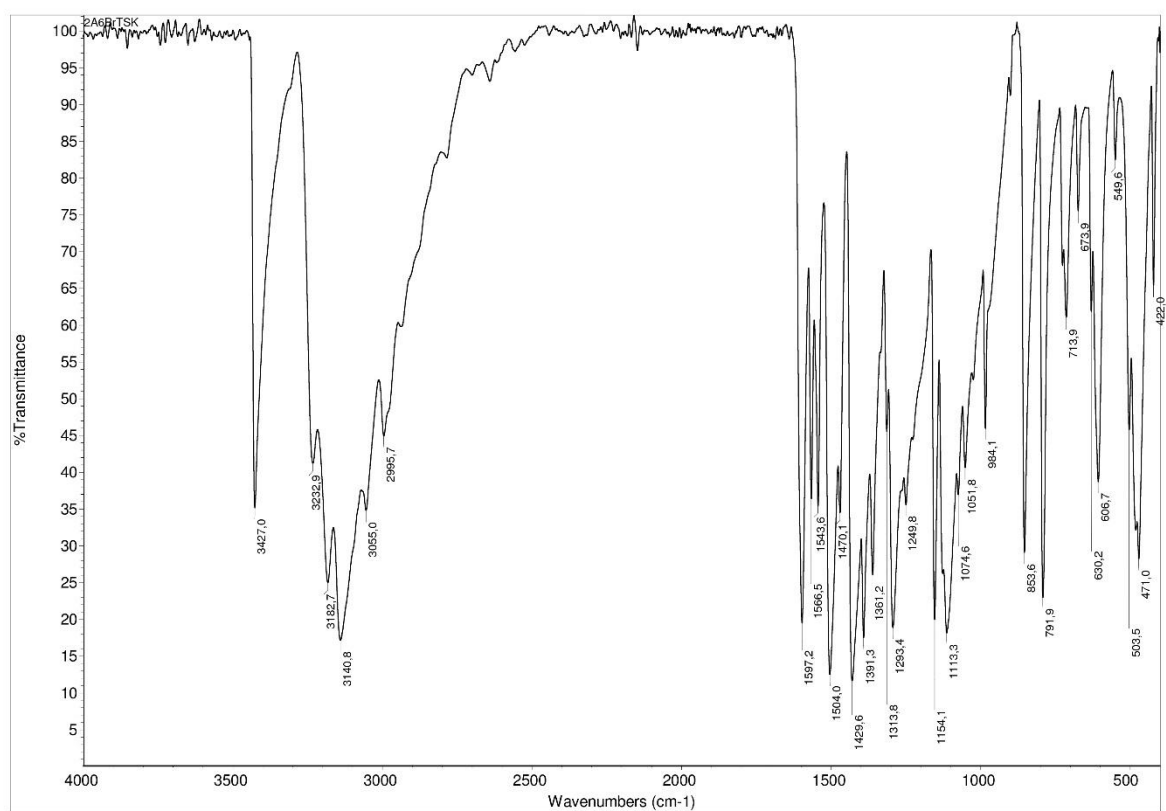
Slika P1. IR spektar liganda HL^1Cl



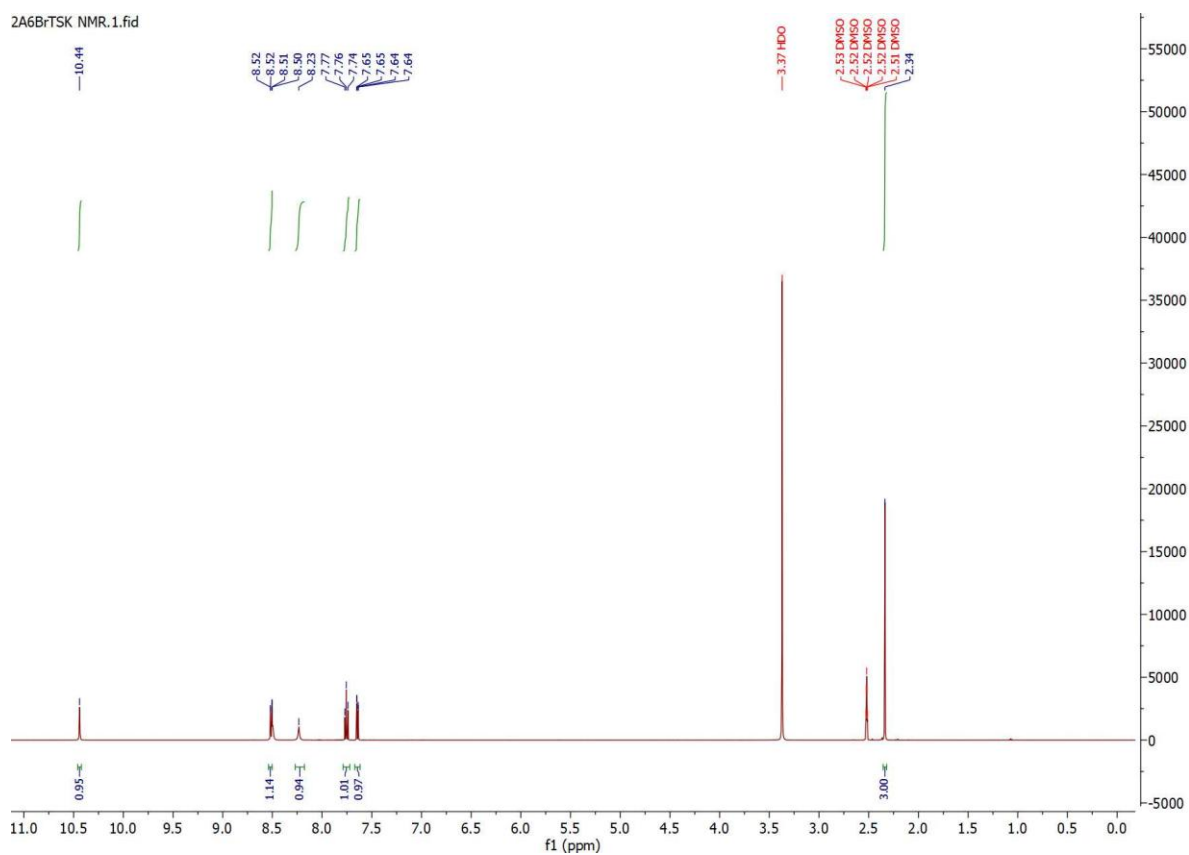
Slika P2. ^1H NMR spektar liganda HL^1Cl



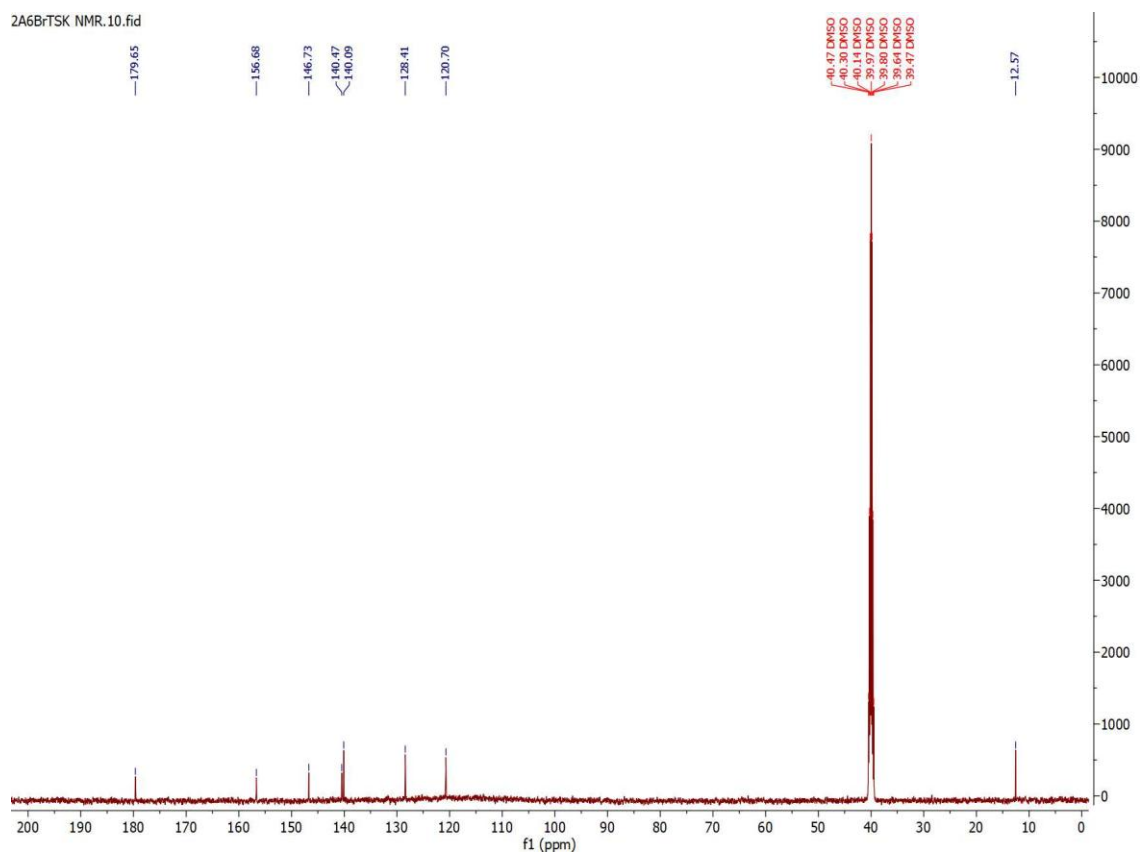
Slika P3. ^{13}C NMR spektar liganda HL^1Cl



