



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Душица Симијоновић

**Деривати етаноламина као јонске течности и прекурсори  
биолошки и каталитички активних Pd(II)-комплекса**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2014.

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

Тему за овај рад предложила је др Зорица Д. Петровић редовни професор Природно-математичког факултета у Крагујевцу, која је и руководила његовом израдом. Овом приликом јој се захваљујем на великом разумевању, подршци и помоћи током израде и писања дисертације.

Такође, захваљујем се професору др Светлани Марковић са Природно-математичког факултета у Крагујевцу на великој помоћи при примени теорије функционала густине и корисним саветима током израде дисертације.

Професорима др Љиљани Чомић и др Зорану Марковићу, као и доценту др Милану Јоксовићу се захваљујем за корисне сугестије и савете током писања дисертације.

Захваљујем се и колеги др Владимиру Петровићу на лепој и успешној сарадњи током израде ове докторске дисертације.

## Садржај

	Списак слика и схема.....	1
	Списак табела.....	6
	Извод.....	8
	Summary.....	10
1.	ОПШТИ ДЕО.....	12
1.1.	Јонске течности и њихова примена.....	13
1.2.	Историјски развој јонских течности.....	13
1.3.	Основне особине јонских течности.....	15
1.4.	Структура јонских течности.....	16
1.5.	Киселе и базне јонске течности.....	18
1.5.1.	Амфотерни анјони.....	19
1.5.2.	Неутрални анјони.....	19
1.6.	Органске синтезе – нове супстанце и нове методе.....	19
1.6.1.	Примена јонских течности у органским синтезама.....	20
1.6.2.	Јонске течности као катализатори неких органских реакција.....	20
1.6.3.	Алдолна кондензација.....	21
1.6.4.	Кневенагелова реакција.....	22
1.6.5.	Хенријева реакција.....	23
1.6.6.	Мајклова реакција.....	24
1.6.7.	Манихова реакција.....	26
1.6.8.	Фридел-Крафтсова реакција.....	28
1.6.9.	Дилс-Алдерова реакција.....	30
1.7.	Јонске течности у улози растварача и лиганда за каталитички активне комплексе у реакцијама формирања C–C везе.....	32
1.7.1.	Хекова реакција.....	34
1.7.2.	Сузукијева реакција.....	38
1.7.3.	Стилова реакција.....	42
1.7.4.	Негишијева реакција.....	44
1.7.5.	Соногаширина реакција.....	45
1.8.	Биолошка активност паладијум(II)-комплекса.....	49
1.8.1.	Антитуморска и антимикуробна активност паладијум(II)-комплекса.....	50
1.8.2.	Комплекси паладијума(II) као вештачке металопептидазе.....	53

2.	НАШИ РАДОВИ.....	57
2.1.	Увод.....	58
2.2.	Етаноламинске јонске течности, синтеза и карактеризација.....	60
2.2.1.	Понашање испитиваних јонских течности у различитим растварачима..	63
2.3.	Примена неких етаноламинских јонских течности у Маниховој реакцији.....	69
2.3.1.	Опис кристалне структуре једињења <b>12</b> .....	73
2.3.2.	Механистичко разматрање Манихове реакције.....	76
2.4.	Примена неких диетаноламинских и <i>N,N</i> -диетилетаноламинских јонских течности у Хековој реакцији.....	85
2.5.	Триетаноламонијум-ацетат као мултифункционална јонска течност у паладијум-катализованој зеленој Хековој реакцији.....	89
2.5.1.	Механизам формирања Pd(II)-комплекса.....	91
2.5.2.	Механизам формирања Pd(0)-комплекса.....	94
2.6.	Антимикробна активност јонских течности триетаноламонијум-ацетата и диетаноламонијум-хлорида и њихових одговарајућих Pd(II)-комплекса.....	98
2.7.	[HDEA] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ] комплекс у улози вештачке металопептидазе.....	101
2.7.1.	Реакција [HDEA] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ] комплекса са <i>N</i> -ацетил- <i>L</i> -хистидил-глицином.....	102
2.7.2.	Реакција [HDEA] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ] комплекса са <i>N</i> -ацетил- <i>L</i> -метионил-глицином.....	103
3.	ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО.....	107
3.1.	Физичка мерења.....	108
3.2.	Протокол за синтезу етаноламинских јонских течности ( <b>1-11</b> ).....	108
3.3.	Протокол Манихове реакције бензалдехида, анилина и циклохексанона изведене у јонским течностима <b>3</b> , <b>9</b> , <b>10</b> и <b>11</b> као растварачима и катализаторима.....	109
3.4.	Протокол Манихове реакције изведене у присуству јонских течности <b>3</b> , <b>9</b> , <b>10</b> и <b>11</b> као катализатора и етанолу као растварачу (редни бројеви реакција 5-12 у табели 15).....	109
3.5.	Рендгенска структурна анализа.....	111
3.6.	Протокол за синтезу <i>trans</i> -[PdCl <sub>2</sub> (DEA) <sub>2</sub> ] комплекса.....	111

3.7.	Протокол за синтезу $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ комплекса.....	112
3.8.	Протокол Хекове реакције изведене у присуству јонских течности <b>1</b> , <b>4</b> , <b>5</b> и <b>7</b> као база, растварача и лиганда (редни бројеви реакција 1-24 у табели 18).....	112
3.9.	Рециклажа каталитичког система $\text{II-Pd}$ .....	113
3.10.	Протокол за синтезу <i>trans</i> - $[\text{PdCl}_2(\text{TEA})_2]$ комплекса у јонској течности <b>8</b> .....	114
3.11.	Протокол Хекове реакције изведене у присуству јонске течности <b>8</b> или ТЕА као базе, растварача и лиганда (редни бројеви реакција 1-12 у табели 19).....	114
3.12.	Микробиолошка испитивања.....	115
3.12.1.	Тестирани микроорганизми.....	115
3.12.2.	Микродилуциона метода.....	116
3.13.	Ацетиловање терминалне аминок групе у <i>L</i> -хистидил-глицину и <i>L</i> -метионил-глицину.....	117
3.14.	Хидролитичке реакције $\text{AcHis-Gly}$ и $\text{AcMet-Gly}$ дипептида катализоване $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ комплексом.....	118
3.15.	Рачунарске методе.....	118
3.16.	Табеле са одабраним међуатомским растојањима и одабраним угловима, као и табеле са енергетским садржајима структура.....	120
4.	ЗАКЉУЧАК.....	132
5.	ЛИТЕРАТУРА.....	136
6.	ПРИЛОГ.....	145
6.1.	Биографија.....	146
6.2.	Списак публикованих научних радова.....	147
6.2.	Публиковани научни радови у којима су презентовани резултати докторске дисертације.....	149

## **Списак слика и схема**

Слика 1. Структуре неких катјона и ањона јонских течности.

Слика 2. Каталитички системи коришћени у реакцијама Фридел-Крафтсовог алкиловања и ациловања.

Слика 3. Успостављање водоничне везе између катјона јонске течности и метил-акрилата у активаном комплексу Дилс-Алдерове реакције.

Слика 4. Каталитички циклус Хекове реакције.

Слика 5. Структура гуанидинијумових јонских течности.

Слика 6. Комплекс паладијума(II) и гуанидина.

Слика 7. Паладијум-бис-карбенски комплекс.

Слика 8. Јонске течности са *N*-бутиронитрилпиридијум катјонима  $[C_3CNpy]^+$ .

Слика 9. Јонска течност примењена у Негишијевој реакцији.

Слика 10. Врло ефикасан катализатор за Соногаширину реакцију 1-глицил-3-метил-имидазолијум хлоро-паладијум(II)-комплекс.

Слика 11. Јонска течност трибутилдецилфосфонијум-*N*-хептил-2-амино-3-фенилпропионат.

Слика 12. Бензил-бис-тиосемикарбазон.

Слика 13. Паладијум(II)-комплекс са стероидним тиосемикарбазонима.

Слика 14. Комплекси паладијума(II) који су коришћени као катализатори за хидролизу пептида и протеина.

Слика 15. Каталитички активан комплекс паладијума(II) који се формира током реакције са пептидом у чији састав улази хистидин.

Слика 16. Хелатни паладијум(II)-комплекс са *N*-ацетилованим дериватом *L*-хистидил-глицина.

Слика 17. Оптимизоване структуре етанолминских јонских течности.

Слика 18. Везивне енергије ILS у растварачима са различитим диелектричним константама.

Слика 19. Солватационе енергије ILS у растварачима са различитим диелектричним константама.

Слика 20. Зависност  $\Delta E_{BE}$  од разлике у NBO наелектрисувању.

Слика 21. Зависност  $\Delta G_{solv}$  од разлике у NBO наелектрисувању.

Слика 22. Молекулска структура једињења **12**, представљена са нивом вероватноће од 40%. Ознаке атома са слике остају непромењене у целом раду.

Слика 23. Међусобна оријентација молекула унутар димера формираног преко N1–H...O3<sup>i</sup> водоничних веза [Симетријски код: (i)  $-x+2, -y+1, -z+1$ ], са нивом вероватноће од 30%.

Слика 24. Хидроксилна група O1–H учествује у интермолекулској O–H... $\pi$  интеракцији. Метил група C7 такође учествује у интермолекулским интеракцијама (C–H... $\pi$ ). Тачкасте плаве линије означавају C...H везе, са растојањем краћим од 3.0 Å.

Слика 25. Илустрација  $\pi$ ... $\pi$  интеракције фенил-прстенова C9–C14 у кристалној структури једињења **12**. Илустрација је дата у две ортогоналне пројекције.

Слика 26. Оптимизоване структуре прелазних стања у *R* и *RS* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима у (Å).

Слика 27. Прелазна стања која се појављују у *S* и *SR* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима у (Å).

Слика 28. Интермедијери који фигуришу у *R* и *S* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима у (Å).

Слика 29. Интермедијери који фигуришу у *RS* и *SR* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима у (Å).

Слика 30. Резултати IRC прорачуна за нека прелазна стања.

Слика 31. НОМО-Мапа анилина (горе лево) и LUMO-мапа ванилина (горе десно). LUMO-Мапа иминијум јона (доле лево) и НОМО-мапа енола (доле десно).

Слика 32. Оптимизована структура [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] комплекса са описаном LUMO мапом.

Слика 33. Бифазна смеша јонска течност – паладијум каталитички систем (доњи слој) и диетил-етар/хексан (горњи слој).

Слика 34. Оптимизоване геометрије *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] комплекса (Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса).

Слика 35. НОМО мапа јонске течности **8**.

Слика 36. LUMO мапа интермедијера **24**.

Слика 37. Резултат IRC прорачуна за прелазно стање **28**.

Слика 38. Оптимизоване структуре **29a** и **31a** – структуре добијене оптимизацијом коначног производа реакције преактивације **31** и HCl заједно.

Слика 39. Резултат IRC прорачуна за прелазно стање **30**.

Слика 40. Део <sup>1</sup>H NMR спектра реакције хидролизе AcHis-Gly комплексом [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] у функцији од времена при pH 2, на температури од 60°C и у D<sub>2</sub>O као растварачу. Хемијска померања су дата у ppm. Означени сигнали се односе на: (a) метиленски протони глицина из полазног дипептида; (b) протонвана диетаноламинска јединица [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] комплекса; и (c) метиленски протони слободног глицина.

Слика 41. Део <sup>1</sup>H NMR спектра хидролитичке реакције AcMet-Gly и [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] комплекса у функцији од времена, у D<sub>2</sub>O као растварачу. Хемијска померања дата су у ppm у односу на TSP.

Слика 42. Оптимизоване структуре полазног дипептида, интермедијера и производа.

Слика 43. Структуре добијене оптимизацијом **8** и PdCl<sub>2</sub> заједно, **24** и AcOH (**24a**), **24** и **8** (**24b**), Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса са AcOH (**Pd-N,Na** и **Pd-N,Oa**).



- Схема 1. Схематски приказ реакције алдолне кондензације.
- Схема 2. Општи приказ Кневенагелове реакције.
- Схема 3. Реакција између нитроалкана и карбонилних једињења - Хенријева реакција.
- Схема 4. Општа схема Мајклове реакције.
- Схема 5. Манихова реакција приказана у општем облику.
- Схема 6. Претпостављени механизам Манихове реакције.
- Схема 7. Реакције Фридел-Крафтсовог алкиловања и ациловања.
- Схема 8. Дилс-Алдерова реакција приказана у најопштијем облику.
- Схема 9. Реакција циклоадиције циклопентадиена на метил-акрилат.
- Схема 10. Неке истакнуте паладијум-катализоване реакције које се изводе у јонским течностима.
- Схема 11. Општи облик Хекове реакције.
- Схема 12. Карбенски комплекс паладијума образован *in situ* у условима Хекове реакције.
- Схема 13. Сузукијева реакција приказана у општем облику.
- Схема 14. Каталитички циклус Сузукијеве реакције.
- Схема 15. Сузукијева реакција катализована једињењима паладијума изведена у јонској течности.
- Схема 16. Општи облик Стилове реакције.
- Схема 17. Реакциони механизам Стилове реакције.
- Схема 18. Негишијева реакција примењена у синтези биарилованих једињења.
- Схема 19. Негишијева реакција изведена у бифазном систему јонска течност/толуен коришћењем (Pd(dba)<sub>2</sub>) као катализатора.
- Схема 20. Схематски приказ Соногаширине реакције.
- Схема 21. Механизам Соногаширине реакције изведене у присуству Cu(I)-соли као ко-катализатора.

Схема 22. Механизам Соногаширине реакције без присуства  $\text{Cu(I)}$ -соли као ко-катализатора.

Схема 23. Могући начини хидролизе амидне везе пептида који у бочном низу садржи сумпор.

Схема 24. Синтеза серије етаноламинских јонских течности.

Схема 25. Претпостављени механизам за Манихову реакцију између ванилина, анилина и циклохексанона, катализоване једињењем **9**.

Схема 26. У случају када катализатор није присутан некатализована дехидратација интермедијера **15** се дешава. Итермедијери **15-S** и **15-R** пролазе кроз одговарајућа прелазна стања **S** и **R** и дају исту Шифову базу.

Схема 27. Претпостављени механизам формирања  $\text{Pd-N,N}$  и  $\text{Pd-N,O}$ -комплекса.

Схема 28. Претпостављени механизам формирања  $\text{Pd(0)}$ -комплекса.

## *Списак табела*

Табела 1. Главни кораци у историјском развоју јонских течности.

Табела 2. Тачке топљења неких алкилимидазолијум јонских течности.

Табела 3. Киселост и координативне особине неких анјона.

Табела 4. Спектрална карактеризација јонских течности.

Табела 5. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 1**.

Табела 6. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 2**.

Табела 7. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 3**.

Табела 8. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 4**.

Табела 9. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 5**.

Табела 10. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 6**.

Табела 11. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 7**.

Табела 12. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 8**.

Табела 13. Међуатомска растојања ( $\text{y \AA}$ ) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у **II 9**.

Табела 14. Гасна фаза - везивне енталпије за испитиване **II**s.

Табела 15. Манихова реакција катализована различитим еаноламинским хлорацетаним јонским течностима.

Табела 16. Кристалографски подаци једињења **12**.

Табела 17. Експериментална и израчуната међуатомска растојања ( $\text{\AA}$ ) у једињењу **12**. Експериментални и израчунати подаци односе се на чврсту и гасовиту фазу, респективно.

Табела 18. Паладијум-катализована Хекова реакција у различитим јонским течностима.

Табела 19. Паладијум-катализована Хекова реакција у различитим реакционим медијумима.

Табела 20. Означена међуатомска растојања ( $\text{\AA}$ ) испитиваних врста за формирање Pd(II)-комплекса.

Табела 21. Вредности за укупну енергију, енталпију и слободну енергију за све истраживане врсте у механизму формирања Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса. Структуре **8** + PdCl<sub>2</sub>, **24a**, **24b**, **Pd-N,Na** и **Pd-N,Oa** су дате на слици 43 испод табеле.

Табела 22. Нека међуатомска растојања ( $\text{\AA}$ ) за испитиване врсте у механизму формирања Pd(0)-комплекса.

Табела 23. Вредности за укупну енергију, енталпију, и слободну енергију за све истраживане врсте у механизму формирања Pd(0)-комплекса.

Табела 24. Антибактеријска активност [TEA][HOAc], [HDEA][Cl] и одговарајућих комплекса ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Табела 25. Антифунгална активност [TEA][HOAc], [HDEA][Cl] и одговарајућих комплекса ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Табела 26. Нека међуатомска растојања ( $\text{\AA}$ ) у круцијалним интермедијерима и производима.

Табела 27. Списак тестираних микроорганизама.

## Извод

Последњих година јонске течности привлаче велику пажњу, како науке тако и индустрије. Почетак њихове примене неки називају “зеленом“ хемијском револуцијом. У прилог томе сведочи непрекидан пораст броја до сада објављених радова и патената из ове области (више од 10000 радова и више од 2000 патената). Ова нова група једињења може утицати на смањење употребе токсичних и загађујућих органских растварача због њихових јединствених физичко-хемијских карактеристика и могућности да се примене у различитим синтезама. Термини као што су стопљене соли, неводене јонске течности и течне органске соли се, такође, користе да би се описала ова јонизована једињења која су течна на собној температури, супротно неорганским солима које се топе на изузетно високим температурама. Због свих ових особина које показује ова интересантна група једињења, у оквиру ове дисертације извршена је синтеза и карактеризација неких нових јонских течности на бази деривата етаноламина.

За већину органских реакција које су традиционално катализоване уобичајеним киселинама и базама, могу се као катализатори употребити и одговарајуће јонске течности. Алдолна кондензација, Кневенагелова, Мајклова, Манихова, Хенријева, Дилс-Алдерова и Фридел-Крафтсова реакција су само неке од њих.

У оквиру ове дисертације испитана је каталитичка улога неких етаноламинских јонских течности у Маниховој реакцији, као и њихов утицај на стереохемију добијених производа. Методама функционала густине испитан је механизам одвијања ове реакције.

Један од највећих изазова органске хемије је свакако стварање C–C везе. Међутим, угљеник је стабилан и атоми угљеника не реагују лако један са другим. Синтеза једноставних органских једињења више није проблематична, али при синтезама сложенијих молекула долази до стварања великог броја нуспроизвода. Развојем паладијум-катализованих реакција решен је тај проблем. У овим реакцијама атоми угљеника се везују за паладијум, након чега долази до покретања хемијске реакције. Хекова, Негишијева, Сузукијева, Стилова и Соногаширина реакција су нарочито познате паладијум-катализоване реакције које се изводе у јонским течностима. Показало се да су

овакве реакције врло ефикасне и да не долази до таложења елементарног паладијума, односно губитка катализатора.

У светлу ових чињеница, у оквиру ове дисертације тестиран је утицај неких етаноламинских јонских течности на ток реакција Хековог типа и испитиван механизам формирања прекаталитички активне Pd(II)-врсте, неопходне за њихово одвијање. Показало се да су употребљене јонске течности одличан реакциони медијум, и да су ефикасни лиганди за формирање Pd(II), односно Pd(0), комплекса као катализатора.

На основу литературних података могло се закључити да су се неки од Pd(II)-комплекса показали као добри антимикуробни агенси, али да њихова антитуморска активност није нарочито изражена. Такође, познато је да комплекси паладијума(II) катализују селективну хидролизу амидне везе у пептидима и протеинима, при врло благим реакционим условима. Према томе, они се могу сматрати и обећавајућим агенсима за селективну хидролизу пептидне везе, односно могу се користити као ефикасне металопептидазе. Имајући ово у виду, тестирана је каталитичка улога диетаноламонијум-тетрахлоридо-паладат(II)-комплекса ( $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ ) у хидролитичким реакцијама са *N*-ацетилованим дериватима *L*-хистидил-глицина (AcHis-Gly) и *L*-метионил-глицина (AcMet-Gly). Такође, испитивана је и антимикуробна активност неких јонских течности и Pd(II)-комплекса добијених из њих.

## Summary

For last two decades ionic liquids attract great attention from both science and industry. The beginning of their application is marked as new “green” chemical revolution. This is demonstrated by the continually growing number of publications and patents (currently > 10000 and > 2000, respectively). This new class of compounds can reduce the usage of toxic and polluting organic solvents, due to their unique physico-chemical properties, and their ability to be applied in different synthesis. Terms such as molten salts, non-aqueous ionic liquids and liquid organic salts are used to describe these ionized compounds which are liquid at room temperature, opposite to inorganic salts which melts at extremely high temperature, aslo. Due to all these properties of which poseses this interesting group of compounds, synthesis and characterization of some new ionic liquids derivatives of ethanolamine was performed in this thesis.

Many organic reactions, which are traditionally catalyzed by conventional acids and bases, can be catalyzed by corresponding ionic liquids, also. Reactions such as Aldol condensation, Knoevenagel, Michael, Mannich, Henry, Diels-Ader, Friedel-Crafts reaction, are just some of them.

In this dissertation, catalytic role of some ethanolamine ionic liquids is investigated, as well as their impact on the stereoselectivity of the Mannich reaction products. The mechanism of the Mannich reaction was examined using Density Functional Theory (DFT).

One of the biggest challenges in organic chemistry is certainly formation of C–C bonds. Carbon atoms are stable, and do not react easily with one another. The synthesis of simple organic compounds has not been problematic, but the synthesis of more complex molecules leads to the formation of a large number of by-products. The development of palladium-catalyzed reactions solved this problem. In these reactions, carbon atoms meet on palladium, after which the chemical reaction begins. Heck, Negishi, Suzuki, Stille and Sonogashira reactions are well known palladium-catalyzed reactions, which are carried out in the presence of ionic liquids. It has been shown that these reactions are very efficient, and appearance of precipitated elemental palladium was not observed, i.e. there was not loss in catalyst activity.

In light of this, the effect of some ethanolamine ionic liquids on the Heck type reactions was tested. Also, the mechanism of formation of Pd(II) species necessary for performing these reactions was elucidated. Used ionic liquids were excellent reaction medium and efficient ligands for formation of Pd(II), as well as Pd(0), complexes as catalyst.

On the basis of literature data it could be concluded that some Pd(II) complexes act as good antimicrobial agents, but their antitumor activity is not particularly pronounced. Also, it is known that palladium(II) complexes catalyze selective hydrolysis of the amide bonds in peptides and proteins, under very mild conditions. Therefore, they can be considered as promising agents for the selective hydrolysis of peptide bond, and can be used as effective metallopeptidases. Bearing this in mind, catalytic role of diethanolammonium-tetrachloridopalladate(II) complex ( $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ ) was tested in the hydrolytic reaction with *N*-acetylated derivatives of *L*-histidil-glycine (AcHis-Gly) and *L*-metionil-glycine (AcMet-Gly). The antimicrobial activity of some ionic liquids and Pd(II)-complexes, obtained from them, was examined, also.



# ***1. ОПШТИ ДЕО***

## 1.1 Јонске течности и њихова примена

Пошто се већина хемијских реакција одвија у раствору, растварач игра кључну улогу у њиховом одвијању, односно трансформисању полазног супстрата, како у лабораторији тако и у индустрији. Како је човечанство данас оптерећено многим еколошким проблемима све више тежи њиховом решавању, па и замени лако испарљивих органских растварача алтернативним, односно за животну средину мање штетним растварачима. Из овог разлога већ дужи низ година постоји велико интересовање за истраживања у области органске хемије која се базирају на примени јонских течности.

## 1.2. Историјски развој јонских течности

Прва јонска течност добијена је још 1914. године од стране Пола Волдена. Био је то етиламонијум-нитрат  $[\text{EtNH}_3]\text{NO}_3$  [1]. Ова органска со је течна на собној температури, али није изазвала значајније интересовање у то време. Тек много година касније се испоставило да је ово неочекивано откриће довело у ствари до открића нове класе растварача. Двадесет година касније (1934. године) објављен је први патент у коме је представљена јонска течност *N*-етил-пиридинијум-хлорид, за коју је показано да раствара целулозу и утиче на промену њене реактивности [2]. Ипак, ни ова публикација није изазвала интересовање вредно пажње у научним круговима. Нешто касније, крајем четрдесетих година, *N*-алкил-пиридинијум хлоралуминати су испитивани као електролити [3]. Јонске течности овог типа су биле предмет истраживања и научника Остерјанга [4,5] и Вилкеса [6] крајем седамдесетих, и Хасеја и Седона [7,8] почетком осамдесетих година. Међутим, основна препрека за њихову примену у батеријама је била лака редукција пиридинијум катјона. Зато се врло брзо почело са применом далеко стабилнијег имидазолијум катјона. Прве примере јонских течности са диалкил-имидазолијум катјонима и хлоралуминатним ањонима ( $\text{AlCl}_4^-$  или  $\text{Al}_2\text{Cl}_7^-$ ) приказали су Вилкес и његови сарадници почетком осамдесетих година, и успешно их применили као раствараче и катализаторе у реакцији Фридел-Крафтсовог ациловања [9]. Озбиљна препрека за широку примену ових јонских течности је била висока реактивност хлоралуминатних ањона са водом. Почетком деведесетих година Вилкес је синтетизовао етилметил-имидазолијум-тетрафлуороборат ( $[\text{emim}][\text{BF}_4]$ ), који и данас привлачи пажњу као медијум за хомогене

катализе [10]. За разлику од хлоралуминатних соли, тетрафлуороборатне и хексафлуорофосфатне соли деривата имидазола погодне су за хидролитичке реакције. У међувремену синтетизован је велики број нових јонских течности комбинацијом различитих катјона и анјона, које су нашле примену у различитим реакцијама. Тако су крајем деведесетих година Хауваз [11], Седон [12], Васершаед [13] и њихови сардници, почели са синтезом и применом хиралних јонских течности које су садржале катјоне имидазола и анјоне одговарајућих аминокиселина. Од када је уочено да хиралне јонске течности доводе до одговарајуће хиралности и реакционих производа, интерес за ова једињења је још више повећан, а њихова примена (нарочито индустријска) постала интензивнија [14]. Сажет редослед најважнијих открића у погледу ових једињења дат је у табели 1.

Последњих десетак година велики део истраживачког рада усмерен је ка развоју јонских течности ниске токсичности и високе биодјеградабилности. Резултати су и даље скромни, јер највише примењиване соли садрже имидазол и пиридин – токсичне супстанце ниске биодјеградабилности. Истраживања су потврдила да јонске течности које у свом саставу садрже катјон који је сличан холину (на пример етаноламин или неки његов дериват), а као анјон лактат, показују минималну токсичност и високу биодјеградабилност [15-17]. Ово се објашњава на тај начин што су ове супстанце учесници биолошких и метаболичких процеса, па самим тим су и погодне за разградњу под дејством микроорганизама.

Табела 1. Главни кораци у историјском развоју јонских течности.

Година	Откриће
1914	Прво спомињање јонских течности
1934	Први патент о јонским течностима
1948	Откривене су хлоралуминатне јонске течности
1972	Хидроформиловање етена у јонским течностима
1982	Почело се са применом имидазолијум катјона у јонским течностима
1990/92	Прве хомогене реакције у јонским течностима
1997/99	Увођење функционализованих и хиралних јонских течности
2007	Увођење високо биодјеградабилних мање токсичних јонских течности
2012-...	Усавршавање постојећих и проналажење бољих јонских течности

### 1.3. Основне особине јонских течности

Супстанце које садрже само позитивне и негативне јоне и течне су на собној температури и температурама нижим од 100 °C, припадају новој класи јонских једињења која се зову јонске течности. Раније су се под јонским течностима подразумевале само стопљене соли, које се добијају стапањем кристалних соли чије температуре топљења често прелазе и 800 °C.

Јонске течности поседују низ карактеристика које их чине привлачним и еколошки прихватљивим хемикалијама. Нису експлозивне, нити запаљиве и користе се као добра замена за токсичне и лако испарљиве органске раствараче, због чега се још популарно зову и „зеленим“ растварачима. Могу се применити у реакцијама које су катализоване прелазним металима где служе као реакциони медијуми, координујући лиганди и базе. Овако једноставни каталитички системи пружају још једну изузетну погодност – могу се употребити више пута без значајнијег смањења каталитичке активности.

Јонске течности имају следеће особине које их јасно одвајају од воде и класичних органских растварача, и због којих се и сматрају посебним (чак и магичним) хемикалијама:

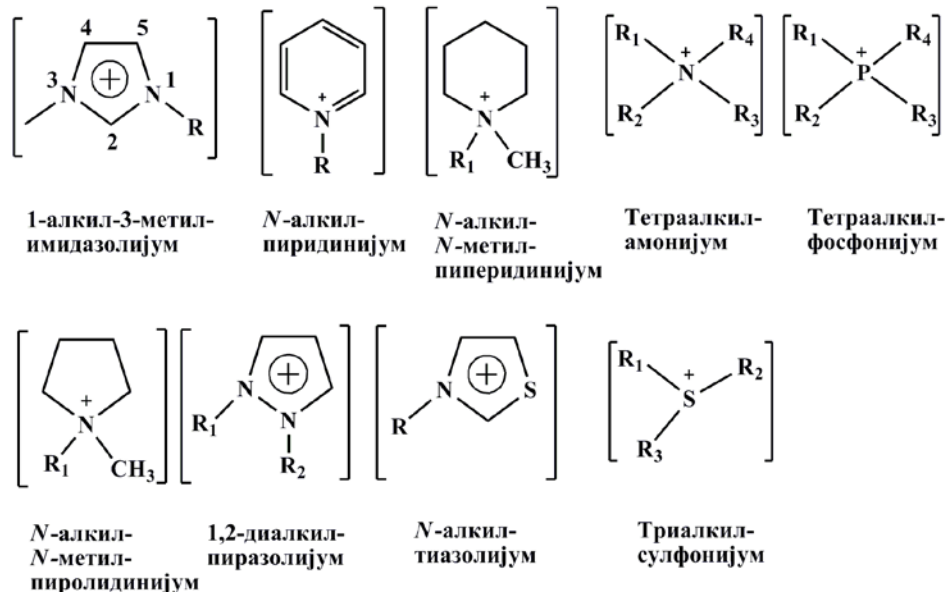
- Оне углавном немају напон паре до близу температуре разлагања, односно не испаравају и лако их је задржати у течном стању, многе од њих су у течном стању и преко 300 °C;
- Поседују приметну термичку стабилност;
- Оне могу растварати широк спектар органских, неорганских и органометалних једињења;
- Растварају гасове, као што су водоник, угљен-моноксид и кисеоник, па могу бити добри растварачи и за каталитичке хидрогенизације, реакције карбониловања, хидроформиловања и аеробне оксидације;

- Јонске течности се не мешају са неким органским растварачима, нпр. са засићеним и ароматичним угљоводоницима, и представљају добар поларни неводени медијум за бифазне каталитичке системе, обезбеђујући при томе да катализатор остаје у једној фази а производ реакције у другој [18-20];
- Погодним комбиновањем катјона и анјона у јонским течностима могу се дизајнирати подесни катализатори помоћу којих се могу повећати активности молекула и остварити високе селективности;
- Јонске течности су погодни медијуми за извођење чистих реакција, односно реакција са минималним отпадом.

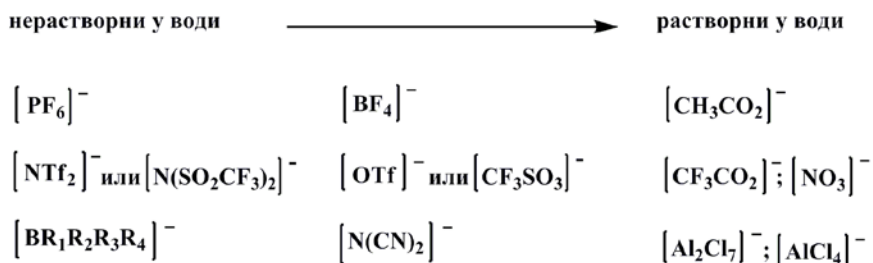
#### **1.4. Структура јонских течности**

Јонске течности настају комбинацијом великог броја различитих катјона и анјона. Погодним избором јона могу се добити јонске течности са тачно одређеним физичко-хемијским особинама. Најчешће коришћени катјони су: 1-алкил-3-метил-имидазолијум, *N*-алкил-пиридинијум, тетраалкил-амонијум, тетраалкил-фосфонијум, *N*-алкил-*N*-метил-пиролидинијум, 1,2-диалкил-пиразолијум, *N*-алкил-тиазолијум и триалкил-сулфонијум, а анјони: хексафлуорофосфат, бис[(трифлуорометил)сулфонил]амид, тетраалкилборат, тетрафлуороборат, трифлуорометил сулфат, дицијаноамид, ацетат, трифлуорометил ацетат, нитрат и хлоралуминати. Структуре ових катјона и анјона дате су на слици 1.

катјони:



анјони:



Слика 1. Структуре неких катјона и анјона јонских течности.

У најзначајније физичко-хемијске особине јонских течности спадају тачка топљења и термичка стабилност. Ове карактеристичне особине су у корелацији са структуром и саставом јонских течности. Избором несиметричног катјона добија се јонска течност са нижом тачком топљења. На тачку топљења још утиче и природа анјона [21]. Неки примери диалкилимидазолијум соли и утицај анјона и супституената на тачке топљења приказани су у табели 2. Многе јонске течности су стабилне и до температуре преко 400 °С. На термичку стабилност више утиче природа анјона него катјона [22]. Утврђено је да се термичка стабилност повећава са повећањем хидрофилности анјона.

Табела 2. Тачке топљења неких алкилимидазолијум јонских течности.

R	X	t.t./°C
Me	Cl	125
Et	Cl	87
n-Bu	Cl	65
Et	NO <sub>3</sub>	38
Et	AlCl <sub>4</sub>	7
Et	BF <sub>4</sub>	6
Et	CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub>	-9
Et	(CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N	-3
Et	CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	-14
n-Bu	CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub>	16

### 1.5. Киселе и базне јонске течности

Пошто киселост и базност реакционог медијума има битан утицај на ефикасност многих реакционих процеса, постоји значајно интересовање за развој уско специфичних јонских течности, а чија је специфичност базирана на одговарајућем катјону и/или анјону. Тако је и киселост, односно базност јонских течности одређена присутним катјонима, анјонима или комбинацијом катјона и анјона. Може се рећи да су до сада киселе јонске течности највише коришћене.

На основу киселих особина активног места оне су подељене у три групе. Прву групу чине Луисове киселе јонске течности, чије активно место има особине Луисове киселине и може да преузме електронски пар из Луисове базе. Друге су Бренштедове киселе или протичне јонске течности које имају активно место са протичним киселим карактером и способност преноса протона са киселине на базу. Трећу групу чине комбиноване Бренштед-Луисове јонске течности, које поседују истовремено Бренштедове и Луисове карактеристике. Најједноставнији примери слабо киселих јонских течности су оне са протичним амонијум, пиролидинијум и имидазолијум катјонима и хлоралуминатним анјонима [23,24].

У поређењу са киселим јонским течностима, базне јонске течности су почеле да се појављују и примењују нешто касније. У складу са традиционалном дефиницијом киселина и база, базне јонске течности могу да се поделе у две групе: на Луисове и Бренштедове базне јонске течности. По првој дефиницији оне су способне да дају један или више слободних електронских парова, а по другој, оне су акцептори једног или више протона. Бројне јонске течности настале из анјона као што су дицијаноамид, лактат, формијат, ацетат и други карбоксилати, су класификоване као базне. Базност ових анјона је различита и далеко већа од базности воде, због чега се очекује да се понашају као јачи акцептори протона од воде [25].

### ***1.5.1. Амфотерни анјони***

Постоји мали број анјона јонских течности који припадају интересантној класи амфотерних анјона. Ови анјони имају способност да узимају и дају протоне зависно од других присутних супстанци. Једноставни примери таквих анјона су хидрогенсулфат и дихидрогенфосфат [25].

### ***1.5.2. Неутрални анјони***

Типични неутрални анјони су у кисело-базном смислу описани као врло слабо базни и који показују само слабе електростатичке интеракције са катјоном и самим тим имају ниску тачку топљења и вискозност. У ову групу анјона спадају хексафлуорофосфат, бис(трифлуорометансулфонила)амид, трифлуороборат, *p*-толуенсулфонат и тиоцијанат [26,27].

## **1.6. Органске синтезе – нове супстанце и нове методе**

Још од најранијих дана, од алхемијског периода, хемичари су настојали да досегну природу и направе молекуле и структуре за које се сматрало да их само природа може створити. Зато је данас највећи изазов за хемичаре не само да досегну природу већ и да је превазиђу. Њихов задатак је да развијају нове методе и хемијске реакције које ће омогућити синтезу свих важнијих молекула, а нарочито оних које природа не синтетизује, али и да остваре синтезу оних важних природних једињења чији је поступак изоловања и пречишћавања сложен и скуп. За добијање оваквих производа, који нису важни само за



хемију, већ и за медицину, биологију, агрономију и друге области, важно је проналажење добрих и ефикасних производних процеса, прихватљивих за околину, са што мање нежељених споредних производа, и уз мали утрошак енергије. Органометалној хемији, свакако, припада заслуга за многе овакве трансформације. Податак да свака четврта синтеза у фармацеутској индустрији подразумева примену макар једне од метал-катализованих реакција у некој од фаза (према Нобеловом комитету), говори о значају ове гране хемије.

Многе такве реакције се користе и у синтезама једињења која дају допринос развоју електронике и напредних технолошких материјала, а органометални реагенси се све више користе и као важни катализатори.

### ***1.6.1. Примена јонских течности у органским синтезама***

Јонске течности пружају јединствено окружење за органске и метал-органске реакције при собним и вишим температурама. Њихово термодинамичко и кинетичко понашање је различито, и често доводи до повећања брзине реакције и селективности. Употреба јонских течности могућа је у различитим подручјима као што је производња фармацеутских производа, финих хемикалија, у биотехнологији, медицини, нанотехнологији, и многим другим подручјима.

Прегледом литературе која се односи на примену јонских течности у органским синтезама, може се видети да улога ових једињења у органским реакцијама може бити различита. Јонске течности се могу успешно користити:

- као катализатори и растварачи;
- као ко-катализатори или каталитички активатори;
- као лиганди за каталитичке металне центре;
- само као растварачи у одговарајућим реакцијама.

### ***1.6.2. Јонске течности као катализатори неких органских реакција***

У последње време синтетизован је велики број уско специфичних јонских течности са посебном функцијом, а у складу са захтевима одговарајуће реакције. Пошто киселост и базност реакционог медијума имају битан утицај на ефикасност многих реакционих

процеса, студија кисело/базних јонских течности је добила велику важност. Тако, за већину органских реакција које су традиционално катализоване уобичајеним киселинама и базама, могу се као катализатори употребити одговарајуће јонске течности.

### 1.6.3. Алдолна кондензација

Под алдолним реакцијама подразумевају се, у ширем смислу, све оне реакције у којима се ствара нова C–C веза, а обухватају интеракцију карбанјонског угљеника, из активних метиленских једињења, са карбонилном групом. Међутим, у ужем смислу, алдолне кондензације означавају оне кондензације алдехида и кетона при којима настају β-хидрокси-алдехиди (алдоли) или β-хидрокси-кетони (кетоли), као и реакције које воде стварању α,β-незасићених алдехида и кетона (схема 1).

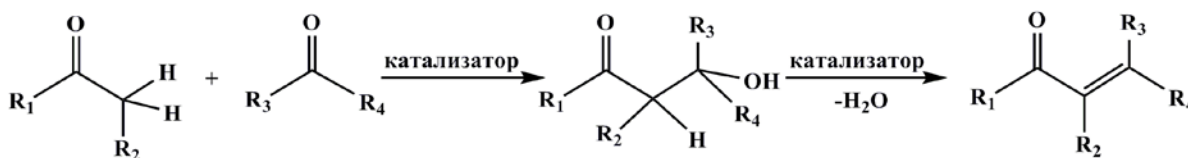


Схема 1. Схематски приказ реакције алдолне кондензације.

На индустријском нивоу алдолне кондензације су катализоване алкалним хидроксидима (KOH, NaOH) [28,29]. Међутим, употребу ових катализатора прате бројни недостаци као што су, на пример, губитак катализатора због тешкоће одвајања, корозиони проблеми на опреми и образовање велике количине испарљивих остатака који морају бити накнадно третиран не би ли се смањио њихов утицај на животну средину. Због тога су развијена нова технолошка решења у циљу стварања нових, и за животну средину далеко прихватљивијих, процеса. Ова технолошка решења односе се пре свега на примену јонских течности као катализатора и растварача. Од јонских течности које се користе у алдолним кондензацијама и дају задовољавајуће резултате, могу се издвојити неки карбоксилати етаноламина, диетаноламина и триетаноламина [30,31]. У циљу одређивања каталитичке активности ових јонских течности, урађене су три модел реакције: реакција кондензације цитрала и ацетона, кондензација између бензалдехида и ацетона и бензалдехида и хептанала [30]. Најбољи резултати добијени су за реакцију бензалдехида и ацетона када су коришћене следеће јонске течности: 2-хидроксиетиламонијум-пентаноат,

2-хидроксиетиламонијум-ацетат и 2-хидроксиетиламонијум-формијат. Нижа конверзија за испитиване реакције добијена је када су употребљене ди- и трисупституисане јонске течности (2-хидроксидиетиламонијум-бутаноат, 2-хидрокситриетиламонијум-бутаноат, 2-хидроксидиетиламонијум-изобутаноат, 2-хидрокситриетиламонијум-изобутаноат, 2-хидроксидиетиламонијум-пентаноат и 2-хидрокситриетиламонијум-пентаноат). Ова ниска каталитичка активност може се објаснити неприступачним активним местом катализатора због стерних сметњи које ствара разгранатост катјона.

На основу поређења са ефикасносношћу неорганских базних катализатора, може се закључити да ове јонске течности нису бољи катализатори за ове реакције, али због њиховог зеленог карактера и лаког одвајања из реакционог медијума представљају погодну, и за животну средину прихватљиву, замену за традиционалне хомогене катализаторе.

#### ***1.6.4 Кневенагелова реакција***

Базно катализована кондензација алдехида и кетона са једињењима која садрже активiranу метиленску групу, уз настајање  $\alpha,\beta$ -незасићених једињења, је посебан тип алдолне кондензације и позната је као Кневенагелова реакција. Ова реакција се користи за синтезу интермедијера финих хемикалија и представља врло корисну методу за формирање C–C везе у органској синтези. Пошто активна метиленска једињења имају знатно активније водоникове атоме од алдехида и кетона, то се за ову реакцију као катализатори употребљавају слабије базе од оних које се користе при уобичајеним алдолним кондензацијама. Обично се реакције изводе у присуству каталитичких количина амонијака, амонијум-ацетата или примарних и секундарних амина (пиперидина и диетил-амина). Поред ових базних амонијумових катализатора могу се употребити и киселине, најчешће Луисове киселине (бор-трифлуорид, алуминијум-трихлорид и друге) [32-35]. Активна метиленска једињења која се најчешће користе у Кневенагеловим реакцијама су малонска, цијансирћетна и ацетсирћетна киселина и њихови деривати, фенилацетонитрили, бензил-кетони и нитро-једињења.



