

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Rabia O. Eshkourfu

**SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I  
BIOLOŠKA AKTIVNOST KOMPLEKSA  
Co(III) SA KONDENZACIONIM  
PROIZVODOM 2-ACETILPIRIDINA I  
DIHIDRAZIDA MALONSKE KISELINE**

doktorska disertacija

Beograd, 2012

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Rabia O. Eshkourfu

**SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND  
BIOLOGICAL ACTIVITY OF Co(III)  
COMPLEX WITH CONDENSATION  
DERIVATIVE OF 2-ACETILPYRIDINE  
AND MALONIC ACID DIHYDRAZIDE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2012

## **Mentor**

---

Redovni profesor dr Katarina Anđelković,  
Univerzitet u Beogradu Hemijski fakultet

## **Članovi komisije**

---

Redovni profesor dr Dušan Sladić,  
Univerzitet u Beogradu Hemijski fakultet

---

Docent dr Maja Gruden-Pavlović,  
Univerzitet u Beogradu Hemijski fakultet

---

Naučni saradnik dr Miroslava Vujčić  
Univerzitet u Beogradu IHTM

**Datum odbrane** \_\_\_\_\_ 2012.

## *Zahvalnica*

Doktorska disertacija je urađena na Katedri za Opštu i neorgansku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Deo istraživanja urađen je na Institutu za onkologiju i radiologiju u Beogradu.

Iskreno se zahvaljujem dr Katarini Anđelković koja je predložila temu disertacije i rukovodila njenom izradom. Njena nesebična pomoć i strpljenje bili su presudni da ova disertacija ugleda svetlost dana.

Veliku zahvalnost dugujem dr Dušanu Sladiću, redovnom profesoru, dr Maji Gruden-Pavlović, docentu i dr Mirjani Vujčić, naučnom saradniku IHTM-a na pomoći i korisnim sugestijama tokom izrade i pisanja disertacije.

Posebno se zahvaljujem dr Dušanki Radanović, naučnom savetniku IHTM-a na savetima, velikom strpljenju i korisnim diskusijama.

Članovima istraživačke grupe dr Katarine Anđelković, mr Maji Šumar Ristović, Milici Milenković, Božidaru Čobeljiću i dr Tamari Todorović dugujem zahvalnost za nesebičnu pomoć tokom izrade, a naročito tokom pisanja disertacije na srpskom jeziku.

Zahvaljujem se svojoj zemlji Libiji koja mi je omogućila da doktorsku disertaciju uradim u Republici Srbiji.

Hvala mojoj porodici na podršci i razumevanju.

# **SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I BIOLOŠKA AKTIVNOST KOMPLEKSA Co(III) SA KONDENZACIONIM PROIZVODOM 2-ACETILPIRIDINA I DIHIDRAZIDA MALONSKE KISELINE**

## ***REZIME***

U ovom radu opisana je sinteza, karakterizacija i biološka aktivnost kompleksa kobalta(III) sa kondenzacionim proizvodom 2-acetilpiridina i dihidrazida malonske kiseline.

Takođe, opisana je sinteza i karakterizacija organske soli 2,2'-{1,1'-[2,2'-oksalilbis(hidrazin-2-il-1-iliden)]dietilidin}dipiridinijum diperhlorata dihidrata.

Sintetisane supstance su okarakterisane u rastvoru NMR spektroskopijom, a u čvrstom stanju rendgenskom strukturnom analizom.

U dobijenom kompleksu kobalta(III) kompleksni katjon  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  poseduje dinuklearnu strukturu dvostrukog heliksa u kojoj je svaki Co(III) centar koordinovan preko dve tridentatne  $\text{N}_2\text{O}$  helatne jedinice iz oba  $\text{H}_2\text{L}_2$  liganda, formirajući oko oba Co(III) oktaedarsko okruženje.

Citotoksični potencijal kompleksa je uočen na ćelijama epitelnog kancera dojke (MDA-361) sa  $\text{IC}_{50}$  vrednošću  $50,9 \mu\text{M}$ . Slaba citotoksična aktivnost je uočena na EA.hy926 i B16 ćelijskim linijama sa  $\text{IC}_{50}$  vrednošću  $258 \mu\text{M}$  odnosno  $221 \mu\text{M}$ . Kompleks pokazuje slabu citotoksičnost na MRC-5 ćelije.

$\text{H}_2\text{L}_2$  ligand pokazuje umerenu aktivnost na sve ćelijske linije osim na K562 i MDA-361 ćelije, a najbolja aktivnost je uočena na ćelijama mišijeg melanoma B16. K562 ćelije su rezistentne na kompleks i ligand, štaviše kompleks stimuliše njihov rast.

Ćelije epitelnog kancera dojke MDA-361 su korišćene u eksperimentima u kojima je ispitan uticaj kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  na progresiju ćelijskog ciklusa i indukciju ćelijske smrti. Posle 24 h inkubacije ćelija tretiranih kompleksom koncentracije  $\text{IC}_{50}$  i  $2 \times \text{IC}_{50}$  nije došlo do značajne promene u

zastupljenosti ćelija u G1, S i G2/M fazi. Uočen je jasan sub-G1 pik koji potiče od hipodiploidnih ćelija koje sadrže fragmentisane molekule DNA što ukazuje na ćelije u kasnoj fazi apoptoze.

Apoptotički potencijal kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  na MDA-361 ćelijama je ispitan i pomoću Annexin V-FITC / PI testa. Ispitivani kompleks dovodi do značajnog povećanja procenta ćelija u ranoj fazi apoptoze (28,18 %) u odnosu na kontrolne ćelije (5,64 %).

Interakcije kompleksa sa DNA iz telećeg timusa (CT-DNA) dovode do plavog pomeranja i hiperhromizma u UV-Vis spektrima. Vrednost konstante vezivanja  $K_b=4.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  ukazuje na vezivanje kompleksa u brazdi DNA.

**Ključne reči:** Dinuklearni kompleks kobalta(III), Kristalna struktura, Apoptoza, Interakcije sa DNA

**Naučna oblast:** Hemija

**Uža naučna oblast:** Neorganska hemija

**UDK broj:** 546.733

**SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL  
ACTIVITY OF Co(III) COMPLEX WITH CONDENSATION  
DERIVATIVE OF 2-ACETILPYRIDINE AND MALONIC ACID  
DIHYDRAZIDE**

***SUMMARY***

In this work the synthesis, characterization and biological activity of cobalt(III) with the condensation product of 2-acetylpyridine and malonic acid dihydrazide are presented.

Furthermore the synthesis and characterization of organic salts 2,2'-{1,1'-[2,2'-oxalylbis(hydrazin-2-yl-1-ylidene)]diethylidyne}dipyridinium bis(perchlorate) dehydrate have been shown.

Obtained substances were characterized in solution by NMR spectroscopy and in solid-state by the X-ray structure analysis.

The complex cation  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  possesses a dinuclear double-stranded helicate structure in which each of Co(III) center is coordinated by two tridentate  $\text{N}_2\text{O}$  chelating units from different ligands. Each Co(III) center thus are in a six-coordinated pseudooctahedral environment.

Cytotoxic potential was observed for the complex on the epithelial breast cancer (MDA-361) cell line, where the  $\text{IC}_{50}$  was 50.9  $\mu\text{M}$ . The weak cytotoxic activity of the complex was observed with EA.hy926 and B16 cell line, reaching  $\text{IC}_{50}$  values at 258  $\mu\text{M}$  and 221  $\mu\text{M}$ , respectively. The complex revealed low cytotoxicity against MRC-5 cells.

The corresponding  $\text{H}_2\text{L}_2$  ligand also showed moderate cytotoxic activity against all cell lines, except K562 and MDA-361 cells, with the highest potency on the murine melanoma B16 cell line. K562 cells were resistant to both complex and ligand, the complex even stimulating cells to grow.

Epithelial breast cancer (MDA-361) cell lines were used in the experiments where we examined influence of the complex  $[\text{Co}_2\text{L}_2](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  on cell cycle progression and induction of cell death. After 24 h of incubation of cells treated with the concentration of  $\text{IC}_{50}$  and  $2 \times \text{IC}_{50}$ , the investigated complex gave no significant changes in the percentage of cells in the G1, S and G2/M phases. There is a clearly determined sub-G1 peak in the histograms of treated hypodiploid cells, containing fragmented DNA molecule, indicating that such cells are in late apoptotic phase.

Apoptosis of MDA-361 cells treated with investigated complex was evaluated by Annexin V-FITC / PI test. The investigated complex induced apoptosis, the early apoptotic cells comprising 28.18%, compared to 5.64% of control cells in the same phase.

The interaction of the complex with calf thymus DNA (CT-DNA) was monitored by blue shift and hyperchromism in the UV-vis spectra. The observed intrinsic binding constant ( $K_b = 4.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) together with structural analysis of the complex indicate the groove binding.

**Keywords:** Dinuclear cobalt(III) complex, Crystal structure, Apoptosis, DNA binding

**Area of science:** Chemistry

**Sub-area of science:** Inorganic chemistry

**UDC number:** 546.733



# Sadržaj

1. UVOD.....	1
LITERATURA .....	2
2. OPŠTI DEO.....	3
LITERATURA .....	33
3. EKSPERIMENTALNI DEO.....	41
3.1 Sinteza liganada i kompleksa .....	41
3.1.1. Sinteza liganda $N^1, N^2$ -bis[(1E)-1-(2-piridil)etiliden]etandihidrazida ( $H_2L_1$ ).....	41
3.1.2. Sinteza liganda $N^1, N^2$ -bis[(1E)-1-(2-piridil)etiliden]propandihidrazida ( $H_2L_2$ ).....	42
3.1.3. Sinteza 2,2'-{1,1'-[2,2'-Oksalilbis(hidrazin-2-il-1-iliden)]dietilidin} dipiridinijum-diperhlorata dihidrata (1).....	43
3.1.4. Sinteza kompleksa $[Co_2L_2](NO_3)_2 \cdot 2H_2O \cdot 0,5C_2H_5OH$ (2).....	43
3.2. Merenja.....	44
3.3. NMR spektroskopija .....	44
3.4. Rendgenska strukturna analiza.....	45
3.5. Biološka aktivnost.....	47
3.5.1. Test na račićima vrste <i>Artemia Salina</i> .....	47
3.5.2. Ispitivanje citotoksične aktivnosti .....	47
3.5.2.1. <i>In vitro</i> metode određivanja citotoksične aktivnosti.....	48
3.5.3. Analiza distribucije faza ćelijskog ciklusa protočnom citometrijom .....	49
3.5.4. Analiza ćelijske smrti .....	49
3.5.5. Ispitivanje interakcija kompleksa 2 sa DNA sisara .....	50
3.5.6. Ispitivanje interakcija kompleksa $[Co_2L_2]^{2+}$ sa plazmidnom DNA.....	50
3.5.7. Antimikrobna aktivnost.....	51

LITERATURA .....	52
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	53
4.1 Opis kristalne strukture soli (1).....	53
4.2 Opis kristalne strukture kompleksa (2) .....	60
4.3 NMR spektroskopija (2).....	62
4.4 Biološka aktivnost kompleksa (2) .....	63
4.5 Citotoksična aktivnost kompleksa (2).....	63
4.6 Ćelijski ciklus i apoptoza .....	65
4.7. Ispitivanje interakcija kompleksa (2) sa CT-DNA.....	67
4.8 Ispitivanje interakcija kompleksa (2) sa plazmidnom DNA .....	70
LITERATURA .....	71
5. ZAKLJUČAK.....	73
BIOGRAFIJA.....	75

## 1. UVOD

Već duži vremenski period u žiži našeg interesovanja su kompleksi d-metala sa ligandima koji predstavljaju kondenzacione proizvode 2-acetilpiridina i dihidrazida oksalne odnosno malonske kiseline [1]. Kompleksi d-metala sa ovakvim ligandima imaju interesantne strukturne karakteristike koje su uzrok različitim aplikativnim svojstvima nagrađenih supstanci [2–5].

Treba znati da gore pomenuti ligandi predstavljaju N-heteroaromatične dihidrazone, sa velikim brojem potencijalnih ligatorskih atoma, preko kojih se može izvršiti koordinacija uz formiranje različitih geometrija oko centralnog metalnog jona pri variranju uslova hemijske reakcije. Takođe, ovi ligandi mogu se naći u neutralnom, monoanjonskom ili dianjonskom obliku, što dovodi do različitog naelektrisanja kompleksnih jedinaka. Ovakvi ligandi, s obzirom na svoju strukturu, mogu se vezati za više metalnih centara gradeći polinuklearne komplekse. Razlike u strukturi kompleksa sa ovim tipom liganada usmerile su izučavanje svojstava dobijenih supstanci, u prvom redu kao magnetnih ili bioloških materijala, sa ciljem uspostavljanja veze struktura→svojstva [5–7].

Kako su do sada proučavani isključivo kompleksi dvovalentnih metala sa kondenzacionim proizvodima 2-acetilpiridina i dihidrazida oksalne, odnosno malonske kiseline kao ligandima [1–7], cilj ovoga rada je bila sinteza, karakterizacija i potencijalna primena kompleksa Co(III) kao prvog u nizu metala oksidacionog broja tri.

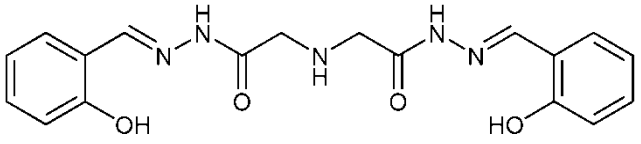
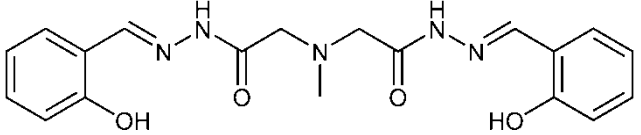
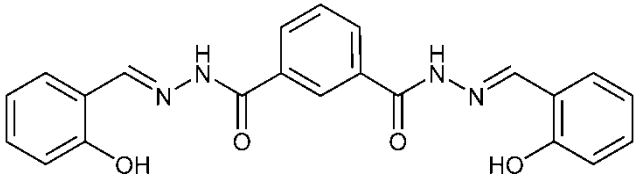
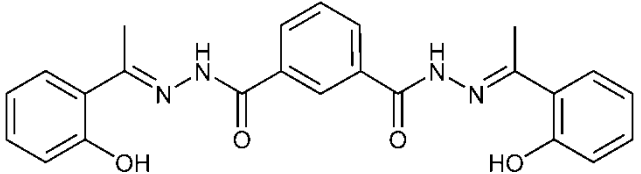
## LITERATURA

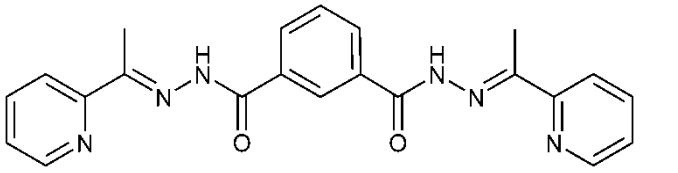
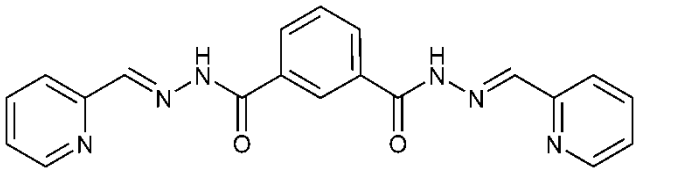
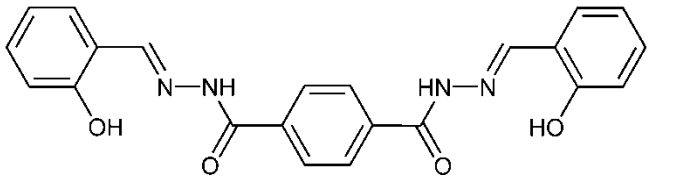
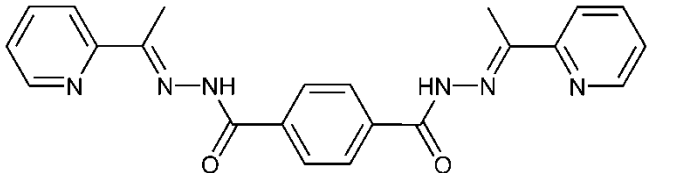
1. K. Anđelković, D. Sladić, A. Bacchi, G. Pelizzi, N. Filipović, M. Rajković, *Transition Met. Chem.* **30(2)** (2005) 243.
2. S. Sen, C.R. Choudhury, P. Talukder, S. Mitra, M. Westerhausen, A.N. Kneifel, C. Desplanches, N. Daro, J-P. Sutter, *Polyhedron* **25** (2006) 1271.
3. N. Filipović, A. Bacchi, M. Lazić, G. Pelizzi, S. Radulović, D. Sladić, T. Todorović, K. Anđelković, *Inorg. Chem. Comm.* **11** (2008) 47.
4. T. Todorović, U. Rychlewska, B. Warżajtis, D. Radanović, N. Filipović, I. Pajić, D. Radanović, K. Anđelković, *Polyhedron* **28** (2009) 2397.
5. B. Čobeljić, B. Warżajtis, U. Rychlewska, D. Radanović, V. Spasojević, D. Sladić, R. Eshkourfu, K. Anđelković, *J. Coord. Chem.* **65**(2012) 655.
6. M. Lazić, S. Radulović, T. Todorović, D. Sladić, Ž. Tešić, K. Anđelković, *Mater. Sci. Forum* **518** (2006) 513.
7. M. Vujčić, M. Lazić, M. Milenković, D. Sladić, S. Radulović, N. Filipović, K. Anđelković, *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **25**, (2011) 175.

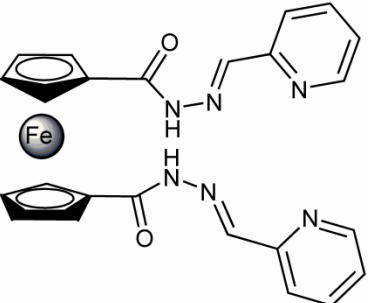
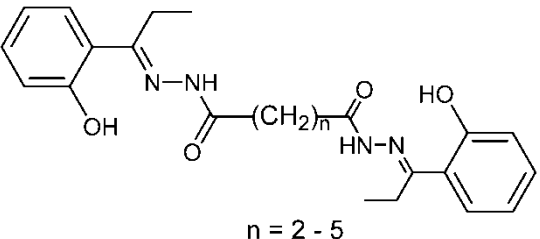
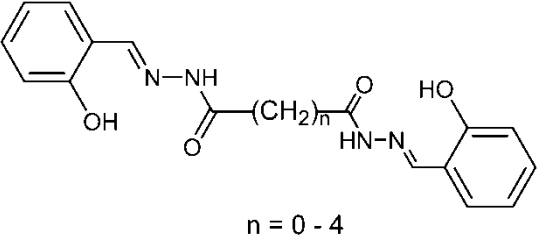
## 2. OPŠTI DEO

Hemija kompleksa sa bis-acil-/aroil-hidrazonima je veoma bogata. U zavisnosti od centralnog metalnog jona isti ligandi ovoga tipa pokazuju raznovrsnost u načinu koordinacije što dovodi do strukturne raznovrsnosti nagrađenih jedinjenja (od malih do visoko polimerizovanih molekula) [1]. U Tabeli 1 prikazani su ligandi ovoga tipa kao i sa njima nagrađeni kompleksi čija je strukturna karakterizacija potpuno urađena.

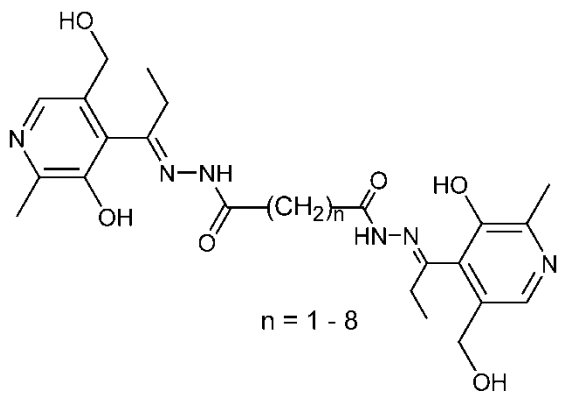
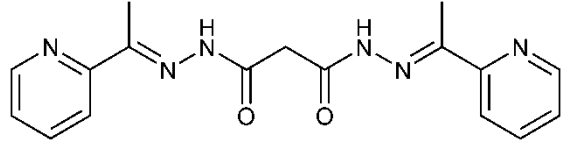
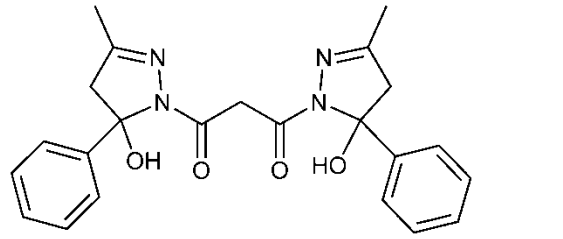
Tabela 1. Derivati bis-acil-/aroil-hidrazona i njihovi kompleksi.