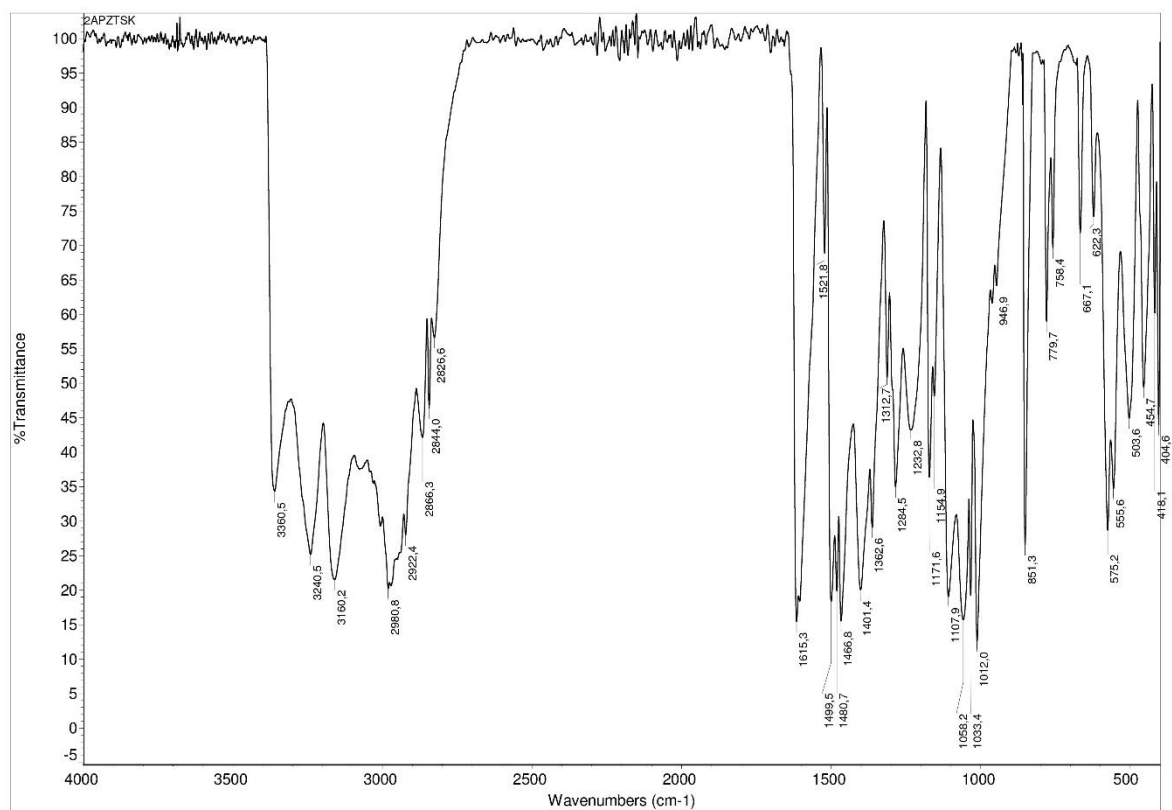
Slika P4. IR spektar liganda HL^2



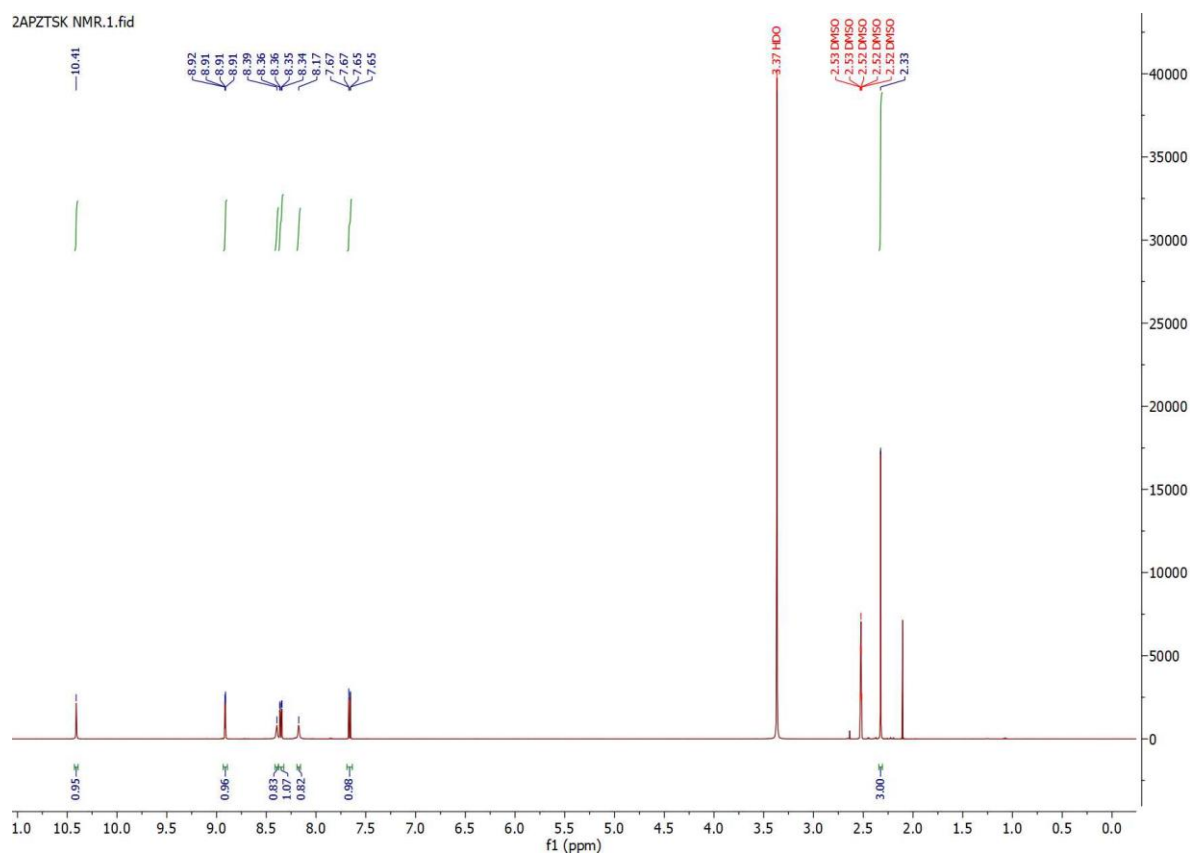
Slika P5. ^1H NMR spektar liganda HL^2



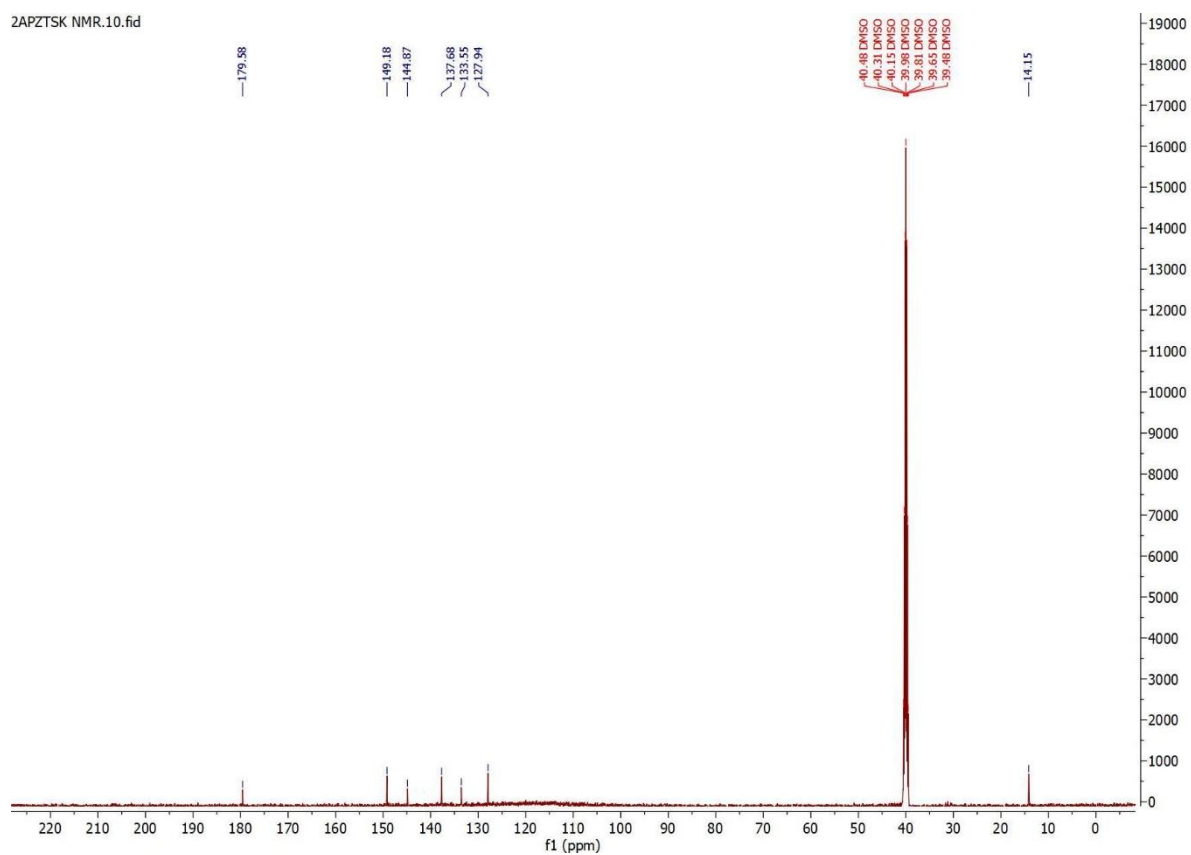
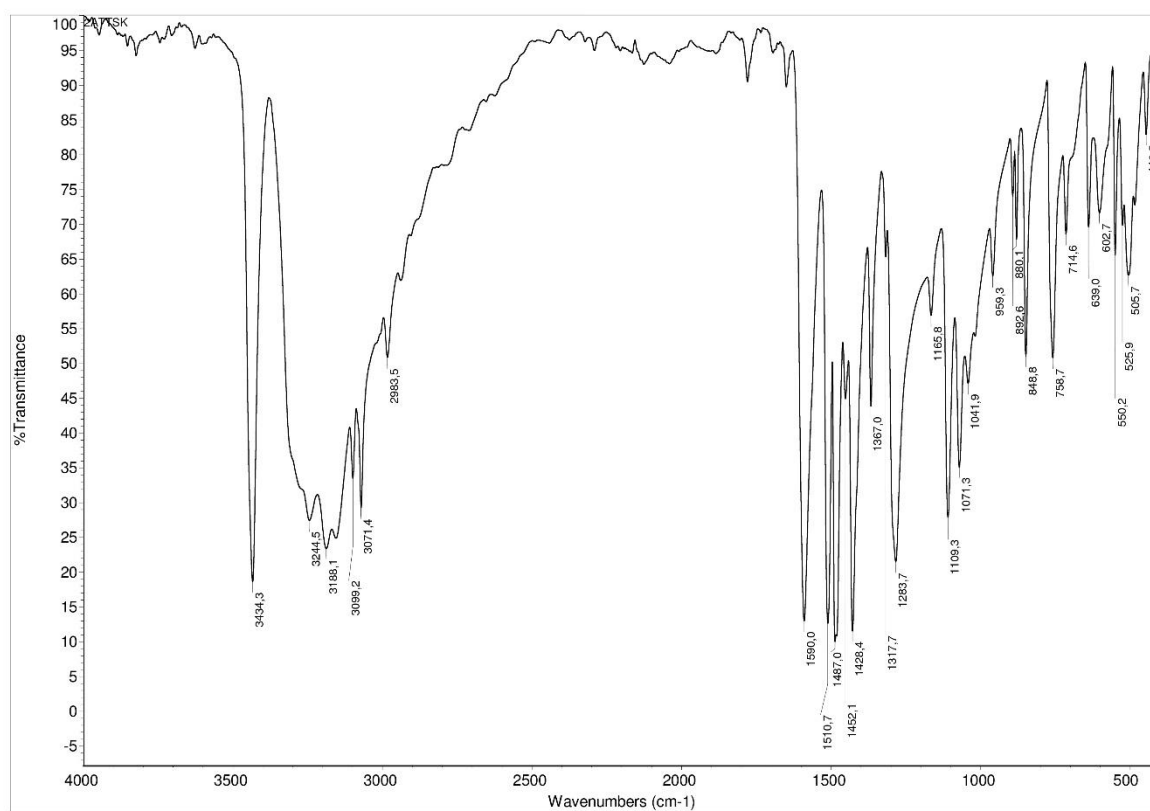
Slika P6. ^{13}C NMR spektar liganda HL^2

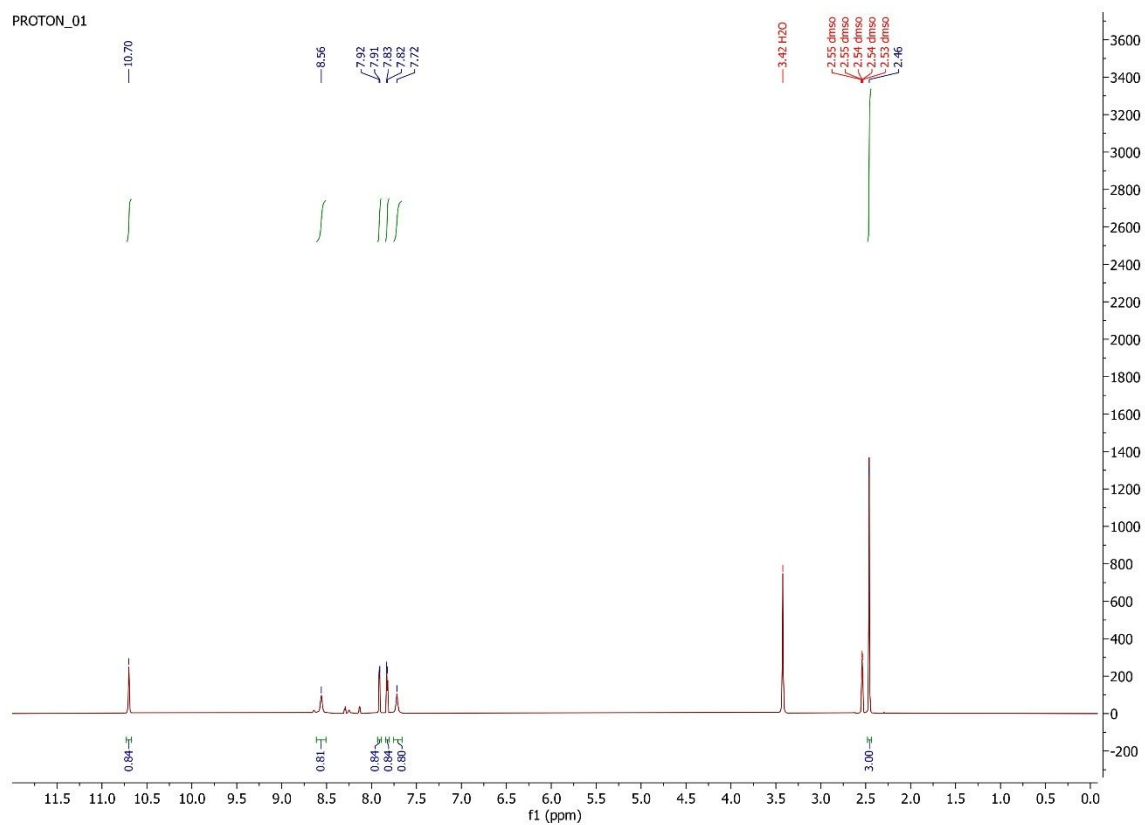


Slika P7. IR spektar liganda HL³

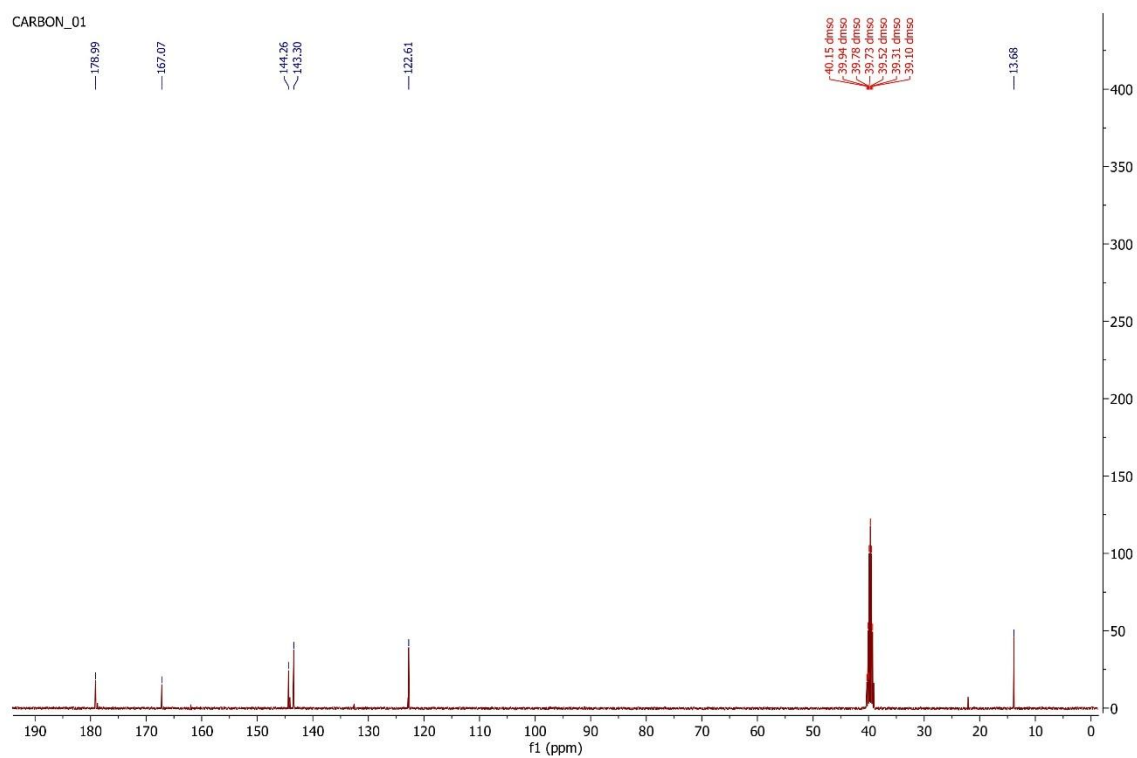


Slika P8. ¹H NMR spektar liganda HL³

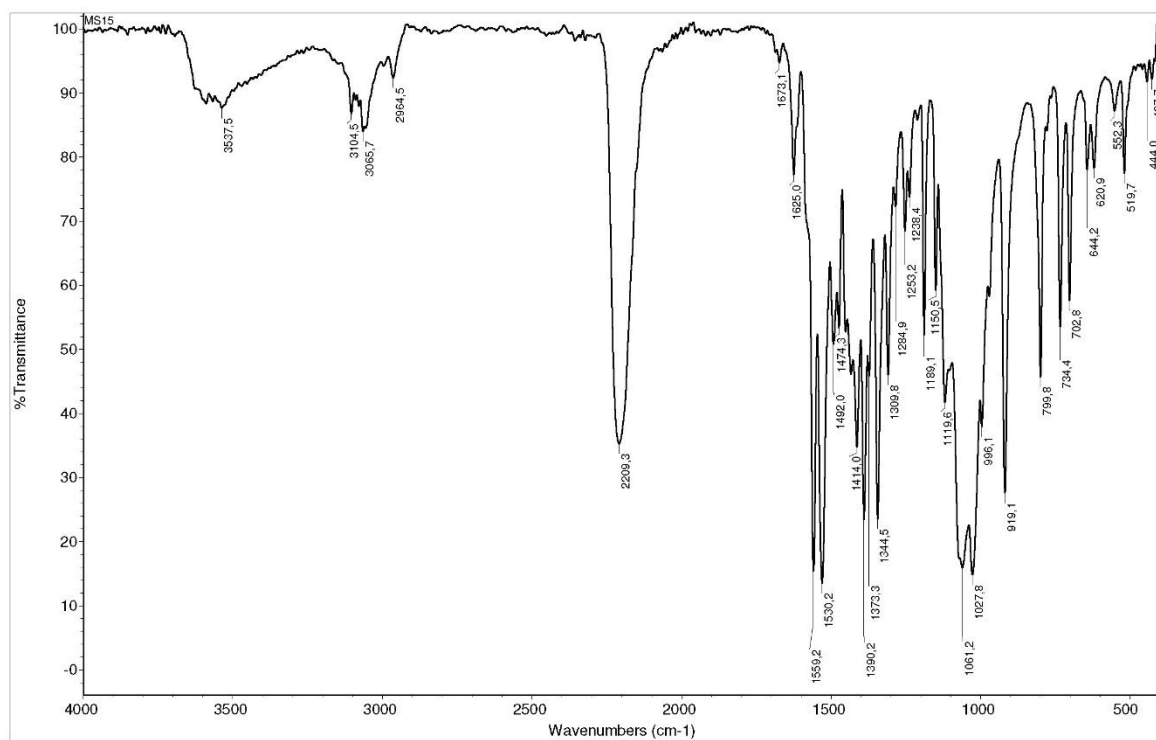
Slika P9. ¹³C NMR spektar liganda HL³Slika P10. IR spektar liganda HL⁴