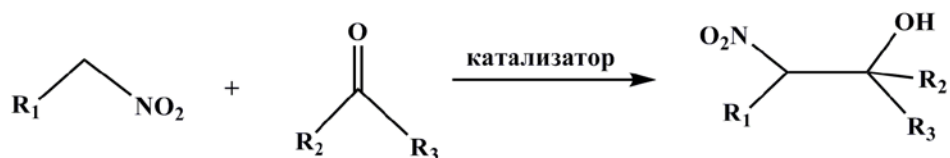


Схема 3. Реакција између нитроалкана и карбонилних једињења – Хенријева реакција.

### 1.6.6. Мајклова реакција

Нуклеофилна адиција карбанјона или неког другог анјона на олефинску везу која је у коњугацији са неком електрон привлачном групом, као што је карбонилна, нитрилна, карбоксилна или естарска, позната је као Мајклова реакција (схема 4). Овом реакцијом могу се добити различити естри, киселине, алдехиди, кетони, *N*-супституисани имидазоли, тиазоли, пиразоли, пиримидини, пурини и њихови деривати, који су обично фармаколошки активни и могу бити примењени као потенцијални терапеутски агенси. За активацију нуклеофила или Мајклових акцептора у овим реакцијама су, најчешће, коришћене јаке базе или Луисове киселине, које су доводиле и до нежељених споредних производа и производа штетних за животну средину. Да би се избегли ови недостаци проузроковани употребом таквих катализатора, у последњих неколико година развијен је велики број алтернативних стратегија коришћењем базних глина,  $\text{KF/Al}_2\text{O}_3$ , гуанидина, микроталасног зрачења и ензима. На жалост, многе од ових процедура захтевају дуго реакционо време (неколико дана), драстичне реакционе услове и примену штетних хемикалија, пре свега растварача, као што су DMSO или DMF. Поред тога, ови катализатори се, углавном, не могу рециклирати. Због свега тога, откривање бржих и лакших метода за Мајклову адицију *N*-хетероцикла на  $\alpha,\beta$ -незасићена једињења, које су примењиве и на собној температури, постало је посебан изазов за синтетичаре [37].

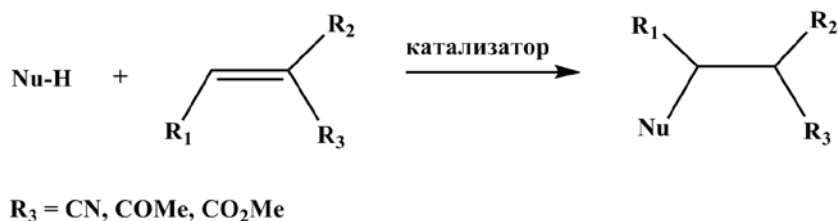


Схема 4. Општа схема Мајклове реакције.

Брза и „зелена“ процедура за Мајклову реакцију на собној температури развијена је коришћењем базне јонске течности, 1-метил-3-бутилимидазолијум хидроксида, [bmim]ОН, као катализатора и реакционог медијума. Реакција је изведена на собној температури, за кратко реакционо време (0.5-3 часа) и могла се применити на широк спектар *N*-хетероцикла, укључујући петочлане *N*-хетероцикле, пиримидине и пурине. Употребљена, односно изолована, јонска течност могла се употребити у неколико реакционих циклуса, без значајне промене активности [38,39].

Поред тога што служи за успостављање нове С–С везе, Мајклова реакција се може врло успешно применити и за стварање нове С–N и С–S везе. Оваква, хетеро-Мајклова реакција, се дешава адицијом азотних и сумпорних нуклеофила на  $\alpha,\beta$ -незасићена карбонилна једињења и нитриле. Као производи ове реакције добијају се  $\beta$ -амино карбонилна једињења, као што су  $\beta$ -амино киселине и њихови деривати који су важни интермедијери у синтези многих лекова или антибиотика,  $\beta$ -лактама и антиканцерогених агенаса [40-44]. Пошто се производи хетеро-Мајклове реакције широко примењују, уместо уобичајених металних катализатора много је погоднија употреба јонских течности као растварача и катализатора. Код избора јонских течности, такође је важно водити рачуна о цени катјона и анјона који улазе у састав тих јонских течности. Најчешће коришћени катјони, алкилметил-имидазолијум и диалкил-имидазолијум, и анјони, тетрафлуороборат и хексафлуорофосфат, су доста скупи да би се могли употребити у индустријске сврхе. Уместо ових јонских течности може се употребити 2-хидроксиетиламонијум-формијат, који се може лако синтетисати из комерцијално доступних и јефтиних хемикалија [45]. На основу резултата који су добијени када је коришћена ова етаноламинска јонска течност [46], може се видети да је реакционо време далеко краће него када се користи имидазолова јонска течност [47], и да су и изоловање производа и рециклажа катализатора веома једноставни.

### 1.6.7. Манихова реакција

Синтеза биолошки активних природних и фармацеутски значајних азотних једињења је веома важна грана органских синтеза [48-50]. Манихова реакција је једна од основних реакција за синтезу оваквих једињења. У овој реакцији амин и два карбонилна једињења (једно енолизабилно и друго које не гради енол) реагују, у присуству киселина или база као катализатора, и дају  $\beta$ -амино карбонилна једињења (схема 5).

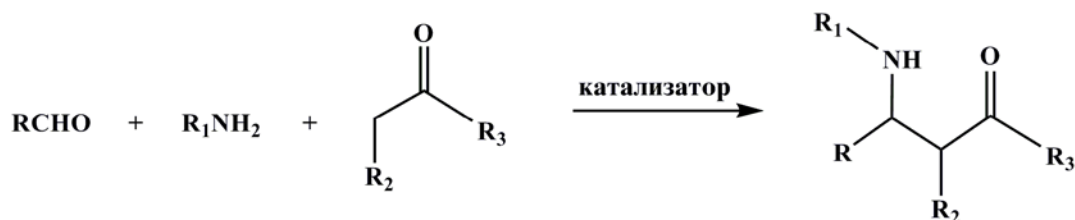


Схема 5. Манихова реакција приказана у општем облику.

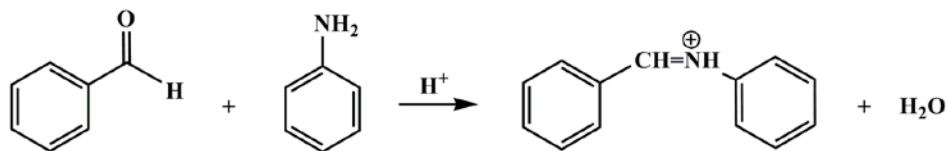
Манихову реакцију најчешће могу да катализују Луисове и Бренштедове киселине, Луисове базе, а ређе и неке металне соли и органски катализатори. Многе од ових метода суочавају се са озбиљним сметњама, као што су коришћење велике количине катализатора, скупи реагенси или катализатори, драстични реакциони услови, тешко изоловање производа, дуго реакционо време и низак принос. Зато постоји велико интересовање за развојем и применом нових и погоднијих каталитичких система. У том смислу, киселе [51-53] и базне [54] јонске течности делују обећавајуће. За тестирање каталитичке улоге ових једињења као модел реакција најчешће се користи реакција између бензалдехида, анилина и циклохексанона, односно ацетофена као кетона.

Највероватније је да механизам Манихове реакције обухвата четири фазе (схема 6). У првој фази реакције која се одвија у присуству киселине, алдехид реагује са амином и настаје иминијум јон који, затим, елиминацијом воде даје иминијум-со. У овој иминијум соли је позитивна шаржа делокализована на атомима азота и угљеника. Као електрофил, угљеников атом може даље, у трећој фази реакције, да нападне енолни облик кетона који је настао у другој фази реакције, при чему долази до стварања нове  $C-C$  везе и образовања амонијумове соли. У четвртој фази реакције се амонијумова со, под дејством базе, преводи у  $\beta$ -амино карбонилно једињење. Из представљеног механизма се може видети да

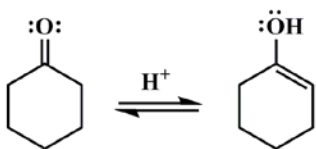
је за добијање крајњег производа,  $\beta$ -амино карбонилног једињења, неопходно присуство и киселине и базе. Из тог разлога су јонске течности захвални и знатно ефикаснији катализатори, него када се употреби само киселина или само база, као катализатор. Киселе јонске течности које су до сада примењиване у овој реакцији и као катализатори и као растварачи су, углавном, соли имидазола, као што су, на пример 1-бутил-3-метилимидазолијум-дихидрогенфосфат [bmim][H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>], 1-бутил-3-метилимидазолијум-хидрогенсулфат [bmim][HSO<sub>4</sub>], 1-метилимидазолијум-*p*-толуенсулфонска киселина [Hmim][Tsa] и 1-метилимидазолијум-трифлуоросирћетна киселина [Hmim][Tfa] [52]. Испитиване реакције су изведене на собној температури. Принос се кретао у опсегу од 67-83%, осим у случају хидрогенсулфата где због велике киселости није до реакције ни дошло. Као базне јонске течности коришћене су 1-бутил-3-метилимидазолијум хидроксид [bmim][OH], 1-етил-3-метилимидазолијум хидроксид [emim][OH], као и ацетати етаноламина, диетаноламина и триетаноламина, [H<sub>3</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH][CH<sub>3</sub>COO], [H<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>][CH<sub>3</sub>COO], [H<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>][CH<sub>3</sub>COO] [54]. У овом случају коришћена је само каталитичка количина јонске течности, а као растварач вода или неко органско једињење. Најбољи принос (85%) постигнут је са [bmim][OH] на собној температури и у етанолу као растварачу.



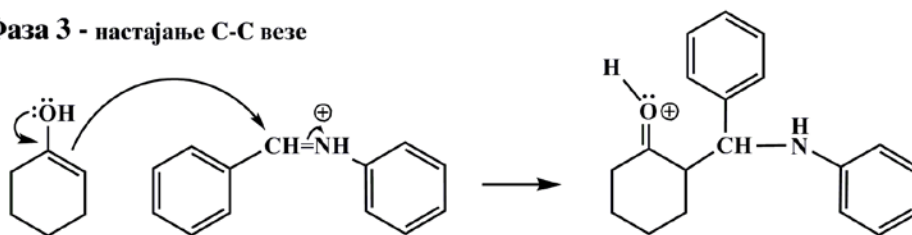
### Фаза 1 - формирање имињум јона



### Фаза 2 - енолизација



### Фаза 3 - настајање С-С везе



### Фаза 4 - настајање Манихове базе

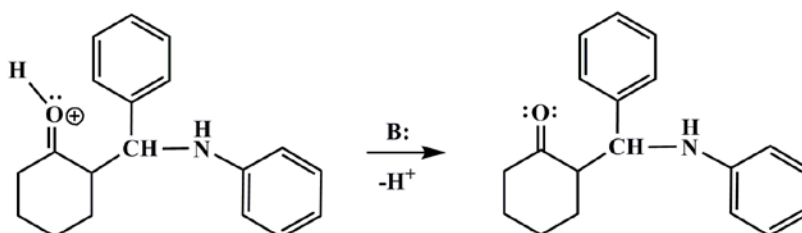


Схема 6. Претпостављени механизам Манихове реакције.

### 1.6.8. Фридел-Крафтсова реакција

Фридел-Крафтсова реакција је једна од најзаступљенијих метода синтезе у органској хемији. Ова реакција подразумева увођење алкил- или ацил- групе у ароматично једињење (схема 7). Најчешће коришћени катализатор је  $\text{AlCl}_3$ , мада су и друге Луисове киселине, као на пример  $\text{BF}_3$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{SbF}_5$  и  $\text{SnCl}_4$ , јако присутне. Највећи проблеми који се јављају код ових реакција су лоша растворљивост Луисових киселина у органским растварачима, висока токсичност и стварање велике количине нежељених

споредних производа. Ови проблеми се у великој мери могу решити употребом јонских течности.

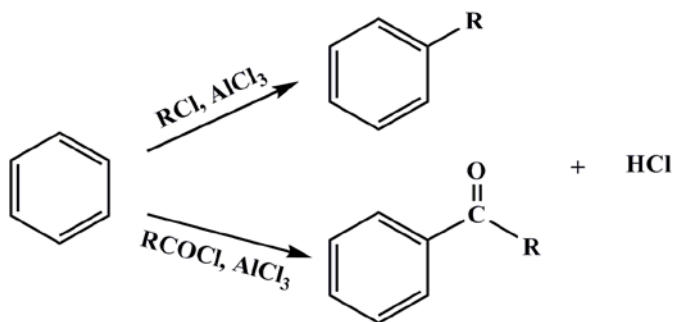
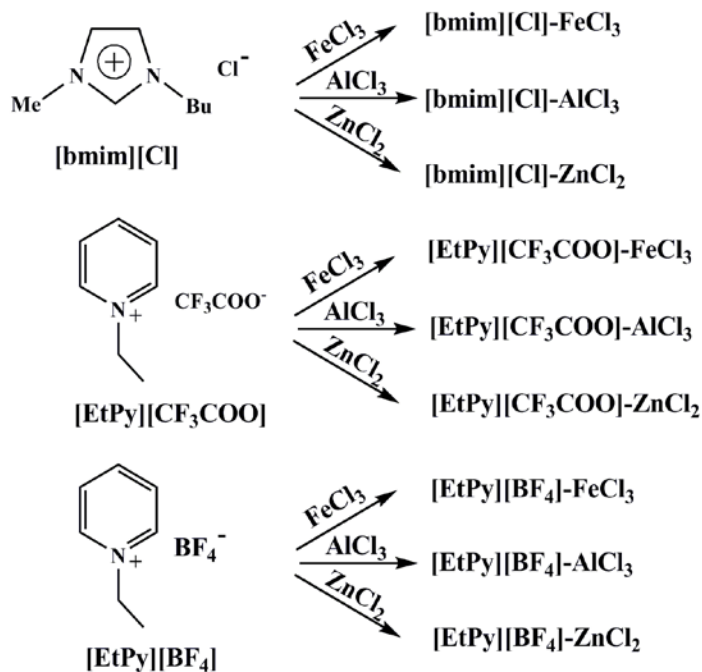


Схема 7. Реакције Фридел-Крафтсовог алкиловања и ациловања.

Врло ефикасни системи за Фридел-Крафтсово алкиловање и ациловање, који имају улогу и растварача и катализатора, су Луисове киселе јонске течности. Оне се, најчешће, добијају мешањем соли имидазола [55,56] и пиридина [57,58] са неким металним солима које се понашају као Луисове киселине ( $AlCl_3$ ,  $FeCl_3$  или  $ZnCl_2$ ). Каталитички системи коришћени у овим реакцијама приказани су на слици 2.



Слика 2. Каталитички системи коришћени у реакцијама Фридел-Крафтсовог алкиловања и ациловања.

У свим случајевима јонске течности дају боље резултате, пре свега у погледу брзине реакције, него када се употребљавају класични органски растварачи. Разлози за то су следећи: јонске течности су доста поларни растварачи, оне су и саме Луисове киселине, хидрофобне су,  $\text{AlCl}_3$  и  $\text{FeCl}_3$  се расвајају у њима и течне су на собној температури. Из резултата који су добијени применом имидазолових каталитичких система се види да је  $[\text{bmim}][\text{Cl}]-\text{ZnCl}_2$  најбољи у реакцији алкиловања. Може се употребити чак осам пута, без значајнијег смањења каталитичке активности. У реакцији ациловања највећи принос је постигнут при употреби  $[\text{bmim}][\text{Cl}]-\text{FeCl}_3$ . У неким случајевима, у овим реакцијама коришћене су две различите соли пиридина, трифлуорацетат и тетрафлуороборат. На основу добијених резултата се могло видети да су приноси у свим случајевима бољи са  $[\text{EtPy}][\text{CF}_3\text{COO}]$  него са  $[\text{EtPy}][\text{BF}_4]$ , где је пресудан утицај имала врста анјона. Када су ове јонске течности комбиноване са металним солима најбољи резултати и за алкиловање и за ациловање постигнути су са  $[\text{EtPy}][\text{CF}_3\text{COO}]-\text{FeCl}_3$ . Реакције у овим јонским течностима на бази пиридина су вршене и на различитим температурама (на собној, на  $50^\circ\text{C}$  и на  $75^\circ\text{C}$ ). Најбољи резултати су постигнути на температури од  $50^\circ\text{C}$ . Из свега овога се може закључити да су јонске течности врло погодне за извођење Фридел-Крафтсових реакција, на умереној температури, за релативно кратко време, уз могућност рециклирања катализатора и без употребе токсичног  $\text{AlCl}_3$ , што је од изузетног значаја јер оне имају велику индустријску примену у производњи фармацеутских производа, финих хемикалија, полимера и других корисних једињења.

### 1.6.9. Дилс-Алдерова реакција

Дилс-Алдерова реакција је реакција циклоадиције између коњугованих диена и алкена са електрон-привлачним групама (диенофила). Као најједноставнији пример ове реакције може се навести пример грађења супституисаног циклохексена (схема 8).

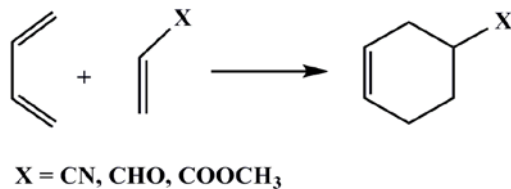


Схема 8. Дилс-Алдерова реакција приказана у најопштијем облику.

Циклоадиција циклопентадиена на метил-акрилат (схема 9) је највише испитивана Дилс-Алдерова реакција. Различити реакциони медији су коришћени при извођењу ове реакције: органски растварачи [59-62], вода [63,64] и низ јонских течности [65-70].

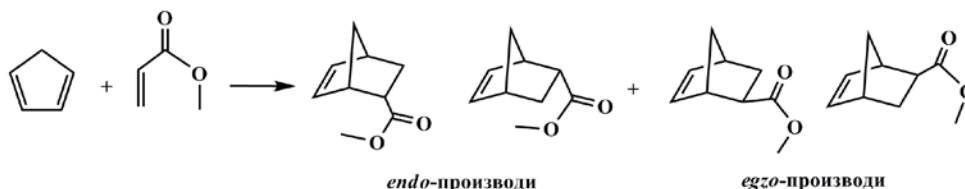
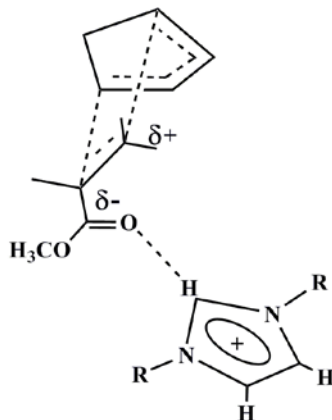


Схема 9. Реакција циклоадиције циклопентадиена на метил-акрилат.

У овој реакцији се добија смеша изомера, при чему врста употребљеног растварача доста утиче на њихов однос. Често су реакциона брзина и селективност *endo:exo* производа веће у поларним растварачима него у неполарним. Ово се приписује успостављању већег броја водоничних веза између растварача и прелазног стања, као и стварању принудних хидрофобних интеракција, неопходних за формирање хидрофобног цепа, који олакшава реакцију са супстратом.

Етиламонијум-нитрат [EtNH<sub>3</sub>][NO<sub>3</sub>] је био прва јонска течност примењена у Дилс-Алдеровој реакцији бутадиена и метилметакрилата [65]. Показало се да је селективност реакције слична селективности реакције изведеној у води, док је брзина реакције била нешто мања. Побољшање у погледу реактивности и селективности постигнуто је применом различитих имидазолних јонских течности [71]. Када је реакција изведена у [bmim][PF<sub>6</sub>], остварена је знатно већа селективност него када је као растварач коришћена вода. Нешто детаљнија испитивања везана за примену јонских течности извршили су Велтон и његови сардници [72]. Они су дошли до закључка да је побољшање односа *endo:exo* производа, заједно са повећањем брзине њиховог формирања, у случају циклопентадиена и метил-акрилата, контролисано способношћу катјона јонске течности да гради водоничну везу са метил-акрилатом у активираним комплексу Дилс-Алдерове реакције (слика 3).



Слика 3. Успостављање водоничне везе између катјона јонске течности и метил-акрилата у активираним комплексу Дилс-Алдрове реакције.

Да би се показало да је управо положај два одговоран за побољшање селективности ове реакције, коришћене су јонске течности са 1-бутил-3-метилимидазолијум катјоном ( $[bmim]^+$ ) и 1-бутил-2,3-диметилимидазолијум катјоном ( $[bm_2im]^+$ ) при чему су добијени следећи резултати за селективност производа:  $[bmim][BF_4]$  ( $endo:exo = 4.6$ ) и  $[bm_2im][BF_4]$  ( $endo:exo = 3.3$ ). У другом случају када је положај два блокиран долази до успостављања нешто слабијих водоничних веза преко C-4 и C-5 положаја, што се одражава на даљи исход реакције.

### 1.7. Јонске течности у улози растварача и лиганда за каталитички активне комплексе у реакцијама формирања C–C везе

Током друге половине двадесетог века, прелазни метали су почели да играју важну улогу у органској хемији. То је довело до развоја великог броја синтетичких органских реакција катализованих комплексима ових метала. Прелазни метали имају јединствену способност да активирају различита органска једињења и да, на тај начин, убрзају формирање нове везе. Један од прелазних метала који је рано почео да се користи за каталитичке органске трансформације био је паладијум.

Формирање нових C–C веза вероватно представља најважнији корак у синтетичкој органској хемији. Последњих тридесет година C–C купловање има огроман значај, тако да је развијен велики број метода за синтезу сложених молекула. Већина ових метода захтева присуство комплекса прелазних метала, најчешће паладијума, као катализатора.

Међутим, током процеса одигравања паладијум-катализованих реакција долази и до неких нежељених појава. Најчешћи проблеми који се срећу у овим реакцијама су: распадање скупих каталитичких система, тешко изоловање производа, ниска активност и селективност, лоша растворљивост катализатора у класичним органским растварачима и немогућност рециклаже катализатора. Ово је приморало хемичаре да испитују и примењују раствараче као што су јонске течности.

Прве реакције катализоване прелазним металима и изведене у присуству јонских течности биле су оне са 1-бутилпиридинијум-хлоридом и тетрабутилфосфонијум-хлоридом. У почетку су коришћени комплекси никла а затим и комплекси других прелазних метала. Већина недостатака споменутих горе је елиминисана применом ових јонских течности.

Пошто јонске течности у свом саставу, углавном, садрже и такве функционалне групе које се могу лако координовати са прелазним металима, оне представљају и добре лиганде за комплексе који се *in situ* формирају у реакцији. Координативне особине јонских течности су у суштини одређене природом њихових ањона [73].

Табела 3. Киселост и координативне особине неких ањона.

Киселост/координативна способност		
Базни/јачо координујући	Неутрални/слабо координујући	Кисели/ некоординујући
$\text{Cl}^-$	$\text{AlCl}_4^-$	$\text{Al}_2\text{Cl}_7^-$
$\text{Ac}^-$	$\text{CuCl}_2^-$	$\text{Al}_3\text{Cl}_{10}^-$
$\text{NO}_3^-$	$\text{BF}_4^-$	$\text{Cu}_2\text{Cl}_3^-$
$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{PF}_6^-$	$\text{Cu}_3\text{Cl}_4^-$

У последње време направљени су бројни покушаји мултифункционализовања јонских течности, односно увођења додатних функционалних група у катјонски и ањонски део како би се олакшало њихово координовање са прелазним металима.

Неке од истакнутих паладијум-катализованих реакција које се изводе у јонским течностима су Хекова, Сузукијева, Стилова, Негишијева и Соногаширина реакција (схема 10).

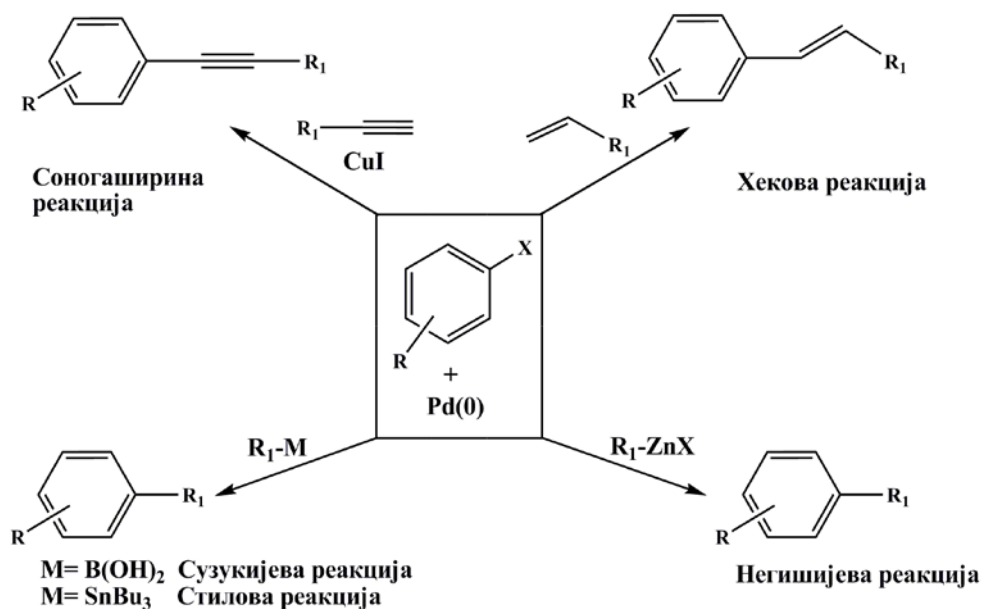


Схема 10. Неке истакнуте паладијум-катализоване реакције које се изводе у јонским течностима.

### 1.7.1. Хекова реакција

Хекова реакција је врло важна метода за синтезу различитих олефинских једињења. Она углавном обухвата реакцију арил- или винил-халогенида и активираних олефина, диена и других незасићених једињења са двоструком везом – Мајклових акцептора у присуству органопаладијум(II)-комплекса [76]. При томе, као производи настају једињења са супституисаном двоструком везом (схема 11). Многи производи добијени применом Хекове реакције сврстани су у групу финих хемикалија, као на пример неки лекови, хербициди и козметички препарати [75]. За одвијање реакције неопходно је и присуство базе (триетиламин, калијум-карбонат и натријум-ацетат су раније доста коришћени).

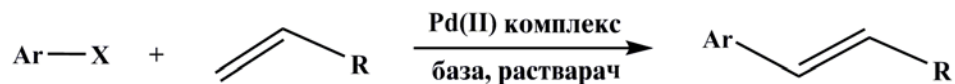
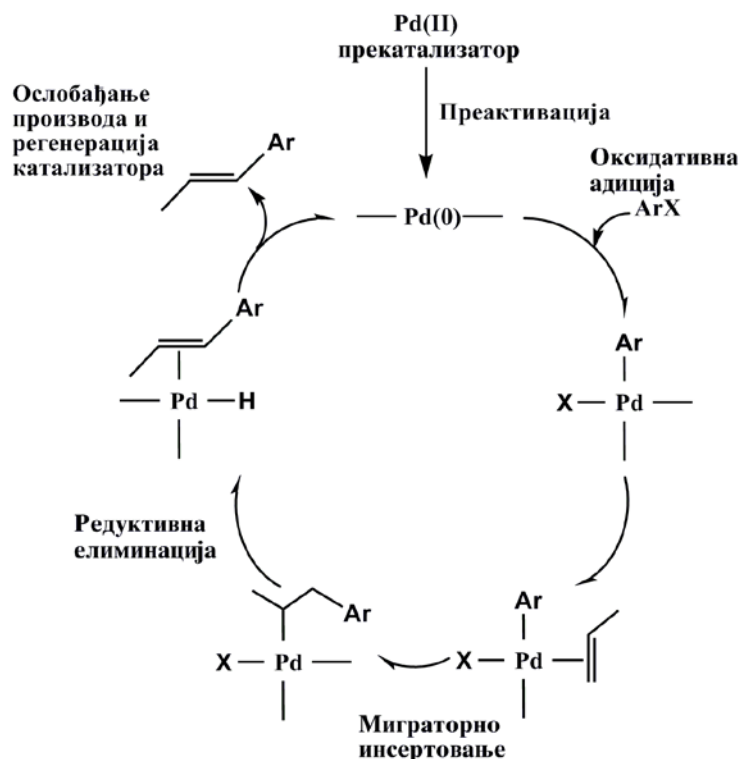


Схема 11. Општи облик Хекове реакције.

Каталитички циклус ове реакције обухвата четири фазе: преактивацију, оксидативну адицију, миграторно инсеровање и редуктивну елиминацију (слика 4).



Слика 4. Каталитички циклус Хекове реакције.

**Преактивација** подразумева редукцију Pd(II)-јона до каталитички активне врсте, Pd(0). За ову фазу реакције, уколико су лиганди Pd(II)-комплекса фосфини, неопходно је присуство јаке базе, као што су алкоксиди или хидроксиди, који асистирају при редукцији Pd(II) у Pd(0). Када су у питању нефосфински комплекси паладијума за реакцију се могу користити и слабије базе аминског типа. Фаза преактивације представља најспорију фазу реакције, и она је самим тим одговорна за брзину реакције.

**Оксидативна адиција** је фаза реакције у којој се адире молекул незасићеног халогенида на Pd(0)-комплекс, при чему долази до раскидања ковалентне везе (C–X), оксидације Pd(0) у Pd(II) и формирања Pd–C и Pd–X везе. На овај начин се формира  $\sigma$ -органопаладијум(II) халогенидни интермедијер, који има врло важну улогу у овој реакцији и органометалној хемији, уопште.

**Миграторно инсертовање** је корак који је одговоран за формирање C–C везе и регио- и стереоселективност процеса. Ова фаза, као и што сам назив каже, обухвата два ступња, инсертовање и миграцију. Прво долази до инсертовања, координовања олефина са



Pd(II) из комплекса насталог у оксидативној адицији, а затим, пошто су два координациона места квадратно-планарног комплекса заузета олефином и арил-групом, арил-група мигрира на  $\pi$ -систем.

**Редуктивна елиминација** је последња фаза Хекове реакције. У овом кораку се ослобађа производ реакције а паладијум се поново редукује до каталитички активног Pd(0)-комплекса. Прво, редуктивном елиминацијом долази до *syn*-елиминације и настанка  $L_2PdH$  ( $L_2PdHX$ ) за који и даље може бити координован производ. Затим се хидропаладијумска врста помоћу базе преводи у акиван облик који учествује у новом реакционом циклусу.

Када је реч о историјату Хекове реакције, може се рећи да су у овој реакцији прво коришћени фосфински лиганди. Они су играли важну улогу у сатбилизацији и *in situ* образовању Pd(0)-врста из Pd(II)-комплекса. Због високе цене, токсичности и термичке нестабилности фосфинских лиганата [76], развијени су затим многи нефосфински каталитички системи [77-82]. Међутим, већина њих показује лошу ефикасност и рециклабилност у паладијум-катализованим Хековим реакцијама [83]. Зато се уместо ових поменутих каталитичких система све чешће у Хековој реакцији употребљавају јонске течности. Оне у овој реакцији могу имати не само улогу растварача, већ и улогу лиганда за *in situ* образовање Pd(II)-комплекса. Неке од јонских течности које се најчешће користе у Хековој реакцији су кватернерне амонијумове, пиридинијумове, имидазолијумове и гуанидинијумове соли.

У паладијум-катализованој Хековој реакцији јонске течности су први пут примењене 1996 године [84]. Било је то добијање *trans*-цинамата у реакцији бромбензена и бутил-акрилата у тетраалкиламонијум и тетраалкилфосфонијум-бромиду као јонским течностима и  $[PdCl_2(PPh_3)_2]$  као извору паладијума. Анализа резултата је показала да су употребљене јонске течности имале стабилизирајући ефекат на паладијумов катализатор, тако да није долазило до таложења елементарног паладијума. Самим тим је и конверзија арил-халогенида била готово комплетна. Овај рад је привукао пажњу великог броја истраживачких група широм света, што је проузроковало повећање броја радова у овој области.

Други примери извођења Хекове реакције у јонским течностима дати су од стране Седонове групе [85]. Они се односе на примену имидазолових и пиридинијумових јонских течности. Аутори су уочили битну разлику у реактивности ове две врсте јонских течности у Хековој реакцији. Закључили су да имидазолове јонске течности имају већу каталитичку активност у поређењу са пиридинијумовим. Имидазолова јонска течност садржи у положају два кисели Н-атом који у присуству базе може бити депротонован тако да се формира карбен. За ове имидазолијумове карбене је познато да се понашају као лиганди за метале, тако да није изненађујуће што је дошло до формирања каталитички активног паладијум-карбенског комплекса у овој јонској течности.

Даља испитивања других истраживача [86] су такође потврдила *in situ* образовање паладијум-карбенског комплекса у условима Хекове реакције (схема 12).

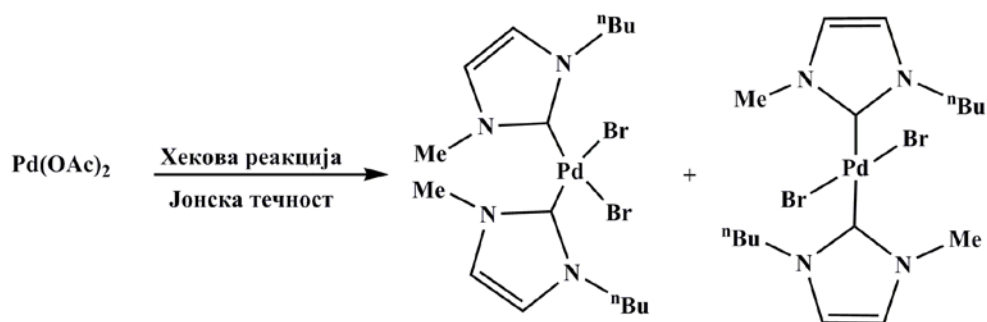
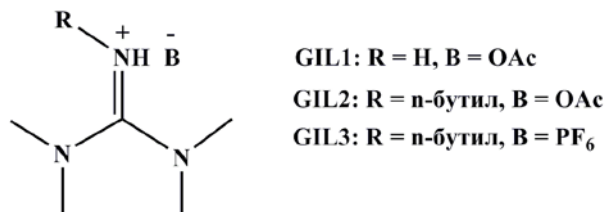


Схема 12. Карбенски комплекс паладијума образован *in situ* у условима Хекове реакције.

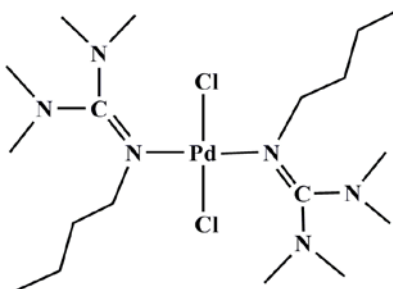
Предмет ових испитивања су биле две имидазолове јонске течности које су се разликовале само по врсти анијона, 1-бутил-3-метилимидазолијум-бромид [bmim][Br] и 1-бутил-3-метилимидазолијум-тетрафлуороборат [bmim][BF<sub>4</sub>]. Истакнуто је да долази до значајног повећања у реактивности Хекове реакције у присуству [bmim][Br] у поређењу са истом реакцијом у [bmim][BF<sub>4</sub>]. У овом случају пресудан значај су имале кисело-базне особине анијона које су утицале на координативну способност ових јонских течности (табела 3), што је и довело до формирања карбенског комплекса у присуству [bmim][Br], али не и у присуству [bmim][BF<sub>4</sub>].

Јонске течности на бази гуанидинијумове соли (GILs) [87] су, такође, ефикасан реакциони медијум за паладијум-катализовану Хекову реакцију. На следећој слици су приказане GILs **1-3**, добијене у реакцији гуанидина са сирћетном киселином или  $\text{HPF}_6$ .



Слика 5. Структура гуанидинијумових јонских течности.

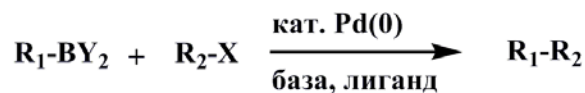
Гуанидин као јака органска база може да формира комплекс са  $\text{Pd(II)}$ -солима (слика б). То је један од најједноставнијих каталитичких система који се може користити као растварач, лиганд и база.



Слика 6. Комплекс паладијума(II) и гуанидина

### 1.7.2. Сузукијева реакција

Реакција арил- или винил-борана са арил- или винил-халогенидима у присуству одговарајуће базе и катализатора на бази паладијума позната је као Сузукијева реакција (схема 13). Ова реакција се интензивно користи у синтези полиолефина, стирена и супституисаних бифенила [88-92].



**R<sub>1</sub>**= алкил, алил, алкенил, алкинил, арил

**R<sub>2</sub>**= алкил, алкенил, арил

**Y**= алкил, O-алкил, OH

**X**= Cl, Br, J

**База**- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Ba(OH)<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, CsCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaOH, Bu<sub>4</sub>F, M<sup>+</sup>(<sup>-</sup>OR)

Схема 13. Сузукијева реакција приказана у општем облику.

Постоји више предности у примени Сузуки-укрштеног купловања у односу на друге, њој сличне, реакције формирања C–C везе. То су благи реакциони услови, комерцијална доступност великог броја прекурсора, лако одвајање неорганских споредних производа реакције, знатно нижи степен токсичности органоборана у односу на друге прекурсоре укрштених куповања, неосетљивост полазних материјала на присуство воде, као и великог броја функционаних група. Све ове предности отварају могућност примене поменуте реакције на индустријском нивоу.

Механизам Сузукијеве реакције, који је врло сличан другим паладијум-катализованим реакцијама, приказан је реакционим каталитичким циклусом на схеми 14.

Каталитички циклус чине четири фазе: (1) оксидативна адиција органског халогенида на Pd(0)-комплекс и формирање органометалног једињења, (2) замена халогенидног анјона везаног за Pd(0) анјоном базе, (3) трансметаловање интермедијера Pd(II) и алкилборатног комплекса (који настаје активирањем органоборана дејством базе) и (4) редуктивна елиминација уз формирање C–C везе и регенерисање Pd(0)-комплекса.

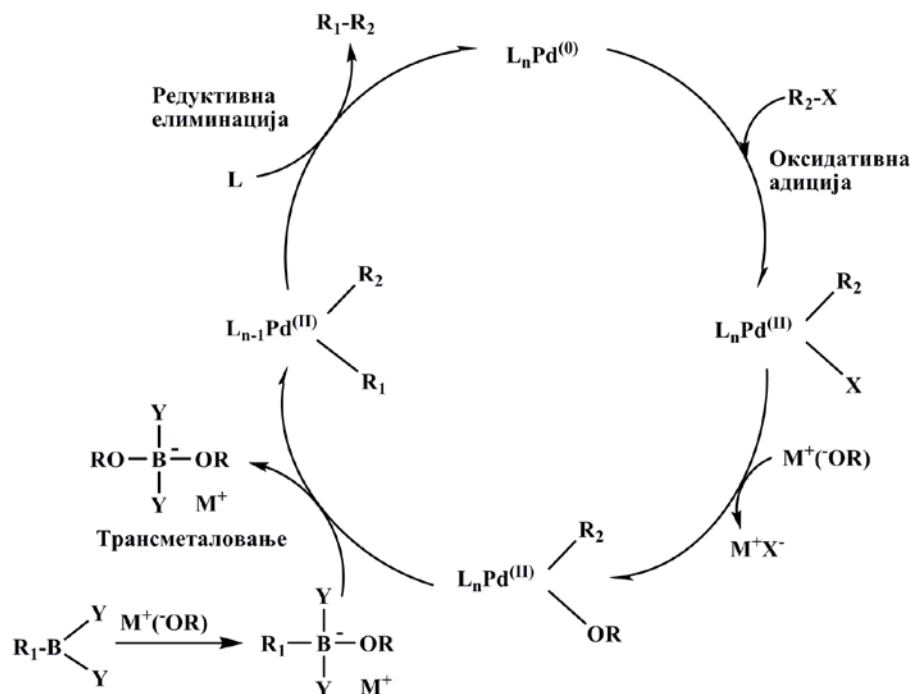


Схема 14. Каталитички циклус Сузукијеве реакције.

Сузукијева реакција катализована једињењима паладијума може успешно да се изводи и у јонским течностима (схема 15).

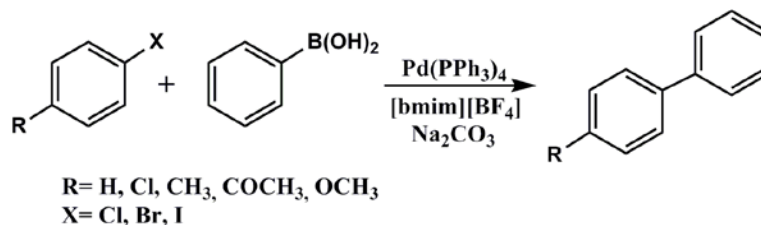
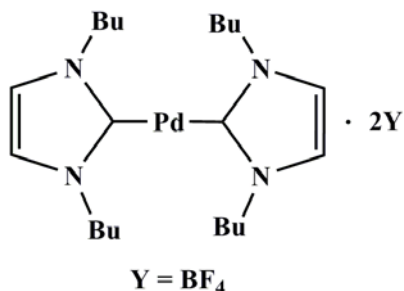


Схема 15. Сузукијева реакција катализована једињењима паладијума изведена у јонској течности.

Реакција фенолборне киселине и арил-халогенида у присуству  $\text{Pd(PPh}_3)_4$  као катализатора и у 1-бутил-3-метилимидазолијум-тетрафлуороборату  $[\text{bmim}][\text{BF}_4]$  као растварачу даје одличан принос, чак и на собној температури [93]. У овом систему нађено је да је оптимална каталитичка активност постигнута претходним загревањем катализатора и арил-халогенида у  $[\text{bmim}][\text{BF}_4]$  на  $110\text{ }^\circ\text{C}$ . После овога реакција се наставља додатком фенолборне киселине и  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  на собној температури. Овако формиран стабилан и ефикасан каталитички систем доводи до повећања приноса реакције

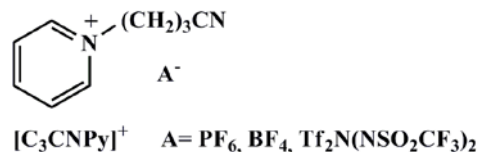
са 88% на 93% и скраћује време трајања реакције са 6 часова на 10 минута, што су значајне предности у односу на класичне услове извођења Сузукијеве реакције. Добијени производ се лако изолује екстракцијом са диетил-етром, а споредни производи уклањају испирањем са вишком воде. После завршене реакције исти каталитички систем (јонска течност/катализатор) је могао да се употреби у реакцији још три пута без значајније промене у реактивности.