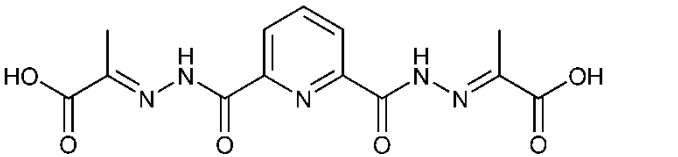
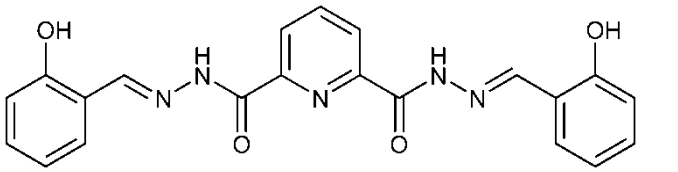
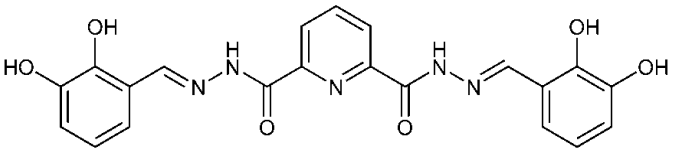
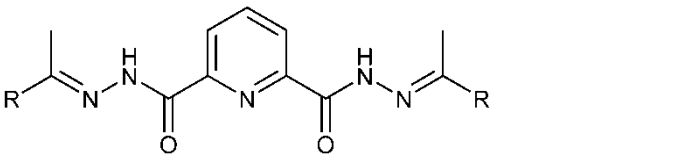
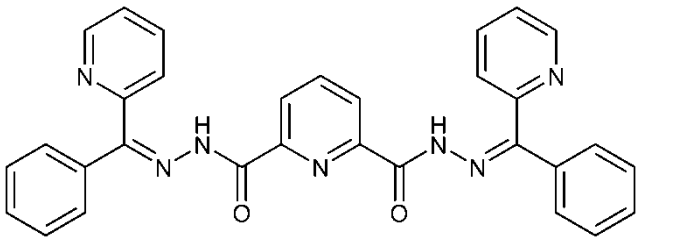
Strukturna formula	Oznaka*	Odgovarajući kompleks	Ref.
	<b>H<sub>5</sub>L1</b>	$\text{Cu}_3(\mathbf{HL1})\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $\text{Cu}_3(\mathbf{HL1})(\text{SO}_4) \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Cu}_6(\mathbf{HL1})_2(\text{DMSO})_5(\text{EtOH})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2,3
	<b>H<sub>4</sub>L2</b>	$\text{Cu}_3\mathbf{L2Cl}_2 \cdot \text{CHCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $\text{Cu}_3\mathbf{L2}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Cu}_3\mathbf{L2}(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_3]_2$	2
	<b>H<sub>4</sub>L3</b>	$\text{Cu}_2\mathbf{L3py}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Cu}_2\mathbf{L3}(\text{morfolin})_4(\text{MeOH})]$	4
	<b>H<sub>4</sub>L4</b>	$\text{Cu}_2\mathbf{L4py}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	4

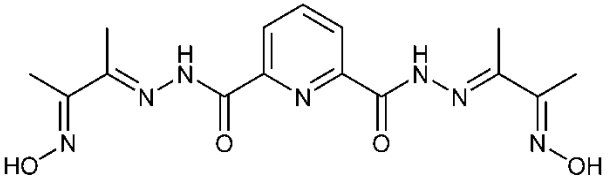
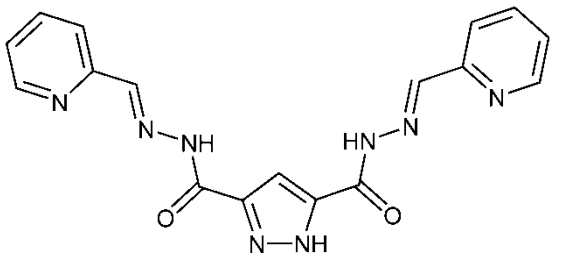
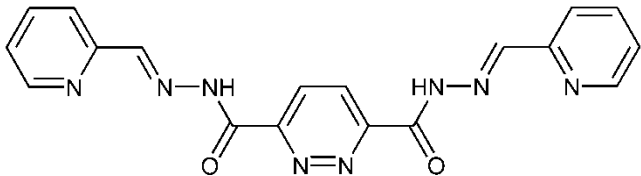
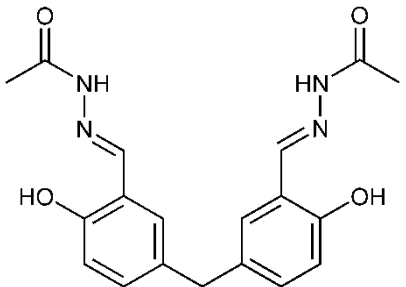
	<b>H<sub>2</sub>L5</b>	[Zn <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> L5) <sub>4</sub> ](NO <sub>3</sub> ) <sub>8</sub>	5
	<b>H<sub>2</sub>L6</b>	[Pb <sub>2</sub> L6(AcO) <sub>2</sub> ]	6
	<b>H<sub>4</sub>L7</b>	Cu <sub>2</sub> (L7)py <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O Cu <sub>2</sub> (L7)py <sub>3</sub> ·4H <sub>2</sub> O (Sn(R <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> L7 R <sub>1</sub> = Me, <i>n</i> -Bu	4 7
	<b>H<sub>2</sub>L8</b>	[Zn <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> L8) <sub>4</sub> ](NO <sub>3</sub> ) <sub>8</sub>	5

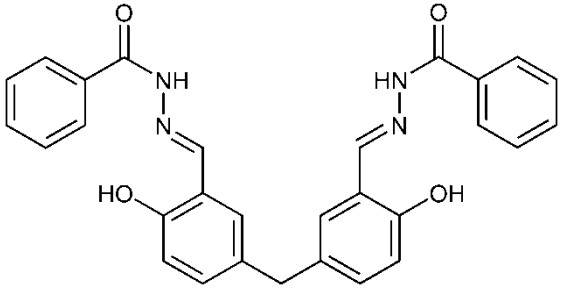
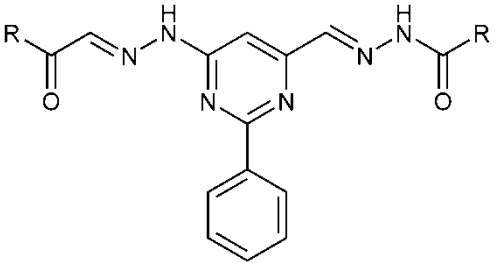
	<p><b>H<sub>2</sub>L9</b></p>	<p>[Cd<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L9)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>(DMF)<sub>2</sub>] [Ni<sub>4</sub>(L9)<sub>4</sub>]</p>	<p>8 9</p>
 <p>n = 2 - 5</p>	<p><b>H<sub>4</sub>L10-n</b></p>	<p>Cu<sub>2</sub>L10-2·2py·3MeOH Cu<sub>2</sub>L10-2·2py·MeOH Cu<sub>2</sub>L10-3·2py·3MeOH Cu<sub>2</sub>L10-4·2py·4MeOH [Cu<sub>2</sub>L10-4·4py]·py</p>	<p>10</p>
 <p>n = 0 - 4</p>	<p><b>H<sub>4</sub>L11-n</b></p>	<p>[{Cu<sub>2</sub>L11-n}<sub>n</sub>] [Cu<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L11-n)Cl<sub>2</sub>]<sub>n</sub> [Cu<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L11-n)<sub>n</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>2n</sub> [Cu<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L11-1)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O [Cu<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L11-4)(EtOH)<sub>2</sub>]<sub>n</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>2n</sub>·m(EtOH) [Cu<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L11-n)xH<sub>2</sub>O]·yH<sub>2</sub>O; n = 0 - 4 [Cu<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L11-n)Cl<sub>2</sub>xH<sub>2</sub>O]·yH<sub>2</sub>O; n = 0 - 4</p>	<p>11 12</p>

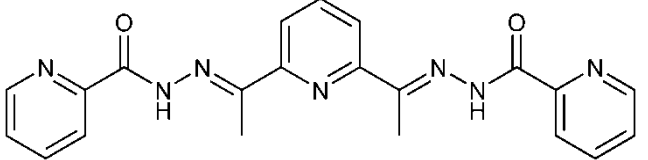
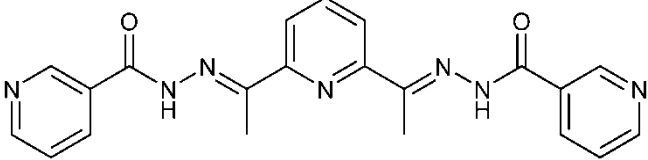
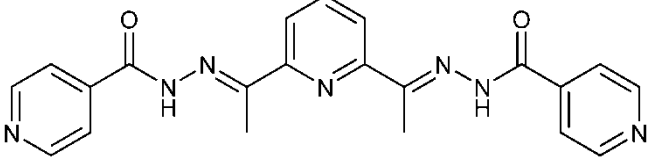
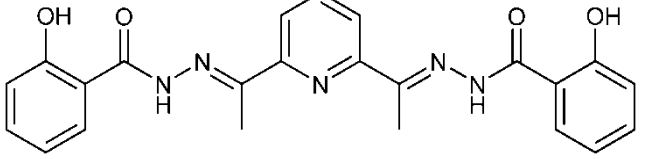


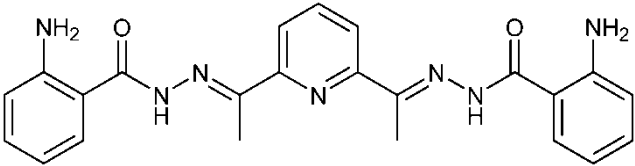
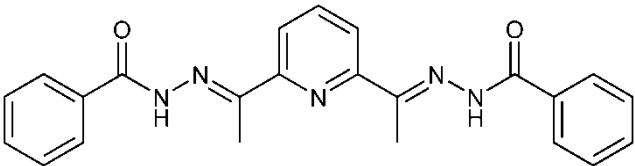
		$[(Et_2Sn)_2(L11-1)]$ $Na_2[Ln(H_2L11-1)_2Cl] \cdot nH_2O$ $Ln = Y, La, Ce, Nd, Eu, Dy, Er, Lu$ $[(MoO_2)(L11-1)(DMSO)_2]$	13 14 15
 <p><math>n = 1 - 8</math></p>	<b>H<sub>4</sub>L12-n</b>	$[(UO_2)_4(L12-n)_2(H_2O)_4]; n = 1 - 4$ $[{Fe}(H_2L11-4)_2]Cl_2 \cdot 2H_2O$ $[Fe(H_2L11-8)] \cdot 2,5H_2O$	16 17
	<b>H<sub>2</sub>L13</b>	$[Cd_2(H_2O)_2(H_2L13)_2](ClO_4)_4 \cdot 4H_2O$	18
	<b>H<sub>4</sub>L14</b>	$[Ni_2(L14)(py)_2]$	19

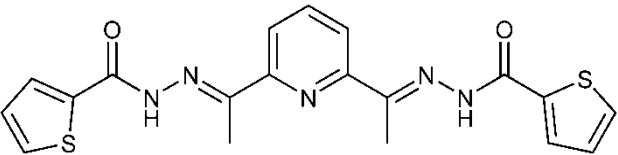
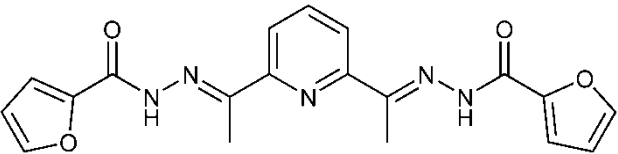
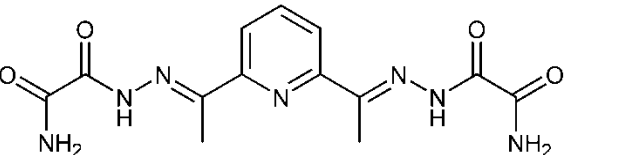
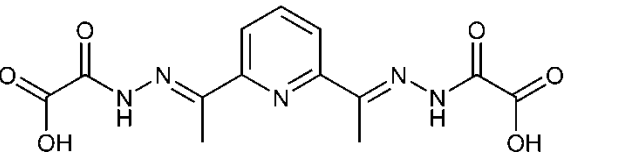
	<b>H<sub>4</sub>L15</b>	[Ni <sub>4</sub> ( <b>L15</b> ) <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH) <sub>4</sub> ]·1,5CH <sub>3</sub> OH	20
	<b>H<sub>4</sub>L16</b>	[Cu <sub>3</sub> ( <b>L16</b> )(DMSO) <sub>5</sub> (H <sub>2</sub> O)](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O UO <sub>2</sub> ( <b>H<sub>2</sub>L16</b> )(EtOH) <sub>2</sub> (UO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>L16</b> )(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> {UO <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> } <sub>2</sub> {UO <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> }( <b>L16</b> )	21 22
	<b>H<sub>6</sub>L17</b>	[Cu <sub>3</sub> ( <b>H<sub>2</sub>L17</b> )(H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> (CH <sub>3</sub> OH)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub>	23
 <p data-bbox="488 1018 651 1050">R = ferrocenil</p>	<b>H<sub>2</sub>L18</b>	Ln <sub>2</sub> ( <b>H<sub>2</sub>L18</b> )(pikrat) <sub>6</sub> · <i>n</i> ( <i>i</i> PrOH)· <i>m</i> H <sub>2</sub> O Ln = Y, La, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho ( <i>n</i> = 2, <i>m</i> = 4) Ln = Er, Tm, Yb ( <i>n</i> = 0, <i>m</i> = 2)	24
	<b>H<sub>2</sub>L19</b>	[Ni( <b>L19</b> )]	25

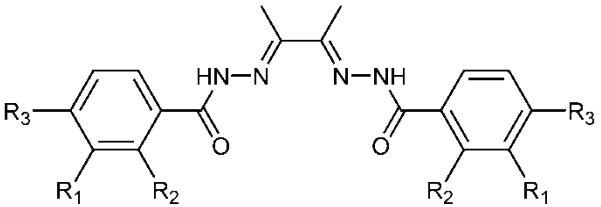
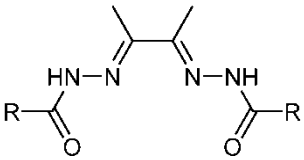
	<b>H<sub>4</sub>L<sub>20</sub></b>	$[\text{Cu}_{36}(\text{L20})_{12}(\text{OH})_8]^{16+}$	26
	<b>H<sub>3</sub>L<sub>21</sub></b>	$[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L21})(\text{OH})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L21})(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	27
	<b>H<sub>2</sub>L<sub>22</sub></b>	$[\text{Mn}_{16}(\text{L22})_8(\text{OH})_8](\text{NO}_3)_8 \cdot 15\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Mn}_{16}(\text{L22})_8(\text{OH})_8](\text{ClO}_4)_8 \cdot 15\text{H}_2\text{O}$	27
	<b>H<sub>4</sub>L<sub>23</sub></b>	$[\text{Cu}_2(\text{L23})\text{H}_2\text{O}]_x$ $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L23})\text{Cl}_2]_x$ $\{[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L23})](\text{NO}_3)_2\}_x$	28

	<b>H<sub>4</sub>L24</b>	$\{[\text{Cu}_2(\text{L24})(\text{H}_2\text{O})_{0,5}] \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}\}_x$ $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L24})\text{Cl}_2]_x$ $\{[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L24})](\text{NO}_3)_2\}_x$	28
	<b>H<sub>2</sub>L25-1</b> R = CH <sub>3</sub>	$[\text{Co}_4(\text{L25-1})_4] \cdot 8\text{MeOH} \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Ni}_4(\text{L25-1})_4] \cdot 0,5\text{Et}_2\text{O} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Ni}_4(\text{L25-1})_4] \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Zn}_4(\text{L25-1})_4] \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	29
	<b>H<sub>2</sub>L25-2</b> R = C <sub>7</sub> H <sub>15</sub>	$[\text{Fe}_4(\text{L25-2})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Co}_4(\text{L25-2})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Ni}_4(\text{L25-2})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Cu}_4(\text{L25-2})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Zn}_4(\text{L25-2})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	29
	<b>H<sub>2</sub>L25-3</b> R = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	$[\text{Ni}_4(\text{H}_2\text{L25-3})_4](\text{ClO}_4)_8 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Zn}_8(\text{H}_2\text{L25-3})_8](\text{BF}_4)_{16} \cdot 7\text{C}_6\text{H}_6 \cdot 5\text{CH}_3\text{CN} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Co}_4(\text{HL25-3})_4](\text{BF}_4)_4 \cdot 7\text{CH}_3\text{CN}$ $[\text{Ni}_4(\text{L25-3})_{2,5}(\text{HL25-3})_{1,5}](\text{NO}_3)_{1,5} \cdot \text{MeOH} \cdot 0,5\text{Et}_2\text{O} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	29

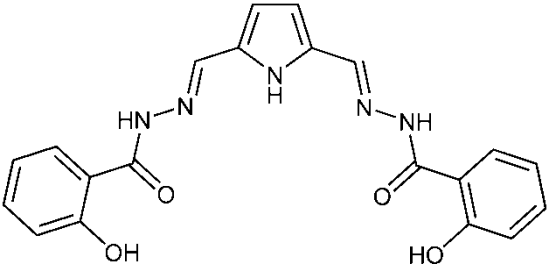
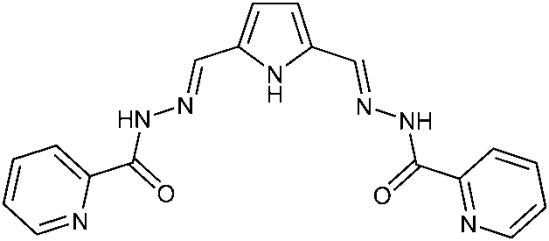
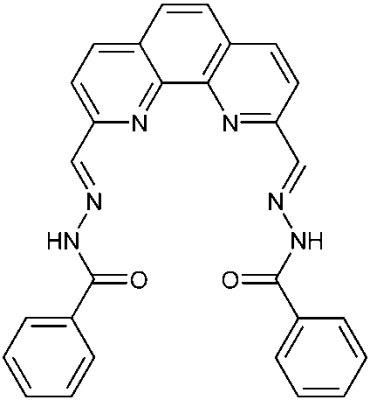
	<b>H<sub>2</sub>L26</b>	<p>[Mn(L26)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]·7H<sub>2</sub>O 30</p> <p>[Co(H<sub>2</sub>L26)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> 31</p> <p>[Sn(L26)Cl<sub>2</sub>] 32</p> <p>[Ni(H<sub>2</sub>L26)Cl<sub>2</sub>]</p> <p>[Zn(H<sub>2</sub>L26)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> 33</p> <p>[Zn(L26)]<sub>2</sub>·2CHCl<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O</p> <p>[Cu<sub>4</sub>(L26)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] 34</p>	
	<b>H<sub>2</sub>L27</b>	<p>[SnEt<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L27)]<sub>2</sub>[SnEt<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>3</sub> 35</p>	
	<b>H<sub>2</sub>L28</b>	<p>[SnEt<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L28)]<sub>2</sub>[SnEt<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O 35</p>	
	<b>H<sub>4</sub>L29</b>	<p>[Fe(H<sub>4</sub>L29)Cl<sub>2</sub>] 36</p> <p>[Fe<sub>2</sub>L29Cl<sub>2</sub>(EtOH)<sub>2</sub>] 37</p> <p>[Ni(H<sub>4</sub>L29)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 38</p> <p>[Cd(H<sub>4</sub>L29)Cl<sub>2</sub>]·CHCl<sub>3</sub>·CH<sub>3</sub>OH 39</p> <p>[Mn(H<sub>2</sub>L29)(py)<sub>2</sub>] 40</p> <p>[Co(H<sub>2</sub>L29)(py)<sub>2</sub>]</p>	

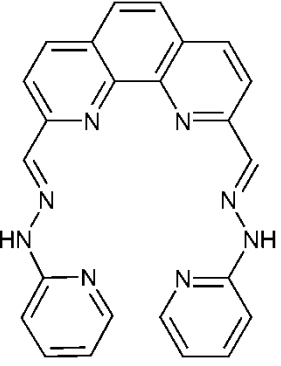
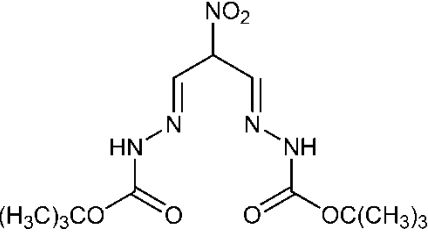
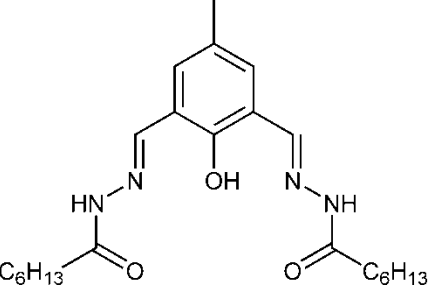
		<p>[Ni<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L29)<sub>2</sub>]·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></p> <p>[Ni<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L29)<sub>2</sub>(py)<sub>2</sub>]·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></p> <p>[Sn(<sup>n</sup>Pr)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>L29]</p> <p>[Mn(H<sub>2</sub>L29)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]·DMF</p>	<p>41</p> <p>42</p>
	<p><b>H<sub>2</sub>L30</b></p> <p>[Mn(H<sub>2</sub>L30)(CH<sub>3</sub>OH)Cl]Cl·H<sub>2</sub>O</p> <p>M(H<sub>2</sub>L30)</p> <p>M = Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II)</p> <p>{[Mn(L30)]}<sub>n</sub></p> <p>[Ni(L30)]<sub>2</sub></p> <p>[Mn(H<sub>2</sub>L30)(Cl)(H<sub>2</sub>O)]Cl·2H<sub>2</sub>O</p> <p>[Cd(H<sub>2</sub>L30)Cl<sub>2</sub>]·H<sub>2</sub>O</p> <p>[SnPh<sub>2</sub>(L30)]</p> <p>[SnBuCl(L30)]</p>	<p>43</p> <p>42</p> <p>44</p> <p>45</p> <p>46</p>	
	<p><b>H<sub>2</sub>L31</b></p> <p>[Pd(L31)]</p> <p>[M(H<sub>2</sub>L31)(H<sub>2</sub>O)Cl]Cl</p> <p>M = Co(II), Ni(II), Zn(II), Cu(II), Mn(II)</p> <p>[Y(L31)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)]</p> <p>[Er(L31)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)]</p> <p>{[Pr(L31)(HL31)](H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO)}</p> <p>[Sm(L31)(HL31)](H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO)}</p> <p>Ln(L31); Ln = Ce, Nd, Gd, Dy</p>	<p>47</p> <p>48–50</p> <p>51</p> <p>52</p>	

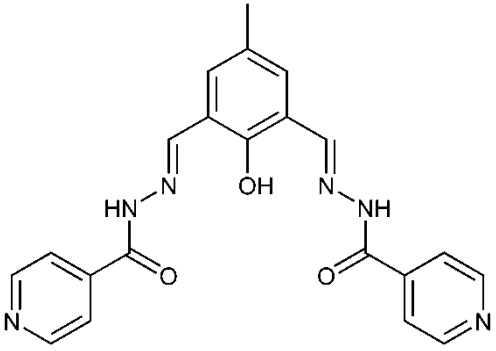
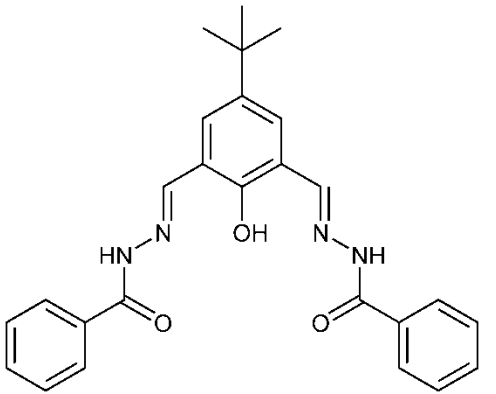
		[ReCl(L31)PPh <sub>3</sub> ]	53, 54
	<b>H<sub>2</sub>L32</b>	Co(L32) Co(H <sub>2</sub> L32)Cl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O [Ni(L32)] <sub>2</sub> Ni(H <sub>2</sub> L32)Cl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O [Cu(L32)] <sub>2</sub> [Zn(L32)] <sub>2</sub> Zn(H <sub>2</sub> L32)Cl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	55
	<b>H<sub>2</sub>L33</b>	[(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Sn(HL33)] <sub>2</sub> [(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SnCl <sub>4</sub> ]	56
	<b>H<sub>2</sub>L34</b>	[Fe(HL34)Cl <sub>2</sub> ] [Fe(L34)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ]ClO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	57 58
	<b>H<sub>2</sub>L35</b>	[Fe(L35)(H <sub>2</sub> O)] <sub>2</sub> O·3H <sub>2</sub> O [Ni(H <sub>2</sub> L35)] <sub>2</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·MeOH	59 60

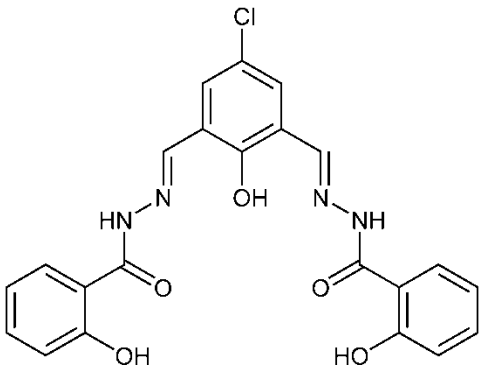
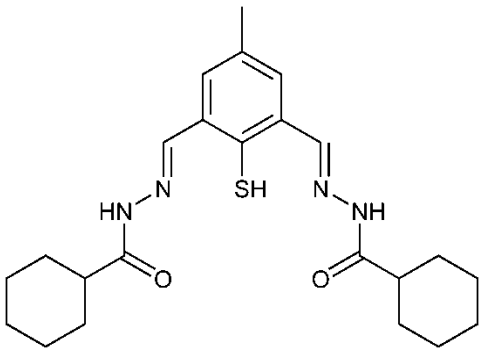
	<p><b>H<sub>2</sub>L36-1</b> R<sub>1</sub>=OMe, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H</p> <p><b>H<sub>2</sub>L36-2</b> R<sub>1</sub>=OC<sub>12</sub>H<sub>25</sub>, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H</p> <p><b>H<sub>2</sub>L36-3</b> R<sub>1</sub>=OMe, R<sub>2</sub>=OC<sub>12</sub>H<sub>25</sub>, R<sub>3</sub>=H</p> <p><b>H<sub>2</sub>L36-4</b> R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>= =OC<sub>12</sub>H<sub>25</sub></p>	<p>[Ni(L36)]</p>	<p>61</p>
	<p><b>H<sub>2</sub>L37-1</b> R=C<sub>7</sub>H<sub>15</sub></p> <p><b>H<sub>2</sub>L37-2</b> R=Ph</p>	<p>[Pd<sub>2</sub>(L37)<sub>2</sub>]</p>	<p>62</p>

