



**UNIVERZITET CRNE GORE
METALURŠKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

PETKOVIĆ KSENIJA

**ISPITIVANJE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI MJEŠOVITIH
KOMPLEKSA CINKA(II) SA ETILENDIAMINOM I
AMONIJUM-IMINODIACETATODITIOKARBAMATOM
KAO LIGANDIMA**

MASTER RAD

PODGORICA, 2024. GODINE

PODACI I INFORMACIJE O STUDENTU

Ime i prezime: Ksenija Petković

Datum i mjesto rođenja: 01.09.1998. godine u Nikšiću, Crna Gora

Naziv završenog osnovnog studijskog programa: Hemijska tehnologija, MTF, Podgorica

Naziv završenog specijalističkog studijskog programa: Hemijska tehnologija, MTF, Podgorica

Godina završetka osnovnih studija: 2021. godine

INFORMACIJE O MASTER RADU

Naziv master studija: Studijski program Hemijska tehnologija

Naziv rada: Ispitivanje biološke aktivnosti mješovitih kompleksa cinka(II) sa etilendiaminom i amonijum-iminodiacetatoditiokarbamatom kao ligandima

Fakultet: Metalurško-tehnološki fakultet, Podgorica

UDK, OCJENA I ODBRANA MASTER RADA

Datum prijave master rada: 26.04.2024.god

Datum sjednice Vijeća na kojoj je prihvaćena tema: 03.07.2024.god

Mentor: Doc. dr Milica Kosović Perutović

KOMISIJA ZA OCJENU TEME I PODOBNOSTI MAGISTRANDA/ OCJENU RADA/

Komisija za ocjenu rada:

Doc. dr Milica Kosović Perutović, docent MTF-a, mentor

Prof. dr Jovana Bogojeski, vanredni profesor PMF-a (Kragujevac), komentor

Prof. dr Zorica Leka, redovni profesor MTF-a

Prof. dr Nedeljko Latinović, redovni profesor BTF-a

Prof. dr Miljan Bigović, vanredni profesor PMF-a

Komisija za odbranu rada:

Doc. dr Milica Kosović Perutović, docent MTF-a, mentor

Prof. dr Jovana Bogojeski, vanredni profesor PMF-a (Kragujevac), komentor

Prof. dr Zorica Leka, redovni profesor MTF-a

Prof. dr Nedeljko Latinović, redovni profesor BTF-a

Prof. dr Miljan Bigović, vanredni profesor PMF-a

Lektor: Autolektura

Datum odbrane:

Univerzitet Crne Gore
Metalurško-tehnološki fakultet

IZJAVA O AUTORSTVU

Kandidat: Petković Ksenija

Na osnovu člana 22 Zakona o akademskom integritetu, ja, dolje potpisani/potpisana

IZJAVLJUJEM

pod punom krivičnom i materijalnom odgovornošću da je magistarski rad pod nazivom „Ispitivanje biološke aktivnosti mješovitih kompleksa cinka(II) sa etilendiaminom i amonijum-iminodiacetatoditiokarbamatom kao ligandima“ rezultat sopstvenog istraživačkog rada, da nijesam kršio/kršila autorska prava i koristio/koristila intelektualnu svojinu drugih lica i da je navedeni rad moje originalno djelo.

Podgorica, 2024. godine

Potpis studenta:

ZAHVALNICA

Neizmjernu zahvalnost dugujem svojoj mentorki doc. dr Milici Kosović Perutović. Hvala Vam na prenijetom znanju, razumjevanju, prijateljskim savjetima i na stalnoj i nesebičnoj podršci i posvećenosti tokom cjelokupnog procesa izrade mog master rada. Hvala Vam i na pozitivnoj energiji, osmjehu i inspiraciji.

Veliku zahvalnost dugujem komentoru prof. dr Jovani Bogojeski, vanrednom profesoru na Prirodno-matematičkom fakultetu u Kragujevcu, na pomoći, sugestijama i savjetima.

Zahvalnost dugujem i prof. dr Zorici Leki, redovnom profesoru Metalurško-tehnološkog fakulteta na svim savjetima i sugestijama kao i na podršci, prof. dr Nedeljku Latinoviću redovnom profesoru Biotehničkog fakulteta i prof. dr Miljanu Bigoviću, dekanu i vandrednom profesoru Prirodno-matematičkog fakulteta na izdvojenom vremenu i savjetima koji su pomogli u pisanju ovog rada.

Posebnu zahvalnost dugujem prijateljima na velikoj podršci, ljubavi i pomoći u svakom koraku života kako akademskog tako, tako i onog van njega.

Želim da se zahvalim i mojoj nebeskoj podršci, čija ljubav i dalje žive u mom srcu. Bez nje, ovaj rad ne bi bio moguć. Hvala što ste uvijek vjerovali u mene.

Hvala mojim roditeljima, sestrama i bratu na bezgraničnoj ljubavi koja mi je omogućila da postanem osoba kakva sam danas. Hvala i mom Vesku što je bio moja podrška i oslonac.

IZVOD

Organski ligandi poput ditiokarbamata (dtc) su pokazali veliki potencijal u odigravanju sinergijske uloge s centralnim metalnim jonom, modulirajući često povezanu toksičnost metala dok istovremeno poboljšavaju vlastita biološka svojstva.

Osnovni cilj ovog rada jeste otkrivanje novih biološki aktivnih jedinjenja. Motiv za istraživanje ditiokarbamata leži u njihovoj sposobnosti da se prilagode širokom spektru bioloških aplikacija, od medicinskih primjena do poljoprivredne upotrebe, uz potencijalno značajne koristi za zdravlje ljudi i očuvanje biljnih resursa. Razumijevanje mehanizama djelovanja potencijalnih biološki relevantnih jedinjenja je od vitalnog značaja za unapređenje ovih oblasti.

Predmet istraživanja ovog master rada je ispitivanje biološke aktivnosti liganda amonijum-iminodiacetatoditiokarbamata $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ i njegovih kompleksa. U tom cilju su sintetisani ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$, kao i dva kompleksa sa Zn(II) kao centralnim metalnim jonom i etilendiaminom kao drugim ligandom: $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$.

Istraživanja biološke aktivnosti liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ i njegovih kompleksa: $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ usmjereno je u tri pravca:

1. Ispitivanje antifungalne aktivnosti na fitopatogene gljive: *Phomopsis viticola* i *Botryosphaeria dothidea* izvršeno je metodom difuzije ispitivanih jedinjenja u hranljivu podlogu Krompir dekstrozni agr (KDA). Za *Ph. viticola*, najbolju antifungalnu aktivnost pokazao je kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ dok je ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ imao najmanji efekat. Za *B. dothidea*, kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ je pokazao najbolju antifungalnu aktivnost, dok je kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ bio manje efikasan. Ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ nije pokazao antifungalnu aktivnost.
2. Ispitivanje antioksidativnosti izvršeno je CUPRAC metodom. Rezultati mjerenja antioksidativnog kapaciteta uzoraka nakon 30 minuta i 1 sat pokazali su da uzorak $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ ima visoku i stabilnu antioksidativnu aktivnost. Kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ pokazuje negativnu antioksidativnu aktivnost, koja ostaje gotovo nepromijenjena tokom vremena. S druge strane, kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ ima značajnu početnu antioksidativnu aktivnost, koja blago raste nakon 1 sat, što ukazuje na stabilan i jak antioksidativni kapacitet.
3. Interakcija kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ sa humanim serumski albuminom (HSA) ispitana je fluorescencijskom spektroskopijom metodom gašenja

fluorescencije, koja je pokazala smanjenje intenziteta fluorescencije HSA pri dodavanju kompleksa, što ukazuje na interakciju. Rezultati sugerisu da kompleksi utiču na tercijarnu strukturu HSA, a Stern-Volmerove konstante (K_{sv}) ukazuju na umjerenu interakciju, sličnu za oba kompleksa. Za ispitivanje interakcije sa DNK korišćene su UV-Vis i fluorescentna spektroskopija. UV-Vis spektroskopija je pokazala vezivanje kompleksa za DNK, dok su rezultati sa etidijum bromidom (EB) ukazali na interkalaciju. Stern-Volmerove konstante za fluorescencijsko gašenje fluorescencije ukazuju na sličan stepen interkalacije oba kompleksa.

Ključne riječi: ditiokarbamati, antifugalna, antioksidativna, biološka aktivnost

ABSTRACT

Organic ligands such as dithiocarbamate (dtc) have shown great potential in playing a synergistic role with the central metal ion, modulating the often associated metal toxicity while simultaneously improving their own biological properties. The main goal of this work is the discovery of new biologically active compounds. The motivation for research on dithiocarbamates lies in their ability to adapt to a wide range of biological applications, from medical applications to agricultural use, with potentially significant benefits for human health and plant resource conservation. Understanding the mechanisms of action of potential biologically relevant compounds is vital for advancing these fields.

The subject of this master's thesis is the investigation of the biological activity of the ammonium-iminodiacetatodithiocarbamate $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ ligand and its complexes. To this end, the ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$, as well as two complexes with Zn(II) as the central metal ion and ethylenediamine as the second ligand, were synthesized: $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ and $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$.

Research on the biological activity of the ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ and its complexes: $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ and $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ is focused in three directions:

1. Testing of antifungal activity on phytopathogenic fungi: *Phomopsis viticola* and *Botryosphaeria dothidea* was carried out by the method of diffusion of the tested compound in an agar medium. For *Ph. viticola*, the best antifungal activity was shown by the complex $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$, while the ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ had the lowest effect. For *B. dothidea*, the $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ complex showed the best antifungal activity, while the $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ complex was less effective. Ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ did not show antifungal activity.

2. The antioxidant test was performed using the CUPRAC method. The results of measuring the antioxidant capacity of the samples after 30 minutes and 1 hour showed that the $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ sample has a high and stable antioxidant activity. The $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ complex shows a very low ie. Negative antioxidant activity, which remains almost unchanged over time. On the other hand, the complex $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ has a significant initial antioxidant activity, which increases slightly after 1 hour, which indicates a stable and strong antioxidant capacity.

3. The interaction of the complexes $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtC})(\text{en})]$ and $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtC})(\text{en})_2]$ with human serum albumin (HSA) was investigated using fluorescence spectroscopy, employing the fluorescence quenching method. This showed a decrease in the fluorescence intensity of HSA upon the addition of the complexes, indicating an interaction. The results suggest that the complexes affect the tertiary structure of HSA, with Stern-Volmer constants (K_{sv}) indicating moderate interactions, similar for both complexes. To investigate the interaction with DNA, UV-Vis and fluorescence spectroscopy were used. UV-Vis spectroscopy revealed binding of the complexes to DNA, while results with ethidium bromide (EB) indicated intercalation. Stern-Volmer constants for fluorescence quenching suggest a similar degree of intercalation for both complexes.

Key words: dithiocarbamates, antifungal, antioxidant, biological activity

Sadržaj:

1. UVOD	9
2. TEORIJSKI DIO.....	10
2.1 Ditiokarbamati.....	10
2.1.1. Struktura i sinteza ditiokarbamata.....	11
2.1.2. Način koordinacije ditiokarbamata sa metalima	13
2.1.3. Načini sinteze kompleksnih jedinjenja sa ditiokarbamatnim ligandima	14
2.2 Primjena ditiokarbamata	17
2.2.1. Primjena ditiokarbamato jedinjenja u medicini.....	17
2.2.2. Primjena ditiokarbamata u farmakokinetici	22
2.2.3. Primjena ditiokarbamato jedinjenja u poljoprivredi.....	24
2.2.4. Primjena ditiokarbamata u industriji.....	27
2.3 Ditiokarbamato kompleksi Zn(II)	28
2.3.1 Strukturne karakteristike kompleksa Zn(II) sa ditiokarbamatima kao ligandima	28
2.3.2. Primjena kompleksa Zn(II) sa ditiokarbamatima kao ligandima	30
2.4. Amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat, $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$	32
2.5. Etilendiamin.....	33
2.6. <i>Phomopsis viticola</i>	35
2.7. <i>Botryosphaeria dothidea</i>	39
2.8. Interakcije kompleksa prelaznih metala sa proteinima.....	40
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	42
3.1. Metode sinteze jedinjenja.....	42
3.1.1. Sintaza liganda amonijum-iminodiacetatoditiokarbamata $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$	42
3.1.2. Sintaza kompleksa amonijum-(etilendiamin)(iminodiacetatditiokarbamato) - cinkat(II), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$, K_1	42
3.1.3. Sintaza kompleksa amonijum-(bisetilendiamin)(iminodiacetatditiokarbamato)-cinkat(II), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$, K_2	43
3.2. Infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR)	44
3.3. Mikrobiološko ispitivanje Metoda difuzije u agar podlogu	45
3.3.1. Priprema podloge krompir-dekstroznog agara	45
3.3.2. Metoda difuzije u agaru.....	46
3.3.3. Zasiјavanje gljiva	47
3.3.4. Statistička obrada podataka mikrobioloških ispitivanja	49

3.4	Ispitivanje antioskidativnosti: CUPRAC test	49
3.4.1.	Izračunavanje kapaciteta antioksidativnosti (TEAC) pomoću CUPRAC testa .	50
3.4.2.	Mjerenje apsorbance i obrada podataka.....	51
3.4.3.	Priprema rastvora za ispitivanje	52
3.5.	Metode za ispitivanje interakcije sa HSA i DNK.....	54
3.5.1.	Fluorescentna mjerenja	54
3.5.2.	Spektrofotometrijska mjerenja	55
4.	REZULTATI I DISKUSIJA	57
4.1.	Rezultati IR spektroskopske analize sintetisanih jedinjenja	57
4.1.1.	FTIR spektar liganda (NH ₄) ₃ idadtc.....	57
4.1.2.	FTIR spektar za kompleks NH ₄ [Zn(idadtc)(en)], K ₁	59
4.1.3.	FTIR spektar za kompleks NH ₄ [Zn(idadtc)(en) ₂], K ₂	60
4.2.	Rezultati mikrobioloških ispitivanja na gljivu <i>Phomopsis viticola</i>	62
4.2.1.	Inhibitorni efekat fungicida sa aktivnom materijom ciram.....	62
4.2.2.	Inhibitorni efekat liganda (NH ₄) ₃ idadtc, L ₁	62
4.2.3.	Inhibitorni efekat kompleksa NH ₄ [Zn(idadtc)(en)], K ₁	63
4.2.4.	Inhibitorni efekat kompleksa NH ₄ [Zn(idadtc)(en) ₂], K ₂	64
4.2.5.	Poređenje inhibitornih efekata ispitivanih jedinjenja i fungicida	65
4.3.	Rezultati mikrobioloških ispitivanja na gljivu <i>Botryosphaeria dothidea</i>	67
4.3.1.	Inhibitorni efekat fungicida sa aktivnom materijom ciram.....	67
4.3.2.	Inhibitorni efekat liganda (NH ₄) ₃ idadtc, L ₁	68
4.3.3.	Inhibitorni efekat kompleksa NH ₄ [Zn(idadtc)(en)], K ₁	69
4.3.4.	Inhibitorni efekat NH ₄ [Zn(idadtc)(en) ₂], K ₂	70
4.3.5.	Poređenje inhibitornih efekata ispitivanih jedinjenja i fungicida	71
4.4.	Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti	74
4.5.	Rezultati interakcija sa HSA i DNK	79
4.5.1.	Rezultati interakcije sa HSA: fluorescentna spektroskopija	80
4.5.2.	Rezultati interakcije sa DNK: UV-Vis spektroskopija	82
4.5.3.	Rezultati interakcije sa DNK: Fluorescentna spektroskopija	83
5.	Zaključak.....	86
6.	Literatura:.....	89
7.	Prilozi	100

1. UVOD

Istraživanje antifungalnih jedinjenja motivisano je značajem prevencije zaraznih bolesti, uključujući gljivične infekcije, koje predstavljaju globalni problem. S vremenom, mnoge fitopatogene gljive su postale otporne na fungicide, što otežava kontrolu bolesti na usjevima i može izazvati velike gubitke. Pojava fenomena otpornosti na fungicide može rezultirati gubicima od preko 30 %, što ukazuje na hitnu potrebu za novim rješenjima u ovoj oblasti [1]. Zbog toga što gljive brzo postaju otporne na sredstva za zaštitu bilja, stalno treba tražiti nove načine da se njihov rast inhibira. Poseban fokus se daje na ispitivanje interakcija između fungicida i gljivičnih ćelija, tj. aktivnih centara unutar ćelija. Razumijevanje ovih mehanizama ključno je za identifikaciju i razvoj novih, efikasnijih fungicida [2].

Ditiokarbamati (dtc) se dugo koriste kao aktivne komponente brojnih fungicidnih preparata. Jedan od motiva za istraživanje antifungalne aktivnosti dtc-derivata jeste traženje alternativnih rješenja za komercijalne fungicide na bazi ditiokarbamata kao što su ciram, cineb, tiram, mankozeb itd.

Jedinjenja sa tiokarbamatnom grupom su privukli pažnju zbog svog potencijala da djeluju kao efikasni sakupljači slobodnih radikala [3].

Prilikom dizajniranja jedinjenja sa antioksidativnim svojstvima, ključno je istražiti njihovu interakciju sa biološkim molekulima kao što su DNK, enzimi i proteini. U tom kontekstu, istraživanje interakcija derivata ditiokarbamata sa albuminom postaje posebno važno jer ovaj protein, kao najzastupljeniji u ljudskom serumu, igra ključnu ulogu u vezivanju i transportu različitih liganda. Razumjevanje ovih interakcija pomaže u procjeni farmakološkog djelovanja novih jedinjenja, kao i u optimizaciji njihove distribucije i efikasnosti u organizmu, što može doprinjeti boljem dizajnu lijekova [4].

Cisplatina se koristi za liječenje ljudskih karcinoma, kao što su karcinom bešike i jajnika, karcinom glave i vrata, kao i karcinom testisa. Međutim, klinička upotreba je ograničena zbog nekih stvarnih nuspojava. Stoga je moguće ispitivati S - donor ligande poput ditiokarbamata za pripremu antikancerogenih lijekova i smanjenje nuspojava [5].

2. TEORIJSKI DIO

2.1 Ditiokarbamati

Ditiokarbamati su intenzivno proučavani u poslednjim decenijama zbog njihove sve šire primjene u oblastima hemije, industrije i medicine. Koriste se u poljoprivredi kao fungicidi, a mogu i kao insekticidi, herbicidi i, kao i u industrijskim i komercijalnim biocidima, te u proizvodima za domaćinstvo. Sintetisan je niz Ni(II) i Pt(II) kompleksa sa ditiokarbamato ligandima koji sadrže hidrofilnu etanolnu grupu [N-(R)etanolamin ($R = \text{Me, Et, iPr, Bn}$). Istražena je antitumorska aktivnost Pt(II) derivata, pri čemu je kompleks Pt, koji sadrži N-(benzil)etanolamin dte ligand, pokazao najveću aktivnost u ispitivanoj seriji, sa 100 % inhibicijom različitih ćelijskih linija kancera, uključujući glijalne ćelije centralnog nervnog sistema (U251), leukemiju (K562), kolorektalni karcinom (HCT-15), karcinom dojke (MCF-7) i pluća (SKLU-1) [6].

Ova jedinjenja mogu dospjeti u organizam putem gastrointestinalnog trakta, pluća ili kože. Prisustvo metalnih katjona prisutnih u prirodi i hrani može uticati na apsorpciju etilen-*bis*-ditiokarbamata iz probavnog sistema. Većina ditiokarbamatnih fungicida imaju zajednički metabolički produkt – ugljen-disulfid. Ovo jedinjenje se dalje metaboliše u organizmu, pri čemu dolazi do formiranja tiouree, koja je antitiroidna supstanca. To je razlog zašto različiti ditiokarbamati mogu uticati na funkciju štitne žlijezde [7].

Zanimanje za hemiju ditiokarbamata sve više se usmjerava ka funkcionalizaciji njihove strukture kako bi se omogućile nove primjene i interakcije. Iako je ovo područje još u razvoju, već su zapažene potencijalne aplikacije, poput funkcionalizacije zlatnih nanočestica, postepenog formiranja višemetalnih nizova, sinteze supramolekularnih sistema sa ditiokarbamatima za vezivanje anjona, kao i razvoja tehncijumskih radiofarmaceutika [8].

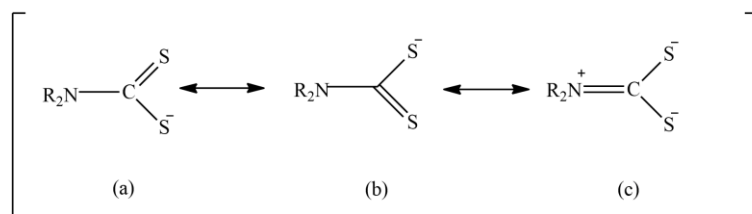
Debus je 1850. godine objavio sintezu ditiokarbamato kiseline. Nema preciznih podataka o prvom oblikovanju kompleksa ditiokarbamata sa prelaznim metalima međutim rad Delepineaua iz 1907. godine opisuje sintezu različitih alifatičnih ditiokarbamata i soli diizobutilditiokarbamata sa prelaznim metalima poput hroma, molibdena, gvožđa, mangana, kobalta, nikla, bakra, cinka, platine, kadmijuma, žive, srebra i zlata. Takođe je naveo da su soli ditiokarbamata alkalnih i zemnoalkalnih metala rastvorljive u vodi, dok su soli prelaznih metala,

p-blok metala i lantanoida taložene iz vode dajući soli rastvorljive u etru i hloroformu, pa čak u nekim slučajevima i u benzenu i ugljen-disulfidu [9].

2.1.1 Struktura i sinteza ditiokarbamata

Ditiokarbamati su jedinjenja kod kojih je karbonilna grupa (C=O) zamjenjena tiokarbamatnom grupom (C=S), što rezultira opštom formulom $(R_2N)(CS)S^-$, gdje R označava alkil ili aril grupu [10]. Što se tiče molekulske geometrije, ditiokarbamati najčešće imaju planarnu strukturu zbog sp^2 hibridizacije atoma ugljenika vezanog za atome azota i sumpora. Ova planarnost igra ključnu ulogu u procesu helacije u njihovim kompleksnim jedinjenjima jer omogućava efikasnu interakciju između orbitala ditiokarbamata i metalnih centara [11]. Dužine veza i uglovi u strukturi ditiokarbamata takođe su od značaja, dužina N-C veze je obično kraća od C-S veza, što ukazuje na djelimični dvostruki karakter veze između azota i ugljenika [12].

Struktura ditiokarbamatne grupe predstavljena je rezonantnim strukturama na slici 1.



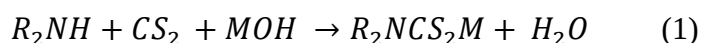
Slika 1. Rezonantni oblik ditiokarbamato-anjona

Sposobnost da stabilizuju kako niskovalentna, tako i visokovalentna stanja metalnih jona, često se pripisuje prisutnosti tautomerije. Ditiokarbamatni oblik (a,b) ukazuje na prisustvo slobodnog para elektrona na atomu azota (sp^3 hibridizacija), što dovodi do piramidalnog rasporeda supstituenata u molekulu. S druge strane, u tautomeru (c), elektronski par je delokalizovan između atoma ugljenika i azota, pri čemu atom azota prelazi u sp^2 hibridizaciju, a veza poprima djelimični karakter dvostruke veze. Zbog toga, ditiokarbamat u obliku (a,b), koji se ponaša kao meki donorski ligand, najpogodniji je za vezivanje sa niskovalentnim metalnim jonima. Nasuprot tome, tautomer (c), s izraženim negativnim naelektrisanjem lokalizovanim na sumporu, smatra se tvrdim donorskim ligandima, prikladnim za formiranje veza sa visokovalentnim metalima, a veza N-C ima karakter djelimično dvostruke veze što znači da je otežana rotacija oko nje [13].

Sinteza ditiokarbamata obično uključuje reakciju ugljen-disulfida (CS_2) sa primarnim ili sekundarnim aminima. Ova reakcija dovodi do formiranja ditiokarbamatnih soli, koje se dalje

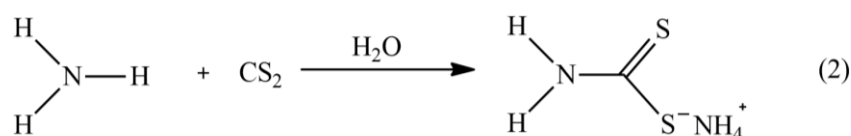
moгу pretvoriti u različite derivate promjenom supstituenata na atomu azota [14]. Strukturna stabilnost ditiokarbamata zavisi od prirode amina korišćenog u sintezi. Ditiokarbamati izvedeni iz cikličnih ili aromatičnih amina često pokazuju specifične strukturne karakteristike u poređenju sa onima izvedenim iz alifatičnih amina [15]. Prisustvo različitih supstituenata može takođe uticati na stabilnost i reaktivnost ditiokarbamatne strukture, kao i na njenu helatnu sposobnost sa metalnim jonima [16].

Ditiokarbamatne soli alkalnih metala opšte formule ($R_2NCSS-M$) mogu se dobiti u reakciji predstavljenoj jednačinom (1):

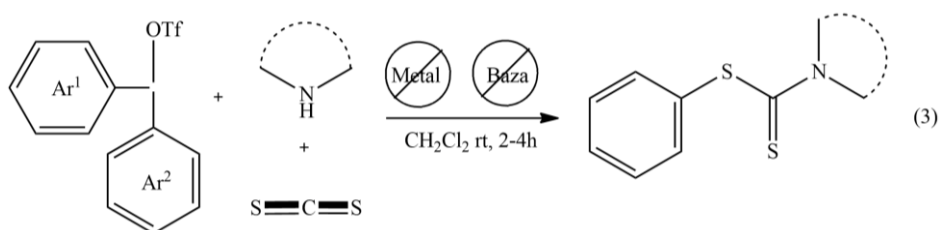


U ovim reakcijama nastaje čvrsta supstanca, blijedo obojena, rastvorna u vodi i u polarnim organskim rastvaračima [17].

Amonijum so ditiokarbaminske kiseline može se sintetisati prema reakciji prikazanoj u jednačini (2).



Zakiseljavanjem koncentrovanog rastvora ove soli, formira se ditiokarbaminska kiselina, koja se pojavljuje kao čvrsta kristalna supstanca. Međutim, ove kiseline su izuzetno nestabilne, a samo nekoliko njih je uspješno izolovano. Njihova razgradnja dovodi do ponovnog oslobađanja polaznog amina i ugljen-disulfida. Iako su vrlo nestabilne, moguće ih je kratkotrajno skladištiti na temperaturi ispod 5 °C. Takođe, ove kiseline mogu biti taložene iz vodenog rastvora ditiokarbamata dodavanjem neke jake mineralne kiseline [13]. S-aril ditiokarbamatna so može se dobiti prema reakciji prikazanoj u jednačini (3).



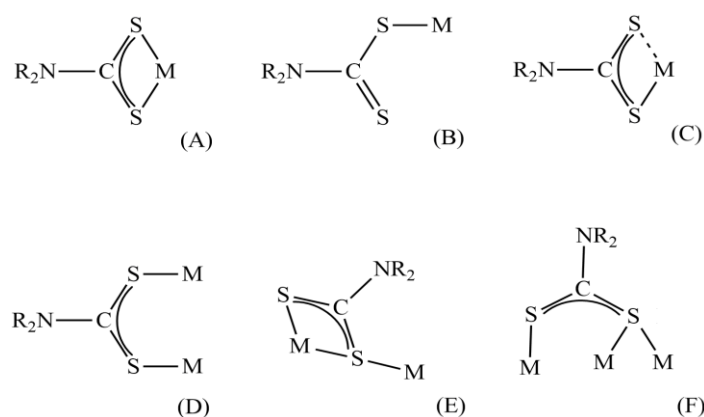
Ova sinteza je jednostavna i brza reakcija koja se odvija bez upotrebe metala. U procesu se koriste tri komponente: diariljodonijum triflat, alifatski amini (koji mogu biti ciklični ili

aciklični), i ugljen-disulfid (CS_2). Reakcija je laka za sprovođenje jer ne zahtjeva dodatne hemikalije poput baza ili katalizatora i odvija se pod blagim uslovima, na sobnoj temperaturi. Metoda je pouzdana, može se koristiti za dobijanje većih količina ditiokarbamata i primjenljiva je na širok spektar različitih supstanci. Kompjuterska analiza biološke aktivnosti S aril ditiokarbamata pokazala je da većina ima potencijal za upotrebu u medicini, s dobrim osobinama za apsorpciju, distribuciju, metabolizam i izbacivanje iz organizma, uz nisku toksičnost [18].

2.1.2. Način koordinacije ditiokarbamata sa metalima

Zbog sposobnosti ditiokarbamata da formiraju stabilne komplekse sa jonima prelaznih metala popunjavanjem njihovih s, p i d orbitala, ovi ligandi se izdvajaju kao izuzetno efikasni. Postoji čitav niz načina vezivanja ditiokarbamata sa metalima počevši od vezivanja sa jednim, pa do vezivanja sa četiri jona metala.

Derivati ditiokarbamata mogu se povezivati sa metalnim centrima na najmanje devet različitih načina. Od tih devet, šest često prisutnih tipova koordinacije, prikazanih na slici 2, dokazano dovodi do formiranja jedinjenja sa značajnim biološkim svojstvima.