Сузукијева реакција између различитих арил-халогенида и фенилборне киселине у присуству паладијум-бис(карбенских) комплекса растворених у 1,3-ди-*n*-бутилимидазолијум-тетрафлуороборату [bbim][BF<sub>4</sub>] у ултразвучним условима, даје жељени производ чак и на собној температури [94,95]. Пошто је под овим условима реакције фенилборна киселина нерастворна у јонској течности, реакција се врши у јонској течности, у метанолу као ко-растварачу, при чему се добија хомогени раствор и врши комплетна конверзија реактаната. Главни недостатак ове реакције је што у неким случајевима долази до таложења елементарног паладијума, који спречава рециклирање скупог паладијумовог комплекса. Рециклирање катализатора је могуће ако се употреби паладијум-бис-карбенски комплекс приказан на слици 7 [96]. Овај рециклирани комплекс може да се употреби још три пута у Сузукијевој реакцији са 4-метоксибромбенzenом, при чему се добија 4-метоксибифенил у приносу од 82%, 80% и 75%.



Слика 7. Паладијум-бис-карбенски комплекс.

Јонске течности са *N*-бутиронитрилпиридијум катјонима [C<sub>3</sub>CNpy]<sup>+</sup> (слика 8) су, такође, испитиване у Сузукијевој и Стиловој реакцији [96].



Слика 8. Јонске течности са *N*-бутиронитрилпиридијум катјонима  $[C_3CNpy]^+$ .

У зависности од природе анјона, ове соли реагују са паладијум-хлоридом и дају комплекс формуле  $[C_3CNpy]_2[PdCl_4]$  или комплекс формуле  $[PdCl_2(C_3CNpy)_2][A]_2$ . Каталитичка активност ових паладијумових комплекса испитивана је у *N*-бутилпиридијум и нитрил-функционализованим јонским течностима. Сви паладијумови комплекси показују добру каталитичку активност, али је могућност рециклаже знатно већа у нитрил-функционализованим јонским течностима.

### 1.7.3. Стилова реакција

Међу реакцијама купловања органокалајних једињења са органским електрофилима (обично халогенидима или псеудохалогенидима - трифлатима  $CF_3SO_3^-$ ) у присуству паладијума као катализатора, посебно место заузима Стилова реакција (схема 16).

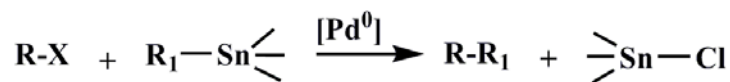


Схема 16. Општи облик Стилове реакције.

Први примери ове реакције презентовани су током 1976. и 1977. године од стране истраживачких група Иборна и Козуција. Међутим, обимна истраживања која су се односила на синтезу и механизам ове реакције спровели су Стил и његови сарадници 1978. године [97], како би ова реакција постала стандардна метода у органској хемији за синтезу сложених молекула. Због своје високе селективности и толеранције на велики број функционалних група, може се применити за синтезу цикличних система са врло реактивним функционалним групама. Основни недостатак ове реакције је примена токсичних органокалајних једињења у кораку трансметаловања. Ово може ограничити њену примену, посебно када се ради о синтези фармацеутских производа.

Реакциони механизам Стилове реакције је врло сличан Сузукијевој реакцији (схема 17). Он обухвата следеће фазе: оксидативну адицију органског халогенида на претходно формиран каталитички активан Pd(0)-комплекс, уз формирање органометалног једињења, затим следи трансметаловање интермедијера Pd(II) и органокалајног једињења, при чему се формира интермедијер који, затим редуктивном елиминацијом, даје коначан производ реакције и регенерисани Pd(0)-комплекс.

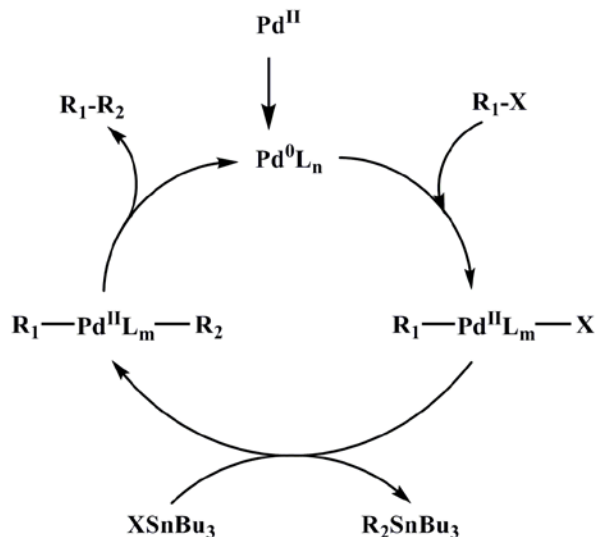


Схема 17. Реакциони механизам Стилове реакције.

Већ је споменуто да се ова реакција врло успешно одиграва у *N*-бутилпиридинијум и нитрил-функционализованим јонским течностима [96]. Такође, испитивана је и серија нитрил-функционализованих соли имидазола, које се понашају и као растварачи и као лиганди за образовање каталитички активног комплекса паладијума. Наиме, ове соли реагују са паладијум-хлоридом, при чему долази до формирања тетраклоропаладатног дианјона у коме се паладијум координује са нитрилним супституентом [98]. Велики број Стилових реакција купловања изведен је и у јонским течностима које су деривати имидазола, као што је на пример [bmim][BF<sub>4</sub>] [99]. Код примене ове јонске течности долази до изражаја селективност за арил-бромиде и јодиде, као и могућност рециклаже растварача и катализатора без значајног смањења каталитичке активности.



#### 1.7.4. Негишијева реакција

Реакција између органоцинкових једињења и органских халогенида у присуству катализатора паладијума или никла, у којој долази до формирања нове С–С везе, позната је као Негишијева реакција. У почетку су се овом реакцијом добијали у високом приносу асиметрични бифенили [100-102]. Међутим, већ дужи временски период, ова реакција се користи за купловање органоцинкових једињења са различитим халогенидима као што су арил-, винил-, бензил- или алил- и зато је не треба ограничавати само на синтезу биарилованих једињења (схема 18).

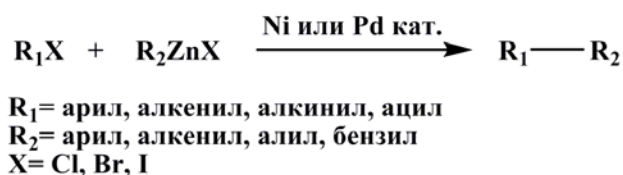


Схема 18. Негишијева реакција примењена у синтези биарилованих једињења.

Механистички, Негишијева реакција је врло слична Сузукијевој и Стиловој реакцији, и обухвата три кључне фазе: оксидативну адицију, трансметаловање и редуктивну елиминацију. Разлика између ових реакција је у фази трансметаловања, где се примењује одговарајуће органоцинково једињење.

Реакција између арил- или бензилцинк-халогенида и различитих арил-халогенида лако се изводи у бифазном систему јонска течност/толуен коришћењем бис-дибензилиденацетон-паладијумовог комплекса ( $\text{Pd}(\text{dba})_2$ ) као катализатора (схема 19) [103].

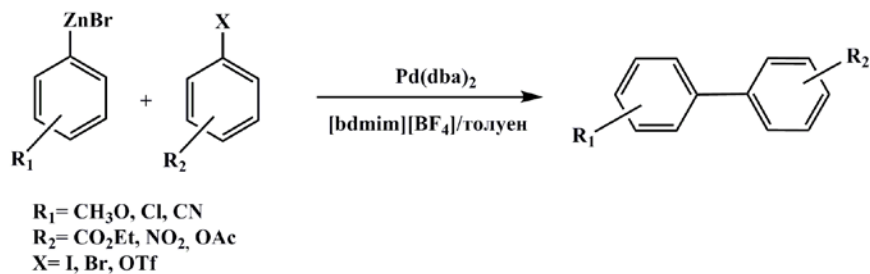
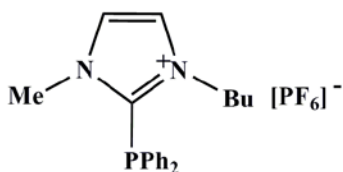


Схема 19. Негишијева реакција изведена у бифазном систему јонска течност/толуен коришћењем ( $\text{Pd}(\text{dba})_2$ ) као катализатора.

У овом случају се, као јонска течност, користи јонски фосфин приказан на слици 9, добијен у реакцији  $\text{PPh}_2\text{Cl}$  и  $[\text{bmim}][\text{PF}_6]$ .

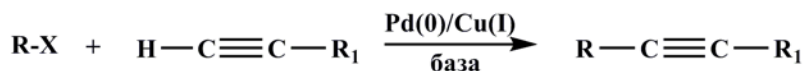


Слика 9. Јонска течност примењена у Негишијевој реакцији.

Принос ове реакције креће се од 70-92%. Примећено је да се најбољи резултати постижу када се као халогенид користи јодбензен, јер тада се реакција брзо дешава чак и на собној температури. Арил-бромиди и трифлати су такође подесни супстрати, мада захтевају дуже реакционо време (3-5 часова). Катализатор може поново да се употреби у реакцији после декантовања органске фазе. До значајног смањења активности долази после трећег пута, при чему се принос реакције смањује до 20%, а реакционо време утростручује.

#### 1.7.5. Соногаширина реакција

Соногаширина реакција је паладијум-бакар-катализована реакција, арил-халогенида и терминалних алкил- или арил-ацетилена, при чему се добијају као производи алкил-, арил- или диарил-супституисани ацетилени (схема 20) [104].



**R= арил, винил**  
**R<sub>1</sub>= алкил, арил, винил**

Схема 20. Схематски приказ Соногаширине реакције.

Производи ове реакције су интересантни интермедијери за добијање природних и фармацеутских производа и органских материјала [105,106] који се користе у производњи оптичких и електронских уређаја [107,108].

Уобичајено је да се Соногаширина реакција изводи у органским растварачима као што су толуен, THF и DMF, уз употребу Cu(I)-соли као ко-катализатора и стехиометријске количине базе.

Механизам Соногаширине реакције је сличан другим паладијум-катализованим реакцијама и обухвата оксидативну адицију, трансметаловање и редуктивну елиминацију (схема 21). Соли бабра у овој реакцији имају улогу да граде бакар-ацетилдни комплекс, као интермедијер у фази трансметаловања. Комплексирање бабра са алкинима знатно повећава киселост ацетилдног протона, што олакшава депротонавање алкина од стране базе, као и његову реакцију са органопаладијумовим једињењем насталом у оксидативној адицији. Као базе се најчешће користе неки амини или карбонати, који имају улогу и да везују халогено-водоничну киселину (HX) која настаје као споредни производ током реакције.

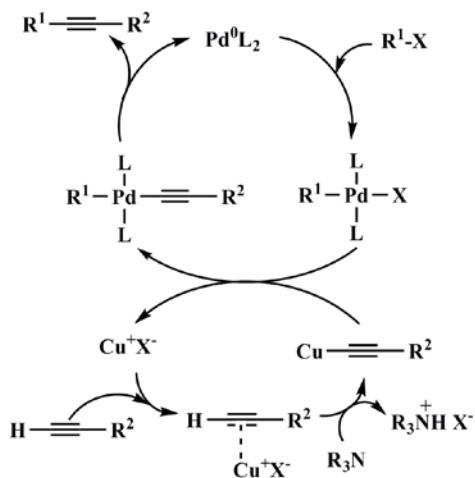


Схема 21. Механизам Соногаширине реакције изведене у присуству Cu(I)-соли као ко-катализатора.

Постоји све више покушаја да се објасни механизам одвијања ове реакције без присуства Cu(I)-соли као ко-катализатора. Један од њих је приказан на схеми 22. По овом механизму  $\sigma$ -органопаладијумов комплекс, настао у оксидативној адицији, се одмах комплексира са алкином, уз замену једног постојећег лиганда из комплекса. Овако везани алкин лакше подлеже депротонавању од стране базе, при чему се добија нови комплекс који редуктивном елиминацијом даје коначан производ реакције.

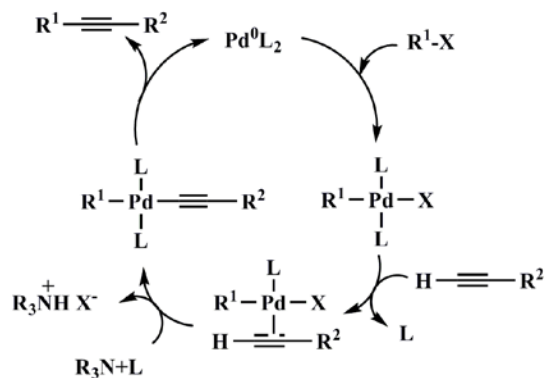
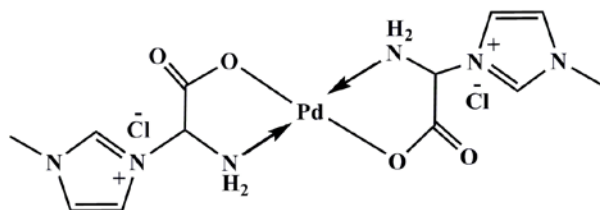


Схема 22. Механизам Соногаширине реакције без присуства Cu(I)-соли као ко-катализатора.

Као еколошки прихватљивије и јефтиније решење за Соногаширину реакцију су каталитички системи који у свом саставу садрже јонске течности. Велики број јонских течности се може употребити у Соногашириној реакцији, као на пример неке соли имидазола, пиридина као и неке фосфонијумове соли аминокиселина.

Јонске течности које у свом саставу садрже имидазол су међу првим почеле да се примењују у Соногашириној реакцији. Доста добри резултати су постигнути у реакцији између јодбензена и фенилацетилена у [bmim][PF<sub>6</sub>] и коришћењем [PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]. Реакција је изведена у присуству диизопропиламина или пиперидина као базе, без употребе соли бакра као ко-катализатора и на температури од 60 °C. Принос, на овај начин добијеног дифенилацетилена, био је 95% [109]. Под истим овим условима су се и јонске течности [bmim][BF<sub>4</sub>] и [emim][BF<sub>4</sub>] показале доста добро, али је принос реакције био нешто нижи, 83 и 80%. Као врло ефикасан катализатор за Соногаширину реакцију се показао и 1-глицил-3-метил-имидазолијум хлоро-паладијум(II)-комплекс [Gmim]Cl-Pd(II) (слика 10).

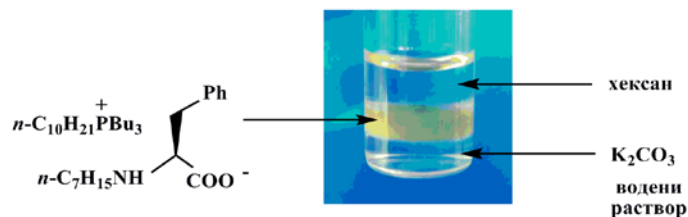


Слика 10. Врло ефикасан катализатор за Соногаширину реакцију 1-глицил-3-метил-имидазолијум хлоро-паладијум(II)-комплекс.

Овај комплекс добијен је у реакцији јонске течности 1-глицил-3-метил-имидазолијум-хлорида и паладијум-хлорида. Реакција бромбензена и фенилацетилена у присуству овог комплекса се најбоље врши у присуству базе триетиламина, без употребе растварача и на собној температури. Време које је потребно да се реакција комплетира је 1-2 часа, а принос који се при томе постиже је чак 97% [110].

Соли пиридина као што су *N*-бутилпиридинијум-хексафлуорофосфат, тетрафлуороборат и нитрат ( $C_4PyX$  ( $PF_6$ ,  $BF_4$ ,  $NO_3$ )) су, такође, испитиване као растварачи и саставни део каталитичког система за Соногаширину реакцију [111]. Резултати испитивања су показали да је каталитички систем  $Pd(OAc)_2/Ph_3P/C_4PyNO_3$  и у одсуству  $Cu(I)$ -соли ефикасан катализатор за ову реакцију.

Примена фосфонијум соли аминокиселина као јонских течности пружа нову могућност вршења Соногаширине реакције, а то без примене соли бакра и амина [112]. Као модел ове реакције испитивана је реакција бромбензена и фенилацетилена коришћењем различитих тетрабутилфосфонијум аминокиселинских јонских течности. Према томе, када је реакција изведена у присуству каталитичке количине  $[PdCl_2(PPh_3)_2]$  у  $[TBP][Gly]$  као растварачу на 90 °C, купловани производ дифенилацетилен формиран је само у приносу од 39% за 7 часова. Слична ситуација, у погледу приноса, била је и када су употребљени  $[TBP][Ala]$  и  $[TBP][Val]$  као растварачи, а значајно побољшање приноса постигнуто је применом  $[TBP][Met]$ ,  $[TBP][Pha]$  и  $[TBP][Ile]$ . Да би се комплекс паладијума и јонска течност могли поново употребити у реакцији, неопходно је уклонити ослобођену  $HX$  из растварача помоћу воденог раствора неорганске базе. Међутим, ове јонске течности су добро растворне у води и одвајање је тешко изводљиво. Зато је било неопходно модификовати структуру јонских течности, како би се повећао њихов хидрофобни карактер. Ово је постигнуто увођењем дугих алкил низова на атому фосфора и азота. Јонска течност са задовољавајућим особинама добијена је из трибутилдецилфосфонијум соли и *N*-хептилфенилаланина (слика 11).



Слика 11. Јонска течност трибутилдецилфосфонијум-*N*-хептил-2-амино-3-фенилпропионат.

Из свега овога се види да је, захваљујући реакцијама у којима учествују једињења паладијума синтетизован велики број структурно сложених једињења на релативно једноставне начине, а полазећи од прилично доступних прекурсора. За те реакције су карактеристични нови механистички процеси, какви нису били познати у класичној органској хемији. Велики број функционалних група, које се изучавају у органској хемији, може се координовати за паладијум, што доводи до значајних промена у њиховој реактивности. Све ово је довело до тога да је примена органских комплекса паладијума, у синтези сложених молекула, данас веома учестала у хемији, због чега се и сматра једном од најперспективнијих и најатрактивнијих области синтетичке органске хемије.

### 1.8. Биолошка активност паладијум(II)-комплекса

У последње време, велико интересовање је усмерено на синтезу комплекса са потенцијалном медицинском применом [113,114]. Добро је познато да различити органски лиганди поседују јаку активност према бактеријама, инсектима и фунгима. Међутим, показано је да се активност биолиганда врло често повећава грађењем комплекса са различитим металима. Последњих година публикован је велики број радова који се односи на антиканцерогену и антимикуробну активност комплекса прелазних метала [115].

Детаљна истраживања, која трају већ дужи низ година, показала су да комплекси паладијума(II) катализују селективну хидролизу пептидне везе у пептидима и протеинима при врло благим реакционим условима. Према томе, ови комплекси се могу сматрати обећавајућим агенсима за селективну хидролизу пептидне везе, односно као ефикасне металопептидазе.

### 1.8.1. Антитуморска и антимикробна активност паладијум(II)-комплекса

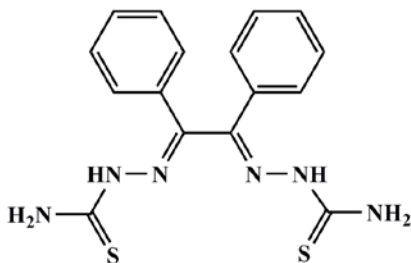
Борба против тумора непрекидно траје и истраживачи широм света раде на синтези једињења која ће бити мање штетна по здраво ткиво, а успешно уништавати ћелије рака. Након открића да неки комплекси платине(II) и платине(IV) показују антитуморску активност, интерес за *in vitro* и *in vivo* истраживања особина комплекса ових метала и других метала платинске групе, је нагло порастао. Цисплатина је цитостатик који је откривен током шездесетих година двадесетог века и показао је велику активност у лечењу тумора, али исто тако показује и извесну токсичност (нефро-, неуро-, кардио-токсичност) па изазива и нека нежељена дејства [116].

Комплекси паладијума(II) су за хемичаре постали додатно интересантни због чињенице да се могу користити као модел-системи преко којих се објашњава механизам антитуморског деловања цисплатине. Разлог за примену комплекса паладијума(II) лежи у чињеници да они имају врло сличну координациону хемију са платина(II)-комплексима. Оба метална јона, паладијум(II) и платина(II), су меке Луисове киселине и могу да формирају јаче везе са азотним и сумпорним довор-атомима (меким базама) него са кисеоником (тврдом базом). Комплекси паладијума(II) су знатно реактивнији у лиганд-супституционим реакцијама. Брзина реакција у којима долази до супституције лиганда у комплексима паладијума(II) је око  $10^4$ - $10^5$  пута већа у односу на одговарајуће реакције комплекса платине(II). Они изузетно лако хидролизују у воденом раствору и дају врло реактивне врсте које су у стању да реагују са њиховим фармаколошким метама [117].

Са друге стране, од давнина је познато да су микроорганизми узрочници заразних болести које се масовно јављају код људи и животиња. Синтетички антибиотици, пеницилин, стрептомицин и остали, су од свог открића у двадесетом веку, значајно утицали на смањење ризика од настанка заразних болести. Међутим, последњих година су бактеријске инфекције (инфекције респираторног тракта, менингитис, полне болести др.) све учестаније, а узроковане су, пре свега, резистентношћу бактерија на синтетичке антибиотике [118]. Стога је неопходно развијати безбедније начине контроле и заштите људи и животиња од бактеријских инфекција. Многа истраживања су усмерена ка дизајнирању и добијању нових органских једињења и њихових комплекса са неким

прелазним металима, која се између осталог, испитују за спречавање различитих микробиолошких обољења. У досадашњим истраживањима комплекси паладијума(II) показали су завидну антимикуробну активност.

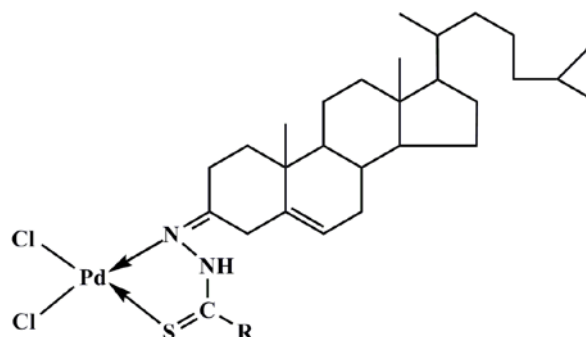
Од паладијум(II)-комплекса који испољавају антитуморско и антимикуробно дејство доста често се срећу комплекси са лигандима као што су тиосемикарбазони. Тиосемикарбазонски лиганди и сами испољавају антивирусну, антималаријску, антимикуробну и антитуморску активност. Координовањем ових лиганада са јонима метала долази до пораста липофилности молекула, чиме се повећава њихова биорасположивост у организму. Зато се активност ових комплекса у односу на активност самог лиганда значајно повећава и они представљају добре потенцијалне антитуморске и антимикуробне агенсе [115,119]. У паладијум(II)-комплексима тиосемикарбазони се понашају као бидентатни лиганди, где се координација са атомом метала врши преко сумпора и азотетинског атома азота. Као пример може да се наведе бензил-бис-(тиосемикарбазон) (слика 12, који са паладијумом даје одговарајући комплекс са  $N_2S_2$  координационом сфером.



Слика 12. Бензил-бис-тиосемикарбазон.



Такође, добри антибактеријски агенси су комплекси паладијума са стероидним тиосемикарбазонима (слика 13).



Слика 13. Паладијум(II)-комплекс са стероидним тиосемикарбазонима.

*In vitro* антибактеријска активност неких нових стероидних тиосемикарбазона и њихових паладијум(II)-комплекса, према грам-позитивним и грам-негативним бактеријама, је испитана у односу на амоксицилин као стандардни лек. Резултати показују да су метални комплекси бољи антимикуробни агенси него сами лиганди [119].

Активне, и добро дизајниране Шифове базе, добијене кондензацијом алдехида или кетона са аминима, се сматрају привилегованим лигандима, јер су способне да стабилизују различите метале у различитим оксидационим стањима. Такође, хемија Шифових база заузима изузетно значајно место због њихових добро објашњених биолошких особина [120]. Показало се да Шифове базе испољавају снажну активност према неким патогеним бактеријама. Активност ових једињења је већа од активности стандардних антибактеријских и антифунгалних лекова, стрептомицина и нистатина. Међутим, одговарајући паладијум(II)-комплекси не испољавају активност према овим организмима. Провера цитотоксичне активности, Шифових база и њихових одговарајућих паладијум(II)-комплекса, показала је да су саме Шифове базе инактивне или врло слабо активне, док су њихови Pd(II)-комплекси врло активни према канцерогеним ћелијама чак су и активнији од стандардног антиканцерогеног лека тамоксифена. Наиме, може се рећи да су саме Шифове базе добри антимикуробни агенси, а њихови Pd(II)-комплекси добри антитуморски агенси [121].

Паладијум(II)-соли могу да граде комплексе и са неким антибиотицима из фамилије тетрациклина (тетрациклин, доксициклин и хлортетрациклин). Испитивано је дејство ових комплекса на развој бактеријских врста осетљивих и отпорних на тетрациклин. Показало се да паладијум(II)-комплекс са тетрациклином ефикасно делује на родове бактерија које су осетљиве на сам тетрациклин, док је и до шеснаест пута активнији према роду бактерија које су отпорне на тетрациклин [122]. Слична ситуација је и са осталим испитиваним комплексима.

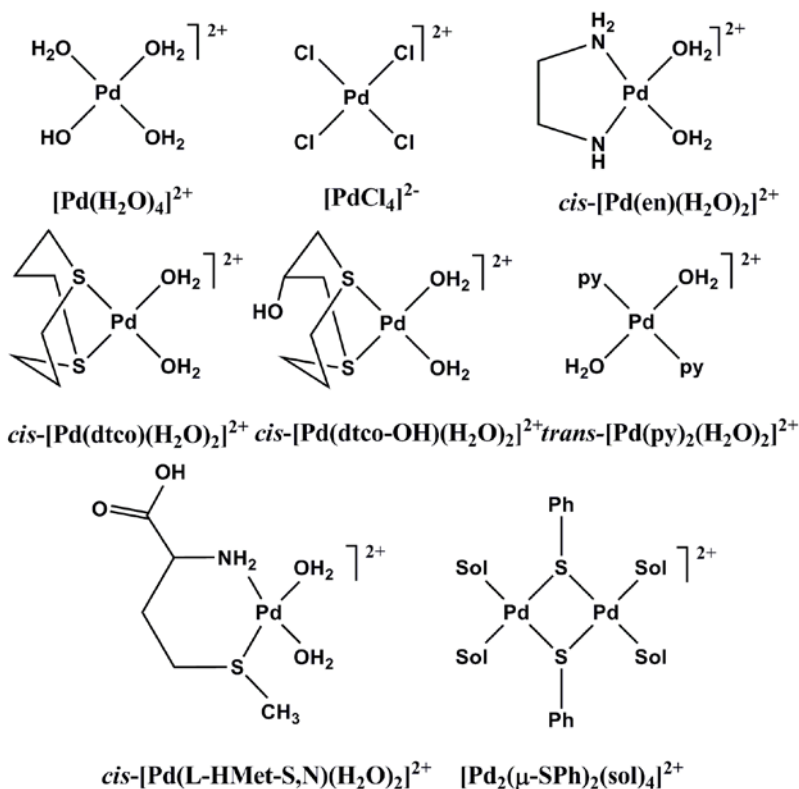
### *1.8.2. Комплекси паладијума(II) као вештачке металопептидазе*

Многи важни биолошки процеси укључују хидролизу протеина и пептида помоћу протеолитичких ензима – протеаза, али се мало зна о механизму одвијања тих реакција. Чињеница да су одређени протеолитички ензими активни само у присуству одговарајућег металног јона, подстакла је научнике да претпоставе да би једноставни комплекси метала могли бити искоришћени за моделовање металоензима који катализују хидролитичке реакције и да синтетизују комплексе метала који би имали структуру сличну активном месту одговарајућег ензима. Показало се да неки комплекси прелазних метала, посебно комплекси паладијума, делују доста обећавајуће када је реч о вештачким металопептидазама.

Комплекси платине(II) и паладијума(II) показали су се као посебно интересантни модел-системи за селективну хидролизу пептида, због чега су и њихове реакције супституције лиганата добро проучене. Изучавања интеракција комплекса ових метала са пептидима и протеинима који у бочном низу садрже сумпор (најчешће цистеин или метионин) или хистидин, нарочито су добила на значају после открића да њихови аква-комплекси могу бити обећавајући агенси за селективну хидролизу пептидне везе [123-127].

Прва испитивања хидролитичких реакција пептида и протеина вршена су са комплексима платине(II), али се убрзо прешло на коришћење лабилнијих комплекса паладијума(II). Механизам реакције хидролизе пептидне везе у присуству ових комплекса је веома сложен. Да би ови комплекси били хидролитички активни они морају имати, од укупно четири, најмање два координациона места слободна, једно за координацију бочног

низа аминокиселине, а друго за интеракцију са најближом пептидном везом која се раскида. Према томе, комплекс мора имати најмање два лабилна лиганда, као што је молекул воде, тако да се брзо могу супституисати у реакцији са пептидима. Неки комплекси паладијума(II) који су показали одређену хидролитичку активност приказани су на слици 14.



Слика 14. Комплекси паладијума(II) који су коришћени као катализатори за хидролизу пептида и протеина.

Већ је познато да метални јони као што су платина(II) и паладијум(II) имају велики афинитет за сумпор и азот везивне лиганде, па се отуда могу лако координовати и за бочне низове *L*-метионина, односно *L*-хистидина, одговарајућих пептида. Сматра се да се реакција хидролизе пептидне везе пептида са метионином, може вршити на два начина (схема 23).

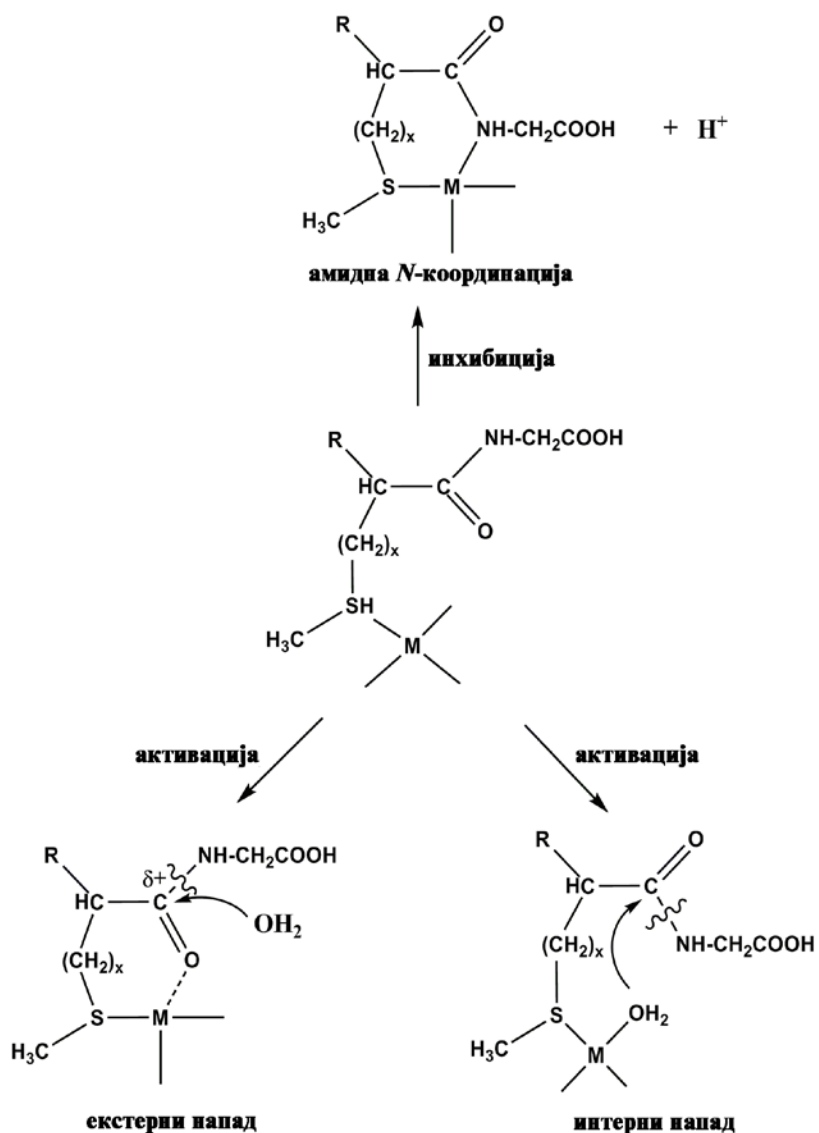
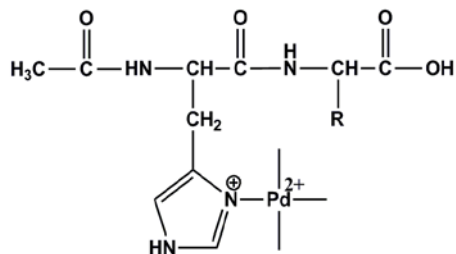


Схема 23. Могући начини хидролизе амидне везе пептида који у бочном низу садржи сумпор.

Претпоставља се да је прва фаза ове реакције монодентатна координација платина(II) и паладијум(II) јона за бочни низ пептида. Овако настали комплекс може даље да се координује за депротоновани пептидни азот, при чему настаје стабилан хелатни комплекс, и хидролиза пептидне везе тада није могућа. Друга могућност је да комплекс метала интерагује са карбонилним атомом кисеоника из пептидне везе, што доводи до поларизације карбонилне групе и олакшане хидролизе ове везе. Долазећи молекул воде који врши хидролизу може да потиче из растварача (тада се ради о екстерном начину

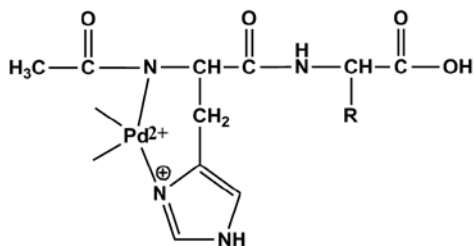
раскидања пептидне везе) или из металног комплекса (интерни механизам раскидања пептидне везе). Комбинација ова два механизма је такође могућа.

Када је реч о пептидима који садрже аминокиселину хистидин, показало се да се паладијум спонтано координује за N-3 атом хистидина и да при томе настаје каталитички активан паладијум(II)-комплекс (слика 15).



Слика 15. Каталитички активан комплекс паладијума(II) који се формира током реакције са пептидом у чији састав улази хистидин.

Ако затим дође до депротоновања азота лево од пептидне везе која се хидролизује, паладијум се координује са њим и тада настаје стабилан хелатни комплекс који није хидролитички активан (слика 16).



Слика 16. Хелатни паладијум(II)-комплекс са *N*-ацетилваним дериватом *L*-хистидил-глицина.

Уочено је да се са смањењем рН вредности реакционе средине константа брзине хидролизе повећава и да повећање киселости средине спречава настајање каталитички неактивних комплекса, као и настајање динуклеарних хидроксо-паладијум(II)-комплекса, који су такође каталитички неактивни. Из ових разлога се ове реакције изводе на нижој рН вредности (често између 1,5 и 3) [128].

## ***2. НАШИ РАДОВИ***

## 2.1. Увод

Етаноламини, као што су моноетаноламин (МЕА), диетаноламин (ДЕА), триетаноламин (ТЕА) и неки њихови деривати, чине групу бифункционалних природних и синтетичких органских једињења. Пошто ова једињења представљају структурне делове лецитина, кефалина, коензима А и других веома важних и врло распрострањених биомолекула, она су стално присутна и у биосфери [129-133].

Захваљујући присуству и амино и алкохолне функционалне групе ова једињења имају веома интересантне хемијске и физичко-хемијске особине, због чега и налазе велику примену у индустрији – фармацеутској, козметичкој, пољопривредој, хемијској, текстилној, петрохемијској [134,135].

Циљ ове докторске дисертације био је да се неки од деривата етаноламина употребе за синтезу одговарајућих јонских течности. Јонске течности, које многи називају још и „зеленим“ растварачима због њихове нетоксичности и, самим тим, еколошке прихватљивости, примењују се последњих година интензивно у органској хемији. Нарочито је интересантна њихова примена у реакцијама органске катализе и органометалне хемије. У паладијум-катализованим реакцијама јонске течности се могу употребити и као катализатор, и као растварач, и као база, и као лиганд потребан за формирање прекаталитички активне Pd(II)-врсте. Такође, због своје способности да растварају комплексе паладијума, оне током реакције одржавају Pd(II)-комплекс растворним, односно имају улогу мобилне подршке за Pd-катализатор. У светлу овога, у оквиру ове дисертације испитиван је каталитички утицај неких етаноламинаских јонских течности и њихових одговарајућих Pd(II)-комплекса на ток Манихове и Хекове реакције. Поред каталитичке улоге ових јонских течности, испитивана је и стереоселективност добијених производа Манихове реакције. Применом метода функционала густине објашњен је механизам одвијања ове реакције.

Расветљен је и механизам формирања Pd(II)-прекатализатора и каталитички активне Pd(0)-врсте у Хековој реакцији катализованој истим јонским течностима и објашњена њихова структура применом метода функционала густине.

Пошто се показало да добијене јонске течности могу да имају улогу координујућих лиганата, неке од њих су употребљене и за синтезу Pd(II)-комплекса.

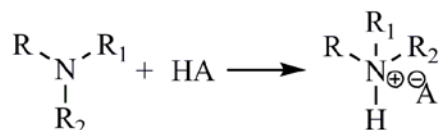
Из литературних података се може видети да су се неки од Pd(II)-комплекса показали као добри антимикуробни агенси. Имајући ово у виду, испитана је антимикуробна и антифунгална активност новосинтетизованих јонских течности и одговарајућих Pd(II)-комплекса.

Због чињенице да комплекси паладијума(II) катализују селективну хидролизу амидне везе у пептидима и протеинима при врло благим реакционим условима, они се могу сматрати обећавајућим агенсима за селективну хидролизу ове везе, за коју се, иначе, зна да тешко подлеже хидролизи под нормалним условима. У оквиру ове дисертације испитана је могућност да се комплекс диетаноламонијум-тетрахлоро-паладат-(II) ( $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ ) употреби као вештачка металопептидаза.



## 2.2. Етаноламинске јонске течности, синтеза и карактеризација

Мешањем еквимоларних количина одговарајућег аминокиселине (схема 24), синтетизована је серија од девет јонских течности (ILs) [136], и то: диетаноламијум-ацетат (1), диетаноламијум-лактат (2), диетаноламијум-хлорацетат (3), диетаноламијум-хлорид (4), *N,N*-диетилетаноламијум-ацетат (5), *N,N*-диетилетаноламијум-лактат (6), *N,N*-диетилетаноламијум-хлорид (7), триетаноламијум-ацетат (8) и триетаноламијум-хлорацетат (9).



- 1: R=-H, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>
- 2: R=-H, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>CH(OH)COO<sup>-</sup>
- 3: R=-H, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=ClCH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>
- 4: R=-H, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=Cl<sup>-</sup>
- 5: R=-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>;
- 6: R=-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>CH(OH)COO<sup>-</sup>
- 7: R=-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=Cl<sup>-</sup>
- 8: R=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>
- 9: R=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>1</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=ClCH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>

Схема 24. Синтеза серије етаноламинских јонских течности.

Добијене јонске течности су окарактерисане применом IR и <sup>1</sup>H NMR спектроскопије и додатно испитане коришћењем метода функционала густине (Density Functional Theory – DFT).

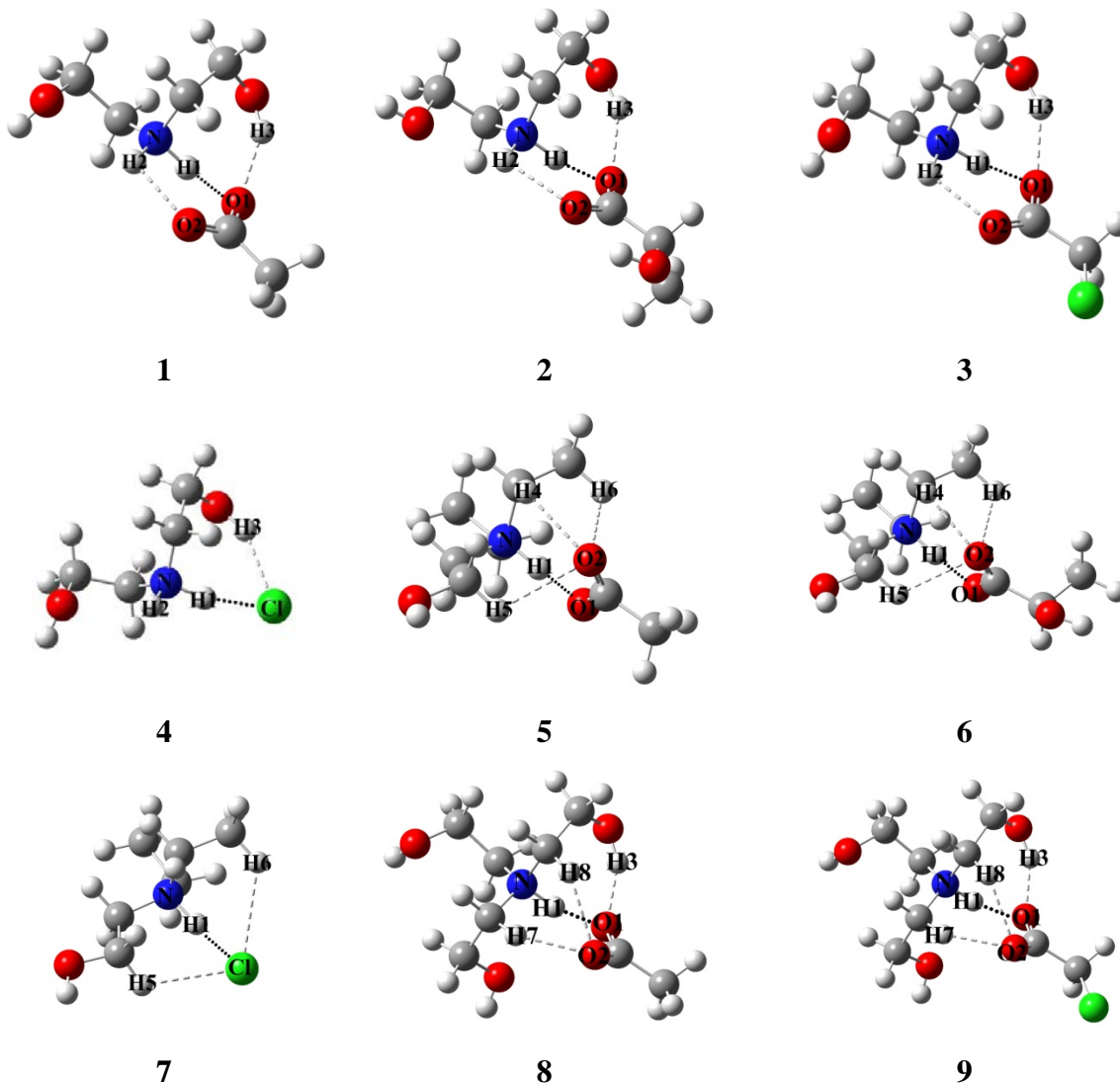
У оквиру теоријских испитивања објашњене су интеракције између катјона и анјона, одређене су вредности енталпија и солватационих енергија у растварачима са различитим диелектричним константама, као и њихове одговарајуће зависности. Такође је урађена и вибрациона анализа ових јонских течности. На овај начин су добијени теоријски IR спектри који су употребљени за поређење са експериментално добијеним IR спектрима. Све ово је знатно олакшало осветљавање структуре испитиваних једињења.