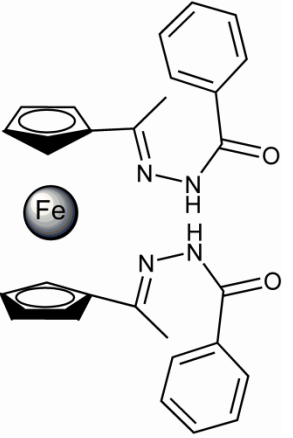
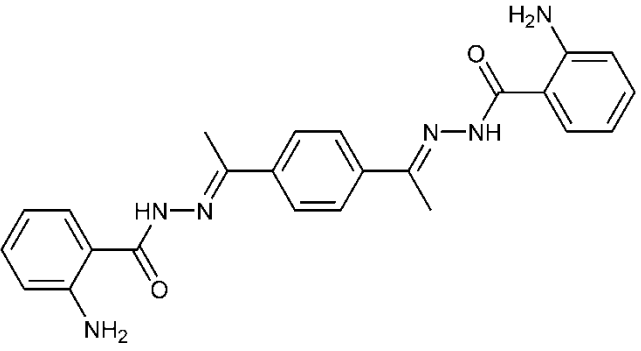


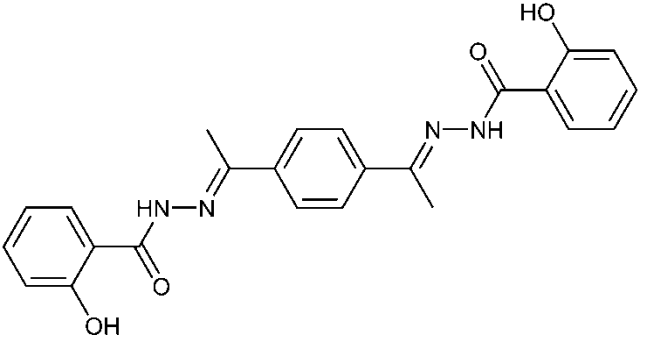
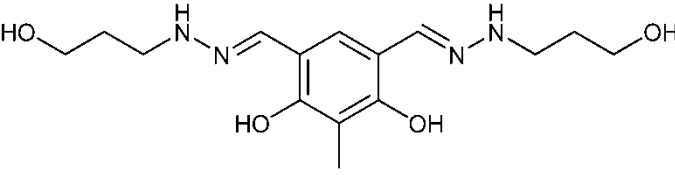
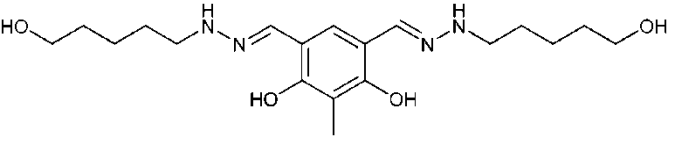
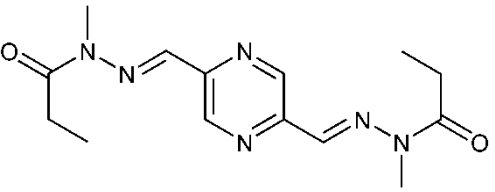
	<b>H<sub>5</sub>L38</b>	$\text{Sn}(\mathbf{H}_5\mathbf{L38})(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Cl}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{Sn}(\mathbf{H}_5\mathbf{L38})(\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2)_2\text{Cl}_2$ $\text{Sn}(\mathbf{H}_4\mathbf{L38})(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Sn}(\mathbf{H}_3\mathbf{L38})(\text{C}_6\text{H}_5)_2] \cdot \text{DMSO}$ $[\text{Sn}(\mathbf{H}_3\mathbf{L38})(\text{C}_6\text{H}_5)_2] \cdot \text{DMSO}$	63
	<b>H<sub>3</sub>L39</b>	$\text{Sn}(\mathbf{H}_2\mathbf{L39})(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{Sn}(\mathbf{H}_2\mathbf{L39})(n\text{-C}_4\text{H}_9)_2\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ $\text{Sn}_2(\mathbf{HL39})(\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2)_4\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{Sn}_2(\mathbf{H}_2\mathbf{L39})(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{Cl}_4$	63
	<b>H<sub>2</sub>L40</b>	$[\text{Sn}(n\text{-C}_4\text{H}_9)_2\mathbf{L40}]$ $[\text{Pb}(\text{C}_6\text{H}_5)_2\mathbf{L40}]$ $[\text{M}(\mathbf{HL40})(\text{AcO})_2] \cdot n\text{H}_2\text{O}$ $\text{M} = \text{La(III)}, \text{Gd(III)}; n = 2$ $\text{M} = \text{Eu(III)}, n = 3; \text{M} = \text{Tb(III)}, n = 5$ $[\text{M}(\mathbf{H}_2\mathbf{L40})(\text{NO}_3)_2]\text{NO}_3 \cdot \text{Y}$ $\text{M} = \text{La(III)}, \text{Y} = \text{EtOH};$ $\text{M} = \text{Gd(III)}, \text{Eu(III)}, \text{Tb(III)}; \text{Y} = 2\text{H}_2\text{O}$	64 65

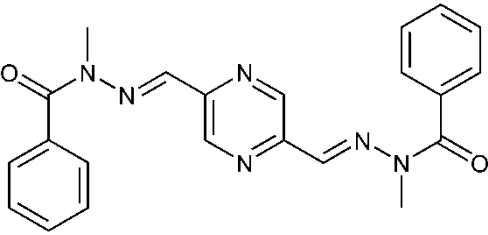
	<p><b>H<sub>2</sub>L41</b></p>	<p>[M(<b>H<sub>2</sub>L41</b>)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>· Y  M = La(III), Gd(III), Eu(III); Y = /  M = Tb(III), Y = 1,5H<sub>2</sub>O</p>	<p>65</p>
	<p><b>H<sub>3</sub>L42</b></p>	<p>[Cu<sub>3</sub>(<b>L42</b>)<sub>2</sub>]  [Ni<sub>3</sub>(<b>L42</b>)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]</p>	<p>66</p>
	<p><b>H<sub>3</sub>L43</b></p>	<p>[Cu<sub>2</sub>(<b>L43</b>)(μ-OMe)(MeOH)<sub>2</sub>]·MeOH</p>	<p>67</p>

	<b>H<sub>3</sub>L44</b>	$[\text{Ho}_2(\text{H}_2\text{L44})_3(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2(\text{OH}) \cdot 3.5\text{H}_2\text{O}$ $[\text{Lu}_2(\text{H}_2\text{L44})_3](\text{OH})_3$	68
	<b>H<sub>3</sub>L45</b>	$[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L45})(\mu\text{-C}_2\text{H}_5\text{O})(\text{CH}_3\text{OH})](\text{ClO}_4)_2$ $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L45})(\mu\text{-Br})(\text{CH}_3\text{OH})](\text{ClO}_4)_2$ $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L45})(\mu\text{-MeO})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4) \cdot \text{EtOH}$ $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L45})(\mu\text{-N}_3)](\text{ClO}_4)_2 \cdot 1.5\text{EtOH}$ $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L45})(\mu\text{-C}_3\text{H}_3\text{N}_2)](\text{ClO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2 = \text{anjon imidazola}$ $[\text{Zn}_2(\text{HL45})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	69 70 71

	<p><b>H<sub>5</sub>L46</b></p>	<p><math>[\text{Ln}_2(\text{H}_4\text{L46})_3]^{3+}</math>  Ln = Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Dy, Er, Yb</p>	<p>72</p>
	<p><b>H<sub>3</sub>L47</b></p>	<p><math>[\text{Pd}_2(\text{L47})(\text{C}_4\text{H}_2\text{NO}_2)]</math>  C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> = maleimid anjon  <math>[\text{Pd}_2\text{L47}(\text{CH}_3\text{COO})]</math>  <math>[\text{Pd}_2\text{L47}(\text{OH})]</math></p>	<p>73 74</p>

	<p><b>H<sub>2</sub>L48</b></p>	<p><math>\{M(\mathbf{L48})\}_n</math>  M = Co, Ni, Zn, Cd, Cu, Mn</p> <p><math>\{M(\mathbf{H}_2\mathbf{L48})\text{Cl}_2\}_n</math>  M = Co, Ni, Cd, Mn</p> <p><math>\text{Ln}(\mathbf{H}_2\mathbf{L48})_2\text{Cl}_3</math>  Ln(III) = La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb,  Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu</p>	<p>75</p> <p>76</p>
	<p><b>H<sub>2</sub>L49</b></p>	<p><math>[\text{M}_2(\mathbf{L49})(\text{phen})_2]\text{Cl}_2</math></p> <p><math>[(\text{M}_2(\mathbf{L49}))_2]_n</math>  M = Cu(II), Ni(II)</p>	<p>77</p>

	<b>H<sub>2</sub>L50</b>	$[M_2(\mathbf{L50})(\text{phen})_2]\text{Cl}_2$ $[(M_2(\mathbf{L50})_2)_n]$ M = Cu(II), Ni(II)	77
	<b>H<sub>6</sub>L51</b>	$\{[\text{Cu}_2(\mathbf{H}_4\mathbf{L51})(\text{Hpz})_2](\text{ClO}_4)_2\}_n$ ; Hpz = pirazol $\{[\text{Cu}_2(\mathbf{H}_4\mathbf{L51})(\text{Him})_2](\text{ClO}_4)_2\}_n$ ; Him = imidazol	78
	<b>H<sub>6</sub>L52</b>	$\{[\text{Cu}_2(\mathbf{H}_4\mathbf{L52})(\text{Hpz})_2](\text{ClO}_4)_2\}_n$	78
	<b>L53</b>	$[\text{Cu}_2(\mathbf{L53})(\text{terpy})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_4$ terpy = terpyridin	79

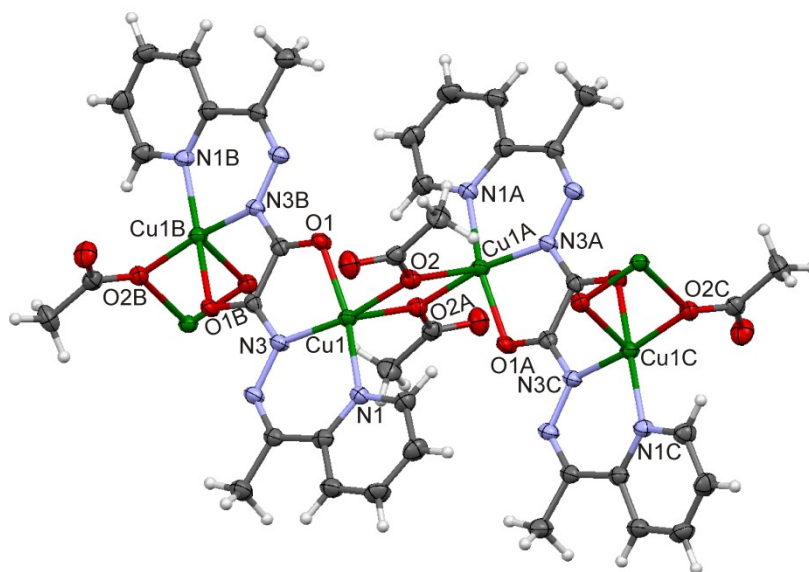
	<b>L54</b>	$[\text{Cu}_2(\text{L54})(\text{terpy})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)_4$	79
---	------------	---	----

\*  $H_n$ ;  $n$  = broj kiselih atoma vodonika

Kompleksi jona metala sa strukturno sličnim polidentatnim ligandima dihidrazonskog tipa kao što su kondenzacioni derivati 2-acetilpiridina i dihidrazida oksalne ili malonske kiseline ispitivani su sa strukturnog aspekta [18, 80, 81], u cilju boljeg razumevanja njihovih magnetnih osobina [80] i biološke aktivnosti [18, 81, 82].

Strukturne razlike koje mogu nastati pri koordinovanju polidentatnog liganda  $N,N^2$ -bis[(1*E*)-1-(2-piridil)etiliden]etandihidrazida ( $H_2L1$ ) ispitivane su u slučaju kompleksa bakra(II) i nikla(II) [80]. U reakciji  $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$  sa  $H_2L1$  u smeši 2-propanol/voda (5:1) dobijen je binuklearni kompleks  $\{[Cu_2(L1)(CH_3COO)_2] \cdot 8H_2O\}_n$  (Slika 1) u kome ligand L1 u transoidnoj orijentaciji povezuje metalne centre preko oksamido mosta. U ovom kompleksu ligand L1 se ponaša kao bis-tridentatni ligand, to jest, L1 se koordinuje sa dva bakar(II) jona preko dva seta  $N_2O$  donorskih atoma pri čemu nastaju dva petočlana i dva šestočlana helatna prstena. Binuklearne podjedinice su povezane preko  $\mu_{1,1}$ -acetato mostova što vodi ka formiranju 1-D polimera. Svaki Cu(II) jon je koordinovan sa piridinskim i hidrazonskim N-atomima i kiseonikovim atomom iz L1 i dva kiseonikova atoma iz acetatnog anjona. Uopšteno, u slučaju pentakoordinovanih jona metala distorzija strukture od idealne trigonalno-bipiramidalne (TBP) do kvadratno-piramidalne (SP) može se proceniti upotrebom Addison-ovog indeksa distorzije  $\tau$  [83]:  $\tau = (\beta - \alpha)/60^\circ$ , gde su  $\alpha$  i  $\beta$  dva najveća ugla oko metalnog centra. Vrednosti za  $\tau$  su 1,0 za idealnu TBP geometriju i 0,0 za idealnu SP geometriju. U kompleksu  $\{[Cu_2(L1)(CH_3COO)_2] \cdot 8H_2O\}_n$  geometrija bakra(II) je kvadratno-piramidalna ( $\tau = 0,016$ ) sa četiri kratke veze u ravni Cu(1)–N(1) (1,992(3) Å), Cu(1)–N(3) (1,923(3) Å), Cu(1)–O(1) (2,017(2) Å) i Cu(1)–O(2) (1,950(2) Å) i jednom dugom vezom Cu(1)–O(2A) (2,401(2) Å) koja se gradi između O(2A) iz drugog acetato liganda i Cu(II) jona.



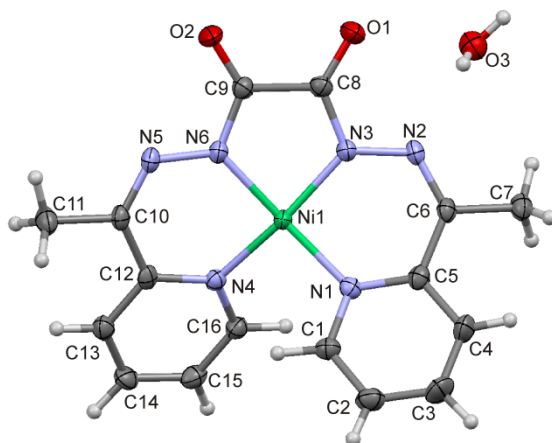


Slika 1. Prikaz binuklearnih podjedinica povezanih preko acetato mostova u polimernom  $\{[\text{Cu}_2(\text{L1})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$  kompleksu . Simetrijski kodovi:

A  $(-x + 1, -y + 1, -z)$ , B  $(-x + 1, y, -z + 1/2)$  and C  $(x, -y + 1, z + 1/2)$ .

Tetrakoordinovani  $[\text{Ni}(\text{L1})] \cdot \text{H}_2\text{O}$  kompleks (Slika 2) je dobijen na sličan način kao i  $\{[\text{Cu}_2(\text{L1})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$  kompleks polazeći od  $\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  umesto  $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . U ovom kompleksu ligand L1 se koordinuje sa niklom(II) u cisoidnom obliku preko  $\text{N}_4$  donorskih atoma pri čemu nastaje mononuklearni kompleks distorgovane kvadratno-planarne geometrije u kome L1 funkcioniše kao tetradentatni ligand (Slika 2). Fleksibilni ligand (L1) se reorijentiše iz transoidne u cisoidnu formu i obrnuto neometanom rotacijom oko C–C veze, kao što je to pokazano rendgenskom strukturnom analizom u slučaju  $\{[\text{Cu}_2(\text{L1})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}\}_n$  i  $[\text{Ni}(\text{L1})] \cdot \text{H}_2\text{O}$  kompleksa. Odstupanje od planarnosti liganda L1 u  $[\text{Ni}(\text{L1})] \cdot \text{H}_2\text{O}$  kompleksu može se videti iz vrednosti pseudo-torzionog ugla  $[\text{N}(1)–\text{N}(3)–\text{N}(6)–\text{N}(4)]$  koordinovanih Lewis-ovih baza koji iznosi  $-23,3^\circ$ . Odstupanje Ni(1) od prosečne ravni N(1), N(3), N(4), N(6) iznosi  $0,029 \text{ \AA}$ . Uglovi oko Ni(1) u šestočlanim helatnim prstenovima  $[\text{N}(1)–\text{Ni}(1)–\text{N}(3) = 91,79(8)^\circ$  i  $\text{N}(6)–\text{Ni}(1)–\text{N}(4) = 91,45(8)^\circ]$  imaju normalne vrednosti. Ugao između prosečnih ravni piridinskih prstenova iznosi  $119,8^\circ$ . Torzioni

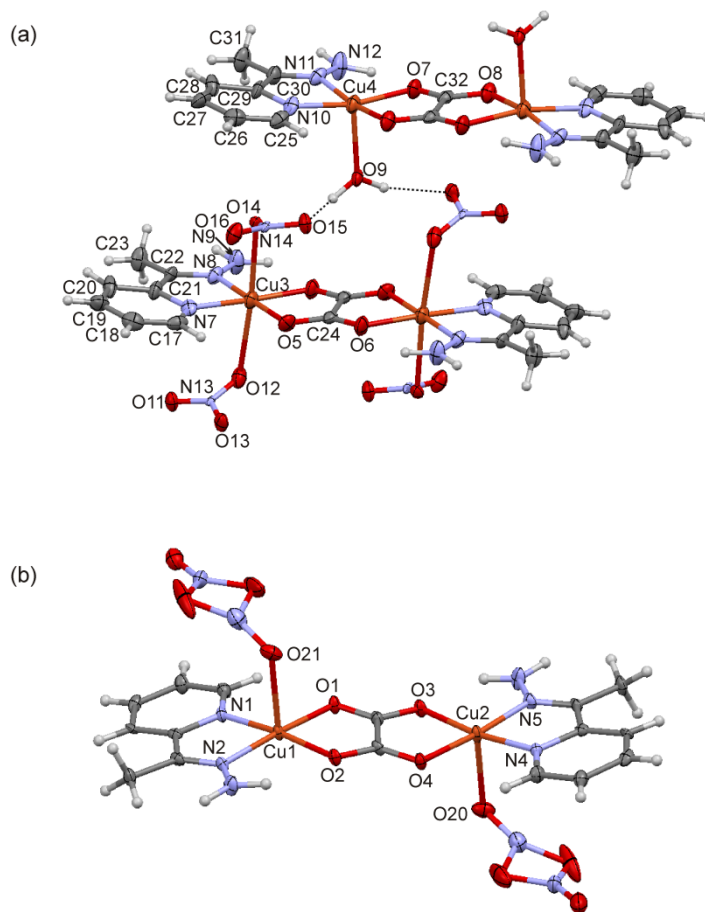
uglovi N(1)–C(5)–C(6)–N(2) i N(4)–C(12)–C(10)–N(5) koji iznose 20,9° i 12,4°, navedenim redosledom, su takođe mera uvijenosti piridinskih prstenova. Uzrok distorzije Ni(1) od idealne kvadratno-planarne geometrije je najverovatnije napon prouzrokovan sternim smetnjama između vodonikovih atoma koji se nalaze na C(1) i C(16) atomima. Ova činjenica vodi ka formiranju hiralnog molekula, međutim, imajući u vidu kristalizaciju [Ni(L1)]·H<sub>2</sub>O kompleksa u centrosimetričnoj prostornoj grupi (*P2<sub>1</sub>/c*)  $\Delta$  i  $\Lambda$  izomeri grade racemat u čvrstom stanju.



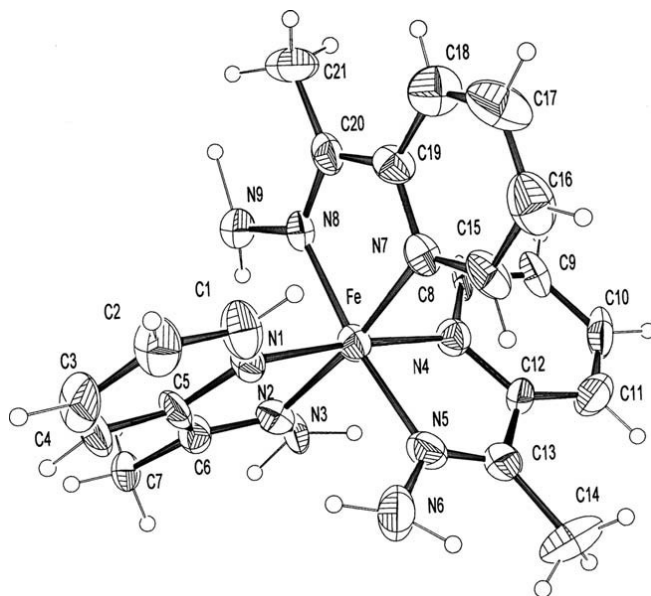
Slika 2. ORTEP dijagram [Ni(L1)]·H<sub>2</sub>O kompleksa.

Polifunkcionalni ligandi koji su dobijeni u kondenzacionim reakcijama u kojima se eliminišu mali molekuli, kao na primer voda, etanol i drugi mogu se lako hidrolizovati prilikom reakcije sa nekim jonima prelaznih metala u rastvaračima koji sadrže malu količinu vode. Tako na primer u reakciji H<sub>2</sub>L1 sa Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O ili Cu(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O u MeOH/H<sub>2</sub>O hidroliza na hidrazidnom fragmentu je dovela do formiranja binuklearnog kompleksa sa 2-acetilpiridin-hidrazonom prosečne formule [(C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] u kome oksalato anjon funkcioniše kao most između mononuklearnih podjedinica [25] (Slika 3). Slično tome, hidroliza H<sub>2</sub>L1 liganda se takođe dogodila u reakciji sa Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O u vodi uz simultanu redukciju Fe(III) do Fe(II) pomoću oksalato anjona pri čemu je nastao mononuklearni kompleks Fe(II) sa 2-acetilpiridin-hidrazonom [84]. Tri liganda koordinovana sa gvožđem(II) formiraju

meridijalne geometrijske izomere (Slika 4) koji kristališu kao racemska smeša  $\Delta$  i  $\Lambda$  izomera u centrosimetričnoj prostornoj grupi  $C2/c$ .