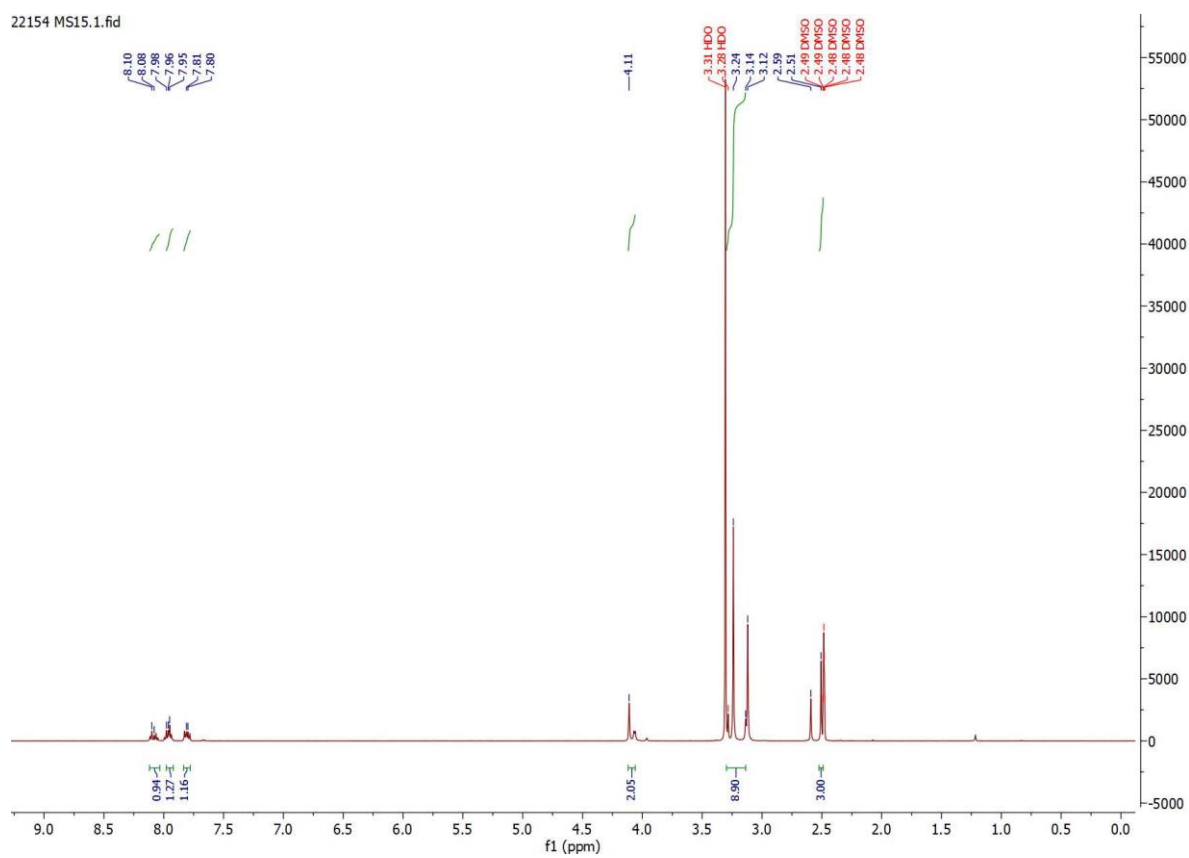
Slika P11. ^1H NMR spektar liganda HL⁴



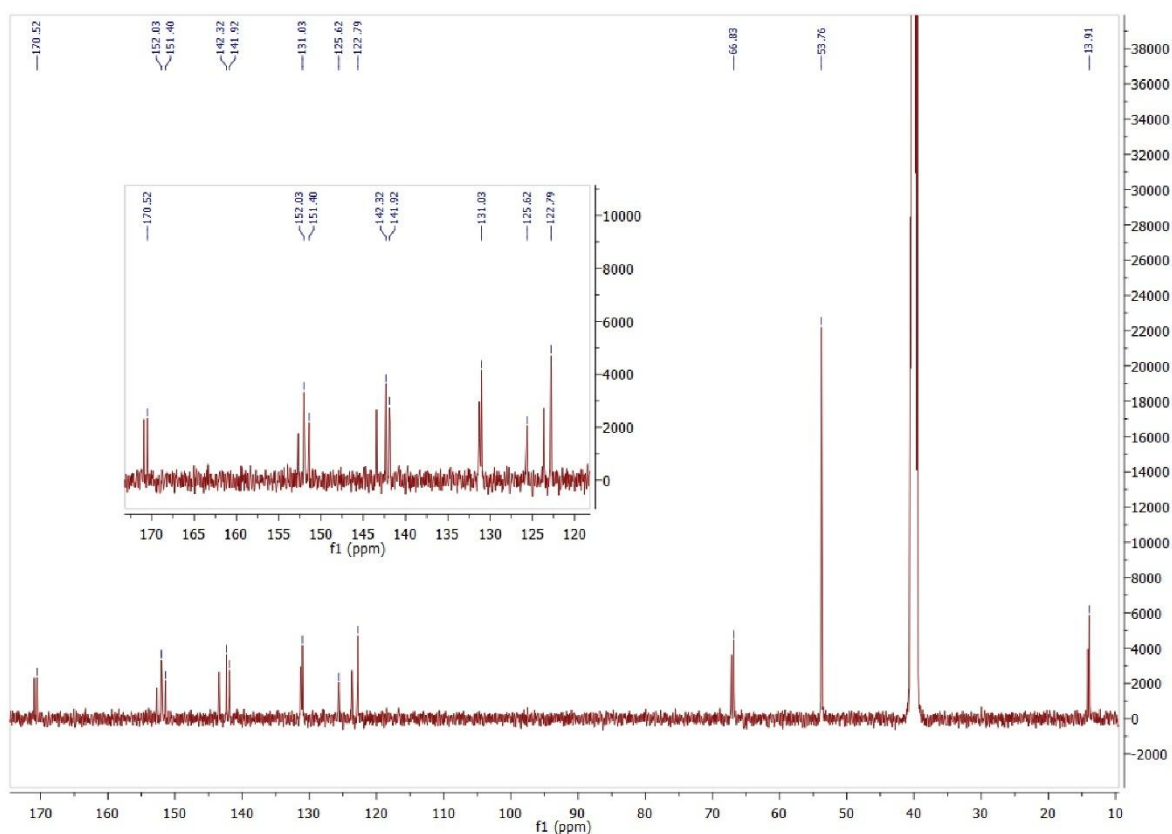
Slika P12. ^{13}C NMR spektar liganda HL⁴



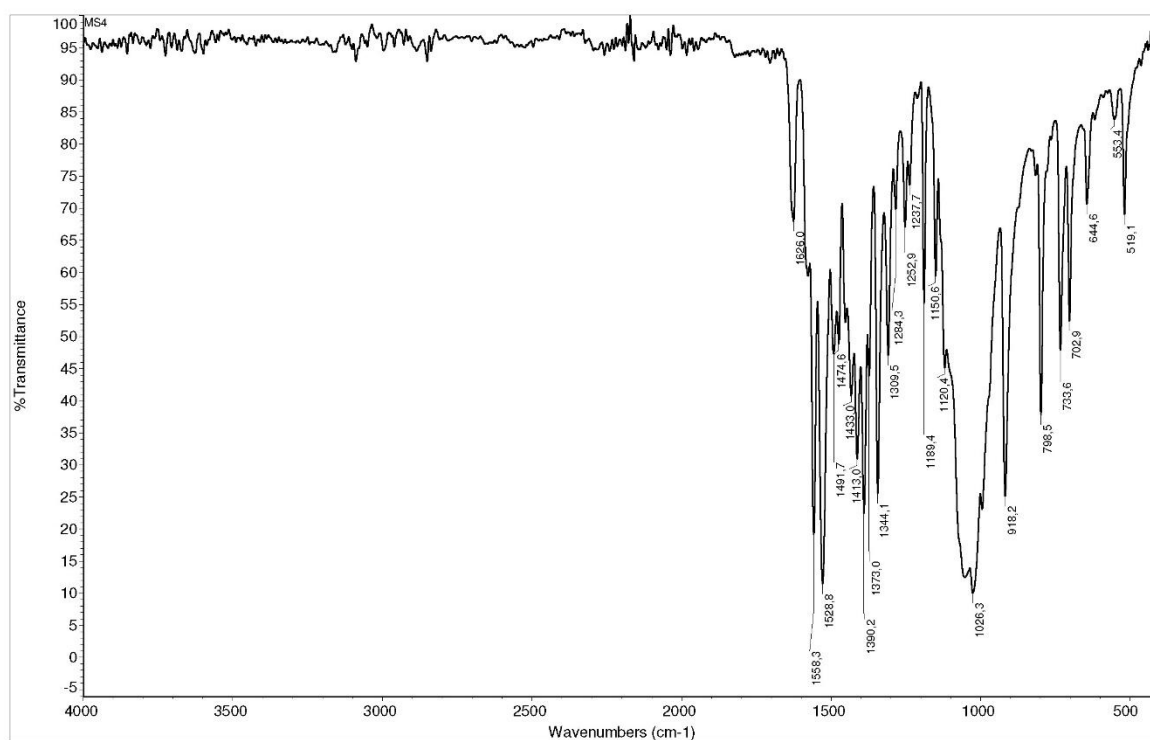
Slika P13. IR spektar kompleksa 1 [ZnL¹(NCO)₂]



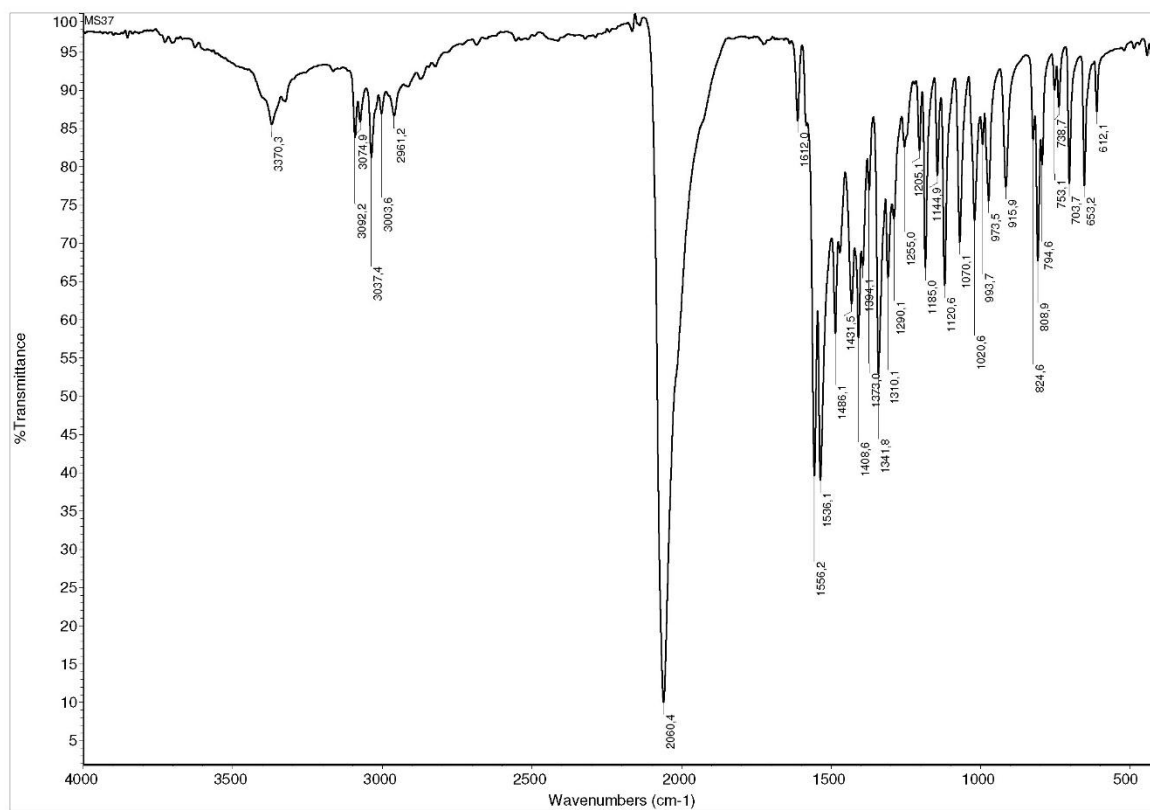
Slika P14. ¹H NMR spektar kompleksa 1 [ZnL¹(NCO)₂]



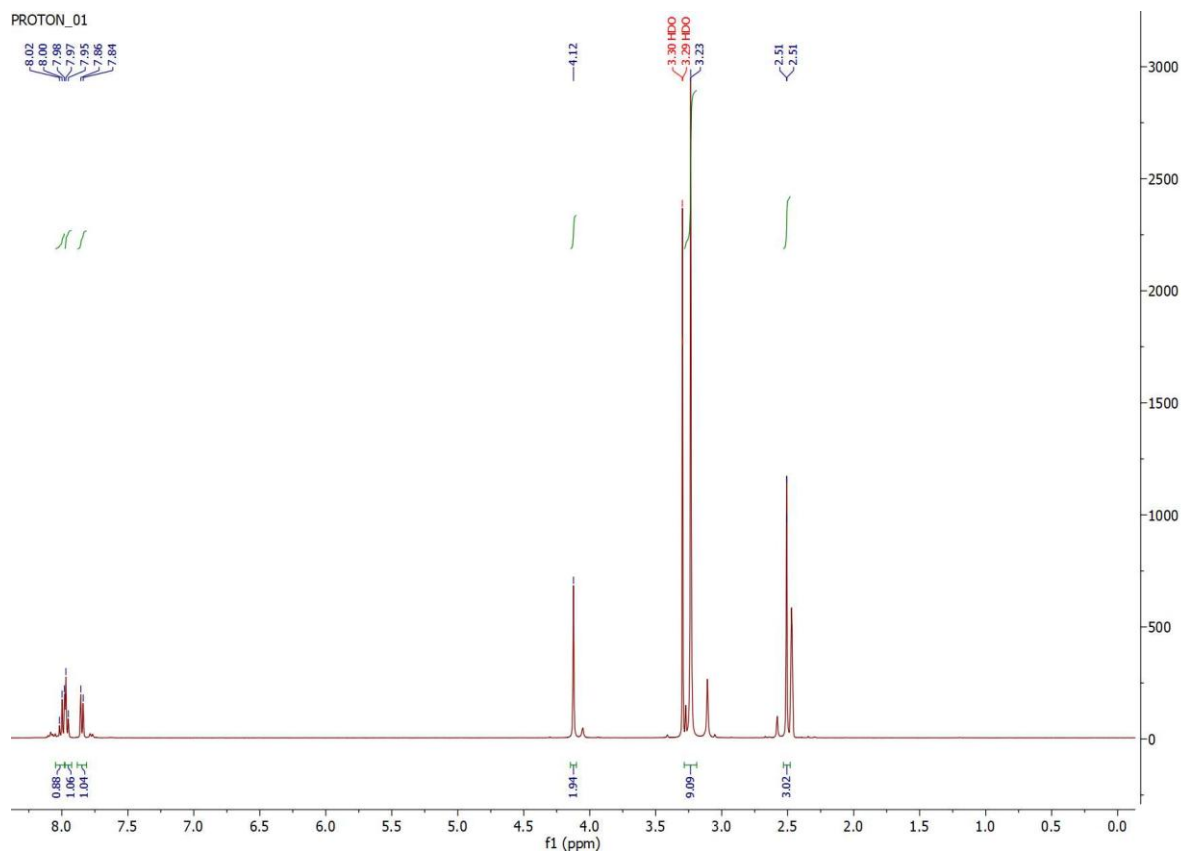
Slika P15. ^{13}C NMR spektar kompleksa 1 $[\text{ZnL}^1(\text{NCO})_2]$