У IR спектрима ових једињења уочене су валенционе вибрације  $\text{NH}_2^+$  групе на  $2500\text{-}2250\text{ cm}^{-1}$  код једињења **1-4**, односно  $\text{NH}^+$  групе код једињења **5-9** на  $2535\text{-}1950\text{ cm}^{-1}$ , и оне леже у областима које су карактеристичне за ове функционалне групе (табела 4). Такође, у предвиђеној области ( $1622\text{-}1582\text{ cm}^{-1}$ ) се налазе и деформационе вибрације  $\text{NH}_2^+$  групе. Постојање карбоксилатног анјона у јонским течностима **1-3, 5, 6, 8, 9** је потврђено присуством асиметричне вибрације за овај тип функционалне групе у области од  $1637\text{-}1570\text{ cm}^{-1}$ , као и симетричне вибрације од  $1411\text{-}1336\text{ cm}^{-1}$ .

Табела 4. Спектрална карактеризација јонских течности.

ИЛ	Експерименталне		$^1\text{H NMR}$
	IR $\text{cm}^{-1}$	Израчунате	
<b>1</b>	3415 (-NH, -OH st), 2525 (- $\text{NH}_2^+$ st), 1637 (- $\text{COO}^-$ as), 1619 (- $\text{NH}_2^+$ def), 1411 ( $\text{COO}^-$ s), 1070 (-C-O- st) 651 (-NH def)	3234, 2290, 1612, 1556, 1360, 1063, 712	$\delta_{\text{H}}$ 1.96 (3H, $\text{CH}_3\text{-CO}$ , s), 3.10 (4H, $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ , t), 3.87 (4H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t)
	3290 (-NH, -OH st), 2450 (- $\text{NH}_2^+$ st), 1582 (- $\text{COO}^-$ as), 1582 (- $\text{NH}_2^+$ def), 1450 (-NH def), 1411 ( $\text{COO}^-$ s), 1040 (-C-N- st), 853 (-C-O- st)	3274, 2222, 1605, 1556, 1457, 1414, 1051, 1069	
<b>2</b>	3242 (-NH, -OH st), 2545 (- $\text{NH}_2^+$ st), 1594 (- $\text{COO}^-$ as), 1594 (- $\text{NH}_2^+$ def), 1448 (-NH def), 1385 ( $\text{COO}^-$ s), 1248 (-C-N- st), 1066 (-C-O- st)	3241, 2461, 1639, 1566, 1384, 1344, 1139, 1064	$\delta_{\text{H}}$ 3.22 (4H, $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ , t), 3.87 (4H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t), 4.12 (2H, $\text{Cl-CH}_2$ -, s)
	3344 (-NH, -OH st), 2250 (- $\text{NH}_2^+$ st), 1622 (- $\text{NH}_2^+$ def), 1448 (-NH def), 1063 (-C-N- st), 939 (-C-O- st)	3344, 2116, 1622, 1448, 1063, 939	
<b>3</b>	3243 (-OH st), 2126 (- $\text{NH}^+$ st), 1570 (- $\text{COO}^-$ as), 1395 ( $\text{COO}^-$ s), 1264 (-C-N- st), 1050(-C-O- st)	3727, 1957, 1611, 1357, 1113, 1051	$\delta_{\text{H}}$ 1.28 (6H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ -, t), 1.99 (3H, $\text{CH}_3\text{-CO}$ , s), 3.03 (4H, $-\text{CH}_2\text{-NH}$ , q), 3.11 (2H, -NH- $\text{CH}_2$ , t), 3.87 (2H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t)
	3307 (-OH st), 2490 (- $\text{NH}^+$ st), 1594 (- $\text{COO}^-$ as), 1398 ( $\text{COO}^-$ s), 1084 (-C-N- st), 924(-C-O- st)	3728, 2385, 1633, 1365, 1038, 952	
<b>4</b>	3361 (-OH st), 1950 (- $\text{NH}^+$ st), 1076 (-C-N- st), 928 (-C-O- st)	3728, 1648, 1412, 1052	$\delta_{\text{H}}$ 1.45 (6H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ -, t), 3.22 (4H, $-\text{CH}_2$ - NH, q), 3.31 (2H, -NH- $\text{CH}_2$ , t), 3.77 (2H, - $\text{CH}_2\text{-OH}$ , t)
	3213 (-OH st), 2350 (- $\text{NH}^+$ st), 1567 (- $\text{COO}^-$ as), 1336 ( $\text{COO}^-$ s), 1063 (-C-N- st), 916 (-C-O- st)	3385, 2056, 1603, 1330, 1036, 899	
<b>5</b>	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	$\delta_{\text{H}}$ 2.03 (3H, $\text{CH}_3\text{-CO}$ , s), 2.90 (6H, $-\text{CH}_2\text{-NH}$ , t), 3.76 (6H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t)
	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	
<b>6</b>	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	$\delta_{\text{H}}$ 3.05 (6H, $-\text{CH}_2\text{-NH}$ , t), 3.81 (6H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t), 4.15 (2H, $\text{Cl-CH}_2$ -, s)
	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	
<b>7</b>	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	$\delta_{\text{H}}$ 3.05 (6H, $-\text{CH}_2\text{-NH}$ , t), 3.81 (6H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t), 4.15 (2H, $\text{Cl-CH}_2$ -, s)
	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	
<b>8</b>	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	$\delta_{\text{H}}$ 3.05 (6H, $-\text{CH}_2\text{-NH}$ , t), 3.81 (6H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t), 4.15 (2H, $\text{Cl-CH}_2$ -, s)
	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	
<b>9</b>	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	$\delta_{\text{H}}$ 3.05 (6H, $-\text{CH}_2\text{-NH}$ , t), 3.81 (6H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$ , t), 4.15 (2H, $\text{Cl-CH}_2$ -, s)
	3272 (-OH st), 2535 (- $\text{NH}^+$ st), 1602 (- $\text{COO}^-$ as), 1384 ( $\text{COO}^-$ s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st)	3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058	

Пошто све испитиване јонске течности садрже еаноламонијум катјон, оне су структурно врло сличне. Имајући у виду ову чињеницу, постоје два могућа везивна места за анјоне у свим катјонима: водоник из N-H или O-H групе (слика 17). На основу  $^1\text{H}$  NMR и IR спектра (табела 4), утврђено је да је везивање остварено преко N-H интеракције.



Слика 17. Оптимизоване структуре еаноламинских јонских течности.

Добијени спектрални подаци (табела 4), показују да су испитиване јонске течности изграђене од одвојених катјона и анјона. Ово је потврђено коришћењем метода функционала густине, поређењем IR спектра добијених рачунским путем и експериментално. У првом тренутку је у теоријским IR спектрима уочено, да у случају

ацетатних јонских течности (ILs **1**, **2**, **5**, **6** и **8**) оптимизоване структуре ових једињења не постоје у облику јона, већ у облику неутралних молекула, одговарајућег амина и сирћетне киселине. Наиме, када је оптимизација изведена без икаквих ограничења, атом водоника првобитно смештен између азота етанолмонијум катјона и кисеоника ацетатног анјона био је привучен од стране ацетатног анјона, што доводи до формирања неутралних молекула. Пошто су у експериментално добијеним  $^1\text{H}$  NMR и IR спектрима сигнали за ацетатни анјон и амонијум јон били присутни, морали смо да користимо ограничење засновано на фиксирању N–H везе. На овај начин је потврђена и теоријски, јонска структура ацетатних ILs, при чему је постигнуто и добро слагање између експерименталних и израчунатих IR спектра (табела 4).

### *2.2.1. Понашање испитиваних јонских течности у различитим растварачима*

Велики број хемијских реакција се одиграва у раствору, где растварач има кључну улогу у њиховом спровођењу. Последњих година је коришћење јонских течности, како самих тако и у комбинацији са другим растварачима, доста често. Испитивање понашања ILs у растварачима различите поларности је од великог значаја. У ту сврху могу се применити методе функционала густине. У овом случају, DFT рачуни су показали да се растојање између јона мења са променом поларности растварача, услед формирања водоничних веза са молекулима растварача. Наиме, са повећањем диелектричне константе растварача, растојање између јона испитиваних ILs такође се повећава (H1–O1 или H1–Cl, слика 17), (табеле 5-13, Експериментални део). У катјонима N–H1 веза постаје јача са повећањем поларности растварача (изузев у случајевима када су дужине веза постављене на тачно одређену вредност). Важно је нагласити да су у свим испитиваним ILs присутне водоничне везе, (табеле 5-13, Експериментални део). Ове водоничне везе су формиране између анјона и алкокси или алкил остатка катјона. Интензитет водоничних веза је знатно израженији код јонских течности које као анјоне имају ацетат, хлорацетат и лактат (ILs **1**, **2**, **3**, **5**, **6**, **8**, **9**), а слабији код оних са хлоридним анјоном (ILs **4**, **7**). Водоничне везе између јона постају слабије са порастом поларности употребљеног растварача.

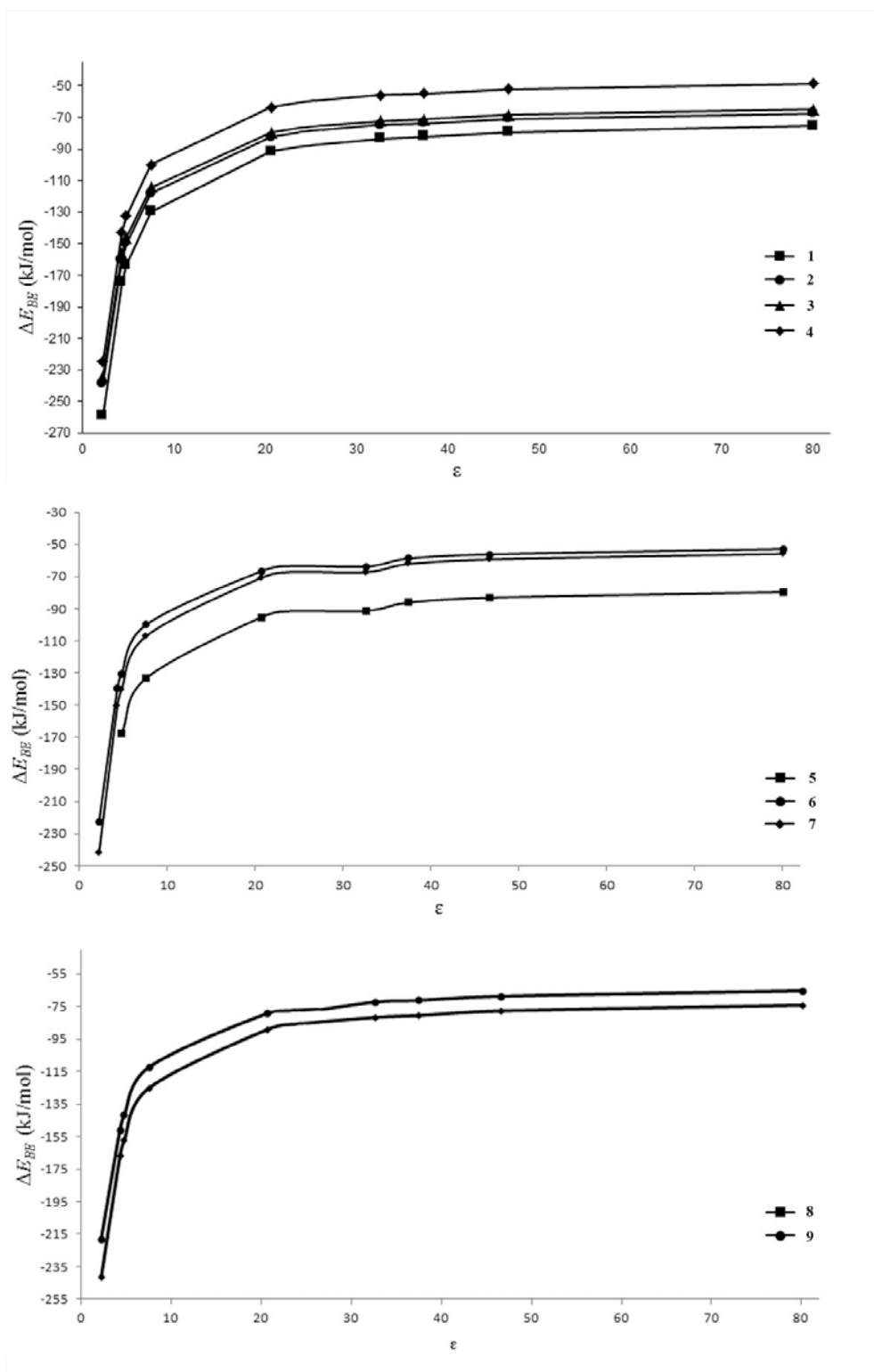
Вредности везивних енергија ( $\Delta E_{BE}$ ) јонских течности су израчунате коришћењем једначине (1), како за гасовиту тако и за солватисану фазу.

$$\Delta E_{BE} = E_{IL} - E_{катјон} - E_{анјон} \quad (1)$$

Добијени резултати су представљени у табели 14 и на слици 18. У свим испитиваним случајевима,  $\Delta E_{BE}$  вредности за течну фазу, независно од поларности растварача, су знатно више него одговарајуће  $\Delta E_{BE}$  вредности израчунате за гасовиту фазу. Такође, са порастом поларности употребљеног растварача расте и вредност  $\Delta E_{BE}$  (слика 18). На основу ових података може се закључити да понашање катјон-анјон пара ILs зависи од природе растварача. У случају где су коришћени растварачи са нижим диелектричним константама (угљен-тетрахлорид, диетил-етар, хлороформ) катјони и анјони остају у облику контактних јонских парова. Међутим, када су употребљени растварачи са већим диелектричним константама (вода, диметил-сулфоксид, ацетонитрил) ILs постоје у облику одвојених јонских парова. Ови резултати су у сагласности са литературним подацима [137].

Табела 14. Гасна фаза - везивне енталпије за испитиване ILs.

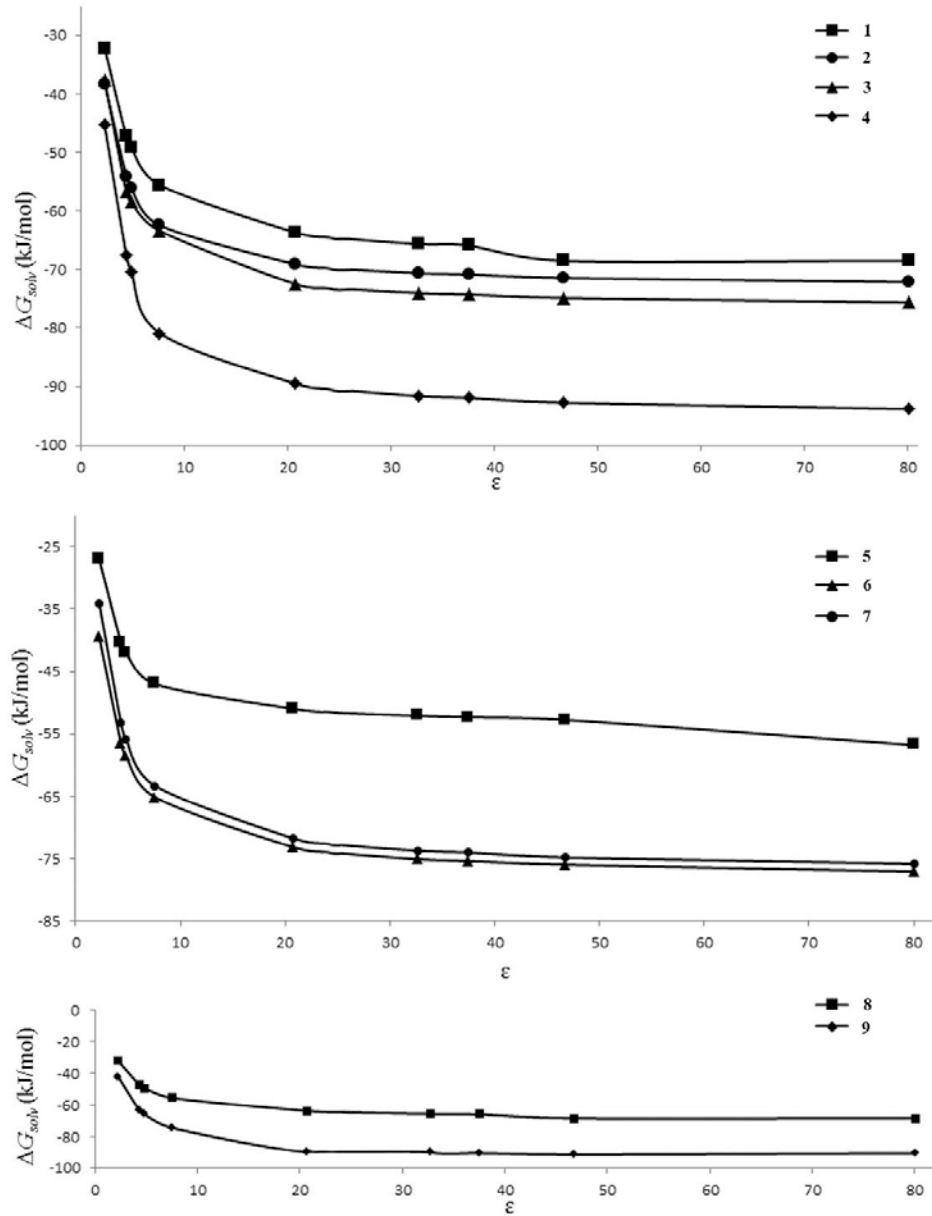
$\Delta E_{BE}$		$\Delta E_{BE}$		$\Delta E_{BE}$	
IL	(kJ/mol)	IL	(kJ/mol)	IL	(kJ/mol)
<b>1</b>	-495.79	<b>4</b>	-463.91	<b>7</b>	-489.41
<b>2</b>	-458.82	<b>5</b>	-509.81	<b>8</b>	-461.01
<b>3</b>	-455.67	<b>6</b>	-438.43	<b>9</b>	-424.02



Слика 18. Везивне енергије ILs у растварачима са различитим диелектричним константама.

Солватационе енергије ( $\Delta G_{solv}$ ) јонских течности израчунате су коришћењем једначине (2) и њихове зависности од диелектричних константи растварача представљене су на слици 19.

$$\Delta G_{solv} = G_{solv} - G_{gas} \quad (2)$$

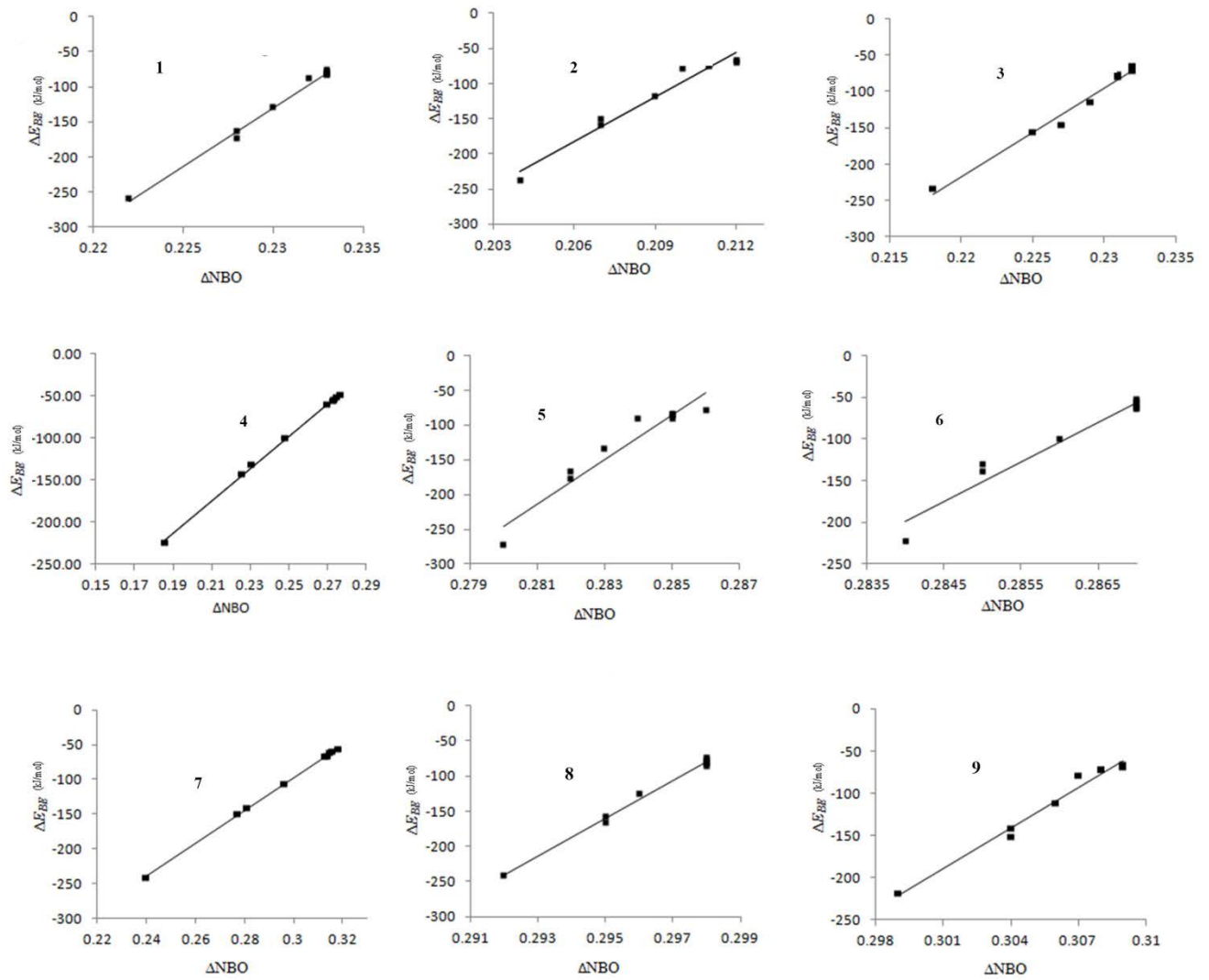


Слика 19. Солватационе енергије ILs у растварачима са различитим диелектричним константама.

Из овога се може закључити да се солватационе енергије смањују са повећањем поларности растварача. Процес солватације испитиваних врста је егзотерман процес, тако да су јонски парови  $ILs$  више стабилизовани у растварачима са већим диелектричним константама. Ово је у складу са датом претпоставком о јонској структури испитиваних молекула.

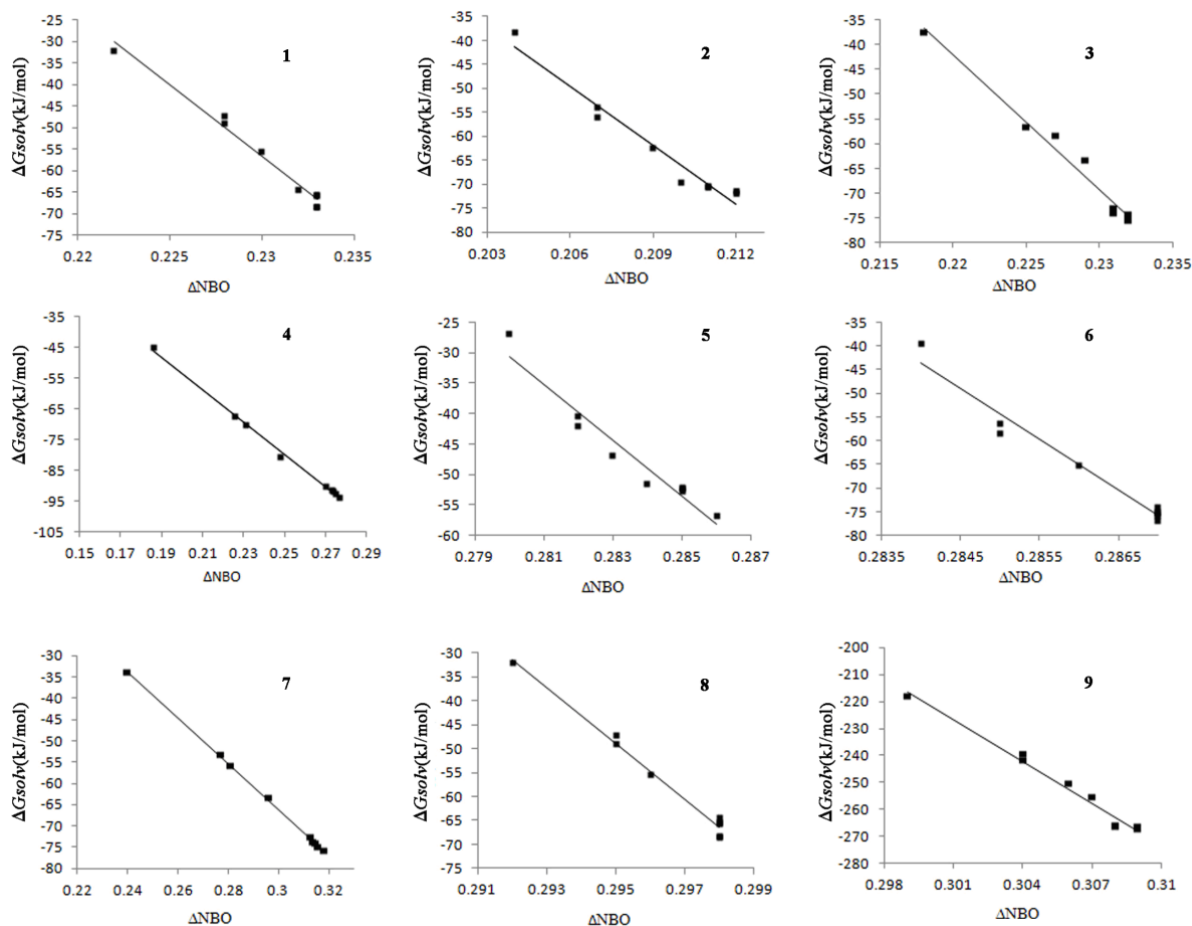
Такође, треба истаћи да  $NBO$  наелектрисање које се налази на азоту катјонске јединице и кисеонику или хлору анјонске јединице се мало мења са променом поларности растварача. Ипак, у складу са понашањем јонских врста, посматрани атоми постају све више и више негативни са повећањем диелектричне константе растварача. Ово нас је подстакло да испитамо могућу везу између везивне енталпије јона и разлике у  $NBO$  наелектрисању сконцентрисаном на азоту, кисеонику и хлору. Исто тако, испитана је веза између солватационе енергије и разлике у  $NBO$  наелектрисању. У свим случајевима разлика у  $NBO$  наелектрисању и  $\Delta E_{BE}$  се повећавају са повећањем поларности растварача. На овај начин добијена је линеарна зависност између ове две величине са коефицијентом корелације већим од 0.95 (слика 20).





Слика 20. Зависност  $\Delta E_{BE}$  од разлике у NBO наелектрисуњу.

Зависност  $\Delta G_{solv}$  од разлике у NBO наелектрисуњу је такође линеарна (слика 21). Треба нагласити да је у овом случају коефицијент корелације за све испитиване јонске течности већи од 0.99.



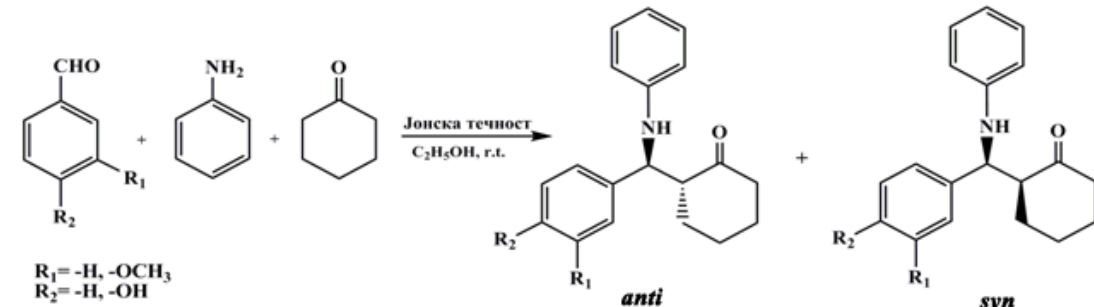
Слика 21. Зависност  $\Delta G_{solv}$  од разлике у NBO наелектрисуњу.

### 2.3. Примена неких етаноламинских јонских течности у Маниховој реакцији

У Маниховој реакцији ароматичних алдехида, анилина и циклохексанона, употребљене су четири хлорацетатне етаноламинске јонске течности: диетаноламијум-хлорацетат (**3**), триетаноламијум-хлорацетат (**9**), *N,N*-диетилетаноламијум-хлорацетат (**10**) и етаноламијум-хлорацетат (**11**). Да би се тестирала њихова каталитичка улога, две трокомпонентне Манихове реакције су одабране као модел-реакције [138]. Прелиминарна реакција је изведена на собној температури са бензалдехидом, анилином и

циклохексаноном и у присуству поменутих јонских течности које су имале двоструку улогу – улогу растварача и улогу катализатора. Да би се одредила стереохемија и принос добијених производа, реакција је праћена  $^1\text{H}$  NMR спектроскопијом. Добијени резултати су показали да су принос Манихових производа, као и диастереоселективност, били умерени (табела 15). Поређењем наших резултата са литературним подацима [139], може се закључити да су *anti* и *syn* изомери били присутни у смеши, али да је *anti* изомера било више. Однос *anti/syn* производа је одеђен  $^1\text{H}$  NMR спектроскопијом, на основу хемијских померања сигнала који одговарају –CH–N протону. Сагласно са референцом [139], главни диастереоизомер добијен у овој реакцији је означен као *anti*. Карактеристичан дублет метинског протона CH–N, се јавља на нижим вредностима хемијског померања и има већу константу купловања ( $d$ ,  $\delta = 4.62$ ,  $J = 7.2$  Hz), у односу на *syn* изомер чији се протон CH–N налази на већем хемијском померању и има мању константу купловања ( $d$ ,  $\delta = 4.80$ ,  $J = 4.4$  Hz).

Табела 15. Манихова реакција катализована различитим етаноламинским хлорацетаним јонским течностима.

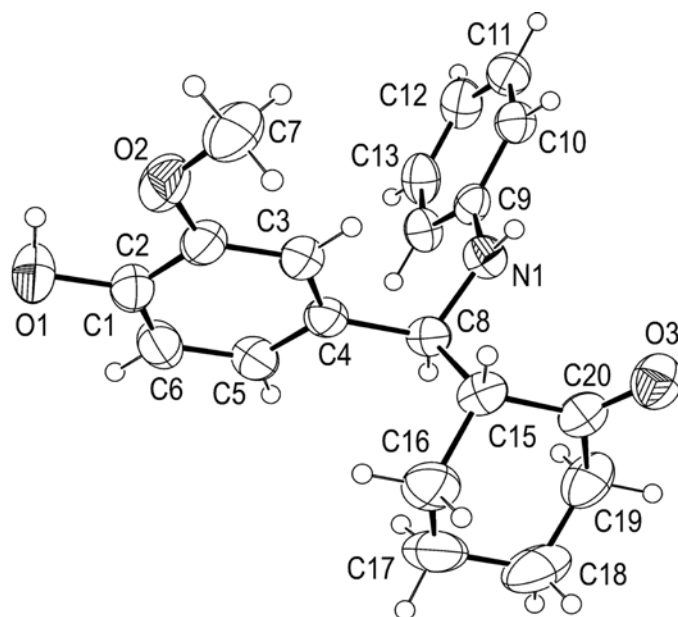


$\text{R}_1 = -\text{H}, -\text{OCH}_3$   
 $\text{R}_2 = -\text{H}, -\text{OH}$

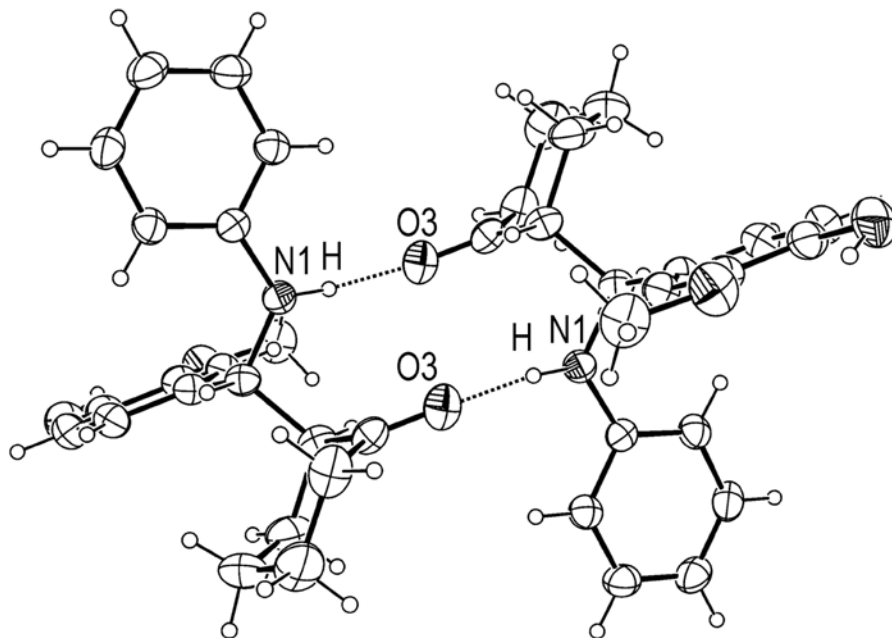
Редни број	Алдехид $\text{R}_1$	$\text{R}_2$	Катализатор	Растварач	Иzolовани принос (%)	<i>anti:syn</i>
1	H	H	<b>9</b>	<b>9</b>	63	67:33
2	H	H	<b>3</b>	<b>3</b>	61	64:36
3	H	H	<b>10</b>	<b>10</b>	57	75:25
4	H	H	<b>11</b>	<b>11</b>	56	65:35
5	H	H	<b>9</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	94	100:0
6	H	H	<b>3</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	90	100:0
7	H	H	<b>10</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	86	100:0
8	H	H	<b>11</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	83	100:0
9	-OH	-OCH <sub>3</sub>	<b>9</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	93	100:0
10	-OH	-OCH <sub>3</sub>	<b>3</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	89	100:0
11	-OH	-OCH <sub>3</sub>	<b>10</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	86	100:0
12	-OH	-OCH <sub>3</sub>	<b>11</b>	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	84	100:0

Реакциони услови: алдехид: амин:кетон, 1:1:1.5 (молски однос); температура = собна (r.t.)  
 Јонске течности као катализатори (15 mol%), редни бројеви 5 - 12.

У циљу оптимизације реакционих услова, и пре свега повећања приноса производа, у реакцији бензалдехида, анилина и циклохексанона етанол је употребљен као растварач, док су употребљене јонске течности сада имале само улогу катализатора, и то у количини од 15 mol%. Под овим реакционим условима принос производа реакције био је бољи, а стероселективност добијених Манихових производа одлична. Наиме, у  $^1\text{H}$  NMR спектру, у области 4.62 – 4.80 ppm појавио се само један дублет на  $\delta = 4.62$  ppm. Овај податак нам је указао на одличну стереоселективност, односно на чињеницу да се овом методологијом добија само *anti* диастереоизомер, и то 2-[1-(*N*-фениламино)-1-фенил]метилциклохексанон (табела 15, редни бројеви 5-8). Примењујући исту процедуру, изведена је реакција ванилина, анилина и циклохексанона. На основу добијених резултата се може закључити да је од свих употребљених јонских течности, триетаноламонијум-хлорацетат најефикаснији катализатор за ове конверзије. Такође, и у реакцији са ванилином се јавља само један дублет на 4.54 ppm, са вредношћу константе купловања од  $J = 7.40$  Hz, који показује да је добијен само *anti* диастереоизомер [140], (табела 15, редни бројеви 9-12). На крају, треба нагласити да је реакција са ванилином била посебно интересантна, јер је у овој реакцији изоловано безбојно, кристално једињење 2-[1-(*N*-фениламино)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)]метилциклохексанон (**12**), које је било погодно за рендгенску структурну анализу (слика 22). Из одређене кристалне структуре видело се да Манихов производ **12** гради супрамолекулску структуру са својим енантиомером (слика 23).



Слика 22. Молекулска структура једињења **12**, представљена са нивом вероватноће од 40%. Ознаке атома са слике остају непромењене у целом раду.



Слика 23. Међусобна оријентација молекула унутар димера формираног преко  $N1-H \dots O3^i$  водоничних веза [Симетријски код:  $(i) -x+2, -y+1, -z+1$ ], са нивом вероватноће од 30%.

### 2.3.1. Опис кристалне структуре једињења 12

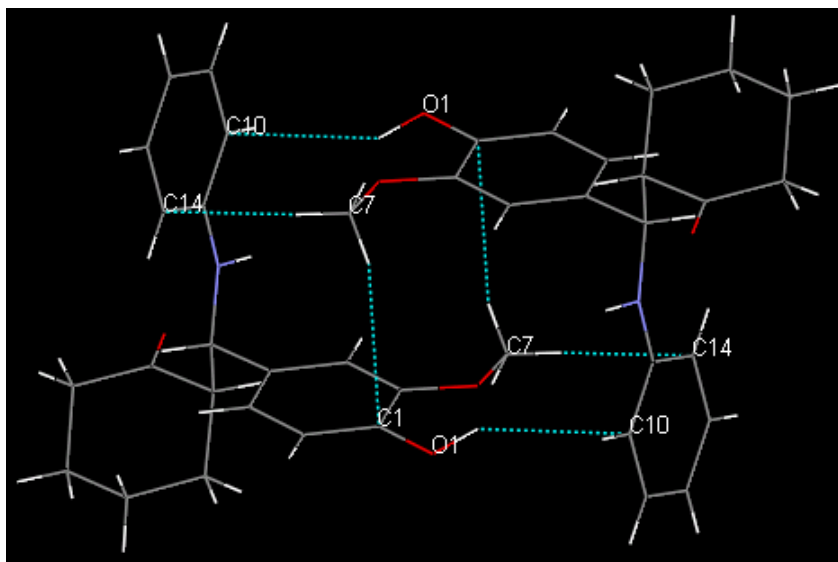
Кратак преглед кристалографских података за једињење **12** дат је у табели 16. Једињење **12** садржи три шесточлана прстена. Диедарски угао између средишњих равни два фенил прстена, C1–C6 и C9–C14, износи 81.50(5)°. Ови фенил прстенови су скоро ортогонално оријентисани један у односу на други. Прстен C15–C20 заузима готово идеалну столичасту конформацију. Угљеникови атоми C15, C16, C18 и C19 који образују основу овог прстена су потпуно копланарни (корен квадрата средњег одступања атома који улазе у састав прстена из одговарајуће средње равни је само 0.0053 Å). Атоми C17 и C20 су за –0.651(3) односно 0.593(3) Å померени из средње равни коју чине C15/C16/C18/C19 атоми.

Табела 16. Кристалографски подаци једињења **12**.

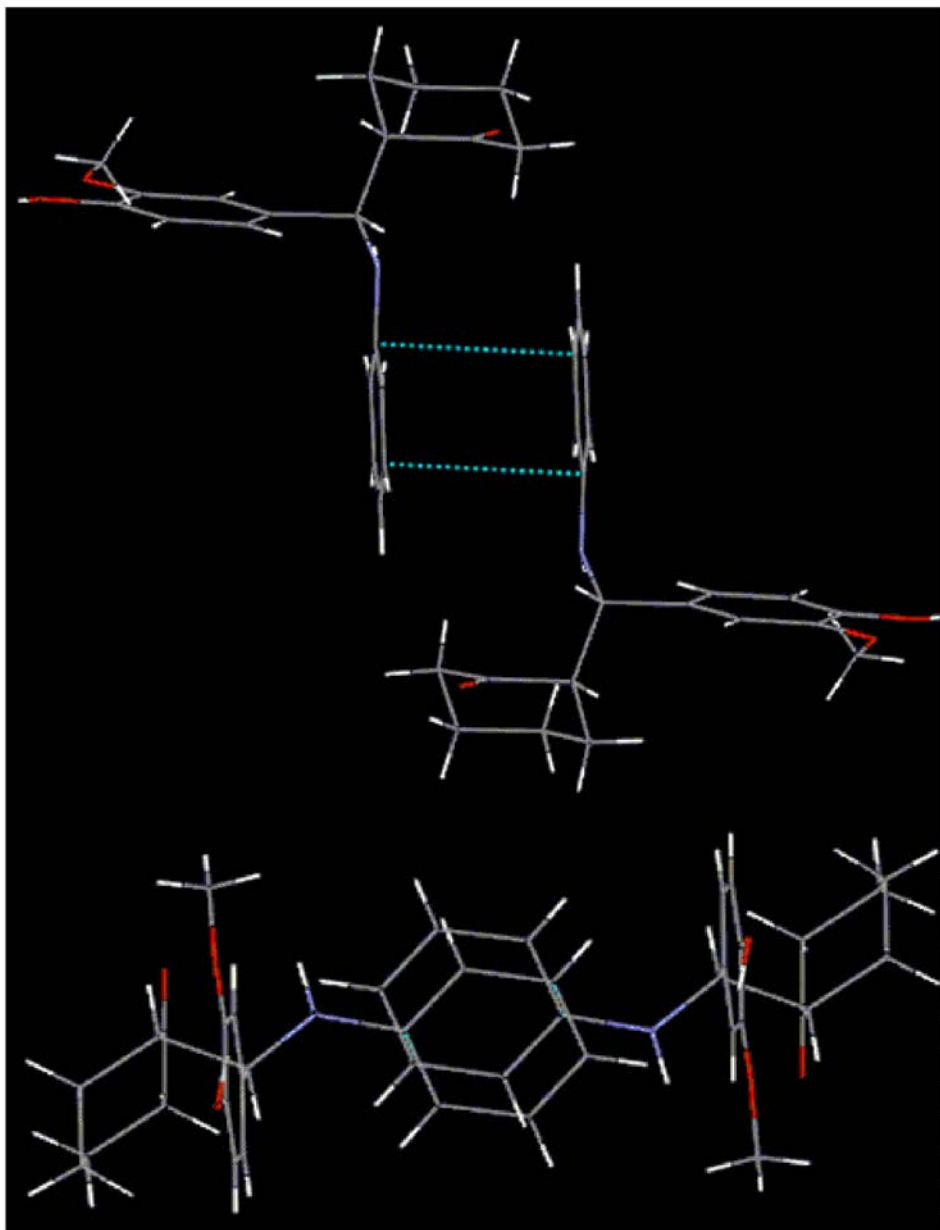
Емпиријска формула	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N O <sub>3</sub>
Молекулска маса	325.39
Боја, облик кристала	безбојни, призматични
Величина кристала (mm <sup>3</sup> )	0.48 x 0.33 x 0.23
Температура (К)	293(2)
Таласна дужина (Å)	1.5418
Кристални систем	моноклиничан
Просторна група	P2 <sub>1</sub> /n
Параметри јединичне ћелије	
a (Å)	9.0772(3)
b (Å)	17.1013(7)
c (Å)	11.2214(4)
α (°)	90
β (°)	101.355(3)
γ (°)	90
V (Å <sup>3</sup> )	1707.82(11)
Z	4
D <sub>calc</sub> (Mg/m <sup>3</sup> )	1.266
μ (mm <sup>-1</sup> )	0.679
θ домет за скупљање података (°)	4.78 до 72.38
Сакупљене рефлексije	6482
Независне рефлексije, R <sub>int</sub>	3295, 0.0143
Потпуност (%) to θ = 67°	99.9

Централно место у молекулу заузима атом С8 који образује најдужу С–С везу у једињењу **12**, С8–С15 = 1.553(2) Å (табела 17, Експериментални део). Веза С4–С8 и све остале С–С везе у С15–С20 прстену су једноструке, чије се дужине крећу од 1.490(2) до 1.527(3) Å. Метил група С7 је приближно копланарна у односу на С1–С6 фенил прстен без обзира на могућу ротацију око С2–О2 везе [С3–С2–О2–С7 торзиони угао је –3.6(3)°].