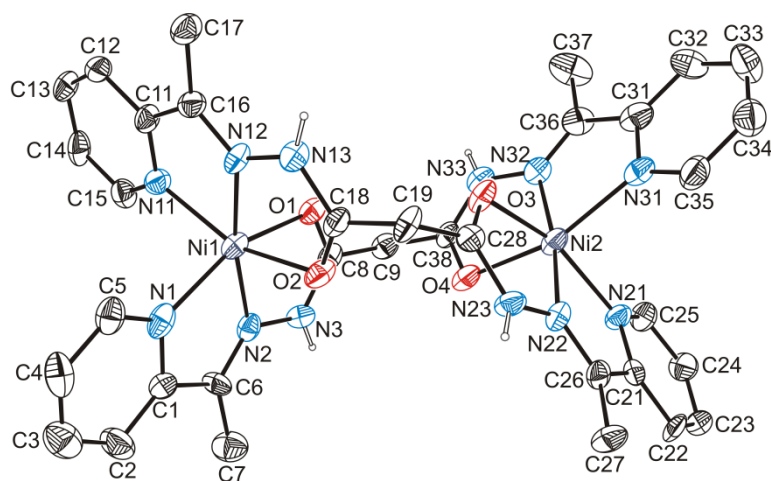
Slika 3. (a) Prikaz dva dinuklearna fragmenta (Cu3 i Cu4) u kompleksu  $[(C_7H_9N_3)_2Cu_2(C_2O_4)(H_2O)_2(NO_3)_2]$ . Neoznačene mononuklearne podjedinice generišu se operacijom simetrije  $1-x, 1-y, -1-z$ ; (b) Prikaz trećeg dinuklearnog fragmenta (Cu1, Cu2) u  $[(C_7H_9N_3)_2Cu_2(C_2O_4)(H_2O)_2(NO_3)_2]$  kompleksu.



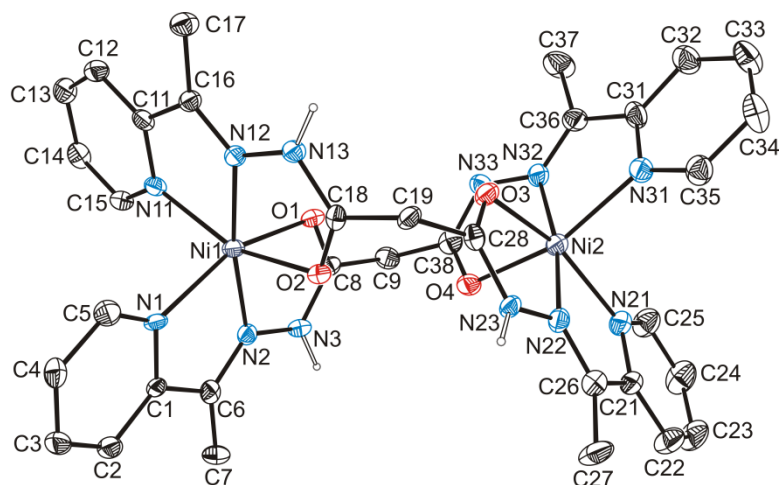
Slika 4. Prikaz  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{L1}')_3]^{2+}$  katjona u  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{L1}')_3](\text{ClO}_4)_2$  kompleksu.

Strukturno sličan, ali nešto fleksibilniji ligand zasnovan na dihidrazidu malonske kiseline  $N',N^2$ -bis[(1*E*)-1-(2-piridil)etiliden]propandihidrazid ( $\text{H}_2\text{L}_2$ ) sa M(II) jonima (M(II) = Ni, Zn i Cd) gradi binuklearne komplekse koordinacionog broja šest  $\{[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4, [\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$  i  $[\text{Zn}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{BF}_4)_4$  [81] } ili sedam  $\{[\text{Cd}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  [18] }, u kojima se dva liganda koordinuju sa dva metalna centra u bis-tridentatni način (Slike 5–7). U kompleksima  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$ ,  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$ ,  $[\text{Zn}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{BF}_4)_4$  i  $[\text{Cd}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  koordinacija svakog liganda je postignuta preko dva  $\text{N}_2\text{O}$  donorska seta što vodi ka formiranju četiri petočlana helatna prstena. Jedan od pokazatelja oktaedarskog napona je prosečna  $\Delta O_h$  vrednost definisana kao prosečno odstupanje 12 oktaedarskih uglova od idealne vrednosti ( $90^\circ$ ). Za binuklearne kompleksne katjone  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2]^{4+}$  i  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)]^{3+}$  ustanovljene prosečne  $\Delta O_h$  vrednosti su od  $8,9^\circ$  do  $9,6^\circ$ . Jezgro binuklearnih kompleksa  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$ ,  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$ , i  $[\text{Cd}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  predstavlja dvanaestočlani makrociklični prsten  $(\text{M}(\text{II})-\text{O}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{O})_2$  (M(II) = Ni, Zn i Cd). U oktaedarskim binuklearnim kompleksima Ni(II) dva NNO helatna sistema su međusobno okomito postavljene, kao što se to može videti iz vrednosti diedarskih uglova koji iznose  $83,6^\circ$  i  $82,5^\circ$  u

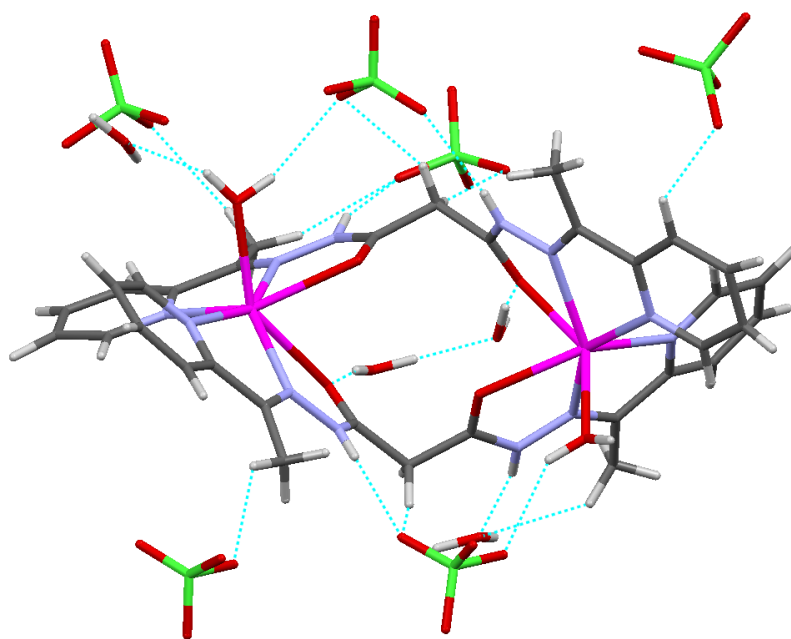
$[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}2)_2](\text{ClO}_4)_4$  i  $83,7^\circ$  i  $85,6^\circ$  u  $[\text{Ni}_2(\text{HL}2)(\text{H}_2\text{L}2)](\text{ClO}_4)_3$ , dok u kompleksu  $[\text{Cd}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{H}_2\text{L}2)_2](\text{ClO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , koordinacionog broja sedam, ovi uglovi imaju znatno niže vrednosti ( $70^\circ$  i  $75^\circ$ ).



Slika 5. Prikaz bimetalnog kompleksnog katjona  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}2)_2]^{4+}$ . Termalni elipsoidi su prikazani sa 40% verovatnoće. Vodonikovi atomi vezani za ugljenikove atome nisu prikazani radi preglednosti. Vodonikovi atomi vezani za azotove atome su prikazani radi ilustracije neutralne forme liganda.

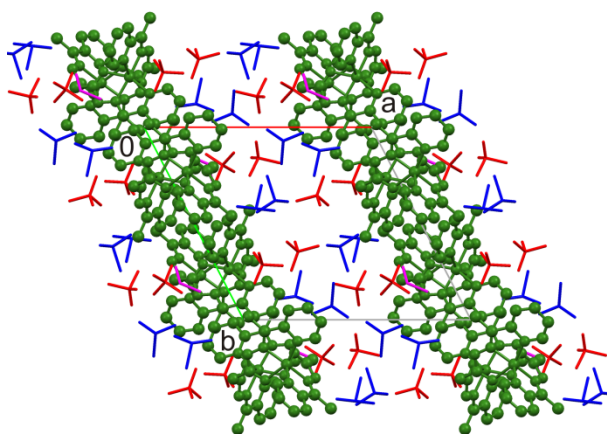


Slika 6. Prikaz bimetalnog kompleksnog katjona  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)]^{3+}$ . Termalni elipsoidi su prikazani sa 40% verovatnoće. Vodonikovi atomi vezani za ugljenikove atome nisu prikazani radi preglednosti. Vodonikovi atomi vezani za azotove atome su prikazani radi ilustracije neutralne i monodeprotonovane forme liganda.

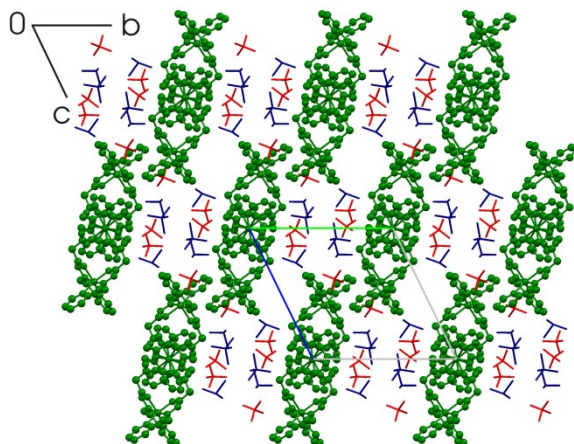


Slika 7. Prva sfera interakcija između kompleksnog katjona  $[\text{Cd}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2]^{4+}$  i okolnih anjona i nekoordinovanih molekula vode.

Frakcionom kristalizacijom taloga (iz DMSO/EtOH rastvora) koji je dobijen u reakciji H<sub>2</sub>L2 sa Ni(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O u EtOH odvojena su dva različita Ni(II) kompleksa kao zeleni {[Ni<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L2)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>4</sub>} i braon {[Ni<sub>2</sub>(HL2)(H<sub>2</sub>L2)](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>} kristali. Zeleni kristali imaju slojevitu strukturu (Slika 8), dok braon kristale karakteriše kanalna struktura (Slika 9).



Slika 8. Slojevita struktura kristala kompleksa [Ni<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>L2)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>4</sub> posmatrana duž *c* pravca. Prikazane su samo glavne komponente neuređenih molekula. DMSO molekuli i perhloratni anjoni se nalaze u sendviču između (100) katjonskih slojeva.



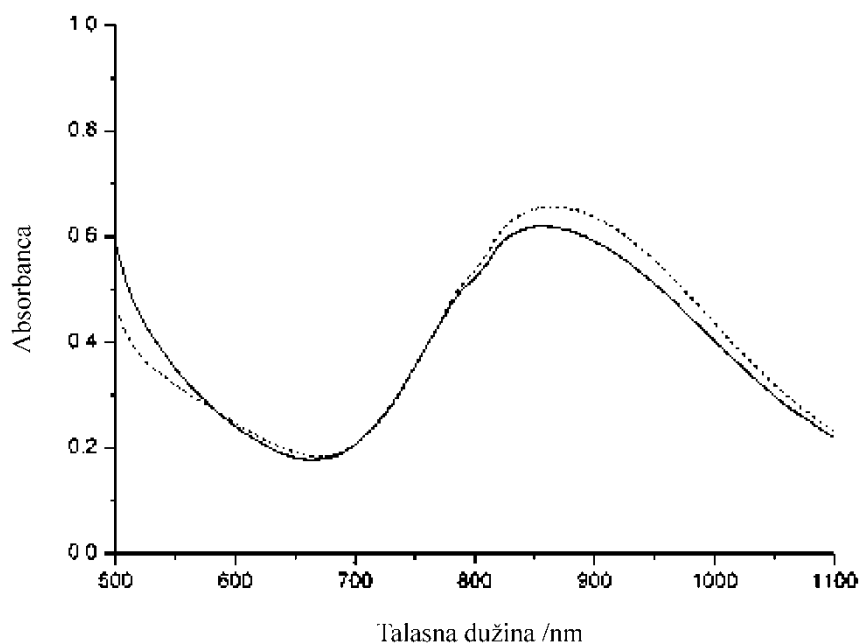
Slika 9. Prikaz kristalne strukture kompleksa  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$ . Prazni kanali se nalaze u onom delu kristala gde je koncentrisana većina neuređenih molekula rastvarača (DMSO i etanol).

Obe vrste kristala gube kristalnu formu kada se izlože vazduhu, mada su se braon kristali pokazali stabilnijim. Kada se  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  kompleks rastvori u MeCN, DMF ili DMSO boja rastvora se praktično trenutno menja od zelene do braon. Pored toga, iz rastvora dobijenog rastvaranjem zelenih kristala, dobijaju se oba kompleksa nikla(II) (zeleni i braon). Kompleks  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  kristališe prvi. Predloženi mehanizam formiranja  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$  kompleksa polazeći od  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  dat je jednačinom (1). Kao što je napomenuto, nakon rastvaranja kompleksa  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  u DMSO, boja rastvora se relativno brzo menja od zelene do braon. Elektronski apsorpcioni spektar ovako dobijenog braon rastvora je sličan po obliku i položaju apsorpcionog maksimuma spektru kompleksa  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$  (Slika 10). Ovo podržava pretpostavku da se kompleks  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  lako transformiše u stabilniji kompleks  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$ . Tri spinski dozvoljena prelaza  $[^3\text{A}_{2g} \rightarrow ^3\text{T}_{2g} (\text{F}); ^3\text{A}_{2g} \rightarrow ^3\text{T}_{1g} (\text{F}) \text{ i } ^3\text{A}_{2g} \rightarrow ^3\text{T}_{1g} (\text{P})]$  se očekuju za oktaedarske Ni(II) komplekse. Međutim, kompleks  $[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$  pokazuje samo jednu asimetričnu traku u bliskoj infracrvenoj



oblasti na 854 nm. Apsorpcione trake koje se očekuju u vidljivoj i UV oblasti su maskirane CT prelazima ili prelazima u okviru liganada.

U reakciji  $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  i liganda  $\text{H}_2\text{L}_2$  dobijen je binuklearni  $\text{Zn}(\text{II})$  kompleks koji formira nestabilne bele kristale. Na bazi preliminarnih rezultata rendgenske strukturne analize pokazano je da je struktura kompleksa  $[\text{Zn}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{BF}_4)_4$  vrlo slična strukturi kompleksa  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$ .



Slika 10. Elektronski apsorpcioni spektri  $[\text{Ni}_2(\text{H}_2\text{L}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$  (- - -) i

$[\text{Ni}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{L}_2)](\text{ClO}_4)_3$  (—) u DMSO-u.

Urađena je ispitivanje biološke aktivnosti H<sub>2</sub>L1 i H<sub>2</sub>L2 liganada i kompleksa dobivenih sa njima [82]. Pokazano je da je generalno aktivnost liganada umerena i da se povećava kompleksiranjem za metale [18]. Utvrđena je veća aktivnost ispitivanih sistema (liganada i kompleksa) prema bakterijama nego prema gljivi *Candida. albicans*. Takođe je ispitivana citotoksična aktivnost liganada i kompleksa. Utvrđeno je da se aktivnost višestruko povećava kompleksiranjem [18]. Zbog velike neuređenosti veći broj kompleksa sa ligandima H<sub>2</sub>L1 i H<sub>2</sub>L2 nije mogao da se analizira [81].

## LITERATURA

1. A.M. Stadler, J. Harrowfield, *Inorg. Chim. Acta* **362** (2009) 4298.
2. A. Bacchi, M. Carcelli, G. Pelizzi, C. Solinas, L. Sorace, *Inorg. Chim. Acta* **359** (2006) 2275.
3. H. Adams, D.E. Fenton, G. Minardi, E. Mura, A.M. Pistuddi, C. Solinas, *Inorg. Chem. Commun.* **3** (2000) 24.
4. G.M. Larin, A.N. Gusev, Yu.V. Trush, V.F. Shulgin, G.G. Aleksandrov, I.L. Eremenko, *Dokl. Chem.* **414** (2007) 115.
5. Z. He, C. He, Z.M. Wang, E.Q. Gao, Y. Liu, C.H. Yan, *Dalton Trans.* (2004) 502.
6. L. Han, L. Li, C.G. Yan, *Synth. React. Inorg., Met.-Org., Nano-Met. Chem.* **37** (2007) 597.
7. H.D. Yin, J. C. Cui, Y. L. Qiao, *Polyhedron* **27** (2008) 2157.
8. M.X. Li, L. Yan, J.P. Wang, J. Zhou, *Acta Crystallogr., Sect E* **62** (2006) m2517.
9. M. Li, P. Cai, C. Duan, F. Lu, J. Xie, Q. Meng, *Inorg. Chem.* **43** (2004) 5174.
10. (a) G.M. Larin, V.F. Shulgin, A.N. Gusev, A.N. Chernega, *Russ. Chem. Bull.* **53** (2004) 775;  
(b) V.F. Shulgin, A.N. Gusev, A.N. Chernega, G.M. Larin, *Russ. Chem. Bull.* **56** (2007) 236;  
(c) V.F. Shulgin, A.N. Gusev, V.Y. Zub, G.M. Larin, *Russ. Chem. Bull.* **54** (2005) 1804;  
(d) G.M. Larin, V.F. Shulgin, A.N. Gusev, A.N. Chernega, *Dokl. Chem.* **390** (2003) 152;

- (e) V.F. Shulgin, A.N. Gusev, V.Y. Zub, G.M. Larin, *Russ. Chem. Bull.* **52** (2003) 1301;
- (f) V.F. Shulgin, A.N. Gusev, V.Y. Zub, G.M. Larin, *Russ. Chem. Bull.* **51** (2002) 2268;
- (g) G.M. Larin, V.F. Shulgin, E.D. Melnikova, V.Y. Zub, Y.V. Rakitin, *Russ. Chem. Bull.* **51** (2002) 632;
- (h) G.M. Larin, V.F. Shulgin, E.A. Sarnit, Y.V. Rakitin, *Russ. Chem. Bull.* **50** (2001) 812;
- (i) G.M. Larin, V.F. Shulgin, E.A. Sarnit, *Mendeleev Commun.* (1999) 129.
11. J.D. Ranford, J.J. Vittal, Y.M. Wang, *Inorg. Chem.* **37** (1998) 1226.
12. M.F. Iskander, L. El-Sayed, N.M.H. Salem, R. Werner, W. Haase, *J. Coord. Chem.* **58** (2005) 125.
13. M.P. Degaonkar, V.G. Puranik, S.S. Tavale, S. Gopinathan, G. Gopinathan, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **67** (1994) 1797.
14. Y. Liang, G. Huang, Y. Ma, G. Zhao, *Polyhedron* **12** (1993) 1043.
15. X. Wang, X.M. Zhang, H.X. Liu, *Polyhedron* **13** (1994) 2611.
16. C.T. Yang, J.D. Ranford, J.J. Vittal, *Synth. React. Inorg., Met.-Org., Nano-Met. Chem.* **35** (2005) 71.
17. W. Henderson, L.L. Koh, J.D. Ranford, W.T. Robinson, J.O. Svensson, J.J. Vittal, Y.M. Wang, Y. Xu, *Dalton Trans.* (1999) 3341.
18. N.R. Filipović, A. Bacchi, M. Lazić, G. Pelizzi, S. Radulović, D.M. Sladić, T.R. Todorović, K.K. Anđelković, *Inorg. Chem. Commun.* **11** (2008) 47.
19. (a) B.B. Umarov, M.T. Toshev, V.G. Yusupov, G.G. Aleksandrov, N.A. Parpiev, K.B. Dustov, O.U. Sharopov, K.T. Sharipov, *Koord. Khim.* **14** (1988);
- (b) V.G. Yusupov, B.B. Umarov, N.A. Parpiev, *Zh. Neorg. Khim.* **32** (1987) 1956;

- (c) V.G. Yusupov, B.B. Umarov, N.A. Parpiev, S.I. Yakimovich, *Koord. Khim.* **13** (1987) 1645;
- (d) V.G. Yusupov, B.B. Umarov, N.A. Parpiev, S.K. Kasymov, G.A. Shvekhgeimer, K.I. Kobrakov, N.G. Popandopulo, E.V. Arslanov, *Zh. Obshch. Khim.* **59** (1989) 1944.
20. L. Zhao, V. Niel, L.K. Thompson, Z. Xu, V.A. Milway, R.G. Harvey, D.O. Miller, C. Wilson, M. Leech, J.A.K. Howard, S.L. Heath, *Dalton Trans.* (2004) 1446.
21. X. Chen, S. Zhan, C. Hu, Q. Meng, Y. Liu, *Dalton Trans.* (1997) 245.
22. G. Paolucci, S. Stelluto, S. Sitran, *Inorg. Chim. Acta* **110** (1985) 19.
23. V.A. Milway, L. Zhao, T.S.M. Abedin, L.K. Thompson, Z. Xu, *Polyhedron* **22** (2003) 1271.
24. B. Ji, Q. Du, K. Ding, Y. Li, Z. Zhou, *Polyhedron* **15** (1996) 403.
25. T.L. Kelly, V.A. Milway, H. Grove, V. Niel, T.S.M. Abedin, L.K. Thompson, L. Zhao, R.G. Harvey, D.O. Miller, M. Leech, A.E. Goeta, J.A.K. Howard, *Polyhedron* **24** (2005) 807.
26. T.S.M. Abedin, L.K. Thompson, D.O. Miller, E. Krupicka, *Chem. Commun.* (2003) 708.
27. S.K. Dey, T.S.M. Abedin, L.N. Dawe, S.S. Tandon, J.L. Collins, L.K. Thompson, A.V. Postnikov, M.S. Alam, P. Müller, *Inorg. Chem.* **46** (2007) 7767.
28. A.W. Nashed, T.A. El Bokl, T.E. Khalil, W. Haase, M.F. Iskander, *J. Coord. Chem.* **58** (2005) 153.
29. X.Y. Cao, J. Harrowfield, J. Nitschke, J. Ramírez, A.M. Stadler, N. Kyritsakas-Gruber, A. Madalan, K. Rissanen, L. Russo, G. Vaughan, J.M. Lehn, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2007) 2944.
30. C. Pelizzi, G. Pelizzi, G. Predieri, S. Resola, *Dalton Trans.* (1982) 1349.
31. C. Pelizzi, G. Pelizzi, F. Vitali, *Transition Met. Chem.* **11** (1986) 401.
32. D. Delledonne, G. Pelizzi, C. Pelizzi, *Acta Crystallogr., Sect. C* **43** (1987) 1502.