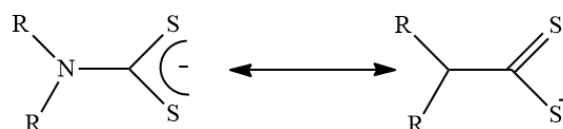


Ova jedinjenja se mogu ponašati kao helatni ligandi što se može vidjeti na slici 2. (A), formirajući gotovo simetrične veze između atoma metala i sumpora. Veličina ugla S-M-S obično varira od 65° do 80° , u zavisnosti od veličine liganda i metalnog jona. Dužine veza zavise od helatnog efekta i kreću se između 2,25 i 2,55 Å, pri čemu je ovakvo vezivanje termodinamički povoljnije, od ostalih načina vezivanja. Monodentatna koordinacija liganda metala prikazana je na slici 2. (B) i obično se javlja kada nema dovoljno prostora za drugu koordinaciju sumpora, zbog steričnih i elektronskih smetnji drugih liganada ili visoke aktivacione

barijere za dodatno vezivanje. Elektronski faktori u metalnom centru takođe mogu onemogućiti koordinaciju, npr. kada nema dostupnih praznih orbitala sa odgovarajućom simetrijom ili energijom za prihvatanje slobodnog elektronskog para sa drugog atoma sumpora. Ova koordinacija je česta kod kompleksa zlata (III). Kod monodentatnih liganada, dužine veze između ugljenika i sumpora mogu značajno varirati. U nekim slučajevima, dvije metal-sumpor veze su različite, ali još uvek unutar očekivanog raspona za ovakvu interakciju. Ovakav način vezivanja često se naziva "*anisobidentatni*" slika 2. (C) i može biti predmet diskusije zbog uticaja *cis* i *trans* efekata na dužine veza. U tetraedarskim klasterima bakar(I) ditiokarbamata, koji nastaju redukcijom jednog elektrona, prisutan je način vezivanja kao na slici 2. (D). Ovi klasteri su korišćeni u PET (Pozitronska Emisiona Tomografija) snimanjima sa ^{64}Cu i kao inhibitori superoksiddismutaze (SOD). Mostno vezivanje ditiokarbamata između dva ili više metalnih atoma je prikazano na slici 2 (F). Ovo je rijedak način vezivanja i nema poznat biološki značaj [17].

2.1.3. Načini sinteze kompleksnih jedinjenja sa ditiokarbamatnim ligandima

Ditiokarbamati predstavljaju široku klasu liganada. Njihova sposobnost da formiraju stabilne komplekse sa metalnim jonima rezultat je delokalizacije elektrona koja obuhvata $\text{N}(\text{CSS})^-$ grupu i dalje se prenosi na metalni centar (slika 3.). Kao rezultat toga, omogućeni su različiti načini vezivanja (monodentatni, bidentatni ili polidentatni prema dva ili tri metalna centra) i stabilizacija metalnih jona u širokom rasponu oksidacionih stanja [19].

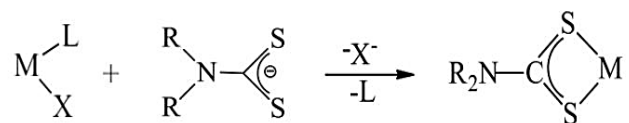


Slika 3. Ditiokarbamatni ligand [19]

Sposobnost stabilizacije visokih oksidacionih stanja metala u metalnim kompleksima ditiokarbamata odražava snažnu σ -vezu karakterističnu za ove ligande. Iako njihova (CSS) grupa posjeduje σ -donorske i π -povratne donorske karakteristike iste veličine, ovi ligandi imaju planarne delokalizovane π -orbitalne strukture. Ovaj efekat rezultira snažnom donacijom elektrona i, samim tim, visokom gustom elektrona na metalu, što dovodi do njegovog sledećeg višeg oksidacionog stanja [20].

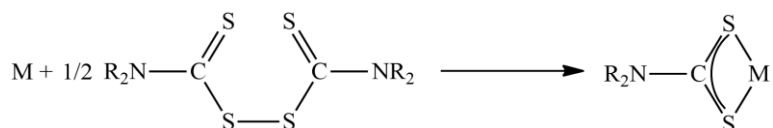
Jedan od najčešćih načina sinteze ditiokarbamatnih kompleksa prelaznih metala uključuje zamjenu postojećih liganada u metalnim kompleksima sa ditiokarbamatnim ligandima. U ovom

procesu, dodavanjem ditiokarbamatne soli metalnom prekursoru [MLX], dolazi do zamjene postojećih neutralnih i anjonskih liganada (L i X) ditiokarbamatnim ligandima, prema shemi 1. [17].



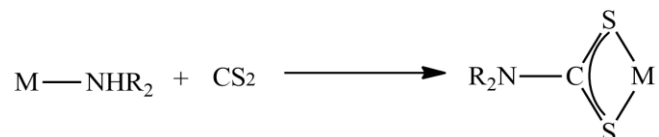
Shema 1. Sinteza kompleksa dtc zamjenom postojećih liganada [17]

Drugi način je oksidativna adicija tiuram-disulfida na metalni centar, kao što je prikazano na shemi 2. Ovaj postupak zahtijeva da se metalni centar lako oksiduje i obično rezultuje ugradnjom dva ditiokarbamatna liganda.



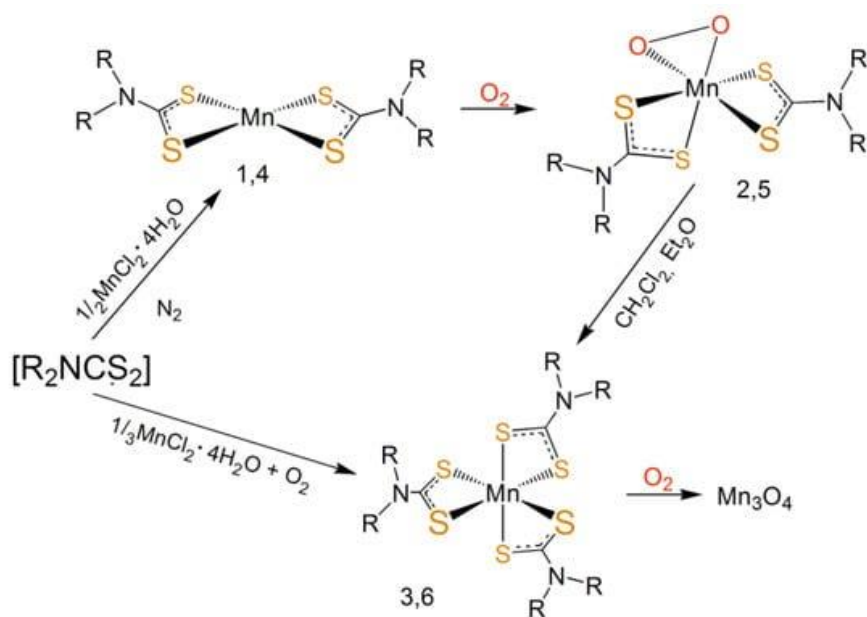
Shema 2. Oksidativna adicija tiuram-disulfida na metalni centar [17]

Treći način uključuje dodavanje ugljen-disulfida u prethodno formirano metal-amidno jedinjenje, predstavljeno shemi 3.



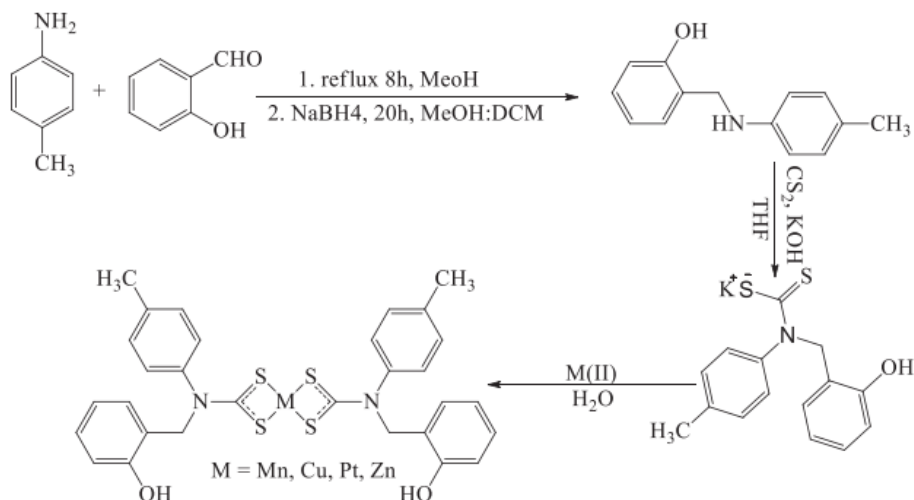
Shema 3. Dodavanje ugljen-disulfida u metal-amidno jedinjenje [17]

Martini i saradnici su sintetisali kompleks MnL_2 ($\text{L} = \text{bis}(\text{N-etoksietil})\text{ditiokarbamat}$), $\text{Mn(II)}[(\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OEt})_2)_2]$. Sinteza počinje dodavanjem $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ u vodeni rastvor koji sadrži dva ekvivalenta natrijumove soli liganda *bis*(N-etoksietil)ditiokarbamata (NaL'), pri čemu ditiokarbamatni anjon ($[\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OEt})_2]^-$) funkcioniše kao bidentatni helirajući ligand, vezujući se za metal putem sumporovih atoma [21].



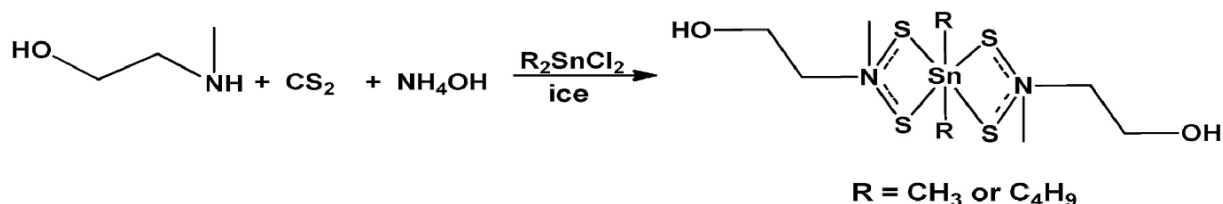
Shema 4. Predložene sheme sinteze $Mn(II)((S_2CN(CH_2CH_2OEt)_2)_2)$ [21]

Ajibade i saradnici su sintetisali komplekse postupkom prikazanim na shemi 5, molekulske formule $[ML_2]$ gdje je M: Mn(II), Cu(II), Zn(II) i Pt(II), a ligand je: 2-((p-tolilamino)metil)fenilditiokarbamat [22].



Shema 5. Opšti sintetički put za $[ML_2]$ gdje je M Mn(II), Cu(II), Zn(II) i Pt(II), a L 2-((p-tolilamino)metil)fenilditiokarbamat [22]

Adeyemi i saradnici sintetisali su komplekse kalaja(IV) (shema 6) molekulske formule: $[(CH_3)_2Sn(L(OH))_2]$ i $[(C_4H_9)_2Sn(L(OH))_2]$, gdje je L -N-hidroksietil ditiokarbamat [23].



Shema 6. Sinteza alki-kalaj(IV) N-metil-N-hidroksietilditiokarbamat kompleksa [23]

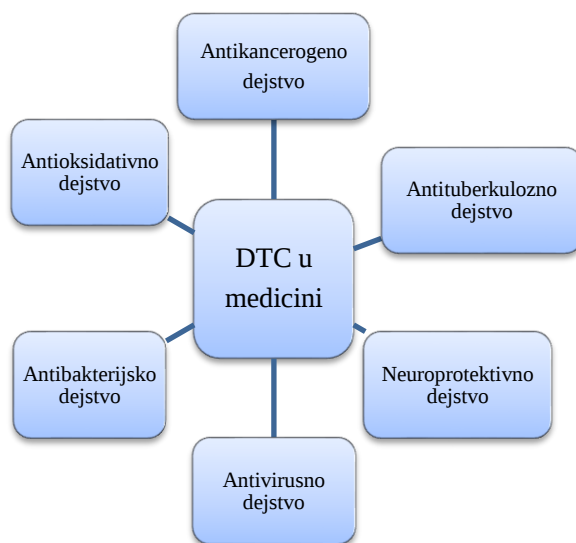
2.2 Primjena ditiokarbamata

Ditiokarbamati, poznati po svojim izuzetnim sposobnostima kompleksiranja, imaju širok spektar primjena u različitim oblastima. Hemijske osobine i biološka aktivnost kompleksa metala s ditiokarbamatima zavise od osobina centralnog metala i ditiokarbamatnog liganda. Posebno su značajni tip C–N lanca i prisustvo C–S veza, koji omogućavaju kompleksima da imaju poboljšanu biološku efikasnost i širi spektar korisnih svojstava [24].

Derivati ditiokarbamata pokazuju antibakterijsku, antifungalnu i antituberkuloznu aktivnost. Ispoljavaju pro- i antioksidativne efekte u biološkim sistemima i učestvuju u ćelijskim redoks procesima zahvaljući visokoj propustljivosti membrane. Neki od dtc-a se koriste u liječenju trovanja teškim metalima. Pokazuju značajan potencijal i u poljoprivredi i industriji zbog svojih svojstava helatiranja metala i antioksidativnih karakteristika [25].

2.2.1. Primjena ditiokarbamato jedinjenja u medicini

Razvoj medicinske primjene ditiokarbamata traje više od 40 godina, a njihova uloga u medicini prikazana je na shemi 7.



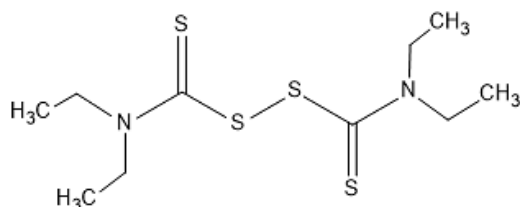
Shema 7. Primjena dtc-a u medicine

Antikancerogeno dejstvo

U medicini su ditiokarbamati istraživani zbog svojih terapijskih svojstava, uključujući inhibiciju proteazoma zavisnu od bakra i indukciju apoptoze u ćelijama kancera, što ukazuje na potencijalne primjene u liječenju bakterijskih i gljivičnih infekcija, kao i u borbi protiv bolesti poput AIDS-a. Jedan od ditiokarbamata, pirolidin-ditiokarbamat (PDTC), je sintetički antioksidant koji ima potencijal da inhibira aktivaciju nuklearnog faktora kappab (NF- κ B, protein koji funkcioniše kao faktor transkripcije) [26].

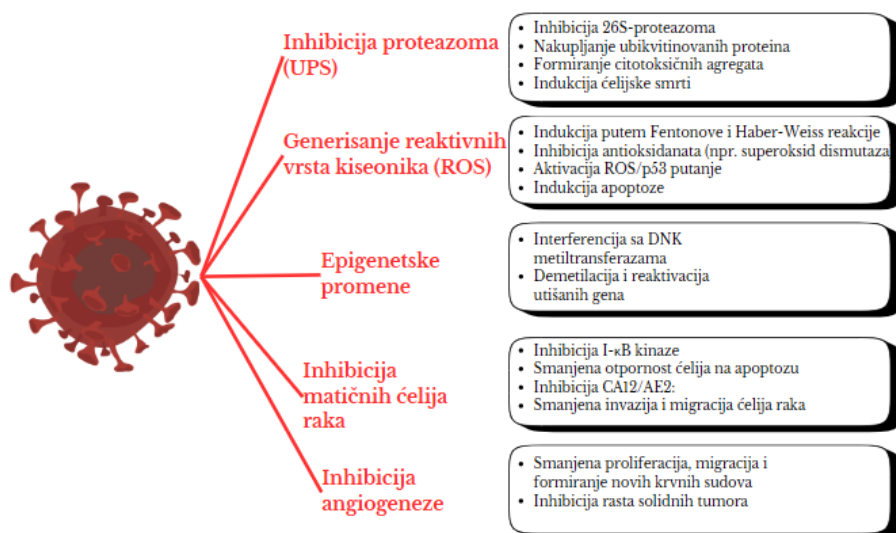
Jedinjenja na bazi ditiokarbamata mogu inhibirati i katalazu (enzim odgovoran za rast kancera) i indukovati apoptozu u mitohondrijama. Kompleksi pirolidin-ditiokarbamata (PyDT) sa Zn(II) i Cu(II) kao centralnim atomima su upoređeni u liječenju kancera dojke i prostate. Kompleks sa bakrom je bio snažniji u inhibiciji proteazoma i indukciji apoptoze. Kompleksi dtc-a sa Au(III) također se ispituju kao antikancerogena sredstva. U poređenju sa cisplatinom oni su citotoksičniji, visoko reaktivni prema nekim biološkim makromolekulima i mnogo brže inhibiraju sintezu DNK i RNK [27].

Disulfiram (DSF), čija je struktura prikazana na slici 4., je anti-alkoholni lijek koji je pokazao antikancerogeno dejstvo kada je pacijent sa metastatskim kancerom dojke postigao potpunu remisiju 1977. godine. Sprovedeno je 21 kliničko ispitivanje sa fokusom na metastatski kancer dojke, prostate, pankreasa, glioblastoma i melanoma, gdje je DSF korišćen samostalno, sa solima bakra ili kao dodatak standardnoj hemoterapiji [28]. Disulfiram također djeluje na centralni nervni sistem inhibirajući dopamin- β -hidroksilazu, što uzrokuje povećanje koncentracije dopamina u mozgu. Ovo može izazvati šizofreniju, a rijetko i psihozu kod inače zdravih osoba. Međutim, rezultati upotrebe disulfirama su kontradiktorni. U kontrolisanim uslovima, dobijeni rezultati su pozitivni, iako se često prepisuje na kraći period. Razlozi nisu potpuno poznati, ali istraživači smatraju da su neželjeni efekti obično manji i da su teške neprijatne reakcije rijetke, iako je potrebno praćenje [27].



Slika 4. Struktura disulfirama

Značajan napredak u razumijevanju mehanizama djelovanja ditiokarbamata postignut je istraživanjem različitih puteva, kao što je već pomenuto, uključujući njihov uticaj na sistem ubikvitin-proteazoma (UPS), generisanje reaktivnih vrsta kiseonika (ROS), epigenetske faktore i matičnost ćelija raka. Mnogi od ovih mehanizama već su opisani, ukratko su predstavljeni na slici 5.



Slika 5. Ukratko predstavljen mehanizam djelovanja dtc u terapiji kancera

Antituberkulozno dejstvo

Neki N-mono- i N,N-di-supstituisani ditiokarbamati su korišćeni za liječenje tuberkuloze, djelujući inhibicijom enzima karboanhidraze. Oba enzima, mtCA 1 (Rv1284) i mtCA 3 (Rv3273), su inhibirani upotrebom ditiokarbamata formule $R_1R_2N-CSSM$, gdje je R_1 H, alkil ili supstituisani alkil, R_2 je alkil, aril ili heterociklus, a M je Na, K ili trietilamonijum. Ovi dtc-i su bili efikasniji od uobičajeno korišćenih lijekova [29].

Neuroprotektivno dejstvo

Nekoliko hibrida kumarina i ditiokarbamata je sintetisano i ispitano za liječenje Alchajmerove bolesti. Testirano je nekoliko jedinjenja, i ustanovljeno je da terminalna amino grupa povezana sa ditiokarbamatnim dijelom inhibira acetilholinesterazu (AChE), dok cikličniaminski supstituenti imaju jaču aktivnost od alkil amina. Istovremeno, pokazalo se da je piperidinilna grupa korisnija od pirolidinilne grupe. Međutim, jedinjenje koje je pokazalo najbolju aktivnost se dobija vezivanjem lanca od četiri ugljenika između kumarina i dijela ditiokarbamata. Dobijeno jedinjenje ima maksimalnu sposobnost inhibicije enzima. Ono može istovremeno da djeluje na katalitičko aktivno mjesto (CAS) i periferno anjonsko mjesto (PAS) AChE, čime se preokreće kognitivna disfunkcija [30].

Antivirusno dejstvo

Ditiokarbamati su korišćeni za liječenje koronavirusa MERS (bliskoistočni respiratorni sindrom) i SARS (teški akutni respiratorni sindrom). Konkretno, disulfiram (slika 4.), lijek koji se koristi za liječenje alkoholizma, pokazao se kao efikasan u inaktivaciji virusnih koronavirusnih proteina (tioproteaza i RNK replikaza). I disulfiram i neki njegovi derivati (tiram i dipentameten-tiuram disulfid (DPTD)) su sposobni da inhibiraju PLpro, papain-sličnu proteazu, kroz alosteričku inhibiciju [27].

DSF i njegov metabolit dietilditiokarbamat (DDC) također pokazuju antivirusna dejstva protiv ljudskog imunodeficientnog virusa HIV-a i korišćeni su u kliničkim ispitivanjima. Mogući mehanizam reaktivacije virusa pomoću DSF pripisuje se stimulaciji signalnog puta proteinske kinaze B. Ovaj put aktivira NF- κ B-zavisnu provirusnu transkripciju, i kao posledicu, reaktivaciju latentne HIV-1 ekspresije [28].

Antibakterijsko dejstvo

Interes za razvoj novih antibakterijskih jedinjenja je rezultat porasta broja bakterija otpornih na lijekove. Kompleksi ditiokarbamata su se pokazali aktivnijim protiv mikroba nego ligandi iz kojih su kompleksi nastali. Aktuelnost ispitivanja antibakterijske aktivnosti dtc-kompleksa u odnosu na slične grupe jedinjenja se pripisuje njihovoj slaboj rastvorljivosti u vodi, relativno lakoj sintezi u laboratorijskim uslovima i stvaranju stabilnih kompleksnih jedinjenja. Najčešće se dejstvo ditiokarbamatnih kompleksa ispituje na: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i dr. [31].

Kompleksi metala Zn(II), Cd(II), Hg(II), Cu(II), Co(II) i Ni(II) sa ligandima p-hlorofenil-ditiokarbamatom i p-Bromofenil-ditiokarbamatom pokazuju da prisustvo metalnog jona rezultira poboljšanom efikasnošću protiv bakterija *E. coli*, *S. mercescens* i *S. aureus* u poređenju sa slobodnim ligandom. Međutim, kompleksi su pokazali slabu do nikakvu aktivnost prema ispitivanim gljivicama *T. viride* i *M. albicans* [19].

Ispitivane su i antibakterijske aktivnosti kompleksa difenil(II)-ditiokarbamata sa Ni, Cu i Zn kao centralnim jonima. Zapaženo je da svaki od kompleksa pokazuje različitu efikasnost protiv četiri bakterijska (*B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* i *Rhodococcus sp.*) i četiri gljivična soja (*A. niger*, *A. flavus*, *C. albicans* i *Acetomyces sp.*). Najbolji inhibični efekat protiv svih testiranih bakterijskih vrsta su pokazali kompleksi cinka [32].

Inhibitorno dejstvo na *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *Kl. pneumoniae* su pokazali i kompleksi sa dtc ligandima: *tris*(efedrin-ditiokarbamat)-om, N-etil-N-fenil-ditiokarbamatom, dibenzil-ditiokarbamatom i N-metil-N-fenil-ditiokarbamatom [31].

Antioksidativno dejstvo

Metalni kompleksi dtc-a pokazali su značajne antioksidativne aktivnosti. Pripremljeni su mješoviti kompleksi Zn(II) i Ni(II) izvedeni iz natrijumove soli N-alkil-N-fenil ditiokarbamata i benzoeeve kiseline. Kompleksi nikla su pokazali bolje antioksidativne osobine u poređenju sa cinkovim kompleksima. Međutim, u cjelini su etil-supstituisani ditiokarbamatni kompleksi pokazali superiorna antioksidativna svojstva. Pa se može zaključiti da etil-supstituisani dtc-i kompleksi imaju superiorna antioksidativna svojstva u poređenju s metil-supstituisanim [33].

Ispitivane su antioksidantne aktivnosti Co(III) kompleksa sa N,N-diarilformamidinskim ditiokarbamatom koristeći DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) test. Rezultati su pokazali da su Co(III) kompleksi bili efikasniji antioksidanti u poređenju sa njihovim prostim ditiokarbamatnim solima. Ovi kompleksi bi mogli biti korišćeni u razvoju lijekova za borbu protiv bolesti povezanih sa oksidativnim stresom, kao što su Parkinsonova, Alchajmerova bolest, dijabetes i kardiovaskularne bolesti [10].

Sintetisan je kompleks Cu(II) sa natrijum-N-etil-N-fenilditiokarbamatom kao ligandom i ispitana je njegova antioksidativnost DPPH metodom. Aktivnost hvatanja DPPH radikala Cu(II) kompleksa je značajno viša u odnosu na slobodni ligand, što ukazuje da je ovaj kompleks mnogo bolji hvatač slobodnih radikala i antioksidant u poređenju sa ligandom, ali je niža u poređenju sa askorbinskom kiselinom kao standardom [33].

Adeyemi i saradnici su proučavali komplekse alkitin(IV) N-metil-N-hidroksietil-ditiokarbamata i ustanovili da ova jedinjenja pokazuju značajnu aktivnost uklanjanja radikala putem različitih testova, uključujući DPPH i testove uklanjanja azot-monoksida [23]. Slično tome, Venkatesh i saradnici su pokazali da S-benzil ditiokarbamati imaju značajnu antioksidativnu aktivnost, koja može biti korisna u tretmanu Alchajmerove bolesti [35].

Antioksidativni mehanizmi ditiokarbamata nisu ograničeni na direktno uklanjanje radikala. Oladipo i saradnici su naveli da kompleksi ditiokarbamata mogu modifikovati aktivnost ključnih proteina uključenih u odgovore na oksidativni stres, čime povećavaju ukupni antioksidativni kapacitet bioloških sistema [10]. Pored toga, Tella i saradnici su pokazali da dietilizopropil-ditiokarbamati mogu ublažiti toksičnost izazvanu diklofenakom kod pacova, čime dodatno ilustruju zaštitne efekte ovih jedinjenja protiv oksidativnog oštećenja [24].

Pirolidin ditiokarbamat (PdTc) je takođe istaknut zbog svojih zaštitnih efekata protiv oštećenja jetre izazvanih izoniazidom i rifampicinom, čime se pokazuje njegova uloga kao snažnog antioksidanta [36]. Ovo jedinjenje ne samo da uklanja slobodne radikale, već i inhibira proinflamatorne puteve, čime pruža dvostruki mehanizam djelovanja u smanjenju oksidativnog stresa. Dalje, sinteza različitih derivata ditiokarbamata dovela je do otkrića jedinjenja sa poboljšanim antioksidativnim svojstvima, kao što su zabilježili Maurya i Bajpai, koji su pregledali biološke primjene metalnih kompleksa ditiokarbamata [37].

U zaključku, ditiokarbamati pokazuju značajnu antioksidativnu aktivnost kroz više mehanizama, uključujući direktno uklanjanje radikala i modulaciju puteva oksidativnog stresa. Istraživanja njihovih derivata i kompleksa i dalje otkrivaju njihove potencijalne terapijske primjene u raznim bolestima povezanim sa oksidativnim stresom.

2.2.2. Primjena ditiokarbamata u farmakokinetici

Ditiokarbamati mogu imati uticaj na albumine putem formiranja kompleksa sa ovim proteinima, što može promijeniti njihovu funkcionalnost i sposobnost vezivanja drugih molekula u krvi. Ova interakcija može imati implikacije na distribuciju lijekova, transport molekula i druge biološke procese [4]. Ispitivanje interakcije dtc-kompleksa sa BSA i HSA pruža uvide u ponašanje ovih kompleksa u biološkim sistemima kao i razumjevanje farmakokinetike i farmakodinamike potencijalnih kandidata za lijekove, posebno u liječenju tumora [5].

Ispitivana je interakcija ljudskog albumina i kompleksa Zn(II) sa dtc-ligandom, $[Zn(ph-dtc)(bpy)]Cl$ i $[Zn(ph-dtc)(phen)]Cl$ (gdje je bpy=2,2' -bipiridin, phen-fenantrolin 1,10-fenilacetilhidrazid ditiokarbamat). Kompleksi su pokazali značajnu citotoksičnost prema ćelijama kancera što je analizirano na osnovu njihovog uticaja na fluorescenciju HSA. HSA je najobilniji protein u ljudskom organizmu i igra ključnu ulogu u transportu i eliminaciji mnogih endogenih i egzogenih jedinjenja. Većina distribucije lijekova kontroliše se HSA-om jer mnogi lijekovi cirkulišu u plazmi i dosežu ciljna tkiva vezanjem za ovaj protein, koji se takođe nalazi u tumorskim ćelijama gdje djeluje kao nosač mnogih antitumorskih lijekova [38].

Sintetisani su i karakterisani kompleksi osmijuma(II) Os1-3, sa hemijskom formulom $[Os^{II}LCl_2H_2O]$, $[L = 2,6-bis(5-tert-butyl-1H-pirazol-3-il)piridin$ (za Os1), 2,6-bis(5-tert-butyl-1-metil-1H-pirazol-3-il)piridin (za Os2) ili 2,2':6',2''- terpiridin (za Os3)]. Fluorescencijska spektroskopija korišćena je za proučavanje interakcija ovih kompleksa sa ljudskim serum albuminom (HSA), pri čemu je uočeno smanjenje fluorescencije, što ukazuje na promjene u

tercijarnoj strukturi HSA usled vezivanja ovih kompleksa. Analizom Stern–Volmerove konstante (K_b) utvrđeno je da ovi kompleksi umjereno stupaju u interakciju sa HSA, pri čemu su identifikovana po jedno mjesto vezivanja za svaki od ispitivanih kompleksa na HSA molekulu [39].

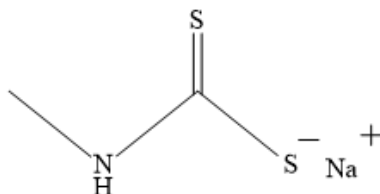
Ispitivana je interakcija između humanog serumskog albumina (HSA) i kompleksa Pd(II) sa butilditiokarbamatnim i fenantrolinskim ligandima, označenog kao $[Pd(But-dtc)(phen)]NO_3$ (gdje je But-dtc = butilditiokarbamat, a phen = 1,10-fenantrolin). Rezultati fluorescencijske spektroskopije pokazali su da Pd(II) kompleks efikasno prigušuje intenzitet fluorescencije HSA molekula putem statičkog mehanizma, ukazujući na formiranje stabilnog kompleksa između Pd(II) i HSA. Pored toga, apsorpciona titracija potvrdila je visok afinitet vezivanja Pd(II) kompleksa za HSA. Termodinamički parametri, uključujući negativnu Gibbsovu slobodnu energiju i pozitivne vrijednosti entalpije i entropije, sugerisali su da su hidrofobne interakcije ključne za stabilizaciju HSA–Pd(II) kompleksa. Kvantitativna analiza cirkularnog dihiroizma (CD) pokazala je značajne promjene u sekundarnoj strukturi HSA, što ukazuje na konformacione promjene u HSA izazvane prisustvom Pd(II) kompleksa. Ovi rezultati pružaju važne uvide koji bi mogli doprinjeti daljem razvoju Pd(II) kompleksa za potencijalnu primjenu u biomedicinskim naukama, uključujući terapiju kancera, jer interakcije sa HSA igraju značajnu ulogu u farmakokinetici i distribuciji lijekova [40].