Два енантиомерна молекула једињења **12** су међусобно повезана двома водоничним везама N1–H...O3<sup>i</sup> [N1–H, 0.93(2) Å; N1...O3, 2.987(2) Å; H...O3<sup>i</sup>, 2.07(2) Å; N1–H...O3<sup>i</sup>, 169(2)°; симетријски код: (i) –x+2, –y+1, –z+1], при чему образују центросиметрични рацемски димер (слика 23). Хидроксилна група О1–Н не образује ни једну класичу водоничну везу али игра значајну улогу у интрамолекулкој О–Н...π интеракцији са Н...С10 на растојању од 2.70 Å (слика 24). Фенил прстенови С9–С14 образују π...π интеракцију са нормалним интерпланарним растојањем од 3.49 Å (слика 25).



Слика 24. Хидроксилна група О1–Н учествује у интермолекулкој О–Н...π интеракцији. Метил група С7 такође учествује у интермолекулским интеракцијама (С–Н...π). Тачкасте плаве линије означавају С...Н везе са растојањем краћим од 3.0 Å.



Слика 25. Илустрација  $\pi \dots \pi$  интеракције фенил-прстенова C9–C14 у кристалној структури једињења **12**. Илустрација је дата у две ортогоналне пројекције.



Кристална структура димера једињења **12** (слика 23) нас је подстакла да испитамо могући пут формирања два енантиомерна *anti* производа. Да би расветлили механизам одвијања ове реакције употребили смо методу функционала густине.

### 2.3.2. *Механистичко разматрање Манихове реакције*

Претпостављени механизам за Манихову реакцију између ванилина, анилина и циклохексанона катализоване једињењем **9** је представљен на схеми 25. Реакција почиње нуклеофилним нападом азотовог атома анилина на карбонилну групу ванилина. Постоје два могућа пута за овај напад, и даље формирање **R** и **S** аминокиселина. На овај начин формиран  $\alpha$ -амино алкохол **15** подложен је протоновању од стране триетаноламонијум јона. После дехидратације протонованог аминокиселине, добија се иминијум јон **16**. За даљи ток реакције и формирање коначних производа, **RS** и **SR** поново постоје два могућа пута. Циклохексанон се таутомеризује у енолну форму и напада C8 угљеников атом иминијум јона, формирајући протоновану Манихову базу **21**. Водоников атом везан за O3 атом кисеоника из интермедијера **21** се спонтано премешта на хлорацетатни анион јонске течности, дајући коначан производ реакције **12 (RS и SR)**. Треба нагласити да се оба прекурсора јонске течности **9** (TEA и ClAcH) ослобађају у току реакције, што обезбеђује обнављање катализатора. Овај проналазак су потврдили и наши експерименти, који су показали да је коришћење обновљеног катализатора било успешно.

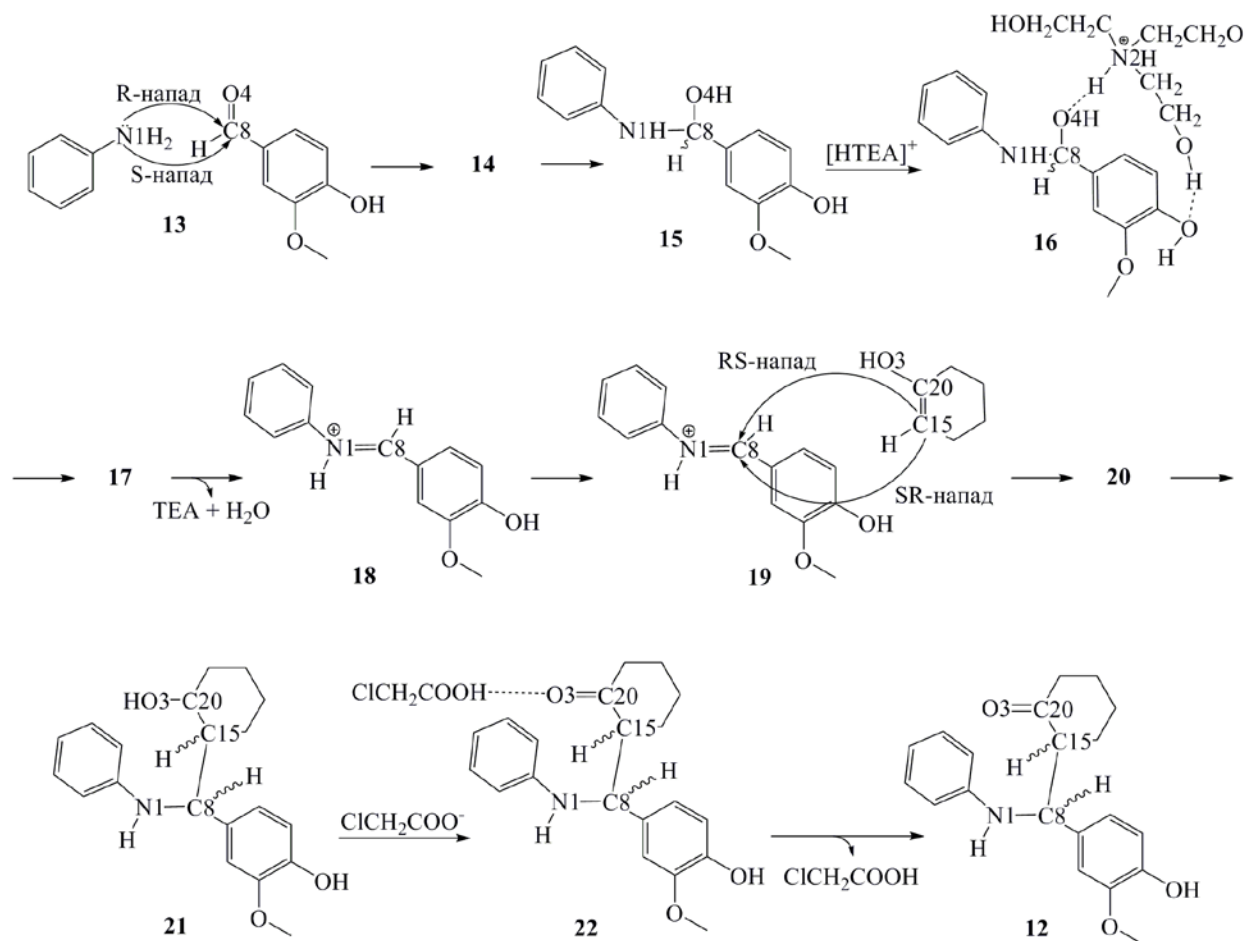
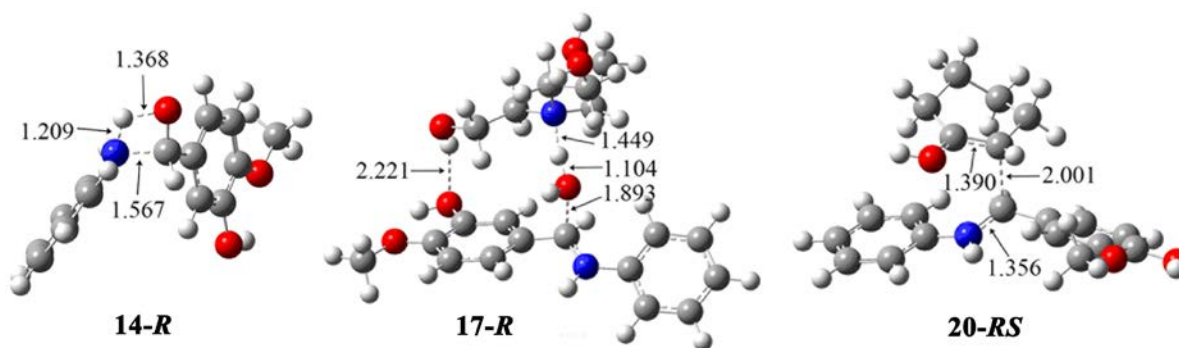
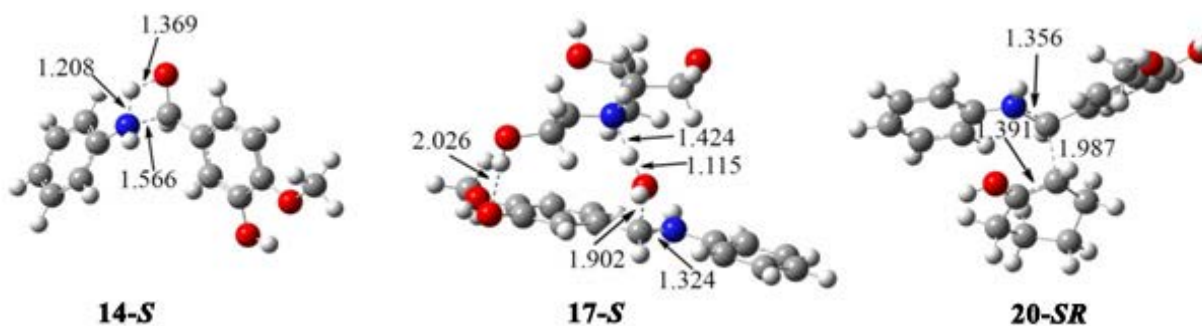


Схема 25. Претпостављени механизам за Манихову реакцију између ванилина, анилина и циклохексанона, катализоване једињењем **9**.

Оптимизоване структуре прелазних стања за *R* и *RS* путеве су представљене на слици 26, а прелазна стања која се појављују у *S* и *SR* путевима на слици 27.

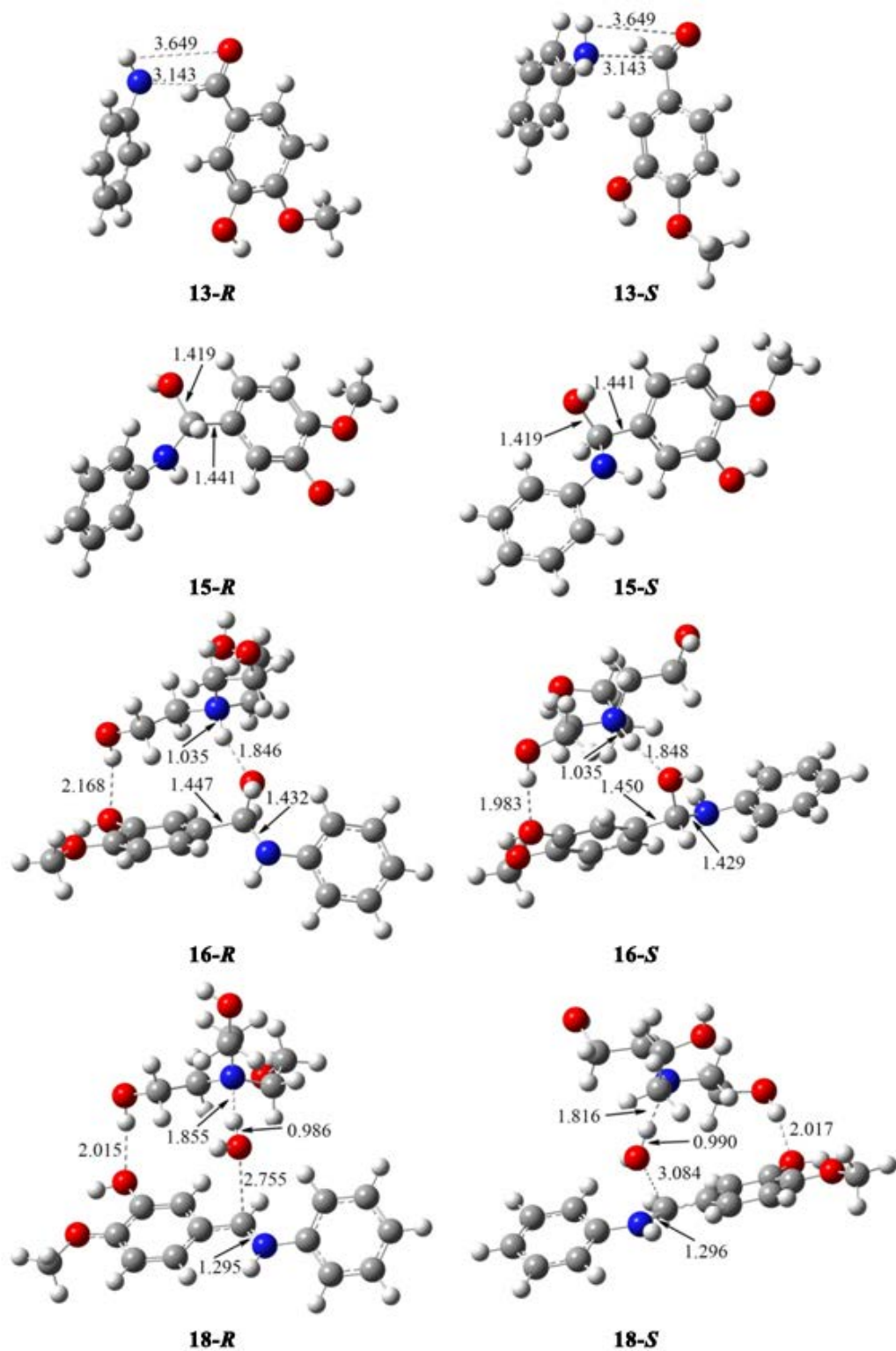


Слика 26. Оптимизоване структуре прелазних стања у *R* и *RS* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима у (Å).

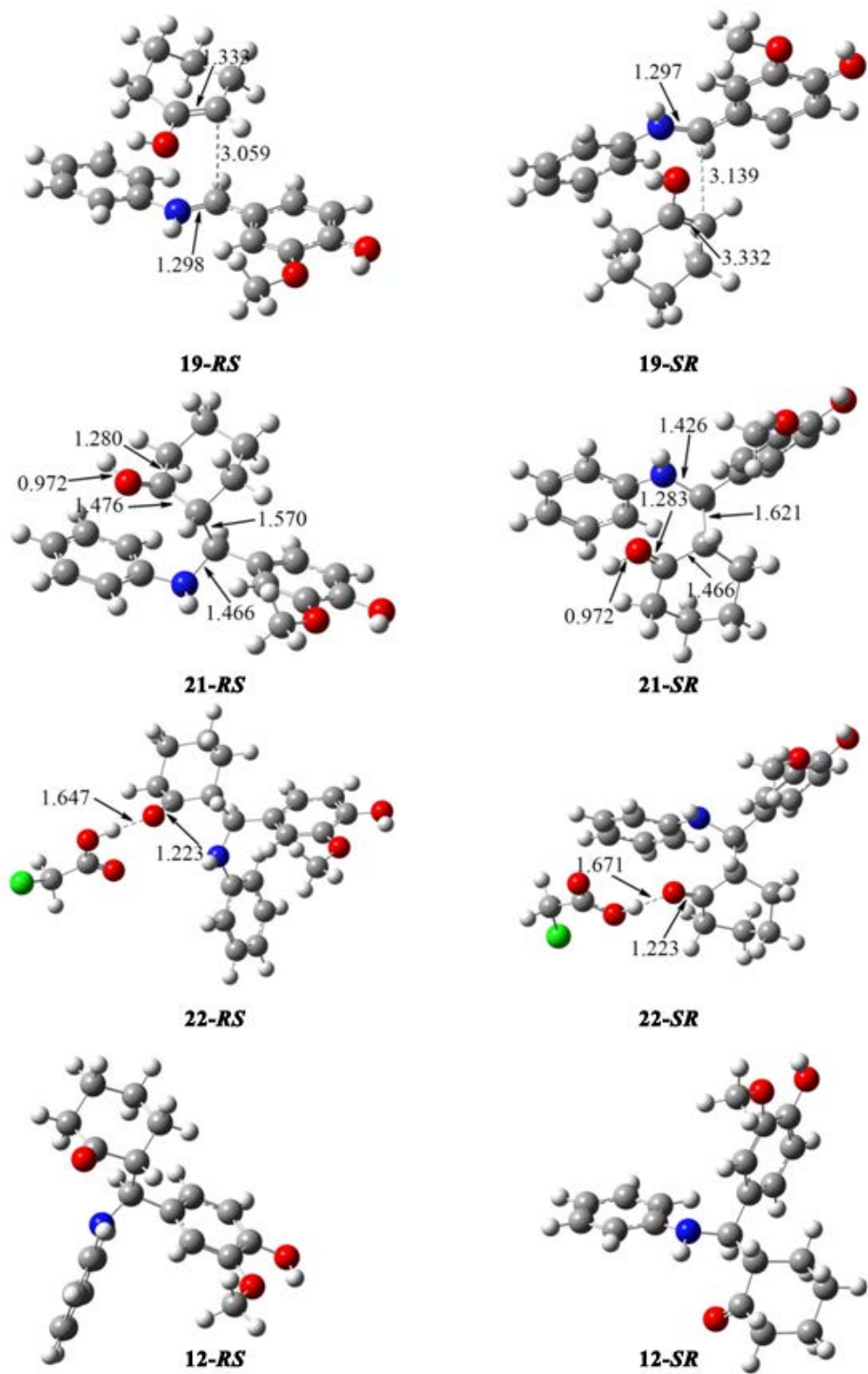


Слика 27. Прелазна стања која се појављују у *S* и *SR* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима у (Å).

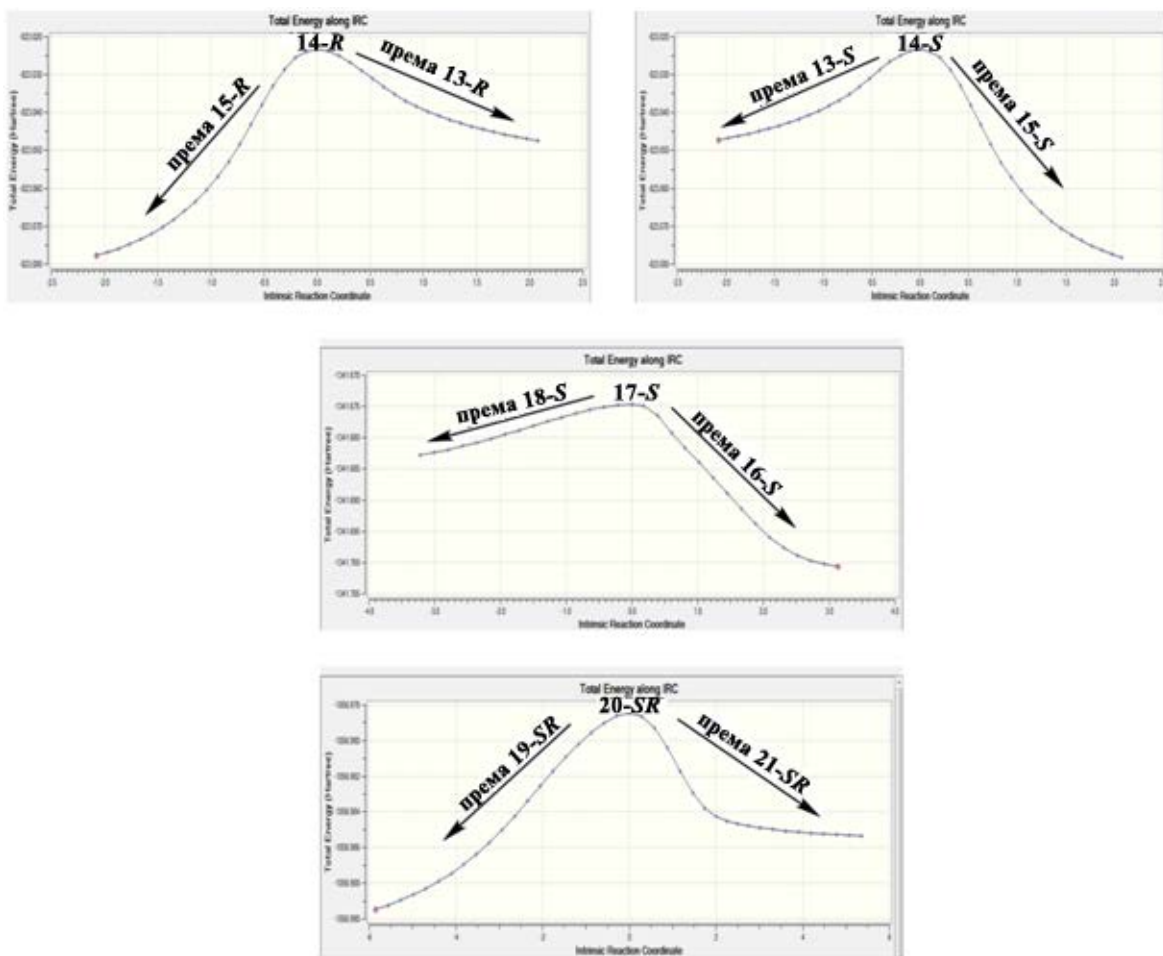
Интермедијери који фигуришу у целој реакцији дати су на сликама 28 и 29. Поред тога, резултати одговарајућих IRC прорачуна дати су на слици 30.



Слика 28. Интермедијери који фигуришу у *R* и *S* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима у (Å).



Слика 29. Интермедијери који фигуришу у *RS* и *SR* путевима са назначеним круцијалним међуатомским растојањима (Å).



Слика 30. Резултати IRC прорачуна за нека прелазна стања.

Наши контролни експерименти су показали да формирање  $\alpha$ -амино алкохола **15** није катализована реакција. Наиме, када се еквимоларне количине анилина и ванилина помешају заједно, производ реакције је била само Шифова база (схема 26). Поред тога, када се катализатор и циклохексанон додају реакционој смеси формирање Шифове базе се више не дешава. Са друге стране, када се анилин, ванилин, циклохексанон и катализатор помешају заједно, формирање Шифове базе није примећено.

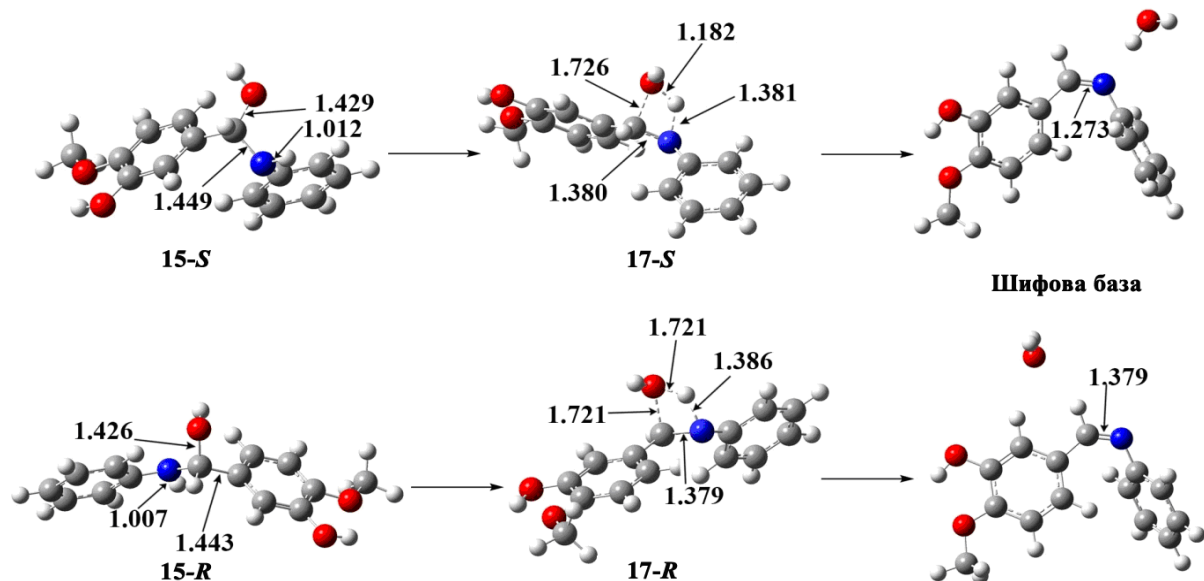
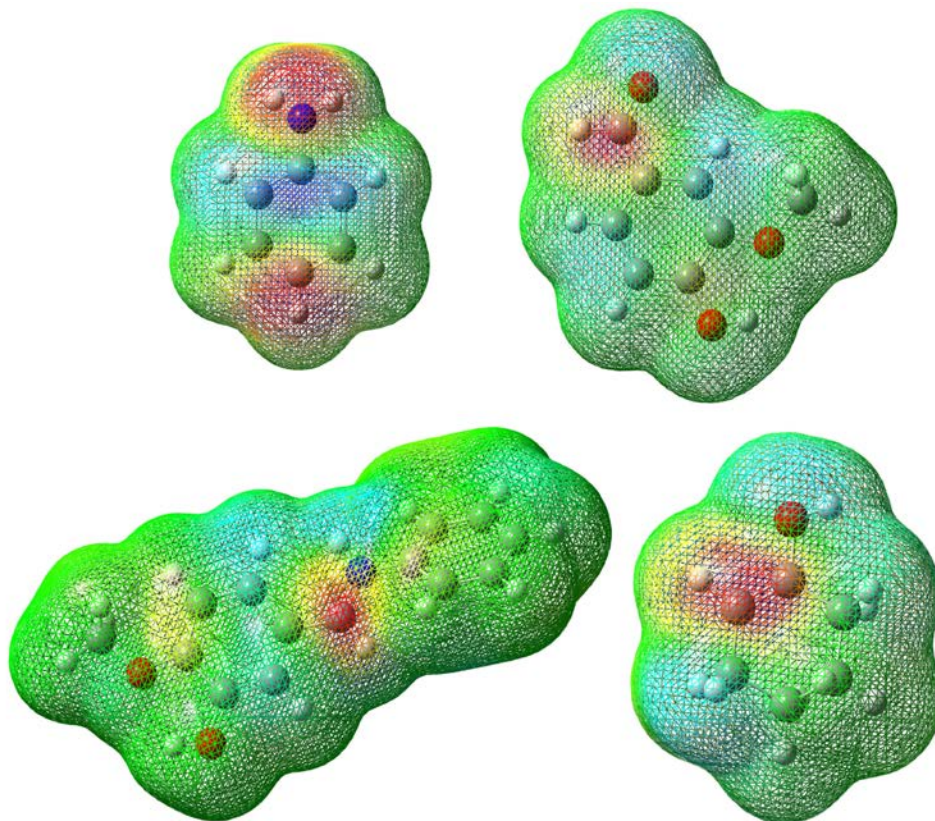


Схема 26. У случају када катализатор није присутан некатализована дехидратација интермедијера **15** се дешава. Итермедијери **15-S** и **15-R** пролазе кроз одговарајућа прелазна стања **S** и **R** и дају исту Шифову базу.

Ови експериментални подаци указују на то да је нуклеофилни напад N1 из анилина на C8 из алдехидне групе ванилина, прва фаза реакције. Ову претпоставку су потврдиле вредности NBO наелектрисања за N1 (-0.824) и C8 (0.449). Поред тога, НОМО мапа анилина показује да је НОМО делокализована са значајним уделом N1, док LUMO мапа ванилина несумњиво показује да је електрон-најдефицитарнија област у овом молекулу C8 (слика 31). Пuteви **R** и **S** настављају се преко прелазних стања **14-R** и **14-S**, и воде ка формирању **R** и **S** изомера **15** (**15-R** и **15-S**). У оба прелазна стања долази до симултаног формирања нове N1–C8 везе, раскидања N1–H везе, и преласка протона на O4 карбонилну групу ванилина. Активационе баријере прелазних стања **14-R** и **14-S** су међусобно идентичне, и износе 146.9 kJ/mol, што указује на то да је формирање интермедијера **15-R** и **15-S** подједнако фаворизовано. Нове везе, N1–C8 и O4–H у **15** (**R** и **S**) су потпуно формиране.





Слика 31. НОМО-Мапа анилина (горе лево) и LUMO-мапа ванилина (горе десно). LUMO-Мапа иминијум јона (доле лево) и НОМО-мапа енола (доле десно).

Наша теоријска испитивања су показала да за оба изомерна интермедијера **15** постоје два реакциона пута. У случају када катализатор није присутан некатализована дехидратација интермедијера **15** се дешава. Интермедијери **15-S** и **15-R** пролазе кроз одговарајућа прелазна стања **S** и **R** и дају исту Шифову базу (схема 26). У овим прелазним стањима, нова О4–Н веза се формира, док се истовремено С8–О4 и N1–Н везе раскидају. Оба прелазна стања **R** и **S** захтевају релативно високе активационе баријере од 207.5 и 198.6 kJ/mol.

Други реакциони пут интермедијера **15** се дешава у присуству јонске течности као катализатора. Претходна испитивања етаноламинских јонских течности су показала да оне у поларним растварачима постоје у облику одвојених јона [136]. Имајући у виду да су се наше реакције одвијале у етанолу као реакционом медијуму, реално је очекивати да триетаноламонијум катјон и хлорацетатни анјон буду присутни у реакционој смеси. Наши прорачуни показују да [НТЕА]<sup>+</sup>, катјонски део јонске течности **9**, формира



водоничну везу са интермедијером **15**, дајући интермедијерне структуре **16** (**R** и **S**, схема 25, слика 28). У оба изомера **16** постоје две водоничне везе, ОН...О и НН...О. Ове водоничне везе су остварене преко ОН групе катјона и фенолног кисеоника интермедијера **15**, и преко N2–Н везе триетаноламонијум јона и О4 интермедијера **15**. Успостављање водоничних веза потврђује и NBO анализа овог интермедијера. Према овој анализи, долази до делокализације електронске густине слободног електронског пара са атома кисеоника О4 у  $\sigma^*$ -антивезивну N2–Н орбиталу, као и слободног електронског пара са фенолног кисеоника у  $\sigma^*$ -антивезивну О–Н орбиталу триетаноламонијум јона. Треба напоменути да је ОН...О водонична веза незнатно слабија у изомеру **R** (2.168 Å) него у **S** изомеру (1.983 Å), док је јачина НН...О водоничне везе у оба изомера скоро иста и износи око 1.85 Å.

После формирања водонично везаних интермедијера **16-R** и **16-S**, реакција се наставља уз трансфер протона са N2 на О4. Пренос протона прати раскидање C8–О4 везе и формирање иминијум јона и молекула воде. Ови симултани процеси дешавају се преко прелазних стања **17-R** и **17-S** уз настајање интермедијера **18**. Оба прелазна стања захтевају међусобно врло сличне активационе баријере од 69.2 и 69.9 kJ/mol. Ове активационе енергије, као и оне за прелазно стање **14**, показују да формирање интермедијера **18** једнако фаворизовано у оба пута (**R** и **S**). Из претходно изложеног се види да дехидратација интермедијера **15**, односно формирање Шифове базе захтева високу активациону баријеру. Ако се овоме још придода и чињеница да се реакција дешава на собној температури, јасно је да је образовање иминијум јона **18** у присуству јонске течности **9** као катализатора доминантни реакциони пут трансформације интермедијера **15**. На основу ових чињеница може се закључити да се овај део Манихове реакције дешава преко катализе водоничним везама.

За даљи ток реакције, претпостављамо да се циклохексанон таутомеризује у енолну форму, и напада угљеников атом C8 иминијум јона. Ову претпоставку су потврдила NBO наелектрисања на C8 иминијум јона (0.287) и C15 из енолног облика циклохексанона (-0.310). Поред тога, на LUMO мапи иминијум јона се може видети да је електронима најдефицитарнији атом C8, а на HOMO мапи енолата је електронима најсуфицитарнији атом C15 (слика 31). Наша истраживања су показала да енол и иминијум јон прво граде

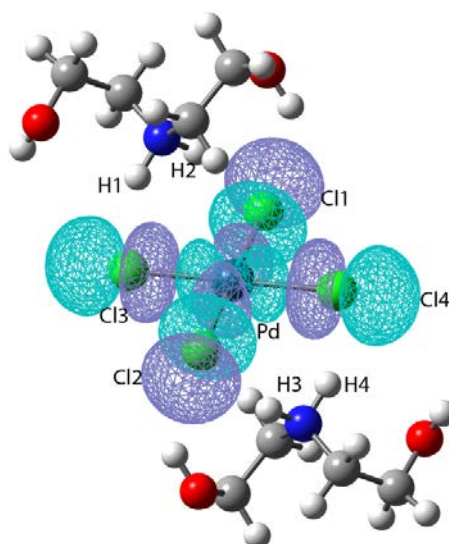
реакционе комплексе (схема 25): интермедијер **19-RS** у *RS* путу и интермедијер **19-SR** у *SR* путу (слика 29). У овим реакционим комплексима ОЗ из енола учествује у грађењу водоничне везе са Н везаним за N1 иминијум јона. Водонична веза у **19-SR** је незнатно јача (2.666 Å) него у **19-RS** (2.875 Å). Прелазна стања **20-RS** и **20-SR** захтевају активационе енергије од 53.0 и 52.4 kJ/mol, што указује на то да је формирање структуре оба прелазна стања подједнако фаворизовано. Међутим, када је реч о стереохемији, постоје значајне разлике између ова два прелазна стања, пошто C8 и C15 постају хирални у овој фази реакције. Наиме, у прелазном стању **20-RS** C8 поприма *S* а C15 *R* конфигурацију, док у прелазном стању **20-SR** C8 стиче *R*, а C15 *S* конфигурацију. У изомерима интермедијера **21** (*RS* и *SR*) нова  $\sigma$  C8-C15 веза је потпуно формирана, док су  $\pi$ -везе N1-C8 и C15-C20 потпуно раскинуте. Бројни покушаји да се нађе прелазно стање за апстракцију протона из ОЗ-Н везе интермедијера **22** помоћу хлорацетатног анјона јонске течности били су неуспешни. Са друге стране, покушај да се оптимизују оба изомера интермедијера **21** заједно са хлорацетатним анјоном довео је до спонтаног преласка протона са ОЗ на хлорацетатни анјон. На овај начин се дошло до интермедијерних структура **22-RS** и **22-SR**. У овим интермедијерима протон хлорсирћетне киселине гради водоничне везе са коначним производима (**12-RS** и **12-SR**) ове *anti*-селективне Манихове реакције.

#### 2.4. Примена неких диетаноламинских и *N,N*-диетилетаноламинских јонских течности у Хековој реакцији

Предмет даљег испитивања била је могућност примене раније споменутих јонских течности диетаноламонијум-ацетата (**1**), диетаноламонијум-хлорида (**4**), *N,N*-диетилетаноламонијум-ацетата (**5**) и *N,N*-диетилетаноламонијум-хлорида (**7**) у Хековој реакцији [141]. У том циљу, потребно је било утврдити да ли се ове јонске течности могу комплексирати са паладијумом. Тако је изведена реакција између PdCl<sub>2</sub> и јонске течности **1** на 55 °C, при чему је добијен наранџаст раствор из ког је након два дана искристалисала жуто-наранџаста супстанца. На основу <sup>1</sup>H NMR и IR спектроскопија, као и на основу елементалне анализе, закључено је да структура добијеног комплекса одговара структури *trans*-дихлоробис(диетаноламин-*N*)паладијум(II)-комплекса (*trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>]), који се већ показао као ефикасан катализатор Хекове реакције [142,143]. Када је на исти начин

изведена реакција са  $\text{PdCl}_2$  и јонском течности **4**, добијен је диетаноламонијум-тетрахлоро-паладат-(II)комплекс ( $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ ). На основу  $^1\text{H}$  NMR и IR спектроскопија, као и на основу елементалне анализе, потврђена је структура добијеног комплекса.

Структура  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекса је додатно испитана и коришћењем метода функционала густине [144]. Оптимизована структура комплекса представљена је на слици 32.



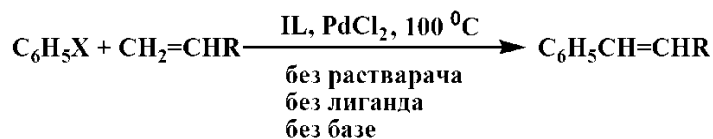
Слика 32. Оптимизована структура  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекса са описаном LUMO мапом.

На основу овога се може рећи да анјон  $[\text{PdCl}_4]^{2-}$  поседује квадратно-планарну координацију, при чему четири хлоридна анјона леже у екваторијалној равни, док два протонувана диетаноламинска катјона формирају водоничне везе са хлоридо лигандима. *Cis*-хлоридо лиганди образују са паладијумом угао везе од  $90^\circ$  а *trans*-хлоридо лиганди угао од  $180^\circ$ . Дужина Pd-Cl везе износи  $2.40 \text{ \AA}$ , док растојање између хлоридо лиганата и дужине водоничних веза са азотом су у области од  $2.10\text{-}2.15 \text{ \AA}$ . NBO анализа овог комплекса показује да су ковалентне Pd-Cl везе са хибридним саставом  $0.41(\text{sp}^2\text{d})_{\text{Pd}} + 0.91(\text{sp}^{5.80})_{\text{Cl}}$ . Сnižена попуњеност  $\sigma$  Pd-Cl орбитала ( $1.90$ ) је последица делокализације електронске густине из сваке  $\sigma$ -везивне орбитале у *trans*- $\sigma^*$  Pd-Cl антивезивну орбиталу, што је у складу са уобичајеном хемијском сликом делокализованих хемијских система.

Успешно комплексирање PdCl<sub>2</sub> са овим јонским течностима, навело нас је да испитамо ефикасност тих каталитичких система у „зеленој“ Хековој реакцији. Реакција је изведена без употребе адитива (најчешће база попут CH<sub>3</sub>ONa, CH<sub>3</sub>COONa, NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N, или неких амонијумових соли), који се додају како би стабилизовали каталитички активну Pd(0)-врсту. У нашем случају, употребљене јонске течности су, саме по себи, биле све – и базе и амонијумове соли и агенси који имобилизују и стабилизују каталитички активан Pd(0)-комплекс. Полазећи од чињенице да су неке јонске течности са тегцијарним алифатичним амином у катјонском делу примењене у Хековој реакцији [146,147], претпоставили смо да ће ова реакција бити успешно изведена и у *N,N*-диетилетаноламонијум хлоридној јонској течности.

Показало се да употреба 1,5 mmol%-ног раствора PdCl<sub>2</sub> у јонским течностима **1**, **4**, **5** и **7** и температура од 100 °C, представљају оптималне реакционе услове. У испитиваним реакцијама, као арил-халогениди употребљени су јодбензен и бромбензен. Њихова конверзија била је потпуна а селективност одлична – 99% у корист *trans*-производа. Добијени производи реакције су изоловани применом стубне хроматографије. Принос добијених производа у ацетатним јонским течностима **1** и **5** био је врло добар – преко 94%, док је принос добијених производа у хлоридним јонским течностима **4** и **7** био нешто нижи (табела 18). Претпостављамо да је разлог за то тежа конверзија прекатализатора [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>], добијеног *in situ*, у каталитички активну врсту, пошто је паладијум координативно засићен хлоридо лигандима.

Табела 18. Паладијум-катализована Хекова реакција у различитим јонским течностима.



р.б.	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> X	R	Јонска течност	Време (h)	Принос (%) <sup>a</sup>
1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	<b>1</b>	12	96
2	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	<b>1</b>	16	94
3	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>1</b>	12	95
4	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>1</b>	16	93
5	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>1</b>	12	96
6	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>1</b>	17	91
7	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	<b>5</b>	13	95
8	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	<b>5</b>	17	92
9	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>5</b>	13	95
10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>5</b>	17	91
11	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>5</b>	13	95
12	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>5</b>	18	90
13	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	<b>4</b>	12	90
14	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	<b>4</b>	16	88
15	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>4</b>	12	90
16	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>4</b>	16	87
17	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>4</b>	12	90
18	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>4</b>	17	86
19	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	<b>7</b>	13	89
20	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	<b>7</b>	17	85
21	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>7</b>	13	88
22	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>7</b>	17	87
23	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>7</b>	13	88
24	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>7</b>	18	86

<sup>a</sup>Изоловани принос; Само је *trans*-производ детектован <sup>1</sup>H-NMR-спектроскопијом.

На основу добијених резултата се може закључити да је овако изведена Хекова реакција успешна и да представља унапређење Хековог протокола, гледано са више аспеката: а) употребљена јонска течност убрзава растварање PdCl<sub>2</sub> и одговарајућег Pd(II)-прекатализатора, б) каталитички систем остаје непромењен током реакције (не долази до појаве таложења црног паладијума), в) употреба јонске течности повећава стабилност Pd-катализатора, чиме му се продужава животни век током реакције, г) II–Pd каталитички систем се може једноставно регенерисати, а производи лако одвојити простом

екстракцијом (диетил-етар/*n*-хексан) и декантовањем из реакционе смеше. На слици 33 представљена је бифазна смеша П<sub>L</sub>-Pd каталитичког система (доњи слој) и органског горњег слоја (диетил-етар/ *n*-хексан), при чему је растворљивост жуто-наранџастог Pd-катализатора у јонској течности очигледна.



Слика 33. Бифазна смеша јонска течност – паладијум каталитички систем (доњи слој) и диетил-етар/хексан (горњи слој).

Након екстракције производа из реакционе смеше, каталитички систем је регенерисан и употребљен у новој Хековој реакцији. П<sub>L</sub>-Pd каталитички систем је регенерисан три пута без значајнијег губитка у активности (принос производа реакције купловања био је до 5% нижи).

## 2.5. Триетаноламијум-ацетат као мултифункционална јонска течност у паладијум-катализованом зеленој Хековој реакцији

Претходна испитивања утицаја неких етаноламинских јонских течности на ток Хекове реакције, која су вршена у нашој истраживачкој лабораторији, показала су да се ова једињења, и њима одговарајући Pd(II)-комплекси, понашају као врло ефикасни каталитички системи [141]. Имајући ово у виду претпостављено је да и триетаноламијум-ацетат [TEA][HOAc] (**8**) може бити добар реакциони медијум, а да *trans*-дихлоробис(триетаноламин-*N*)паладијум(II)-комплекс (*trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>]) може бити прекурсор каталитички активне врсте у Хековој реакцији. У циљу тестирања ефикасности каталитичког система јонска течност/Pd(II)-комплекс, Хекова реакција је изведена са арил-халогенидима јодбенzenом и бромбенzenом и различитим активираним олефинима (метил-, етил- и бутил-акрилат) у [TEA][HOAc] на 110 °C и са 2 mol% PdCl<sub>2</sub> [148]. Током реакције постигнута је 100% конверзија акрилата у *trans*-производ и

селективност од 99%. Принос добијених производа је био врло добар (90-93%, табела 19). Такође, Хекова реакција је изведена и у одсуству јонске течности, при чему је ТЕА коришћен као реакциони медијум.