33. D. Wester, G.J. Palenik, *Chem. Commun.* (1975) 74.
34. A. Mangia, C. Pelizzi, G. Pelizzi, *Acta Crystallogr., Sect. B* **30** (1974) 2146.
35. P. Mazza, F. Zani, M. Orcesi, C. Pelizzi, G. Pelizzi, G. Predieri, *J. Inorg. Biochem.* **48** (1992) 251.
36. A. Bonardi, C. Carini, C. Merlo, C. Pelizzi, G. Pelizzi, P. Tarasconi, F. Vitali, F. Cavatorta, *Dalton Trans.* (1990) 2771.
37. A. Bonardi, C. Merlo, C. Pelizzi, G. Pelizzi, P. Tarasconi, F. Cavatorta, *Dalton Trans.* (1991) 1063.
38. C. Pelizzi, G. Pelizzi, S. Porretta, F. Vitali, *Acta Crystallogr., Sect. C* **42** (1986) 1131.
39. C. Pelizzi, G. Pelizzi, F. Vitali, *Dalton Trans.* (1987) 177.
40. M.R. Bermejo, M. Fondo, A.M. González, O.L. Hoyos, A. Sousa, C.A. McAuliffe, W. Hussain, R. Pritchard, V.M. Novotorsev, *Dalton Trans.* (1999) 2211.
41. C. Pelizzi, G. Pelizzi, *Dalton Trans.* (1980) 1970.
42. S. Naskar, D. Mishra, S.K. Chattopadhyay, M. Corbella, A.J. Blake, *Dalton Trans.* (2005) 2428.
43. C. Pelizzi, G. Pelizzi, G. Predieri, F. Vitali, *Dalton Trans.* (1985) 2387.
44. S. Naskar, D. Mishra, A.J. Blake, S.K. Chattopadhyay, *Struct. Chem.* **18** (2007) 217.
45. K.B. Gudasi, S.A. Patil, R.S. Vadavi, R.V. Shenoy, M. Nethaji, S.W.A. Bligh, *Inorg. Chim. Acta* **359** (2006) 3229.
46. C. Pelizzi, G. Pelizzi, G. Predieri, *J. Organomet. Chem.* **263** (1984) 9.
47. G.J. Palenik, T.J. Giordano, *Dalton Trans.* (1987) 1175.
48. C. Lorenzini, C. Pelizzi, G. Pelizzi, G. Predieri, *Dalton Trans.* (1983) 721.
49. K.A. Abboud, R.C. Palenik, G.J. Palenik, *Acta Crystallogr., Sect. C* **52** (1996) 2994.

50. T.J. Giordano, G.J. Palenik, R.C. Palenik, D.A. Sullivan, *Inorg. Chem.* **18** (1979) 2445.
51. J.E. Thomas, R.C. Palenik, G.J. Palenik, *Inorg. Chim. Acta* **37** (1979) L459.
52. F.B. Tamboura, P.M. Hab, M. Gaye, A.S. Sall, A.H. Barry, T. Jouini, *Polyhedron* **23** (2004) 1191.
53. F.B. Tamboura, M. Diop, M. Gaye, A.S. Sall, A.H. Barry, T. Jouini, *Inorg. Chem. Commun.* **6** (2003) 1004.
54. A.S. Al-Shihri, J.R. Dilworth, S.D. Howe, J. Silver, R.M. Thompson, *Polyhedron* **12** (1993) 2297.
55. C. Lorenzini, C. Pelizzi, G. Pelizzi, G. Predieri, *Dalton Trans.* (1983) 2155.
56. R.H.P. Fransco, P.C. Moreno, M.T. do P. Gambardella, G.F. De Sousa, M.B.P. Mangas, A. Abras, *Acta Crystallogr., Sect. C* **54** (1998) 1444.
57. I. Ivanović-Burmazović, A. Bacchi, G. Pelizzi, V.M. Leovac, K. Andjelković, *Polyhedron* **18** (1998) 119.
58. K. Andjelković, A. Bacchi, G. Pelizzi, D. Jeremić, I. Ivanović-Burmazović, *J. Coord. Chem.* **55** (2002) 1385.
59. A. Bacchi, I. Ivanović-Burmazović, G. Pelizzi, K. Andjelković, *Inorg. Chim. Acta* **313** (2001) 109.
60. G. Pelizzi, A. Bacchi, I. Ivanović-Burmazović, M. Gruden, K. Andjelković, *Inorg. Chem. Commun.* **4** (2001) 311.
61. A. Bacchi, M. Carcelli, O. Francescangeli, F. Neve, P. Pelagatti, C. Pelizzi, *Inorg. Chem. Commun.* **2** (1999) 255.
62. A. Bacchi, M. Carcelli, P. Pelagatti, C. Pelizzi, G. Pelizzi, C. Salati, P. Sgarabotto, *Inorg. Chim. Acta* **295** (1999) 171.
63. A. Bacchi, A. Bonardi, M. Carcelli, P. Mazza, P. Pelagatti, C. Pelizzi, G. Pelizzi, C. Solinas, F. Zani, *J. Inorg. Biochem.* **69** (1998) 101.

64. M. Carcelli, G. Corazzari, S. Ianelli, G. Pelizzi, C. Solinas, *Inorg. Chim. Acta* **353** (2003) 310.
65. M. Carcelli, S. Ianelli, P. Pelagatti, G. Pelizzi, D. Rogolino, C. Solinas, M. Tegoni, *Inorg. Chim. Acta* **358** (2005) 903.
66. E.B. Kaimakan, V.V. Lukov, L.D. Popov, Y.P. Tupolova, I.L. Trubnikov, V.A. Kogan, *Russ. J. Coord. Chem.* **32** (2006) 233.
67. (a) A.S. Antsyshkina, M.A. Porai-Koshits, G.G. Sadikov, V.V. Lukov, V.A. Kogan, S.I. Levchenkov, *Zh. Neorg. Khim.* **39** (1994) 905.
- (b) S.I. Levchenkov, V.V. Lukov, V.A. Kogan, *Russ. J. Coord. Chem.* **22** (1996) 144;
- (c) V.A. Kogan, L.D. Popov, V.V. Lukov, A.G. Starikov, *Zh. Neorg. Khim.* **39** (1994) 1676;
- (d) V.V. Lukov, S.I. Levchenkov, I.N. Shcherbakov, S.V. Posokhova, V.A. Kogan, *Russ. J. Coord. Chem.* **27** (2001) 135;
- (e) V.V. Lukov, S.I. Levchenkov, V.A. Kogan, *Russ. J. Coord. Chem.* **25** (1999) 46.
68. X.H. Bu, M. Du, L. Zhang, X.B. Song, R.H. Zhang, T. Clifford, *Inorg. Chim. Acta* **308** (2000) 143.
69. Y. Shiping, C. Peng, L. Daizheng, J. Zonghui, W. Genglin, W. Honggen, Y. Xinkan, *Polyhedron* **11** (1992) 879.
70. P. Cheng, D. Liao, S. Yan, J. Cui, Z. Jiang, G. Wang, X. Yao, H. Wang, *Helv. Chim. Acta* **80** (1997) 213.
71. L. Xiaozeng, W. Genglin, L. Daizheng, Y. Shiping, J. Zonghui, W. Honggen, Y. Xinkan, *Polyhedron* **14** (1995) 511.
72. P.M. Haba, F.B. Tamboura, O. Diouf, M. Gaye, A.S. Sall, C.A. Balde, C. Slebodnick, *Bull. Chem. Soc. Ethiopia* **20** (2006) 45.



73. B.F. Hoskins, C.J. McKenzie, I.A.S. MacDonald, R. Robson, *Dalton Trans.* (1996) 2227.
74. (a) M. Louey, C.J. McKenzie, R. Robson, *Inorg. Chim. Acta* **111** (1986) 107;  
(b) C.J. McKenzie, R. Robson, *Chem. Commun.* (1988) 112.
75. (a) Z. Gang, L. Feng, X. Jishan, M. Yongxiang, *Polyhedron* **7** (1988) 393;  
(b) V.A. Kogan, A.N. Morozov, V.V. Lukov, *Zh. Neorg. Khim.* **33** (1988) 133.
76. (a) M. Yongxiang, Z. Gang, *Inorg. Chim. Acta* **144** (1988) 265;  
(b) H. Xiao-jun, J. Pei-song, H. Guo-sheng, M. Yong-xiang, *Transition Met. Chem.* **16** (1991) 314;  
(c) Y. Ma, Z. Zeng, G. Huang, X. Han, *Lanth. Actin. Res.* **3** (1991) 259;  
(d) S.K. Sengupta, O.P. Pandey, A. Rai, A. Sinha, *Spectrochim. Acta Part A* **65A** (2006) 139.
77. R. Gup, B. Kirkan, *Spectrochim. Acta, Part A* **64** (2006) 809.
78. D. Plaul, A. Buchholz, H. Goerls, W. Plass, *Polyhedron* **26** (2007) 4581.
79. (a) J. Ramírez, A.M. Stadler, G. Rogez, M. Drillon, J.M. Lehn, *Inorg. Chem.* **48** (2009) 2456;  
(b) J. Ramírez, L. Brelot, I. Osinska, A.M. Stadler, *J. Mol. Struct.* **931** (2009) 20.
80. S. Sen, C.R. Choudhury, P. Talukder, S. Mitra, M. Westerhausen, A.N. Kneifel, C. Desplanches, N. Daro, J.P. Sutter, *Polyhedron* **25** (2006) 1271.
81. T. Todorović, U. Rychlewska, B. Warzajtis, D. Radanović, N. Filipović, I. Pajić, D. Sladić, K. Anđelković, *Polyhedron* **28** (2009) 2397.
82. M. Lazić, S. Radulović, T. Todorović, D. Sladić, Ž. Tešić, K. Anđelković, *Mater. Sci. Forum* **518** (2006) 513.
83. A.W. Addison, T.N. Rao, J. Reedijk, J. van Rijn, C.G. Verscoor, *Dalton Trans.* (1984) 1349.

84. K. Anđelković, D. Sladić, A. Bacchi, G. Pelizzi, N. Filipović, M. Rajković,  
*Transition Met. Chem.* **30** (2005) 243.

### 3. EKSPERIMENTALNI DEO

#### 3.1 Sinteza liganada i kompleksa

##### 3.1.1. Sinteza liganada $N', N'^2$ -bis[(1E)-1-(2-piridil)etiliden]etandihidrazida ( $H_2L1$ )

U suspenziju dihidrazida oksalne kiseline (0,19 g, 1,60 mmol) i 2-acetilpiridina ( $0,36 \text{ cm}^3$ , 3,20 mmol) u vodi ( $20 \text{ cm}^3$ ) dodato je par kapi konc. HCl i pH vrednost je podešena na oko 4,0–4,5. Reakciona smeša je mešana uz refluks 1 h, nakon čega je beli precipitat,  $H_2L1$ , filtriran i ispran sa hladnom vodom. Prinos je bio 57 %. Podaci elementalne analize liganada  $H_2L1$  dati su u Tabeli 2. T. t. 244–246 °C; IR (KBr;  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3343 (m) 1685 (vs), 1581 (vs), 1503 (s), 1483 (vs), 1463 (s), 1429 (s), 1368 (m), 1304 (m), 1181 (m), 1133 (m), 853 (w), 789 (m), 741 (w), 610 (w), 529 (m), 402 (m).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta = 8,54$  (d, 2H,  $J = 4,8$  Hz, C-1, C-16), 7,37 (t, 2H,  $J = 2,6$  Hz, C-2, C-15), 7,74 (C-3, C-4, C-14, C-13; kompleksni signal 4H), 2,34 (s, 6H, C-7, C-11), 11,60 (s, 2H, N-1\*, N-2\*) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta = 148,9$  (C-1, C-16), 124,3 (C-2, C-15), 136,8 (C-3, C-14), 119,9 (C-4, C-13), 150,1 (C-5, C-12) 168,0 (C-6, C-10), 12,3 (C-7, C-11), 154,9 (C-8, C-9) ppm.

Tabela 2. Elementalna analiza liganada  $H_2L1$ .

Element	Izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_2$ (%), $M_r = 324,38$	Nađeno (%)
C	59,2	59,3
H	5,0	5,1
N	25,9	26,3

### 3.1.2. Sinteza liganda $N', N''$ -bis[(1E)-1-(2-piridil)etiliden]propandihidrazida ( $H_2L2$ )

U suspenziju dihidrazida malonske kiseline (0,21 g, 1,60 mmol) i 2-acetilpiridina (0,36 cm<sup>3</sup>, 3,20 mmol) u vodi (20 cm<sup>3</sup>) dodato je par kapi konc. HCl i pH vrednost je podešana na oko 4,0–4,5. Reakciona smeša je mešana uz reflux 1 h nakon čega je beli talog,  $H_2L2$ , filtriran i ispran sa hladnom vodom. Prinos je bio 64 %. Podaci elementalne analize liganda  $H_2L2$  dati su u Tabeli 3. T. t. 220-221 °C; IR (KBr;  $v/cm^{-1}$ ): 3440 (w), 3193 (m), 3094 (w), 1679 (vs), 1582 (m), 1463 (w), 1431 (m), 1391 (s), 1229 (m), 1155 (m), 995 (w), 781 (m), 729 (w). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta$  = 8,57 (t, 2H,  $J$  = 6,6 Hz, C-1, C-17), 7,33 (m, 2H, C-2, C-16), 8,03 (t, 2H,  $J$  = 7,8 Hz, C-3, C-15), 7,78 (td, 2H,  $J$  = 7,1 Hz, C-4, C-14), 2,32 (s, 6H, C-7, C-12), 2,39 (s, 2H, C-9), 10,88 (s, 2H, N-1\*, N-2\*) ppm; <sup>13</sup>C NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta$  = 148,8 (C-1, C-17), 124,1 (C-2, C-16), 136,5 (C-3, C-15), 120,1 (C-4, C-14), 148,2 (C-5, C-13), 170,7 (C-6, C-11), 12,2 (C-7, C-12) 155,3 (C-8, C-10) ppm.

Tabela 3. Elementalna analiza liganda  $H_2L2$ .

Element	Izračunato za $C_{17}H_{18}N_6O_2$ (%), $M_r = 338,37$	Nađeno (%)
C	60,3	59,8
H	5,4	5,3
N	24,8	24,9

### 3.1.3. *Sinteza 2,2'-{1,1'-[2,2'-Oksalilbis(hidrazin-2-il-1-iliden)]dietilidin} dipiridinijum-diperhlorata dihidrata (1)*

Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0,32 g, 0,85 mmol) i H<sub>2</sub>L1 (0,27 g, 0,85 mmol) suspendovani su u MeOH (30 cm<sup>3</sup>). Svetložutoj suspenziji dodato je 4–5 kapi HClO<sub>4</sub> i dobijeni žuti rastvor je refluktovan 1 h na 65 °C. Nakon hlađenja do sobne temperature i filtriranja dobijen je žuti mikrokristalni produkt. Prinos je bio 56 %. T. t. 238–240 °C. Molarna provodljivost (DMF, 1×10<sup>-3</sup> mol/dm<sup>3</sup>) λ<sub>M</sub> = 160 cm<sup>2</sup>/Ω·mol. Rastvorljivost: nerastvoran u vodi i etanolu, rastvoran u acetonitrilu i dimetil-sulfoksidu.

### 3.1.4. *Sinteza kompleksa [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O·0,5C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (2)*

Rastvoru *N,N*-bis[(1*E*)-1-(2-piridil)etiliden]propandihidrazida, H<sub>2</sub>L2, (0,0338 g, 0,1 mmol) u etanolu (15 cm<sup>3</sup>) dodati su 2,2'-dipiridilamina (0,0171 g, 0,1 mmol) i Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0,0291 g, 0,1 mmol), oba rastvorena u po 5 cm<sup>3</sup> etanola. Reakciona smeša je mešana 2 h. Dobijeni tamnobraoncrveni mikrokristalni proizvod proceden je i ispran hladnim etanolom. Prinos je bio 52 %. Podaci elementalne analize kompleksa [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> dati su u Tabeli 4. IR (KBr; v/cm<sup>-1</sup>): 3416 (m), 1602 (w), 1501(s), 1457 (s), 1382 (vs), 1358 (vs), 1329 (s), 1257 (m), 1147 (m), 1074 (m), 1034 (w), 944 (w), 831 (w), 776 (m), 735 (m), 692 (w), 654 (m), 578 (w). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO): δ = 7,89 (d, 2H, *J*=5,0 Hz C-1, C-17), 7,49 (t, 2H, *J*=6,5 Hz, 6,0, C-2, C-16), 8,20 (t, 2H, *J*=8,0 Hz, 7,5, C-3, C-15), 8,13 (d, 2H, *J*=7,5 Hz, C-4, C-14), 3,10 (s, 6H, C-7, C-12), 3,41 (s, 4H, C-9) ppm; <sup>13</sup>C NMR (500 MHz, DMSO): δ = 152,2 (C-1, C-17), 128,8 (C-2, C-16), 141,9 (C-3, C-15), 126,5 (C-4, C-14), 159,8 (C-5, C-13), 162,5 (C-6, C-11), 15,0 (C-7, C-12) 183,7 (C-8, C-10) 34,4 (C-9) ppm. UV-Vis (DMSO): λ<sub>max</sub> 370 nm (ε, 550M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) <sup>1</sup>A<sub>1g</sub>→<sup>1</sup>T<sub>2g</sub> (0,275), λ<sub>max</sub> 320 nm (ε, 950M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) <sup>1</sup>A<sub>1g</sub>→<sup>1</sup>T<sub>1g</sub> (0,475).

Tabela 4. Elementalna analiza kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$ .

Element	Izračunato za $\text{C}_{70}\text{H}_{78}\text{Co}_4\text{N}_{28}\text{O}_{25}$ (%), $M_r = 1947,32$	Nađeno (%)
C	43,18	42,80
H	4,04	3,99
N	20,14	19,79

### 3.2. Merenja

Elementalna C, H, N analiza rađena je standardnom mikrometodom na ELEMENTARVario ELIII C.H.N.S=O analizatoru Centra za instrumentalnu analizu Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Infracrveni spektri snimljeni su na Perkin-Elmer FTIR 1726 spektrometru KBr tehnikom. Korišćene su sledeće skraćenice za intenzitet traka u IR spektrima: veoma jaka (vs), jaka (s), srednje jačine (m), slaba (w). Molarna provodljivost DMF rastvora **1** određena je na sobnoj temperaturi na Jenway-4009 konduktometru. Elektronski apsorpcioni spektri su snimani na UV Cintra 40 spektrometru.

### 3.3. NMR spektroskopija

Za određivanje načina koordinacije liganda  $\text{H}_2\text{L}_2$  za kompleks **2**, u  $\text{DMSO-}d_6$  rastvoru, korišćene su 1D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR i DEPT (‘‘Distortionless Enhancement by Polarization Transfer’’) spektroskopija, 2D COSY (‘‘Correlation Spectroscopy’’), kao i 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  heteronuklearni korelacioni spektri. NMR spektri su dobijeni Bruker Avance 500 spektrometrom koji je opremljen sandom za široke linije. Svi spektri su snimani na 25 °C. 2D COSY spektri su snimani sa jednim skan/ $t_1$ -inkrement, dok su  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$

heteronuklearni spektri dobijeni sa 2 skan/ $tI$ -inkrement. Hemijska pomeranja su data u  $\delta$  skali, u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao interni standard za  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ . Korišćene su sledeće skraćenice : singlet (s), dublet (d), triplet (t), triplet dubleta (td).

### 3.4. Rendgenska strukturalna analiza

Kristalografska merenja su vršena na Oxford Diffraction XcaliburS CCD difraktometru upotrebom grafit-monohromatskog  $\text{MoK}\alpha$  zračenja (0,71073 Å) na temperaturi 130(2) K. Za prikupljanje i redukciju podataka (refleksija) korišten je *CrysAlis PRO* program [1]. Svi relevantni podaci o kristalu, kao i podaci koji se odnose na prikupljanje podataka i utičnjavanje strukture dati su u Tabeli 5. Za rešavanje strukture korišten je SHELXS97 program, a za njeno utičnjavanje SHELXL97 [2]. Atomi teži od vodonika su tretirani anizotropno, a vodonikovi atomi izotropno. Težinski  $R$ -faktor ( $wR$ ) i faktor primerenosti (*goodness of fit*)  $S$  su bazirani na  $F^2$  vrednostima, dok je konvencionalni  $R$ -faktor baziran na  $F$  vrednostima, sa  $F$  vrednostima podešenim na nulu za negativne  $F^2$ . H atomi koji se nalaze na C atomima su pozicionirani geometrijski to jest C—H rastojanja su fiksirana (C—H=0.95–0.98 Å), a njihovo utičnjavanje je vršeno tako što su  $U_{\text{iso}}(\text{H})$  vrednosti definisane odnosom  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eq}}(\text{C})$ . H atomi vezani za N atome su nađeni u  $\Delta F$  mapama i utičnjavani slobodno. Vodonikovi atomi koji pripadaju molekulu vode su takođe nađeni u  $\Delta F$  mapama. Upotrebom instrukcije DFIX njihova rastojanja su fiksirana na 0.84(2) Å (O6—H). Ispitivani kristal je pseudomeroedralno dupliran sa pravilom dupliranja (*twin law*) (1 0 0 0 -1 0 0 0 -1) u recipročnom prostoru. Utačnjavanje strukture je pokazalo da manjinska komponenta iznosi 6%.

Tabela 5. Relevantni kristalografski podaci i podaci o utačnjavanju strukture **1** i kompleksa **2**.

	<b>1</b>	<b>2</b>
Empirijska formula	$C_{16}H_{18}N_6O_2^{2+} \cdot 2ClO_4 \cdot 2 H_2O$	$C_{35}H_{39}Co_2N_{14}O_{12,5}$
Molarna masa / $g\ cm^{-1}$	561,3	973,6
Temperatura / K	130	150
Talasna dužina	0,71073	0,71073
Kristalni sistem	monokliničan	trikliničan
Prostorna grupa	$P2_1/c$	$P1$
Dimenzije jedinične ćelije	$a = 7,0166 (3)$	$a = 15,0282(4)$
	$b = 15,6855 (5)$	$b = 16,3112(4)$
	$c = 10,1152 (4)$	$c = 17,4548(5)$
	$\beta = 90,240 (3)^\circ$	$\beta = 86,147(2)^\circ$
Zapremina / $\text{Å}^3$	1113,26 (7)	4001,19(18)
$Z$	2	4
$D_x / Mg\ m^{-3}$	1,674	1,616
$\eta / mm^{-1}$	0,37	0,912
$\theta_{max} / \theta_{min}$	30,5°/2,9°	–
Br. prikupljenih refleksija	12596	25530
Br. nezavisnih refleksija	3402	14384
Faktor slaganja za $F^2$	0,105	0,1317
Finalno $R [F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0,043	0,0614
$R$ (svi podaci)	0,037	0,1111
$S$	0,98	–



### **3.5. Biološka aktivnost**

#### ***3.5.1. Test na račićima vrste *Artemia Salina****

Kašičica liofilizovanih jajašaca morskih račića vrste *Artemia salina* je dodata u 1 dm<sup>3</sup> veštačke morske vode koja je sadržavala nekoliko kapi suspenzije kvasca (3 mg suvog kvasca u 5 cm<sup>3</sup> destilovane vode). Kroz dobijenu suspenziju, koja je termostatirana na 28 °C i osvetljena, propušan je vazduh u trajanju od 24 h. Testirane supstance su rastvorene u DMSO-u. U staklenu posudicu dodate su 1–2 kapi ekstrakta kvasca, 10–20 sveže izleženih larvi račića u 0,5 cm<sup>3</sup> veštačke morske vode, kao i rastvori ispitivanih supstanci do odgovarajućih koncentracija. Za svaku koncentraciju su urađena dva određivanja. Posudice su ostavljene na sobnoj temperaturi pod dejstvom svetlosti u trajanju od 24 h, nakon čega su izbrojani preživeli račići. LC50 vrednost je definisana kao koncentracija supstance koja prouzrokuje smrt 50% račića. DMSO je bio neaktivan pod primenjenim uslovima.