Sintetisan je i karakterisan novi kompleks paladijuma(II) opšte formule $[Pd(bpy)(proli-dtc)]NO_3$, u kojem su bpy i proli-dtc ligandi 2,2'-bipiridin i pirolin-ditiokarbamat. IC_{50} vrijednost utvrđena na ćelijama K562 ukazala je na obećavajuću citotoksičnost. Interakcija kompleksa sa CT-DNK i serum albuminom (BSA) istraživana je različitim spektroskopskim metodama (UV–Vis, fluorescencija, FRET, CD), kao i nespektroskopskim tehnikama (elektroforeza, viskoznost, doking simulacija). Rezultati su pokazali jake hidrofobne interakcije sa CT-DNK i srednje interakcije sa BSA putem vodoničnih veza i van der Valsovih sila, što ukazuje na potencijal BSA za efikasan transport kompleksa [41].

2.2.3. Primjena ditiokarbamato jedinjenja u poljoprivredi

U poljoprivredi ditiokarbamati nalaze primjenu i kao fungicidi (za suzbijanje fitoptogenih gljiva), a mogu se koristiti i za suzbijanje štetnih insekata (insekticidi) i za suzbijanje krova (herbicidi). Ditiokarbamatne karakteriše širok spektar aktivnosti protiv različitih biljnih patogena (prije svega gljiva, ali i bakterija) i niska toksičnost prema sisarima. Mehanizam djelovanja ovih jedinjenja zasniva se na njihovoj sposobnosti da se snažno vežu za metale poput bakra (Cu), gvožđa (Fe), kobalta (Co) i olova (Pb). Oni djeluju kao inhibitori enzima tako što blokiraju ključne tiol grupe u ćelijama. Ove tiol grupe su važne za rad enzima, a inhibicija se dešava putem organskih molekula koji nastaju tokom metabolizma ili kroz koordinaciju sa metalnim jonima poput cinka i mangana, njihovo djelovanje na biološke organizme postaje efikasnije kada se formiraju soli teških metala sa ditiokarbamatima [6], [42]. Ditiokarbamate koji su našli primjenu u poljoprivredi možemo podijeliti u četiri podklase prema njihovom ugljeničnom skeletu:

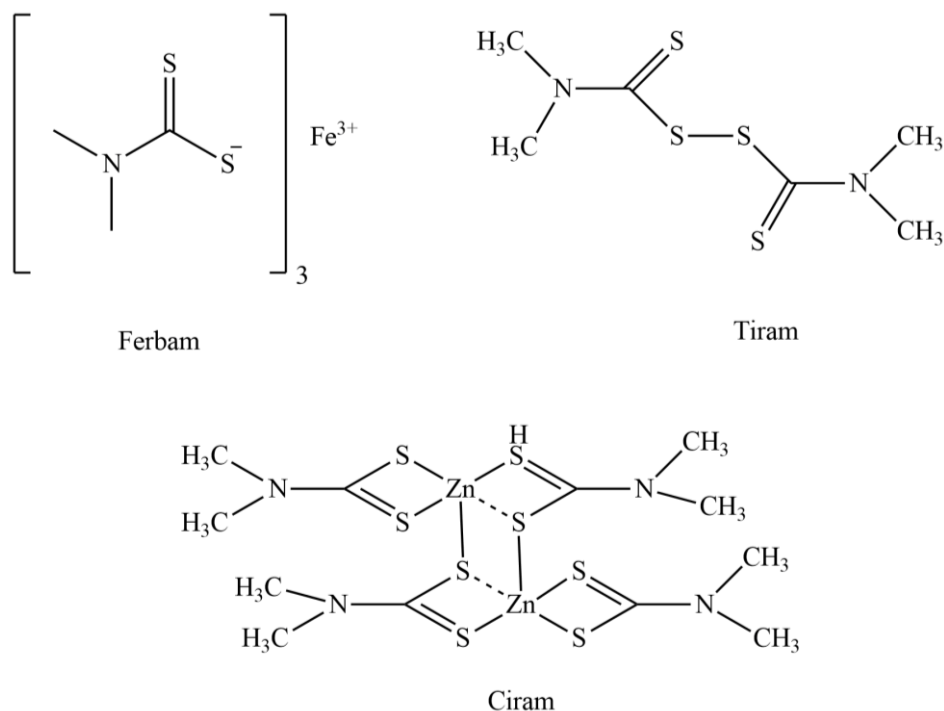
Metil-ditiokarbamati (MDTC), primjer: metam natrijum, čija je struktura prikazana na slici 6 . On se koristi za tretiranje zemljišta u poljoprivredi, uglavnom za suzbijanje štetočina kao insekticid. Također je odobren za upotrebu na prehrambenim i stočnim usjevima, kao i na travnjacima. Njegovom primjenom nastaje visoko toksičan i isparljiv gas metil izotiocijanat, koji ima široko pesticidno djelovanje [43].



Slika 6. Struktura Metam-natrtijuma

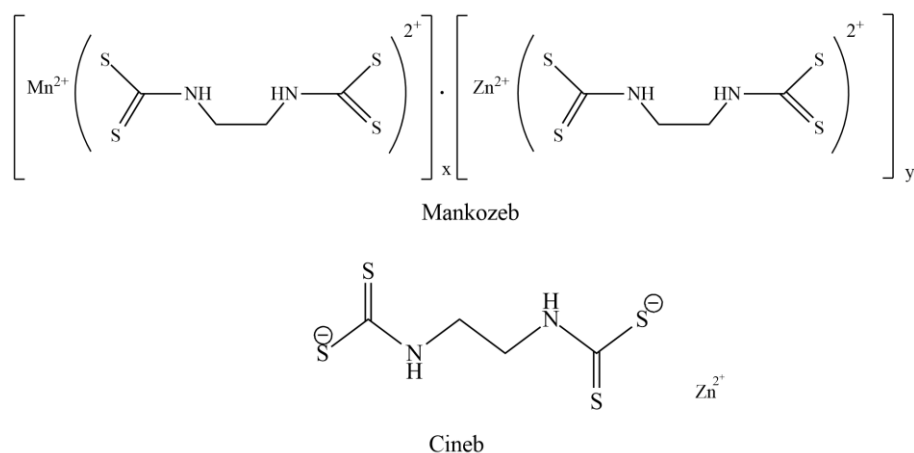
Dimetil-ditiokarbamati (DMDTC), primjeri: ciram, tiram i ferbam čije su strukture prikazane na slici 7. Ciram se najčešće se koristi u suzbijanju prouzrokovaca antraknoze na mahunarkama, paradajzu, pasulju, duvana itd. Ferbam se koristio kod suzbijanja gljivičnih patogena koji izazivaju brojna obiljenja na voću i povrću, a dosta za suzbijanje prouzrokovaca kovrdžavosti lista breskve, zatim prouzrokovaca čađave pjegavosti lista i krastavosti plodova jabuke, kao i prouzrokovaca plamenjače duvana. Tiram se koristio za suzbijanje patogena koju prave problem u zemljištu kao što su: *Pythium*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* i dr., zatim za suzbijanje prouzrokovaca rđi na ukrasnim biljkama, kao i prouzrokovaca čađave pjegavosti lista i

krastavosti plodova kod kruške. Ova aktivna materija može se koristiti i za suzbijanje prouzrokovalča sive truleži (*Botrytis cinerea*)[44].



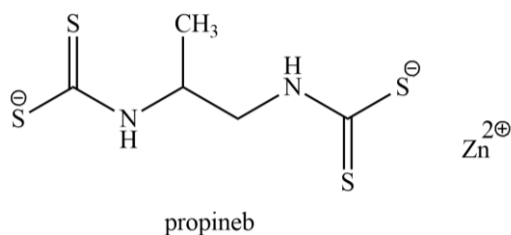
Slika 7. Strukture primjera dimetil-ditiokarbamatnih pesticida

Etilen-*bis*-ditiokarbamati (EBDTC), primjer: mankozeb, cineb, maneb i metiram. Strukture mankozeba i zineba su prikazane na slici 8. Maneb se najčešće koristi kod prouzrokovalča plamenjače krompira i paradajza, kao i kod prouzrokovalča rđa brojnih poljoprivrednih kultura. Cineb se upotrebljavao za suzbijanje prouzrokovalča raznih truleži plodova, prouzrokovalča čađave pjegavosti lista i krastavosti plodova jabuke, i prouzrokovalča plamenjače krompira [44].



Slika 8. Strukture primjera etilen-*bis*-ditiokarbamata

Propilen-*bis*-ditiokarbamati (PBDTC), primjer: propineb, struktura je prikazana na slici 9. [27]



Slika 9. Struktura propineba

Ditiokarbamatni fungicidi (DTF) iz različitih grupa imaju različitu toksičnost, što dovodi do varijacija u procjeni rizika izloženosti određenim fungicidima. Zbog svoje toksičnosti, fungicidi poput cineba su zabranjeni u mnogim zemljama širom svijeta, uključujući SAD i EU, dok su u zemljama u kojim je trenutno dozvoljena upotreba, postavljeni maksimalni limiti rezidua u opsegu djelova po milionu (ppm) od strane različitih organizacija, za različite prehrambene i poljoprivredne proizvode. Evropska komisija je postavila maksimalno dozvoljene količine rezidua (MDK/ eng. maximum residual level - MDK) od 0,01–25 ppm za ditiokarbamate uključujući maneb, mankozeb, metiram, propineb, tiram i ciram u različitim biljkama i proizvodima biljnog ili životinjskog porijekla (izraženih kao CS_2). Prekomjerna upotreba DTF-a nastavljena je i u poslednjim godinama, na primjer, utvrđene su količine veće od MDK-a u paradajzu, od 20 farmera i 25 tržišnih prodavaca u okrugu Vakiso u Ugandi, zatim u kiviju i kruškama od više Evropskih zemalja čije je mjerenje sproveda Norveška u saradnji sa Islandom [45].

Većina ditiokarbamata ima polimernu strukturu, slabo su rastvorljivi u vodi i većini organskih rastvarača (osim natrijumovih soli, koje su vrlo rastvorljive u vodi, ali prilično nerastvorljivi u nepolarnim rastvaračima), što otežava njihovo izdvajanje iz biljnih uzoraka [45].

Kompleksi formule $[ML_2(py)_2]$, gdje je M: Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), py- piridin- a L N-metil-N-fenil-ditiokarbamato ligand, su pokazali poboljšanu antifungalnu aktivnost u odnosu na sam dtc ligand. Jedinjenja su testirana na tri humane patogene gljive: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* i *Candida albicans*. Među ispitivanim kompleksima sa Mn(II), Co(II), Ni(II), i Cu(II), kompleks sa Co kao centralnim atomom je pokazao najvišu aktivnost. Ovo sugerise da kompleksiranje metala može povećati antifungalno dejstvo ditiokarbamata, jer na taj način mogu bolje ometati vitalne enzime i procese u gljivičnim ćelijama, kao što su oksidativni stres, sinteza DNA i metabolizam gvožđa [46].

Ispitivan je uticaj kompleksa ditiokarbamata prema gljivama *Phomopsis victola* i *Wilsonomyces carpophilus*. Dejstvo ditiokarbamato-kompleksa Fe(II) sa ditiokarboksil-3-aza-5-

aminopentanoatom trihidrat ligandom, $\text{Fe}(\text{daap})_2$ je poređeno sa komercijalnim fungicidom. Kompleks je pokazao značajnu inhibitornu aktivnost na rast micelije *Ph. viticola*, ali znatno nižu od komercijalnog fungicida čija je aktivna materija mancozeb, dok se aktivnost na rast gljive *W. carpophilus* pokazala beznačajnom [47].

Ispitan je i uticaj kompleksa $\text{Zn}(\text{H}_2\text{idadt})_2 \cdot 2\text{NH}_4\text{OH}$, gdje je idadt amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat, na *Ph. viticola*. Rezultati su pokazali inhibitorni efekat na rast gljivice ali manji nego kod mankozeba [48].

Pt(II) kompleks s ligandom N,N-diacetatditiokarbamatom pokazao je najbolju antifungalnu aktivnost protiv tri vrste fitopatogenih gljiva *Fusarium solani*, *Verticillium albo-atrum* i *Phytophthora capsici*, u odnosu na komplekse Mo(II) i Co(II) ali ne veću mankozeba. Takođe, ovaj kompleks je pokazao veću selektivnost prema gljivičnim ćelijama u poređenju s ljudskim ćelijama, što ga čini manje toksičnim za ljude. Dtc derivat amonijum[penta(N,N-diacetatna kiselina–ditiokarbamato-S,S') dikobaltat(II)], pokazao je značajan inhibitorni efekat prema miceliji *B. dothidea* [19].

2.2.4. Primjena ditiokarbamata u industriji

Derivati ditiokarbamata se koriste u vulkanizaciji gume. Služe kao agensi za transfer radikalskog lanca u polimerizacijama, kao ligandi za metalne jone u ekstraktivnoj metalurgiji i komponente u hemiji nanomaterijala, naglašavajući njihove raznovrsne primjene u različitim oblastima [49].

Ditiokarbamati bakra su široko korišćeni kao SSPs (single-source precursors) za nanočestice bakar-sulfida, omogućavajući kontrolu nad veličinom čestica i morfologijom nanomaterijala, čime se omogućava pristup materijalima sa podesivim fizičkim svojstvima [50]. Pored toga, dtc-i su istraživani zbog svog potencijala kao senzori za detekciju metalnih jona u vodenim uzorcima, što pokazuje njihovu korisnost u analitičkoj hemiji [51]. Takođe, su korišćeni u kolorimetrijskoj detekciji ditiokarbamatnih pesticida, što pokazuje njihovu svestranost u primjenama u nanotehnologiji [52]. Upotreba ovih jedinjenja u ekološki prihvatljivim mikroekstrakcijama karbamata i ditiokarbamata podvlači njihovu važnost u praćenju ostataka pesticida u prehrambenim uzorcima [6].

U oblasti nauke o životnoj sredini, ditiokarbamati su korišćeni za određivanje i uklanjanje metalnih jona iz vodenih sredina, naglašavajući njihov značaj u procesima prečišćavanja vode. Hitosan, koji je prirodni bipolimer koji se dobija iz hitina, koordinuje se sa dtc-nim grupama i

koristi se za uklanjanje toksičnih metala iz vode, uključujući olovo, kadmijum i bakar. Adsorpcioni kapacitet za olovo je 464 mg/g na pH 6.0 [53].

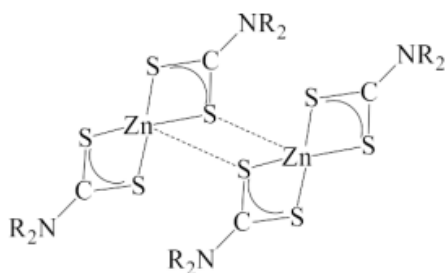
Kompleksi kalaja sa ditiokarbamatom kao ligandom su molekularni prekursori za filmove kalaj-sulfida, koji dalje pronalaze primjenu kao fotonaponski materijali, kod holografskih sistema za snimanje i kao pomoćni materijali kod uređaja za kontrolu solarne energije [13].

2.3 Ditiokarbamato kompleksi Zn(II)

2.3.1 Strukturne karakteristike kompleksa Zn(II) sa ditiokarbamatima kao ligandima

Cink je prirodni element bijelo-srebrnkaste boje. To je čvrst, otporan i elastičan metal te je 24. najzastupljeniji metal, koji se najčešće proizvodi elektrolizom vodenih rastvora cink(II)-sulfata. Cink(II) jon posjeduje d^{10} elektronsku konfiguraciju i može se nalaziti u različitim koordinacijskim aranžmanima, uključujući tetraedarsku ili kvadratno-planarnu geometriju sa četiri koordinativne veze, trigonalnu piramidalnu geometriju sa pet koordinativnih veza, te oktaedarsku geometriju sa šest koordinativnih veza. Najčešće je prisutna tetraedarska geometrija sa četiri koordinate. U određenim katalitičkim veznim mjestima, Zn(II) joni mogu biti prisutni u penta-koordinovanim i heksa-koordinovanim strukturama. Zbog svoje fleksibilnosti, ima sposobnost koordinovanja do šest molekula vode u vodenim rastvorima. Smatra se da je na granici između tvrdog i mekog jona, što mu omogućuje koordinovanje s širokim rasponom uključujući meke S– i tvrde N– i O– donor grupe. Ima nultu energiju stabilizacije ligandnog polja u svim koordinacijskim okruženjima [24].

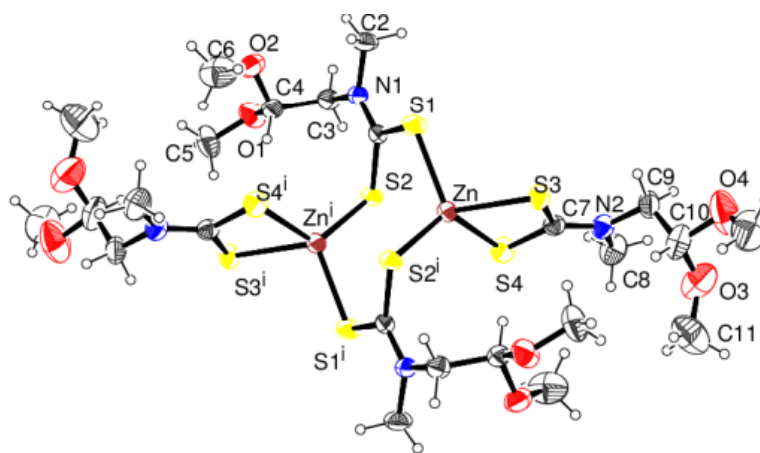
Bis(ditiokarbamato)cink(II) kompleksi su bijele čvrste supstance koje se lako sintetišu i stabilni su na vazduhu. U rastvoru imaju deformisanu tetraedarsku strukturu, dok je njihova struktura u čvrstom stanju složenija, najčešće dimerna. Dvije jedinice *bis*(ditiokarbamato)cink(II) povezuju slabe Zn–S interakcije, što ukazuje na izražen Luisov kiseli karakter cinka(II). Jedan od tipičnih primjera ovih kompleksa je $[Zn(S_2CNR_2)_2]$, R je najčešće alkilna ili arilna grupa. Struktura ovog kompleksa je prikazana na slici 10. [17].



Slika 10. Struktura $[Zn(S_2CNR_2)_2]_2$ gdje je R je najčešće alkilna ili arilna grupa [17]

Gomathi i saradnici sintetisali su kompleks cinka dobijen iz *bis*(N-benzil-N-(4-metoksibenzil)-ditiokarbamata-S,S). Kristalografski podaci su pokazali da on postoji kao monomerna jedinica, pri čemu se sva četiri atoma sumpora koordinuju s atomom cinka, stvarajući deformisan tetraedarski kompleks [54]. Slične studije takođe su pokazale da je ovo česta geometrija Zn kompleksa sa dtc kao ligandima. Kristalogrfska struktura *bis*(N-isobutil-N-propil-ditiokarbamata- κ^2 S,S') cinka(II) kompleksa pokazala da su dva S,S'-bidentatna jona iz ditiokarbamata liganda formirala helat s Zn(II) jonom u tetraedarskoj geometriji. Struktura Zn(II) *bis*(N-alkil-N-fenilditiokarbamata) prikazala je drugačiju geometriju, s mostnim vezama između Zn i susjednog atoma S, stvarajući mostni dimerski kompleks. U ovom slučaju, posmatrana je centrometrična dimerska struktura oko centralnog atoma. Ditiokarbamati su se našli u helatnom kompleksu bidentatno vezanom za metalni centar i nesimetrično koordinovan na drugi ditiokarbamatni anjon [24].

Ferreira i saradnici su objavili slične strukture sa malim modifikacijama ,dtc ligandi bidentantno koordinovani sa Zn(II)-jonom. Jedan od njih je formirao monodentatnu vezu s jednim od svojih atoma sumpora, drugi je bio uključen u mostnu vezu, stvarajući mostni dimerski kompleks. Ova mostna koordinacija dimerskog kompleksa $[Zn(S_2CNMeCH_2CH(OMe)_2)_2]$ takođe je rezultirala formiranjem osmočlanog pstena s konformacijom stolice između $Zn^iS^1S^2C$ i ZnS^1S^2C . Raspored atoma i numerisanje za centrosimetrični dimer prikazan je na slici 11 [55].



Slika 11. Kristalna struktura kompleksa $[\text{Zn}(\text{S}_2\text{CNMeCH}_2\text{CH}(\text{OMe})_2)_2]$

Kada jedna ili dvije *Luisove* baze reaguju s cinkovim ditiokarbamato kompleksom, postoji mogućnost formiranja kompleksa sa višim koordinacionim brojem. Sintetisan je kompleks Zn(II) sa *bis*-N-etil-N-fenil-ditiokarbamatom (L) i piridinom kao ligandima, molekulske formule $[\text{ZnL}_2(\text{py})]$. Kristalna struktura je pokazala da je ovaj kompleks formirao penta-koordinovanu geometriju oko centralnog Zn(II) jona, stvarajući izobličenu kvadratno piramidalnu strukturu, gdje su dva bidentatna ditiokarbamata i jedan monodentatni piridinski ligand koordinovani sa Zn(II) jonom, uz prisustvo kiseonika iz piridina [24].

2.3.2. Primjena kompleksa Zn(II) sa ditiokarbamatima kao ligandima

Do nedavno, biološka uloga cink(II) kompleksa sa ditiokarbamato ligandima nije bila u potpunosti istražena. Kompleks *bis*(ditiokarbamato)cink(II) se u velikoj mjeri koristio kao poljoprivredni fungicid ciram (slika 7.). Toksikološke studije u vezi sa ovim jedinjenjem su pokazale da je izuzetno toksičan za embrione riba i pacova. Ustanovljeno je da cink(II) ditiokarbamatni kompleksi indukuju apoptozu u tumorskim ćelijama inhibicijom proteazomske aktivnosti. Primjećeno je da su kompleksi iz ove serije oralno aktivni antidijabetici, inhibiraju oslobađanje masnih kiselina i povećanje apsorpcije glukoze [13].

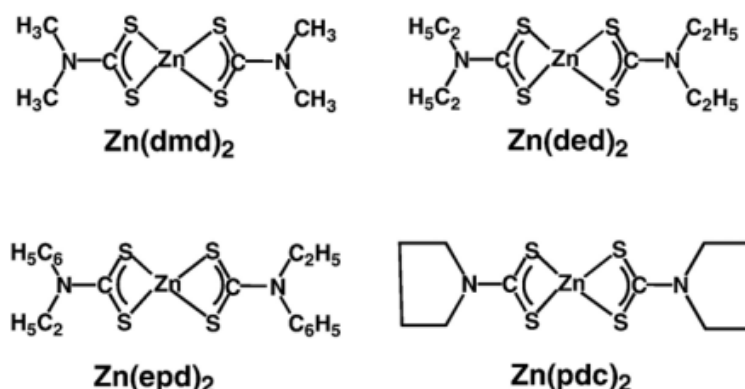
Kompleksno jedinjenje cink(II) N-benzilmetilditiokarbamat pokazuje antibakterijsko djelovanje protiv bakterije *Salmonella typhi* sa jakim inhibicijskom zonom od 12,65 mm pri koncentraciji od 100 ppm [56].

Pirolidinditiokarbamato-cink(II) $(\text{Zn}(\text{PyDT})_2)$ ispitivan je na sposobnost inhibicije proteazomalne aktivnosti i indukcije apoptoze u ćelijskim linijama kancera dojke (MDA-MB-231, MCF10, MCF-7) i prostate (PC-3). Rezultati su pokazali da je kompleks efektivan u inhibiciji rasta ćelija sa 20 % do 47 % na koncentraciji od 10 $\mu\text{mol/L}$, dok je na 20 $\mu\text{mol/L}$

izazvao više od 80 % inhibicije u MDA-MB-231 i preko 90 % u ostalim linijama. Ovaj kompleks je takođe inhibirao proteazomalnu aktivnost u zavisnosti od doze i pokazao znakove apoptoze, uključujući promjene u morfologiji ćelija i prisustvo fragmenta PARP-a. Iako je pokazao značajnu aktivnost, njegova efikasnost je bila manja u poređenju sa kompleksima bakra koji su imali veću inhibiciju rasta i aktivaciju apoptotskih puteva [57].

Ajibade i saradnici su sintetisali kompleks $[Zn(\mu\text{-MphDTC})_2(\text{MphDTC})_2]$, gdje je MphDTC morfolinilditiokarbamat. Radi se o dinuklearnom kompleksu pri čemu je svaki metalni jon vezan za dva morfolinilditiokarbamatna bidentatna anjona, jedan koji deluje kao helatni ligand, a drugi kao most između dva Zn(II) jona. Antikancerogena aktivnost morfolinilditiokarbamatnog liganda i Zn(II) kompleksa ispitivana je na ćelijama kancera bubrega (TK10), melanoma (UACC62) i dojke (MCF7) putem Sulforodamin B (SRB) testa. Morfolinilditiokarbamat je pokazao veću aktivnost od standardnog lijeka partenolida protiv ćelija kancera bubrega i dojke, dok je $[Zn(\mu\text{-MphDTC})_2(\text{MphDTC})_2]$ bio najaktivniji kompleks, u odnosu na standardni lijek, protiv ćelija kancera dojke [58].

Na slici 12 su prikazane structure četiri Zn(II)-ditiokarbamato kompleksa: *bis(dimetiilditiokarbamat)cink(II)* ($Zn(dmd)_2$), *bis(dietilditiokarbamat)cink(II)* ($Zn(ded)_2$), *bis(N-etil-N-fenilditiokarbamat)cink(II)* ($Zn(epd)_2$) i *bis(pirolidin-N-ditiokarbamat)cink(II)* ($Zn(pdc)_2$). Ovi kompleksi ispoljavaju insulinomimetičku aktivnost *in vitro* i antidijabetičko dejstvo *in vivo*. Kod miševa je zabilježeno značajno smanjenje nivoa glukoze u krvi, sa približno 500 mg/dl na 350 mg/dl u roku od šest dana. Takođe, primjećen je pad markera insulinske rezistencije, uključujući nivoe insulina, leptina i triglicerida u serumu, u poređenju sa miševima koji nisu bili tretirani [59].



Slika 12. Strukture Zn(II) dtc kompleksa: $Zn(dmd)_2$, $Zn(ded)_2$, $Zn(epd)_2$ i $Zn(pdc)_2$ [59]

Iako većina ditiokarbamatnih kompleksa generalno pokazuje odlična antimikrobna svojstva, njihova biološka potencija varira usled različite propustljivosti kroz ćelijsku membranu. Dokazano je da su osnovni ditiokarbamatni kompleksi Zn(II) i Ni(II) pokazali bolje antimikrobne osobine od njihovih fosfinskih derivata kada su testirani protiv *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* i *B. cereus*, *A. flavus*, *A. carbonarius*, *A. niger* i *A. fumigatus*. Korišćenjem istih tipova liganada, u većini slučajeva, kompleksi cinka $[Zn(f^i \text{ prdtc})_2]$, $[Zn(f^i \text{ prdtc})_2(1,10\text{-phen})]$ i $[Zn(f^i \text{ prdtc})_2(2,2\text{-bipy})]$ gdje je $f^i \text{ prdtc}$ = N-furfuril-N-izopropil-ditiokarbamat, 1,10-phen = 1,10-fenantrolin i 2,2-bipy = 2,2-bipiridin, su pokazali bolje biološke potencijale nego njegov nikl ekvivalent. Stabilnost ovih kompleksa proističe iz stabilnosti *trans*-geometrije između S-donorskih jedinjenja i ditiokarbamatne strukture –NCSS [60].

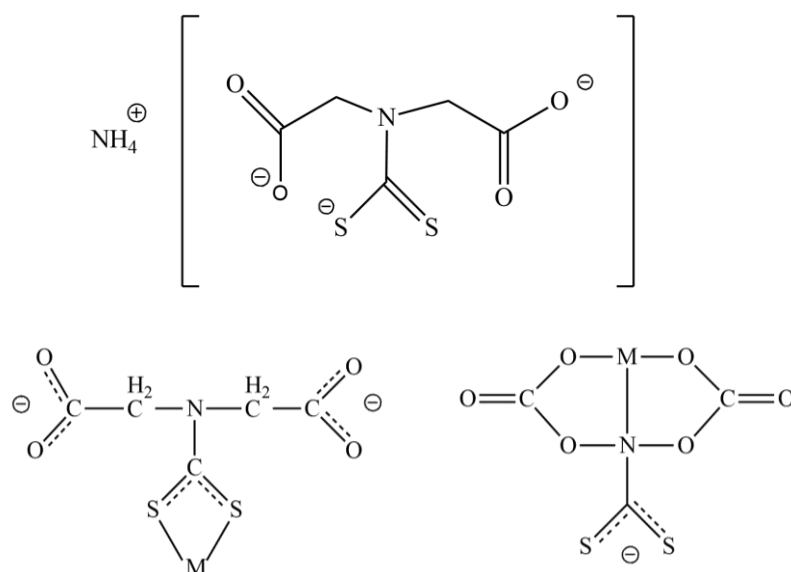
Sintetisani su molekularni kompleksi cinka(II) sa formulom $\{[ZnLX_2]\}_2$ gdje L predstavlja N,N-dimetil-N,N-dimetiltijokarbamoil sulfenamide, dok X označava atom halogena, najčešće hlor (Cl) ili brom (Br). Ovi kompleksi imaju pseudotetraedarsku strukturu sa mostovskim Zn—X vezama. Ovaj kompleks je našao primjenu kao akcelerator vulkanizacije gumenih smješa zbog toga što se njihovo termičko razlaganje odvija u temperaturnom opsegu od 140-170 °C, što je kompatibilno sa procesom vulkanizacije. Prisustvo cinka(II) u ovim kompleksima poboljšava fizičko-hemijske karakteristike elastomera i može smanjiti potrebu za dodatnim oksidom cinka, koji se inače koristi kao aktivator vulkanizacije [61].

2.4. Amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat, $(NH_4)_3idatdc$

Kako je već navedeno ditiokarbamati su svestrani ligandi zbog njihove sposobnosti da se heliraju sa različitim vrstama metala. Ova sposobnost je posledica prisustva dva atoma sumpora kao donora u dtc ligandima. Opšta formula dtc-a je $(R_1R_2)N-(C=S)SX$, gdje R može biti alkil, alkilen, aril ili razne druge grupe dok X predstavlja metalni jon. Ako je R acetatna grupa dobija se iminodiacetatoditiokarbamat [62].