Табела 19. Паладијум-катализована Хекова реакција у различитим реакционим медијумима.

$$\text{ArX} + \text{CH}_2=\text{CHR} \xrightarrow[\text{[TEA][HOAc] или ТЕА}]{2 \text{ mol\% PdCl}_2, 110 \text{ }^\circ\text{C}} \text{ArCH}=\text{CHR}$$

п.б.	ArX	R	Растварач	Време (h)	Принос (%) <sup>a</sup>
1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	<b>8</b>	12	93
2	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	<b>8</b>	14	90
3	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>8</b>	12	93
4	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<b>8</b>	14	91
5	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>8</b>	12	93
6	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<b>8</b>	14	90
7	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	ТЕА	12	81
8	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	ТЕА	14	77
9	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	ТЕА	12	80
10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COO C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	ТЕА	14	75
11	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	ТЕА	12	80
12	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	ТЕА	14	75

<sup>a</sup> Изаоловани принос; само *trans*-производ је детектован <sup>1</sup>H NMR спектроскопијом

На основу добијених резултата може се закључити да је у присуству ТЕА принос био нижи, што се приписује конкурентној реакција полимеризације, и да је употребом јонске течности значајно унапређен протокол Хекове реакције. Употребљена јонска течност олакшава растворљивост PdCl<sub>2</sub> а, такође и растворљивост и стабилност Pd-катализатора, чиме му се продужава животни век током реакције. IL-Pd каталитички систем може се једноставно регенерисати, а производи лако одвојити простом екстракцијом и декантовањем из реакционе смеше.

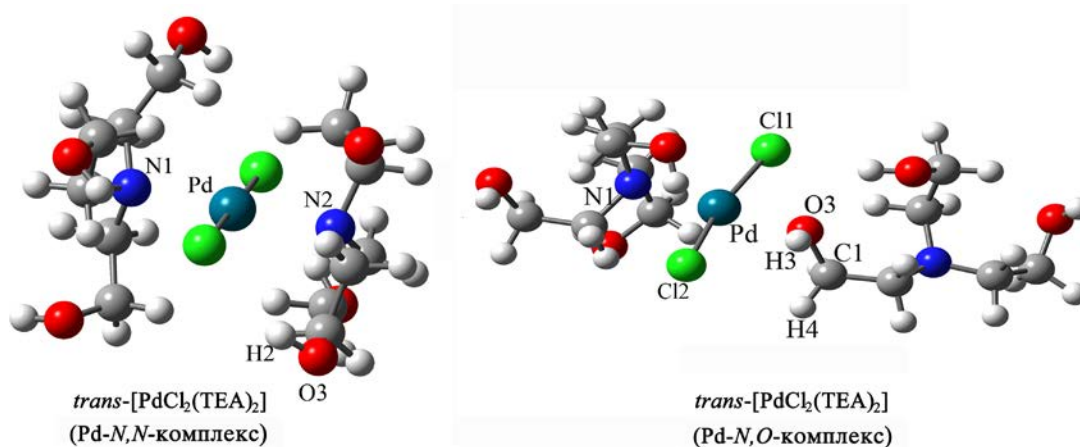
Након екстракције производа из реакционе смеше, каталитички систем је регенерисан и употребљен у новој Хековој реакцији. Јонска течност – Pd каталитички

систем је регенерисан три пута без значајног губитка у активности (принос производа реакције купловања је био до 5% мањи).

У циљу објашњења механизма одигравања ове хемијске реакције примењена је метода функционала густине. Структура јонске течности **8** која је коришћена у овој реакцији је применом ове методе већ објашњена у претходном делу рада.

### 2.5.1. Механизам формирања Pd(II)-комплекса

У циљу расветљавања структура и механизма формирања Pd(II)-прекатализатора и каталитички активне Pd(0)-врсте *in situ*, помоћу методе функционала густине анализирана је реакција између једињења **8** и PdCl<sub>2</sub>. Испоставило се да је у овој реакцији могуће формирање два комплекса, и то Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса (слика 34, схема 27).



Слика 34. Оптимизоване геометрије *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] комплекса (Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса).

Означена међуатомска растојања у прелазним стањима и интермедијерима, као и укупна енергија, енталпија и слободна енергија свих релевантних врста дате су у табелама 20 и 21 (Експериментални део).



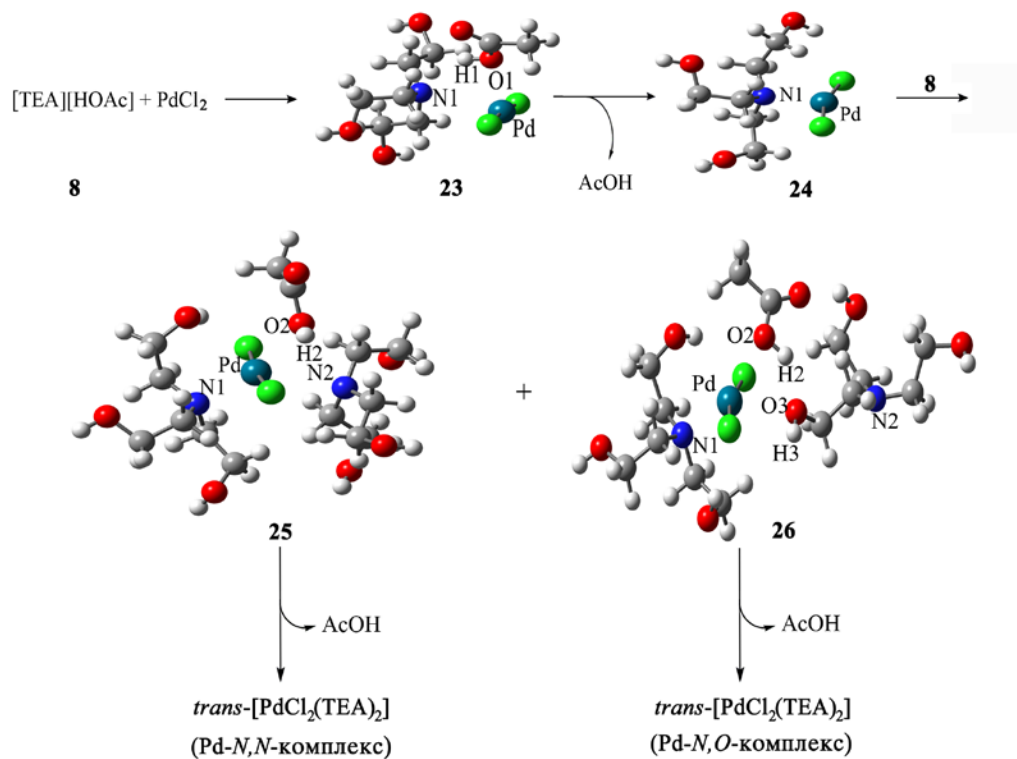
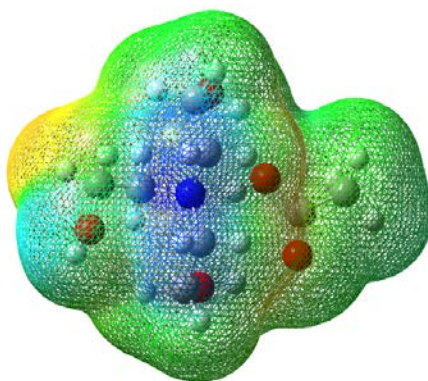


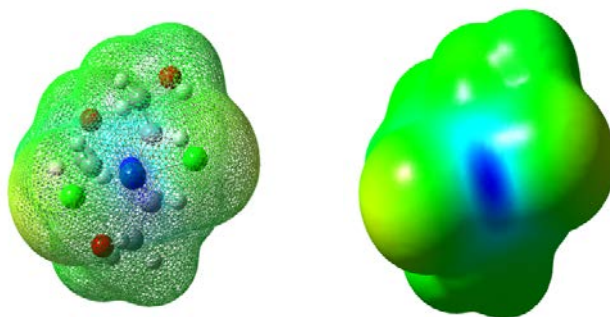
Схема 27. Претпостављени механизам формирања Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса.

NBO анализа  $PdCl_2$  показује да је атом Pd електрон дефицитаран, јер се у *d*-орбиталама налазе само четири електронска пара. Са друге стране, на НОМО мапи (слика 35) је представљен електронима најсуфицитарнији део молекула **8**, тј. атом азота (N1). Поред ових чињеница, NBO наелектрисања на Pd (0.750) и на N1 у **8** (-0.582) иду у прилог претпоставци о електрофилном нападу паладијума на азот јонске течности.



Слика 35. НОМО мапа јонске течности **8**.

Ова претпоставка је потврђена оптимизацијом структуре прелазног стања **23** (схема 27), које захтева енергију активације од 127.0 kJ/mol (табела 21, Експериментални део). У овом прелазном стању Pd–N1 веза се формира, док се веза N1–H1 у потпуности раскида (табела 20, Експериментални део). Веза O1–H1 се потпуно формира, што указује на то да молекул сирћетне киселине напушта реакциони систем као молекул растварача. Након овога три-координовани интермедијер **24** се формира (схема 27). Иначе три-координовани комплекси паладијума су доста испитивани и познати у литератури [149-153]. NBO анализом овог интермедијера утврђено је да доворски атоми лигананда, тачније слободни електронски парови у *p*-орбиталама азота, учествују са преко 80% у везама са паладијумом. Присутна је снажна делокализација електронске густине из сваке Pd–Cl везе у суседну  $\sigma^*$ -антивезивну Pd–Cl орбиталу, као и из Pd–N1 у обе  $\sigma^*$ -антивезивне Pd–Cl орбитале. Последица делокализације је смањена попуњеност орбитала око паладијума. Атом паладијума још увек „поседује“ четири електронска пара, па је стога електрон-дефицитаран. LUMO мапа интермедијера **24** представљена на слици 36, као и NBO анализа, истичу атом Pd као могући електрофил.



Слика 36. LUMO мапа интермедијера **24**.

Као што је већ поменуто наша истраживања откривају два пута за електрофилни напад Pd на интермедијер **24** и други молекул **8**.

Први пут, где Pd напада азот, дешава се преко прелазног стања **25** (схема 27). Енергија потребна за формирање овог прелазног стања је 139.7 kJ/mol (табела 21, Експериментални део). Веза Pd–N2 се формира на сличан начин као у прелазном стању **23**, док се водонична веза N2–H2 потпуно раскида (схема 27, табела 20, Експериментални део), што значи да сирћетна киселина поново напушта реакциони систем као молекул

растварача. На овај начин је Pd-*N,N*-комплекс образован (слика 34, схема 27). Иначе, наши експерименти су и потврдили формирање Pd-*N,N*-комплекса за време трајања Хекове реакције. Идентификација овог комплекса је потврђена поређењем NMR спектра реакционе смеше са NMR спектром посебно добијеног Pd-*N,N*-комплекса у реакцији PdCl<sub>2</sub> и јонске течности **8**, помешаних у моларном односу 1:2 и загреваних на 100 °C. Pd-*N,N*-комплекс поседује квадратно-планарну геометрију. Према NBO анализи паладијум је *sp*<sup>2</sup>*d*-хибридизован, и гради ковалентне везе са оба азотова и хлорова атома. *sp*<sup>3</sup>-Орбитала атома хлора и скоро чиста *p*-орбитала азотовог атома учествују са око 85% у везама са паладијумом. Присутна је снажна делокализација електронске густине из сваке Pd–N везе у суседну σ\*-антивезивну Pd–N орбиталу. Последица делокализације је смањена попуњеност Pd–N орбитала (1,86).

Други пут се дешава преко прелазног стања **26** (схема 27) у коме Pd из интермедијера **24** напада кисеоник молекула **8**, за шта је потребна енергија активације од 85.8 kJ/mol (табела 21, Експериментални део). У овом прелазном стању Pd–O3 веза се формира, док се водонична веза N2–H2 потпуно раскида (схема 27, табела 20, Експериментални део). На овај начин Pd-*N,O* комплекс је формиран (схема 27). Овај наш закључак је у сагласности са раније објављеним радом [154] који показује да се процеси депротоновања алкохолне групе и координација кисеоника за паладијум(II) могу одвијати чак и у слабо киселој средини. Такође, важно је истаћи да је током реакције рН било приближно 6, што указује и на формирање ацетатног пуфера (AcOH/[TEA][HOAc]).

### **2.5.2. Механизам формирања Pd(0)-комплекса**

Пошто се, на основу анализе стабилности добијених комплекса, показало да је Pd-*N,O*-комплекс за 31.4 kJ/mol мање стабилан од Pd-*N,N*-комплекса (што је вероватно и разлог зашто није идентификован у реакционој смеси), претпоставили смо да он подлеже даљој трансформацији и да даје каталитички активан Pd(0)-комплекс (схема 28). Одабрана међуатомска растојања у прелазним стањима и интермедијерима дата су у табели 22 у Експерименталном делу, а укупна енергија, енталпија и слободна енергија свих релевантних врста у табели 23 (Експериментални део).

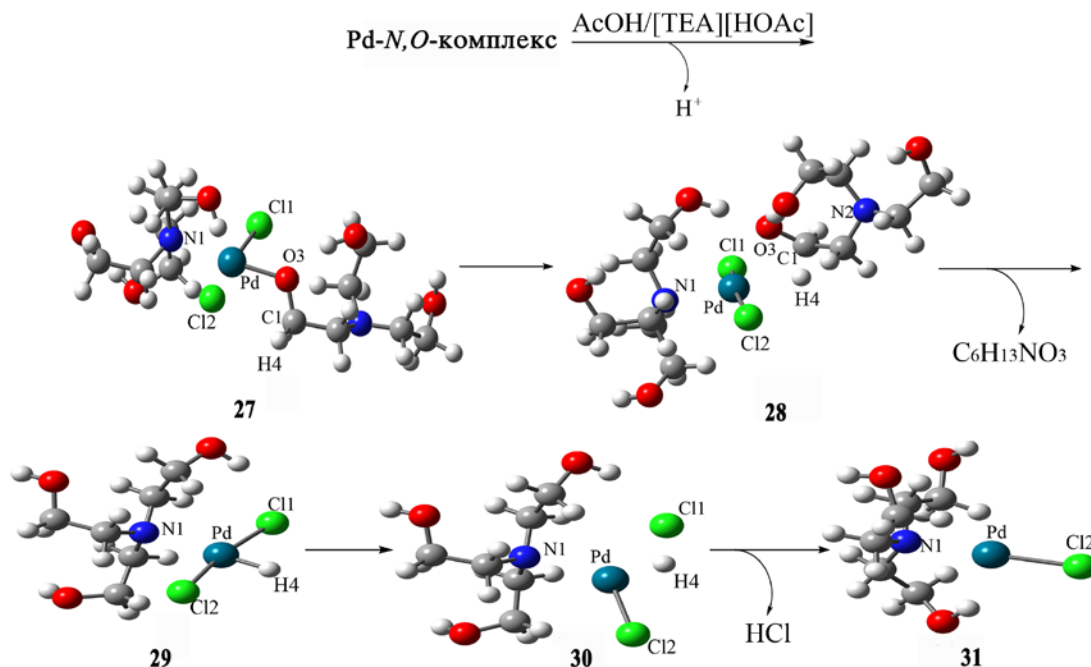
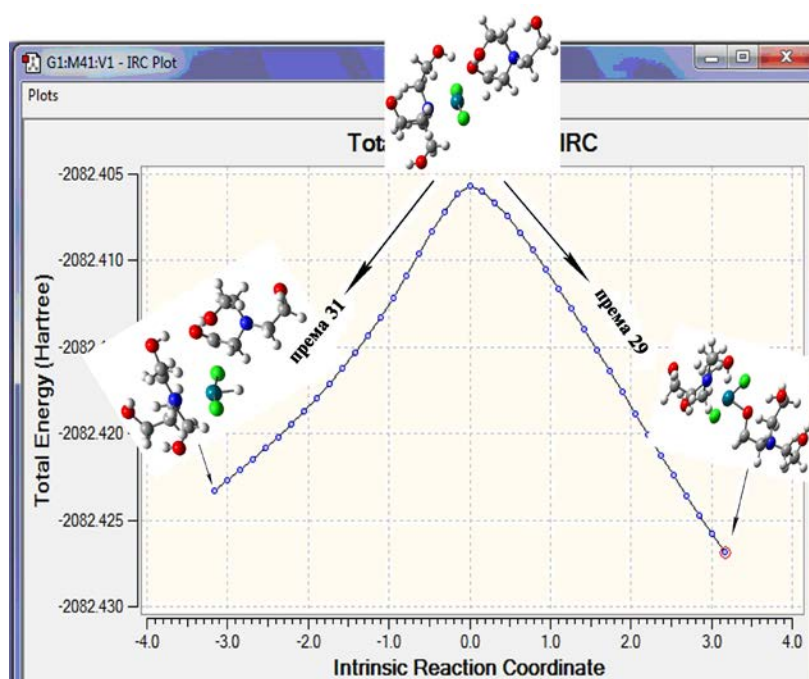


Схема 28. Претпостављени механизам формирања Pd(0)-комплекса.

NBO анализа Pd-*N,O*-комплекса показује да Pd образује ковалентне везе са оба атома хлора и азотом (слика 34). У везама са паладијумом *p*-орбитале донорских атома лиганата учествују са око 80%. Координативна Pd–O3 веза се формира делокализацијом електрона из орбитале O3–H3 везе и слободог електронског пара кисеоника (O3,  $sp^3$ -орбитала) у формално празну *p*-орбиталу (са малим *s* и *d* мешањем) на паладијуму. Такође, постоји делокализација електронске густине из  $sp^3$ -орбитале O3 у  $\sigma^*$ -антивезивну Pd–N1 орбиталу. Примећено је да се Pd–N1 веза делокализује у обе  $\sigma^*$ -антивезивне Pd–Cl орбитале. Зато је попуњеност свих веза око паладијума смањена (1.90). NBO анализа такође показује да је O3–H3 веза доста поларна (NBO наелектрисања O3 и H3 износе - 0.697 и 0.517). Имајући у виду да је O3 координативно везан за Pd, и да је H3 кисео, сматрамо да ацетатни пуфер може преузети овај протон. Ова наша претпоставка је потврђена успешном оптимизацијом интермедијера **27** (схема 28). На основу NBO анализе интермедијера **27** може се видети да *p*-орбитале донорских атома лиганата учествују са преко 80% у везама око паладијума. Свака Pd–Cl веза делокализује се у суседну  $\sigma^*$ -антивезивну Pd–Cl орбиталу, док се Pd–O3 веза делокализује у обе  $\sigma^*$ -антивезивне Pd–Cl

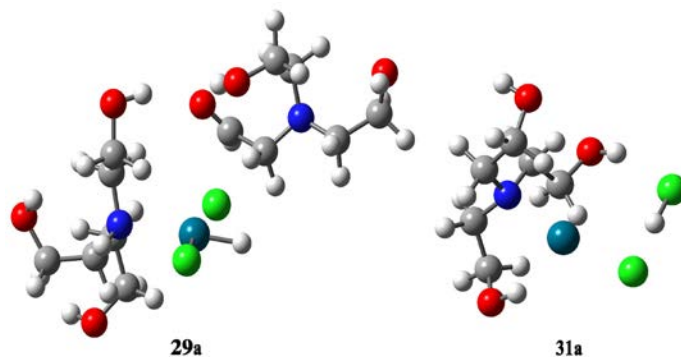
орбитале. Слободан електронски пар са N1 делокализује се у  $\sigma^*$ -антивезивну Pd–O3 орбиталу.

Претходна истраживања процеса преактивације комплекса *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] [143,155] су показала да  $\beta$ -водоник (у односу на Pd) има афинитет координовања за паладијум. Пошто H4 има најповољнији положај за то, претпоставили смо да је нуклеофилни напад H4 на паладијум следећи корак ове реакције. Наша претпоставка је потврђена оптимизацијом структуре прелазног стања **28** (схема 28). Резултат IRC прорачуна за прелазно стање **28** приказан је на слици 37.



Слика 37. Резултат IRC прорачуна за прелазно стање **28**.

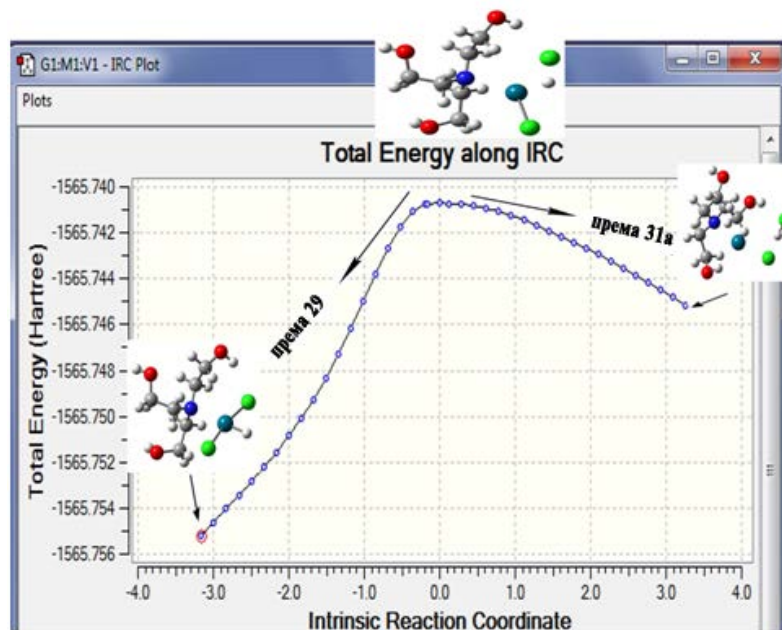
За формирање прелазног стања **28** неопходно је достићи активациону баријеру од 141.9 kJ/mol, (табела 23, Експериментални део). У овом прелазном стању Pd–O3 и C1–H4 везе се у потпуности раскидају, док Pd–H4 веза настаје (табела 22, Експериментални део). Важно је истаћи да се водоник премешта са угљениковог на паладијумов атом као хидридни анјон. Овај трансфер доводи до настанка интермедијерне структуре **29a** (слика 38).



Слика 38. Оптимизоване структуре **29a** и **31a** – структуре добијене оптимизацијом коначног производа реакције преактивације **31** и HCl заједно.

Сагледавајући структуру **29a**, може се закључити да она садржи потпуно одвојен молекул *N,N*-бис(2-хидроксиетил)амино-ацеталдехид који се, вероватно, даље понаша као молекул растварача. Због тога смо из даљег разматрања искључили тај молекул ( $C_6H_{13}NO_3$  са схеме 28). NBO анализа интермедијера **29** открива да интермедијерни комплекс поседује квадратно-планарну координацију. При томе, паладијум формира ковалентне везе са оба хлора и водоником. Што се тиче азота, скоро чиста *p*-орбитала са овог атома донира електронску густину у формално празну *p*-орбиталу (са мало *s* и *d* мешања) на паладијуму. Pd–H4 веза се делокализује у обе  $\sigma^*$ -антивезивне Pd–Cl орбитале. Такође, присутна је делокализација и Pd–Cl веза у  $\sigma^*$ -антивезивну орбиталу Pd–H4 везе.

У даљем току реакције, интермедијер **29** подлеже редуктивној елиминацији HCl. Наша истраживања су показала да се овај корак реакције одвија преко прелазног стања **30** (схема 28), за које је потребна енергија активације 78.9 kJ/mol, табела 23 (Експериментални део). Резултат IRC прорачуна за прелазно стање **30** представљен је на слици 39. У овом прелазном стању долази до раскидања Pd–H4 и Pd–Cl1 веза, при чему се истовремено формира веза Cl1–H4. Настали HCl затим напушта систем. Овај процес доводи до формирања каталинички активног Pd(0)-комплекса, коначног производа реакције преактивације (**31** на схеми 28).



Слика 39. Резултат IRC прорачуна за прелазно стање **30**.

На основу NBO анализе може се закључити да се на паладијуму налази пет слободних електронских парова у  $d$ -орбиталама и да је његов оксидациони број сада нула. Донорски атоми лигананда (хлора и азота) доприносе са преко 90% у грађењу веза са паладијумом, при чему се Pd–Cl веза делокализује у  $\sigma^*$ -антивезивну Pd–N1орбиталу, и обрнуто.

## 2.6. Антимикробна активност јонских течности триетаноламонијум-ацетата и диетаноламонијум-хлорида и њихових одговарајућих Pd(II)-комплекса

*In vitro* антибактеријска и антифунгална активност јонских течности триетаноламонијум-ацетата [TEA][HOAc] и диетаноламонијум-хлорида [HDEA][Cl], као и одговарајућих Pd(II)-комплекса (*trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] и [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]) су тестиране [156]. У циљу опширније процене њихове антимикробне активности, тестирање је извршено на већем броју микроорганизама, укључујући патогене бактерије, изазиваче инфекција код људи, пробиотике, квасце и плесни. Показало се да испитивана једињења показују ниску антибактеријску и бољу антифунгалну активност (табеле 24 и 25).

Табела 24. Антибактеријска активност [ТЕА][НОАс], [HDEA][Cl] и одговарајућих комплекса ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Врсте	<i>trans</i> -[PdCl <sub>2</sub> (ТЕА) <sub>2</sub> ]		[ТЕА][НОАс]		[HDEA] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ]		[HDEA][Cl]		Доксициклин	
	МИК	МБК	МИК	МБК	МИК	МБК	МИК	МБК	МИК	МБК
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	> 1000	> 1000	1000	> 1000	500	1000	500	1000	< 0.448	7.81
<i>Sarcina lutea</i>	> 1000	> 1000	1000	> 1000	500	1000	500	> 1000	< 0.448	3.75
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	> 1000	> 1000	1000	> 1000	250	1000	250	> 1000	7.81	62.5
<i>Enterococcus faecalis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	7.81	62.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1000	> 1000	> 1000	> 1000	62.5	125	125	500	1.953	31.25
<i>Bacillus subtilis</i>	1000	> 1000	> 1000	> 1000	250	1000	1000	> 1000	0.112	1.95
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	62.5	> 1000	250	> 1000	0.224	3.75
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	0.448	7.81
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	15.625	31.25
<i>Escherichia coli</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	7.81	15.63
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1000	> 1000	> 1000	> 1000	500	1000	> 1000	> 1000	62.5	125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	500	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	250	> 250
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	500	1000	> 1000	> 1000	15.625	62.5
<i>Proteus mirabilis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	250	> 250
<i>Salmonella enterica</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	15.625	31.25
<i>Salmonella typhimurium</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	15.625	125
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1000	> 1000	500	> 1000	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	7.81	31.25
<i>Lactobacillus plantarum</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	500	> 1000	1000	> 1000	0.448	7.81
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	31.25	62.5
<i>Bacillus subtilis</i> IP 5832	125	> 1000	> 1000	> 1000	250	> 1000	500	> 1000	1.95	15.63

N.T. – није тестирано



Табела 25. Антифунгална активност [ТЕА][НОАс], [НДЕА][Сl] и одговарајућих комплекса ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Врсте	<i>trans</i> -[PdCl <sub>2</sub> (TEA) <sub>2</sub> ]		[ТЕА][НОАс]		[НДЕА] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ]		[НДЕА][Сl]		Флуконазол	
	МИК	МФК	МИК	МФК	МИК	МФК	МИК	МФК	МИК	МФК
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000	31.25	1000
<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000	62.5	1000
<i>Rhodotorula sp.</i>	1000	1000	1000	1000	> 1000	> 1000	500	1000	62.5	1000
<i>Saccharomyces boulardii</i>	1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000	31.25	1000
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	1000	> 1000	500	> 1000	125	250	> 1000	> 1000	62.5	62.5
<i>Aspergillus niger</i>	1000	> 1000	250	500	125	250	> 1000	> 1000	500	1000
<i>Aspergillus restrictus</i>	> 1000	> 1000	1000	1000	62.5	125	> 1000	> 1000	500	1000
<i>Aspergillus fumigatus</i>	> 1000	> 1000	500	1000	15.6	15.6	> 1000	> 1000	500	1000
<i>Aspergillus flavus</i>	1000	> 1000	500	500	1000	1000	> 1000	> 1000	1000	1000

Такође, нађено је да не постоји значајна разлика у активности између одговарајућих комплекса и њихових прекурсора. Опажене вредности, минималне инхибиторне концентрације (МИК) кретале су се од 15.6  $\mu\text{g/ml}$  до 1000  $\mu\text{g/ml}$ , а минималне микробицидне концентрације (ММК) од 125  $\mu\text{g/ml}$  до 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Најосетљивија бактерија била је пробиотик *B. subtilis* IP 5832 у случају  $[\text{PdCl}_2(\text{TEA})_2]$ , а *Bacillus subtilis* ATCC 6633 и *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 у случају  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекса. Добро је познато да бактерије могу користити етаноламинне као изворе угљеника и/или азота. Овај процес коришћења етаноламина је генетски кодиран у хромозомима и карактеристичан је за врсте као што су: *Salmonella*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* и *Escherichia* [157]. Овим се може и објаснити ниска антибактеријска активност тестираних једињења. Ако се посматра антифунгална активност испитиваних јонских течности, она је била боља према филаментозним гљивама из групе плесни него према квасцима. Тако су, клинички и стандардни изолат врсте *C. albicans*, били отпорнији, док је боља осетљивост према тестираним једињењима уочена за *Aspergillus* врсте. Њихове МИК вредности кретале су се у опсегу од 15.6 – 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Нађено је да  $[\text{TEA}][\text{HOAc}]$  испољава бољу активност него одговарајући комплекс са МИК вредношћу од 250  $\mu\text{g/ml}$  до 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Осетљивост *Aspergillus* врста била је посебно изражена на  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекс. Активност овог комплекса  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  према *A. restrictus* и *A. fumigates* била је до десет пута виша него активност стандарда, флуконазола.

Из овога се може закључити да јонска течност  $[\text{TEA}][\text{HOAc}]$ , а посебно комплекс  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ , са својом највећом активношћу према *Aspergillus* врстама, могу се сматрати агенсима са потенцијалном антифунгалном активношћу, што упућује на њихове будуће *in vitro* и/или *in vivo* провере.

## 2.7. $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ комплекс у улози вештачке металопептидазе

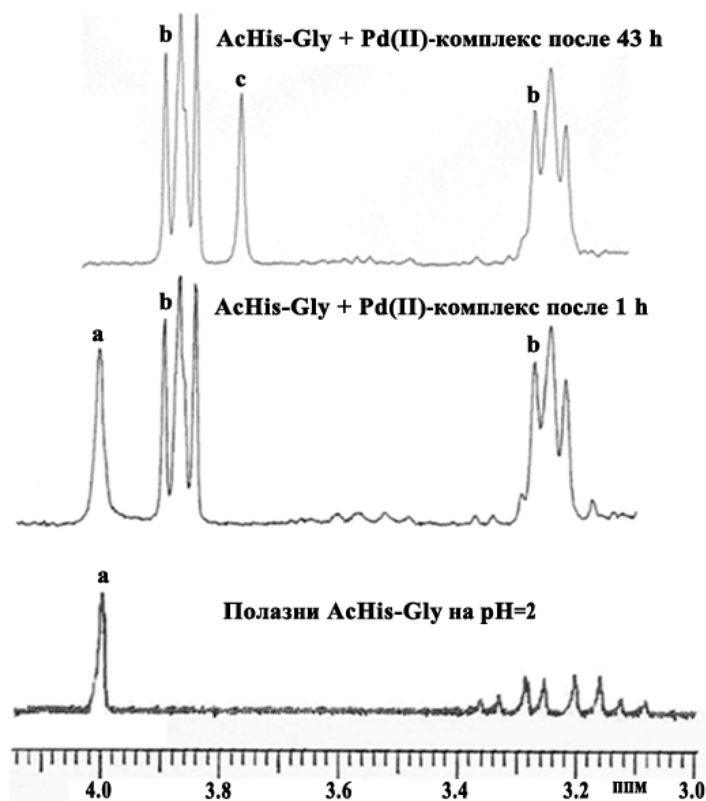
Хидролиза пептидне везе у пептидима и протеинима је један од веома важних биолошких процеса. Ову реакцију у живим системима обављају протеолитички ензими – пептидазе. Међутим, при хидролизи, протеазе обично дају релативно кратке пептиде, што може бити проблем, нарочито када се користе модерне методе секвенционе анализе за шта

су бољи дужи пептиди. Осим тога, прилична величина протеаза причињава тешкоће при решавању неких проблема у биохемији и структурној биологији. Због свега овога, указала се потреба за новом класом реагенаса који би били подесни за селективне хидролизе протеина под благим условима.

Испитивања реакција комплекса неких метала са пептидима су показала да се ови комплекси могу са успехом употребити као каталитички агенси селективног раскидања пептидне везе у овим молекулима. Последње три деценије, посебна пажња посвећена је испитивању реакција квадратно-планарних комплекса паладијума(II) и платине(II) са пептидима који у структури садрже аминокиселине *L*-метионин или *L*-хистидин.

### **2.7.1. Реакција $[HDEA]_2[PdCl_4]$ комплекса са *N*-ацетил-*L*-хистидил-глицином**

Применом  $^1H$  NMR спектроскопије, веома корисне методе за изучавање хидролитичких реакција, изучавана је реакција  $[HDEA]_2[PdCl_4]$  комплекса са *N*-ацетилованим *L*-хистидил-глицином (AcHis-Gly) [144]. Реакција је изведена мешањем комплекса и дипептида у моларном односу 1:2 на рН 2 у деутеријум-оксиду ( $D_2O$ ) и термостатирањем на 60 °C. У нашем експерименту под поменутих условима, после 15 часова уочени су сигнали који су указивали на селективно раскидање пептидне везе. Наиме, у  $^1H$  NMR спектру дошло је до смањења синглета на 4.00 ppm (сигнала који потиче од метилених протона глицина из нехидролизованог супстрата), као и појаве синглета на 3.77 ppm. Да овај синглет потиче од истих протона, али у слободном глицину, потврдили смо додатком глицина реакционој смеши, што је довело до његовог повећања. После 43-часовног загревања реакционе смеше на 60°C интензитет синглета на 3.77 ppm се више није мењао (слика 40). Под овим реакционим условима слободна сирћетна киселина није детектована у  $^1H$  NMR спектру, чиме се потврђује да је употребљени Pd(II)-комплекс селективан реагенс за хидролизу пептидне везе.

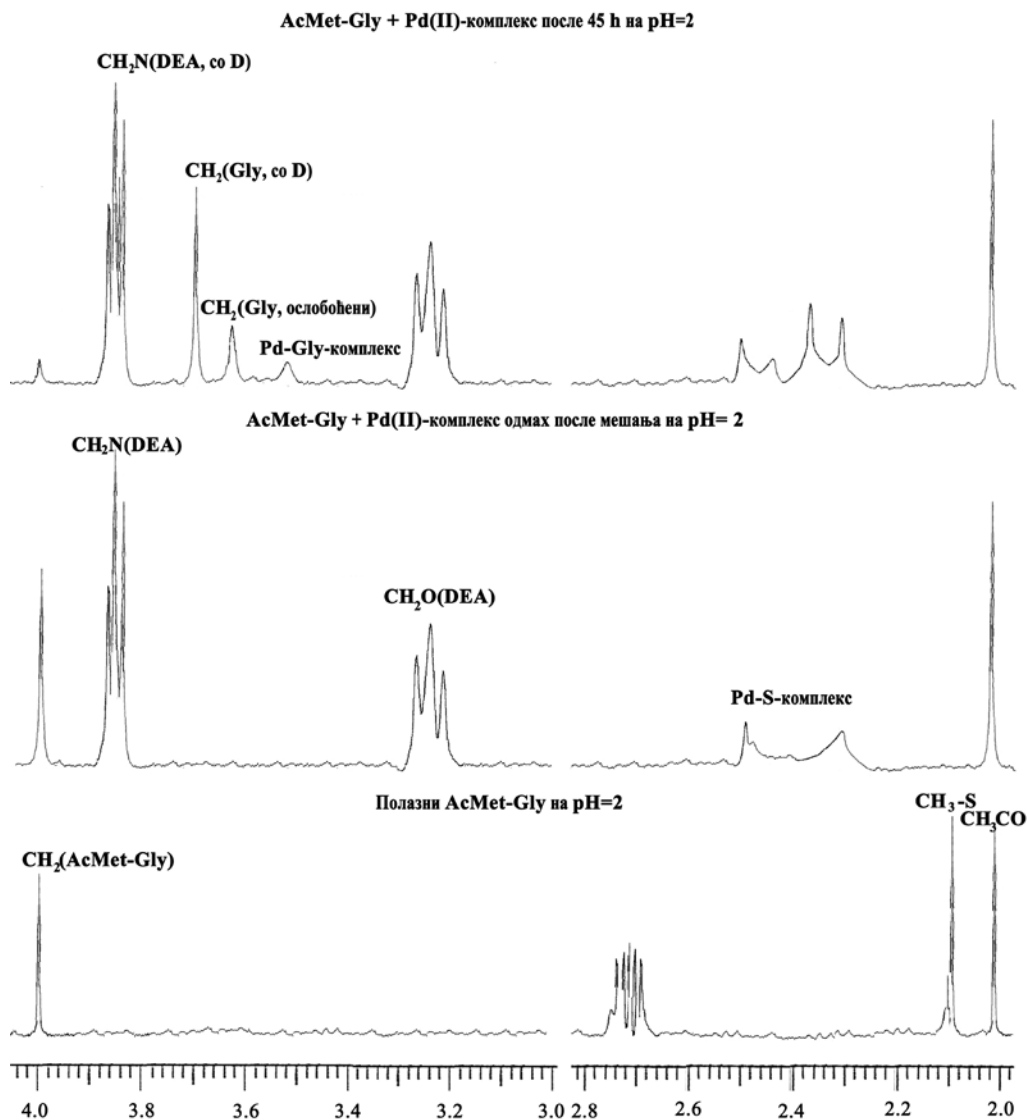


Слика 40. Део  $^1\text{H}$  NMR спектра реакције хидролизе AcHis-Gly комплексом  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  у функцији од времена при pH 2, на температури од  $60^\circ\text{C}$  и у  $\text{D}_2\text{O}$  као растварачу. Хемијска померања су дата у ppm. Означени сигнали се односе на: (a) метиленски протони глицина из полазног дипептида; (b) протонувана диетаноламинска јединица  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекса; и (c) метиленски протони слободног глицина.

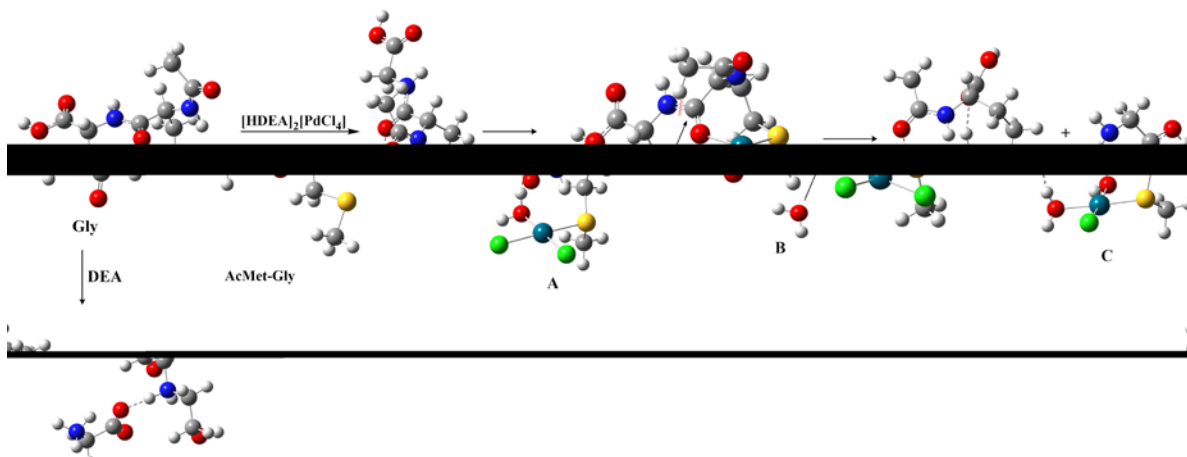
### 2.7.2. Реакција $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ комплекса са *N*-ацетил-*L*-метионил-глицином

Пошто се показало да  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекс врши селективну хидролизу пептидне везе у AcHis-Gly, претпоставили смо да он може да се понаша као вештачка металопептидаза и у реакцији са пептидом који садржи метионин. Да би потврдили ову претпоставку, изведена је реакција са *N*-ацетилованим *L*-метионил-глицином (AcMet-Gly) [158]. Реакција је изведена мешањем комплекса и дипептида у молском односу 1:1, на pH 2 и на температури од  $60^\circ\text{C}$ . И ова реакција је праћена применом  $^1\text{H}$  NMR спектроскопије, при чему су реакциони производи окарактерисани на основу хемијских померања S-метил протона метионина, метиленских протона глицина (из нехидролизованог дипептида и слободног глицина), и протона метиленских група диетаноламинских јединица (слика 41).

Анализом спектра могло се уочити да одмах после мешања реактанта долази до спонтане координације Pd(II) за атом сумпора метионина, што показује симултано смањење сигнала на 2.11 ppm (који одговара S-метил протонима слободног дипептида) и повећање сигнала на 2.50 ppm (који одговара S-метил протонима новонасталог комплекса А (слика 42) [159].



Слика 41. Део  $^1\text{H}$  NMR спектра хидролитичке реакције AcMet-Gly и  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекса у функцији од времена, у  $\text{D}_2\text{O}$  као растварачу. Хемијска померања дата су у ppm у односу на TSP.



Слика 42. Оптимизоване структуре полазног дипептида, интермедијера и производа.

Појава новог синглета у  $^1\text{H}$  NMR спектру на 3.62 ppm, после 3 часа, указала нам је на чињеницу да се хидролитичка реакција дешава. Наиме, за време реакције сигнал на 4.00 ppm, који потиче од метилених протона глицина нехидролизованог дипептида се смањује, док се синглет на 3.62 ppm, од ослобођеног глицина, повећава. После 45 часова загревања реакционе смеше на 60 °C интензитет синглета на 3.62 ppm се не мења (слика 41). Поред тога, у NMR спектру се појавио нови синглет на 3.68 ppm и мултиплет на 3.86 ppm. Претпоставили смо да ови сигнали потичу од соли  $[\text{C}_6\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}_2]^+$  (**D** на слици 42) која се образује у реакцији између ослобођеног глицина и диетаноламинског лиганда. Да бисмо потврдили ову претпоставку, изведена је одвојена реакција са еквимоларним количинама диетаноламина и глицина, под истим реакционим условима.  $^1\text{H}$  NMR спектар насталог једињења је управо садржао синглет на 3.68 ppm (који припада метиленим протонима глицина) и триплет на 3.86 ppm (који припада протонима  $-\text{CH}_2-\text{N}$  диетаноламонијумске јединице). Настајање соли **D** није неочекивано због чињенице да је под овим реакционим условима (pH=2) amino група глицина (pKa ~ 9.6) протонувана а карбоксилна група (pKa ~ 2.3) парцијално депротонувана. Према томе, карбоксилатни кисеоник је много доступнији за реакцију са диетаноламином [160,161]. Треба истаћи и то да, један део ослобођеног глицина реагује са катализатором и образује малу количину Pd-Gly-комплекса, који је детектован  $^1\text{H}$  NMR спектроскопијом на основу сигнала на 3.52 ppm [162]. Под овим реакционим условима слободна сирћетна киселина није детектована у  $^1\text{H}$  NMR спектру, чиме је потврђено да је реакција региоселективна.