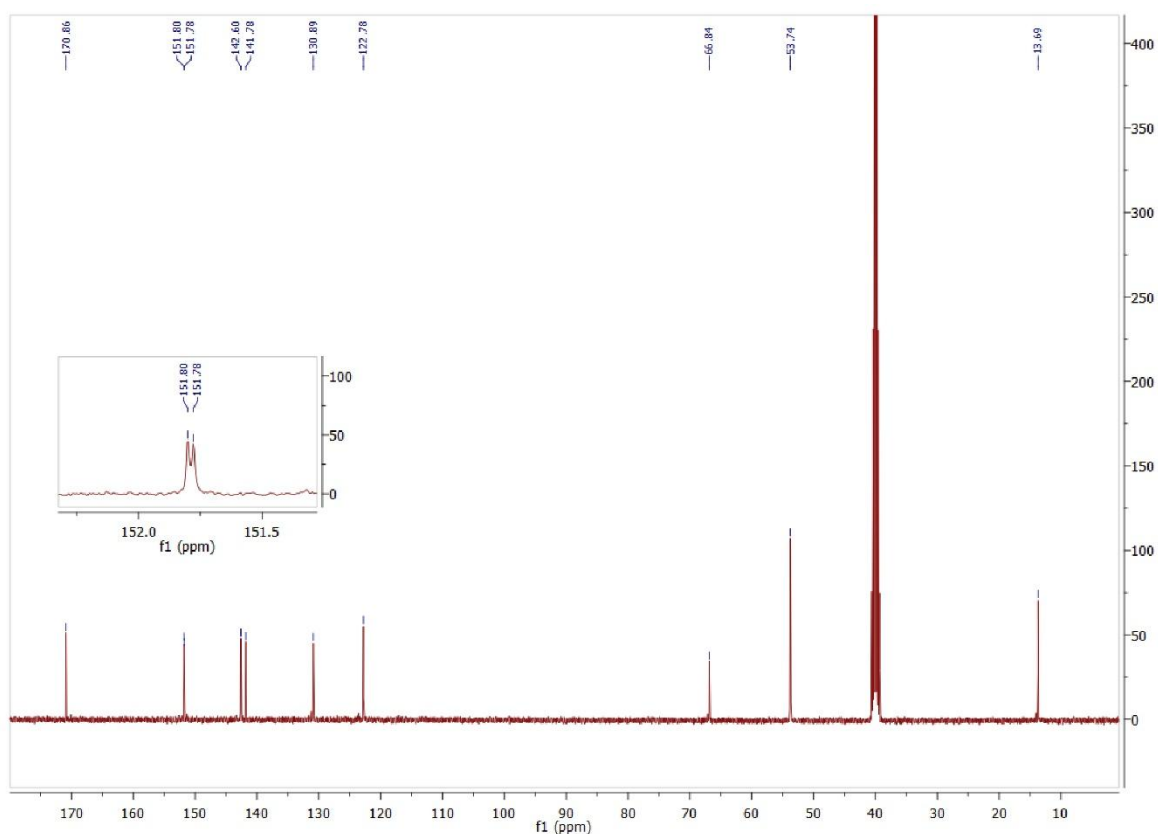
Slika P16. IR spektar kompleksa 2 $[\text{Zn}(\text{L}^1)_2](\text{BF}_4)_2$



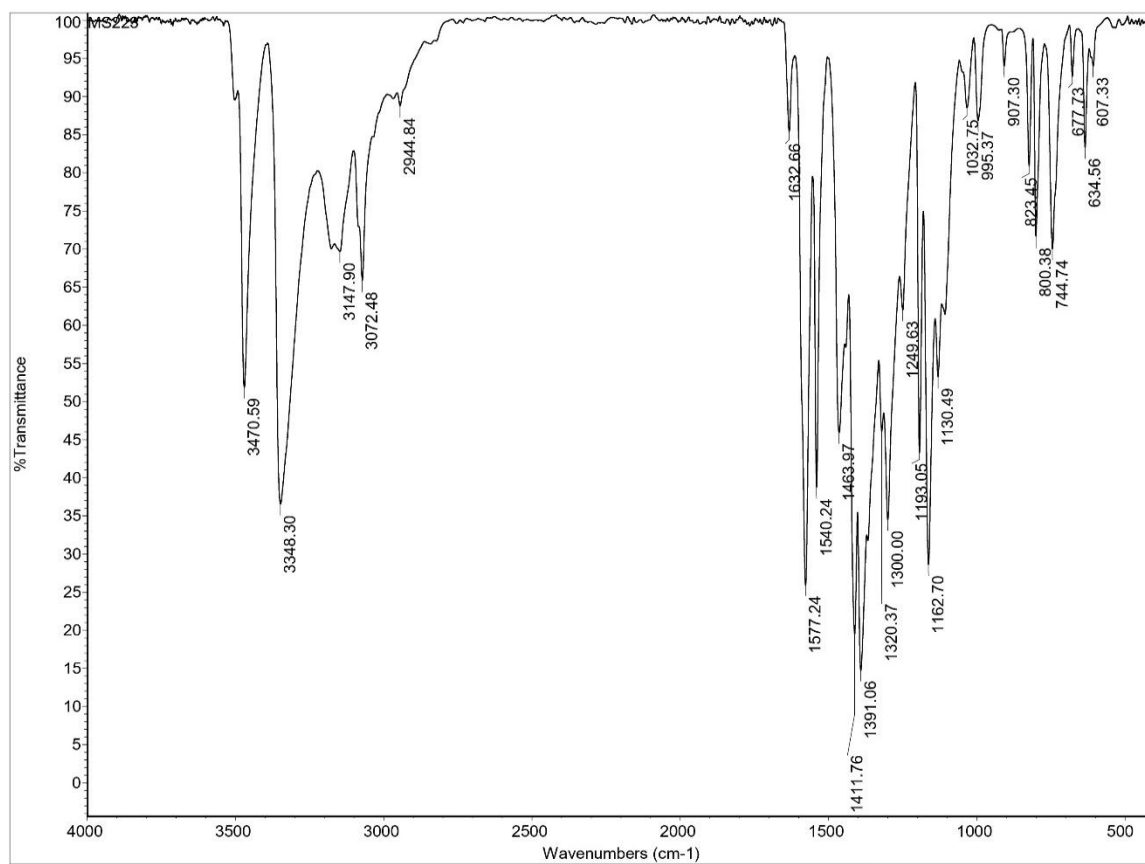
Slika P19. IR spektar kompleksa 3 [ZnL¹(N₃)₂]



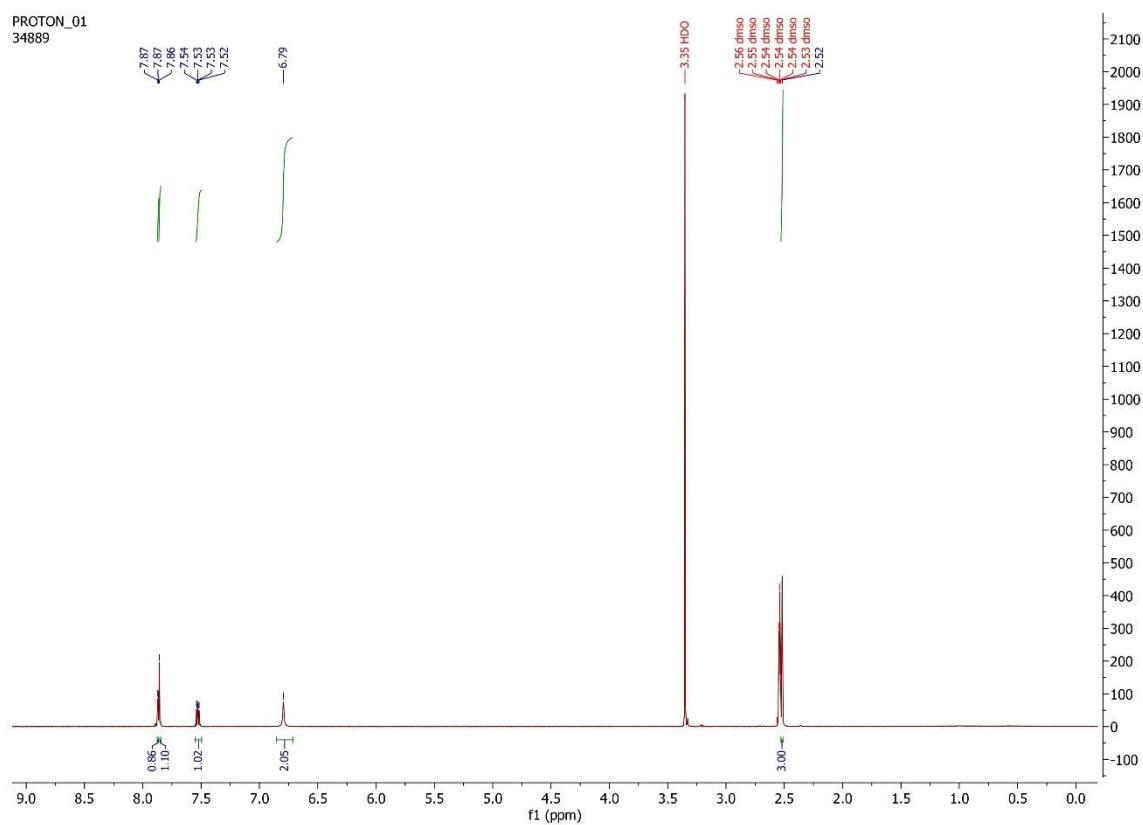
Slika P20. ¹H NMR spektar kompleksa 3 [ZnL¹(N₃)₂]



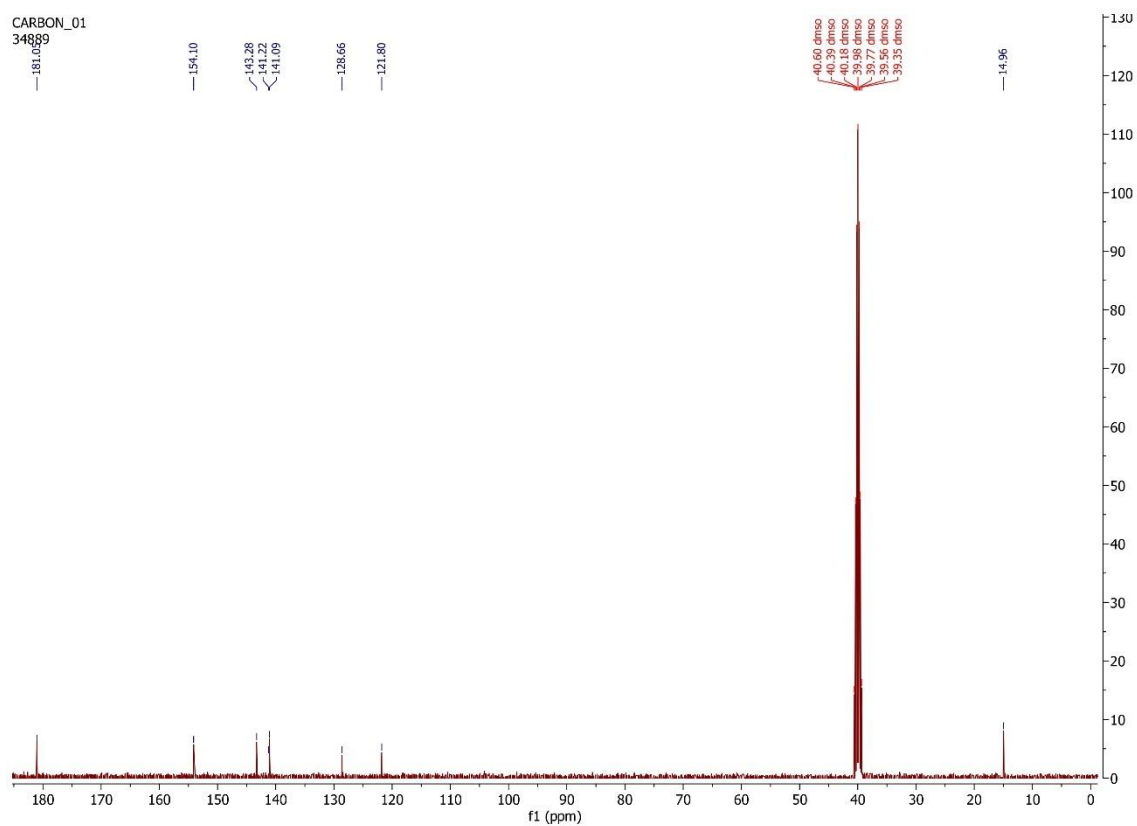
Slika P21. ¹³C NMR spektar kompleksa 3 [ZnL¹(N₃)₂]



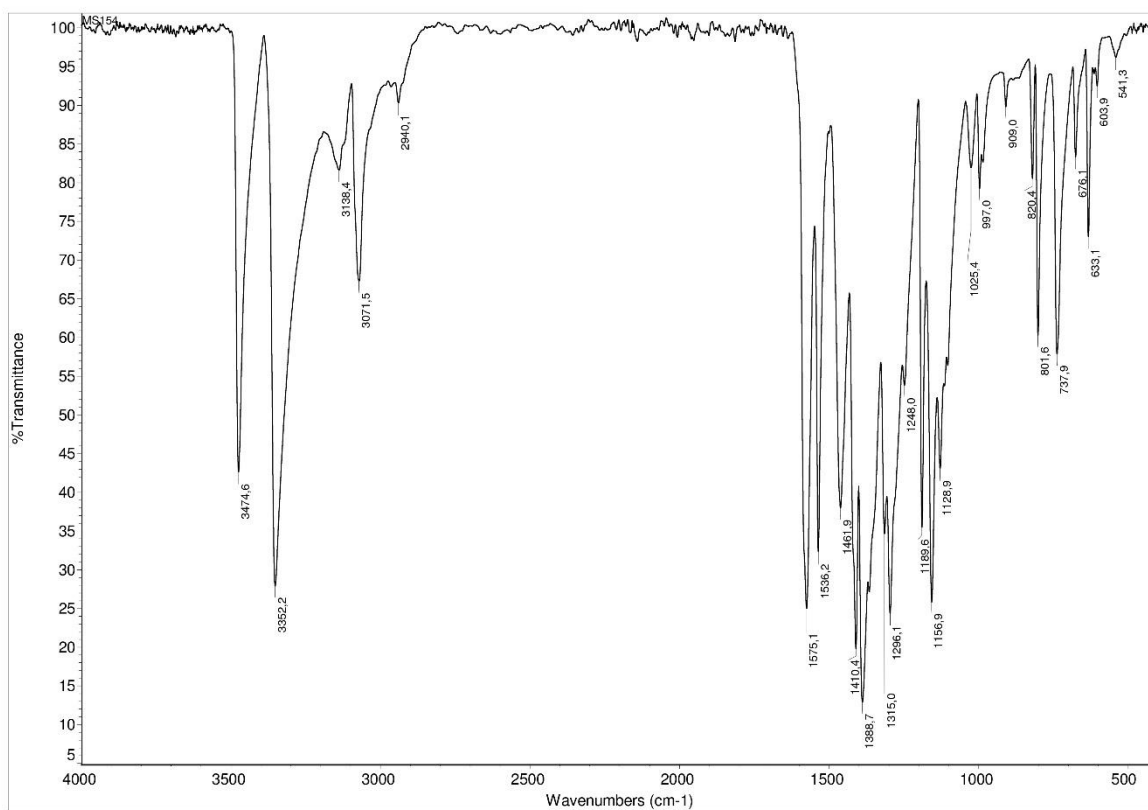
Slika P22. IR spektar kompleksa 4 [Zn(L²)₂]