Iminodiacetatni (IDA) ligand može djelovati kao bidentatni ili tridentatni. Omogućava formiranje različitih kompleksa sa metalnim jonima. Zahvaljujući svojoj sposobnosti da se koordinira preko više atoma donora, doprinosi stvaranju raznovrsnih kompleksnih struktura i ima značajnu ulogu u katalitičkim procesima [63]. Kombinovanjem iminodiacetatnog jona sa ditiokarbamatom nastaje sistem sa više donorskih mjesta, što omogućava formiranje složenijih i stabilnijih koordinacionih kompleksa sa metalnim jonima.

Amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat, $(\text{NH}_4)_3\text{idatc}$ pokazuje fleksibilnost u načinu koordinacije (slika 13.) i može da funkcioniše kao bidentatni ili tridentatni ligand, a nije isključena ni pentadentatna koordinacija rezultujući binuklearnim kompleksima. Kao bidentatni ligand, može da se veže preko oba atoma sumpora u ditiokarbamatnoj grupi. Kao tridentatni ligand, može da se koordinuje preko atoma azota i dva atoma kiseonika iz dvije acetatne grupe. Ova sposobnost da se povezuje na različite načine omogućava istraživanje koordinacionih svojstava sa različitim metalnim jonima. Pored toga, termička stabilnost liganda i dobijenih kompleksa je značajna za njihovu primjenu [64].



Slika 13. Strukturna formula $(\text{NH}_4)_3\text{idatc}$ i mogući načini koordinacije

2.5. Etilendiamin

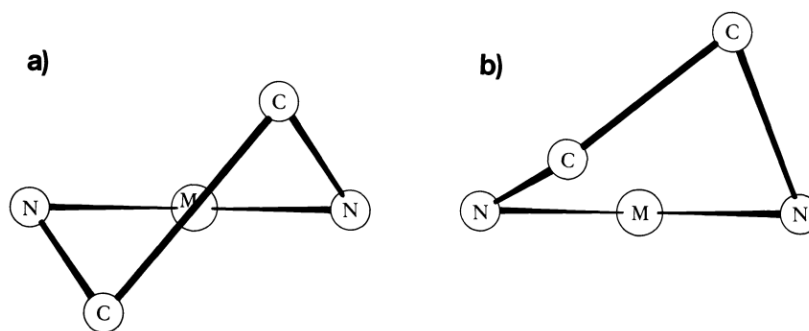
Etilendiamin (en) je bezbojna tečnost sa hemijskom formulom $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2$, tačkom ključanja od 117°C , dobrom rastvorljivosti u vodi, metanolu, i organskim rastvaračima. Kao primarni diamin, en formira stabilne soli i koristi se u sintezi važnih hemijskih proizvoda poput etilendiamin tetraacetatne kiseline (EDTA), koja služi kao helatni agens. Etilendiamin je ključan u industrijama deterdženata, maziva, farmaceutskih proizvoda i za proizvodnju fungicida i poliamidnih smola. Takođe se koristi kao aktivator hladnog bijeljenja i za proizvodnju surfaktanata [65]. Struktura en vezanog za metalni jon je prikazana na slici 14.



Na slici 15. su označeni elementi koji formiraju komplekse sa etilendiaminom u rastvoru.

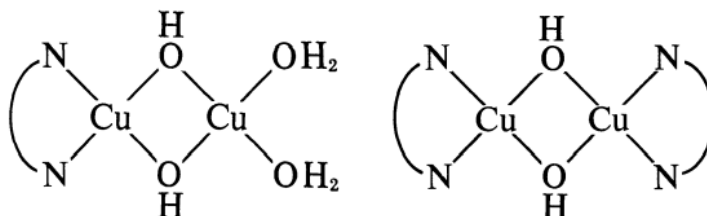
Slika 15. Elementi koji grade komplekse sa etilendiaminom

34



Slika 16. Simetrične (a) i asimetrične (b) konformacije petočlanog helatnog prstena u kompleksima etilendiamina.

Etilendiamin formira hidroksidne komplekse sa brojnim metalima u vodenim rastvorima, a jedan od najdetaljnije proučavanih sistema su kompleksi sa Cu(II) jonima. Kod ovih bakar-hidroksidnih kompleksa, dva kompleksa, $[\text{Cu}_2(\text{OH})_2(\text{en})]^{2+}$ i $[\text{Cu}_2(\text{OH})_2(\text{en})_2]^{2+}$, imaju polinuklearne strukture, prikazane na slici 17.



Slika 17. Kompleksi Cu^{2+} sa etilendiaminom

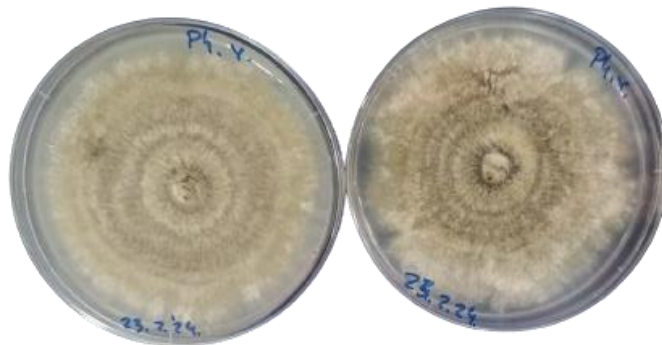
On se ističe u sintezi organometalnih kompleksa sa potencijalnim antikancerogenim i antimikrobnim svojstvima. U slučaju novog rutenijum-arena-etilendiamin-Schiff baznog kompleksa (RAES), etilendiamin igra vitalnu ulogu u povećanju stabilnosti, smanjenju hidrolize hlora i poboljšanju rastvorljivosti u vodi, čime se povećava biološka aktivnost kompleksa. Posebno je značajno što etilendiamin omogućava optimalnu interakciju sa DNK i proteinima, što je od ključnog značaja za razvoj novih terapijskih agenasa. Ovaj ligand, integrisan u strukturu RAES kompleksa, doprinosi stvaranju jedinjenja sa dvostrukom funkcijom antimikrobnom i antikancerogenom što dodatno naglašava njegovu važnost u savremenim istraživanjima metalnih kompleksa u medicine [67].

2.6. *Phomopsis viticola*

Phomopsis viticola je fitopatogena gljiva koja predstavlja ozbiljnu prijetnju vinovoj lozi, izazivajući značajno oboljenje pod nazivom crna pjegavost vinove loze. Pojava ovog oboljenja

se manifestuje kroz pjege na listovima, kao i lezije na lasarima koje slabe strukturu biljke što može smanjiti prinos i kvalitet grožđa [48].

Micelija gljive *Ph. viticola* je bijelado svijetlosiva koji je s vremenom postajao tamno siva. sa izraženim prstenovima. slika 18. [68].



Slika 18. Izolat *Ph.viticola*

Pjegavost vinove loze se manifestuje na listovima pojavljivanjem malih crnih tačkice (oko 1 mm u prečniku) koje su okružene žutim oreolom (slika 19.) [69].



Slika 19. Listovi vinove loze zaraženi gljivom *Ph.viticola* [69]

Na lasarima simptomi su često ograničeni na donje internodije. Male tamne tačkice se pojavljuju na lastarima, a s njihovim rastom te tačkice se šire i produžavaju, formirajući crne lezije dužine 3-6 mm (slika 20.) [69].



Slika 20. Progres infekcije *Ph. viticola* na mladnim izdancima vinove loze [69]

Usled bolesti crna pjegavost lista vinove loze može javiti i infekcija plodova. Bobice razvijaju smeđe pjege koje se povećavaju i potamne kako oboljenje napreduje. Bobice mogu mumificirati i opadati sa grozda [69].

Phomopsis viticola je parazitska gljiva koja prolazi kroz različite faze razvoja, uključujući sporulaciju, klijanje spora, penetraciju u domaćina i širenje infekcije. Infekcija se obično događa kroz ranice ili prirodne otvore na biljci. U fazi mirovanja, gljiva može preživjeti kao saprofit na mrtvom tkivu biljke, a zatim ponovo postati aktivna pod povoljnim uslovima, što može dovesti do ponovnih infekcija. Spore se prenose vjetrom, kišom, i insektima, omogućujući gljivi da se širi na zdrave djelove biljke ili druge biljke u blizini [70]. Patogena gljiva prezimljava u vidu piknida (reproduktivnih organa gljive) na lastarima i drugom drvenastom tkivu, koje često izgledaju tokom zime bjeličasto sa crnim tačkicama po površini lastara [69].

Istraživanja su pokazala da *Ph. viticola* može inficirati i vinovu lozu kroz rane na biljkama, kao što su one nastale tokom orezivanja lastara [71]. Bolest se favorizuje produženi period kiše nakon otvaranja pupoljaka. Gubitak prinosa može se desiti zbog sušenja čokota što je jedan od simptoma pojave oboljenja, zatim sušenja pupoljaka i infekcije grozda. To dovodi do smanjenja prinosa i nižeg kvaliteta.

Phomopsis viticola je prisutan u vinskim regijama Azije, Evrope, Afrike, Severne Amerike, djelovima Južne Amerike i Novog Zelanda. Zemlje u kojima se javlja uključuju Kinu, Indiju, Japan, Tursku, Belgiju, Srbiju, Crnu Goru, Francusku, Nemačku, Grčku, Mađarsku, Italiju, Holandiju, Portugal, Rumuniju, Švajcarsku, Ukrajinu i Veliku Britaniju [69].

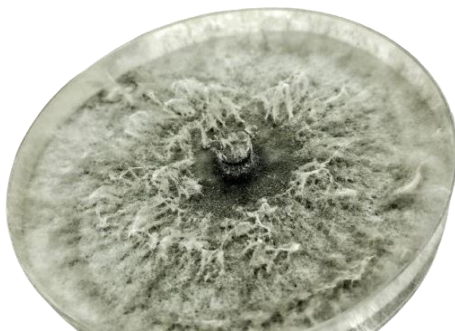
Uvođenje metoda DNK sekvenciranja rezultiralo je opsežnom taksonomskom revizijom grupe gljiva *Phomopsis* u poslednje vrijeme, a došlo je i do promjene imena u *Diaporthe ampelina*.

Taksonomska klasifikacija *Ph. viticola* je prošla kroz nekoliko promjena zbog napretka u molekularnoj biologiji i filogenetskim studijama. Tradicionalno, vrste *Phomopsis* su identifikovane na osnovu morfoloških karakteristika, ali su te metode bile ograničene i često netačne. Uvođenje molekularnih markera omogućilo je precizniju identifikaciju i redefinisane vrste unutar roda *Phomopsis*. Ove taksonomske promjene su važne za bolje razumjevanje epidemiologije bolesti koje izaziva *Ph. viticola* i za razvoj efikasnijih metoda zaštite od ovog oboljenja [70].

2.7. *Botryosphaeria dothidea*

Botryosphaeria dothidea je patogen koji prouzrokuje probleme na raznim vrstama poljoprivrednih kultura i ukrasnim biljkama vrstama drveća i grmlja. U Crnoj Gori, *B. dothidea* izaziva truljež plodova masline, što negativno utiče na kvalitet i prinos masline [72].

Micelija ove gljive je dobro razvijena, baršunasta, siva do tamno maslinasto zelene boje na podlozi od Krompir dekstroznog agara (KDA) kao što je prikazano na slici 21. Piknidi, koje su plodna tijela ove gljive, variraju u obliku od nepravilno zaobljenih do eliptičnih ili kruškolikih, a obično su braon do crne boje. Pod odgovarajućim uslovima, piknidi mogu pucati i oslobađati bezbojne, aseptatne konidije koje su prave i imaju tanki zid [72].

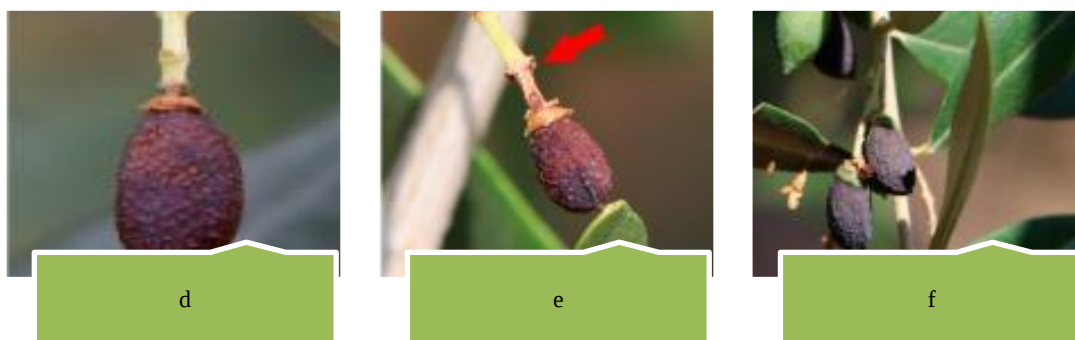


Slika 21. Izolat *B. dothidea*

Ovo oboljenje pokazuje složenu simptomatologiju na plodu i granama što je prikazano na slikama 22 i 23



Slika 22. Pregled simptoma zapaženih na nezrelim plodovima maslinenekrotične lezije izazvane sa *Botryosphaeria dothidea* (a–c) [73]



Slika 23. Nekroza koja se progresivno širi od peteljke do ploda(od d do f crvena strelica) [73]

Životni ciklus gljivice *B.dothidea* uključuje više faza, počevši od formiranja nekrotičnih lezija na tkivima domaćina: tamno-braon, nekrotična lezija oko mjesta inokulacije primjećuju se 48 sati nakon inokulacije, dok se u nekim slučajevima 7 dana kasnije nekrotična oblast proširi preko cijele površine ploda [73].

Botryosphaeria dothidea se razmnožava putem askospora ili konidija koje se šire vjetrom ili vodom, a nakon kontakta s oštećenim ili oslabljenim tkivom masline, spore započinju proces infekcije. U nepovoljnim uslovima, gljiva prezimljava unutar biljnih ostataka ili u obliku micelija, čekajući povoljne uslove za ponovno aktiviranje. Istraživanja su pokazala variabilnost patogenosti među sojevima, uticaj klimatskih uslova na razvoj i širenje bolesti, kao i efikasne strategije zaštite koje uključuju primjenu fungicida, promenu poljoprivrednih praksi i unapređenje otpornosti maslinjaka [73].

Fitopatogena gljive *Botryosphaeria dothidea* je široko rasprostranjena u svijetu uključujući Italiju, Kaliforniju, Australiju, Španiju, Hrvatsku, Urugvaj i dr. Rastuća prisutnost ovog patogena naglašava njegovu ulogu kao sve veću pretnju maslinjacima na globalnom nivou, što zahtjeva pojačanu pažnju i mjere suzbijanja [73].

2.8. Interakcije kompleksa prelaznih metala sa proteinima

Ispitivanje interakcija između kompleksnih metalnih jedinjenja i proteina ima ključnu ulogu jer ove interakcije igraju centralnu ulogu u različitim biološkim efektima metalnih jona u živim organizmima. Da bi se precizno razumjeli molekularni mehanizam djelovanja metala, neophodno je detaljno istražiti način na koji se oni povezuju sa biomolekulama na molekularnom nivou. S obzirom na to da su proteini sastavljeni od amino kiselina koje sadrže S- i N-donorske grupe, osnovni mehanizam formiranja kompleksa između metala i proteina

zasniva se na njihovom vezivanju za ove donorske grupe. Transportni proteini u krvnoj plazmi, membranski transporteri i različiti enzimi igraju značajnu ulogu u cjelokupnom procesu [74].

Način vezivanja lijekova za albumin ključan je za razumijevanje njihovih farmakokinetičkih profila i ima veliki uticaj na njihovu *in vivo* efikasnost. Promijenjeno vezivanje lijekova za albumin zbog interakcija između lijekova ili abnormalne fiziologije može rezultovati značajnim promjenama u aktivnoj koncentraciji lijeka, čime se utiče na njegove farmakokinetičke i farmakodinamičke osobine. Budući da su jetra i bubrezi glavni organi metabolizma albumina, bilo kakvo oštećenje njihove funkcije često mijenja nivo serumskog albumina, što utiče na obrasce distribucije i eliminacije lijekova i može imati ozbiljne kliničke implikacije. Prirodna funkcija serumskog albumina kao nosioca lijekova olakšana je njegovom interakcijom s raznim ćelijskim receptorima. Ovi receptori ne samo da pospješuju unos lijekova u ćelije, već su odgovorni i za izuzetno dug poluživot albumina u cirkulaciji. Ova osobina, u kombinaciji s prisustvom više vezivnih mjesta za ligande, dovela je do toga da serumski albumin postane atraktivno sredstvo za nove sisteme lijekova [75].

3.EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Metode sinteze jedinjenja

Ligand amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat i kompleksi:

-amonijum-(etilendiamin)(iminodiacetatditiokarbamato)cinkat(II), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$

-amonijum-(*bisetilendiamin*)(iminodiacetatditiokarbamato)cinkat(II), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$

su sintetisani prema ranije publikovanim postupcima [13],[58], na Metalurško-tehnološkom fakultetu u Podgorici.

Za sinteze kompleksnih jedinjenja kao drugi ligand korišćen je komercijalni etilendiamin (en).

3.1.1. Sinteza liganda amonijum-iminodiacetatoditiokarbamata $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$

5,32 g (0,01 mol) iminodisircetne kiseline rastvoreno je u 200 mL metanola, zatim je u rastvor dodato 28 mL (0,1 mol) 25 % -tnog rastvora amonijaka. Uz neprekidno miješanje na sobnoj temperaturi, postepeno, kap po kap, je dodavano 4,8 mL (0,04 mol) ugljen-disulfida. Nakon 3h miješanja dobijen je bijeli talog koji je dalje filtriran pomoću vakuum pumpe, ispran metanolom i ostavljen da se suši na vazduhu, 24 h. Prinos je iznosio 77,38 %.



Slika 24. Sinteza liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$

3.1.2. Sinteza kompleksa amonijum-(etilendiamin)(iminodiacetatditiokarbamato) - cinkat(II), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$, K_1

0,136 g (1 mmol) cink(II)-hlorida (ZnCl_2) rastvoreno je u 20 mL 96 %-tnog etanola, a potom dodato 0,07 mL (1 mmol) etilen-diamina. Reakciona smjesa je miješana na magnetnoj mješalici 1 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga, dodat je $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ 0,260 g (1 mmol). Miješanje je nastavljeno još 2 h. Zatim je dodato 1,92 mL konc. HCl (1 mmol). Poslije 15 minuta promjena

konzistencije i formiranje bijelog taloga daje pozitivan odgovor reakcije, slika 25., izdvojeni bijeli talog je procijeđen, ispran etanolom i osušen na vazduhu. Prinos je iznosio 38,23 %.



Slika 25. Sinteza kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$

3.1.3. Sinteza kompleksa amonijum-(bisetilendiamin)(iminodiacetatditiokarbamato)-cinkat(II), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$, K_2

0,136 g (1 mmol) cink(II)-hlorida (ZnCl_2) rastvoreno je u 20 mL dihlormetana, zatim je stavljen u ultrazvučno kupatilo na 20 min (ULTRASONIC CLEANER Ibx instruments), nakon toga dodato je 0,14 mL etilen-diamina (2 mmol). Reakciona smješa je miješana na magnetnoj mješalici 1 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga, dodato je 0,260 g $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$ (1 mmol). Miješanje je nastavljeno još 2 h. Zatim je dodato 1,92 mL koncentrovane HCl. Poslije 15 minuta promjena konzistencije i formiranje roskasto-zućkastog taloga, što se vidi na slici 26. daje pozitivan odgovor reakcije, izdvojeni bijelo-roskasti talog je procijeđen, ispran u dihlormetanu i osušen. Prinos je iznosio 68,81 %.



Slika 26. Sinteza kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$

3.2. Infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR)

Za karakterizaciju sintetisanih jedinjenja korišćena je infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR), ATR tehnika. Mjerenja su izvedena pomoću FTIR spektrometra Spectrum Two, proizvedenog od strane kompanije PerkinElmer prikazanog na slici 27. Spektralno područje obuhvatalo je opseg od 4000 do 400 cm^{-1} , dok je spektralna pozadina predstavljena vazduhom. Prije snimanja, dobijeni proizvodi nisu zahtjevali dodatnu pripremu. Dobijeni rezultati su se dobro slagali sa ranije publikovanim rezultatima.



Slika 27. PerkinElmer FT-IR

3.3. Mikrobiološko ispitivanje Metoda difuzije u agar podlogu

Mikrobiološko ispitivanje inhibicionog dejstva liganda amonijum-iminodiacetatoditiokarbamata i Zn(II) kompleksa sa etilendiaminom i ditiokarbamatnim ligandom na rast micelije gljive *Phomopsis viticola* i *Botryosphaeria dothidea* urađeno je u Laboratoriji Centra za zaštitu bilja, Biotehničkog fakulteta u Podgorici.

U ovom laboratorijskom ogledu korišćeni su: sintetisan ditioligand amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat i njegovi kompleksi $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ i komercijalni DTC (DMDTC) ciram.

Za potrebe laboratorijskog ispitivanja fungicidne aktivnosti liganda i njegovih ditio-kompleksa na gljive *Phomopsis viticola* i *Botryosphaeria dothidea*. Njihova izolacija obavljena je standardnim fitopatološkim metodama.

3.3.1. Priprema podloge krompir-dekstroznog agara

Za pripremu 2000 mL hranljive podloge od krompir dekstroznog agara (KDA) oljušteno je 400 g krompira, isječeno na sitne kockice i kuvano u destilovanoj vodi. Krompir je zatim pažljivo procjeđen kroz duplo cjedilo u staklenu čašu kako bi se izdvojio sav škrob, zatim je dodato 1000 mL destilovane vode i smješa je zagrijavana do ključanja. Tokom procesa zagrijavanja smješe skroba, postepeno je dodato 30 g šećera i 40 g agara, slika 28.



Slika 28. Priprema krompir dekstroznog agara (KDA)

Dobijena hranljiva podloga, je prebačena u 20 sterilnih bočica zapremine 250 mL, pri čemu je u svaku bočicu dodato po 100 mL podloge, slika 29. Bočice su sterilisane u autoklavu marke VWR na temperaturi od 121°C tokom 15 minuta, slika 30.



Slika 29. Sterilne bočice sa KDA



Slika 30. Autoklav VWR

3.3.2. Metoda difuzije u agaru

Izmjereno je po 0,0375 g liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$ i njegovih kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$.

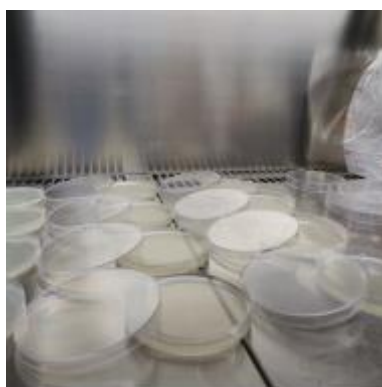
Upotrijebljene koncentracije cirama koji sadrži 0,0420 g aktivne materije iznosile su: 0,209 %, 0,105 %, 0,052 %, 0,026 % i 0,013 %. Rast gljive na hranljivim podlogama tretiranim ovim koncentracijama je mjerena u centimetrima i upoređena sa rastom na kontrolnim podlogama bez prisustva fungicida.

Inkorporacija rastvora aktivne materije određene koncentracije u hranljivu podlogu je rađena u sterilisanoj laminarnoj komori TELSTAR Bio-II-A slika 31, tako što je na početku 0,0375 g uzorka rastvoreno u 20 mL destilovane vode, od čega je 10 mL prenijeto u prethodno pripremljene bočice sa 100 mL KDA. Smjesa podloge i rastvora fungicida je stavljena na magnetnu mješalicu, a paralelno su pripremljene i označene Petrijeve kutije, nakon čega su podloge razlivenne. Svaka koncentraciju je rađena u četiri ponavljanja.



Slika 31. Laminarna komora TELSTAR Bio-II-A

Nakon pripreme osnovnog rastvora prve koncentracije, napravljeno je još po pet rastvora odgovarajućih koncentracija (svaka sljedeća koncentracija je bila duplo manja nego prethodna) za ispitivanja jedinjenja i komercijalno dostupnog fungicida koji ima aktivnu materiju ciram. Svako razblaženje se zatim inokulira na hranljivu podlogu po prethodno opisanom postupku, slika 32.



Slika 32. Petrijeve kutije sa inokuliranim uzorcima

Istom metodom inkorporacije rastvora aktivne materije određene koncentracije u hranljivu podlogu, postavljene su i Petrijeve kutije sa pet različitih koncentracija fungicida ciraama.

3.3.3. Zasijavanje gljiva

Prije uzimanja uzorka, alati su prethodno sterilisani plamenom kako bi se minimizovala mogućnost kontaminacije. Kopljastom iglom zahvaćena je micelija i prenijeta direktno na hranjivu podlogu KDA, slika 33. Nakon prenosa, Petrijeva kutija je odmah zatvorena kako bi se očuvala sterilnost uzorka.



Slika 33. Uzimanja isječka gljive *Ph. viticola*

Nakon zasijavanja gljive uzorci su stavljeni u inkubator marke Binder na 25 °C, slike 34 i 35. U Petrijevim kutijama su postavljene isječki micelije gljive *Phomopsis viticola*, a njen rast praćen na 25°C. Nakon 11 dana izmjeren je prečnik micelije. Na isti način, rast micelije gljive *Botryosphaeria dothidea* je na 25°C, a prečnik je izmjeren nakon 3 dana.



Slika 34. Zasijane Petrijeve gljivom



Slika 35. Inkubator Binder

3.3.4. Statistička obrada podataka mikrobioloških ispitivanja

Dobijeni podaci o fungicidnom dejstvu liganda amonijum-iminodiacetatoditiokarbamata, i njegovih kompleksa: $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$ prema gljivama *Phomopsis viticola* Sacc i *Botryosphaeria dothidea* obrađeni su analizom varijanse, testiranje sredina obavljeno je pomoću LSD testa.

Izračunavanje efikasnosti za $(\text{NH}_4)_3\text{idadt}$, $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$ je izvršeno preko sledeće formule:

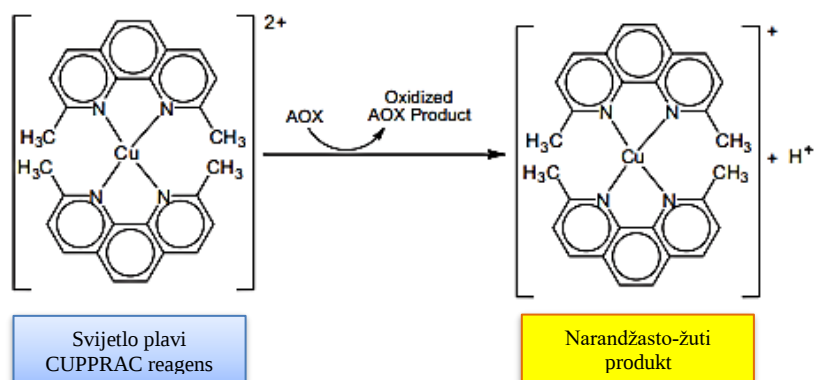
$$100 - \left(\frac{\text{srednja vrijednost tretirane grupe}}{\text{srednja vrijednost kontrole}} \right) : 100\%$$

3.4 Ispitivanje antioskidativnosti: CUPRAC test

Antioksidativna aktivnost liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadt}$ i njegovih kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$ ispitivana je pomoću CUPRAC metode, u laboratoriji Metalurško-tehnološkog fakulteta u Podgorici.

Antioksidativna aktivnost liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadt}$ i njegovih kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$ ispitivanja je pomoću CUPRAC metode.

CUPRAC metoda se zasniva na redukciji Cu(II) u Cu(I) u reakciji antioksidansa s CUPRAC reagensom (helatni kompleks Cu(II) -neokuproin). Ovaj kompleks je jednostavan i primjenjuje se za hidrofilne i lipofilne antioksidanse. Nakon 30 minuta mjeri se apsorbanacija produkta CUPRAC hromofora (helatni kompleks Cu(I) - neokuproin) na 450 nm (slika 36.) [76].



Slika 36. Redukcija CUPRAC reagensa [71]

3.4.1. Izračunavanje kapaciteta antioksidativnosti (TEAC) pomoću CUPRAC testa

CUPRAC (*cupric-reducing antioxidant capacity*) test se koristi za određivanje antioksidativnog kapaciteta i izražava se kao Trolox® ekvivalentni antioksidativni kapaciteti (TEAC), definisani kao redukcionni potencijal u ekvivalentima Troloxa®, rastvora antioksidansa od 1 mM koji se ispituje. S obzirom da je TEAC vrijednost izražena u odnosu na referentno jedinjenje Trolox® (TR), ona nema jedinicu. Eksperimentalno, TEAC koeficijenti su utvrđene kao odnos molarne apsorptivnosti ispitivanog i TR, dobijene pod identičnim uslovima u CUPRAC testu.

Sledeća formula je korišćena za kvantitativno izražavanje antioksidativne aktivnosti testiranih jedinjenja u odnosu na Trolox® [78].

$$TEAC = \frac{\varepsilon_{uzorka}}{\varepsilon_{TR}}$$

Molarni apsorpcioni koeficijent Trolox®-a može se izračunati na temelju apsorpcije standardnih rastvora poznatih koncentracija TR. Postupak uključuje izradu apsorpsione kalibracione krive e TR u zavisnosti o njegovoj koncentracije [78].

$$\varepsilon = \frac{A}{b * c}$$

- A- apsorpcija uzorka
- b- dužina optičkog puta u cm
- c- koncentracija uzorka

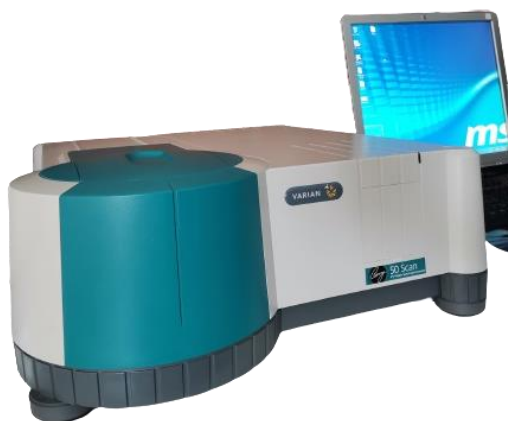
TAC (Total antioxidant capacity) je ukupni antioksidativni kapacitet i mjeri sposobnost uzorka da neutrališe slobodne radikale i smanji oksidativni stres. Izražava se u milimolima ekvivalenta Trolox® po određenoj jedinici mase ili zapremine uzorka [78].

$$TAC_{CUPRAC} = \frac{UKUPNA APSORBANCA}{\varepsilon_{TR}} \cdot 10^3$$

ε_{TR} – molarne apsortivnost troloxa.