Квантитативне информације о испитиваној хидролитичкој реакцији добијене су на основу вредности површина интеграла резонанци метиленских протона слободног глицина и глицина неизреагованог дипептида. Тако је у овом случају после 45 часова, око 90% полазног дипептида хидролизовано.

Да би се боље објаснио механизам ове хидролитичке реакције и дао бољи увид у координациону хемију пептида који садрже метионин коришћене су методе функционала густине. Узимајући у обзир чињеницу да је као покретач ове реакције коришћен  $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ , за који је познато да у хидролитичким реакцијама са метионином из пептида даје мононуклеарни Pd(II)-S-комплекс као активну форму, а и на основу наших експерименталних резултата, претпостављена је могућа структура интермедијера **A** (слика 42). Израчунато хемијско померање за синглет S-CH<sub>3</sub> протона износи 2.93 ppm, док је за метиленске протоне глицина ова вредност 4.34 ppm. Пептидни Pd(II)-S-комплекс **A**, садржи као лиганд молекула воде који је добро одлазећа група. Одлазак овог лиганда омогућава Pd(II) јону да приђе ближе амидној вези и да се координује са кисеоником градећи хидролитички активан интермедијер **B**. На овај начин, карбонилна група метионина постаје много више поларизована (NBO наелектрисања на кисеонику и угљенику ове групе су -0.63 и 0.74) и подложнија за екстерни нуклеофилни напад молекула воде из растварача. Као резултат хидролитичке реакције комплекса **B**, поред глицина, настаје и Pd(II)-комплекс **C**. Израчунато хемијско померање за S-CH<sub>3</sub> протоне новонасталог комплекса износи 2.55 ppm, што је у складу са експериментално добијеном вредношћу од 2.49 ppm. Такво добро слагање између експериментално и теоријски добијених <sup>1</sup>H NMR спектра показује да оптимизована структура комплекса **C** одговара структури реакционог производа. NBO-Анализа производа **C** показује да Pd образује ковалентне везе са сумпором и хлоридним јоном, док слободни електронски парови *p*-орбитала атома лиганата учествују са више од 70% у везама са паладијумом. Слободан електронски пар атома кисеоника из лигандног молекула воде се делокализује у формално празну, скоро чисту *p*-орбиталу Pd, омогућујући координативне интеракције. Означена међуатомска растојања у полазном дипептиду, интермедијеру **B**, као и за производ **C** дата у табели 26 (Експериментални део).

### **3. *ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО***



### 3.1. Физичка мерења

Елементарна анализа једињења урађена је помоћу стандарних метода у Центру за инструменталне анализе Хемијског факултета у Београду. Инфрацрвени спектри снимани су на Perkin Elmer Spectrum FT-IR спектрофотометру. Сви  $^1\text{H}$  NMR спектри снимани су на Varian Gemini 200 MHz спектрометру. Хемијска померања дата су у односу на TMS (тетраметилсилан). Тачке топљења су одређене на Mel-Temp апарату модел 1001. Сва рН мерења су рађена на 25 °C. За ову сврху употребљен је рН-метар Iskra MA 5704, који је калибрисан у односу на Фишерове (Fischer) пуферске растворе за рН = 4,0 и рН = 7,0. Измерене рН вредности нису кориговане у односу на деутеријумски ефекат.

### 3.2. Протокол за синтезу етаноламинских јонских течности (1-11)

Све испитиване јонске течности (**1-11**) добијене су укапавањем стехиометријске количине одговарајуће карбоксилне киселине (сирћетне, млечне, хлорсирћетне киселине) или хлороводоничне киселине у дихлорметан-етанолски раствор одговарајућег аминоклохола (етаноламина – МЕА, диетаноламина – ДЕА, *N,N*-диетилетаноамина – ДЕАЕ или триетаноламина – ТЕА). Реакциона смеша је мешана два часа на собној температури. Након комплетирања реакције, из добијеног раствора органски растварачи су уклоњени упаривањем под сниженим притиском. Остатак је сушен под вакуумом у току четири часа. Добијене јонске течности су безбојне, вискозне течности.

Спектрална карактеризација јонских течности **1-9** је дата у табели 4 (Наши радови). За јонске течности *N,N*-диетилетаноламонијум-хлорацетат (**10**) и етаноламонијум-хлорацетат (**11**) спектрална карактеризација је дата овде:

**10** –  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.42 (6H, t) ppm; 3.19 (4H, q) ppm; 3.23 (2H, t) ppm; 4.01 (2H, t) ppm; 4.13 (2H, s) ppm.

IR (филм,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu$  = 3244, 2984, 1607, 1380, 1243, 1082, 766.

**11** –  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 3.21 (2H, t) ppm; 3.86 (2H, t) ppm; 4.14 (2H, s) ppm.

IR (филм,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu$  = 2953, 1585, 1393, 1064, 776;

### 3.3. Протокол Манихове реакције бензалдехида, анилина и циклохексанона изведене у јонским течностима 3, 9, 10 и 11 као растварачима и катализаторима

У балон од 50 cm<sup>3</sup> који је снабдевен магнетном мешалицом, помешани су 1 mmol (0.1060 g) бензалдехида, 1 mmol (0.0931 g) анилина, 1.5 mmol (0.0981 g) циклохексанона и 3 cm<sup>3</sup> одговарајуће јонске течности. Реакциона смеша је мешана на собној температури 48 часова. Након завршене реакције, дихлорментан (5 cm<sup>3</sup>) се додаје реакционој смеси, па се органски слој испере водом (3 × 2 cm<sup>3</sup>). Органски слој се затим суши анхидрованим Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрује. Водени слој се упарава под сниженим притиском на температури од 70 °C, четири часа у циљу одвајања и регенерисања јонске течности, која се поново користи као катализатор и растварач. Помоћу <sup>1</sup>H NMR спектроскопије доказано је постојање *anti* и *syn* изомера реакционог производа.

2-[1-(*N*-фениламино)-1-фенил]метилцикохексанон (*anti* + *syn*, табела 15, редни бројеви 1-4): принос за реакције 1-4: 1 (176 mg, 63%), 2 (170 mg, 61%), 3 (160 mg, 57%), 4 (156 mg, 56%);

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.65 (2H, m), 1.81–1.91 (4H, m), 2.32–2.44 (2H, m), 2.74–2.76 (1H, m), 4.62 (1H<sub>*anti*</sub>, d, *J* = 7.2 Hz), 4.80 (1H<sub>*syn*</sub>, d, *J* = 4.4 Hz), 6.53 (2H, d, *J* = 6.4 Hz), 6.55–6.65 (1H, m), 7.02–7.10 (2H, m), 7.20–7.24 (1H, m), 7.30–7.34 (2H, m), 7.38–7.40 (2H, m);

### 3.4. Протокол Манихове реакције изведене у присуству јонских течности 3, 9, 10 и 11 као катализатора и етанолу као растварачу (редни бројеви реакција 5-12 у табели 15)

У балон од 50 cm<sup>3</sup> који је снабдевен магнетном мешалицом помешани су 1 mmol ароматичног алдехида ((0.1061 g), бензалдехида (редни бројеви 5-8, табела 15), односно (0.1521) ванилина (редни бројеви 8-12, табела 15), 1 mmol (0.0931 g) анилина, 1.5 mmol (0.0981 g) циклохексанона, 15 mol% одговарајуће јонске течности и 3 cm<sup>3</sup> етанола. Реакциона смеша је мешана на собној температури 48 часова. Након завршене реакције, чврст производ се одваја филтрирањем и испира етанолом. Јонска течност остаје растворена у етанолу и користи се у новим реакцијама. Прекристализација добијеног

производа је извршена из смеше дихлорметана и пропанола (2:1). Помоћу  $^1\text{H}$  NMR спектроскопије доказано је постојање само *anti* изомера.

2-[1-(*N*-фениламино)-1-фенил]метилцикохексанон (*anti* производ, табела 15, редни бројеви 5-8): Безбојни кристали - Тачка топљења – 137-138 °C (литературне вредности [163] 138–139 °C); принос за реакције 5-8: 5 (263 mg, 94%), 6 (251 mg, 90%), 7 (240 mg, 86%), 8 (232 mg, 83%);

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.65 (2H, m), 1.81–1.91 (4H, m), 2.32–2.44 (2H, m), 2.74–2.76 (1H, m), 4.62 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz), 6.53 (2H, d,  $J = 6.4$  Hz), 6.55–6.65 (1H, m), 7.02–7.10 (2H, m), 7.20–7.24 (1H, m), 7.30–7.34 (2H, m), 7.38–7.40 (2H, m);

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3329, 3026, 2934, 2866, 1702, 1601, 1497, 1306, 1279, 1093, 850, 754, 520;  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}$  (279.38 g/mol): Израчунато: C, 81.68; N, 5.01; H, 7.58%; Нађено: C, 81.39; N, 4.95; H, 7.53%.

2-[1-(*N*-фениламино)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)]метилциклохексанон **12** (*anti* производ, редни бројеви 9-12, табела 15): Безбојни кристали – Тачка топљења – 164-165 °C (литературна вредност [164]); принос за реакције 9-12: 9 (303 mg, 93%), 10 (290 mg, 89%), 11 (280 mg, 86%), 12 (273 mg, 84%);

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.67 (2H, m), 1.83–1.89 (4H, m), 2.37–2.41 (2H, m), 2.64–2.74 (1H, m), 3.84 (3H, s), 4.54 (1H, d,  $J = 7.40$  Hz), 5.53 (1H, s) 6.53 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 6.56–6.59 (1H, m), 6.63–6.67 (4H, m), 6.85–6.89 (1H, m), 7.02–7.10 (2H, m);

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3474, 3353, 3052, 2936, 2866, 1700, 1604, 1500, 1325, 1265, 1234, 1033, 865, 746, 504;

$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_3$  (325.40 g/mol): Израчунато: C, 73.82; N, 4.30; H, 7.12%; Нађено: C, 73.54; N, 4.29; H, 7.13%.

### 3.5. Рендгенска структурна анализа

Безбојни призматични кристали једињења **12**, димензија 0.48 x 0.33 x 0.23 mm добијени су прекристалисавањем из смеше растварача дихлорметан – пропанол (2:1). Рендгенска структурна испитивања једињења **12** су вршена на бази мерења интензитета рефлексија помоћу Oxford Diffraction Xcalibur Sapphire3 Gemini дифрактометра применом Cu K $\alpha$  радијације ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ) на собној температури. Подаци су обрађени применом CrysAlis софтвера [165] са вишеструким скенирањем и кориговањем интензитета коришћењем SCALE3 ABSPACK [165]. Кристална структура је решена коришћењем програма SHELXS [166], и пречишћена применом програма SHELXL [166].

Сви атоми различити од водоника су преоријентисани анизотропно да се приближавају. Атоми водоника везани за O1 и N1 су смештени у различитим мапама и рафинисани премештањем изотопских параметара. Водоникови атоми везани за угљеникове атоме су смештени на геометријски израчунате позиције са C–H растојањима фиксираним на 0.93  $\text{\AA}$  из C( $sp^2$ ); 0.96, 0.97 и 0.98  $\text{\AA}$  из метил, метиленске и метинске C( $sp^3$ ) групе, респективно. Позиције ових водоникових атома су геометријски идеализоване и допуштено је налажење на њиховим матичним атомима са  $U_{iso}(H) = 1.2 U_{eq}(C)$ . Водоникови атоми метил групе су локализовани из Фуриерове (Fourier) мапе  $\Delta F$ , до геометријски идеализоване и рафинисане круте групе са  $U_{iso}(H) = 1.5 U_{eq}(C)$ .

Цртежи су припремљени коришћењем програма ORTEP-3 [167] и MERCURY, верзија 2.4 [168]. Софтвер коришћен за припрему материјала за публикацију је: WinGX, PLATON, PARST [169-171].

Кристалнографски подаци за структурну анализу једињења **12** су депоновани у кристалнографском центру у Кембриџу, CCDC No. 935220. Ови подаци могу се добити бесплатно преко линка [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif).

### 3.6. Протокол за синтезу *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] комплекса

Комплекс *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] је синтетизован полазећи од PdCl<sub>2</sub> и јонске течности **1**, у молском односу 1:2. Реакција 1 mmol PdCl<sub>2</sub> и 2 mmol **1** у 10 cm<sup>3</sup> воде, на температури 50-60 °C, у току три часа, дала је жуто-наранџасти раствор. Након стајања од два дана на

собној температури, појавили су се жуто-наранџасти кристали. Добијени кристали су филтрирани, испрани етанолом и сушени на ваздуху. Елементарна анализа и  $^1\text{H}$  NMR спектроскопија добијеног једињења потврдили су да његова структура одговара структури комплекса *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] [142]. Праћењем Хекове реакције у јонској течности **1**, уочено је да се после неколико минута загревања реакционе смеше образује исти комплекс.

C<sub>8</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Pd (387,58 g/mol): Израчунато: C, 24,77; N, 7,22; H, 5,68%; Нађено: C, 24,83; N, 7,30; H, 5,75%.

### 3.7. Протокол за синтезу [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] комплекса

Комплекс [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] је синтетизован на сличан начин као и претходни комплекс, полазећи од PdCl<sub>2</sub> и **4** у молском односу 1:2. Реакција 1 mmol PdCl<sub>2</sub> и 2 mmol **4** у 15 cm<sup>3</sup> воде, на температури 50-60 °C, у току три часа, дала је наранџасто-браон раствор. Након стајања од четири дана на собној температури, појавили су се браон кристали. Добијени кристали су филтрирани, испрани етанолом и сушени на ваздуху, њихова тачка топљења је 115 – 116 °C. Принос 0.446 g (97%).

Спектрална карактеризација комплекса [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]:

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 3.24 (4H, -CH<sub>2</sub>-NH, t), 3.86 (4H, -CH<sub>2</sub>-OH, t) ppm;

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu$  = 323, 698, 958, 1065, 1088, 1405, 1574, 2874, 3299, 3343.

C<sub>8</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>Pd (460.42 g/mol): Израчунато: C, 20.95; N, 6.09; H, 5.21%; Нађено: C, 21.01; N, 6.13; H, 5.18%.

### 3.8. Протокол Хекове реакције изведене у присуству јонских течности **1**, **4**, **5** и **7** као база, растварача и лигананда (редни бројеви реакција **1-24** у табели **18**)

Одговарајући арил-халогенид (1 mmol), олефин (1 mmol), одговарајућа јонска течност (1,5 cm<sup>3</sup>) и PdCl<sub>2</sub> мешани су уз загревање на температури од 100 °C током 12-18 часова. Након хлађења реакционе смесе до собне температуре, производи реакција су издвојени из реакционе смесе екстракцијом са смесом диетил-етар/*n*-хексан (5:1). Органски слој је испран водом, сушен преко анхидрованог натријум-сулфата, процеђен а

затим растварач испарен под сниженим притиском. Реакције су праћене помоћу гасно-масеног хроматографа и  $^1\text{H}$  NMR спектроскопије, а производи пречишћени хроматографијом на колони (силика-гел, Silica gel 60, за хроматографију на колони; етил-ацетат/дихлорметан = 1:1). Након тога, производи су спектроскопски анализирани, а добијени подаци поређени са спектралним подацима комерцијално доступних једињења.

Спектрална карактеризација једињења производа Хекове реакције:

*trans*-Метил-цинамат, реакције: 1 и 2; 7 и 8; 13 и 14; 19 и 20 у табели 18 и реакције 1 и 2; 7 и 8 у табели 19:

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 3.81 (3H, s), 6.44 (1H, d), 7.38 (3H, m), 7.52 (2H, m), 7.70 (1H, d).

*trans*-Етил-цинамат, реакције: 3 и 4; 9 и 10; 15 и 16; 21 и 22 у табели 18 и реакције 3 и 4; 9 и 10 у табели 19:

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.34 (3H, t), 4.27 (2H, q), 6.43 (1H, d), 7.38 (3H, m), 7.52 (2H, m), 7.68 (1H, d).

*trans-n*-Бутил-цинамат, реакције: 5 и 6; 11 и 12; 17 и 18; 23 и 24 у табели 18 и реакције 5 и 6; 11 и 12 у табели 19:

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.97 (3H, t), 1.47 (2H, m), 1.70 (2H, m), 4.21 (2H, t), 6.44 (1H, d), 7.39 (3H, m), 7.52 (2H, m), 7.68 (1H, d).

### 3.9. Рециклажа каталитичког система $\text{IL-Pd}$

Након екстракције производа реакције, растворени остатак Хекове реакције (јонска течност + Pd-катализатор) испран је етанолом (3  $\text{cm}^3$ ) и диетил-етром (3 $\times$ 3  $\text{cm}^3$ ). Након испирања, смеша је упаравана под сниженим притиском.  $\text{IL-Pd}$  каталитички систем се, након оваквог третмана, могао директно користити у наредној Хековој реакцији, без додатних пречишћавања.

### 3.10. Протокол за синтезу *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] комплекса у јонској течности **8**

Комплекс *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] је синтетизован полазећи од PdCl<sub>2</sub> и јонске течности **8** у молском односу 1:2. Реакција 1 mmol PdCl<sub>2</sub> и 2 mmol **8**, на температури од 100 °C у току 10 часова даје жуто-наранџасти раствор. Раствор је испран дихлорметаном (3 x 3 cm<sup>3</sup>). Остатак раствора је растворен у води и остављен пет дана на собној температури. Исталожени наранџасти кристали су филтрирани, испрани етанолом и сушени на ваздуху. Принос добијеног комплекса био је 70%. Елементарна анализа и <sup>1</sup>H NMR спектроскопија добијеног једињења потврдили су да његова структура одговара структури комплекса *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>].

Спектрална карактеризација комплекса *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>]:

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 3.48 (12H, -CH<sub>2</sub>-NH, t), 3.95 (12H, -CH<sub>2</sub>-OH, t) ppm;

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): ν = 323, 698, 958, 1065, 1088, 1405, 1574, 2874, 3299, 3343. C<sub>12</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Pd (475.42 g/mol): Израчунато: C, 30.29; N, 5.89; H, 6.31%; Нађено: C, 30.25; N, 5.83; H, 6.29%.

### 3.11. Протокол Хекове реакције изведене у присуству јонске течности **8** или ТЕА као базе, растварача и лиганда (редни бројеви реакција 1-12 у табели 19)

Одговарајући арил-халогенид (1.05 mmol), олефин (1 mmol), јонска течност **8**, односно ТЕА (1 cm<sup>3</sup>) и PdCl<sub>2</sub> (2 mol.%) мешани су уз загревање на температури од 110 °C током 12-14 часова, у зависности од употребљеног арил-халогенида (за јодбензен 12 часова, а за бромбензен 14 часова). Након хлађења реакционе смесе до собне температуре, производи реакција (*trans*-метил-цинамат, *trans*-етил-цинамат и *trans*-бутил-цинамат) су издвојени из реакционе смеше екстракцијом са смесом диетил-етар/*n*-хексан (5:1). Органски слој је испран водом, сушен преко анхидрованога натријум-сулфата, процеђен а затим растварач испарен под сниженим притиском. Реакције су праћене помоћу гасно-масеног хроматрографа и <sup>1</sup>H NMR спектроскопије, а производи пречишћени хроматографијом на колони (силика-гел, дихлорметан = 1:1).

### **3.12. Микробиолошка испитивања**

#### ***3.12.1. Тестирани микроорганизми***

Антимикробна активност комплекса и њихових прекурсора је одређена теастирањем на 29 микроорганизама. Експерименти су извођени на 16 врста патогених бактерија, укључујући 7 стандардних врста и 9 клиничких изолата; 4 врсте пробиотских бактерија и 9 врста гљива укључујући 5 врста гљива из групе плесни и 4 врсте квасаца. Сви тестирани микроорганизми приказани су у табели 27. Сви клинички изолати патогених бактерија добијени су на поклон од Института за јавно здравље, Крагујевац. Остале врсте микроорганизама су из колекције микроорганизама Лабораторије за микробиологију, Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу.

Бактеријске суспензије и суспензије квасаца су припремљене тако што су колоније узимане директно са подлоге и суспендоване у 5 mL стерилног физиолошког раствора. Густина почетне суспензије је подешавана са 0.5 Mc Farland стандардом [172]. Почетна суспензија бактерија садржи око  $10^8$  (CFU)/mL, CFU – јединице које формирају колонију, а суспензија квасаца садржи  $10^6$  CFU/mL. Почетне суспензије бактерија и квасаца су додатно разблажене у односу 1:100 стерилним 0.85% физиолошким раствором. Суспензије спора гљива су припремљене пажљивим скидањем спора са мицелије. Таква суспензија је разблажена у односу 1:1000 стерилним 0.85% физиолошким раствором.



Табела 27. Списак тестираних микроорганизама.

<b>Бактерије</b>	<b>Гљиве</b>
<b>Грам-позитивне бактерије</b>	<b>Квасци</b>
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<i>Sarcina lutea</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Rhodotorula sp.</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<b>Гљиве изазивачи буђи</b>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus restrictus</i>
<b>Грам-негативне бактерије</b>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Salmonella enteric</i>	
<i>Salmonella typhimurium</i>	
<b>Пробиотици</b>	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	
<i>Bacillus subtilis</i> IP 5832	

### 3.12.2. Микродилуциона метода

Ова метода омогућава испитивање антимикуробне активности одеђивањем минималне инхибиторне концентрације (МИК) и минималне микробиоцидне концентрације (ММК) коришћењем микротитрационих плоча уз помоћ ресазурина [173]. Минимална инхибиторна концентрација се дефинише као најнижа концентрација тестираног једињења на којој је инхибиран раст микроорганизама, а минимална микробиоцидна концентрација као најнижа концентрација тестираног једињења која доводи до смрти микроорганизама. Серијом двоструког разблаживања направљене су концентрације од 1000  $\mu\text{g/ml}$  до 7.81  $\mu\text{g/ml}$  у 96 бунарића који садрже Mueller–Hinton бујон за бактерије и Sabouraud декстрозни бујон за гљиве. Након тога, 10  $\mu\text{l}$  разблажене суспензије бактерија, квасаца и спора гљива дода се у сваки бунарић да би се добила коначна концентрација од  $5 \times 10^5$  CFU/ ml за бактерије и  $5 \times 10^3$  CFU/ml за гљиве.

Коначно, 10  $\mu$ l раствора ресазурина, као индикатора микробног раста, дода се у сваки бунарић инокулисан бактеријама и гљивама. Ресазурин је плаве нефлуоресцентне боје која постаје ржичаста и флуоресцентна када се редукује до резорурфина од стране оксидоредуктазе унутар живе ћелије. Инокулиране плоче се инкубирају на 37 °C 24 часа за бактерије, на 28 °C 48 часова за квасце и 28 °C 72 часа за плесни. МИК се дефинише као најнижа концентрација тестиране супстанце која спречава промену боје ресазурина из плаве у розу. За плесни, МИК вредности тестиране супстанце су дефинисане као најнижа концентрација која видљиво инхибира пораст мицелијума.

Доксициклин и флуконазол, растворени у хранљивој течној подлози, су коришћени као позитивна контрола. Такође, праћен је утицај растварача на раст микроорганизама испитивањем дејства 10% DMSO. Примећено је да 10% DMSO не инхибира пораст микроорганизама. Такође, у експерименту, концентрација DMSO се накнадно смањивала због серије двоструког разблажења, што је резултовало да радна концентрација DMSO буде 5% или нижа. Сваки тест укључује контролу раста и контролу стерилности. Сва тестирања су вршена у дупликату и МИК вредности су биле константне.

Минимална бактерицидна и фунгицидна концентрација (МБЦ/МФЦ) су одређене преношењем 10  $\mu$ l узорка из бунарића изнад МИК вредности у којима није уочена промена боје индикатора, на хранљиву агар подлогу. На крају периода инкубације најнижа концентрација без раста (без колоније) дефинисана је као минимална микробиоцидна.

### **3.13. Ацетиловање терминалне аминок групе у *L*-хистидил-глицину и *L*-метионил-глицину**

За ацетиловање терминалне аминок групе у пептидима *L*-хистидил-глицину и *L*-метионил-глицину употребљена је метода која је раније описана у литератури [174,175]. У што мањој запремини глацијалне сирћетне киселине раствори се  $5,0 \times 10^{-4}$  mola пептида, па у овај раствор дода  $7,5 \times 10^{-4}$  mola (70,9  $\mu$ l) анхидрида сирћетне киселине. Раствор се меша на собној температури три сата, а затим остави да испари до сува. У већини случајева добија се уљаста супстанца која представља ацетилувани пептид. Чист ацетилувани пептид може се добити прекристалисавањем из смеше вода-ацетон, или неког другог

органског растварача. Ацетиловани пептид у кристалном облику може се добити и растварањем уљастог остатка у води, а затим испаравањем раствора на собној температури до сува. По потреби овај поступак се може поновити више пута. Чистоћа ацетилованог пептида проверена је помоћу  $^1\text{H}$  NMR спектроскопије.

### **3.14. Хидролитичке реакције AcHis-Gly и AcMet-Gly дипептида катализоване $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ комплексом**

Реакције  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  комплекса са *N*-ацетилованим дипептидима, AcHis-Gly и AcMet-Gly, праћене су помоћу  $^1\text{H}$  NMR спектроскопије. Паладијум(II)-комплекс и пептиди мешани су у молском односу 1 : 1 у NMR кивети. Концентрација раствора након мешања била је 20 mM у односу на реактанте. Наведене реакције су извођене на температури од 60 °C, а рН вредност реакционе смеше била је 2,0.

### **3.15. Рачунарске методе**

Сва израчунавања изведена су помоћу програма Gaussian 03 [176] и Gaussian 09 [177]. У оквиру Теорије функционала густине (DFT, Density Functional Theory) употребљени су функционали B3LYP [178-180], M06 [181] и M052X [182]. Базисни скупови 6-31G(d), 6-311G(d,p), 6-311+G(d,p) и 6-311++G(d,p) коришћени су за атоме C, H, O, N, Cl и S, док је за атом Pd употребљен LANL2DZ+ECP и def2-TZVPD [183]. Геометрије свих стационарних тачака у гасовитој фази и растварачима одређене су оптимизацијом без икаквих ограничења, изузев у случају једињења **1**, **2**, **5**, **6** и **8**. За ове молекуле, дужина N-H везе је постављена на одређену вредност. Ово ограничење је уведено да би се боље симулирала јонска природа ових једињења, и тако постигло боље слагање између експериментално добијених и израчунатих спектра. При оптимизацији у растварачу коришћен је CPCM модел [184,185]. Девет различитих растварача је коришћено: вода ( $\epsilon = 80.1$ ), диметил-сулфоксид ( $\epsilon = 46.7$ ), ацетонитрил ( $\epsilon = 37.5$ ), метанол ( $\epsilon = 32.7$ ), етанол ( $\epsilon = 24.5$ ), тетрахидрофуран ( $\epsilon = 7.58$ ), хлороформ ( $\epsilon = 4.81$ ), диетил-етар ( $\epsilon = 4.33$ ) и угљен-тетрахлорид ( $\epsilon = 2.44$ ). Израчунавањем фреквенција потврђено је за све израчунате структуре да су или равнотежне геометрије (све реалне вибрације), или прелазна стања (једна имагинарна вибрација). Изведени су IRC (*енг.* Intrinsic Reaction Coordinates) рачуни за пронађена прелазна стања. Ови рачуни су потврдили да свако

прелазно стање повезује одговарајуће реактанте и производе. NBO (*eng.* Natural Bond Orbital) анализа је изведена за све структуре дуж реакционе координате [186].

**3.16. Табеле са одабраним међуатомским растојањима и одабраним угловима, као и табеле са енергетским садржајима структура**

Табела 5. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у IL 1.

Растварач/Н-веза	N-N1	N1-O1	N2-O2	N3-O1
Гас	1.09	1.52872	2.22519	1.90363
Угљен-тетрахлорид	1.09	1.57205	2.43659	1.87958
Диетил-етар	1.09	1.59515	2.53547	1.86608
Хлороформ	1.09	1.59799	2.54572	1.86466
Тетрахидрофуран	1.09	1.60788	2.58089	1.85957
Етанол	1.09	1.62142	2.63199	1.85286
Метанол	1.09	1.62291	2.63845	1.85214
Ацетонитрил	1.09	1.62358	2.63912	1.85183
Диметил-сулфоксид	1.09	1.62049	2.64338	1.85201
Вода	1.09	1.62149	2.65233	1.85098

Табела 6. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 2.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-O1	H2-O2	H3-O1
Гас	1.09	1.55748	2.37295	1.91232
Угљен-тетрахлорид	1.09	1.61167	2.5187	1.90615
Диетил-етар	1.09	1.63896	2.58697	1.90185
Хлороформ	1.09	1.64197	2.60054	1.90076
Тетрахидрофуран	1.09	1.65149	2.66283	1.89479
Етанол	1.09	1.66445	2.71301	1.89053
Метанол	1.09	1.66546	2.71763	1.89084
Ацетонитрил	1.09	1.66585	2.71853	1.89065
Диметил-сулфоксид	1.09	1.66606	2.72211	1.89172
Вода	1.09	1.66786	2.72482	1.89031

Табела 7. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 3.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-O1	H2-O2	H3-O1
Гас	1.07797	1.59102	2.21292	1.92528
Угљен-тетрахлорид	1.06319	1.67168	2.33757	1.90681
Диетил-етар	1.05881	1.69998	2.4702	1.89194
Хлороформ	1.05855	1.70127	2.50592	1.88872
Тетрахидрофуран	1.05701	1.71265	2.55429	1.88416
Етанол	1.05689	1.71439	2.74905	1.86995
Метанол	1.05664	1.71637	2.75507	1.86923
Ацетонитрил	1.05657	1.71689	2.75674	1.86901
Диметил-сулфоксид	1.05639	1.71828	2.76096	1.86847
Вода	1.05617	1.71998	2.76666	1.86777

Табела 8. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 4.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-Cl	H3-Cl
Гас	1.10095	1.82328	2.22178
Угљен-тетрахлорид	1.06813	1.95865	2.2421
Диетил-етар	1.05796	2.02862	2.253
Хлороформ	1.05712	2.03531	2.03531
Тетрахидрофуран	1.05319	2.07163	2.25793
Етанол	1.04857	2.12376	2.2663
Метанол	1.04819	2.12831	2.26723
Ацетонитрил	1.04799	2.13051	2.26825
Диметил-сулфоксид	1.04774	2.13354	2.26906
Вода	1.04748	2.13675	2.13675

Табела 9. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 5.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-O1	H4-O2	H5-O2	H6-O2
Гас	1.09	1.44159	2.40208	2.6187	2.8588
Угљен-тетрахлорид	1.09	1.48879	2.45804	2.63111	2.98852
Диетил-етар	1.09	1.51157	2.49119	2.65512	2.98625
Хлороформ	1.09	1.51419	2.49641	2.66083	2.98501
Тетрахидрофуран	1.09	1.52325	2.51548	2.679	2.98016
Етанол	1.09	1.53507	2.53487	2.71175	2.97692
Метанол	1.09	1.53597	2.53625	2.71461	2.9775
Ацетонитрил	1.09	1.53615	2.5367	2.71385	2.97799
Диметил-сулфоксид	1.09	1.5363	2.53821	2.71583	2.97772
Вода	1.09	1.53726	2.70633	2.75091	2.9578

Табела 10. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 6.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-O1	H4-O2	H5-O2	H6-O2
Гас	1.09	1.50512	2.37117	2.51699	2.87836
Угљен-тетрахлорид	1.09	1.54957	2.4366	2.67881	2.85673
Диетил-етар	1.09	1.57177	2.48706	2.69848	2.88273
Хлороформ	1.09	1.57449	2.49256	2.69938	2.88608
Тетрахидрофуран	1.09	1.58398	2.52341	2.62652	2.90784
Етанол	1.09	1.59463	2.54399	2.65016	2.91561
Метанол	1.09	1.59617	2.54622	2.65164	2.91734
Ацетонитрил	1.09	1.59646	2.54683	2.65208	2.91786
Диметил-сулфоксид	1.09	1.59758	2.54838	2.65529	2.91611
Вода	1.09	1.59865	2.55004	2.65492	2.91998

Табела 11. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 7.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-Cl	H5-Cl	H6-Cl
Гас	1.12537	1.74806	2.83326	2.91997
Угљен-тетрахлорид	1.07891	1.88599	2.89394	2.99657
Диетил-етар	1.06697	1.9466	2.93473	3.02501
Хлороформ	1.06569	1.95466	2.94139	3.0265
Тетрахидрофуран	1.06175	1.98058	2.96027	3.03796
Етанол	1.05773	2.00901	2.97454	3.05904
Метанол	1.05734	2.01185	2.97579	3.06183
Ацетонитрил	1.05726	2.01265	2.97618	3.06276
Диметил-сулфоксид	1.05703	2.01472	2.9775	3.06464
Вода	1.05674	2.01755	2.97921	3.06736



Табела 12. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 8.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-O1	H3-O1	H7-O2	H8-O2
Гас	1.09	1.5217	1.78031	2.20408	2.35486
Угљен-тетрахлорид	1.09	1.56864	1.78585	2.30791	2.36647
Диетил-етар	1.09	1.59094	1.78799	2.3494	2.39183
Хлороформ	1.09	1.59363	1.7881	2.35412	2.39571
Тетрахидрофуран	1.09	1.60285	1.78526	2.37395	2.40803
Етанол	1.09	1.61569	1.78642	2.3975	2.43176
Метанол	1.09	1.61669	1.78656	2.40096	2.43506
Ацетонитрил	1.09	1.61702	1.78661	2.40175	2.43641
Диметил-сулфоксид	1.09	1.61789	1.78669	2.4039	2.44024
Вода	1.09	1.61894	1.78687	2.40711	2.44495

Табела 13. Међуатомска растојања (у Å) између катјона и анјона (Н1-О1), као и водоничне везе у ПЛ 9.

Растварач/Н-веза	N-H1	H1-O1	H3-O1	H7-O2	H8-O2
Гас	1.07577	1.65151	1.77713	2.18903	2.33006
Угљен-тетрахлорид	1.06413	1.71665	1.78608	2.27454	2.35116
Диетил-етар	1.0599	1.74366	1.79036	2.31887	2.38159
Хлороформ	1.05943	1.74689	1.7908	2.32461	2.3865
Тетрахидрофуран	1.0578	1.75807	1.7908	2.34348	2.40619
Етанол	1.05564	1.77517	1.79112	2.36551	3.41512
Метанол	1.05533	1.77729	1.78975	2.36685	2.46785
Ацетонитрил	1.05527	1.77779	1.78979	2.36732	2.46964
Диметил-сулфоксид	1.05516	1.77885	1.79027	2.36892	2.47221
Вода	1.05491	1.78075	1.7905	2.37038	2.47852

Табела 17. Експериментална и израчуната међуатомска растојања (Å) у једињењу **12**. Експериментални и израчунати подаци односе се на чврсту и гасовиту фазу, респективно.

Веза	Експ.	Израч.
N1–C9	1.383(2)	1.384
N1–C8	1.447(2)	1.446
O1–C1	1.374(2)	1.357
O2–C2	1.364(2)	1.366
O2–C7	1.416(2)	1.421
O3–C20	1.214(2)	1.210
C1–C6	1.368(3)	1.380
C1–C2	1.398(2)	1.403
C2–C3	1.380(2)	1.383
C3–C4	1.395(2)	1.397
C4–C5	1.383(2)	1.386
C4–C8	1.521(2)	1.519
C5–C6	1.397(2)	1.394
C8–C15	1.553(2)	1.548
C15–C20	1.510(2)	1.519
C15–C16	1.526(2)	1.536
C16–C17	1.511(3)	1.530
C17–C18	1.519(3)	1.528
C18–C19	1.527(3)	1.536
C19–C20	1.490(2)	1.507

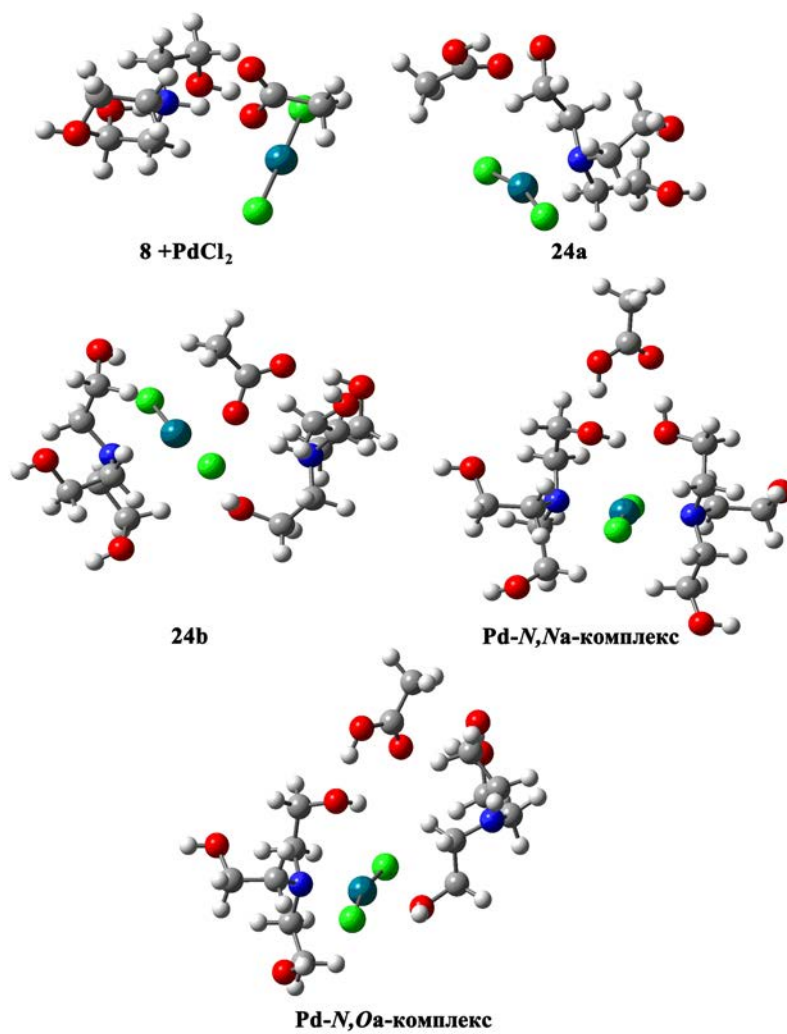
Као што је и очекивано, геометрије чврсте и гасовите фазе једињења **12** нису идентичне, због интрамолекулских интеракција у чврстом стању.

Табела 20. Означена међуатомска растојања (Å) испитиваних врста за формирање Pd(II)-комплекса.

<b>Јонска течност + PdCl<sub>2</sub></b>	
N1-H1	1.05
O1-H1	1.61
Pd-Cl	2.31, 2.35
<b>23</b>	
N1-H1	2.11
O1-H1	0.98
Pd-N1	2.89
<b>24</b>	
Pd-N1	2.08
Pd-Cl	2.32, 2.35
<b>25</b>	
Pd-N1	2.15
Pd-Cl	2.36, 2.38
N2-H2	3.40
O2-H2	0.98
Pd-N2	2.88
<b>26</b>	
Pd-N1	2.17
Pd-Cl	2.36, 2.38
N2-H2	4.42
O2-H2	0.98
Pd-N2	5.75
Pd-O3	2.59
<b>Pd-N,N-комплекс</b>	
Pd-N1	2.17
Pd-Cl	2.38, 2.42
Pd-N2	2.17
<b>Pd-N,O-комплекс</b>	
Pd-N1	2.13
Pd-N2	5.08
Pd-Cl	2.36, 2.40
Pd-O3	2.12

Табела 21. Вредности за укупну енергију, енталпију, и слободну енергију за све истраживане врсте у механизму формирања Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса. Структуре **8** + PdCl<sub>2</sub>, **24a**, **24b**, Pd-*N,Na* и Pd-*N,Oa* су дате на слици 43 испод табеле.

	$\Delta E$ (kJ/mol)	$\Delta H^{298}$ (kJ/mol)	$\Delta G^{298}$ (kJ/mol)
<b>Ступањ 1</b>			
<b>8 + PdCl<sub>2</sub></b>	0.0	0.0	0.0
<b>23</b>	127.5	129.6	127.0
<b>24a</b>	14.5	15.5	10.8
<b>Ступањ 2</b>			
<b>24b</b>	0.0	0.0	0.0
<b>25</b>	156.5	163.3	139.7
<b>26</b>	102.4	108.3	85.8
<b>Pd-<i>N,Na</i></b>	37.4	43.6	19.1
<b>Pd-<i>N,Oa</i></b>	43.3	47.0	33.0



Слика 43. Структуре добијене оптимизацијом **8** и PdCl<sub>2</sub> заједно, **24** и AcOH (**24a**), **24** и **8** (**24b**), Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса са AcOH (**Pd-*N,N*** и **Pd-*N,O***).

Табела 22. Нека међуатомска растојања ( $\text{\AA}$ ) за испитиване врсте у механизму формирања Pd(0)-комплекса.

<b>27</b>	
Pd-N1	2.25
Pd-N2	4.87
Pd-Cl1	2.40
Pd-Cl2	2.43
Pd-O3	1.99
C1-H4	1.10
Pd-H4	3.15
<b>28</b>	
Pd-N1	2.15
Pd-Cl1	2.38
Pd-Cl2	2.37
Pd-O3	2.42
C1-H4	1.15
Pd-H4	2.11
<b>29</b>	
Pd-N1	2.42
Pd-Cl1	2.39
Pd-Cl2	2.42
Pd-H4	1.52
<b>30</b>	
Pd-N1	2.55
Pd-Cl1	2.81
Pd-Cl2	2.39
Pd-H4	1.56
Cl1-H4	1.71
<b>31</b>	
Pd-N1	2.28
Pd-Cl2	2.38

Табела 23. Вредности за укупну енергију, енталпију, и слободну енергију за све истраживане врсте у механизму формирања Pd(0)-комплекса.

	$\Delta E$ (kJ/mol)	$\Delta H^{298}$ (kJ/mol)	$\Delta G^{298}$ (kJ/mol)
<b>Ступањ 1</b>			
Pd- <i>N,O</i> -комплекс	0.0	0.0	0.0
<b>27+H<sup>+</sup></b>	1311.0	1309.4	1315.3
<b>Ступањ 2</b>			
<b>27</b>	0.0	0.0	0.0
<b>28</b>	144.6	143.5	141.9
<b>29a</b>	1.0	4.9	-11.4
<b>Ступањ 3</b>			
<b>29</b>	0.0	0.0	0.0
<b>30</b>	85.9	87.6	78.9
<b>31a</b>	39.6	41.1	32.1

Табела 26. Нека међуатомска растојања (Å) у круцијалним интермедијерима и производима.