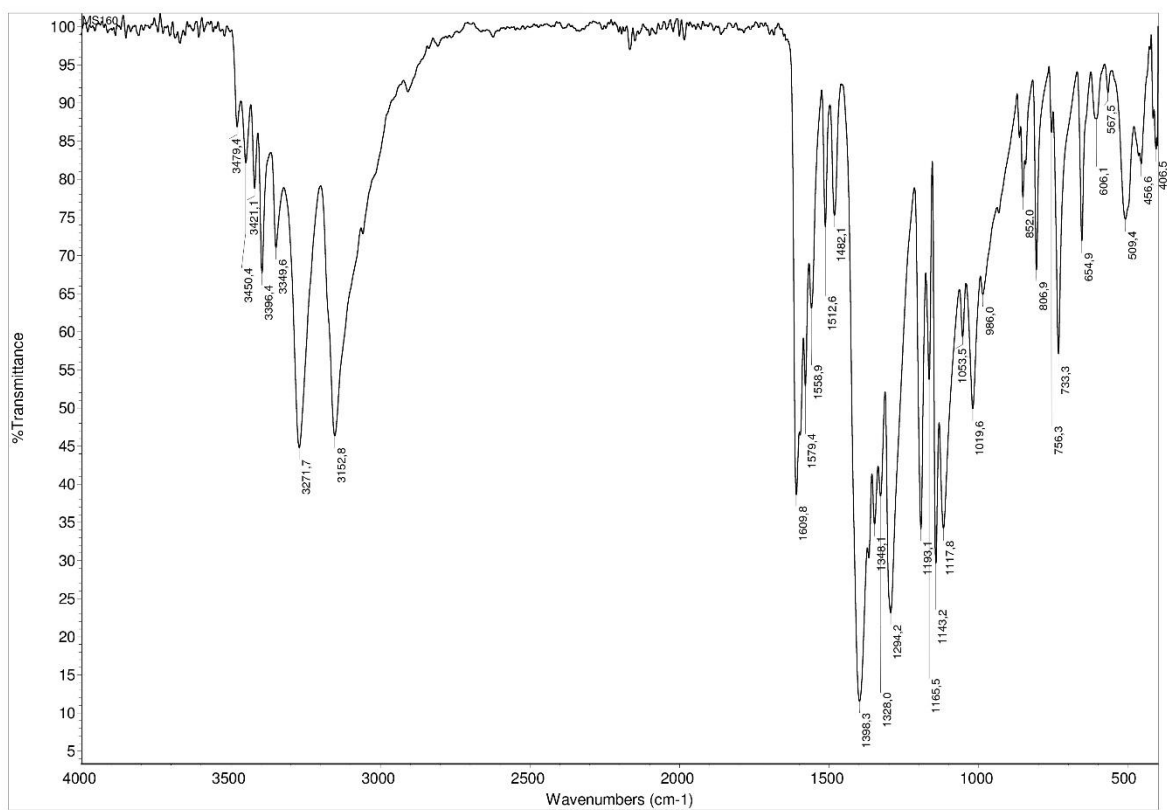
Slika P23. ^1H NMR spektar kompleksa 4 $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$



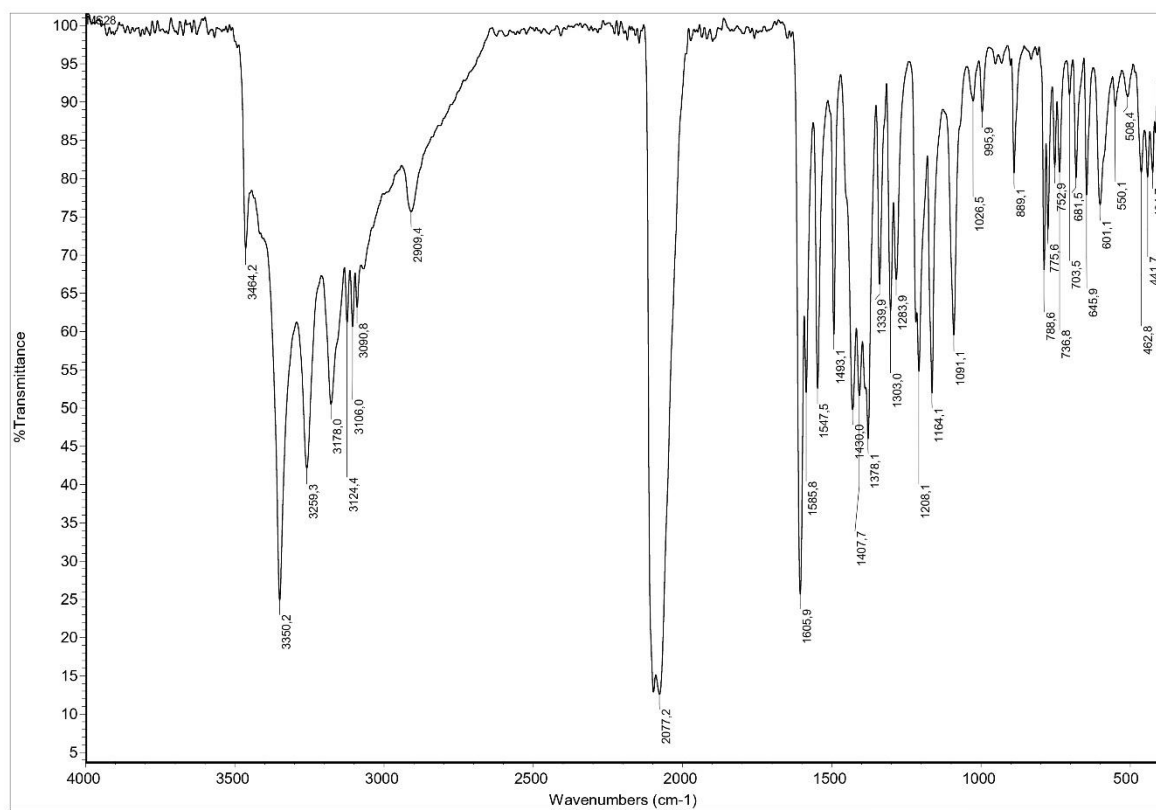
Slika P24. ^{13}C NMR spektar kompleksa 4 $[\text{Zn}(\text{L}^2)_2]$



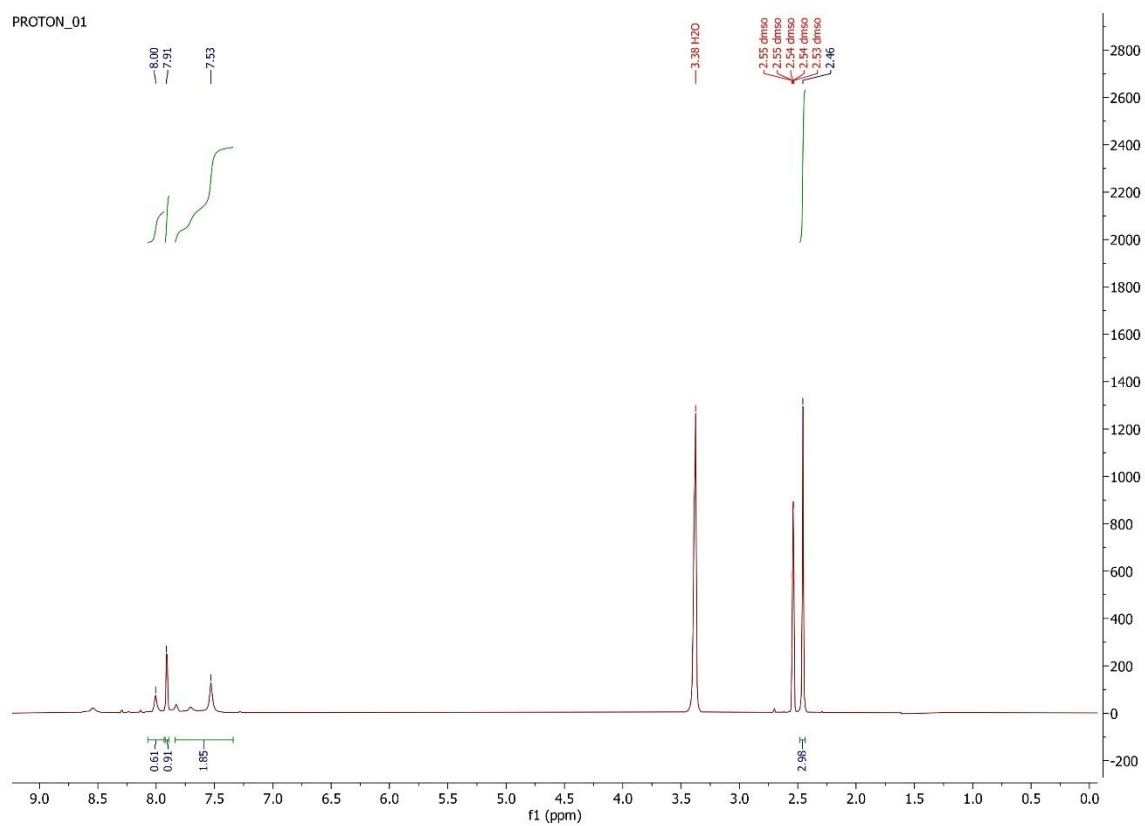
Slika P25. IR spektar kompleksa 5 $[\text{Mn}(\text{L}^2)_2]$



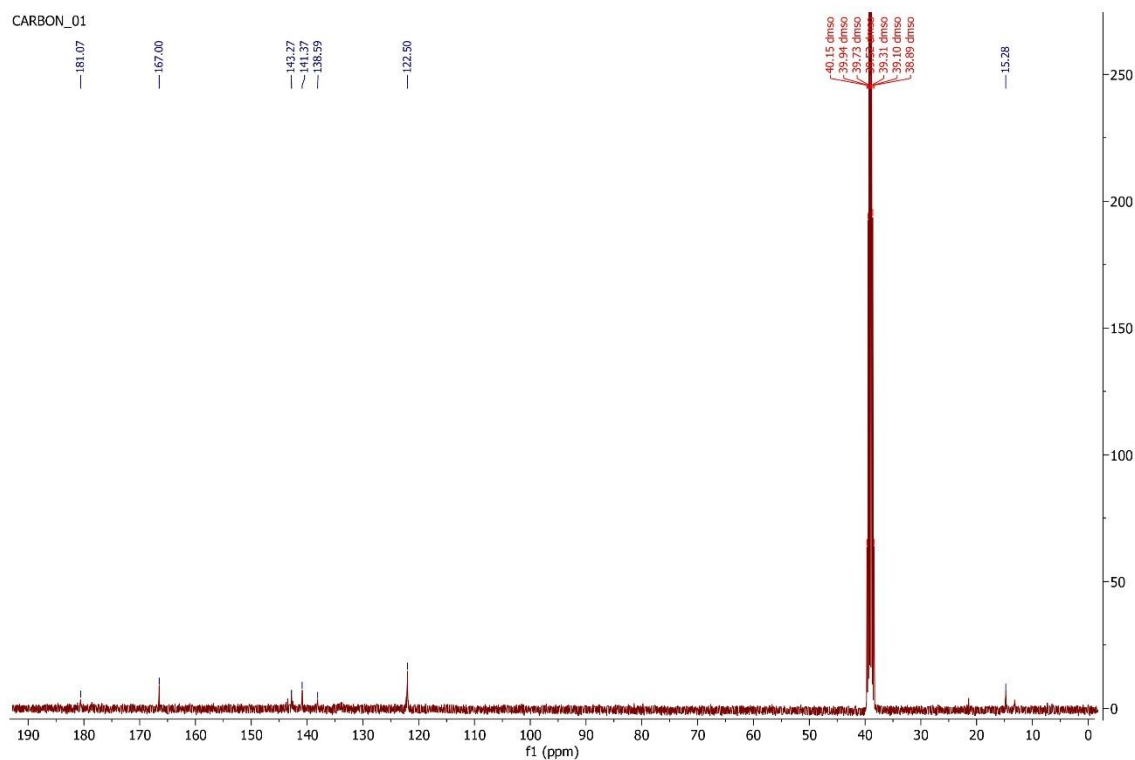
Slika P26. IR spektar kompleksa 6 $[\text{Mn}(\text{L}^3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$



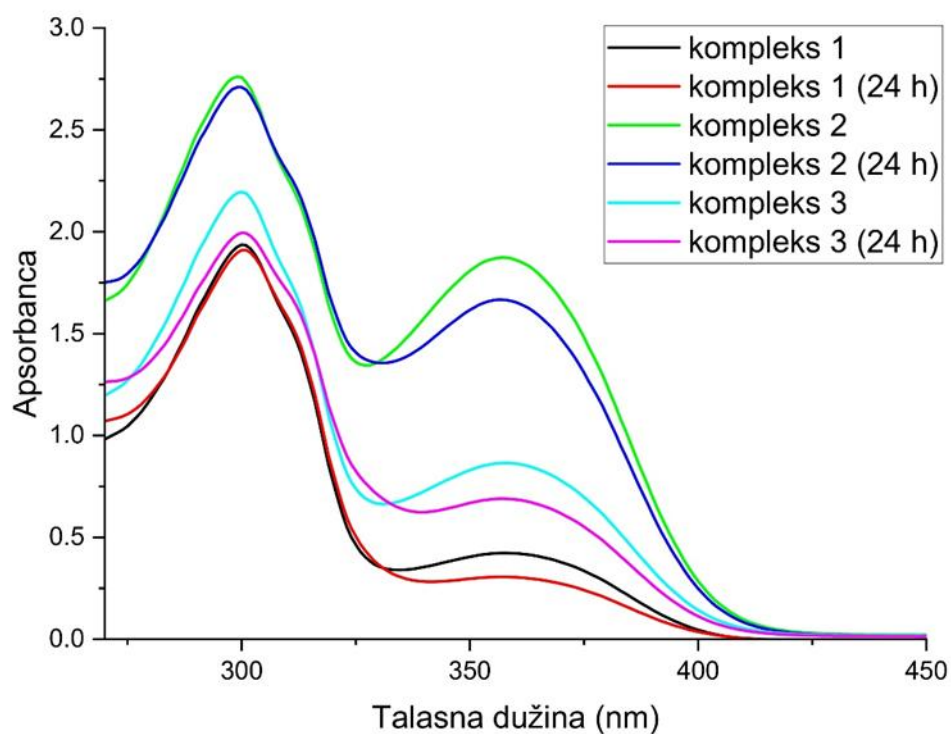
Slika P27. IR spektar kompleksa 7 [ZnL⁴(NCS)(H₂O)]



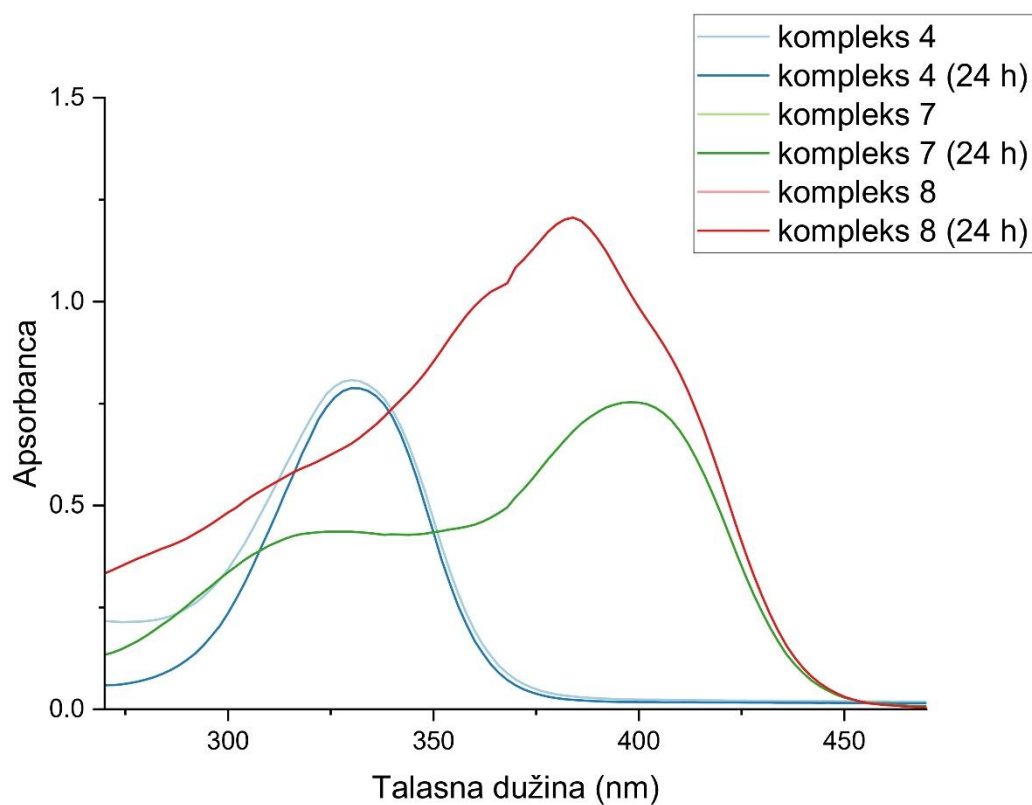
Slika P28. ¹H NMR spektar kompleksa 7 [ZnL⁴(NCS)(H₂O)]