#### ***3.5.2. Ispitivanje citotoksične aktivnosti***

U cilju ispitivanja citotoksične aktivnosti liganada i kompleksa odabarno je pet tumorskih ćelijskih linija: epitelnog kancera dojke (MDA-361), karcinoma materice (HeLa), mišijeg melanoma (B16), humanih ćelija leukemije (K562) i humanih plućnih fibroblasta (MRC-5) koje su održavane u hranljivoj podlozi RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute, Sigma-Aldrich, Cat. No. R7755) u atmosferi povećane vlažnosti u prisustvu 5% (v/v) CO<sub>2</sub>. Humane endotelne ćelije EA.hy926 su održavane u DMEM glukoznoj hranljivoj podlozi (Dulbecco-ova modifikacija Eagle-ovog medijuma, PAA, kataloški broj E15-883). Obe hranljive podloge pripremljene su u sterilnoj dejonizovanoj vodi, uz dodatak penicilina (100 jedinice/cm<sup>3</sup>), streptomicina (100

$\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ) i 10%-tnog termički inaktiviranog seruma fetusa govečeta (FCS, Sigma-Aldrich, kataloški broj F4135).

### 3.5.2.1. *In vitro* metode određivanja citotoksične aktivnosti

Ćelijske kulture su zasejane, osim za MRC-5 i K562, uz dodatak odgovarajuće hranljive podloge, na ploče od 96 bunarčića tako da je gustina ćelija iznosila 2000 ćelija po bunarčiću, dok je ta gustina za MRC-5 i K562 bila 5000 ćelija po bunarčiću. Ćelije su ostavljene da miruju 24 h nakon čega su dodate ispitivane supstance do finalnih koncentracija 3, 9, 30, 90 i 300  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  za linije B16, MRC-5, i EA.hy926, odnosno 1, 3, 10, 30 i 100  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  za linije MDA-361, HeLa i K562. Rastvori željenih koncentracija pripremljeni su neposredno pre dodatka agensa u bunarčić, prvo rastvaranjem u DMSO-u koncentracije 10  $\text{mmol}/\text{dm}^3$ , a potom razblaživanjem sveže pripremljenih polaznih rastvora ispitivanih supstanci odgovarajućim hranljivim medijumom. Za svaku koncentraciju je urađeno pet određivanja za svaku ćelijsku liniju uz inkubiranje od 48 h. Osim za K562 ćelije, citotoksična aktivnost svakog agensa ispitivana je testom sa sulforodaminom B (SRB, Sigma-Aldrich, kataloški broj S 1402-5G) [3]. S obzirom na to da je K562 ćelijska linija koja se uzgaja u suspenziji, citotoksični potencijal je određen MTT (3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid) metodom [4]. Procenat u odnosu na kontrolu je određen korišćenjem jednačine (2):

$$\% = \frac{OGt - OGs}{OGk - OGs} \cdot 100\% \quad (2)$$

gde je OGt – srednja optička gustina tretiranih ćelija, OGs – srednja optička gustina slepe probe, a OGk – srednja optička gustina kontrolne probe.

Rezultati citotoksične aktivnosti izražene su kao IC50 vrednosti (koncentracija ispitivanog agensa koja smanjuje broj ćelija za 50% u populaciji tretiranih ćelija u odnosu na netretirane kontrolne ćelije), koje su određene korišćenjem GraphPad Prism programskog paketa [5].

### ***3.5.3. Analiza distribucije faza ćelijskog ciklusa protočnom citometrijom***

Ćelije humanog epitela kancera dojke (MDA-361) posejane su na ploče od šest bunarčića (200000 ćelija po bunarčiću) u duplikatu i ostavljene preko noći da odstoje nakon čega je dodata ispitivana supstanca. Za analizu ćelijskog ciklusa ispitivanog jedinjenja korišćene su dve koncentracije, prva jednaka vrednosti IC50, a druga 2 x IC50. Za analizu ćelijskog ciklusa, ćelije su prikupljene nakon 24 h tretmana supstancom, potom isprane jednom PBS puferom i fiksirane ledeno hladnim etanolom (70%). Ovako fiksirane ćelije su inkubirane na 4°C tokom 24 h, a potom je etanol uklonjen ispiranjem dva puta PBS-om. Ćelije su istaložene centrifugiranjem, a potom tretirane sa 0,2 cm<sup>3</sup> ribonukleaze (1 mg/cm<sup>3</sup>) 30 min na 37 °C. Onda su ćelije stavljene na led i dodat je propidijum-jodid (PI) (0,2 cm<sup>3</sup>, 50 µg/cm<sup>3</sup>) 15 minuta pre analize [6].

### ***3.5.4. Analiza ćelijske smrti***

Apoptoza MDA-361 ćelija tretiranih proučavanim kompleksom [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O·0,5C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH određivana je Annexin V–FITC – fluorescein-izotiocijanatom kompleksom za detekciju apoptoze (BD Biosciences, kataloški broj 65874x, Pharmingen San Diego, CA, USA). Suspenzija 1 x 10<sup>6</sup> ćelija/cm<sup>3</sup> tretiranih ispitivanim kompleksom koncentracije 1 x IC50 tokom 24 h, isprana je dva puta hladnim PBS-om, a potom resuspendovana u 200 µL vezujućeg pufera (10 mmol/dm<sup>3</sup> HEPES/NaOH (HEPES – (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansulfonska kiselina) pH 7,4; 140 mmol/dm<sup>3</sup> NaCl, 2,5 mmol/dm<sup>3</sup> CaCl<sub>2</sub>). 100 µL rastvora (1 x 10<sup>5</sup> ćelija) je potom prebačeno u kivetu od 5 mL i dodato je 5 µL Annexin V–FITC-a i 5 µL PI-a. Ćelije su blago vorteksovane i inkubirane na 25 °C tokom 15 min u mraku. Potom je dodato 400 µL vezujućeg pufera. Uzorak je analiziran protočnom citometrijom pomoću FACS Calibur Becton Dickinson protočnog citometra i Cell Quest kompjuterskog paketa [7].

### **3.5.5. Ispitivanje interakcija kompleksa 2 sa DNA sisara**

CT-DNA (DNA iz telećeg timusa) je rastvorena u tris puferu (10 mmol/dm<sup>3</sup> Tris-HCl pH 7,9) i ostavljena preko noći na 4 °C. Koncentracija DNA je podešena na 3 mg/mL pomoću pufera. Ovako pripremljena DNA je čuvana na 4 °C. Rastvor CT-DNA u vodi imao je odnos apsorbance na  $A_{260}/A_{280}$  1,89–2,01 što ukazuje na to da je DNA uspešno prečišćena od proteina. Koncentracija CT-DNA je određena merenjem apsorbance rastvora DNA na talasnoj dužini 260 nm i izračunata na osnovu apsorpcionog koeficijenta  $\epsilon_{260} = 6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  [8]. Elektronska apsorpciona titracija kompleksa sa CT-DNA rađena je pri konstantnoj koncentraciji kompleksa **2**, variranjem koncentracije CT-DNA. U ependorf-kivete je stavljeno po 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 i 15  $\mu\text{L}$  osnovnog rastvora CT-DNA i dodato je po 10  $\mu\text{L}$  rastvora kompleksa **2** i destilovane vode do zapremina od 1 mL. Reakciona smeša je inkubirana na 37 °C tokom 2 h uz povremeno vorteksovanje. Primarni spektri obrađivani su u programu Microcal ORIGIN v8.0.

### **3.5.6. Ispitivanje interakcija kompleksa $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$ sa plazmidnom DNA**

Ispitivanje interakcija kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  sa plazmidnom DNA urađeno je na plazmidu pUC18. Plazmidna DNA je najpre inkubirana na 95 °C tokom 4 min, a zatim na 4 °C sledećih 20 min. Potom je reakciona smeša ukupne zapremine 20  $\mu\text{L}$  koja se sastojala od 230 ng plazmida pUC18 i 40 mM natrijum-bikarbonatnog pufera, pH 8,4, inkubirana sa različitim koncentracijama Co(II),  $\text{H}_2\text{L}_2$  i  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  na 37 °C tokom 90 min i sa kompleksom  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$ , koncentracije 10mM tokom 2 h. Reakciona smeša je povremeno vorteksovana. Reakcija je prekinuta kratkim vorteksovanjem na 10000 rpm i dodatkom 7  $\mu\text{L}$  pufera za nanošenje uzorka (0,25% bromfenol-plavo, 0,25% ksilen-cijanolo FF i 30% glicerol u TAE puferu pH 8,24 (40 mM tris-acetat, 1 mM EDTA)). Za agaroznu gel elektroforezu je korišćena 1% agarozna (Amersham Pharmacia-Biotech, Inc) pripremljena u TAE puferu pH 8,24. Elektroforeza je rađena pri konstantnom naponu (80 V) u trajanju od 1 h. Nakon završene elektroforeze gel je obojen rastvorom

etidijum-bromida (0,5 µg/mL). Posle 30 min bojenja gel je ispran vodom, ostavljen da stoji još 10 min u vodi, a zatim ponovo ispran vodom. Fragmenti DNA su vizuelizovani pod UV svetlom na 312 nm.

### **3.5.7. Antimikrobna aktivnost**

Urađena je procena biološke aktivnosti prema Gram-pozitivnim bakterijama *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* i Gram-negativnoj bakteriji *Klebsiella pneumoniae*, korišćenjem agar difuzione metode. Bakterije su ostavljene preko noći u LB medijumu da narastu. Potom je suspenzija bakterijskih kultura u izotoničnom slanom rastvoru (0,5 mL) dodata u 10 mL otopljenog i prohladenog hranljivog agara. Agar je preliven u sterilne Petri šolje i ostavljen da očvrstne. Mali bunarčići (1 cm u prečniku) su izbušeni u agaru. Rastvor [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> kompleksa u DMSO-u je razblaživan dejonizovanom vodom do konačnih koncentracija (1000, 200, 40, 8 i 0,16 µg/mL) i dodavan u bunarčiće. Zone inhibicije merene su u mm, nakon inkubacije na 37 °C u trajanju od 24 h.

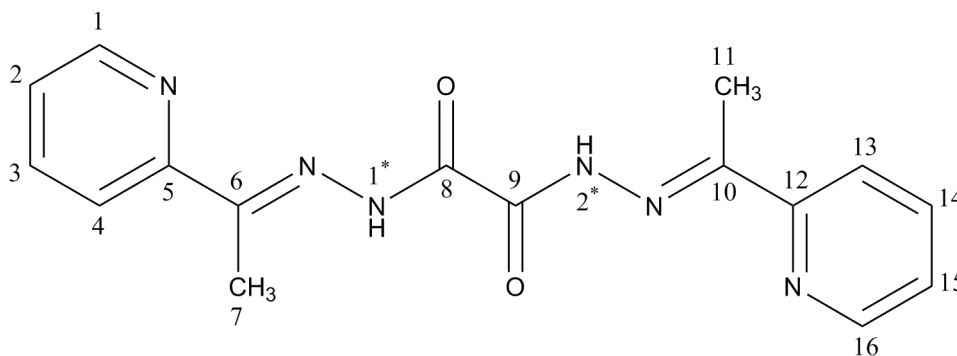
## LITERATURA

1. Oxford Diffraction (2009). CrysAlis PRO. Oxford Diffraction Ltd, Yarnton, England.
2. G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A* **64** (2008) 112.
3. P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J.T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, M.R. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* **82** (1990) 1107.
4. R. Supino, in: S. O'Hare, C.K. Atterwill (Eds.), *Methods in Molecular Biology, In Vitro Toxicity Testing Protocols*, Humana Press, New Jersey, 1995, p. 137–149.
5. [http://www.graphpad.com/help/prism5/prism5help.html?reg\\_classic\\_dr\\_variable.htm](http://www.graphpad.com/help/prism5/prism5help.html?reg_classic_dr_variable.htm).
6. M.G. Ormerod, in: M.G. Ormerod (Eds.), *Analysis of DNA-General Methods. Flow Cytometry, a Practical Approach*, Oxford University Press, New York, 1994, p. 119–125.
7. I.M. Ghobrial, T.E. Witzig, A.A. Adjei, *CA Cancer J. Clin.* **55** (2005) 178.
8. M.E. Reichmann, S.A. Rice, C.A. Thomas, P. Doty, *J. Am. Chem. Soc.* **76** (1954) 3047.

## 4. REZULTATI I DISKUSIJA

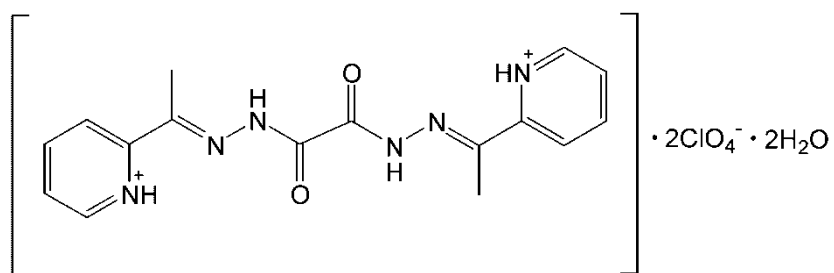
### 4.1 Opis kristalne strukture soli (1)

Prethodna istraživanja su pokazala da se proizvodi direktne reakcije jona metala sa H<sub>2</sub>L1 ligandom (Šema 1) često ne mogu lako predvideti [1–5]. U ovom radu prikazani su rezultati rendgenske strukturne analize 2,2'-{1,1'-[2,2'-oksalilbis(hidrazin-2-il-1-iliden)]dietilidin}dipiridinijum-diperhlorata dihidrata (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub><sup>2+</sup>·2ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>·2H<sub>2</sub>O, Šema 2) koji je slučajno dobijen kao glavni proizvod direktne reakcije Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O sa ligandom *N',N'*-bis[(1*E*)-1-(2-piridil)etiliden]etandihrazidom (H<sub>2</sub>L1). Pored toga, naši pokušaji da nagradimo komplekse M(III) jona sa H<sub>2</sub>L1 ligandom takođe nisu urodili plodom.

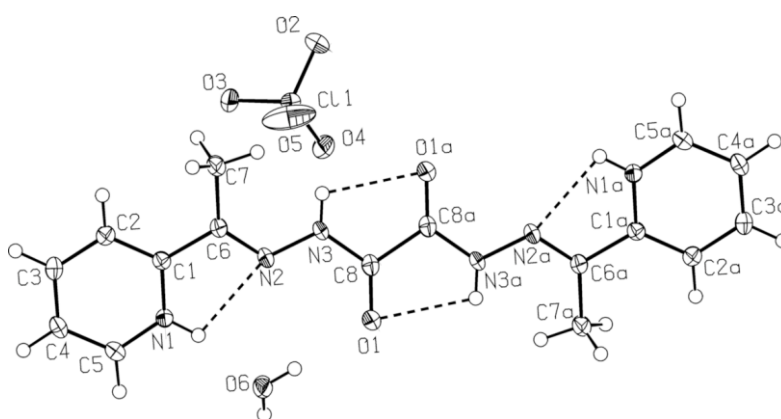


Šema 1. *N',N''*-bis[(1*E*)-1-(2-piridil)etiliden]etandihrazid (H<sub>2</sub>L1)

U jediničnoj ćeliji katjon ispitivane soli C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub><sup>2+</sup> (H<sub>4</sub>L1<sup>2+</sup>) leži na centru inverzije na 1/2, 0, 0. Struktura soli i bročana šema atoma prikazani su na Slici 11. Geometrijski parametri su sumirani u Tabeli 6.



Šema 2. Hemijska struktura  $C_{16}H_{18}N_6O_2^{2+} \cdot 2ClO_4^- \cdot 2H_2O$ .



Slika 11. ORTEP dijagram ispitivane soli. Termalni elipsoidi su prikazani sa 50% stepenom verovatnoće. Intramolekulske vodonične veze (N—H $\cdots$ O i N—H $\cdots$ N) su prikazane sa isprekidanim linijama. Atomi označeni sufiksom "a" se nalaze u simetrijskoj poziciji  $1-x, -y, -z$ .

Tabela 6. Geometrijski parametri za  $C_{16}H_{18}N_6O_2^{2+} \cdot 2ClO_4^- \cdot 2H_2O$  (Å, °).

Cl1—O5	1,4198 (17)	C1—C2	1,377 (2)
Cl1—O4	1,4259 (14)	C1—C6	1,477 (2)
Cl1—O2	1,4309 (14)	C2—C3	1,386 (3)
Cl1—O3	1,4386 (17)	C2—H2	0,95
O1—C8	1,214 (2)	C3—C4	1,381 (3)



O6—H6A	0,815 (17)	C3—H3	0,95
O6—H6B	0,839 (17)	C4—C5	1,379 (3)
N1—C5	1,340 (2)	C4—H4	0,95
N1—C1	1,359 (2)	C5—H5	0,95
N1—H1N	0,84 (2)	C6—C7	1,493 (2)
N2—C6	1,289 (2)	C7—H7A	0,98
N2—N3	1,360 (2)	C7—H7B	0,98
N3—C8	1,352 (2)	C7—H7C	0,98
N3—H3N	0,84 (2)	C8—C8 <sup>i</sup>	1,532 (4)
O5—C11—O4	109,55 (10)	C4—C3—H3	119,9
O5—C11—O2	109,96 (11)	C2—C3—H3	119,9
O4—C11—O2	111,30 (9)	C5—C4—C3	118,46 (17)
O5—C11—O3	108,40 (14)	C5—C4—H4	120,8
O4—C11—O3	108,69 (10)	C3—C4—H4	120,8
O2—C11—O3	108,87 (9)	N1—C5—C4	120,35 (16)
H6A—O6—H6B	114 (3)	N1—C5—H5	119,8
C5—N1—C1	122,70 (15)	C4—C5—H5	119,8
C5—N1—H1N	116,7 (15)	N2—C6—C1	113,35 (15)
C1—N1—H1N	120,6 (15)	N2—C6—C7	128,13 (17)
C6—N2—N3	118,61 (14)	C1—C6—C7	118,52 (15)
C8—N3—N2	118,15 (15)	C6—C7—H7A	109,5
C8—N3—H3N	122,0 (14)	C6—C7—H7B	109,5

N2—N3—H3N	118,4 (15)	H7A—C7—H7B	109,5
N1—C1—C2	118,18 (16)	C6—C7—H7C	109,5
N1—C1—C6	118,26 (15)	H7A—C7—H7C	109,5
C2—C1—C6	123,53 (16)	H7B—C7—H7C	109,5
C1—C2—C3	120,13 (17)	O1—C8—N3	126,18 (17)
C1—C2—H2	119,9	O1—C8—C8 <sup>i</sup>	122,6 (2)
C3—C2—H2	119,9	N3—C8—C8 <sup>i</sup>	111,16 (18)
C4—C3—C2	120,17 (17)		
C6—N2—N3—C8	169,62 (16)	N3—N2—C6—C1	176,07 (14)
C5—N1—C1—C2	-0,7 (2)	N3—N2—C6—C7	-4,8 (3)
C5—N1—C1—C6	-178,72 (16)	N1—C1—C6—N2	3,3 (2)
N1—C1—C2—C3	-0,3 (3)	C2—C1—C6—N2	-174,65 (17)
C6—C1—C2—C3	177,63 (16)	N1—C1—C6—C7	-175,92 (16)
C1—C2—C3—C4	0,9 (3)	C2—C1—C6—C7	6,1 (3)
C2—C3—C4—C5	-0,5 (3)	N2—N3—C8—O1	-9,0 (3)
C1—N1—C5—C4	1,1 (3)	N2—N3—C8—C8 <sup>i</sup>	172,93 (16)
C3—C4—C5—N1	-0,5 (3)		

---

Simetrijski kod: (i)  $-x+1$ ,  $-y$ ,  $-z$ .

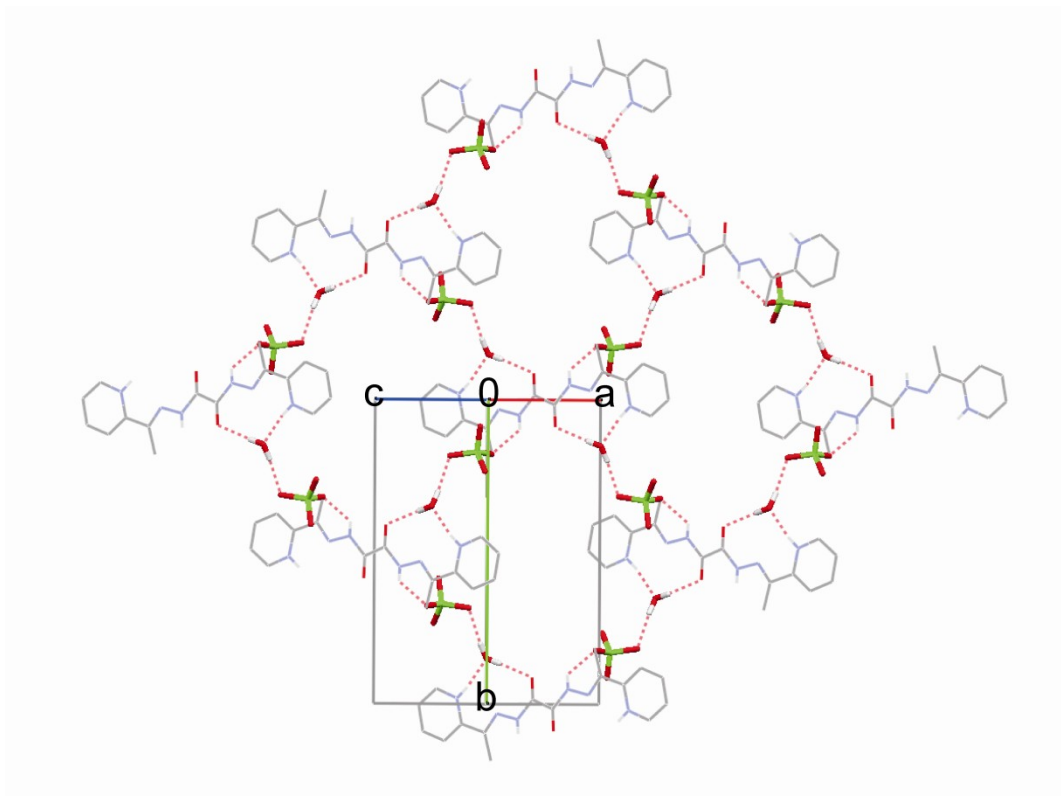
Rastojanje C8—O1 iznosi 1,214(2) Å, što odgovara dvostrukoj vezi ugljenik–kiseonik. Dužine veza N3—C8 [1,352 (2) Å] i N2—C6 [1,289 (2) Å] ukazuju na prostu i dvostruku vezu između ugljenika i azota, navedenim redosledom. Katjon C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub><sup>2+</sup> (H<sub>4</sub>L1<sup>2+</sup>) pokazuje odstupanje od planarnosti. Rastojanje između prosečne ravni definisane C1–C6,C8,N1–N3 atomima i one definisane odgovarajućim

atomima generisanim simetrijskom operacijom  $1-x, -y, -z$  iznosi 0,223 Å. Struktura  $C_{16}H_{18}N_6O_2^{2+} \cdot 2ClO_4^- \cdot 2H_2O$  je stabilizovana pomoću intramolekulskih i intermolekulskih vodoničnih veza čiji su geometrijski parametri dati u Tabeli 7. Transoidna konformacija katjona je stabilizovana pomoću N—H $\cdots$ O vodoničnih veza (Slika 11, Tabela 7). Torzioni ugao O1—C8—C8a—O1a [atomi označeni sufiksom "a" se nalaze u simetrijskoj poziciji  $1-x, -y, -z$ ] iznosi 180°. *Syn* orijentacije piridinjum-iminskih fragmenata su stabilizovane pomoću N—H $\cdots$ N intramolekulskih vodoničnih veza. Torzioni ugao N1—C1—C6—N2 iznosi 3,3(2)°. Intramolekulske vodonične veze (N—H $\cdots$ O i N—H $\cdots$ N) vode ka formiranju S(5) motiva (Slika 11) [6]. U kristalnoj strukturi  $C_{16}H_{18}N_6O_2^{2+} \cdot 2ClO_4^- \cdot 2H_2O$  katjoni, anjoni i molekuli vode učestvuju u formiranju intermolekulskih vodoničnih veza (Slika 12). Molekuli vode imaju ulogu dvostrukog donora [prema O1 i O3 na  $-x, y-1/2, -z+1/2$ ] i jednostrukog akceptora. Piridinjum i hidrazonski azotovi atomi imaju ulogu dvostrukog donora sa jednom komponentom *intra*, a drugom *inter*. Od strane Jeffrey-ja i saradnika, [7] ovaj tip vodonične veze je nazvan trocentričnom. Perhloratne grupe i molekuli vode posreduju u povezivanju katjonskih molekula (Slika 12). Svaki katjon je vodonično povezan sa dva perhloratna anjona i dva molekula vode. Kiseonikovi atomi (O3 i O5) iz perhloratnih jona imaju ulogu H akceptora. Kiseonikov atom O5 prima H-atom od hidrazonskog N-atoma, a O3 od molekula vode. Drugi H-atom iz molekula vode je doniran karbonilnom kiseonikovom atomu (O1) iz katjonskog molekula. Ovaj sistem vodoničnih veza se širi u dve dimenzije paralelno sa (1 0 2). Heteroaromatični prstenovi susednih katjona su uključeni u interakcije  $\pi \cdots \pi$  tipa (Slika 13). Rastojanje između težišta heteroaromatičnih prstenova (C1—C5,N1) i (C1b—C5b,N1b) [atomi označeni sufiksom "b" se nalaze u simetrijskoj poziciji  $-x, -y, 1-z$ ] je 3,600 (1) Å sa izmeštajem težišta od 1,502 Å. Katjonski molekuli povezani preko  $\pi \cdots \pi$  interakcija između piridinjumskih jedinica se prostiru stepeničasto duž  $[-1\ 0\ 1]$  pravca.