3.4.2. Mjerenje apsorbance i obrada podataka

Mjerenja su izvršena na UV-Vis spektrofotometru Varian 50 Cary Scan (slika 37). Apsorbancija uzoraka je mjerena na talasnoj dužini od 450 nm, koja pripada vidljivoj oblasti spektra. Ova talasna dužina odgovara narandžasto-žutom regionu spektra, što je karakteristično za formirani Cu(I)-neokuproin kompleks, koji se koristi za određivanje antioksidativnog kapaciteta.



Slika 37. Spektrofotometr Varian 50 Cary Scan

Dobijeni podaci su unijeti u program za statističku obradu, Excel, radi analize rezultata. Podaci su obrađeni i prikazani grafički, te su napravljene kalibracione krive koja prikazuje odnos između apsorbancije i koncentracije uzorka. Ova kriva je zatim korišćena za određivanje antioksidativnog kapaciteta uzoraka, prema gore navedenim formulama. Takođe, primijenjena je linearna regresija za izračunavanje TEAC vrednosti (Trolox[®] ekvivalentnog antioksidativnog kapaciteta), poređenjem rezultata uzoraka sa standardnom krivom Trolox-a[®].

3.4.3. Priprema rastvora za ispitivanje

Napravljen je 0,01 M vodeni rastvor CuCl_2 , 1 M vodeni rastvor NH_4Ac , 0,0075 M rastvor Nc u 96 % etanolu i 0,001 M rastvor Trolox[®]-a (TR) u 80 % metanolom (slika 38.).



Slika 38. Pripremljeni rastvori za antioksidativna ispitivanja liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadt}$ i kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})(\text{en})_2]$

Pripremljeno je pet radnih rastvora Trolox[®]-a razblaženih sa 80 % metanolom, sledećih koncentracija:

- 1) 0,001 M,
- 2) 0,00075 M (3,75 mL TR+1,25 mL CH_3OH),
- 3) 0,0005 M (2,5 mL TR+ 2,5 mL CH_3OH),
- 4) 0,00025 M (1,25 mL TR+ 3,75 mL CH_3OH) i
- 5) 0,000125 M (0,625 mL TR+ 4,375 mL CH_3OH).

Nakon pripremanja rastvora i standarda, pripremljene su kivete za snimanje: blank i uzorci sledećim redosledom:

Blank:

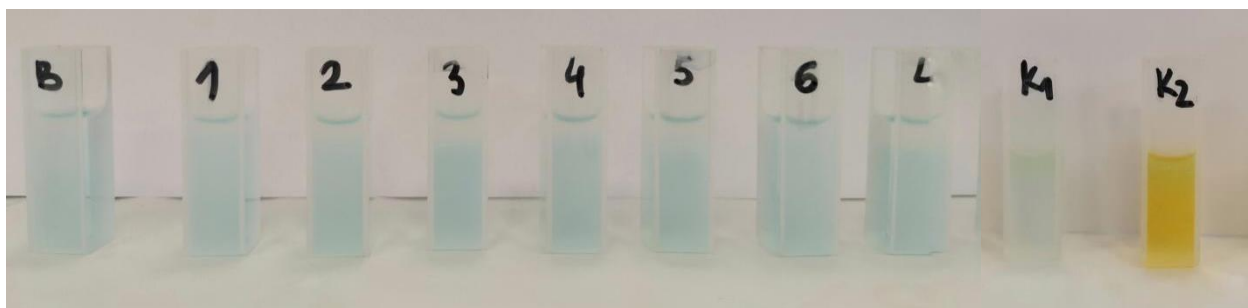
- 750 μL 0,01 M CuCl_2 ;
- 750 μL 0,0075 M Nc;
- 750 μL 80 % CH_3OH ;
- 750 μL 1 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$.
- 750 μL 1 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$

Za pripremu uzorka korišćeno je:

- 10 μL uzorak $\rightarrow$ 150 μL za 3 mL
- 750 μL 0,01 M CuCl_2 ;
- 750 μL 0,0075 M Nc;
- 600 μL 80 % CH_3OH ;

Za pripremu je korišćen 80 % CH_3OH .

Na slici 39. su prikazane kivete prije dodatka CUPRAC reagensa, a na slici 40. nakon dodatka CUPRAC reagensa. Jasno se može vidjeti promjena boje u kivetama koje imaju potencijalnu antioksidativnost, iz svijetlo plave u žuto-narandžastu, izuzetak je kompleks K₂ jer je njemu primarna boja rastvora narandžasta.

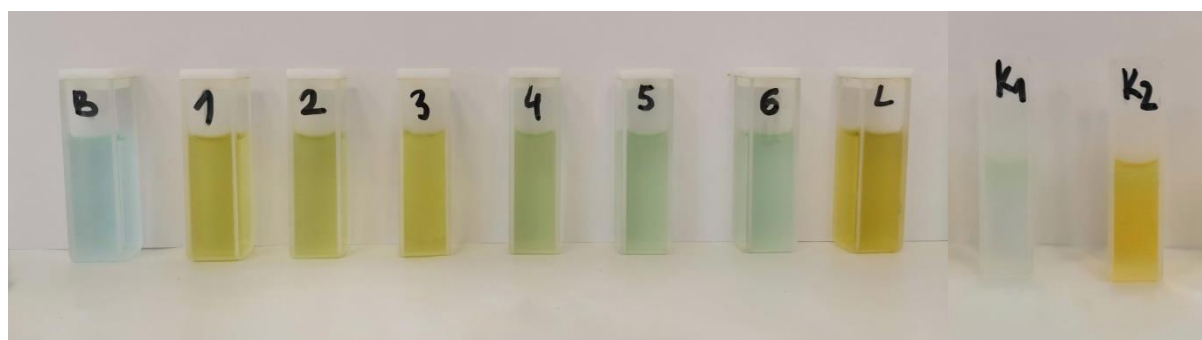


Slika 39. Kivete sa standardom Trolox® i uzorcima prije dodavanja CUPRAC reagensa



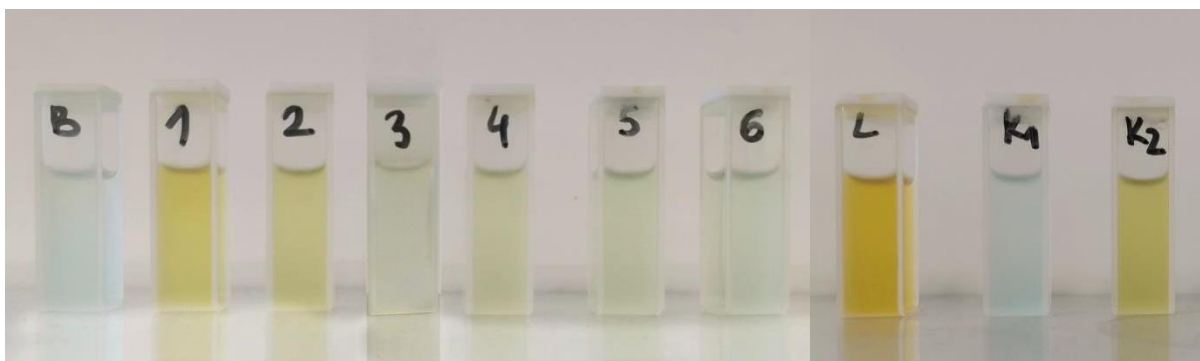
Slika 40. Kivete sa standardom Trolox® i uzorcima nakon dodavanja CUPRAC reagensa

Ovako pripremljene kivete su ostavljene da odstoje 30 minuta na tamnom mjestu, nakon čega je izvršeno prvo mjerenje apsorbancije na talasnoj dužini od 450 nm na spektrofotometru Varian 50 Cary SCAN. Boja rastvora u kivetama nakon 30 min je prikazana na slici 41.



Slika 41. Kivete nakon 30min

Zatim su kivete ostavljene da stoje još 30 minuta, tako da ukupno vreme stajanja za drugo snimanje je iznosilo 1 h, nakon čega je ponovo izvršeno mjerenje apsorbancije. Boja rastvora u kivetama nakon 1 h je prikazana na slici 42.



Slika 42. Kivete nakon 1h

3.5. Metode za ispitivanje interakcije sa HSA i DNK

Ispitivanje interakcije amonijum-iminodiacetatoditiokarbamata i njegovih kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ sa DNK i HSA sprovedeno je na Prirodno-matematičkom fakultetu u Kragujevcu.

3.5.1. Fluorescentna mjerenja

Ispitivanje interakcije sintetisanih jedinjenja sa DNK i HSA sprovedeno je pomoću fluorescentnih i apsorpcionih spektara. Snimanjem emisionih fluorescentnih spektara ispitivane su interakcije i kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ sa albuminom humanog seruma (HSA) i sa molekulima DNK koji je izolovan iz grudne žijezde teleta (CT-DNK).

Da bi se istražile interakcije između kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ sa albuminom i molekulima DNK, korišćena je spektrofotometrijska analiza. Ova metodologija se pokazala pouzdanom kada je u pitanju ispitivanje ovakvih vrsta interakcija [4], [5], [79].

Snimanjem emisionih fluorescentnih spektara ispitivane su interakcije kompleksa sa albuminom humanog seruma (HSA) i sa molekulima DNK koji je izolovan iz grudne žijezde teleta (CT-DNK). Fluorescentni spektri su snimani na RF 1501 PC spektrofotometru (Shimadzu, Japan).

Fluorescentni emisioni spektri HSA-ispitivano jedinjenje sistema su snimani u opsegu od 300 do 500 nm, na talasnoj dužini ekscitacije od 295 nm. Širina proreza između ekscitacije i emisije je iznosila 10 nm.

Isitivanja su sprovedena na sobnoj temperaturi u rastvoru fosfatnog pufera od 0,01 M (pH 7,4). Koncentracija HSA je bila konstantna na 2 μM , a koncentracije kompleksa promjenjive od 0 do 30 μM . Svaki uzorak je temeljno miješan prije mjerenja.

Vrijednosti Stern-Volmerovih konstanti, K_{sv} , koje se koriste za utvrđivanje mehanizma gašenja fluorescencije izračunate su korišćenjem jednačine 4:

$$I_0/I = 1 + K_{sv} [Q] \quad (4)$$

U ovoj jednačini, I_0 i I predstavljaju intenzitete fluorescencije prije i posle dodatka kompleksa, dok je $[Q]$ koncentracija kompleksa.

Podaci gašenja fluorescencije su predstavljeni grafički kao odnos I_0/I naspram koncentracije kvenčera. Grafički nacrt I_0/I naspram Q daje presjek na y-osi i nagib jednak konstanti K_{sv} .

Pri ispitivanju interakcija između ispitivanih jedinjenja i CT-DNK, koncentracija CT-DNK je bila konstantna, dok je koncentracija ispitivanih jedinjenja varirala. Spektri su snimani na sobnoj temperaturi u opsegu talasnih dužina od 550 – 700 nm sa ekscitacijom na 323 nm, sa širinom proreza između ekscitacije i emisije 10 nm.

3.5.2. Spektrofotometrijska mjerenja

Afinitet vezivanja kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$ sa DNK telećeg timusa (CT-DNK) kvantitativno je procijenjen pomoću UV-Vis spektroskopije. Apsorpcioni spektri su snimani u opsegu talasnih dužina od 200 do 500 nm. Eksperimenti su sprovedeni na 37 °C u rastvoru fosfatnog pufera (0,01 M PBS, pH 7,4). Korišćena je stalna koncentracija od 8 μM za komplekse, dok su koncentracije CT-DNK varirale od 0 do 40 μM .

Intrinzična konstanta ravnotežnog vezivanja (K_b) je određena praćenjem promjena apsorpcije na MLCT traci, primjenom jednačine (5):

$$[\text{DNK}]/(\epsilon_A - \epsilon_f) = [\text{DNK}]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f) \quad (5)$$

U ovoj jednačini, $[\text{DNK}]$ predstavlja koncentraciju DNK u baznim parovima, ϵ_A je molarni koeficijent ekstinkcije posmatranog kompleksa, ϵ_f je koeficijent ekstinkcije slobodnog kompleksa, dok je ϵ_b koeficijent ekstinkcije vezanog kompleksa. K_b je dobijena iz odnosa nagiba i presjeka na y osi grafika $[\text{DNK}]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$. Odnos

apsorbancije A_{260}/A_{280} u CT-DNK rastvoru bio je približno 1,8–1,9, što je potvrdilo odsustvo proteinske kontaminacije.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

Kompleksi cinka(II) sa amonijum-iminodiacetatoditiokarbamatom i etilendiaminom, kao i sam ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$, koji su prethodno sintetisani su već opisani u objavljenim radovima. U cilju potvrde da smo dobili jedinjenja iste strukture u ovom radu sprovedena je FTIR analiza.

4.1. Rezultati IR spektroskopske analize sintetisanih jedinjenja

FTIR spektri sintetisanog liganda amonijum-iminodiacetatoditiokarbamata i kompleksa:

-amonijum-(etilendiamin)(iminodiacetatditiokarbamato)cinkat(II),
 $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$

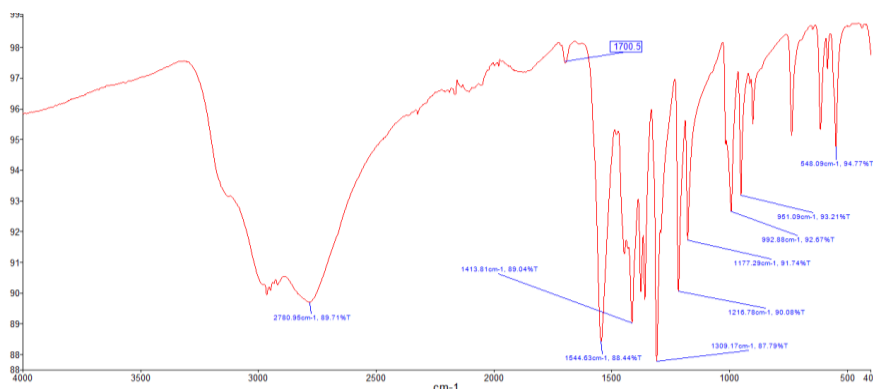
-amonijum-(*bis*etilendiamin)(iminodiacetatditiokarbamato)cinkat(II),
 $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$

su opisani u sledećim poglavljima.

4.1.1. FTIR spektar liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$

Tri ključna spektralna područja u IR spektru liganda obuhvataju intervale unutar sledećih opsega:

- $1550\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$, gdje se primjećuje vibracija rastezanja C–N, što sugerise djelimični dvostruki karakter C=N veze u okviru –NCS– grupe;
- $1090\text{--}950\text{ cm}^{-1}$, što ukazuje na vibraciju rastezanja S=C veze S=C–S grupe;



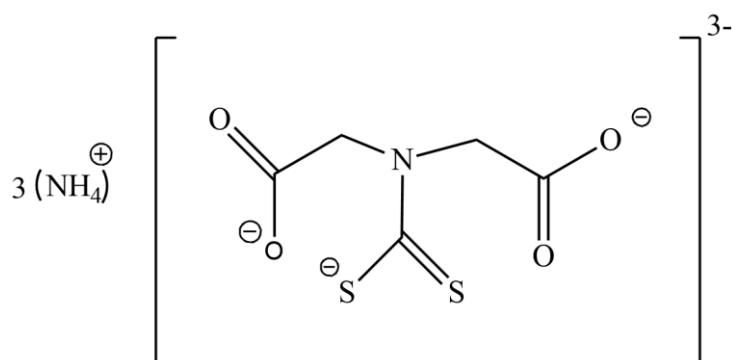
Slika 43. IR spektar liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$

Analiza dobijenog IR spektra za ligand, potvrđuje da je sintetisano jedinjenje iste strukture kao i u ranije publikovanim radovima [13], [58]. Infracrveni spektar liganda je prikazan na slici 43, a karakteristične trake su opisane i izdvoje u tabeli 1.

Tabela 1. Pregled karakterističnih traka dobijenih FTIR spektralnom analizom liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$

Vrsta grupe	N-H (NH_4^+)	COO ⁻ (-C(=O)-O)		CSS ⁻	C-N (-NCS ₂)		C-N (-NC(H ₂)COO)
		ν_{as}	ν_s		ν_{as}	ν_s	
Pikovi cm^{-1}	3007	1544	1413	992	1544	1360	1216

Strukturna formula liganda prikazana je na slici 44.



Slika 44. Struktura liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$

4.1.2. FTIR spektar za kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$, K_1

Na talasnoj dužini od 2903 cm^{-1} uočava se traka koja se pripisuje vibracijama N-H veze iz etilendiamina, a koja nije prisutna u spektru liganda. Trake na 1601 cm^{-1} i 1493 cm^{-1} odgovaraju asimetričnim i simetričnim valentnim vibracijama COO^- grupe. Vibracija C-N veze (od NCSS^-) s djelimičnim karakterom dvostruke veze nalazi se na 1455 cm^{-1} . Pozicija ove trake, u poređenju s odgovarajućom trakom u spektru liganda (1544 cm^{-1} za $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$), ukazuje na smanjenje dvostrukog karaktera C=N veze i pomjeranje elektronske gustine s atoma ugljenika ka atomima sumpora. Traka na 1216 cm^{-1} pripisuje se valentnim vibracijama C-N veze u $\text{NC}(\text{H}_2)\text{COO}^-$ grupi. Na bidentatnu koordinaciju cinka preko dva sumporna atoma ukazuje intenzivna traka na 1025 cm^{-1} . Slična traka u IR spektru liganda nalazi se na 992 cm^{-1} , a pomjeranje od 33 cm^{-1} sugerise mogućnost koordinacije putem CSS^- jona.



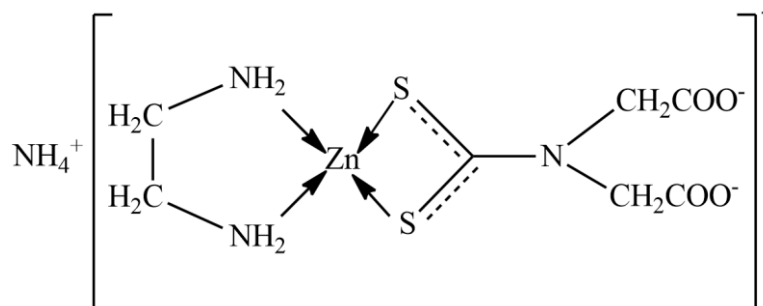
Slika 45. IR spektar kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$

Analiza pokazuje da je sintetisano jedinjenje ima strukturu prikazanu na slici 45. a koja je već okarakterisna u prethodno publikovanim radovima. Karakteristične trake su opisane i izdvojene u tabeli 2.

Tabela 2. Pregled karakterističnih traka dobijenih FTIR spektralnom analizom kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$.

Vrsta grupe	en (N-H)	COO ⁻ (-C(=O)-O)		CSS ⁻	C-N (-NCS ₂)		C-N (-NC(H ₂)COO)
		ν_{as}	ν_s		ν_{as}	ν_s	
Pikovi cm^{-1}	2903	1601	1493	1025	1445	1322	1216

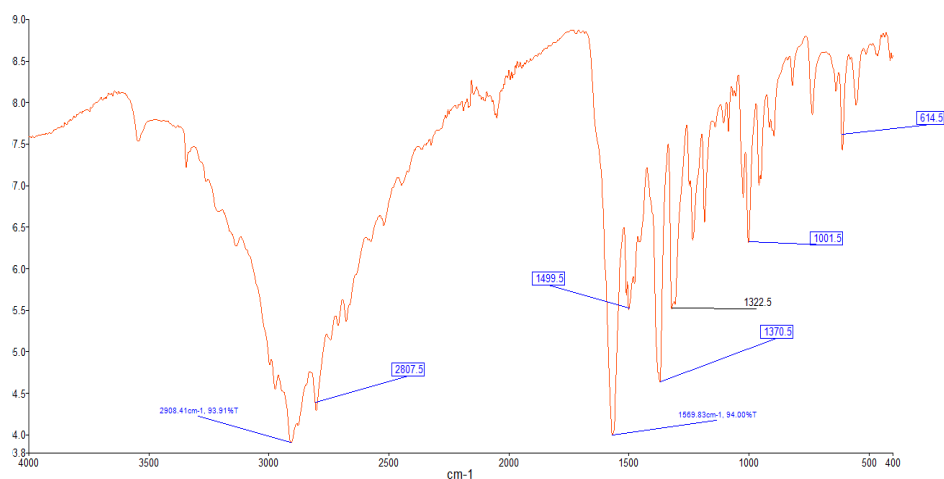
Strukturna formula kompleksa K_1 prikazana je na slici 46.



Slika 46. Struktura kompleksa $NH_4[Zn(idadtc)(en)]$

4.1.3. FTIR spektar za kompleks $NH_4[Zn(idadtc)(en)_2]$, K_2

IR spektar kompleksa $NH_4[Zn(idadtc)(en)_2]$ (slika 47.) se razlikuje od IR spektra liganda, pa se može zaključiti da je došlo do koordinacije. Na talasnoj dužini od 2098 cm^{-1} uočava se traka koja se pripisuje vibracijama N-H veze iz etilendiamina, a koja nije prisutna u spektru liganda. Traka na 1569 cm^{-1} pripisuje se asimetričnim vibracijama COO^- grupe, dok se simetrične vibracije javljaju na 1499 cm^{-1} , pri čemu se ova traka preklapa sa vibracijama C=N veze u NCS grupi, gdje se javlja i simetrična vibracija ove veze na 1322 cm^{-1} . Oštra traka na 1218 cm^{-1} odgovara C-N-vezi (iz $NC(H_2)COO^-$). Na 1001 cm^{-1} javlja se oštra singletna traka koja se prepisuje asimetričnim vibracijama u CSS^- -grupi.



Slika 47. IR spektar kompleksa $NH_4[Zn(idadtc)(en)_2]$.

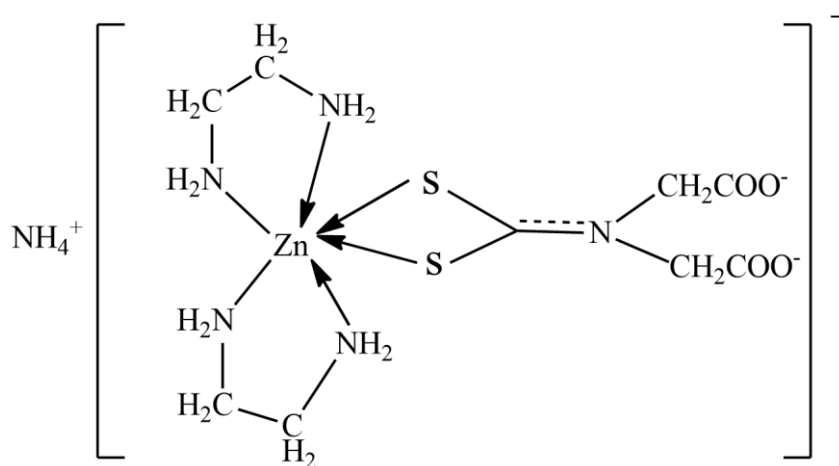
Analiza dobijenog IR spektra za kompleks $NH_4[Zn(idadtc)(en)_2]$ potvrđuje da je sintetisano jedinjenje iste strukture kao i u ranije publikovanom radu [13]. Infracrveni

spektar kompleksa je prikazan na slici 47, a karakteristične trake su opisane i izdvoje u tabeli 3.

Tabela 3. Pregled karakterističnih traka dobijenih FTIR spektralnom analizom kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$

Vrsta grupe	En	COO⁻ (-C(=O)-OH)		CSS ⁻	C-N (-NCS ₂)		C-N (-NC(H ₂)COO)
		ν_{as}	ν_s		ν_{as}	ν_s	
Pikovi cm ⁻¹	2098	1569	1499	1001	1499	1322	1218

Struktura kompleksa K₂ prikazana je na slici 48.



Slika 48. Struktura kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})(\text{en})_2]$

4.2. Rezultati mikrobioloških ispitivanja na gljivu *Phomopsis viticola*

Da bi se utvrdio fungicidni efekat amonijum-iminodiacetat-ditiokarbamato i njegovih kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ na gljivu *Ph. viticola*, sprovedena su laboratorijska mikrobiološka ispitivanja. Efekti ispitivanih jedinjenja upoređeni su sa uticajem komercijalnog fungicida ciram.

4.2.1. Inhibitorni efekat fungicida sa aktivnom materijom ciram

Pripremljeni su rastvori cirama u sledećim koncentracijama: 0,209 %, 0,105 %, 0,052 %, 0,026 % i 0,013 %, sa ukupno 0,0420 g aktivne supstance.

Dobijeni rezultati rasta micelije gljive *Ph. viticola* na inpregniranoj podlozi sa fungicidom ciramom, u zavisnosti od koncentracije prikazani su u tabeli 4.

Tabela 4. Rast micelije *Ph. viticola* na podlozi sa aktivnom materijom ciram

Konc [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	Sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.209	0	0	0	0	0	100
0.105	0	0	0	0	0	100
0.052	0	0	0	0	0	100
0.026	1.8	1.3	2.1	1.8	1.8	77.67
0.013	5.3	5.6	5.6	5.4	5,5	32.1
Kontrola [cm]	8.1	8.1	8.1	8	8,1	
LSD _{0.01} =0.298						

Prve tri koncentracije fungicida pokazale su maksimalnu efikasnost protiv rasta gljive odnosno 100 %, dok je najmanja koncentracija pokazala znatno manju efikasnost od 32,1 %.

4.2.2. Inhibitorni efekat liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$, L₁

Pripremljeni su rastvori liganda L₁ sledećih koncentracija: 0,1875 %, 0,0936 %, 0,0468 %, 0,0234 %, 0,0117 % sa ukupno 0,0375 g aktivne supstance. Dobijeni

rezultati rasta micelije gljive *Ph. viticola* na inpregniranoj podlozi sa ligandom prikazani su u tabeli 5.

Tabela 5. Rast micelije *Ph. viticola* na podlozi sa ligandom $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$

Konc. [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.1875	8	8,1	8,1	8	8,1	0
0.0936	7,9	8	7,9	8	8	1.23
0.0468	8,2	8,2	8,1	8	8,1	0
0.0234	8,1	8,1	8	8,1	8	0
0.0117	8,1	8,1	8	8,1	8,1	0
Kontrola [cm]	8,1	8,1	8,1	8	8,1	
LSD _{0.01} =0,134						

Iz tabele se može vidjeti da je ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$, pokazao loš inhibicioni efekat. Jedini uticaj na inhibiciju micelije predmetne gljive ima druga upotrijebljena koncentracija dtc liganda i ona u odnosu na kontrolni uzorak ispoljava izuzetno nizak efekat inhibicije od 1,23 % (na osnovu Lsd testa ne može se smatrati značajnom).

4.2.3. Inhibitorni efekat kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$, K₁

Pripremljeni su rastvori kompleksa K₁ sledećih koncentracija: 0,1875 %, 0,0936 %, 0,0468 %, 0,0234 %, 0,0117 % sa ukupno 0,0375 g aktivne supstance. Dobijeni rezultati rasta micelije gljive *Ph. viticola* na inpregniranoj podlozi sa kompleksom K₂ prikazani su u tabeli 6.

Tabela 6. Rast micelije *Ph. viticola* na podlozi sa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$

Konc. [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.1875	7,6	7,7	7,7	7,8	7,7	4.93
0.0936	7,9	8	7,8	7,9	7,9	2.46
0.0468	8,2	8,1	8,2	8,1	8,2	-1.23
0.0234	8,2	8,1	8,2	8,1	8,2	-1.23
0.0117	8,2	8,1	8,2	8,1	8,2	-1.23
Kontrola [cm]	8,1	8,1	8,1	8	8,1	
LSD _{0.01} =0,134						

Iz tabele se može vidjeti da je kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ nije pokazao značajan inhibicioni efekat, ali u poređenju sa ligandom $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ inhibicija rasta *Ph. viticola* je povećana. Može se zaključiti da koordinacija dovodi do boljeg inhibicionog efekta, i dalje manje značajnog u odnosu na komercijalni fungicid ciram.

Najveći uticaj na inhibiciju micelije predmetne gljive ima prva (najveća) upotrijebljena koncentracija kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$. Ova koncentracija u odnosu na kontrolni uzorak ispoljava efekat inhibicije od 4,93 %. Koncentracije 0,4068 %, 0,0234 % i 0,0117 % pokazale su negativanu efikasnost što može sugerisati da su koncentracije jedinjenja premale da bi imale značajan efekat.

4.2.4. Inhibitorni efekat kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$, K₂

Pripremljeni su rastvori kompleksa K₂ sledećih koncentracija: 0,1875 %, 0,0936 %, 0,0468 %, 0,0234 %, 0,0117 % sa ukupno 0,0375 g aktivne supstance. Dobijeni rezultati rasta micelije gljive *Ph. viticola* na inpregniranoj podlozi sa kompleksom K₂ prikazani su u tabeli 7.

Tabela 7. Rast micelije *Ph. viticola* na podlozi sa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$

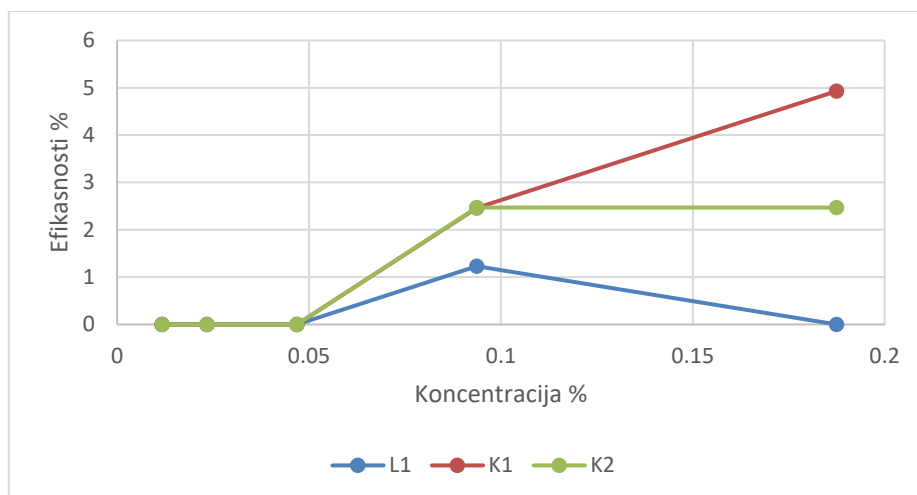
Konc. [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.1875	7,8	7,8	7,9	7,9	7,9	2.47
0.0936	7,7	7,7	8,2	8	7,9	2.47
0.0468	8,1	8	8,2	8,1	8,1	0
0.0234	8,2	8,1	8,2	8,1	8,1	0
0.0117	8,2	8	8,2	8,1	8,1	0
Kontrola [cm]	8,1	8,1	8,1	8	8,1	
LSD _{0.01} =0,284						

Iz tabele se može vidjeti da je kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$ nije pokazao značajan inhibicioni efekat.