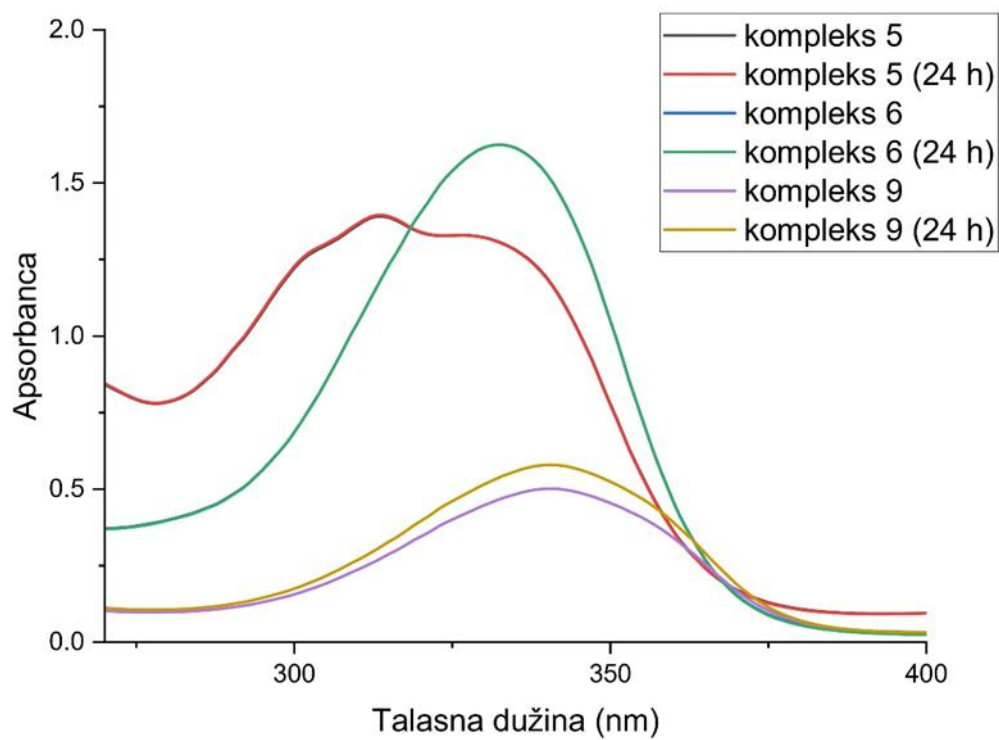
Slika P29. ^{13}C NMR spektar kompleksa 7 $[\text{ZnL}^4(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})]$



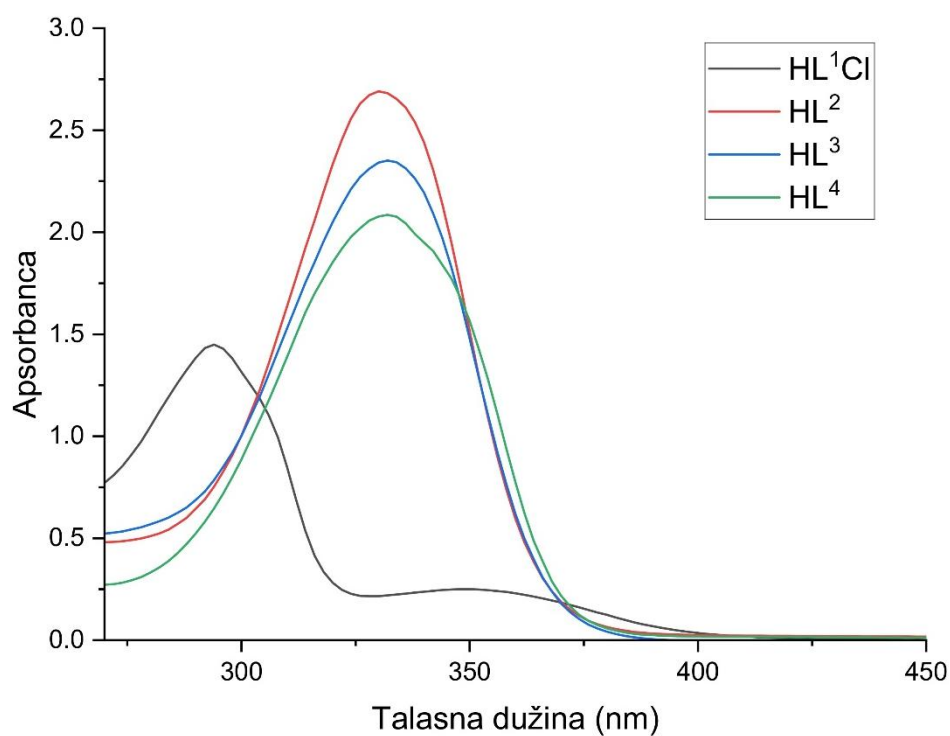
Slika P30. UV-Vis spektri cinkovih kompleksa 1–3 u DMSO-u (10^{-4} M), odmah nakon pripreme i posle 24 h



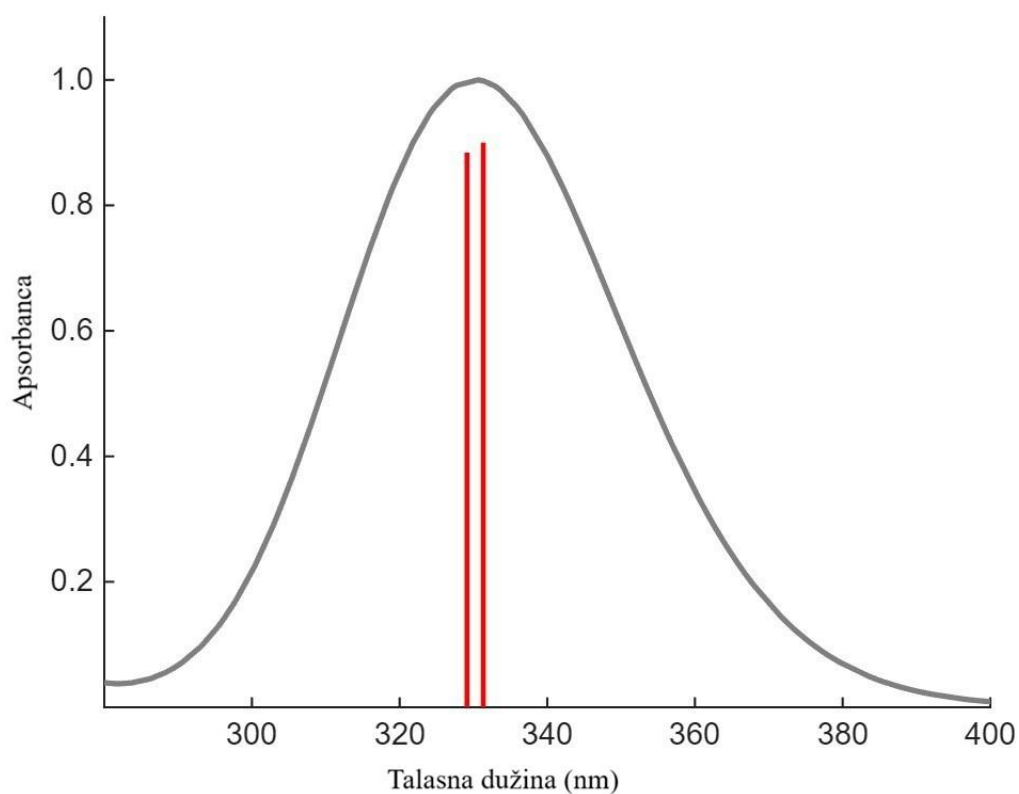
Slika P31. UV-Vis spektri cinkovih kompleksa **4**, **7** i **8** u DMSO-u ($0,5 \times 10^{-4}$ M), odmah nakon pripreme i posle 24 h



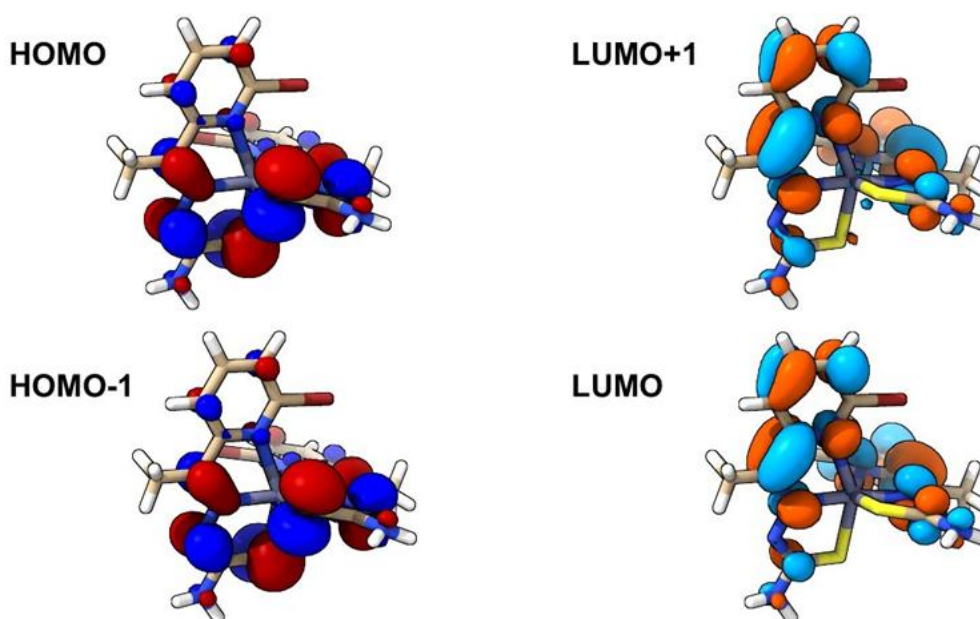
Slika P32. UV-Vis spektri manganovih kompleksa **5**, **6** i **9** u DMSO-u (10^{-5} M), odmah nakon pripreme i posle 24 h



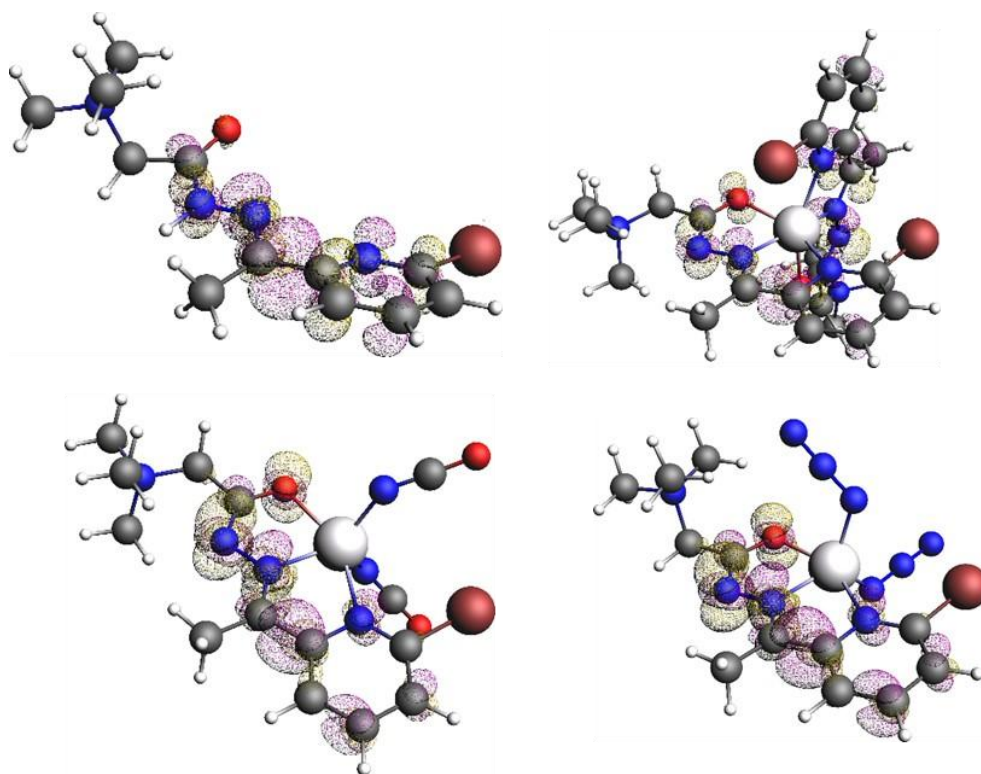
Slika P33. UV-Vis spektri liganada HL^1Cl – HL^4



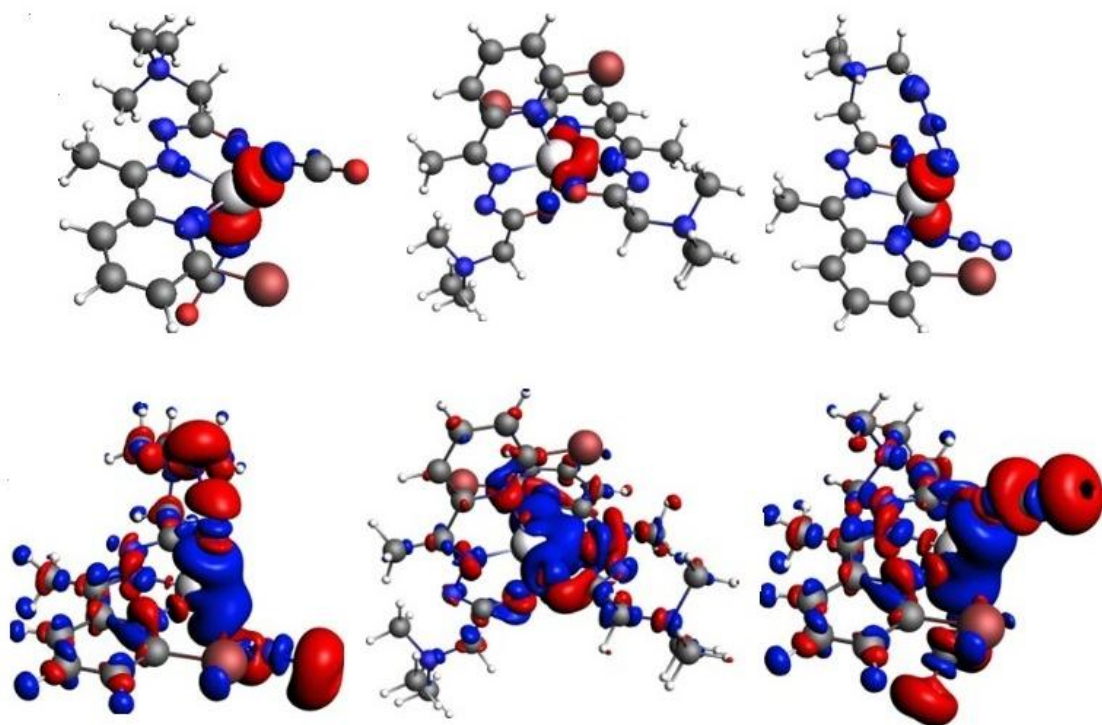
Slika P34. TDDFT izračunati apsorpcioni spektar Zn(II) kompleksa **4** na $\omega\text{B97X-D4rev/def2-TZVP}(-f)$ nivou teorije uz primenu SMD modela solvatacije za DMSO. Prikazani su Gausovski proširen apsorpcioni profil (FWHM = 0,5 eV, siva linija) i odgovarajući linijski („stick“) spektar (crvene linije).