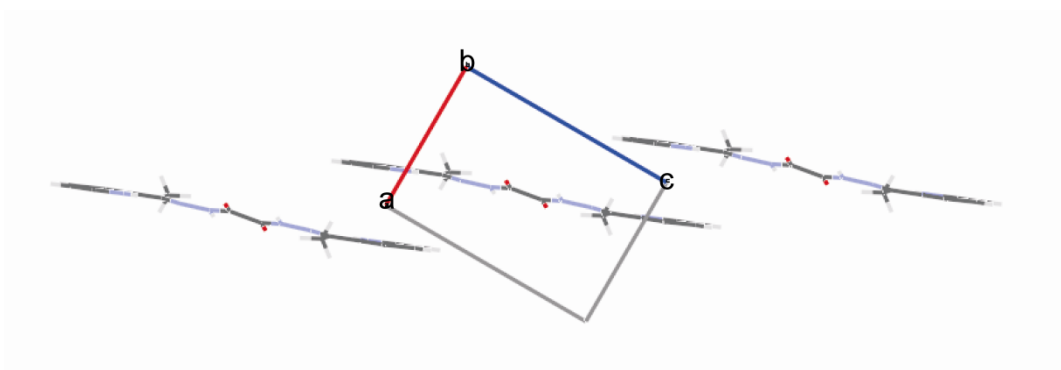
Tabela 7. Parametri vodoničnog vezivanja (Å, °).

D—H···A	D—H	H···A	D···A	D—H···A
N1—H1N···O6	0,84 (2)	1,86 (2)	2,690 (2)	168 (2)
N1—H1N···N2	0,84 (2)	2,32 (2)	2,632 (2)	102 (2)
N3—H3N···O5	0,84 (2)	2,36 (2)	3,011 (2)	134 (2)
N3—H3N···O1 <sup>i</sup>	0,84 (2)	2,36 (2)	2,686 (2)	104 (2)
O6—H6A···O1	0,82 (2)	2,08 (2)	2,889 (2)	173 (2)
O6—H6B···O3 <sup>ii</sup>	0,84 (2)	1,98 (2)	2,809 (2)	171 (2)

Simetrijski kodovi: (i)  $-x+1, -y, -z$ ; (ii)  $-x, y-1/2, -z+1/2$ .

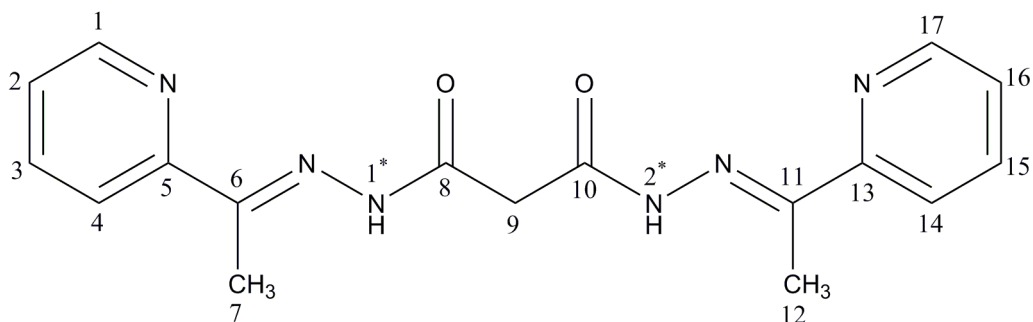


Slika 12. Dijagram pakovanja  $C_{16}H_{18}N_6O_2^{2+} \cdot 2ClO_4^- \cdot 2H_2O$  prikazuje 2D skup paralelan sa  $(1\ 0\ 2)$  koji je generisan pomoću vodoničnog vezivanja. H-atomi nisu prikazani radi preglednosti, osim onih uključenih u vodonične veze.



Slika 13. Dijagram pakovanja  $C_{16}H_{18}N_6O_2^{2+} \cdot 2ClO_4^- \cdot 2H_2O$  prikazuje 1D skup paralelan sa  $[-1\ 0\ 1]$  koji je generisan pomoću  $\pi \cdots \pi$  interakcija između piridiniumskih fragmenata. Posmatrano duž  $b$ -pravca.

Za razliku od H<sub>2</sub>L1 liganda, sa H<sub>2</sub>L2 ligandom (Šema 3) nagrađen je dinuklearni kompleks kobalta(III) kao prvi od kompleksa metala oksidacionog broja tri sa ovim ligandom. Kompleks je dobiven polazeći od Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O i liganda H<sub>2</sub>L2 (molski odnos 1:1) uz dodatak 2,2'-dipiridilamina iz etanolnog rastvora uz refluks.

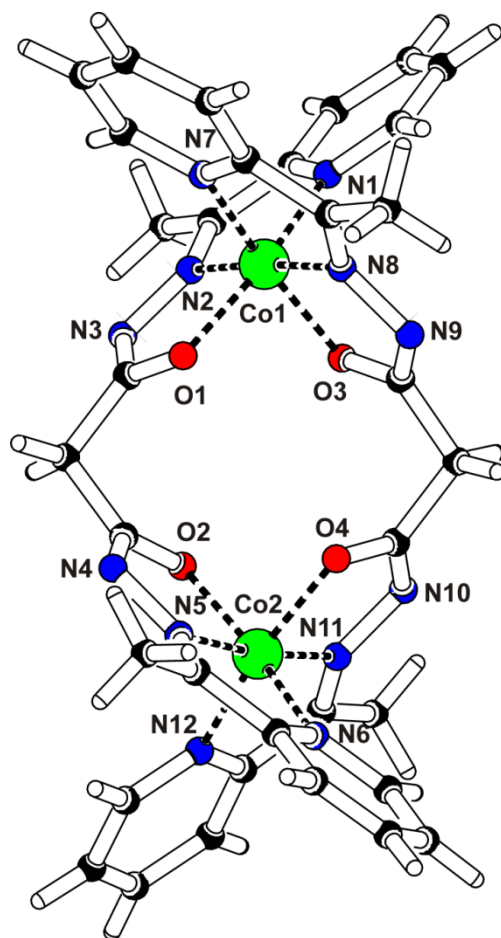


Šema 3. *N',N''*-bis[(1*E*)-1-(2-piridil)etiliden]propandihidrazid (H<sub>2</sub>L2)

Dva liganda L2 koordinovana su za svaki kobaltov jon, dok se dva nitratna jona nalaze u spoljnoj sferi kompleksa. Elementarna analiza je pokazala da se uz svaki kompleksni katjon nalaze i ½ molekula etanola i 2 molekula kristalne vode. Rezultati molarne provodljivosti su potvrdili da je kompleks elektrolit tipa 1:2. 2,2'-dipiridilamin je dodat reakcionoj smeši da bi promenio dielektričnu konstantu rastvora a kako bi kompleks kristalisao u monokristalnom obliku pogodnom za rendgensku strukturnu analizu. U toku reakcije Co(II) se oksidaovao u Co(III) vazдушnim kiseonikom, tako da je nagrađen dijamagnetičan kompleks Co(III) što su i potvrdila merenja magnetnog momenta dobijenog kompleksa.

## 4.2 Opis kristalne strukture kompleksa (2)

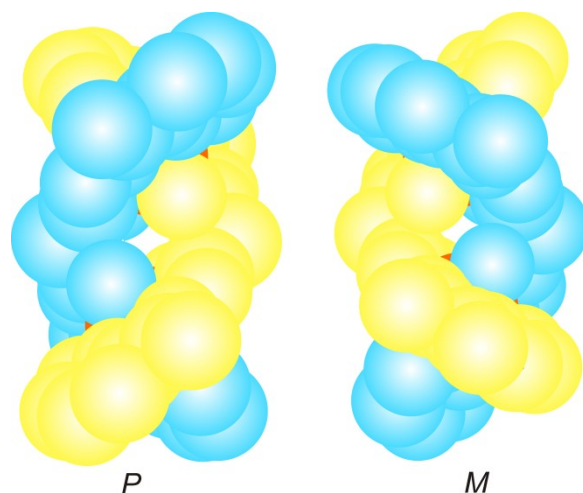
Jedinjenje [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O·0,5C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH kristališe u monokliničnom sistemu  $P\bar{1}$  sa dva nezavisna i neznatno različita jonska kompleksa [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> u strukturi, od kojih je jedan prikazan na Slici 14.



Slika 14. Pogled na jedan od dva nezavisna katjonska kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  pronađena u asimetričnoj jedinici.

Kompleksni katjon  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  ima dinuklearnu strukturu dvostrukog heliksa u kojoj je svaki Co(III) centar koordinovan preko dve tridentatne  $\text{N}_2\text{O}$  helatne jedinice iz oba  $\text{H}_2\text{L}_2$  liganada. Co(III) centri se na taj način nalaze u pseudooktaedarskom okruženju. Svaki Co(III) jon okružen je sa dve helatne jedinice koordinovane za Co(III) atom u *mer* konfiguraciji sa parovima karbonilnih atoma O i piridinskih atoma N u *cis* položajima, dok su N atomi hidrazida *trans* jedan u odnosu na drugi. Prosečna C–N rastojanja (1,889 Å) su nešto kraća od prosečnih Co–O (1,902 Å), ali su svi u opsegu objavljenih. Rastojanja između C(O)–N i C(CH<sub>3</sub>)–N (prosečno 1,310 i 1,295 Å), zajedno sa =N–N– rastojanjem (prosečno 1,393 Å) ukazuju na to da su protoni u hidrazidu otpušteni i da se ligand koordinuje u dianjonskom bis-tridentatnom obliku. Helatni ligandi formiraju diedarske uglove između ravni py–C(CH<sub>3</sub>)N=NC(O) i Co1 od

87,57 i 89,57° za dva nezavisna molekula. Diedarski uglovi za oba jonska kompleksa u strukturi sa Co<sub>2</sub> su 89,23 i 86,15°. Rastojanja između metalnih jona su 5,749 i 5,664 Å. Lanci bis(bidentatnog) liganda uvijaju se oko kobalt(III) jona i poseduju osu pseudorotacije drugog reda koja prolazi kroz jone metala. Zanimljivo je da, iako poseduje aromatične liganade u kristalnoj strukturi, kompleks ne pokazuje nikakvu uočljivu međusobnu interakciju aromatičnih prstenova. Svaki od nezavisnih jonskih kompleksa [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> u asimetričnoj jedinici je inherentno hiralan i poseduje *P* konfiguraciju za desni i *M* konfiguraciju za levi heliks (Slika 15). Na osnovu činjenice da kompleks [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O·0,5C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH kristališe u ahiralnoj prostornoj grupi, u jediničnoj ćeliji smeštena su četiri molekula (oba nezavisna jonska kompleksa zajedno sa svojim enantiomerima), čime se formira racemski stabilan proizvod.



Slika 15. Nezavisni jonski kompleksi [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> u asimetričnoj jedinici sa desnim, *P* i levim, *M* heliksom. Atomi vodonika su izostavljeni zbog preglednosti.

### 4.3 NMR spektroskopija (2)

Dodatna potvrda strukture dobijena je poređenjem <sup>1</sup>H-NMR spektra kobalt(III) kompleksa sa <sup>1</sup>H-NMR spektrom slobodnog H<sub>2</sub>L<sub>2</sub> liganda. NH proton slobodnog H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>, na 10,86 ppm, odsutan je u spektru kompleksa, sugerišući da je došlo do



deprotonovanja. Velika relativna pomeranja svih ostalih protona u kompleksu, u odnosu na ligand, ukazuju na jaku tridentatnu koordinaciju Co(III). Takođe, je poređen i  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar slobodnog  $\text{H}_2\text{L}_2$  liganda sa spektrom kompleksa. Rezultati ukazuju na to da dolazi do N, N, O koordinacije. NMR spektri su u potpunom skladu sa kristalnom strukturom.

#### 4.4 Biološka aktivnost kompleksa (2)

Biološka aktivnost kompleksa **2** i odgovarajućeg liganda ispitivana je testom na račiće *Artemia salina*. Ovaj test je u dobroj korelaciji sa citotoksičnom aktivnošću [8]. Kompleks je pokazao umerenu aktivnost, sličnu onoj odgovarajućeg liganda ( $\text{H}_2\text{L}_2$ ) i  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Tabela 8).

Tabela 8. Biološka aktivnost kompleksa i odgovarajućeg liganda na *Artemia salina*.

Supstanca	$\text{LC}_{50}(\text{mM})$
$[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$	3,21
$\text{H}_2\text{L}_2$	3,97
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	6,32

#### 4.5 Citotoksična aktivnost kompleksa (2)

Citotoksični potencijal novosintetisanog kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , odgovarajućeg liganda ( $\text{H}_2\text{L}_2$ ) i soli ispitivan je na šest ćelijskih linija, uključujući ljudske ćelije raka dojke (MDA-361), ljudskog karcinoma grlića materice (HeLa), mišijeg melanoma (B16), ljudskih ćelija leukemije

(K562), ljudskih endotelnih ćelija (EA.hy926) i fibroblasta ljudskih pluća (MRC-5). Jedinjenja su pripremljena u opsegu koncentracija 1–100  $\mu\text{mol/L}$  za MDA-361, HeLa, K562 i 3–300  $\mu\text{mol/L}$  za B16 i EA.hy926 i MRC-5. Nakon 48 h aktivnosti jedinjenja su određene pomoću sulforodamin B i MTT testova, a rezultati su izraženi u vidu IC50 vrednosti.

U ispitivanom opsegu koncentracija, citotoksični potencijal za kompleks je primećen na epitelnim ćelijama raka dojke (MDA-361), gde je IC50 vrednost iznosila 50,9  $\mu\text{mol/L}$  (Tabela 9). Slaba citotoksična aktivnost kompleksa je primećena na EA.hy926 i B16 ćelijskim linijama, dostižući IC50 vrednosti od 258  $\mu\text{mol/L}$  i 221  $\mu\text{mol/L}$ , redom. Kompleks je pokazao malu citotoksičnost protiv MRC-5 ćelija koje se smatraju normalnim, nekancerogenim ćelijama.

Odgovarajući ligand H<sub>2</sub>L<sub>2</sub> je takođe pokazao umerenu citotoksičnu aktivnost na sve ćelijske linije, osim na K562 i MDA-361 ćelije (Tabela 9). Ligand ima najveći potencijal na mišiji melanom B16. Odgovarajuća so pokazala je slabu aktivnost na ćelijama K562, EA.hy926 i B16, a najslabija aktivnost je primećena na MRC 5 ćelijskoj liniji (Tabela 9). Ćelije K562 su bile otporne kako na kompleks tako i na ligand (kompleks je čak stimulisao ćelije da rastu). Na slici 16 predstavljene su krive preživljavanja ćelija tretiranih kompleksom [Co<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O·0,5C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH.

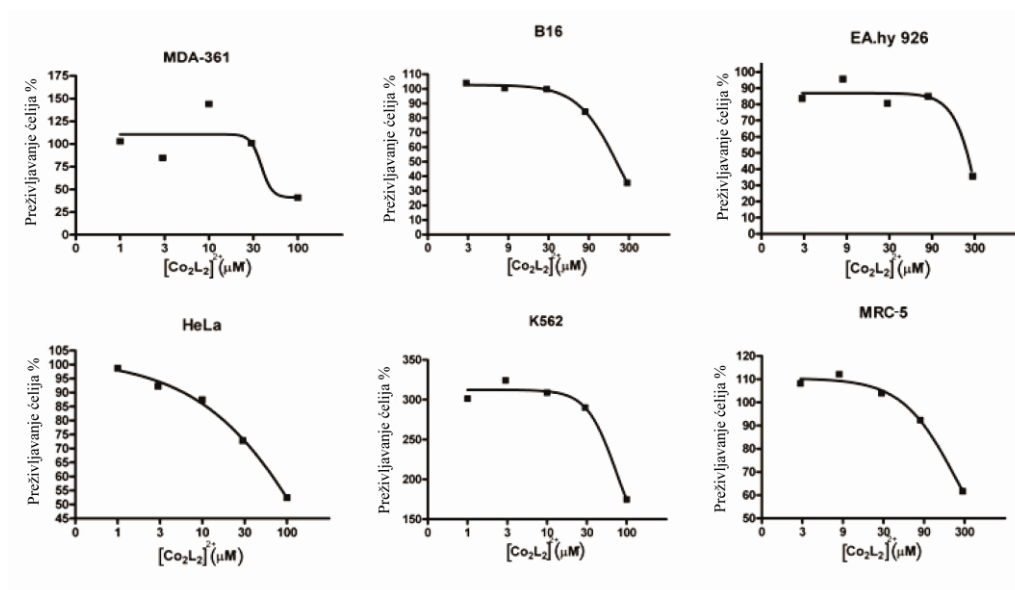
Tabela 9. IC50 vrednosti ( $\mu\text{mol/L}$ ) dobijene za različite ćelijske linije

Istraživana jedinjenja	Ćelijske linije					
	EA.hy926	MDA-361	HeLa	MRC-5	K562	B16
[Co <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	258	50,9	>100	>300	>100	221
H <sub>2</sub> L <sub>2</sub>	124	>100	72,6	107	>100	36,8
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	108	>100	>100	222	62,1	139

B16, EA.hy926 i MRC-5 ćelije su tretirane kompleksom u opsegu koncentracija 3–300  $\mu\text{M}$ , dok su MDA-361, HeLa i K562 ćelije tretirane kompleksom u opsegu

koncentracija 1–100  $\mu\text{M}$ . Sve ćelije su pokazale dozno-zavisnu inhibiciju rasta ćelija, osim K562 ćelija leukemije, gde je primećen stimulativan efekat na rast ćelija.

Budući da je kompleks pokazao jak citotoksični potencijal na epitelne ćelije raka dojke MDA-361, nastavili smo istraživanje ka utvrđivanju mehanizma posmatrane citotoksičnosti.

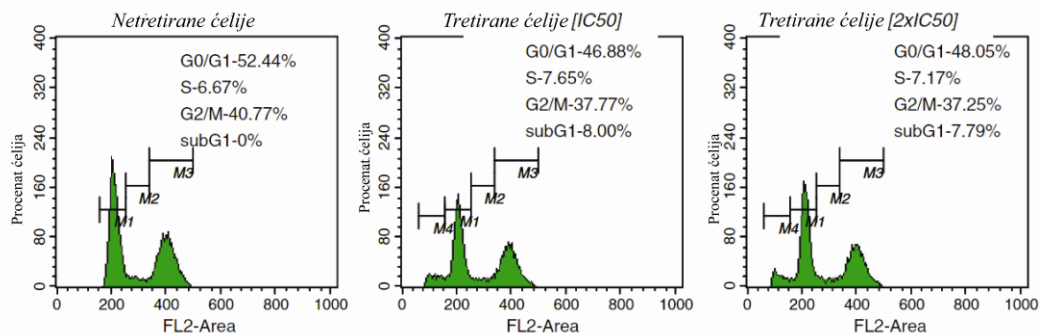


Slika16. Krive preživljavanja ćelija tretiranih sa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$ .

## 4.6 Ćelijski ciklus i apoptoza

Rezultati citotoksične aktivnosti daju samo podatak o smanjenju populacije živih ćelija, ali ne i o mehanizmu koji dovodi do smrti ćelija. Kako je dobijena IC<sub>50</sub> vrednost niska za ćelijsku liniju MDA-361, bilo je neophodno da se ispita da li je posmatrani citotoksični potencijal posledica menjanja ćelijskog ciklusa ili indukcije ćelijske smrti, apoptoze. U tu svrhu, testiran je uticaj kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  na apoptozu najosetljivije ćelijske linije MDA-361. Ćelije su tretirane koncentracijom koja odgovara vrednostima IC<sub>50</sub> i 2xIC<sub>50</sub>. Nakon 24 h ćelije su prikupljene i analizirane protočnom citometrijom. Na slici 17 se može videti da nije došlo do značajne

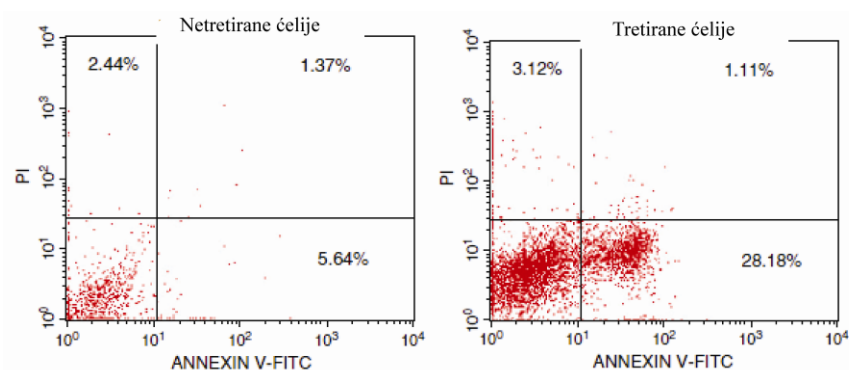
preturbacije ćelijskog ciklusa. Nakon 24 h inkubacije ćelija tretiranih koncentracijom IC50 i 2xIC50 ispitivani kompleks nije dao nikakve značajne promene u procentu ćelija u G1, S i G2 / M fazi.