Najveći uticaj na inhibiciju micelije predmetne gljive imaju prva i druga upotrijebljena koncentracija kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})_2(\text{en})_2]$, i one u odnosu na kontrolni uzorak ispoljavaju efekat inhibicije od 2,47 % ali poređenjem sredina porasta sa Lsd testom ne može se reći da je inhibicija statistički značajna..

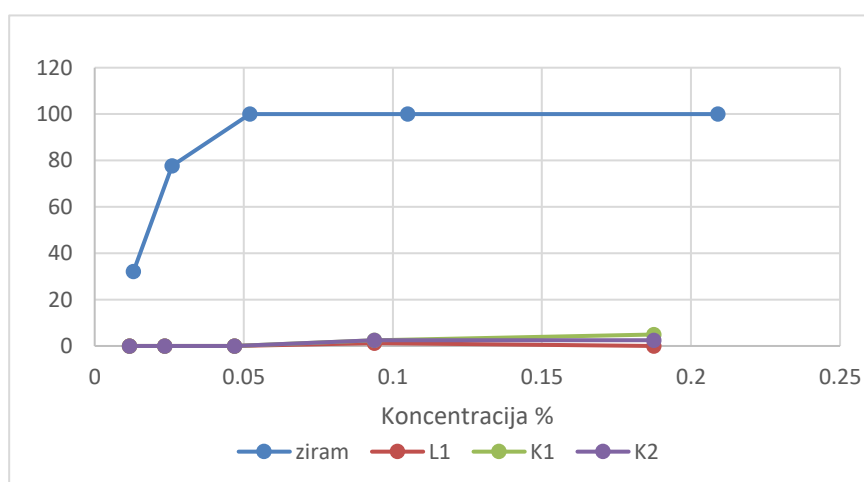
4.2.5. Poređenje inhibitornih efekata ispitivanih jedinjenja i fungicida

Sa slike 49. se jasno može vidjeti da najbolju antifungalnu aktivnost je pokazao kompleks K_1 , a najmanju ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadt}$, kada su poređena samo ispitivana jedinjenja. Ovi rezultati ukazuju na mogućnost da koordinacija liganda sa metalnim centrom doprinosi poboljšanju antifungalne aktivnosti [48].



Slika 49. Efikasnosti (%) inhibicije rasta micelije gljive *Ph.viticola* u zavisnosti od koncentracije ispitivanih jedinjenja: $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ (L1), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ (K_1) i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ (K_2)

U poređenju sa komercijalnim fungicidom ciramom, amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat i njegovi kompleksi $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ nisu pokazali značajan inhibitorni efekat na rast gljive *Ph. viticola* (slika 50). Najbolji efekat je postigao fungicid koncentracije 0,209 % ciram, a najmanji inhibitorni efekat je bio zabilježen kod liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ pri svim koncentracijama. Nešto veća efikasnost u odnosu na $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ je primjećena kod kompleksa K_1 pri najvećoj koncentraciji 0,1875 %.



Slika 50. Efikasnosti (%) inhibicije rasta micelije gljive *Ph.viticola* u odnosu na koncentraciju komercijalnog fungicida ciraama i ispitivanih jedinjenja: $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ (L1), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ (K_1), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ (K_2)

Poređenje efikasnosti (%) na inhibiciju rasta micelije gljive *Ph.viticola* od konc. ispitivanih jedinjenja: $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$, K_1 i K_2 prikazano je u tabeli 8.

Tabela 8. Efikasnosti fungicida i ispitivanih jedinjenja na rast micelije gljive *Ph.viticola*

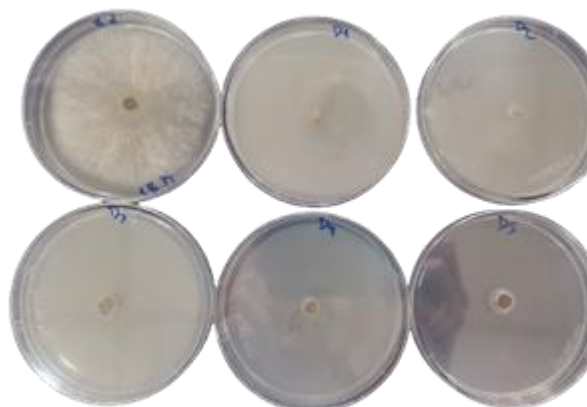
Efikasnost %				
Konc. %	Ciram	(NH ₄) ₃ idadt	Kompleks K ₁	Kompleks K ₂
1	100	0	4,93	2,47
2	100	1,23	2,46	2,47
3	100	0	-1,23	0
4	77,67	0	-1,23	0
5	32,1	0	-1,23	0

4.3. Rezultati mikrobioloških ispitivanja na gljivu *Botryosphaeria dothidea*

Da bi se utvrdio fungicidni efekat amonijum-iminodiacetat-ditiokarbamata i njegovih kompleksa NH₄[Zn(idadt)(en)] i NH₄[Zn(idadt)(en)₂] na gljivu *Botryosphaeria dothidea*, sprovedena su laboratorijska ispitivanja. U okviru ovih ispitivanja, efekti ispitivanih jedinjenja upoređeni su sa delovanjem komercijalnog fungicida ciram.

4.3.1. Inhibitorni efekat fungicida sa aktivnom materijom ciram

Pripremljeni su rastvori cirama u sledećim koncentracijama: 0,209 %, 0,105 %, 0,052 %, 0,026 % i 0,013 %, sa ukupno 0,0420 g aktivne supstance. Dobijeni rezultati rasta micelije gljive *B. dothidea* na inpregniranoj podlozi sa fungicidom ciramom (slika 51.), u zavisnosti od koncentracije prikazani su u tabeli 9.



Slika 51. Petrijeve kutije sa gljivom na podlozi sa (NH₄)₃idadt i kontrolnom

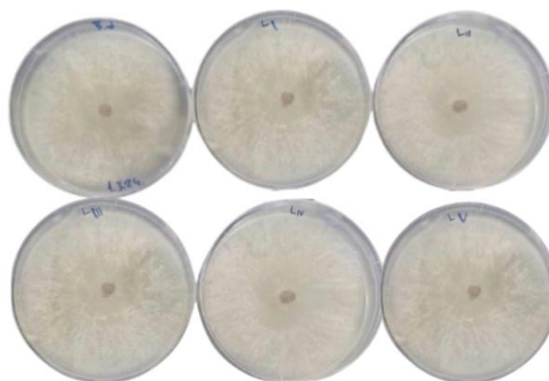
Tabela 9. Rast micelije *B. dothidea* na podlozi sa ciraomom

Konc. [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.209	0	0	0	0	0	100
0.105	0,8	0,7	0,7	0,6	0,7	90.78
0.052	0,9	0,9	0,7	0,9	0,8	89.47
0.026	1	0,8	0,9	0,8	0,9	88.15
0.013	1,3	1,1	1,1	1,2	1,1	85.52
Kontrola [cm]	7,5	7,4	7,95	7,6	7,6	
LSD_{0.01}=0.259						

Prva koncentracija fungicida pokazala je maksimalnu efikasnost protiv rasta gljive odnosno 100 %, dok su ostale četiri nešto manju. Najmanju koncentracija pokazala je efikasnost od 85,52 %.

4.3.2. Inhibitorni efekat liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$, L₁

Pripremljeni su rastvori sa ligandom $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$ sledećih koncentracija: 0,1875 %, 0,0936 %, 0,0468 %, 0,0234 %, 0,0117 % sa ukupno 0,0375 g aktivne supstance. Dobijeni rezultati rasta micelije gljive *B. dothidea* na inpregniranoj podlozi sa ligandom prikazani su na slici 52. Efikasnost rasta micelije data je u tabeli 10.



Slika 52. Petrijeve kutije sa gljivom na podlozi sa $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$ i kontrolnom

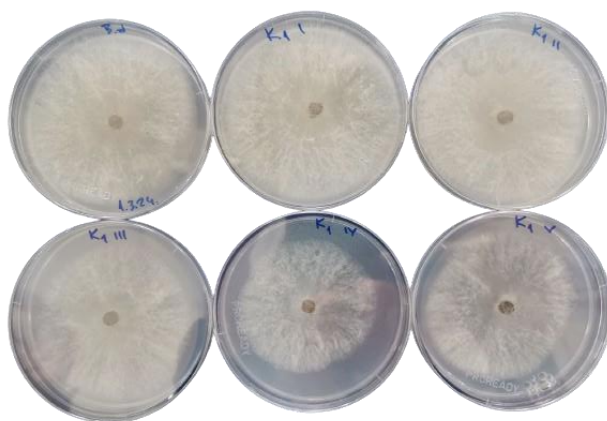
Tabela 10. Rast micelije *B. dothidea* na podlozi sa $(\text{NH}_4)_3\text{idadt}$

Konc [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.1875	7,8	7,9	7,6	8,2	7,8	-2.63
0.0936	7,6	8	8,2	7,9	7,9	-3.94
0.0468	7,6	8,2	8,4	7,9	8	-5.26
0.0234	8,4	8,5	8,6	8,6	8,5	-11.84
0.0117	8,25	8,45	8.55	8,3	8,5	-10.52
Kontrola [cm]	7,5	7,4	7,95	7,6	7,6	
LSD _{0.01} =0,450						

Iz tabele se može vidjeti da ligand prekursor $(\text{NH}_4)_3\text{idadt}$, nije pokazao inhibicioni efekat. Sve efikasnosti su negativne, pa se može reći da ispitivane koncentracije nisu pokazale značajan inhibicioni efekat.

4.3.3. Inhibitorni efekat kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt})(\text{en})]$, K_1

Pripremljeni su rastvori kompleksa K_1 sledećih koncentracija: 0,1875 %, 0,0936 %, 0,0468 %, 0,0234 %, 0,0117 % sa ukupno 0,0375 g aktivne supstance. Dobijeni rezultati rasta micelije gljive *B. dothidea* na inpregniranoj podlozi sa kompleksom K_1 prikazani su na slici 53. i u tabeli 11.



Slika 53. Petrijeve kutije sa gljivom na podlozi sa kompleksom K_1 i kontrolnom

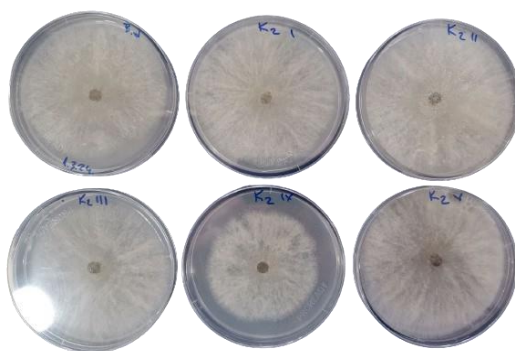
Tabela 11. Rast micelije *B. dothidea* na podlozi sa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$, K_1

Konc. [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.1875	7	6,8	6,8	6,7	6,8	10.52
0.0936	6,1	7,3	6,7	6,6	6,7	11.84
0.0468	7,2	8,1	7,7	7,2	7,5	1.31
0.0234	8,5	8,5	8,4	8,4	8,4	-10.52
0.0117	8,3	8,45	8,1	8,4	8,3	-9.21
Kontrola [cm]	7,5	7,4	7,95	7,6	7,6	
LSD _{0.01} =0,606						

Iz tabele se može vidjeti da je kompleks K_1 , pokazao značajan inhibicioni efekat u poređenju sa ligandom $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$. Najveći uticaj na inhibiciju micelije predmetne gljive imaju prve dvije upotrijebljene koncentracije kompleksa K_1 , između kojih nema značajne statističke razlike ali je značajna u poređenju sa kontrolom.

4.3.4. Inhibitorni efekat $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$, K_2

Pripremljeni su rastvori kompleksa K_2 sledećih koncentracija: 0,1875 %, 0,0936 %, 0,0468 %, 0,0234 %, 0,0117 % sa ukupno 0,0375 g aktivne supstance. Dobijeni rezultati rasta micelije gljive *B. dothidea* na inpregniranoj podlozi sa kompleksom K_2 datih koncentracija prikazani su na slici 54. i u tabeli 12.



Slika 54. Petrijeve kutije sa gljivom na podlozi sa K_2 i kontrolnom

Tabela 12. Rast micelije *B. dothidea* na podlozi sa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$, K_2

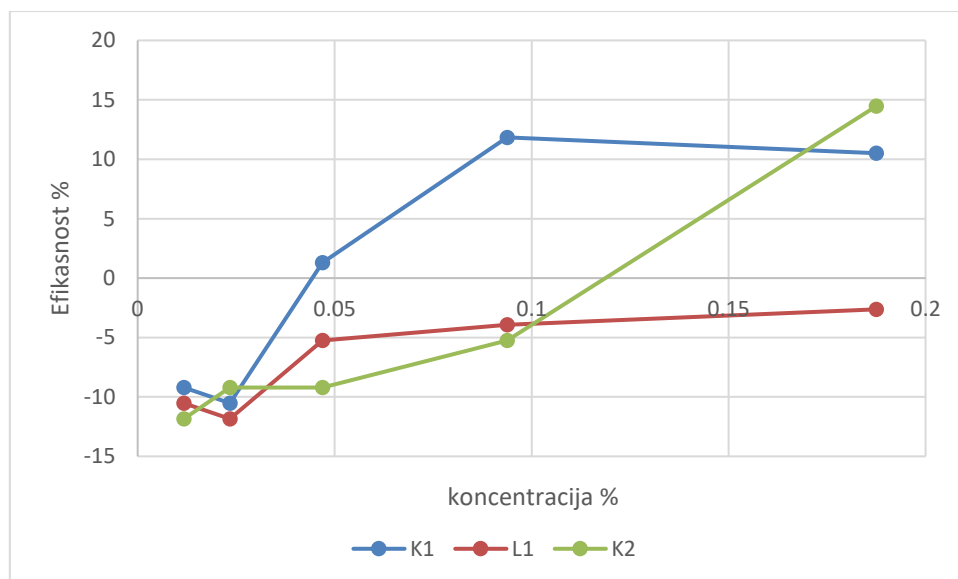
Konc. [%]	Petrijevka 1 [cm]	Petrijevka 2 [cm]	Petrijevka 3 [cm]	Petrijevka 4 [cm]	sredine [cm]	Efikasnost [%]
0.1875	6,8	6,5	6,6	6,4	6,5	14,47
0.0936	8,2	7,7	7,9	8,3	8	-5,26
0.0468	8,2	8,	8,6	8,2	8,3	-9,21
0.0234	8,2	8,1	8,6	8,2	8,3	-9,21
0.0117	8,2	8,5	8,5	8,2	8,3	-11,84
Kontrola [cm]	7,5	7,4	7,95	7,6	7,6	
LSD _{0.01} =0,411						

Iz tabele se može vidjeti da je kompleks K_2 , nije pokazao značajan inhibicioni efekat, ali u poređenju sa ligandom $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ inhibicija rasta *B. dothidea* je povećana. Može se zaključiti da koordinacija dovodi do boljeg inhibicionog efekta, i dalje statistički manje značajnog u odnosu na komercijalni fungicid ciram.

Najveći uticaj na inhibiciju micelije predmetne gljive imaju prva upotrijebljena koncentracija kompleksa K_2 , i one u odnosu na kontrolni uzorak ispoljavaju efekat inhibicije od 14,47 %. Ostale koncentracije nisu djelovale na inhibiciju gljive.

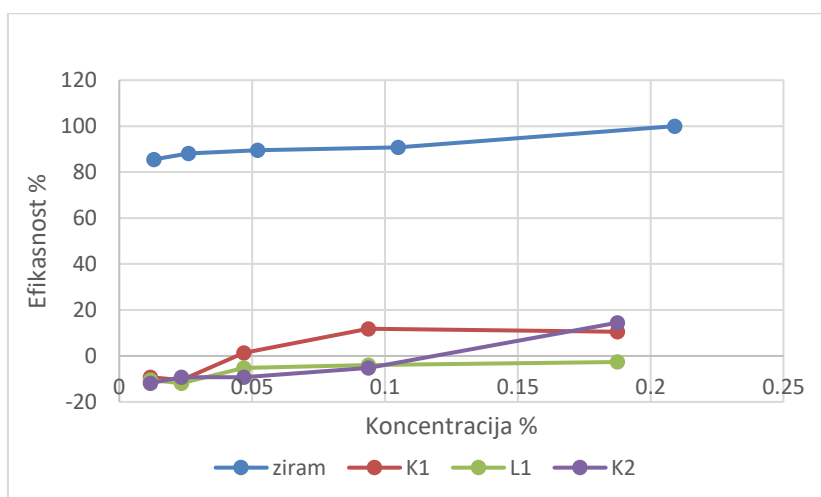
4.3.5. Poređenje inhibitornih efekata ispitivanih jedinjenja i fungicida

Sa slike 55. se jasno može vidjeti da najbolju antifungalnu aktivnost je pokazao kompleks K_2 , pri koncentraciji 0,1875 % zatim kompleks K_1 pri koncentraciji 0,0936 %, dok ligand L_1 nije pokazao antifungalnu aktivnost. Ovi rezultati ukazuju na mogućnost da koordinacija liganda sa metalnim centrom doprinosi poboljšanju antifungalne aktivnosti [48].



Slika 55. Efikasnosti (%) inhibicije rasta micelije gljive *B. dothidea* u odnosu na koncentracije ispitivanih jedinjenja: $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$ (L_1), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$ (K_1) i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$ (K_2)

U poređenju sa komercijalnim fungicidom ciramom, ditioligand amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat i njegovi ditiokarbamato kompleksi $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$ nisu pokazali značajan inhibitorski efekat na rast gljivice *B. dothidea* (slika 56.). Iz poređenja njihovih efikasnosti u tabeli 13. može se jasno vidjeti da je najbolji efekat postigla najveća koncentracija cirama od 0,209 %, a odsustvo inhibitorskog efekta zabilježeno je kod liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$ pri svim koncentracijama.



Slika 56. Efikasnosti (%) inhibicije rasta micelije gljive *B. dothidea* u odnosu na koncentraciju komercijalnog fungicida cirama i ispitivanih jedinjenja: $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$ (L_1), $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})]$ (K_1) i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadtc})(\text{en})_2]$ (K_2)

Poređenje efikasnosti (%) na inhibiciju rasta micelije gljive *B. dothidea* od konc. ispitivanih jedinjenja: $(\text{NH}_4)_3\text{idadtc}$, K_1 i K_2

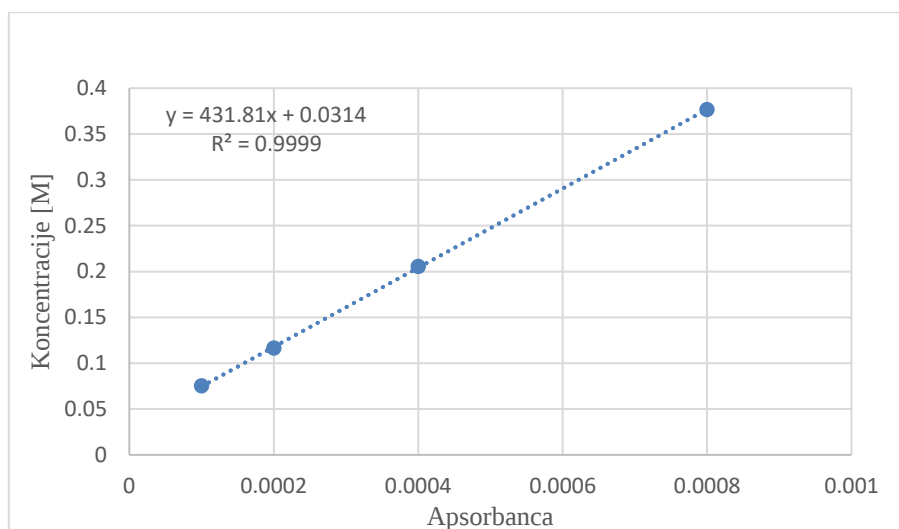
Tabela 13. Efikasnosti fungicida i ispitivanih jedinjenja na rast micelije gljive *B. dothidea*

<i>Efikasnost %</i>				
<i>Konc. %</i>	<i>Ciram</i>	<i>(NH₄)₃idadc</i>	<i>Kompleks K₁</i>	<i>Kompleks K₂</i>
1	100	-2,63	10,52	14,47
2	90,78	-3,94	11,84	-5,26
3	89,47	-5,26	1,31	-9,21
4	88,15	-11,84	-10,52	-9,21
5	85,52	-10,52	-9,21	-11,84

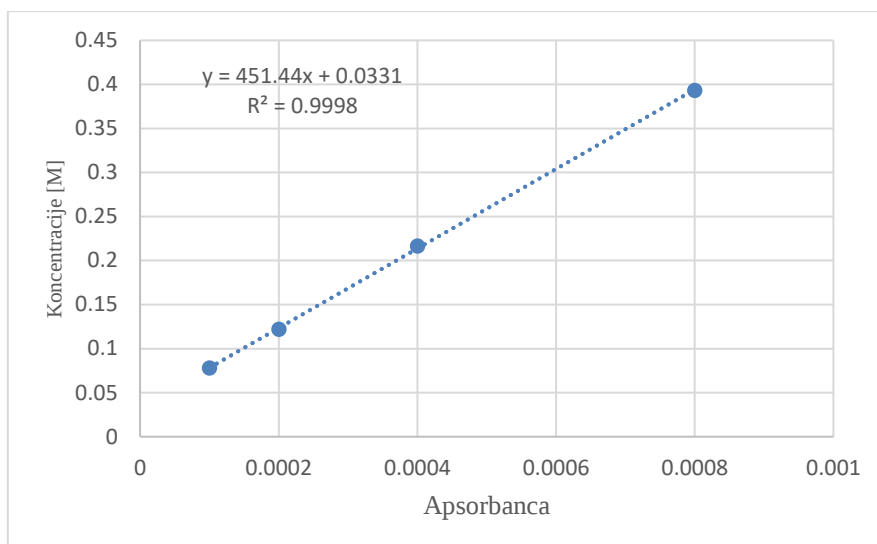
4.4. Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti

Podaci dobijeni primjenom CUPRAC metode korišćeni su za određivanje antioksidativnog kapaciteta ispitivanih jedinjenja. Prvo su izrađene kalibracione krive koje prikazuju odnos između apsorbancije i koncentracije standardnih rastvora, a zatim su te krive korišćene za analizu uzoraka. Na osnovu dobijenih apsorbancija, uz korišćenje prethodno navedene formule CUPRAC metode za izračunavanje TAC (total antioxidant capacity), izračunat je ukupni antioksidativni kapacitet ispitivanih jedinjenja.

Rastvor je pripremljen na način koji je opisan u eksperimentalnom dijelu. Nakon toga je snimljena je kalibraciona kriva Trolox®-a, nakon 30 min (slika 57.) i nakon 1 h (slika 58.).



Slika 57. Kalibraciona kriva rastvora Trolox-a nakon 30min



Slika 58. Kalibraciona kriva rastvora Trolox-a nakon 1h

U tabeli 14. su prikazani rezultati apsorbanca, koncentracija i antioksidativnosti, nakon 30 min i nakon 1 h za ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ i komplekse $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$.

Tabela 14. Rezultati totalnog antioksidativnog kapaciteta TAC nakon 30 min i 1 h

Uzorci	$A_{30\text{min}}$	$C[\text{M}]_{30\text{min}}$	$\text{TAC}_{\text{CUPRAC}(30\text{min})}$ [$\mu\text{mol/l}$]	$A_{1\text{h}}$	$C[\text{M}]_{1\text{h}}$	$\text{TAC}_{\text{CUPRAC}(1\text{h})}$ [$\mu\text{mol/l}$]
$(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$	0,791	0,0017593	1,041332105	0,848	0,0018053	1,040613497
K₁	0,002	$6,623 \cdot 10^{-5}$	-0,097902098	0,002	$-6,756 \cdot 10^{-5}$	-0,085245902
K₂	1,353	0,0030608	1,023757282	1,354	0,0029279	1,02504161

Nakon 30 minuta, uzorak $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ pokazuje značajnu antioksidativnu aktivnost sa $\text{TAC}_{\text{CUPRAC}}$ vrijednošću od 1,0413. Ova vrijednost se gotovo pa ne mijenja nakon 1h, što sugerise na stabilnost antioksidativne aktivnosti tokom vremena. Kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ pokazuje negativnu vrijednost antioksidativnog kapaciteta, što pokazuje na izuzetno slabu ili odsutnu antioksidativnu aktivnost. Ove vrijednosti se blago smanjuju tokom vremena, ali su i dalje neefektivne u oba vremenska perioda. Kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ ima visoku početnu antioksidativnu aktivnost ($\text{TAC}_{\text{CUPRAC}}$ od 1,0238 nakon 30 minuta). Ove vrijednosti sugerisu da **K₂** ima konstantan i jak antioksidativni kapacitet tokom vremena.

Rezultati pokazuju značajne razlike u antioksidativnim kapacitetima ispitivanih jedinjenja. Uzorci $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ i **K₂** pokazuju visok nivo antioksidativnosti, što ih čini

potencijalnim kandidatima za dalje istraživanje i primjenu u formulacijama sa antioksidativnim svojstvima. S druge strane, uzorak K_1 pokazuje zanemarljivu aktivnost, što sugerira da njegovo dalje istraživanje možda nije opravdano u kontekstu antioksidativne primjene jer je dao neefektivne rezultate u oba vremenska intervala.

Ditiokarbamati su privukli pažnju zbog svog potencijala da djeluju kao efikasni sakupljači slobodnih radikala, prvenstveno zbog svojih antioksidativnih svojstava i sposobnosti da modulišu oksidativni stres [3]. Može se reći da nije iznenađenje da je $(\text{NH}_4)_3\text{idatc}$ pokazao značajnu antioksidativnu aktivnost. Međutim postavlja se pitanje zašto kompleks K_1 i K_2 se toliko razlikuju po pitanju antioksidativnosti.

Pretpostavlja se da geometrijske razlike između kompleksa K_1 i K_2 značajno utiču na njihove antioksidativne kapacitete, što se može direktno povezati sa dužinama veza i simetrijom koordinacionih sfera, koje su opisane u literaturi [13]. Kompleks K_1 , sa svojom tetraedarskom geometrijom i simetričnim vezivanjem liganada, pokazuje kraće i ujednačene dužine veza Zn-S (2,47 Å) i Zn-N (2,18 Å). Ova simetrična koordinacija dovodi do veće stabilnosti kompleksa, ali i manje reaktivnosti, ograničavajući njegovu sposobnost interakcije sa slobodnim radikalima, što rezultira smanjenom antioksidativnom aktivnošću.

Nasuprot tome, kompleks K_2 , sa oktaedarskom geometrijom, pokazuje različite dužine veza Zn-N (od 2,18 Å do 2,26 Å) i duže Zn-S veze (2,57 Å). Ova asimetrija u koordinaciji, zajedno sa dužim vezama, stvara veću fleksibilnost i otvorenost kompleksa, što omogućava bolju dostupnost reaktivnih mjesta za interakciju sa slobodnim radikalima. Kao rezultat toga, K_2 pokazuje značajniji antioksidativni kapacitet u poređenju sa K_1 , ako posmatramo samo geometriju.

Takođe razlike u uglovima veza između kompleksa K_1 i K_2 igraju ulogu u njihovoj antioksidativnoj aktivnosti. K_1 , sa svojim većim i simetričnim uglovima, poput A(S1–Zn–S8) od $74,90^\circ$ i A(N9–Zn–N12) od $81,39^\circ$, pokazuje veću stabilnost zbog tetraedarske geometrije. Ova stabilnost ograničava reaktivnost i smanjuje dostupnost reaktivnih funkcionalnih grupa, što doprinosi nižoj antioksidativnoj aktivnosti.

S druge strane, K_2 , sa manjim i asimetričnim uglovima, kao što su A(S1–Zn–S8) od $71,45^\circ$ i asimetrični uglovi između sumpora i azota, ima oktaedarsku geometriju koja omogućava veću fleksibilnost i bolju dostupnost reaktivnih mjesta. Ova fleksibilnost

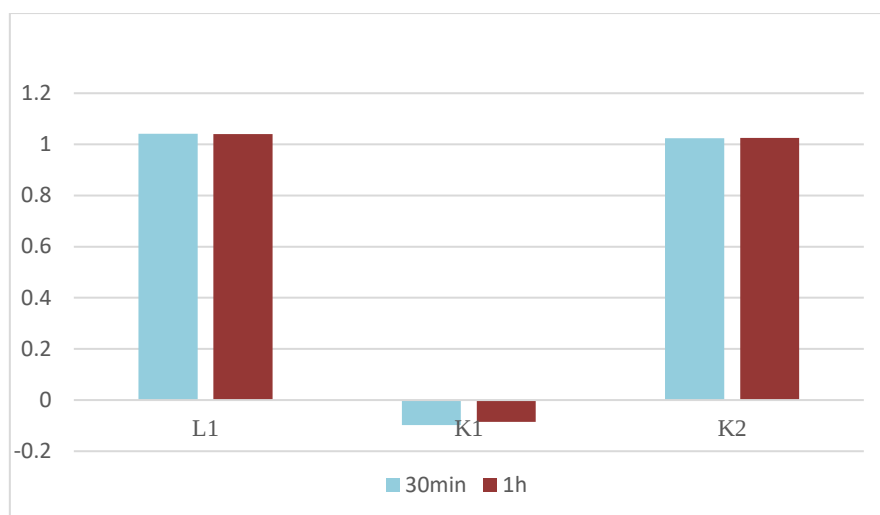
dovodi do poboljšane antioksidativne aktivnosti kompleksa K_2 u poređenju sa K_1 , pa se može pretpostaviti i da ugaoni parametri utiču na efikasnost ovih kompleksa.