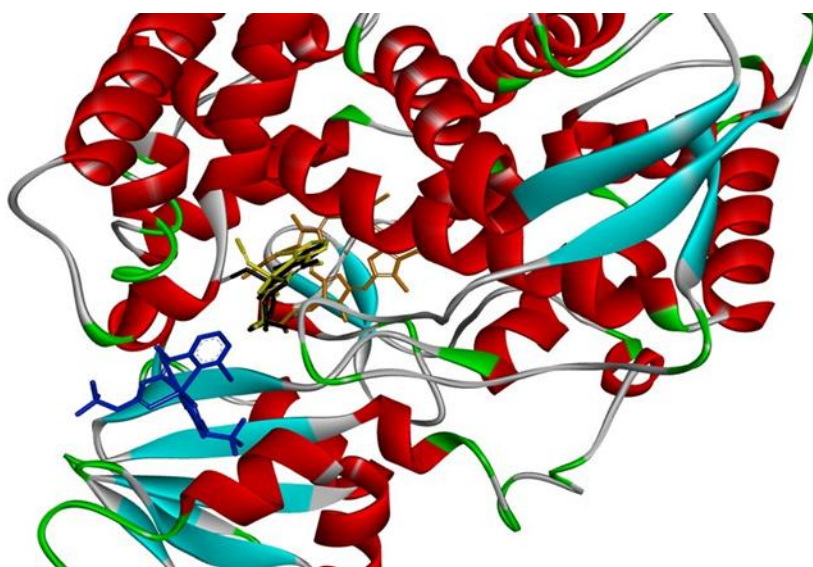
Slika P35. Granične molekulske orbitale (HOMO–1, HOMO, LUMO i LUMO+1) Zn(II) kompleksa **4** izračunate na ω B97X-D4rev/def2-TZVP(–f) nivou teorije uz primenu SMD modela solvatacije za DMSO.



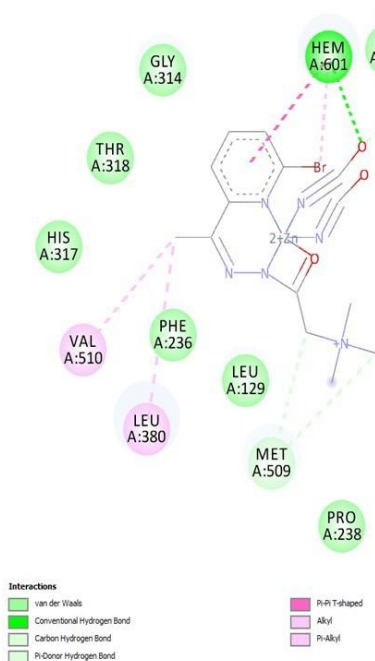
Slika P36. Dvostruki deskriptor Fukuijeve funkcije, izračunat na ZORA-CAM-B3LYP/TZP-COSMO(voda)//ZORA-BP86-D4/TZP-COSMO(voda) nivou teorije za ligand (**HL**¹)⁺ i kompleks **2** (gornji red), odnosno komplekse **1** i **3** (donji red). Pozitivne vrednosti prikazane su žutom, a negativne ljubičastom bojom.



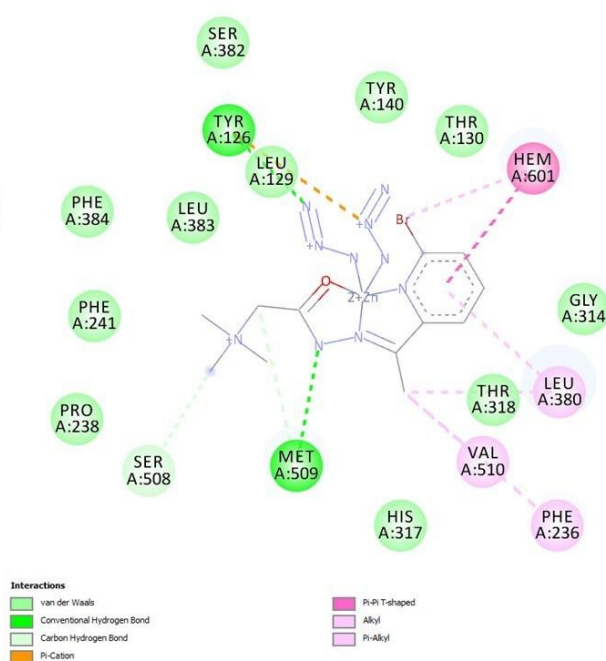
Slika P37. Paulijeve deformacione gustine (gornji red) i orbitalne deformacione gustine (donji red), izračunate za komplekse **1–3**. Smanjenje elektronske gustine prikazano je crvenom, a povećanje elektronske gustine plavom bojom.



A)

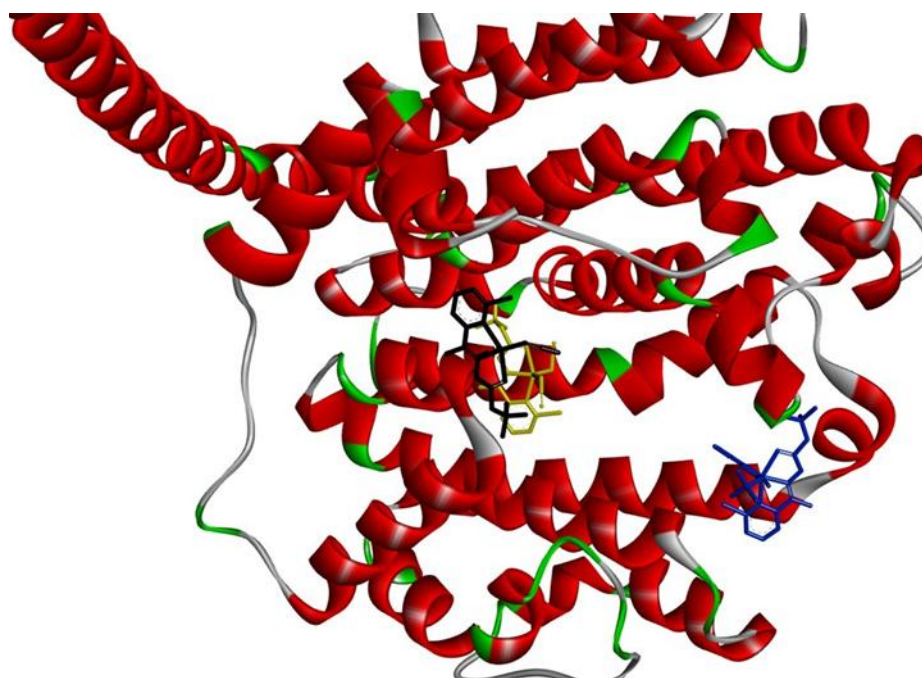


B)

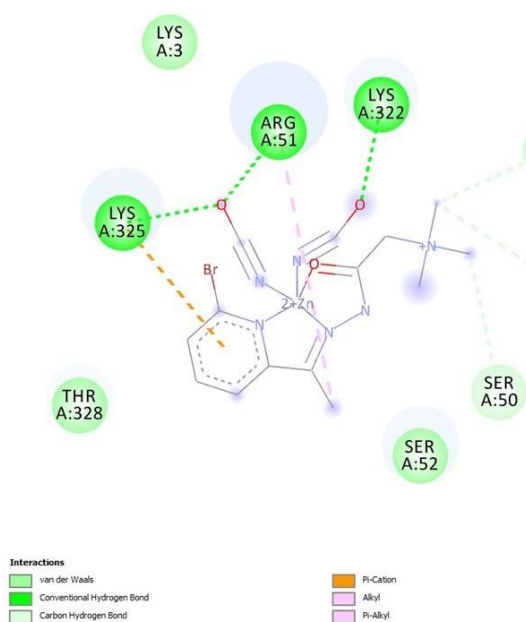


C)

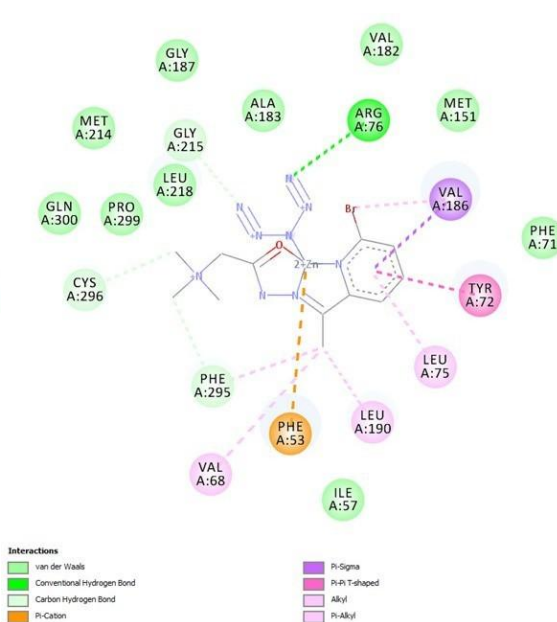
Slika P38. A) Najpovoljnije konformacije vezivanja ispitivanih kompleksa sa enzimom CYP51. Kompleks 2 (plavi štapići) vezuje se na površini proteina, dok se kompleksi 1 (crni štapići) i 3 (žuti štapići) vezuju unutar aktivnog mesta. HEM grupa prikazana je u obliku narandžastih štapića. B) i C) Dvodimenzionalni dijagrami interakcija kompleksa 1 i 3 sa aminokiselinским ostacima aktivnog mesta enzima CYP51.



A)

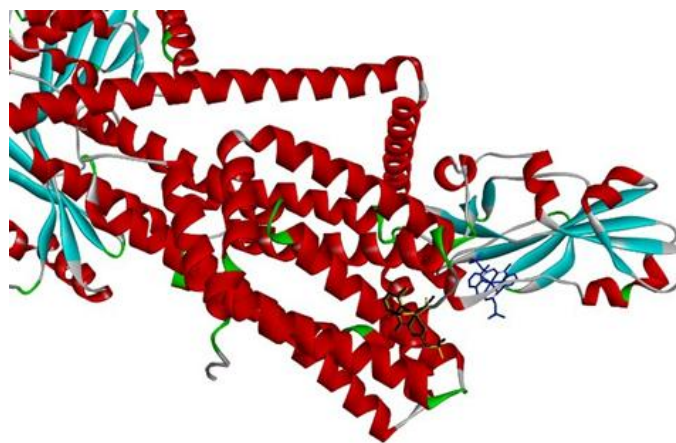


B)

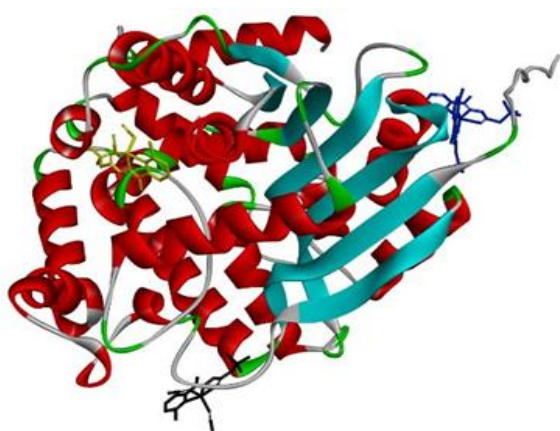


C)

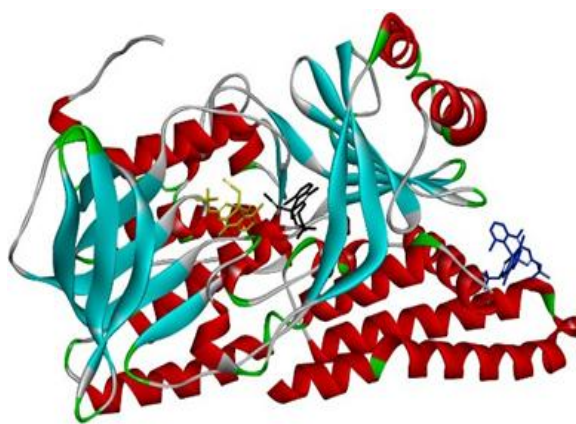
Slika P39. A) Najpovoljnije konformacije vezivanja kompleksa 2 (plavi štapići), kompleksa 1 (crni štapići) i kompleksa 3 (žuti štapići) sa enzima SQS, dobijene studijom molekuskog dokinga. B) i C) Dvodimenzionalni dijagrami interakcija između kompleksa 1 i kompleksa 3, respektivno, i aminokiselinskih ostataka aktivnog mesta enzima SQS.



A)



B)



C)

Slika P40. Najpovoljnije konformacije vezivanja ispitivanih kompleksa dobijene studijom molekuskog dokinga za enzime: A) HMG-CoA transferazu, B) SMT i C) SQE. Oznake boja: crni štapići – kompleks 1, plavi štapići – kompleks 2, žuti štapići – kompleks 3.

8. BIOGRAFIJA

Milica J. Savić rođena je 14. juna 1997. godine u Leskovcu, Republika Srbija. Osnovno obrazovanje stekla je u Osnovnoj školi „Siniša Janić“ u Vlasotincu, a potom je završila gimnaziju „Stevan Jakovljević“, prirodno-matematički smer, sa odličnim uspehom.

Osnovne akademske studije na studijskom programu Hemija na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2016/17. godine. Diplomirala je 25. avgusta 2020. godine sa prosečnom ocenom 9,71, odbranivši završni rad pod naslovom „Sinteza i strukturna karakterizacija dinuklearnog Ni(II) kompleksa sa hidrazonskim ligandom“ sa ocenom 10,00, pri Katedri za opštu i neorgansku hemiju, čime je stekla zvanje diplomirani hemičar.

Master akademske studije na istom fakultetu upisala je školske 2020/21. godine. Master rad pod naslovom „Sinteza i strukturna karakterizacija Bi(III) kompleksa sa kondenzacionim proizvodom 2-acetiltiazola i Žirarovog T reagensa“ odbranila je 8. jula 2021. godine sa ocenom 10,00, pri Katedri za opštu i neorgansku hemiju, ostvarivši prosečnu ocenu 10,00 tokom master studija.

Doktorske akademske studije na studijskom programu Hemija upisala je školske 2021/22. godine na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, pri Katedri za opštu i neorgansku hemiju, pod mentorstvom dr Božidara Čobeljića, vanrednog profesora. Njen naučnoistraživački rad usmeren je na oblast neorganske hemije, sa posebnim fokusom na koordinacionu i bioneorgansku hemiju, i obuhvata sintezu, strukturnu karakterizaciju i ispitivanje potencijalne biološke primene koordinacionih jedinjenja.

Od 15. decembra 2021. godine zaposlena je kao istraživač pripravnik na Institutu za hemiju, tehnologiju i metalurgiju (IHTM) – Centar za hemiju, gde je 9. oktobra 2024. godine izabrana u zvanje istraživač saradnik. Kao asistent za izvođenje laboratorijskih vežbi na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, bila je angažovana na predmetu Praktikum iz neorganske hemije (102S2) na studijskom programu Hemija životne sredine (školske 2022/23. i 2023/24. godine), kao i na predmetu Neorganska hemija 2 (103P2) na studijskom programu Nastava hemije (školske 2022/23. godine).

U periodu od januara 2022. do januara 2025. godine učestvovala je u realizaciji naučnoistraživačkog projekta „Kreiranje molekulskih magneta i katalizatora zasnovanih na kompleksima prelaznih metala“ (evidencioni broj: 7750288), finansiranog od strane Fonda za nauku Republike Srbije u okviru poziva IDEJE. Takođe je učestvovala u bilateralnom projektu Srbija–Francuska (PHC „Pavle Savić“) pod nazivom „Computational design of magnetic anisotropy in transition metal ion-based molecular magnets“ (337-00-93/2023-05/15), kao i u međunarodnoj saradnji sa dr Maylis Orio sa Univerziteta Aix-Marseille, koja je realizovana kroz istraživački boravak. Godine 2024. bila je rukovodilac internog Seed Research Grant projekta „Manganese Catalyzed Alkene Epoxidation (MnCatAE)“, usmerenog na razvoj novih manganovih katalizatora za epoksidaciju alkena. U okviru projekta boravila je na Univerzitetu u Groningenu u istraživačkoj grupi profesora Wesleyja Brownea, i stekla iskustvo u samostalnom vođenju projekta, upravljanju budžetom i međunarodnoj naučnoj saradnji, što je rezultiralo objavljivanjem naučnog rada.