Slika 17. Efekat kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  na ćelijski ciklus ćelija raka dojke MDA-361. Prikazani su reprezentativni histogrami faza ćelijskog ciklusa na osnovu određivanja količine ćelijske DNA pre i posle tretmana sa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$

Međutim, postoji jasno uočljiv sub-G1 pik u histogramu tretiranih ćelija, kao što je prikazano na slici 17. On predstavlja hipodiploidne ćelije, koje sadrže fragmentisani molekul DNA, ukazujući da su ćelije na kraju apoptotičke faze. Stoga je apoptotički potencijal kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  na ćelije MDA-361 dodatno ispitan, korišćenjem Annexin V-FITC / PI testa. Princip ovog testa se zasniva na karakteristici specifičnoj za rane apoptotičke ćelije da molekul fosfatidilserina (PS) premeste sa unutrašnje na spoljašnju stranu ćelijske membrane. Annexin V je  $\text{Ca}^{2+}$ -proteinska boja koja ima izražen afinitet vezivanja za negativno naelektrisani fosfatidilserin (PS). Takođe, kod ćelija u kasnoj apoptozi i nekrozi povećana je permeabilnost ćelijske membrane, što omogućava da se u ovoj eksperimentalnoj proceduri koristi još jedna boja, propidijum-jodid, koja ulazi u jedro i vezuje se za molekul DNA. Na ovaj način, posle analize protočnim citometrom, moguće je jasno razlikovati ćelije u ranoj apoptotičkoj fazi od nekrotičkih i kasnih apoptotičkih ćelija. Ćelije MDA-361 su tretirane koncentracijom kompleksa koja odgovara IC50 i nakon 24 h su obojene. Dobijeni histogrami prikazani su na slici 18. Ispitivani kompleks dovodi do značajanog povećanja procenta ranih apoptotičkih ćelija, 28,18% u odnosu na 5,64% koliko su imale kontrolne ćelije u istoj

fazi. Sa druge strane, nije bilo značajnijih promena u populaciji ćelija kod nekrotične i kasne apoptotičke faze.



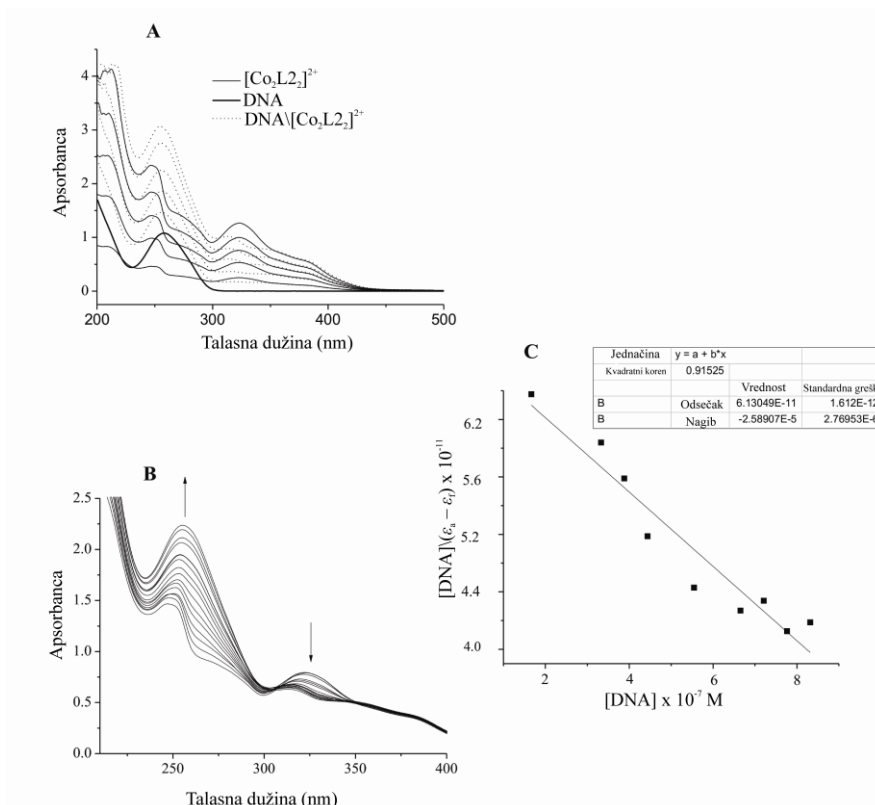
Slika 18. Indukcija apoptoze tretiranih ćelija tumora. Reprezentativne tačke pokazuju indukovanu apoptozu MDA-361 ćelija merenu protočnom citometrijom.

#### 4.7. Ispitivanje interakcija kompleksa (2) sa CT-DNA

Poznato je da se kompleksi prelaznih metala vezuju za DNA kovalentnim i/ili nekovalentnim interakcijama [9]. Nevalentne interakcije uključuju umetanje između baza DNA (interkaliranje) i vezivanje za malu brazdu, veliku brazdu, šećerno-fosfatnu kičmu i trostruki DNA čvor [10]. U literaturi je poznato da se kompleksi kobalta pri interakciji sa DNA mogu vezivati za brazdu [11], interkalirati [12] i stupati u elektrostatičke interakcije [13]. U ovom radu, spektroskopskim metodama je utvrđivan način interakcije  $[\text{Co}_2\text{L}_2](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  sa DNA iz telećeg timusa (CT-DNA).

Spektri oktaedarskog Co(III) kompleksa pokazuju dve vidljive apsorpcione trake koje su obično simetrične. Elektronski apsorpcioni spektri kompleksa, kako u odsustvu tako i u prisustvu CT-DNA, dati su na slici 19. Interakcija kompleksa sa CT-DNA je praćena pomoću hipohromizma i plavog pomeranja trake na 324 nm. Procenat hipohromizma za CT-DNA/ $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  je određen iz jednačine  $(\epsilon_F - \epsilon_B)/\epsilon_F \times 100$ , gde  $\epsilon_F$  predstavlja molarni apsorpcioni koeficijent slobodnog kompleksa, a  $\epsilon_B$  molarni

apsorpcioni koeficijent vezanog kompleksa (Slika 19A). Hipohromizam trake na 324 nm dostigao je 30,2% sa plavim pomeranjem od 10 nm. Apsorpcioni maksimum na 247 nm u spektru  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  pomeren je na 256 nm u spektru CT-DNA/ $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  (Slika 19A). Crveni pomak apsorbanice praćen je povećanjem molarnog apsorpcionog koeficijenta (hiperhromizam, dostiže vrednost -32%), tako da se izobestična tačka javlja na 305 nm.



Slika 19. Određivanje konstante vezivanja apsorpcionom titracijom kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  sa CT-DNA.

Ove promene su tipične u slučajevima vezivanja kompleksa nekovalentnim interakcijama za dvostruki heliks DNA [14]. Hipohromizam je rezultat kontrakcije heliksa DNA, kao i konformacionih promena na molekulu DNA, dok hiperhromizam potiče od manjih oštećenja strukture dvostrukog heliksa [15, 16]. Hiperhromni efekat, takođe, može biti posledica elektrostatičke interakcije na periferiji CT-DNA između pozitivno naelektrisanog kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  i negativno naelektrisane fosfatne kičme

[17]. Strukturno, interkalacija sa DNA ne bi mogla ni da bude jedan od vidova vezivanja, jer se lanac bis(bidentatnog) liganda obmotava oko jona kobalta, posedujući dvostruku pseudo-rotacionu osu koja prolazi kroz jon metala. Dakle, interkalacija dihidrazonskim tipom liganda između niza susednih baznih parova sterno je onemogućena, ali može doći do delimičnog umetanja [18].

Treba istaći da se apsorbanca na 380 nm nije promenila nakon dodavanja DNA, što ukazuje na to da se supramolekulska struktura metal–ligand nije značajno promenila.

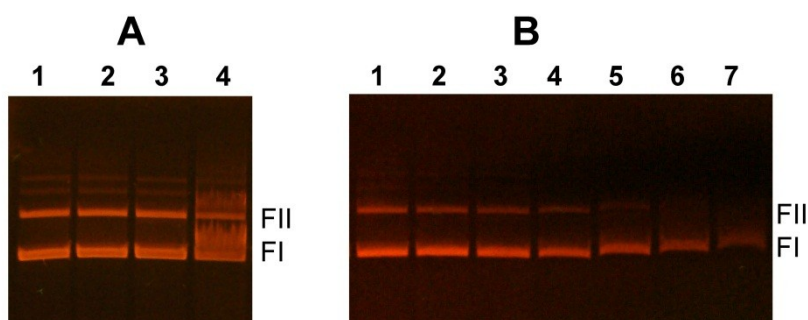
U cilju dobijanja podataka o afinitetu kompleksa za CT-DNA, urađena je spektroskopska titracija kompleksa uz povećanje koncentracije CT-DNA (Slika 19B). Praćena je apsorbanca na 256 nm za pojedinačne koncentracije DNA. Konstanta vezivanja,  $K_B$ , određena je pomoću jednačine (3) [19]:

$$[\text{DNA}] \times (\varepsilon_A - \varepsilon_F)^{-1} = [\text{DNA}] \times (\varepsilon_B - \varepsilon_F)^{-1} + K_B^{-1} \times (\varepsilon_B - \varepsilon_F)^{-1} \quad (3)$$

gde  $\varepsilon_A$  predstavlja odnos apsorbanca/ $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$ ,  $\varepsilon_F$  apsorpcioni koeficijent slobodnog kompleksa i  $\varepsilon_B$  apsorpcioni koeficijent vezanog kompleksa (CT-DNA/ $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$ ). Vrednost unutrašnje apsorpcione konstante vezivanja  $K_B$  (Slika 19C) Co(III) kompleksa iznosila je  $4,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ . Vrednost se nalazi u opsegu karakterističnom za interkalaciju [20], ali sterno odbijanje sa DNA, uzrokovano drugim ligandom vezanim za Co(III), diktira da vezivanje bude površinsko za malu brazdu DNA. Vrednost se razlikuje za red veličine od ranije istraživanog Cd(II) kompleksa sa  $\text{H}_2\text{L}_2$  za koji je pokazano da se vezuje za malu brazdu [21]. Visoka vrednost konstante vezivanja za malu brazdu može biti posledica helikoidne geometrije kompleksa (Slika 15). Treba napomenuti da geometrija kompleksa ima izvesnu sličnost sa kompleksima koji poseduju trostruku spiralu i koji se vezuju za veliku brazdu i/ili trostruki čvor DNA (engl. *three-way junction*–struktura koja se formira kada se tri dvostruka heliksa drže zajedno u jednoj tački grananja) [10, 22]. Vezivanje za veliku brazdu ne može se isključiti u ovom slučaju, mada prečnik  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  iznosi 7 Å i manji je nego kod tipičnih jedinjenja koja se vezuju za veliku brazdu (širina žleba velike brazde je 12 Å [23]).

## 4.8 Ispitivanje interakcija kompleksa (2) sa plazmidnom DNA

Ispitivanje cepanja plazmidne DNA kompleksom obično se prati agaroznom gel elektroforezom. Sposobnost raskidanja veza na dvostrukom lancu kompleksa Co(III) da posreduje u oštećenju DNA je ranije ispitana [18, 24]. Uticaj kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  na plazmidnu DNA ispitivan je na plazmidu pUC18 (Slika 20). Ligand  $\text{H}_2\text{L}_2$  nema nikakav uticaj na superuvijeni FI (nativna, neoštećena konformacija) i otvoreni cirkularni FII oblik (konformacija sa kovalentnim jednolančanim prekidima) (Slika 20A, uzorak 2) u poređenju sa kontrolnim plazmidom (Slika 20A, uzorak 1). U slučaju kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  nije primećeno cepanje za koncentracije do 10 mM (Slika 20B, uzorci 2–4), dok veće koncentracije kompleksa uzrokuju veliko oštećenje DNA, koje se na gelu vidi kao gašenje traka (Slika 20B, uzorci 5–7). Rezultati pokazuju da kompleks Co(III) ne poseduje nukleaznu aktivnost. Očekivani efekat Co(II) jona je dobijen (DNA je potpuno degradirana, što se na gelu vidi kao razmaz formi FI i FII)(Slika 20A, uzorak 4).



Slika 20. Agarozna elektroforeza. Prikazana je mobilnost super-helikoidne forme FI i otvorene cirkularne forme FII plazmida pUC18 ( $1,3 \cdot 10^{-9}$  M).

Rezultati ispitivanja interakcije  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  sa plazmidnom DNA su u saglasnosti sa prethodnim ispitivanjima efekta kompleksa na DNA, ukazujući na zaključak da se oštećenja molekula DNA izazvana kompleksom Co(III) ostvaruju nekovalentnim interakcijama



## LITERATURA

1. S. Sen, C.R. Choudhury, P. Talukder, S. Mitra, M. Westerhausen, A.N. Kneifel, C. Desplanches, N. Daro, J.P. Sutter, *Polyhedron* **25** (2006) 1271.
2. N. Filipović, A. Bacchi, M. Lazić, G. Pelizzi, S. Radulović, D. Sladić, T. Todorović, K. Anđelković, *Inorg. Chem. Commun.* **11** (2008) 47.
3. T. Todorović, U. Rychlewska, B. Warzajtis, D. Radanović, N. Filipović, I. Pajić, D. Sladić, K. Anđelković, *Polyhedron* **28** (2009) 2397.
4. T.L. Kelly, V.A. Milway, H. Grove, V. Niel, T.S.M. Abedin, L.K. Thompson, L. Zhao, R.G. Harvey, D.O. Miller, M. Leech, A.E. Goeta, J.A.K. Howard, *Polyhedron* **24** (2005) 807.
5. K. Anđelković, D. Sladić, A. Bacchi, G. Pelizzi, N. Filipović, M. Rajković, *Transition Met. Chem.* **30** (2005) 243.
6. J. Bernstein, R.E. Davis, L. Shimoni, N.L. Chang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34** (1995) 1555.
7. G. A. Jeffrey, H. Małuszyńska, J. Mitra, *Int. J. Biol. Macromol.* **7** (1985) 336.
8. B.N. Meyer, N.R. Ferrigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobsen, D.E. Nichols, J.L. McLaughlin, *Planta Med.* **45** (1982) 31.
9. Q. L. Zhang, J. G. Liu, H. Chao, G. Q. Xue, L. N. Ji, *J. Inorg. Biochem.* **83** (2001) 49.
10. A. Oleksi, A.G. Blanco, R. Boer, J. Usón, J. Aymamí, A. Rodger, M.J. Hannon, M. Coll, *Angew. Chem. Int. Ed.* **45** (2006) 1227.
11. Z.H. Xu, F.J. Chen, P.X. Xi, X.H. Liu, Z.Z. Zeng, *J. Photochem. Photobiol. A* **196** (2008) 77.

12. R. Indumathy, M. Kanthimathi, T. Weyhermuller, B. Unni Nair, *Polyhedron* **27** (2008) 3443.
13. F. Arjmand, M. Muddassir, R.H. Khan, *Eur. J. Med. Chem.* **45** (2010) 3549.
14. T. Hirohama, Y. Kuranuki, E. Ebina, T. Sugizaki, H. Aarii, M. Chikira, P. T. Selvi, M. Palaniandavar, *J. Inorg. Biochem.* **99** (2005) 1205.
15. J.K. Barton, A.T. Danishefsky, J.M. Goldberg, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 2172.
16. C.S. Chow, J.K. Barton, *Methods Enzymol.* **212** (1992) 219.
17. Y.N. Xiao, C.X. Zhan, *J. Appl. Polymer Sci.* **84** (2002) 887.
18. R.S. Kumar, S. Arunachalam, V.S. Periasamy, C.P. Preethy, A.Riyasdeen, M.A. Akbarsha, *Polyhedron* **27** (2008) 1111.
19. A. Wolfe, G.H. Shimer, T. Meehan, *Biochemistry* **26** (1987) 6392.
20. I. Haq, P. Lincoln, D.C. Suh, B. Norden, B.Z. Chowdhry, J.B. Chaires, *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 4788.
21. M. Vujčić, M. Lazić, M. Milenković, D. Sladić, S. Radulović, N. Filipović, K. Anđelković, *J. Biochem Molecular Toxicology* **25** (2011) 175.
22. I. Meistermann, V. Moreno, M.J. Prieto, E. Moldrheim, E. Sletten, S. Khalid, P.M. Rodger, J.C. Peberdy, C.J. Isaac, A. Rodger, M.J. Hannon, *Proc Natl. Acad. Sci. USA* **99** (2002) 5069.
23. C.J. Larson, G.L. Verdine, u: S. M. Hecht (Ed.) *Bioorganic Chemistry Nucleic Acids*, Oxford University Press, New York, 1996, p. 324.
24. P. Nagababu, J.N.L. Latha, Y. Prashanthi, S. Satyanarayana, *J. Chem. Pharm. Res.* **1** (2009) 238.

## 5. ZAKLJUČAK

U ovoj doktorskoj disertaciji proučeni su sinteza, struktura, karakterizacija i svojstva kompleksa kobalta(III) sa ligandom koji predstavlja kondenzacioni proizvod 2-acetilpiridina i dihidrazida malonske kiseline.

Sa kondenzacionim proizvodom 2-acetilpiridina i dihidrazida oksalne kiseline ( $H_2L1$ ) u prisustvu  $Zn(II)$ , odnosno metala oksidacionog broja tri, nisu nagrađeni kompleksi već je reakcija išla u smeru građenja organske soli 2,2'-{1,1'-[2,2'-oksalilbis(hidrazin-2-il-1-iliden)]dietilidin}dipiridinijum-diperhlorata dihidrata.

Za razliku od  $H_2L1$  liganda sa  $H_2L2$  ligandom koji predstavlja kondenzacioni proizvod 2-acetilpiridina i dihidrazida malonske kiseline nagrađen je dinuklearni kompleks kobalta(III) kao prvi od kompleksa metala oksidacionog broja tri. Kompleksni katjon  $[Co_2L_2]^{2+}$  poseduje dinuklearnu strukturu dvostrukog heliksa u kojoj je svaki  $Co(III)$  centar koordinovan preko dve tridentatne  $N_2O$  helatne jedinice iz oba  $H_2L2$  liganda, formirajući oko oba metalna jona oktaedarsko okruženje.

Citotoksični potencijal novosintetisanog kompleksa  $[Co_2L_2](NO_3)_2 \cdot 2H_2O \cdot 0,5C_2H_5OH$ , odgovarajućeg liganda ( $H_2L2$ ) i polazne soli ispitan je na šest ćelijskih linija: MDA-361 (ljudske ćelije raka dojke), HeLa (ljudski karcinom grlića materice), B16 (mišiji melanom), K562 (ljudske ćelije leukemije), EA.hy926 (ljudske endotelne ćelije) i MRC-5 (fibroblasti ljudskih pluća).

Citotoksični potencijal kompleksa je uočen na ćelijama epitelnog kancera dojke (MDA-361) sa  $IC_{50}$  vrednošću  $50,9 \mu M$ . Slaba citotoksična aktivnost je uočena na EA.hy926 i B16 ćelijskim linijama sa  $IC_{50}$  vrednošću  $258 \mu M$  i  $221 \mu M$ . Kompleks pokazuje slabu citotoksičnost na MRC-5 ćelije.

$H_2L2$  ligand pokazuje umerenu aktivnost na sve ćelijske linije osim na K562 i MDA-361 ćelije, a najbolja aktivnost je uočena na ćelijama mišijeg melanoma B16. Odgovarajuća kobaltova so je pokazala slabu citotoksičnu aktivnost na K562 ćelijama,

EA.hy926 i B16 ćelijama, a najslabija aktivnost je uočena MRC-5 ćelijskoj liniji. K562 ćelije su rezistentne na kompleks i ligand, štaviše kompleks stimuliše njihov rast.

S obzirom na to da je najbolji citotoksični potencijal kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  uočen na ćelijama epitelnog kancera dojke MDA-361, ove ćelije su korišćene u eksperimentima u kojima je ispitan uticaj kompleksa na modulaciju progresije ćelijskog ciklusa i indukciju ćelijske smrti. Posle 24 h inkubacije ćelija tretiranih kompleksom koncentracije  $\text{IC}_{50}$  i  $2 \times \text{IC}_{50}$  nije došlo do značajne promene u zastupljenosti ćelija u G1, S i G2/M fazi. Uočen je jasan sub G1-pik koji potiče od hipodiploidnih ćelija koje sadrže fragmentisane molekule DNA što ukazuje na kasne apoptotičke ćelije.

Apoptotički potencijal kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  na MDA-361 ćelijama je ispitan i pomoću Annexin V-FITC / PI testa. MDA-361 ćelije su tretirane kompleksom koncentracije  $\text{IC}_{50}$  i inkubirane 24 h, nakon čega su bojene. Ispitivani kompleks dovodi do značajnog povećanja procenta ranih apoptotičkih ćelija (28,18 %) u odnosu na kontrolne ćelije (5,64 %). Ne postoji značajna promena u populaciji nekrotičkih i kasnih apoptotičkih ćelija nakon tretmana kompleksom.

U cilju razumevanja mehanizma citotoksičnosti kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  ispitivane su njegove interakcije sa sisarskom i plazmidnom DNA. Interakcije sa sisarskom DNA su praćene spektroskopski, a sa plazmidnom elektroforetski. Interakcije kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  sa CT-DNA dovode do plavog pomeranja i hiperhromizma u UV-Vis spektrima. Konstata vezivanja kompleksa za CT-DNA određena spektroskopskom titracijom rastvora kompleksa sa rastućom koncentracijom CT-DNA iznosi  $4,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ . Ova vrednost konstante vezivanja ukazuje na vezivanje kompleksa u brazdi DNA.

Efekat kompleksa  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  i liganda ( $\text{H}_2\text{L}_2$ ) na superuvijenu (FI) i otvorenu cirkularnu formu (FII) DNA ispitivan je na plazmidu pUC18. Ligand ne dovodi do promena u mobilnosti i izgledu formi plazmidne DNA u odnosu na kontrolu. U slučaju interakcije kompleksa do primenjene koncentracije od 10 mM se ne uočavaju prekidi na DNA, ali pri koncentracijama većim od ove, vezivanje kompleksa za DNA dovodi do gašenja fluorescencije na elektroforetskom gelu, što ukazuje na visok stepen oštećenja. Dobijeni rezultati ukazuju na to da kompleks  $[\text{Co}_2\text{L}_2]^{2+}$  nema nukleaznu aktivnost, tj. ne dovodi do prekida lanaca DNA.

## **BIOGRAFIJA**

Mr Rabia O. Eshkourfu rođena je 4.11.1977. godine u Khomsu, Libija. Faculty of Ars & Science, Al-Mergeb University, Khoms, Libija završila je 2000. godine i stekla akademski naziv B.Sc. in Chemistry. Magistrirala je na College of Science Al-Mustansiriya University, Irak 4.2.2003. godine i stekla akademski naziv M.Sc. in Chemistry-Inorganic Chemistry. Magistarsku tezu Rabia Omar Mohammed Eshkourfu pod nazivom:

„SYNTHESIS AND STUDY OF SOME METAL COMPLEXES OF THIOSEMICARBAZONE AND SEMICARBAZONE AND INVESTIGATION PHYSICAL AND SPECTRAL PROPERTIES”

odbranila je kod profesora dr Najata J. Al-Obaidi-ja. Na doktorske studije Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu upisala se školske 2009. godine.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Рабиа О. Есхкоурфу

број уписа 36/2008

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, карактеризација и биолошка активност комплекса Co(III) са  
кондензационим производом 2-ацетилпиридина и дихидразида малонске  
киселине

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

Потпис докторанда

У Београду, 10.11.2012.

  
\_\_\_\_\_

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Раба О. Есхоурфу

Број уписа 36/2008

Студијски програм доктор наука-хемијске науке

Наслов рада Синтеза, карактеризација и биолошка активност комплекса Co(III) са кондензационим производом 2-ацетилпиридина и дихидразида малонске киселине

Ментор др Катарина Анђелковић

Потписани Раба О. Есхоурфу


изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

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

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

**Потпис докторанда**

У Београду, 10.11.2012.

  
\_\_\_\_\_

### Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

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

Синтеза, карактеризација и биолошка активност комплекса Co(III) са кондензационим производом 2-ацетилпиридина и дихидразида малонске киселине

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 10.11.2012.



\_\_\_\_\_