Studije su pokazale da tetraedarska koordinacija aluminijuma može preći u oktaedarsku koordinaciju pod specifičnim uslovima, kao što su razmjena jona ili tretman bazama poput amonijaka [80]. Ova reverzibilnost ukazuje na dinamičnu prirodu koja može biti korisna u katalitičkim procesima. Međutim, oktaedarski kompleksi su stabilniji u određenim okruženjima zbog svoje sposobnosti da prihvate veće ligande i obezbjede simetričniji raspored, što može smanjiti ukupnu energiju sistema [81]. Oktaedarska koordinacija je takođe povezana sa većom gustinom elektrona oko centralnog atoma, što može poboljšati stabilnost kompleksa [80].

Što se tiče vezivanja slobodnih radikala, oktaedarske strukture generalno imaju veću sposobnost stabilizacije slobodnih radikala u poređenju sa tetraedarskim strukturama. Prisustvo šest koordinacionih mjesta omogućava oktaedarskim kompleksima da efikasnije interaguju sa reaktivnim vrstama, olakšavajući formiranje stabilnih radikalnih intermedijera [82].

Elektronska svojstva povezana sa ovim geometrijama dodatno utiču na njihovu reaktivnost. Tetraedarski kompleksi mogu pokazivati jedinstvene elektronske konfiguracije koje dovode do drugačijih obrazaca reaktivnosti u poređenju sa oktaedarskim kompleksima. Ovo može uticati na njihovu sposobnost učestvovanja u reakcijama sa radikalima, jer elektronska struktura igra ključnu ulogu u određivanju reaktivnosti kompleksa [83]. Obje geometrije, tetraedarska i oktaedarska, imaju svoje prednosti, oktaedarski kompleksi generalno pokazuju veću stabilnost i veću sposobnost vezivanja slobodnih radikala zbog simetričnog rasporeda i povećanog broja koordinacionih mjesta.

Poređenje antioksidativnih kapaciteta TAC ispitivanih jedinjenja je prikazano grafički na slici 59.



Slika 59. Poređenje antioksidativnih kapaciteta liganda L_1 i kompleksa K_1 i K_2 nakon 30 min i 1 h

Radi tačnosti dobijenih rezultata, CUPRAC test na ligand L_1 i komplekse K_1 i K_2 je ponovljen tri puta. Izračunate su standardna greška i devijacija za koeficijent determinacije $r_1=0,9998$, $r_2=0,9931$ i $r_3=0,9995$ za postavljanje kalibracione krive Troloxa-a nakon 30min predstavljene su u tabeli 15.

Tabela 15. Rezultati standardne greške i devijacije pri mjerenjima

Srednja vrijednost koeficijent determinacije	0,996133
Standardna greška	0,00196
Standardna devijacija	0,003395

U analizi rezultata merenja, uočava se visoka preciznost i tačnost. Srednja vrijednost od 0,9961 ukazuje na stabilan i pouzdan prosječan rezultat. Standardna greška od 0,00196 je izuzetno mala, što sugerise da su prosječne vrijednosti mjerenja vrlo bliske stvarnom proseku u skupu podataka. Takođe, standardna devijacija od 0,003395 potvrđuje vrlo malu varijabilnost među mjerenjima, što dodatno ukazuje na preciznost u eksperimentalnoj proceduri. Ovi rezultati pružaju čvrste osnove za zaključak da su merenja izvedena sa visokom preciznošću i da metoda pokazuje visok nivo pouzdanosti u okviru analiziranog skupa podataka.

4.5. Rezultati interakcija sa HSA i DNK

Najvažnija uloga albumina je transport lijekova, prirodnih proizvoda, kompleksa prelaznih metala drugih biološki aktivnih jedinjenja u krvi. Istraživanje interakcija između kompleksa prelaznih metala i HSA je važno za procjenu njihove potencijalne biološke aktivnosti. Step en vezivanja ovih jedinjenja za albumin u velikoj mjeri utiče na njihovu dostupnost u organizmu [84]. Da bi se ispital e strukturne promjene HSA izazvane dodatkom kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt c})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadt c})(\text{en})_2]$ snimani su fluorescentni spektri.

Ispitivanje interakcija između kompleksa prelaznih metala i DNK ima veliki značaj, naročito u farmakologiji, jer omogućava bolje razumijevanje njihove potencijalne antitumorsk e aktivnosti [85]. Apsorpciona i emisio na spektroskopija predstavljaju veoma korisne metode u tim ispitivanjima. Interakcije kompleksa sa parovima baza u DNK obično dovode do hipohromnog ili hiperhromnog pomjeranja, što se može objasniti elektrostatičkim interakcijama ili sposobnošću kompleksa da odmot a helikoidnu strukturu DNK [74]. Antikancerogeni efekti su posebno značajni kada su u pitanju kompleksi prelaznih metala ditiokarbamata, kao što su K_1 i K_2 , jer oni mogu interagovati sa Cu ili Fe jonima u ćeliji, učestvujući u regulaciji redoks statusa i indukovanju ili sprečavanju apoptoze u zavisnosti od različitih uslova i vremenskih okvira [86],[38]. U okviru ove teze, način i jačina vezivanja ispitivanih kompleksa za DNK su proučavani primjenom UV-Vis i fluorescentnih spektroskopskih metoda.

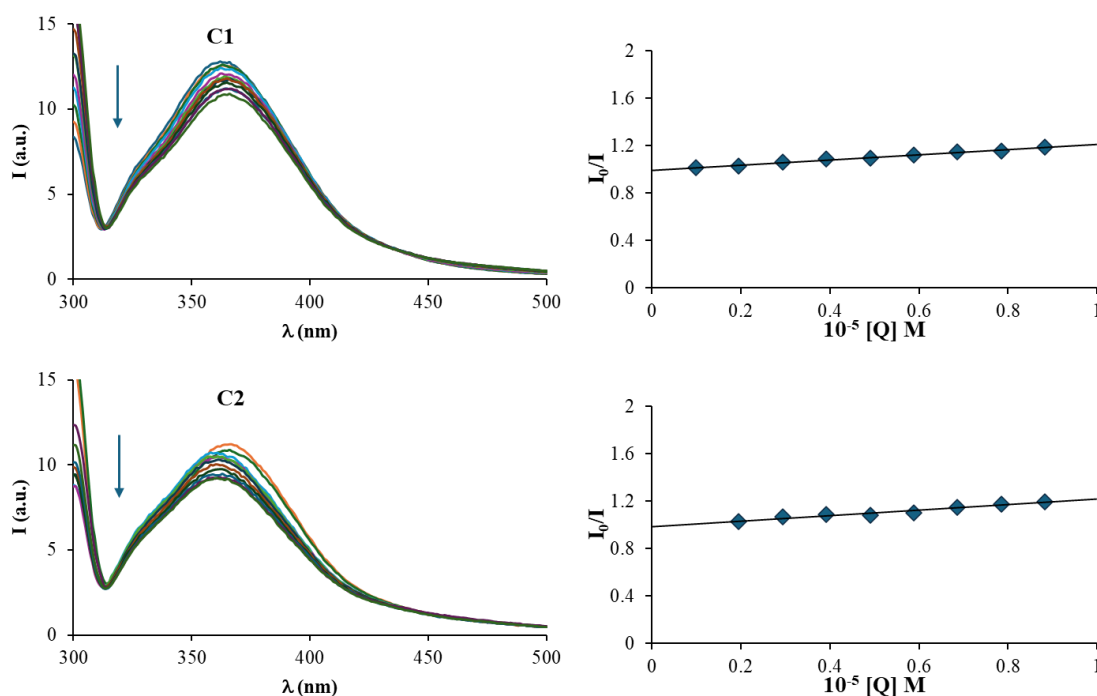
Jedna od najvažnijih karakteristika kompleksa K_1 i K_2 koja bi mogla biti ključna za njihovu potencijalnu upotrebu je nizak potencijalni toksiol oški efekat. Da bi se ovaj efekat ispitao, K_1 i K_2 su analizirani putem ProToxIII servera. Prema podacima dobijenim putem ProToxIII, jedinjenja K_1 , K_2 i $(\text{NH}_4)_3\text{idadt c}$ imaju vrijednosti limitom detekcije LD_{50} oko 4860 mg kg^{-1} , što ih svrstava u Klasa IV jedinjenja, što prema globalnom harmonizovanom sistemu klasifikacije i označavanja hemikalija (GHS) znači „štetno ako se proguta“. Analiza potencijalnog toksiol oškog efekta ovih jedinjenja na specifične organe ukazuje na to da ditiokarbamati pokazuju visok potencijal toksičnosti prema respiratornom sistemu, što je dobro poznata činjenica kada su ova jedinjenja u pitanju. Ipak, s obzirom na visoke vrednosti LD_{50} , koje su mnogo više od nekih poznatih i široko korišćenih jedinjenja (LD_{50} vrijednosti za etanol su 3450 mg kg^{-1} , LD_{50} vrijednosti za varfarin samo 2 mg kg^{-1}), kao i nekih prirodno prisutnih

jedinjenja (LD_{50} vrednosti za kvercetin su 159 mg kg^{-1}) [87], kompleksi K_1 i K_2 zasluđu dalja istraživanja. Takođe, ovaj potencijalni toksikološki efekat u malim koncentracijama možda neće biti štetan za ljudski organizam, a ditiokarbamati su poznati po dobrim antifungicidnim, antimikrobnim, a ponekad i antikancerogenim efektima.

4.5.1. Rezultati interakcije sa HSA: fluorescentna spektroskopija

Ispitivanje interakcije jedinjenja za HSA često se oslanja na metodu gašenja fluorescencije. Pod gašenjem se podrazumijeva svaki proces koji smanjuje intenzitet fluorescencije. Rastvori HSA pokazuju jaku fluorescenciju sa maksimumom oko 350 nm, što se pripisuje ostatku triptofana, kada su pobuđeni na 295 nm [88].

Fluorescentni spektri HSA sa promjenljivim koncentracijama kompleksa u rasponu od 0 do 30 μM , su prikazani na slici 60.



Slika 60. Spektri fluorescencijske titracije rastvora HSA u koncentraciji od 2 μM u odsustvu i prisustvu različitih koncentracija ispitivanih kompleksa. Strelica pokazuje promjenu intenziteta fluorescencije nakon porasta koncentracije ispitivanog jedinjenja (dodata do odnosa 5). Umetak: Stern-Volmerovi grafikoni za fluorescencijsku titraciju HSA u prisustvu ispitivanih kompleksa

Kao što se vidi na slici 60, dodatkom kompleksa rastvoru HSA, intenzitet fluorescencije HSA se postepeno smanjivao. Ovakav rezultat dovodi do zaključka da kompleks može reagovati sa HSA. Uočeno smanjenje intenziteta fluorescencije može se pripisati

promjenama u tercijarnoj strukturi HSA, vjerovatno kao posledica promjena u okruženju triptofanskih ostataka nakon vezivanja kompleksa za protein.

Stern-Volmerove konstante (K_{SV}) za interakcije između ispitivanih kompleksa i serumskog albumina su izračunate prema jednačini 4. datoj u Eksperimentalnom dijelu rada. Njihove vrijednosti su prikazane u tabeli 16.

Tabela 16. Stern-Volmerove konstante (K_{SV}) i konstante vezivanja (K_b) za interakciju ispitivanih kompleksa sa HSA i CT-DNK dobijene korišćenjem Stern-Volmerove jednačine sa humanim serumskim albuminom, HSA.

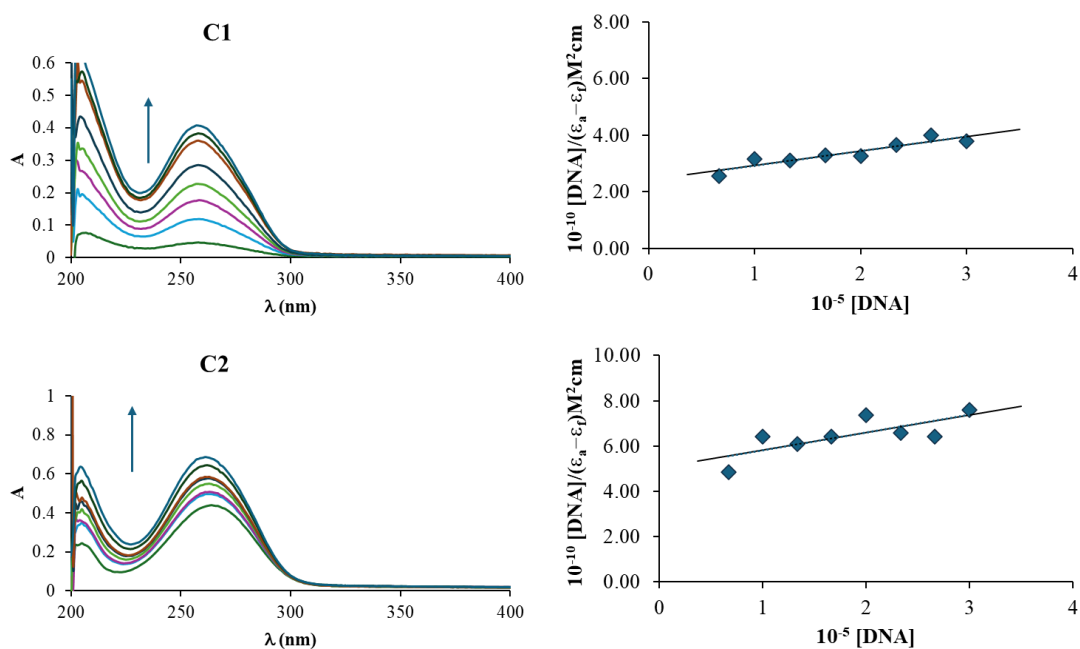
	CT-DNK		HSA
	$10^4 K_b [M^{-1}]$	$10^4 K_{SV} [M^{-1}]$	$10^4 K_{SV} [M^{-1}]$
C₁	1.5 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1
C₂	1.3 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.4 ± 0.1

Na osnovu dobijenih vrednosti K_{SV} , može se uočiti umjerena interakcija između ispitivanih kompleksa i HSA.

4.5.2. Rezultati interakcije sa DNK: UV-Vis spektroskopija

Apsorpciona spektrofotometrijska metoda korišćena je za određivanje interakcije između ispitivanih kompleksa i molekula CT-DNK. Za komplekse K1 i K2, konstante vezivanja su određene snimanjem UV spektara, pri konstantnoj koncentraciji ispitivanih jedinjenja u odsustvu ili prisustvu DNK pri različitim $[DNK]/[kompleks]$ odnosima (do odnosa 5). Promjene u koncentraciji DNK mogu izazvati povećanje (hiperhromni pomak) ili smanjenje (hipohromni pomak) intenziteta apsorpcije, praćeno blagim pomacima u talasnoj dužini apsorpcionog maksimuma [89], [90].

Kako se koncentracija DNK povećavala, mjerena je apsorbancija na relevantnoj talasnoj dužini, što je otkrilo hiperhromni efekat sa blagim pomakom ka crvenom, kako je prikazano na slici 61. Konstanta vezivanja (K_b) izračunata je korišćenjem jednačine (5) date u Eksperimentalnom dijelu rada. Dobijene vrijednosti su prikazane u tabeli 16. [79], [39].



Slika 61. Spektri apsorpcionih titracija ispitivanih kompleksa u prisustvu CT-DNK, pri konstantnoj koncentraciji kompleksa od 8 μM , dok je DNK dodavana do odnosa 5. Strelica označava pomeranja spektralnih traka sa povećanjem koncentracije DNK. Umetak: Grafikon odnosa $[DNK]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ prema $[DNK]$

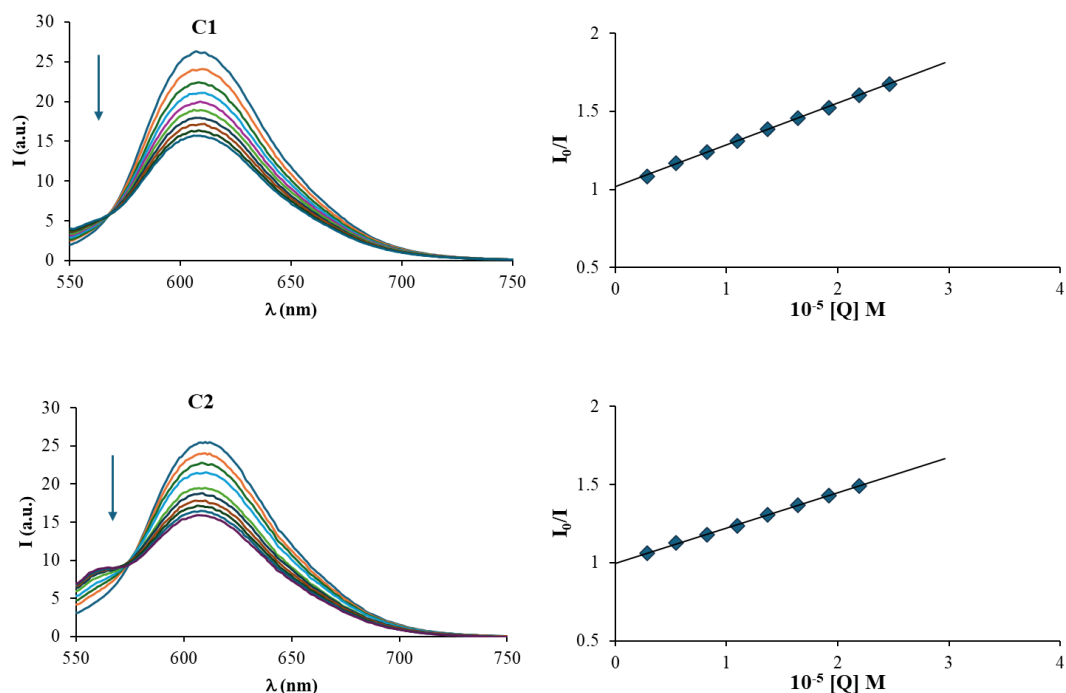
Ispitivani kompleksi pokazali su slične vrijednosti konstante vezivanja, K_b , reda veličine 10^4 , što ukazuje da se oba ditiokarbamato kompleksa umjereno vezuju za CT-DNK molekul.

4.5.3. Rezultati interakcije sa DNK: Fluorescentna spektroskopija

Fluorescentna spektroskopija korišćena je za procjenu interkalacione sposobnosti kompleksa K_1 i K_2 . Interkalacija uključuje umetanje planarnog aromatičnog molekula između parova baza DNK, što dovodi do elongacije lanca. Ispitivane su i kompetitivne reakcije između jedinjenja i etidijum-bromida vezanog za CT-DNK. Etidijum-bromid (3,6-diamino-5-etil-6-fenilfenantridijum bromid, EB) je dobro poznat indikator interkalacije. Sa DNK gradi fluorescentni kompleks koji ispoljava snažnu fluorescenciju na 612 nm [91]. Promjene koje se uoče u fluorescentnom spektru EB-DNK sistema, nakon dodatka ispitivanog kompleksa, se koriste za proučavanje njihove interakcije sa DNK [85].

Fluorescentne titracije izvedene su korišćenjem konstantne koncentracije EB-DNK rastvora (5 μ M) dok su koncentracije kompleksa postepeno povećavane.

Emisioni spektri EB-DNK sistema u odsustvu i prisustvu kompleksa K_1 i K_2 su prikazani na slici 62. Promjene fluorescencije ukazuju na vezivanje ispitivanih kompleksa za DNK.



Slika 62. Slika 5. Spektri fluorescentne titracije rastvora EB/DNK (odnos 1:1 EB prema DNK pri koncentraciji od 5 μ M) bez i sa ispitivanim kompleksima. Strelica označava pomjeranja spektralnih traka uočenih pri povećanju koncentracije kompleksa (do odnosa 5). Umetak: Stern-Volmerovi grafikoni gašenja fluorescencije DNK u prisustvu ispitivanih kompleksa

Emisioni spektri EB-DNK sistema u odsustvu i prisustvu kompleksa K_1 i K_2 ukazuju na smanjenje inteziteta emisije, što ukazuje da ispitivana jedinjenja istiskuju EB iz EB-DNK kompleksa. Posmatrano gašenje fluorescencije ukazuje na interkalativno vezivanje za DNK.

Stern-Volmarovih konstanti određena je iz nagiba linearnih grafikona dobijenih Stern-Volmerovom jednačinom, a rezultujuće vrijednosti prikazane su u Tabeli 16. Ipitivani kompleksi pokazali su vrednosti K_{SV} reda veličine 10^4 , što ukazuje na potencijal za zamjenu etidijum bromida (EB) i interkalaciju.

Poređenje interakcija kompleksa K_1 i K_2 sa DNK i HSA (humani serumski albumin) pokazuje izraženu afinitetnu vezu prema oba molekula, sa blagom prednošću vezivanja prema HSA. Za DNK, kompleks K_1 ispoljava nešto jači afinitet vezivanja, što se može pripisati manje prostorno ometenoj strukturi koja omogućava lakši pristup CT-DNK molekulu. Interakcija Zn kompleksa sa CT-DNK (DNK telećeg timusa) i HSA je ključna za razumjevanje njihovog biološkog i farmakološkog potencijala. Zn kompleksi mogu se vezivati za CT-DNK putem mehanizama kao što su interkalacija, vezivanje u žlebovima ili elektrostatičke interakcije, u zavisnosti od strukturalnih karakteristika

kompleksa. Interkalacija podrazumjeva umetanje kompleksa između parova baza DNK, što može narušiti duplu spiralu i uticati na procese kao što su replikacija ili transkripcija. Veličina, oblik, naelektrisanje i funkcionalne grupe kompleksa značajno utiču na način i afinitet vezivanja, pri čemu manje prostorno ometene strukture pokazuju jači afinitet zahvaljujući lakšem pristupu DNK.

U slučaju HSA, najzastupljenijeg proteina u ljudskoj krvnoj plazmi, Zn kompleksi mogu se vezivati na specifičnim mjestima na molekulu albumina. Ova interakcija utiče na transport i bioraspoloživost kompleksa, s obzirom na to da HSA služi kao nosač za različite endogene i egzogene spojeve. Veći afinitet prema HSA može dovesti do produženog vremena cirkulacije Zn kompleksa, povećavajući njegovu efikasnost u dostavi lijekova ili terapijskim primjenama.

Sveukupno, interakcija Zn kompleksa sa CT-DNK i HSA pruža dragocene uvide u njihovo biološko ponašanje, potencijalnu toksičnost i primjenu u medicinskim oblastima kao što su antikancerogeni ili antimikrobni agensi.

5. Zaključak

U okviru ove teze sintetisani su ligand amonijum-iminodiacetatoditiokarbamat $((\text{NH}_4)_3\text{idadc})$ (L_1) i njegovi kompleksi $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ (K_1) i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ (K_2) po ranije objavljenim procedurama. Karakterizacija sintetisanih jedinjenja je izvršena FTIR spektroskopskom analizom. Ova jedinjenja dalje su evaluirana kroz procjenu antifungalne i antioksidativne aktivnosti, kao i kroz analizu njihovih interakcija sa DNK i humanim serumskim albuminom (HSA).

1. Antifungalna aktivnost

Antifungalno dejstvo ovih sintetisanih jedinjenja testirano je metodom difuzije u agar podlogu na fitopatogene gljive *Phomopsis viticola* i *Botryosphaeria dothidea*. Dobijeni rezultati su pokazali sljedeće:

- za *Ph. viticola*, kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ pokazuje najbolju antifungalnu aktivnost, dok ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ ima minimalan efekat.
- za *B. dothidea*, kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ je pokazao najefikasnije antifungalno djelovanje, dok je $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ bio manje efikasan, a ligand $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ nije pokazao antifungalno dejstvo.

Poređenje sa komercijalnim fungicidom ciramom pokazalo je da sintetisani ligand i kompleksi pri svim koncentracijama nemaju značajan inhibicioni efekat na rast gljiva.

2. Antioksidativna aktivnost

Antioksidativni kapacitet sintetisanih jedinjenja ispitan je CUPRAC metodom nakon 30 minuta i 1 sat:

- $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ je pokazao visoku i stabilnu antioksidativnu aktivnost u oba vremenska intervala.
- $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ je imao nisku, gotovo negativnu antioksidativnu aktivnost, koja se blago smanjila tokom vremena.
- $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ je imao snažnu početnu antioksidativnu aktivnost, koja se blago povećala nakon 1 sata, što ukazuje na stabilan i jak antioksidativni kapacitet.

Rezultati pokazuju da su $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ potencijalno korisni za primjene koje zahtijevaju stabilnu antioksidativnu aktivnost, dok $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ nema potencijal za antioksidativnu aktivnost.

Geometrijske razlike između kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ moguće da utiču na njihovu stabilnost pa i na njihovu antioksidativne kapacitete, što je povezano sa dužinama veza i simetrijom koordinacionih sfera. Kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$, sa tetraedarskom geometrijom, ima simetrične dužine veza Zn-S (2,47 Å) i Zn-N (2,18 Å), što dovodi do veće stabilnosti, ali i manjih interakcija sa slobodnim radikalima, smanjujući njegovu antioksidativnu aktivnost. S druge strane, kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$, sa oktaedarskom geometrijom, pokazuje asimetrične dužine veza (Zn-N od 2,18 Å do 2,26 Å i Zn-S 2,57 Å), što stvara veću fleksibilnost i omogućava bolju interakciju sa radikalima, čime ima veći antioksidativni kapacitet u poređenju sa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$. Na osnovu podataka o raspodeli elektronske gustine na anjonu kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$, u poređenju sa kompleksom $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ [13], primećuje se veća koncentracija negativnog naelektrisanja na ditiokarbamatnom delu $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$. Ovo sugeriše da kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ ima izraženiju elektrodonorsku sposobnost u odnosu na $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$. Zbog toga, kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ može efikasnije ispoljiti zaštitna svojstva u procesima oksidacije i eliminacije slobodnih radikala.

3. Interakcije sa DNK i HSA

Za ispitivanje interakcije kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ sa humanim serumski albuminom (HSA) korišćena je fluorescentna spektroskopija. U testiranju je primjenjena metoda gašenja fluorescencije, koja pokazuje smanjenje intenziteta fluorescencije HSA pri dodavanju kompleksa, što ukazuje na interakciju između kompleksa i HSA. Rezultati su pokazali da se intenzitet fluorescencije smanjuje kako se koncentracija kompleksa povećava, što sugeriše da kompleksi utiču na tercijarnu strukturu HSA, verovatno zbog promjena u okruženju triptofanskih ostataka. Stern-Volmerove konstante (K_{sv}) ukazuju na umjerenu interakciju između kompleksa i HSA, sa vrednostima K_{sv} sličnim za oba kompleksa.

Za ispitivanje interakcije kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ sa DNK korišćene su UV-Vis i fluorescentna spektroskopija. UV-Vis spektroskopija je pokazala hiperhromni pomak u apsorpciji, što ukazuje na vezivanje kompleksa za DNK. Konstante vezivanja (K_b) izračunate iz UV spektara sugerišu umjereno vezivanje kompleksa za DNK, sa sličnim vrednostima za oba kompleksa. Fluorescentna spektroskopija sa etidijum bromidom (EB) je pokazala da kompleksi istiskuju EB iz

DNK, što ukazuje na interkalaciju, tj. umetanje kompleksa između parova baza DNK. Stern-Volmerove konstante za fluorescencijsko gašenje fluorescencije ukazuju na sličan stepen interkalacije oba kompleksa.

Kompleksi $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ nisu pokazali značajnu antifungalnu aktivnost prema *Phomopsis viticola* i *Botryosphaeria dothidea*. Ipak, njihov inhibicioni efekat bio je nešto izraženiji u odnosu na efekat liganda $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$, koji nije imao nikakav uticaj na ove gljive. Međutim, $(\text{NH}_4)_3\text{idadc}$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ su pokazali antioksidativnu aktivnost koja ih čini intresantnim za dalje istraživanje potencijalnu primjenu. Kompleks $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ je imao jači antioksidativni kapacitet, dok $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ znatno slabiji, što se može objasniti razlikama u njihovim strukturama. Interakcije sa DNK i HSA ukazuju da kompleksi $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ i $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})_2]$ interkalativno vežu DNK, pri čemu je afinitet kompleksa $\text{NH}_4[\text{Zn}(\text{idadc})(\text{en})]$ prema CT-DNK nešto veći, što se može povezati sa manjom prostornom ometenošću njegove strukture. Ove interakcije sugerišu potencijalnu primjenu u terapijskim sistemima za dostavu lijekova, kao i u antikancerogenim i antimikrobnim tretmanima, jer vezivanje za DNK može uticati na stabilnost DNK i produžiti vreme cirkulacije u krvi putem interakcije sa HSA. Rezultati mogu biti značajni za razvoj novih kompleksa ditiokarbamata i odabir metala za centralni jon, kako bi se poboljšala njihova bioaktivnost.

Dobijeni rezultati mogu poslužiti kao osnov za dalje sinteze kompleksa ditiokarabamata, kao i za pažljiv odabir metala u ulozi centralnog jona, s ciljem poboljšanja bioaktivnih svojstava ovih jedinjenja.

6. Literatura:

- [1] T. S. Thind, "Changing trends in discovery of new fungicides: a perspective," *Indian Phytopathol.*, vol. 74, no. 4, pp. 875–883, Dec. 2021, doi: 10.1007/S42360-021-00411-6.
- [2] L. Z. & T. N. 4. Vuksanović V., "(8) (PDF) Antibacterial effect of synthesized dithiocarbamate K-DAAP." Accessed: Sep. 30, 2024. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/287557577_Antibacterial_effect_of_synthesized_dithiocarbamate_K-DAAP
- [3] A. R. H. Mahmoud, S. M. M. Moursi, S. E. Esmaeel, N. I. S. Mohamed, and N. E. S. M. Ali, "The possible protective effect of the nuclear factor kappa B inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate on tramadol-induced testicular damage in rats," *Egypt. J. Forensic Sci.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–12, Dec. 2023, doi: 10.1186/S41935-023-00351-4/FIGURES/11.
- [4] F. Shiri, S. Shahraki, and M. Bazzi-Alahri, "Assessing the in vitro and in silico interactions of two Palladium(II) dithiocarbamate complexes with human serum albumin," *J. Mol. Struct.*, vol. 1221, p. 128809, Dec. 2020, doi: 10.1016/J.MOLSTRUC.2020.128809.
- [5] Z. Arabpour Shiraz, N. Sohrabi, M. Eslami Moghadam, and M. Oftadeh, "Spectroscopic study and molecular simulation: Bovine serum albumin binding with anticancer Pt complex of amyl dithiocarbamate ligand," *Heliyon*, vol. 9, no. 9, p. e20090, Sep. 2023, doi: 10.1016/J.HELİYON.2023.E20090.
- [6] Á. Ramos-Espinosa *et al.*, "N-(R)ethanolamine dithiocarbamate ligands and their Ni(II) and Pt(II) complexes. Evaluation of the in vitro anticancer activity of the Pt(II) derivatives," *Inorganica Chim. Acta*, vol. 466, pp. 584–590, 2017, doi: 10.1016/j.ica.2017.07.035.
- [7] M. Marinovich, M. Guizzetti, F. Ghilardi, B. Viviani, E. Corsini, and C. L. Galli, "Thyroid peroxidase as toxicity target for dithiocarbamates," *Arch. Toxicol.*, vol. 71, no. 8, pp. 508–512, 1997, doi: 10.1007/s002040050420.
- [8] H. Nabipour, S. Ghammamy, S. Ashuri, and Z. S. Aghbolagh, "Synthesis of a New Dithiocarbamate Compound and Study of Its Biological Properties," *Org. Chem. J*, vol. 2, pp. 75–80, 2010.
- [9] L. R. Jinu Mathew, "Synthesis and characterisation of mixed ligand dithiocarbamate complexes.," 2016.