Član je Srpskog kristalografskog društva i Srpskog hemijskog društva. Dobitnik je Specijalnog priznanja za 2021. godinu za izuzetan uspeh tokom studija na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Milica J. Savić je u okviru naučnoistraživačkog rada koautor dve publikacije – jednu u vrhunskom međunarodnom časopisu kategorije M21 i jednu u međunarodnom časopisu kategorije

M23 – i autor jedne publikacije u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21). Tokom doktorskih studija objavila je tri naučne publikacije koje su direktno proistekle iz teze (sve tri M21 kategorije). Takođe, aktivno je učestvovala na međunarodnim i nacionalnim naučnim skupovima, sa ukupno 29 saopštenja, od kojih je 14 predstavljeno na međunarodnim (M34), a 15 na nacionalnim skupovima (M64).

Radovi proistekli iz disertacije (**M21** – vrhunski međunarodni časopisi):

1. **M. Savić**, A. Pevec, N. Stevanović, I. Novaković, I. Z. Matić, N. Petrović, T. Stanojković, K. Milčić, M. Zlatar, I. Turel, B. Čobeljić, M. Milčić i M. Gruden, *Synergy of experimental and computational chemistry: structure and biological activity of Zn(II) hydrazone complexes*, Dalton Trans., 53 (2024) 13436–13453 (<https://doi.org/10.1039/D4DT01353K>).
2. **M. Savić**, A. Pevec, I. Novaković, I. Z. Matić, T. Stanojković, M. Zlatar, M. Gruden, I. Turel i B. Čobeljić, *Crystal structure, computational insights, and biological activities of thiazole-based hydrazone zinc(II) complexes*, J. Coord. Chem., 78 (2025) 2357–2369 (<https://doi.org/10.1080/00958972.2025.2505647>).
3. **M. Savić**, A. Pevec, I. Novaković, I. Z. Matić, T. Stanojković, M. Zlatar, M. Gruden, i B. Čobeljić, *Comparative Biological Activity of Manganese(II) and Zinc(II) Hydrazone Complexes*, Dalton Trans., 55 (2026) 6603–6614 (<https://doi.org/10.1039/D6DT00532B>).

Ostali naučni radovi:

M21 – Radovi objavljeni u vrhunskim međunarodnim časopisima

4. T. Adejumo, M. Danopoulou, L. P. Zorba, A. Pevec, M. Zlatar, D. Radanović, **M. Savić**, M. Gruden, K. Anđelković, I. Turel, B. Čobeljić i G. Vougioukalakis, *Correlating Structure and KA2 Catalytic Activity of ZnII Hydrazone Complexes*, Eur. J. Inorg. Chem. 2023, e2023001193 (<https://doi.org/10.1002/ejic.202300193>).
5. **M. Savić**, A. Mitrović, B. Čobeljić, A. Pevec, M. Zlatar, M. Gruden, W. R. Browne i M. Di Berto Mancini, *Identifying the True Catalyst: A Mn(II) Salt versus Mn(II) Complexes in Epoxidation with m-Chloroperbenzoic Acid*, Eur. J. Org. Chem. 2025, 28 (30), e202500432 (<https://doi.org/10.1002/ejoc.202500432>).

M23 – Rad objavljen u časopisu od međunarodnog značaja

6. T. Vitomirov, B. Čobeljić, A. Pevec, D. Radanović, I. Novaković, **M. Savić**, K. Anđelković i M. Šumar-Ristović, *Binuclear azide-bridged hydrazone Cu(II) complex: Synthesis, characterization and evaluation of biological activity*, J. Serb. Chem. Soc. 88 (9) 877–888 (2023) (<https://doi.org/10.2298/JSC230623044V>).

M34 – Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu

1. **Milica Savić**, Mima Jevtović, Matija Zlatar, Maja Gruden, Dragana Mitić, Božidar Čobeljić, Katarina Anđelković; *Synthesis, characterization and DFT calculations of Schiff base Co(III) complexes; Twenty third annual conference - YUCOMAT 2022, August 29 –*

September 2, 2022, Herceg Novi, Montenegro, Book of Abstracts, p 147. (isbn 978-86-919111-7-1).

2. **Milica Savić**, Mima Jevtović, Matija Zlatar, Maja Gruden, Dragana Mitić, Božidar Čobeljić, Katarina Anđelković; Synthesis and characterization of Ni(III) complex with condensation product of 2 acetylpyridine and Girard's P reagent; *Twenty-fourth Annual Conference - YUCOMAT 2023*, September 4–8, 2023, Herceg Novi, Montenegro, Book of Abstracts P.S.40. p 114. (ISBN 978-86-919111-8-8).

3. **Milica Savić**, Mima Jevtović, Božidar Čobeljić, Maja Gruden, Matija Zlatar; Spin states of Mn(II) and Fe(III) complexes with thiosemicarbazone; *6th EuChemS Inorganic Chemistry Conference*, September 3–7, 2023, Wien, Austria, Book of Abstracts PO-133 (ISBN 978-3-9504809-5-5).

4. M. Č. Jevtović, **M. J. Savić**, K. K. Anđelković, B. R. Čobeljić, D. M. Mitić; Synthesis of a New Family of Zn(II) Hydrazone Complexes: Characterisation, Catalytic Activity, and DFT Calculations; *Training School of COST action CA21101 COSY* | 19th – 22nd September 2023, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts p 36.

5. **Milica J. Savić**, Mima Č. Jevtović, Božidar R. Čobeljić, Katarina K. Anđelković, Dragana M. Mitić; Synthesis and characterization of Mn(II) and Fe(III) complexes with the condensation product of thiosemicarbazide and 2-acetylthiazole; *Training School of COST action CA21101 COSY* | 19th – 22nd September 2023, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts p 51.

6. B. Čobeljić, **M. Savić**, N. Stevanović, M. Zlatar, M. Gruden; Evaluation of the biological activity of Zn(II) hydrazone complexes; *EUROBIC17*, August 25–29, 2024, Munster, Germany, Book of Abstracts p 390.

7. M. Milčić, I. Novaković, K. Milčić, **M. Savić**, M. Zlatar, M. Gruden; Antifungal activity and molecular docking study of Zn(II) hydrazone complexes; *EUROBIC17*, August 25–29, 2024, Munster, Germany, Book of Abstracts p 457.

8. M. Jevtović, **M. Savić**, M. Gruden, I. Matić and B. Čobeljić; Crystal Structure, Computational Insights, and Biological Activities of Thiazole-Based Hydrazone Zinc(II) Complex [ZnL(NCS)(H₂O)]; *7th EuChemS Inorganic Chemistry Conference*, Belgrade, Serbia, September 7–11, 2025, Book of Abstracts, P-22, p 112. (ISBN 978-86-7220-134-5).

9. **M. Savić**, M. Jevtović, W. R. Browne and M. Di Berto Mancini; Catalytic activity of Mn(II) Salt vs. Mn(II) Complexes in Epoxidation with m-CPBA; *7th EuChemS Inorganic Chemistry Conference*, Belgrade, Serbia, September 7–11, 2025, Book of Abstracts, P-32, p 122. (ISBN 978-86-7220-134-5).

10. N. Stevanović, **M. Savić**, M. Jevtović, W. R. Browne and M. Di Berto Mancini; Synthesis, characterization, and crystal structure of Mn(II) complexes with catalytic activity in Epoxidation with m-CPBA; *7th EuChemS Inorganic Chemistry Conference*, Belgrade, Serbia, September 7–11, 2025, Book of Abstracts, P-33, p 123. (ISBN 978-86-7220-134-5).

11. S. Selaković, **M. Savić**, M. Jevtović, M. Zlatar, I. Matić and M. Šumar-Ristović; Biological evaluation and computational analysis of a zinc(II) complex; *7th EuChemS Inorganic Chemistry Conference*, Belgrade, Serbia, September 7–11, 2025, Book of Abstracts, P-40, p 130. (ISBN 978-86-7220-134-5).

12. **Milica Savić**, Mima Jevtović, Matija Zlatar, Božidar Čobeljić; Comparative biological activity of Mn(II) and Zn(II) hydrazone complexes; *30th Conference of the Serbian Crystallographic Society*, Belgrade, Serbia, June 25–26, 2026, Book of Abstracts, p 100–101 (ISBN 978-86-912959-8-1).

13. Mima Jevtović, **Milica Savić**, Marija Pavlović, Matija Zlatar; Structural and spectroscopic characterization of a tetranuclear Cd(II) azido complex with a semicarbazone ligand; *30th Conference of the Serbian Crystallographic Society*, Belgrade, Serbia, June 25–26, 2026, Book of Abstracts, p 52–53 (ISBN 978-86-912959-8-1).

14. Snežana Selaković, **Milica Savić**, Maja Gruden, Maja Šumar Ristović; Formation of a mononuclear nickel(II) complex with 2-acetylthiazole semicarbazone; *30th Conference of the Serbian Crystallographic Society*, Belgrade, Serbia, June 25–26, 2026, Book of Abstracts, p 102–103 (ISBN 978-86-912959-8-1).

M64 – Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu

1. **Milica Savić**, Nevena Stevanović, Mima Jevtović, Maja Gruden, Katarina Anđelković, Božidar Čobeljić, Matija Zlatar; Synthesis and characterization of Fe(III) i Mn(II) complexes with condensation product of thiosemicarbazide and 2-acetylthiazole; *58th Meeting of the Serbian Chemical Society*, June 9-10, 2022, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts, p 126. (isbn 978-86-7132-079-5).

2. Božidar Čobeljić, **Milica Savić**, Mima Jevtović, Dragana Mitić, Matija Zlatar, Maja Gruden, Katarina Anđelković; Coordination preferences of NNO and NNS Schiff base ligands with Co(III) complexes; *58th Meeting of the Serbian Chemical Society*, June 9-10, 2022, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts, p 113. (isbn 978-86-7132-079-5).

3. **Milica Savić**, Mima Jevtović, Božidar Čobeljić and Katarina Anđelković; Synthesis and characterization of octahedral Ni(II) complex with condensation product of 2-acetylthiazole and thiosemicarbazide; *Eighth Conference Of the Young Chemists Of Serbia*, October 29, 2022, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts, p 72. (isbn: 978-86-7132-080-1).

4. B. Čobeljić, A. Pevec, M. Zlatar, **M. Savić**, M. Jevtović; Synthesis and characterization of azido Zn(II) complex with the condensation product of 2-acetylthiazole and thiosemicarbazide; *28th conference of the Serbian crystallographic society*, June 14–15, 2023, Čačak, Serbia, Book of Abstracts, pp 34–35. (ISBN 978-86-912959-6-7).

5. M. Jevtović, A. Pevec B. Čobeljić, M. Šumar Ristović, **M. Savić**, D. Mitić, N. Stevanović; Synthesis and characterization of Mn(II) complex with the condensation product of thiosemicarbazide and 2-acetylthiazole; *28th conference of the Serbian crystallographic society*, June 14–15, 2023, Čačak, Serbia, Book of Abstracts, pp 50–51. (ISBN 978-86-912959-6-7).

6. K. Anđelković, A. Pevec, D. Mitić, M. Jevtović, **M. Savić**, N. Stevanović; Synthesis and characterization of azido Zn(II) complex with the condensation product of 2-acetylpyridine and Girard's P reagent; *28th conference of the Serbian crystallographic society*, June 14–15, 2023, Čačak, Serbia, Book of Abstracts, pp 40–41. (ISBN 978-86-912959-6-7).

7. **M. Savić**, A. Pevec, D. Radanović, M. Zlatar, M. Jevtović; Synthesis and characterization of Fe(III) complex with the condensation product of thiosemicarbazide and 2-acetylthiazole;

28th conference of the Serbian crystallographic society, June 14–15, 2023, Čačak, Serbia, Book of Abstracts, pp 78–79. (ISBN 978-86-912959-6-7).

8. **Milica Savić**, Mima Jevtović, Božidar Čobeljić and Katarina Anđelković; Synthesis and characterization of binuclear azide-bridged hydrazone Cu(II) complex; *Ninth Conference Of the Young Chemists Of Serbia*, 4th November, 2023, Novi Sad, Serbia, Book of Abstracts, p 69. (isbn: 978-86-7132-084-9).

9. **Milica Savić**, Božidar Čobeljić, Matija Zlatar, Miloš Milčič; Evaluation of the biological activity of zinc(II) hydrazone complexes; *60th Meeting of the Serbian Chemical Society*, June 9-10, 2024, Niš, Serbia, Book of Abstracts, p 95. (ISBN 978-86-7132-086-3).

10. Božidar Čobeljić, **Milica Savić**, Matija Zlatar, Maja Gruden; Synthesis and stability of Zn(II) hydrazone complexes; *60th Meeting of the Serbian Chemical Society*, June 9-10, 2024, Niš, Serbia, Book of Abstracts, p 96. (ISBN 978-86-7132-086-3).

11. Dragan B. Ninković, Mima Č. Romanović, **Milica Savić**, Božidar R. Čobeljić, Miloš M. Milčič, Maja Gruden, Matija Zlatar; DFT study of the dimerization of Ni (II) complexes; *60th Meeting of the Serbian Chemical Society*, June 9-10, 2024, Niš, Serbia, Book of Abstracts, p 97. (ISBN 978-86-7132-086-3).

12. **Milica Savić**, Božidar Čobeljić, Matija Zlatar, Maja Gruden, Andrej Pevec; Crystal structures of three new Zn(II) hydrazone complexes; 29th Conference of the Serbian crystallographic society, June 27–28, 2024, Ruma, Serbia, Book of Abstracts, pp 98–99. (ISBN 978-86-912959-7-4).

13. **Milica J. Savić**, Nevena N. Stevanović, Mima Č. Jevtović, Snežana G. Selaković, Marija B. Pavlović, Božidar R. Čobeljić; Biological activity of Zn(II) hydrazone complexes; *10th Conference of Young Chemists of Serbia*, 26th October, 2024, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts, p 52. (ISBN 978-86-7132-087-0).

14. Snežana G. Selaković, **Milica J. Savić**, Mima Č. Jevtović, Nevena N. Stevanović, Marija B. Pavlović, Maja T. Šumar-Ristović; Synthesis, characterization, antimicrobial activity of Zn(II) complex with a salicylaldehyde derivate; *10th Conference of Young Chemists of Serbia*, 26th October, 2024, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts, p 63. (ISBN 978-86-7132-087-0).

15. Marija B. Pavlović, Nevena N. Stevanović, Mima Č. Jevtović, Snežana G. Selaković, **Milica J. Savić**, Maja T. Šumar-Ristović; Synthesis, characterization, antimicrobial activity of Cd(II) complex with a salicylaldehyde derivate; *10th Conference of Young Chemists of Serbia*, 26th October, 2024, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts, p 57. (ISBN 978-86-7132-087-0).

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Milica J. Savić

Broj indeksa: DH21/2021

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

„Sinteza, karakterizacija i ispitivanje biološke aktivnosti kompleksa Zn(II) i Mn(II) sa hidrazonima heteroaromatičnih ketona”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Milica J. Savić

Broj indeksa: DH21/2021

Studijski program: hemija

Naslov rada: **Sinteza, karakterizacija i ispitivanje biološke aktivnosti kompleksa Zn(II) i Mn(II) sa hidrazonima heteroaromatičnih ketona**

Mentor: vanredni profesor dr Božidar Čobeljić

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjena u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora



U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Sinteza, karakterizacija i ispitivanje biološke aktivnosti kompleksa Zn(II) i Mn(II) sa hidrazonima heteroaromatičnih ketona

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- ③ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

Potpis autora

U Beogradu, _____

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.