- [10] S. D. Oladipo, B. Omondi, and C. Mocktar, "Co(III) N,N'-diarylformamidine dithiocarbamate complexes: Synthesis, characterization, crystal structures and biological studies," *Appl. Organomet. Chem.*, vol. 34, no. 5, p. e5610, May 2020, doi: 10.1002/AOC.5610.
- [11] P. J. Heard, *Main group dithiocarbamate complexes*, vol. 53. 2005. doi: 10.1002/0471725587.ch1.
- [12] P. Morf *et al.*, "Dithiocarbamates: Functional and versatile linkers for the formation of self-assembled monolayers," *Langmuir*, vol. 22, no. 2, pp. 658–663, 2006, doi: 10.1021/la052952u.
- [13] A. Baltić, "Sinteza i karakterizacija novih ditiokarbamato kompleksa sa S- i N-donorskim ligandima," Univerzitet Crne Gore, 2023. [Online]. Available: [https://www.ucg.ac.me/skladiste/blog_1236/objava_175183/fajlovi/Master rad, Baltić Ana.pdf](https://www.ucg.ac.me/skladiste/blog_1236/objava_175183/fajlovi/Master%20rad,%20Baltic%20Ana.pdf)
- [14] C. Yuan, B. Liu, F. Liu, M. Y. Han, and Z. Zhang, "Fluorescence 'turn On' Detection of Mercuric Ion Based on Bis(dithiocarbamato)copper(II) Complex Functionalized Carbon Nanodots," *Anal. Chem.*, vol. 86, no. 2, pp. 1123–1130, 2014, doi: 10.1021/ac402894z.
- [15] E. Humeres, N. A. Debacher, J. D. Franco, B. S. Lee, and A. Martendal, "Mechanisms of acid decomposition of dithiocarbamates. 3. Aryldithiocarbamates and the torsional effect," *J. Org. Chem.*, vol. 67, no. 11, pp. 3662–3667, 2002, doi: 10.1021/jo016190t.
- [16] Y. Liu and E. R. T. Tiekink, "Supramolecular associations in binary antimony(III) dithiocarbamates: Influence of ligand steric bulk, influence on coordination geometry, and competition with hydrogenbonding," *CrystEngComm*, vol. 7, pp. 20–27, 2005, doi: 10.1039/b416493h.
- [17] G. Hogarth, "Metal-dithiocarbamate complexes: chemistry and biological activity," *Mini-Reviews Med. Chem.*, vol. 12, no. 12, pp. 1202–1215, 2012, doi: 10.2174/138955712802762095.
- [18] S. K. Parida, S. Jaiswal, P. Singh, and S. Murarka, "Multicomponent Synthesis of Biologically Relevant S-Aryl Dithiocarbamates Using Diaryliodonium Salts," *Org. Lett.*, vol. 23, no. 16, pp. 6401–6406, Jan. 2021, doi: 10.1021/ACS.ORGLETT.1C02220.
- [19] Z. Leka, D. Vojta, M. Kosović, N. Latinović, M. Crossed D Signaković, and A. Višnjevac, "Syntheses, structures and antifungal activities of novel Co, Mo and

- Pt complexes with triammonium N,N-diacetatedithiocarbamate,” *Polyhedron*, vol. 80, pp. 233–242, Sep. 2014, doi: 10.1016/J.POLY.2014.04.045.
- [20] H. Nabipour, S. Ghammamy, and A. Rahmani, “Synthesis of a new dithiocarbamate cobalt complex and its nanoparticles with the study of their biological properties,” *Micro Nano Lett.*, vol. 6, no. 4, pp. 217–220, Apr. 2011, doi: 10.1049/mnl.2010.0224.
- [21] P. Martini *et al.*, “Synthesis and Characterization of Manganese Dithiocarbamate Complexes: New Evidence of Dioxygen Activation,” *Mol. 2021, Vol. 26, Page 5954*, vol. 26, no. 19, p. 5954, Sep. 2021, doi: 10.3390/MOLECULES26195954.
- [22] P. A. Ajibade, A. A. Fatokun, and F. P. Andrew, “Synthesis, characterization and anti-cancer studies of Mn(II), Cu(II), Zn(II) and Pt(II) dithiocarbamate complexes - crystal structures of the Cu(II) and Pt(II) complexes,” *Inorganica Chim. Acta*, vol. 504, no. January, p. 119431, 2020, doi: 10.1016/j.ica.2020.119431.
- [23] J. O. Adeyemi *et al.*, “Synthesis, computational and biological studies of alkyltin(IV) N-methyl-N-hydroxyethyl dithiocarbamate complexes,” *Heliyon*, vol. 7, no. 8, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.HELİYON.2021.E07693/ASSET/180AB983-D78A-4A72-A2BC-FE83F57CA25E/MAIN.ASSETS/GR7.JPG.
- [24] T. A. Saiyed, J. O. Adeyemi, and D. C. Onwudiwe, “The structural chemistry of zinc(ii) and nickel(ii) dithiocarbamate complexes,” *Open Chem.*, vol. 19, no. 1, pp. 974–986, Jan. 2021, doi: 10.1515/chem-2021-0080.
- [25] T. Tella, C. H. Pohl, and A. Ayangbenro, “A review of the therapeutic properties of dithiocarbamates,” *F1000Research*, vol. 11, p. 243, Feb. 2022, doi: 10.12688/f1000research.109553.1.
- [26] F. Wang *et al.*, “A novel dithiocarbamate analogue with potentially decreased ALDH inhibition has copper-dependent proteasome-inhibitory and apoptosis-inducing activity in human breast cancer cells,” *Cancer Lett.*, vol. 300, no. 1, pp. 87–95, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.canlet.2010.09.010.
- [27] C. Campanale, M. Triozzi, A. Ragonese, D. Losacco, and C. Massarelli, “Dithiocarbamates: Properties, Methodological Approaches and Challenges to Their Control,” *Toxics*, vol. 11, no. 10. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), Oct. 01, 2023. doi: 10.3390/toxics11100851.

- [28] L. Kaul, R. Sü, A. Zannettino, and K. Richter, “iScience The revival of dithiocarbamates: from pesticides to innovative medical treatments”, doi: 10.1016/j.isci.
- [29] A. Aspatwar *et al.*, “In vitro inhibition of Mycobacterium tuberculosis β -carbonic anhydrase 3 with Mono- and dithiocarbamates and evaluation of their toxicity using zebrafish developing embryos,” *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, vol. 35, no. 1, pp. 65–71, 2020, doi: 10.1080/14756366.2019.1683007.
- [30] N. Jiang *et al.*, “Design, synthesis and biological evaluation of new coumarin-dithiocarbamate hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer’s disease,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 146, pp. 287–298, Feb. 2018, doi: 10.1016/J.EJMECH.2018.01.055.
- [31] T. O. Ajiboye, T. T. Ajiboye, R. Marzouki, and D. C. Onwudiwe, “The Versatility in the Applications of Dithiocarbamates,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 3, Feb. 2022, doi: 10.3390/IJMS23031317.
- [32] S. A. Khan, W. Ahmad, K. S. Munawar, and S. Kanwal, “Synthesis, spectroscopic characterization and biological evaluation of Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes of diphenyldithiocarbamate,” *Indian J. Pharm. Sci.*, vol. 80, no. 3, pp. 480–488, 2018, doi: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000381.
- [33] A. C. Ekennia, D. C. Onwudiwe, A. A. Osowole, L. O. Olasunkanmi, and E. E. Ebenso, “Synthesis, Biological, and Quantum Chemical Studies of Zn(II) and Ni(II) Mixed-Ligand Complexes Derived from N,N-Disubstituted Dithiocarbamate and Benzoic Acid,” *J. Chem.*, vol. 2016, no. 1, p. 5129010, Jan. 2016, doi: 10.1155/2016/5129010.
- [34] D. C. Onwudiwe and A. C. Ekennia, “Synthesis, characterization, thermal, antimicrobial and antioxidant studies of some transition metal dithiocarbamates,” *Res. Chem. Intermed.*, vol. 43, no. 3, pp. 1465–1485, 2017, doi: 10.1007/s11164-016-2709-2.
- [35] E. Sathiyaraj, M. V. Perumal, E. R. Nagarajan, and C. Ramalingan, “Functionalized zinc(II) dithiocarbamate complexes: Synthesis, spectral and molecular structures of bis(N-cyclopropyl-N-4-methoxybenzyldithiocarbamato-S,S')zinc(II) and (2,2'-bipyridine)bis(N-cyclopropyl-N-4-methoxybenzyldithiocarbamato-S,S')zinc(II),” *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 22, no. 5, pp. 527–537, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.JSCS.2017.09.002.
- [36] X. H. Y. S. L. W. J. Xu, “Protective effect of pyrrolidine dithiocarbamate on

- isoniazid/rifampicin-induced liver injury in rats,” spandidos publications. Accessed: Oct. 26, 2024. [Online]. Available: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2019.10817>
- [37] C. Maurya and S. Bajpai, “Biological Applications of Metal Complexes of Dithiocarbamates,” *J. Appl. Sci. Educ.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–16, Mar. 2022, doi: 10.54060/JASE/002.01.002.
- [38] S. Shahraki, M. Saeidifar, F. Shiri, and A. Heidari, “Synthesis, Characterization, Cytotoxicity and Detailed HSA Interaction of New Zinc(II) Complexes Containing Dithiocarbamate and Heterocyclic N-donor Ligands,” *Polycycl. Aromat. Compd.*, vol. 39, no. 3, pp. 220–237, 2019, doi: 10.1080/10406638.2017.1302972.
- [39] A. Z. Petrović *et al.*, “Biological activity of bis(pyrazolylpyridine) and terpyridine Os(ii) complexes in the presence of biocompatible ionic liquids,” *Inorg. Chem. Front.*, vol. 8, no. 11, pp. 2749–2770, 2021, doi: 10.1039/d0qi01540g.
- [40] M. Saeidifar and H. Mansouri-Torshizi, “Investigation of the Interaction between Human Serum Albumin and Antitumor Palladium(II) Complex Containing 1,10-Phenanthroline and Dithiocarbamate Ligands,” *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, vol. 34, no. 1, pp. 16–32, 2015, doi: 10.1080/15257770.2014.955192.
- [41] M. Feizi-Dehghanian, E. Dehghanian, and H. Mansouri-Torshizi, “Probing the biomolecular (DNA/BSA) interaction by new Pd(II) complex via in-depth experimental and computational perspectives: synthesis, characterization, cytotoxicity, and DFT approach,” *J. Iran. Chem. Soc.*, vol. 19, no. 7, pp. 3155–3175, 2022, doi: 10.1007/s13738-022-02519-6.
- [42] L. A. Ramos and E. T. G. Cavaleiro, “38-34 Preparation, characterization and thermal decomposition of sodium and potassium salts of dithiocarbamate,” 2013. [Online]. Available: www.bjta.iiatbr.org
- [43] M. R. Sederholm, B. W. Schmitz, A. Barberán, and I. L. Pepper, “Effects of metam sodium fumigation on the abundance, activity, and diversity of soil bacterial communities,” *Appl. Soil Ecol.*, vol. 124, pp. 27–33, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.APSOIL.2017.10.012.
- [44] V. K. Malik, M. Khaiper, and P. Verma, “Research and Review in Plant Pathology (Volume - 3),” *Res. Rev. Plant Pathol. (Volume - 3)*, no. January,

- 2023, doi: 10.22271/bs.book.92.
- [45] P. Fanjul-Bolado, R. Fogel, J. Limson, C. Purcarea, and A. Vasilescu, "Advances in the detection of dithiocarbamate fungicides: Opportunities for biosensors," *Biosensors*, vol. 11, no. 1, 2021, doi: 10.3390/bios11010012.
- [46] A. C. Ekennia, D. C. Onwudiwe, C. Ume, and E. E. Ebenso, "Mixed Ligand Complexes of N-Methyl-N-phenyl Dithiocarbamate: Synthesis, Characterisation, Antifungal Activity, and Solvent Extraction Studies of the Ligand," *Bioinorg. Chem. Appl.*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/913424.
- [47] L. N. and L. Z. Trifunović S., Bulatović D., "The influence of a newly synthesized Iron(II) Dithiocarbamate Complex on Fungi *Phomopsis viticola* Sacc. and *Wilsonomyces carpophilus*," Trifunović S., Bulatović D., Latinović N. and Leka Z. Accessed: Aug. 14, 2024. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/259737687_Trifunovic_S_Bulatovic_D_Latinovic_N_and_Leka_Z_The_influence_of_a_newly_synthesized_IronII_Dithiocarbamate_Complex_on_Fungi_Phomopsis_viticola_Sacc_and_Wilsonomyces_carpophilus_Research_Journal_of_Ch
- [48] L. N. Leka Z., "The influence of new-synthesized Zinc(II) Dithiocarbamate Complex on Fungus *Phomopsis viticola* Sacc.," *Res. J. Chem. Environ.*, vol. 15 (4), 2011.
- [49] G. Brahmachari and I. Karmakar, "Diversely Functionalized N-Alkyl/Substituted alkyl, S-2-nitro-1-arylethyl Dithiocarbamates: Green Synthesis, Large Scale Application, and Insights in Reaction Mechanism," *ChemistrySelect*, vol. 4, no. 2, pp. 747–751, Jan. 2019, doi: 10.1002/slct.201803531.
- [50] G. Hogarth and D. C. Onwudiwe, "Copper dithiocarbamates: Coordination chemistry and applications in materials science, biosciences and beyond," *Inorganics*, vol. 9, no. 9, 2021, doi: 10.3390/inorganics9090070.
- [51] V. N. Mehta, M. A. Kumar, and S. K. Kailasa, "Colorimetric detection of copper in water samples using dopamine dithiocarbamate-functionalized Au nanoparticles," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 52, no. 12, pp. 4414–4420, Mar. 2013, doi: 10.1021/ie302651f.
- [52] S. A. Ghoto, M. Y. Khuhawar, T. M. Jahangir, and J. ul D. Mangi, "Applications of copper nanoparticles for colorimetric detection of dithiocarbamate pesticides," *J. Nanostructure Chem.*, vol. 9, no. 2, pp. 77–93,

- Jun. 2019, doi: 10.1007/s40097-019-0299-4.
- [53] F. Seidi, M. Reza Saeb, Y. Huang, A. Akbari, and H. Xiao, "Thiomers of Chitosan and Cellulose: Effective Biosorbents for Detection, Removal and Recovery of Metal Ions from Aqueous Medium," *Chemical Record*, vol. 21, no. 7. John Wiley and Sons Inc, pp. 1876–1896, Jul. 01, 2021. doi: 10.1002/tcr.202100068.
- [54] G. Gomathi, E. Sathiyaraj, S. Thirumaran, and S. Ciattini, "Effect of functionlization of N, N -dibenzylthiocarbamate: Synthesis, spectral and structural studies on bis(N -benzyl- N -(4-methoxybenzyl)dithiocarbamato-S,S')zinc(II) and bis(N -benzyl- N -(4-cholrobenzyl)dithiocarbamato-S,S')cadmium(II) and their us," *J. Sulfur Chem.*, vol. 37, no. 1, pp. 23–36, 2016, doi: 10.1080/17415993.2015.1105226.
- [55] I. P. Ferreira, G. M. De Lima, E. B. Paniago, C. B. Pinheiro, J. L. Wardell, and S. M. S. V. Wardell, "Study of metal dithiocarbamate complexes, Part V. Metal complexes of [S2CN(CH2CH(OMe)2]: A standard dimeric zinc dithiocarbamate structural motive, a rare cadmium dithiocarbamate coordination polymer, and a hydrated sodium dithiocarbarmate complex, with a," *Inorganica Chim. Acta*, vol. 441, pp. 137–145, 2016, doi: 10.1016/j.ica.2015.11.011.
- [56] J. Z. Dianda, M. Sanuddin, and A. Hadriyati, "Synthesis of Zinc (II)N-Benzylmethyl Dithiocarbamate as an Antibacterial against Salmonella typhi," *Int. J. Pharm. Sci. Med.*, vol. 8, no. 5, pp. 46–52, 2023, doi: 10.47760/ijpsm.2023.v08i05.007.
- [57] V. Milacic, D. Chen, L. Giovagnini, A. Diez, D. Fregona, and Q. P. Dou, "Pyrrolidine dithiocarbamate-zinc(II) and -copper(II) complexes induce apoptosis in tumor cells by inhibiting the proteasomal activity," *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 231, no. 1, pp. 24–33, 2008, doi: 10.1016/j.taap.2008.03.009.
- [58] P. A. Ajibade, F. P. Andrew, N. L. Botha, and N. Solomane, "Synthesis, Crystal Structures and Anticancer Studies of Morpholinyldithiocarbamato Cu(II) and Zn(II) Complexes," *Mol. 2020, Vol. 25, Page 3584*, vol. 25, no. 16, p. 3584, Aug. 2020, doi: 10.3390/MOLECULES25163584.
- [59] Y. Yoshikawa, Y. Adachi, and H. Sakurai, "A new type of orally active anti-diabetic Zn(II)-dithiocarbamate complex," *Life Sci.*, vol. 80, no. 8, pp. 759–766, 2007, doi: 10.1016/j.lfs.2006.11.003.

- [60] P. J. Rani, S. Thirumaran, and S. Ciattini, "Synthesis, spectral and antibacterial studies on Ni(II) and Zn(II) complexes involving N -furfuryl- N - isopropylidithiocarbamate (f iprdtc) and Lewis bases: X-ray structure of [Ni(fiprdtc) (NCS)(PPh 3)]," *J. Sulfur Chem.*, vol. 35, no. 1, pp. 106–116, 2014, doi: 10.1080/17415993.2012.751989.
- [61] G. N. Khitrach and I. I. Seifullina, "Structure, spectral and thermal characteristics of zinc(II) halide complexes with N,N-dimethyl-N',N'-dimethylthiocarbamoyl sulfenamide," *Theor. Exp. Chem.*, vol. 46, no. 5, pp. 334–338, 2010, doi: 10.1007/s11237-010-9162-x.
- [62] A. T. Odularu and P. A. Ajibade, "Dithiocarbamates: Challenges, control, and approaches to excellent yield, characterization, and their biological applications," *Bioinorg. Chem. Appl.*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/8260496.
- [63] W. Schmitt, P. A. Jordan, R. K. Henderson, G. R. Moore, C. E. Anson, and A. K. Powell, "Synthesis, structures and properties of hydrolytic Al(III) aggregates and Fe(III) analogues formed with iminodiacetate-based chelating ligands," *Coord. Chem. Rev.*, vol. 228, no. 2, pp. 115–126, 2002, doi: 10.1016/S0010-8545(02)00110-8.
- [64] Z. B. Leka, V. M. Leovac, S. Lukić, T. J. Sabo, S. R. Trifunović, and K. M. Szécsényi, "Synthesis and physico-chemical characterization of new dithiocarbamate ligand and its complexes with copper(II), nickel(II) and palladium(II)," *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 83, no. 3, pp. 687–691, 2006, doi: 10.1007/s10973-005-6938-7.
- [65] K. Eller, E. Henkes, R. Rossbacher, and H. Höke, "Amines, Aliphatic," *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.*, 2000, doi: 10.1002/14356007.a02_001.
- [66] T. D. Keene, M. B. Hursthouse, and D. J. Price, "Two-dimensional metal-organic frameworks: A system with competing chelating ligands," *Cryst. Growth Des.*, vol. 9, no. 6, pp. 2604–2609, 2009, doi: 10.1021/cg800769z.
- [67] A. Zahirović *et al.*, "Dual Antimicrobial-Anticancer Potential, Hydrolysis, and DNA/BSA Binding Affinity of a Novel Water-Soluble Ruthenium-Arene Ethylenediamine Schiff base (RAES) Organometallic," *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 318, p. 124528, Oct. 2024, doi: 10.1016/J.SAA.2024.124528.
- [68] J. R. Úrbez-Torres, F. Peduto, R. J. Smith, and W. D. Gubler, "Phomopsis

- dieback: A grapevine trunk disease caused by *phomopsis viticola* in California,” *Plant Dis.*, vol. 97, no. 12, pp. 1571–1579, 2013, doi: 10.1094/PDIS-11-12-1072-RE.
- [69] A. and Food, “Phomopsis viticola: prohibited disease | Agriculture and Food.” Accessed: Aug. 17, 2024. [Online]. Available: <https://www.agric.wa.gov.au/table-grapes/phomopsis-viticola-prohibited-disease?page=0%2C2>
- [70] D. Udayanga, X. Liu, E. H. C. McKenzie, E. Chukeatirote, A. H. A. Bahkali, and K. D. Hyde, “The genus *Phomopsis*: Biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens,” *Fungal Divers.*, vol. 50, no. September, pp. 189–225, 2011, doi: 10.1007/s13225-011-0126-9.
- [71] G. J. Makatini, F. Halleen, C. Mutawila, P. Moyo, and L. Mostert, “Susceptibility of Grapevine Sucker and Green Shoot Wounds to Trunk Disease Pathogens,” *South African J. Enol. Vitic.*, vol. 44, no. 1, pp. 55–63, 2023, doi: 10.21548/44-1-makhath.
- [72] J. Latinović, A. Mazzaglia, N. Latinović, M. Ivanović, and M. L. Gleason, “Resistance of olive cultivars to *Botryosphaeria dothidea*, causal agent of olive fruit rot in Montenegro,” *Crop Prot.*, vol. 48, pp. 35–40, Jun. 2013, doi: 10.1016/j.cropro.2013.02.004.
- [73] B. T. Linaldeddu, G. Rossetto, L. Maddau, T. Vatrano, and C. Bregant, “Diversity and Pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* and *Phytophthora* Species Associated with Emerging Olive Diseases in Italy,” *Agric.*, vol. 13, no. 8, 2023, doi: 10.3390/agriculture13081575.
- [74] M. Đukić, “Strukturna, teorijska i biološka ispitivanja kompleksa rutenijuma(II) sa derivatima imidazola i izotiazola,” *Универзитет у Крагујевцу*, Feb. 2021, Accessed: Nov. 14, 2024. [Online]. Available: <https://nardus.mpn.gov.rs/handle/123456789/18233>
- [75] S. Tayyab and S. R. Feroz, “Serum albumin: clinical significance of drug binding and development as drug delivery vehicle,” *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.*, vol. 123, pp. 193–218, Jan. 2021, doi: 10.1016/BS.APCSB.2020.08.003.
- [76] M. Özyürek, K. Güçlü, and R. Apak, “The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 30, no. 4, pp. 652–664, 2011, doi: 10.1016/j.trac.2010.11.016.
- [77] M. Özyürek *et al.*, “A comprehensive review of CUPRAC methodology,”

- Anal. Methods*, vol. 3, no. 11, pp. 2439–2453, 2011, doi: 10.1039/c1ay05320e.
- [78] M. Özyürek, K. Güçlü, B. Bektaşoğlu, and R. Apak, “Spectrophotometric determination of ascorbic acid by the modified CUPRAC method with extractive separation of flavonoids–La(III) complexes,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 588, no. 1, pp. 88–95, Apr. 2007, doi: 10.1016/J.ACA.2007.01.078.
- [79] A. Petrović *et al.*, “Experimental and quantum chemical study on the DNA/protein binding and the biological activity of a rhodium(iii) complex with 1,2,4-triazole as an inert ligand,” *Dalt. Trans.*, vol. 49, no. 26, pp. 9070–9085, 2020, doi: 10.1039/d0dt01343a.
- [80] J. A. Van Bokhoven, A. M. J. Van der Eerden, and D. C. Koningsberger, “Three-coordinate aluminum in zeolites observed with in situ x-ray absorption near-edge spectroscopy at the Al K-edge: Flexibility of aluminum coordinations in zeolites,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 125, no. 24, pp. 7435–7442, 2003, doi: 10.1021/ja0292905.
- [81] A. Omegna, R. Prins, and J. A. Van Bokhoven, “Effect of temperature on aluminum coordination in zeolites H-Y and H-USY and amorphous silica-alumina: An in situ Al K edge XANES study,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, no. 19, pp. 9280–9283, 2005, doi: 10.1021/jp050086o.
- [82] Q. Sun and S. H. Wei, “Inverse design of stable spinel compounds with high optical absorption via materials genome engineering,” *J. Mater. Chem. A*, vol. 10, no. 23, pp. 12503–12509, Jun. 2022, doi: 10.1039/D2TA02306G.
- [83] a Le Nestour, M. Gaudon, G. Villeneuve, R. Andriessen, and A. Demourgues, “Steric and Electronic Effects Relating to the Cu 2 + Jahn – Teller Distortion,” *Inorg. Chem.*, vol. 46, no. 7, pp. 2645–2658, 2007.
- [84] A. M. W. E.T. Peck, S. Hill, *Pharmacology for Anaesthesia and Intensive Care*,. Cambridge University Press, 2021.
- [85] C. X. Zhang and S. J. Lippard, “New metal complexes as potential therapeutics,” *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 7, no. 4, pp. 481–489, 2003, doi: 10.1016/S1367-5931(03)00081-4.
- [86] S. Orrenius, C. S. I. Nobel, D. J. Van Den Dobbelsteen, M. J. Burkitt, and A. F. G. Slater, “Dithiocarbamates and the redox regulation of cell death,” *Biochem. Soc. Trans.*, vol. 24, no. 4, pp. 1032–1038, 1996, doi: 10.1042/bst0241032.
- [87] M. R. Antonijević *et al.*, “Comprehensive Experimental and Computational Analysis of the Structural and HSA Binding Properties of Newly Synthesized

- Coumarin-Trimethoxybenzohydrazide Derivative,” *Polycycl. Aromat. Compd.*, 2024, doi: 10.1080/10406638.2024.2339846.
- [88] J. R. Lakowicz and G. Weber, “Quenching of Fluorescence by Oxygen. a Probe for Structural Fluctuations in Macromolecules,” *Biochemistry*, vol. 12, no. 21, pp. 4161–4170, Oct. 1973, doi: 10.1021/BI00745A020.
- [89] O. Novakova, H. Chen, O. Vrana, A. Rodger, P. J. Sadler, and V. Brabec, “DNA interactions of monofunctional organometallic ruthenium(II) antitumor complexes in cell-free media,” *Biochemistry*, vol. 42, no. 39, pp. 11544–11554, Oct. 2003, doi: 10.1021/BI034933U.
- [90] M. A. Rizvi *et al.*, “Nuclear blebbing of biologically active organoselenium compound towards human cervical cancer cell (HeLa): in vitro DNA/HSA binding, cleavage and cell imaging studies,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 90, pp. 876–888, Jan. 2015, doi: 10.1016/J.EJMECH.2014.12.014.
- [91] J. M. Kelly, A. B. Tossi, D. J. McConnell, and C. Ohuigin, “A study of the interactions of some polypyridylruthenium (II) complexes with DNA using fluorescence spectroscopy, topoisomerisation and thermal denaturation,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 13, no. 17, pp. 6017–6034, Sep. 1985, doi: 10.1093/NAR/13.17.6017.

7. Prilozi

Prilog 1. Izvod publikovan u „Book of Abstracts of the 27 th Congress of SCTM“, ISBN 978-9989-760-20-4.



27th Congress of SCTM

Sept. 25-28, 2024, Metropol Lake Resort, Ohrid, N. Macedonia

OBPC P-40

Fungicidal Activity of The Zn(II) Complexes with Ethylenediamine and Dithiocarbamate Ligands on Phytopathogenic Fungus *Phomopsis Viticola*

Ksenija Petković,^{a*} Milica Kosović Perutović,^a Zorica Leka^a and Nedeljko Latinović^b

^a Faculty of Metallurgy and Technology, University of Montenegro, Podgorica, Montenegro

^b Biotechnical Faculty, University of Montenegro, Podgorica, Montenegro

*ksenijapetkovic12@gmail.com

Dithiocarbamates (DTC) are a versatile class of easily preparable monoanionic 1,1-dithioligands.¹ DTC ligands exhibit significant potential due to their interaction with transition metal ions, reducing metal toxicity and enhancing biological properties such as antibacterial, antifungal, antiviral, inhibitory, etc.

For the purpose of this study, influence of Zn(II) complexes with ethylenediamine (en) and ammonium-iminodiacetate-dithiocarbamate ((NH₄)₃idadc) as ligands: NH₄[Zn(idadc)(en)] and NH₄[Zn(idadc)(en)₂] on the inhibition of the pathogenic fungal mycelium *Phomopsis viticola* was analyzed. This phytopathogenic fungus causes by Phomopsis cane and leaf spot, a very significant vine disease that is common in Montenegrin vineyards.

The ligand and complexes, in five different concentrations were tested for fungus in laboratory conditions on PDA nutrient media. Complex NH₄[Zn(idadc)(en)₂] showed a statistically insignificant inhibition of mycelial growth, while the ligand did not show antifungal effect at all. The highest tested concentration of NH₄[Zn(idadc)(en)] showed the highest statistically significant effectiveness in inhibiting the tested fungus, but it is still significantly less effective compared to the tested commercial active substance ziram. The results indicate that the coordination of (NH₄)₃idadc with Zn(II) enhances the antifungal activity against the studied fungus.

Keywords: dithiocarbamate, antifungal, complexes, inhibition

References

1. Leka Z., Vojta D., Kosović M., et al. Syntheses, structures and antifungal activities of novel Co, Mo and Pt complexes with triammonium N,N-diacetatedithiocarbamate, *Polyhedron*. **2014**, 80:233-242. DOI:10.1016/j.poly.2014.04.045