Дипептид	
C–O (пептидна веза)	1.22
C–N (пептидна веза)	1.35
<b>В</b>	
Pd–S	2.35
Pd–Cl	2.32
Pd–Cl	2.36
Pd–O (карбонил)	2.12
C–O (карбонил)	1.24
C–N (пептидна веза)	1.33
<b>С</b>	
Pd–S	2.31
Pd–Cl	2.30



## ***4. ЗАКЉУЧАК***

У оквиру ове дисертације неки од деривата етаноламина употребљени су за синтезу одговарајућих јонских течности. Добијене јонске течности су окарактерисане применом IR и  $^1\text{H}$  NMR спектроскопије и додатно испитане коришћењем метода функционала густине. Анализа ових једињења је показала да она постоје у облику одвојених катјона и анјона у поларним растварачима, док у неполарним растварачима постоје у облику контактних јонских парова. Наиме, растојање између јона мења се са променом поларности растварача, услед формирања водоничних веза са молекулима растварача. Такође, вредности солватационих енергија се смањују са повећањем поларности растварача па су, самим тим, јонски парови ових једињења више стабилизовани у таквим растварачима.

Испитивање каталитичког утицаја етаноламинских хлорацетатних јонских течности на ток Манихове реакције је показало да су јонске течности **3**, **9**, **10** и **11** веома добри катализатори ове реакције. Када су реакције изведене у етанолу, приноси реакционих производа су били врло добри, а диастереоселективност одлична. У свим реакцијама је искључиво настајао *anti* диастереоизомер. Тако је у реакцији ванилина, анилина и циклохексанона изоловано безбојно кристално једињење **12**, које је било погодно за рендгенску структурну анализу. Показало се да се ради о два енантиомерна молекула једињења **12**, која су међусобно повезана двема водоничним везама, и која образују центросиметрични рацемски димер. Методама функционала густине испитан је могући пут формирања два енантиомерна *anti* производа једињења **12** (*RS* и *SR* облика). После расветљавања реакционог механизма било је јасно да је једна од кључних фаза реакције формирање иминијум јона **16**, катализована водоничним везама. Иминијум јон подлеже даље трансформацијама преко *RS* и *SR* путева. Пuteви *R* и *S*, као и *RS* и *SR* захтевају скоро идентичне активационе баријере, што значи да је формирање **12-RS** и **12-SR** енантиомера једнако фаворизовано у овој *anti*-селективној Маниховој реакцији.

Такође, нађено је да се у реакцији PdCl<sub>2</sub> са диетаноламинским, *N,N*-диетилетаноламинским јонским течностима **1**, **4**, **5** и **7**, као и са триетаноламинском јонском течношћу **8**, добија ефикасан јонска течност/Pd(II) – каталитички систем за „зелену“ Хекову реакцију. Употребљене јонске течности су имале улогу реакционог

медијума, базе, прекурсора прекатализатора, координујућег лиганда и мобилне подршке за Pd-активну врсту, с обзиром на чињеницу да су знатно олакшавале растворљивост Pd(II)-прекатализатора и Pd(0)-каталитичке врсте. Осим тога, овако осмишљена процедура Хекове реакције била је много једноставнија, реакциони принос врло добар (90-93%), а селективност одлична (добijen је искључиво *trans*-производ). Коначно, употребљена јонска течност се могла употребити још пар пута, без значајнијег смањења активности. Због свега наведеног, може се сматрати да је овако конципиран Хеков протокол врло ефикасан, економичан и еколошки прихватљив. У циљу расветљавања механизма одвијања ове реакције у присуству јонске течности триетаноламонијум-ацетата ([TEA][HOAc], **8**), употребљене су методе функционала густине. Испоставило се да је у овој реакцији могуће формирање два *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] комплекса, и то Pd-*N,N* и Pd-*N,O*-комплекса. Анализа стабилности добијених комплекса показује да је Pd-*N,O*-комплекс за 31.4 kJ/mol мање стабилан од Pd-*N,N*-комплекса, због чега смо и претпоставили да он подлеже даљој трансформацији, дајући каталитички активан Pd(0)-комплекс.

Да бисмо испитали биолошку активност новосинтетизованих јонских течности и одговарајућих Pd(II)-комплекса, *in vitro* су тестиране антибактеријска и антифунгална активност једињења **8** и **4**, и комплекса *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] и [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]. Показало се да комплекси и њихови прекурсори испољавају ниску антимикуробну активност. Антибактеријска активност је била изражена према неким G<sup>+</sup> бактеријама (*S. lutea*, *Enter. faecalis*, *B. subtilis*), пробиотицима (*L. rhamnosus*, *B. subtilis* IP 5832) и врстама *Ps. aeruginosa*. Антифунгална активност је била боља према плеснима него према квасцима. Тестирана једињења су деловала на *Aspergillus* врсте, док су *C. albicans*, клиничке и стандардне врсте, биле отпорне. Јонска течност **8**, а посебно комплекс [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>], са својом израженом активношћу према *Aspergillus* врстама, могу се сматрати агенсима са потенцијалном антифунгалном активношћу, односно могу бити кандидати за будућа *in vitro* и/или *in vivo* испитивања.

Такође, применом <sup>1</sup>H NMR спектроскопије изучаване су реакције [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] комплекса са *N*-ацетилованим *L*-хистидил-глицином (AcHis-Gly) и *N*-ацетилованим-*L*-метионил-глицином (AcMet-Gly). У оба случаја овај комплекс показује селективну хидролитичку активност.

Да би се боље објаснио механизам хидролитичке реакције са AcMet-Gly и дао бољи увид у координациону хемију пептида који садрже метионин, коришћене су методе функционала густине. Ова студија доприноси бољем разумевању интеракције паладијума(II) са –SH или –SR групама и указује на правац развоја нових паладијум(II)-комплекса који би могли бити примењени у биоорганској хемији и структурној биологији.

## ***5. ЛИТЕРАТУРА***

- [1] P. Walden, *Bull. Acad. Imper. Sci. (St Petersburg)* (1914) 1800.
- [2] C. Graenacher, Cellulose solution, U.S. Patent (1934) 1943176.
- [3] F. Hurley, T. Wier Jr., *Electrochem. Soc.* 98 (1951) 207.
- [4] H.L. Chum, V.R. Koch, L.L. Miller, R.A. Osteryoung, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 3264.
- [5] J. Robinson, R.A. Osteryoung, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 323.
- [6] J.S. Wilkes, L.A. Levinsky, R.A. Wilson, C.L. Hussey, *Inorg. Chem.* 21 (1982) 1263.
- [7] C.L. Hussey, *Adv. Molten Salt Chem.* 5 (1983) 185.
- [8] T.B. Scheffer, C.L. Hussey, K.R. Seddon, C.M. Kear, P.D. Armitage, *Inorg. Chem.* 22 (1983) 2099.
- [9] J.A. Boon, J.A. Levinsky, J.L. Pflug, J.S. Wilkes, *J. Org. Chem.* 51 (1986) 480.
- [10] J.S. Wilkes, M.J. Zaworotko, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1992) 965.
- [11] J. Howarth, K. Hanlon, D. Fayne, P. McCormac, *Tetrahedron Lett.* 38 (1997) 3097.
- [12] M.J. Earle, P.B. McCormac, K.R. Seddon, *Green Chem.* 1 (1999) 23.
- [13] P. Wasserscheid, A. Bösmann, C. Bolm, *Chem. Commun.* (2002) 200.
- [14] P. Wasserscheid, T. Welton, "Ionic liquids in synthesis" 2nd Edition, Vol. 1, Wiley-VCH, Weinheim, 2008.
- [15] D. Coleman, N. Gathergood, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 600.
- [16] S. Pavlovica, A. Zicmanis, E. Gzibovska, M. Klavins, P. Mekss, *Green and Sustainable Chemistry* 1 (2011) 103.
- [17] R.S. Boethling, E. Sommer, D. DiFiore, *Chem. Rev.* 107 (2007) 2207.
- [18] J. Dupont, R.F. de Souza, P.A.Z. Suarez, *Chem. Rev.* 102 (2002) 3667.
- [19] P. Wasserscheid, W. Keim, *Angew. Chem. Int. Ed.* 39 (2000) 3772.
- [20] N.D. Khupse, A. Kumar, *Indian. J. Chem.* 49 (2010) 635.
- [21] A. Fenin, D.A. Floreni, L.A. King, J.S. Landers, B.J. Piersma, D.J. Stech, J.S. Vaughn, J.S. Wilkes, J.L. Williams, *J. Phys. Chem.* 88 (1984) 2614.
- [22] M. Kosmulski, J. Gustafsson, J.B. Rosenholm, *Thermochim. Acta*, 412 (2004) 47.
- [23] M.A.P. Martins, C.P. Frizzo, D.N. Moreira, N. Zanatta, H.G. Bonaccorso, *Chem. Rev.* 108 (2008) 2015.
- [24] C. Chiappe, E. Leandri, M. Tebano, *Green Chem.* 8 (2006) 742.

- [25] D.R. MacFarlane, J.M. Pringle, K.M. Johansson, S.A. Forsyth, M. Forsyth, *Chem. Commun.* 18 (2006) 1905.
- [26] J. Golding, S. Forsyth, D.R. MacFarlane, M. Forsyth, G.B. Deacon, *Green Chem.* 4 (2002) 223.
- [27] Y. Yukihiro, M. Koji, O. Akihiro, S. Gunzi, T. Masahide, Y. Toshinobu, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 1458.
- [28] P.S. Gradeff, US Patent (1974) 3,840,601 to Rhodia Inc.
- [29] P.W.D. Mitchell, US Patent (1989) 4,874,900 to Union Camp Corporation.
- [30] I. Cota, R. Gonzalez-Olmos, M. Iglesias, F. Medina, *J. Phys. Chem. B* 101 (2007) 12468.
- [31] M. Iglesias, R. Gonzalez-Olmos, I. Cota, F. Medina, *Chem. Eng. J.* 162 (2010) 802.
- [32] M.L. Deb, P.J. Bhuyan, *Tetrahedron Lett.* 46 (2005) 6453.
- [33] G. Jenner, *Tetrahedron Lett.* 42 (2001) 243.
- [34] D.W. Morrison, D.C. Forbes, J.H. Davis Jr, *Tetrahedron Lett.* 42 (2001) 6053.
- [35] F.A. Khan, J. Dash, R. Satapathy, S.K. Upadhyay, *Tetrahedron Lett.* 45 (2004) 3055.
- [36] T. Jiang, H. Gao, B. Han, G. Zhao, Y. Chang, W. Wu, L. Gao, G. Yang, *Tetrahedron Lett.* 45 (2004) 2699.
- [37] J.M. Xu, C. Qian, B.K. Liu, Q. Wu, X.F. Lin, *Tetrahedron* 63 (2007) 986.
- [38] B.C. Ranu, S. Banerjee, R. Jana, *Tetrahedron Lett.* 63 (2007) 776.
- [39] A.R. Hajipoura, F. Rafieeb, *J. Iran. Chem. Soc.* 6 (2009) 647.
- [40] A. Graul, J. Castaner, *Drugs Future* 22 (1997) 956.
- [41] E. Juaristi, *Enantioselective Synthesis of  $\beta$ -Amino Acids*, John Wiley & Sons, New York, (1997).
- [42] E. Juaristi, H. Lopez-Ruiz, *Curr. Med. Chem.* 6 (1999) 983.
- [43] N. Sewald, *Amino Acids* 11 (1996) 397.
- [44] G. Cardillo, C. Tomasini, *Chem. Soc. Rev.* (1996) 117.
- [45] N. Bicak, *J. Mol. Liq.* 116 (2005) 15.
- [46] Y.O. Sharma, M.S. Degani, *J. Mol. Catal. A Chem.* 277 (2007) 215.
- [47] B.C. Ranu, S.S. Dey, *Tetrahedron* 60 (2004) 4183.
- [48] B. List, P. Pojarliev, W. T. Biller, H. J. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 827.
- [49] B. List, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 9336.
- [50] R.O. Duthaler, *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003) 975.

- [51] D. Fang, K. Gong, D. Zhang, Z. Liu, *Monatsh. Chem.* 140 (2009) 1325.
- [52] G. Zhao, T. Jiang, H. Gao, B. Han, J. Huang, D. Sun, *Green Chem.* 6 (2004) 75.
- [53] S. Sahoo, T. Joseph, S.B. Halligudi, *J. Mol. Catal. A Chem.* 244 (2006) 179.
- [54] K. Gong, D. Fang, H.L. Wang, Z.L. Liu, *Monatsh. Chem.* 138 (2007) 1195.
- [55] D. Yin, C. Li, L. Tao, N. Yu, S. Hu, D. Yin, *J. Mol. Catal. A Chem.* 245 (2006) 260.
- [56] C. Li, W. Liu, Z.K. Zahao, *Catal. Commun.* 8 (2007) 1834.
- [57] Y. Xiao, S.V. Malhotra, *J. Mol. Catal. A Chem.* 230 (2005) 129.
- [58] Y. Xiao, S.V. Malhotra, *J. Organomet. Chem.* 690 (2005) 3609.
- [59] J. A. Berson, Z. Hamlet, W. Mueller, *J. Am. Chem. Soc.* 1962, 84, 297.
- [60] C. Cattivola, J. I. García, J. A. Mayoral, A. J. Royo, L. Salvatella, X. Assfeld, M. F. Ruiz-López, *J. Phys. Org. Chem.* 5 (1992) 230.
- [61] C. Cattivola, J.I. García, J.A. Mayoral, A. Avenoza, J.M. Peregrina, M.A. Roy, *J. Phys. Org. Chem.* 4 (1991) 48.
- [62] C. Cattivola, J.I. García, J. Gil, R. Martinez, J.A. Mayoral, L. Salvatella, J.S. Urieta, A.M. Mainar, M.A. Abraham, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1997) 653.
- [63] W. Blokzijl, M. Blandammer, J. Engberts, *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 4241.
- [64] R. Breslow, *Accts. Chem. Res.* 24 (1991) 159.
- [65] D. A. Jaeger, C. E. Tucker, *Tetrahedron Lett.* 30 (1989) 1785.
- [66] C.W. Lee, *Tetrahedron Lett.* 40 (1999) 40 2461.
- [67] A. Kumar, S. S. Pawar, *J. Org. Chem.* 69 (2004) 69 1419.
- [68] A.P. Abbott, G. Capper, D.L. Davies, R.K. Rasheed, V. Tambyrajah, *Green Chem.* 4 (2002) 24.
- [69] Y. Xiao, S.V. Malhotra, *Tetrahedron Lett.* 45 (2004) 8339.
- [70] T. Fischer, A.R. Sethi, T. Welton, J. Woolf, *Tetrahedron Lett.* 40 (1999) 793.
- [71] M.J. Earle, P.B. McCormac, K.R. Seddon, *Green Chem.* 1 (1999) 23.
- [72] A. Aggarwal, N.L. Lancaster, A.R. Sethi, T. Welton, *Green Chem.* 4 (2002) 517.
- [73] P. Wasserscheid, W. Keim, *Angew. Chem. Int. Ed.* 39 (2000) 3772.
- [74] R.F. Heck, *J. Am. Chem. Soc.* 90 (1968) 5518.
- [75] J.G. De Vries, *J. Can. Chem.* 79 (2001) 1086.
- [76] C. Yang, H.M. Lee, S.P. Nolan, *Org. Lett.* 3 (2001) 1511.
- [77] C.S. Consorti, F.R. Flores, J. Dupont, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 12054.
- [78] D.E. Bergbreiter, P.L. Osburn, A. Wilson, E. Sink, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 9058.



- [79] V. Calo, A. Nacci, L. Lopez, N. Mannarini, *Tetrahedron Lett.* 41 (2000) 8973.
- [80] R. Wang, B. Twamley, J.M. Shreeve, *J. Org. Chem.* 71 (2006) 426.
- [81] F.Y. Kwong, A. Klapars, S.I. Buchwald, *Org. Lett.* 4 (2002) 581.
- [82] A.L. Gottumukkala, J.F. Teichert, D. Heijnen, N. Eisink, S.V. Dijk, C. Ferrer, A.V.D. Hoogenband, A.J. Minnaard, *J. Org. Chem.* 76 (2011) 3498
- [83] X. Cui, Y. Zhou, N. Wang, L. Liu, Q.X. Guo, *Tetrahedron Lett.* 48 (2007) 163.
- [84] D.E. Karymann, M. Nouruzian, H. Henze, *Synlett* (1996) 1091.
- [85] A.J. Carmichael, M.J. Earle, J.D. Holbrey, P.B. Mc Lormac, K.R. Seddon, *Org. Lett.* 1 (1999) 997.
- [86] L. Xu, W. Chen, J. Xiao, *Organometallics* 19 (2000) 1123.
- [87] S. Li, Y. Lin, H. Xie, S. Zhang, J. Xu, *Org. Lett.* 8 (2006) 391.
- [88] N. Miyaura, A. Suzuki, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1979) 866.
- [89] A. Suzuki, *Pure Appl. Chem.* 63 (1991) 419.
- [90] N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* 95 (1995) 2457.
- [91] A. Suzuki, *J. Organomet. Chem.* 576 (1999) 147.
- [92] B. Cottineau, A. Kessler, D. F. O'Shea, *Org. Synth.* 83 (2006) 45.
- [93] C.J. Mathews, P.J. Smith, T. Welton, *Chem. Commun.* (2000) 1249.
- [94] R.R. Deshmukh, R. Rajagopal, K.V. Srinivasan, *Chem. Commun.* (2001) 1544.
- [95] R. Rajagopal, D.V. Jarikote, K.V. Srinivasan, *Chem. Commun.* (2002) 616.
- [96] D. Zhao, Z. Fei, T.J. Geldbach, R. Scopelliti, P.J. Dyson, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 15876.
- [97] D. Milstein, J.K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 3636.
- [98] Z. Fei, D. Zhao, D. Pieraccini, W.H. Ang, T.J. Geldbach, R. Scopelliti, C. Chiappe, P.J. Dyson, *Organometallics* 26 (2007) 1588.
- [99] S.T. Handy, X. Zhang, *Org. Lett.* 3 (2001) 233.
- [100] E. Negishi, L.F. Valente, M. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 3298.
- [101] M. Kobayashi, E. Negishi, *J. Org. Chem.* 45 (1980) 5223.
- [102] E. Negishi, *Acc. Chem. Res.* 15 (1982) 340.
- [103] J. Sirieix, M. Oberger, B. Betzemeier, P. Knochel, *Synlett* (2000) 1613.
- [104] K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* 16 (1975) 4467.
- [105] I. Paterson, R.D.M. Davies, R. Marquez, *Angew. Chem., Int. Ed.* 40 (2001) 603.

- [106] M. Toyota, C. Komori, M. Ihara, *J. Org. Chem.* 65 (2000) 7110.
- [107] L. Brunsveld, E.W. Meijer, R.B. Prince, J.S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 7978.
- [108] S.H. Chanteau, J.M. Tour, *Tetrahedron Lett.* 42 (2001) 3057.
- [109] T. Fukuyama, M. Shinmen, S. Nishitani, M. Sato, I. Ryu, *Org. Lett.* 4 (2002) 1691.
- [110] P. Karthikeyan, P.N. Muskawar, S.A. Aswar, P.R. Bhagat, S.K. Sythana, *Appl. Organometal. Chem.* 26 (2012) 562
- [111] P.G. de Lima, O.A.C. Antunes, *Tetrahedron Letters* 49 (2008) 2506–2509
- [112] T. Fukuyama, M.T. Rahman, S. Maetani, I. Ryu, *Chem. Lett.* 40 (2011) 10271029.
- [113] S. Rafique, M. Idrees, A. Nasim, H. Akbar, A. Athar, *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* 5 (2010) 38.
- [114] P.J. Sadler, Z. Guo, *Pure Appl. Chem.* 70 (1998) 863.
- [115] A. Garoufis, S.K. Hadjikakou, N. Hadjiliadis, *Coordin. Chem. Rev.* 253 (2009) 1384.
- [116] M. Rosenberg, L. VanCamp, T. Krigas, *Nature* 205 (1965) 698.
- [117] J.L. Butour, S. Wimmer, F. Wimmer, P. Castan, *Chem. Biol. Inter.* 104 (1997) 165.
- [118] A.D. Russell, *Lancet Infect. Dis.* 3 (2003) 794.
- [119] A.M. Asiri, S.A. Khan, *Molecules* 15 (2010) 4784.
- [120] R. Tada, N. Chavda, M.K. Shah, *J. Chem. Pharm. Res.* 3 (2011) 290.
- [121] M.A. Ali, A.H. Mirza, R.J. Butcher, M.T.H. Tarafder, T.B. Keat, A.M. Ali, *J. Inorg. Biochem.* 92 (2002) 141.
- [122] W. Guerra, E. de Andrade Azevedo, A.R. de Souza Monteiro, M. Bucciarelli-Rodriguez, E. Chartone-Souza, A.M. Amaral Nascimento, A.P. Soares Fontes, L. Le Moyec, E.C. Pereira-Maia, *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 2348.
- [123] L. Zhu, N.M. Kostić, *Inorg. Chem.* 31 (1992) 3994.
- [124] L. Zhu, N.M. Kostić, *J. Amer. Chem. Soc.* 115 (1993) 4566.
- [125] L. Zhu, N.M. Kostić, *Inorg. Chim. Acta* 217 (1994) 21.
- [126] E.N. Korneeva, M.V. Ovchinnikov, N.M. Kostić, *Inorg. Chim. Akta* 243(1996) 9.
- [127] T.N. Parac, N.M. Kostić, *J. Amer. Chem. Soc.* 118 (1996) 51.
- [128] S. L. Best, T. K. Chattopadhyay, M. I. Djuran, R. A. Palmer, P. J. Sadler, I. Sovazo, K. Varnagy, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1997) 2587.
- [129] S.H. Mudd, A.H. Datko, *Plant Physiol.* 91 (1989) 587.
- [130] F. Gibellini, T.K. Smith, *IUBMB Life* 62 (2010) 414.
- [131] C. Kent, *Annu. Rev. Biochem.* 64 (1995) 315.

- [132] D. Rontein, I. Nishida, G. Tashiro, K. Yoshioka, W.I. Wu, D.R. Voelker, G. Basset, A.D. Hanson, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 35523.
- [133] D. Rontein, D. Rhodes, A.D Hanson, *Plant Cell Physiol.* 44 (2003) 1185.
- [134] K.H. Beyer, W.F. Bergfeld, W.O. Berndt, R.K. Boutwell, W.W. Carlton, D.K. Hoffmann, A.L. Schroeter, *J. Am. Coll. Toxicol.* 2 (1983) 183.
- [135] Q. Zhong, R. Michael, Z. Zhang, *Surf. Coat. Tech.* 185 (2004) 234.
- [136] D. Simijonović, Z.D. Petrović, V.P. Petrović, *J. Mol. Liq.* 179 (2013) 98.
- [137] J. Dupont, P.A.Z. Suarez, R.F. de Souza, R.A. Burrow, J.P. Kintzinger, *Chem. Eur. J.* 6 (2000) 2377.
- [138] V.P. Petrović, D. Simijonović, Z.D. Petrović, S. Marković, S.B. Novaković, G.A. Bogdanović, Необјављени резултати.
- [139] Y.S. Wu, J. Cai, Z.Y. Hu, G.X. Lin, *Tetrahedron Lett.* 45 (2004) 8949.
- [140] C. Mukhopadhyay, A. Datta, R.J. Butcher, *Tetrahedron Lett.* 50 (2009) 4246.
- [141] Z.D. Petrović, D. Simijonović, V.P. Petrović, S. Marković, *J Mol Catal A: Chem.* 327 (2010) 45.
- [142] Z.D. Petrović, M.I. Djuran, F.W. Heinemann, S. Rajković, S.R. Trifunović, *Bioorg. Chem.* 34 (2006) 225.
- [143] S. Marković, Z.D. Petrović, V. Petrović, *Monatsh. Chem.* 140 (2009) 171.
- [144] Z.D. Petrović, D. Hadjipavlou-Litina, E. Pontiki, D. Simijonović, V.P. Petrović, *Biorg. Chem.* 37 (2009) 162.
- [145] The computational Chemistry Comparasion and Benchmark Database of Standards and technology. <http://srdata.nist.gov/cccbdb/vibscale.asp>
- [146] C. Ye, J.C. Xiao, B. Twamley, A.D. LaLonde, M.G. Norton, J.M. Shreeve, *Eur. J. Org. Chem.* (2007) 5095.
- [147] A.J. Arduengo III, R. Krafczyk, R. Schmutzler, H.A. Craig, J.R. Goerlich, W.J. Marshall, M. Unverzagt, *Tetrahedron* 55 (1999) 14523.
- [148] Z.D. Petrović, S. Marković, V.P. Petrović, D. Simijonović, *J. Mol. Model.* 18 (2012) 433.
- [149] P. Surawatanawong, Y. Fan, M.B. Hall, *J. Organomet. Chem.* 693 (2008) 1552.
- [150] M. Ahlquist, P.O. Norrby, *Organometallics* 26 (2007) 550.
- [151] Z. Li, Y. Fu, Q.X. Guo, L. Liu, *Organometallics* 27 (2008) 4043.
- [152] Y.L. Huang, C.M. Weng, F.E. Hong, *Chem. Eur. J.* 14 (2008) 4426.

- [153] Z.D. Petrović, V.P. Petrović, D. Simijonović, S. Marković, *J. Organomet. Chem.* 694 (2009) 3852.
- [154] S. Bouquillon, A. du Moulinet d'Hardemare, M.-Th. Averbuch-Pouchot, F. Hénin, J. Muzart, A. Durif, *Acta Cryst. C* 55 (1999) 2028.
- [155] Z.D. Petrović, S. Marković, D. Simijonović, V.P. Petrović, *Monatsh. Chem.* 140 (2009) 371.
- [156] Z.D. Petrović, Lj. Čomić, O. Stefanović, D. Simijonović, V.P. Petrović, *J. Mol. Liq.* 170 (2012) 61.
- [157] D.A. Garsin, *Nat. Rev. Microbiol.* 8 (2010) 290.
- [158] V.P. Petrović, D. Simijonović, Z.D. Petrović, *J. Mol. Struct.* 1060 (2014) 38.
- [159] X. Luo, W. Huang, Y. Mei, S. Zhou, L. Zhu, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 1474.
- [160] T.G. Appleton, *Coord. Chem. Rev.* 166 (1997) 313.
- [161] T.G. Appleton, J.R. Hall, S.F. Ralph, *Aus. J. Chem.* 39 (1986) 1347.
- [162] M.D. Živković, S. Rajković, U. Rychlewska, B. Warzajtis, M.I. Djuran, *Polyhedron* 26 (2007) 1541.
- [163] J.M. Janey, Y. Hsiao, J.D. Armstrong, *J. Org. Chem.* 71 (2006) 390.
- [164] K. Santosh, K. Arjun, R. Gajanan, B. Madhuri, S. Rajashri, *Ultrason. Sonochem.* 19 (2012) 812.
- [165] Oxford Diffraction (2008). CrysAlis CCD and CrysAlis RED. Versions 1.171.32.24. Oxford Diffraction Ltd., Abington, England.
- [166] G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* 64 (2008) 112.
- [167] L.J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* 30 (1997) 565.
- [168] C.F. Macrae, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G.P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. van de Streek, *J. Appl. Crystallogr.* 39 (2006) 453.
- [169] L.J. Farrugia, G.X. Win, *J. Appl. Cryst.* 32 (1999) 837.
- [170] A.L. Spek, *J. Appl. Crystallogr.* 36 (2003) 7.
- [171] M. Nardelli, *J. Appl. Crystallogr.* 28 (1995) 659.
- [172] J.M. Andrews, *J. Antimicrob. Chemother.* 48 (2001) 5.
- [173] S.D. Sarker, L. Nahar, Y. Kumarasamy, *Methods* 42 (2007) 321.
- [174] I. E. Burgenson, N. M. Kostić, *Inorg. Chem.* 30 (1991) 4299.
- [175] L. Zhu, N. M. Kostić, *Inorg. Chem.* 31 (1992) 3994.
- [176] M.J. Frisch, W.G. Trucks, B.H. Schlegel, E.G. Scuseria, A.M. Robb, R.J. Cheeseman, G.V. Zakrzewski, A.J. Montgomery Jr., E.R. Stratmann, C.J. Burant, S. Dapprich, M.J.

- Millam, D.A. Daniels, N.K. Kudin, C.M. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, A.G. Petersson, Y.P. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D.A. Malick, D.K. Rabuck, K. Raghavachari, B.J. Foresman, J. Cioslowski, V.J. Ortiz, G.A. Baboul, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, L.R. Martin, J.D. Fox, T. Keith, A.M. Al-Laham, Y.C. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, W.M. Wong, L.J. Andres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, S.E. Replogle, A.J. Pople, Gaussian 03, Revision E.01-SMP, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA, (2003).
- [177] M. J. Frisch, W. G. Trucks, B.H. Schlegel, E.G. Scuseria, A.M. Robb, R.J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, A.G. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, P.H. Hratchian, F.A. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, L.J. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, A.J. Montgomery Jr., A.J. Montgomery Jr., E.J. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, N.K. Kudin, N.V. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, C.J. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, M.J. Millam, M. Klene, E.J. Knox, B.J. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, E.R. Stratmann, O. Yazyev, J.A. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, W.J. Ochterski, L.R. Martin, K. Morokuma, G.V. Zakrzewski, A.G. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, D.A. Daniels, O. Farkas, B.J. Foresman, V.J. Ortiz, J. Cioslowski, J.D. Fox, Gaussian 09, Rev A. 1 Gaussian Inc., Wallingford, (2009).
- [178] D.A. Becke, *Phys. Rev. A* (1988) 3098.
- [179] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Phys. Rev. B* (1988) 785.
- [180] D.A. Becke, *J. Chem. Phys.*, 98 (1993) 5648.
- [181] Y. Zhao, E. N. Schultz, G.D. Truhlar, *J. Chem. Theory Comput.* 2 (2006) 364.
- [182] Y. Zhao, N.E. Schultz, D.G. Truhlar, *J. Chem. Theory Comput.* 2 (2006) 364.
- [183] D. Rappoport, F. Furche, *J. Chem. Phys.* 133 (2010) 134105.
- [184] V. Barone, M. Cossi, *J. Phys. Chem. A*, 102 (1998) 1995.
- [185] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, V. Barone, *J. Comput. Chem.*, 24 (2003) 669.
- [186] J. P. Foster, F. Weinhold, *J. Am. Chem. Soc.*, 102 (1980) 7211.

## **6. ПРИЛОГ**

## 6.1. Биографија

Душица Симијонових је рођена 18.03.1982. године у Јагодини. Основну школу завршила је 1997. године у Колару, а гимназију „Светозар Марковић“ у Јагодини 2001. године. На Природно-математички факултет, студијска група хемија, Универзитета у Крагујевцу уписала се школске 2001/02. године, а дипломирала 2007. године са просечном оценом у току студија 9,14. Докторске академске студије (смер Органска хемија) на Природно-математичком факултету у Крагујевцу уписала је школске 2007/08. године.

Од 2008. године била је ангажована на пројекту Министарства науке и заштите животне средине Републике Србије под називом „Биоактивни комплекси р- и d-јона метала са лигандима фармакотерапијског значаја” (142013Б), као стипендиста Министарства науке и заштите животне средине, а од новембра 2009. године на истом пројекту као истраживач-приправник. У периоду од 2011. године па до данас ради као истраживач-сарадник на пројекту Министарства просвете и науке Републике Србије „Синтеза, моделовање, физичко-хемијске и биолошке особине органских једињења и одговарајућих комплекса метала” (ОИ 172016).

Тренутно се бави истраживачким радом у области органске и биоорганске хемије у оквиру истраживачке групе професора Зорице Петровић. Научна истраживања на којима је ангажована су синтеза јонских течности – деривата етаноламина, и њихова примена као катализатора, лиганда и растварача у органским и металорганским реакцијама, као и испитивања реакција хидролизе пептидне везе помоћу комплекса паладијума(II) и платине(II) у пептидима који садрже аминокиселине хистидин и метионин.

Душица Симијонових до сада има четрнаест објављених научних радова у научним часописима међународног значаја, и више саопштења на научним скуповима националног и међународног карактера. Стручно веће за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу је јуна 2011. године донело одлуку о сагласности на тему докторске дисертације под насловом “Деривати етаноламина као јонске течности и прекурсори биолошки и каталитички активних Pd(II)–комплекса” коју је усвојило Наставно-научно веће Природно-математичког факултета у Крагујевцу (Одлука број 340/IX-1).

## 6.2. Списак публикованих научних радова

Душица Симијоновић до сада је објавила четрнаест научних радова:

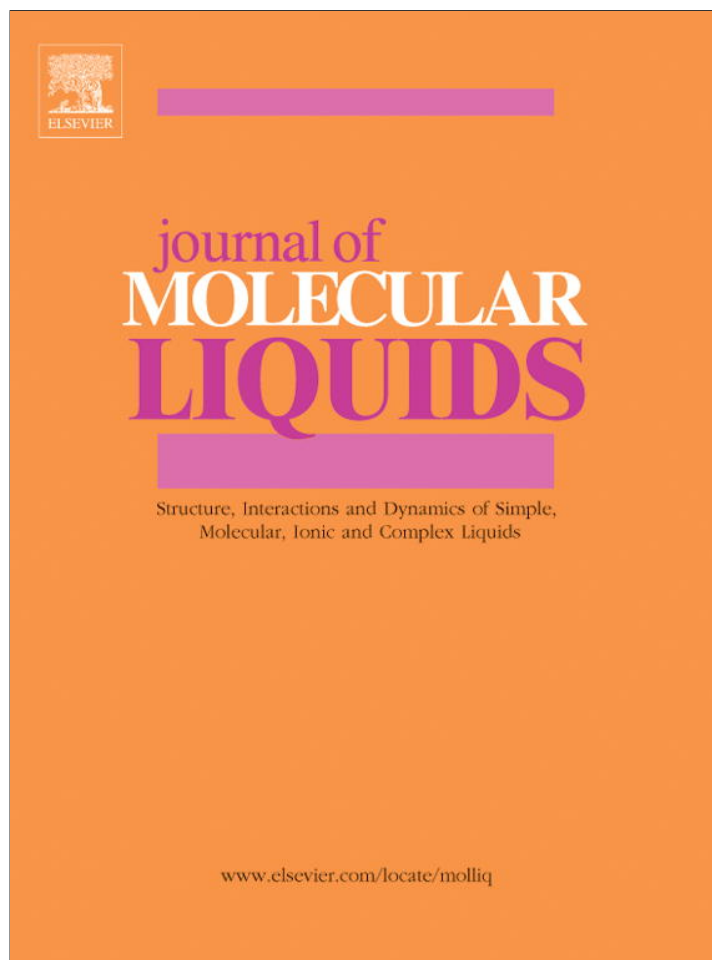
1. Petrović Z.D., Marković S., Simijonović D., Petrović V., Mechanistic insight into preactivation of a modern palladium catalyst precursor in phosphine-free Heck reactions, *Monatsh. Chem.*, (2009) 140: 371-374 (**M22**) IF 1.312 ISSN (printed): 0026-9247.ISSN (electronic): 1434-4475.
2. Petrovic Z.D., Hadjipavlou-Litina D., Pontiki E., Simijonovic D., Petrovic V.P., Diethanolamine Pd(II) complexes in bioorganic modeling as model systems of metallopeptidases and soybean lipoxygenase inhibitors, *Bioorg. Chem.*, (2009) 37: 162–166. (**M23**) IF 1.588 ISSN — 0045-2068.
3. Petrović Z.D., Simijonović D., Petrović V.P., Marković S., Diethanolamine and *N,N*-diethylethanolamine ionic liquids as precatalyst-precursors and reaction media in green Heck reaction protocol *J. Mol. Cat. A.* (2010) 327: 45-50 (**M22**) IF 2.872 ISSN:1381-1169.
4. Petrovic Z.D, Petrovic V.P., Simijonovic D., Markovic S., Mechanistic pathways for oxidative addition of aryl iodides to the low-ligated diethanolamine palladium(0) complex in phosphine-free Heck reactions, *J. Organomet. Chem*, (2009) 694: 3852-3858 (**M22**) IF 2.347 ISSN: 0022-328X.
5. Petrović Z.D., Marković S., Petrović V.P., Simijonović D., Triethanolammonium acetate as a multifunctional ionic liquid in the palladium-catalyzed green Heck reaction, *J. Mol. Modl.* (2012) 18:433–440, (**M21**) IF-2012 1.797 ISSN: 1610-2940.
6. Petrović Z.D., Petrović V.P., Simijonović D., Marković S., Insight into hydrolytic reaction of *N*-acetylated L-histidylglycine dipeptide with novel mechlorethamine platinum(II) complex. NMR and DFT study of the hydrolytic reaction, *Dalton Trans.* (2011) 40: 9284–9288, (**M21**) IF 3.838 ISSN: 1477-9226.
7. Balaban A.T., Gutman I., Marković S., Simijonović D., Đurđević J.: Local Aromaticity in Benzoand Benzocyclobutadieno-Annulated Phenanthrenes, *Polycycl. Aromat. Comp.*, (2011) 31:339–349, (**M23**) ISSN: 1040-6638.



8. Petrović Z.D., Petrović V.P., Simijonović D., Marković S. Stereoselective homogeneous catalytic arylation of methyl methacrylate: Experimental and computational study, *J. Mol. Cat. A.* (2012) 356: 144–151, (**M21**) IF 2.947 ISSN:1381-1169.
9. Petrović Z.D., Čomić Lj., Stevanović O., Simijonović D., Petrović V.P., Antimicrobial activity of the ionic liquids triethanolamine acetate and diethanolamine chloride, and their corresponding Pd(II) complexes, *J. Mol. Liq.* (2012) 170: 61–65, (**M23**) IF 1.580 ISSN: 0167-7322.
10. Perić T., Jakovljević V.Lj., Zivković V., Krkeljić J., Petrović Z.D., Simijonović D., Novokmet S., Djurić D.M., Janković S.M., Toxic Effects of Palladium Compounds on the Isolated Rat Heart, *Medicinal. Chem.*, (2012) 8: 9-13, (**M23**) IF 1.496 ISSN: 1573-4064.
11. Radojević I., Petrović Z.D., Čomić Lj., Simijonović D., Petrović V.P., Biological evaluation of mechlorethamine-Pt(II) complex, part II: Antimicrobial screening and LOX study of the complex and its ligand, *Medicinal. Chem.*, (2012), 8(5): 947-952 (**M23**) IF 1.496 ISSN: 1573-4064.
12. Balaban A.T., Gutman I., Marković S., Simijonović D., Local aromaticity in benzo- and benzocyclobutadieno-annelated anthracenes, *Monatsh. Chem.*, (2011) 142: 797-800 (**M22**) IF 1.532 ISSN: 0026-9247.
13. Simijonović D., Petrović Z.D., Petrović V.P., Some physico-chemical properties of ethanolamine ionic liquids: Behavior indifferent solvents, *J. Mol. Liq.* (2013) 179: 98–103, (**M23**) IF 1.580 ISSN: 0167-7322.
14. Petrović V.P., Simijonović D., Petrović Z.D., Use of diethanolammonium–tetrachloridopalladate(II) complex in bioorganic modelling as artificial metallopeptidase in the reaction with *N*-acetylated *L*-methionylglycine dipeptide. NMR and DFT study of the hydrolytic reaction, *J. Mol. Struct.* (2014) 1060: 38–41 (**M23**) IF 1.404 ISSN: 0022-2860.

**6.3. *Публиковани научни радови у којима су презентовани резултати докторске дисертације***

Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



(This is a sample cover image for this issue. The actual cover is not yet available at this time.)

**This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.**

**Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.**

**In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:**

**<http://www.elsevier.com/copyright>**



## Some physico-chemical properties of ethanolamine ionic liquids: Behavior in different solvents

Dušica Simijonović\*, Zorica D. Petrović, Vladimir P. Petrović

Faculty of Science, University of Kragujevac, P.O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 11 July 2012

Received in revised form 31 October 2012

Accepted 15 December 2012

Available online 31 December 2012

#### Keywords:

Ionic liquids

Ethanolamines

Anion–cation interaction

Density functional theory

### ABSTRACT

The series of ethanolamine derived ionic liquids (ILs) **1–9**, was synthesized, characterized by IR and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy and investigated by DFT study, to explore their properties in solvents with different dielectric constants. The investigation of the anion–cation and ion–solvent interactions of ILs in solvents with different polarity was performed. The obtained results showed that solvation has significant influence on anion–cation interaction. The binding energies of the anion–cation interaction obtained in different solvents showed that in polar solvents ILs exist as separated solvated ions, while in solvents with lower polarity as the contacted ion pair. Density functional studies showed that solvation energies decrease with the increase of solvent polarity.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Ethanolamines (monoethanolamine – MEA, diethanolamine – DEA, and triethanolamine – TEA) and their derivatives are bifunctional natural and synthetic organic compounds. As structural parts of cephalin and lecithin, phospholipids of eukaryotic membranes, they are ubiquitous in the biosphere [1–5]. Owing to amine and alcoholic groups these compounds show relevant biological and pharmacological activities, making them useful in a broad variety of industrial applications, such as pharmaceutical, agricultural, chemical, and petrochemical [6–12].

Taking into account considerable participation of ethanolamines in different industrial products, which are finally found and stored in the environment, some authors tested their antimicrobial activity [13,14]. Studies of few different ethanolamines showed their antimicrobial effect to be enhanced at high pH (12, 13). The antimicrobial activity of some ionic liquids derived from ethanolamines has been also studied [15,16].

Ionic liquids (ILs) are a class of novel compounds composed exclusively of organic cations and inorganic or organic anions [17–20]. Room temperature ionic liquid (RTIL), molten salt, liquid organic salt, and fused salt – all these terms have been used to describe this class of chemicals accepted from the chemical industry and academia [21]. Most of ILs are liquid up to 200 °C. In recent years, the number of possible cation and anion combinations has increased significantly. Their

careful choice provides designing and developing ILs with desirable properties [22–26].

Ionic liquids are non-flammable and less toxic than conventional solvents due to their low vapor pressure. Moreover, the low volatility of ILs results in an increase in process safety. They have the potential to increase chemical reactivity and thus lead to more efficient processes [27–29]. ILs attract much interest in the context of green chemistry as environment-friendly media as highly biodegradable and exceptionally harmless materials [30]. Due to these facts, ILs related research has become one of the most exciting topics nowadays.

In recent years, the methods for investigation of IL properties have been developed to a great extent. The anion–cation and ion–solvent interactions of ILs have been examined by experimental methods (such as X-ray [31], neutron diffraction [32], NMR [33], infrared or Raman spectroscopy [34,35], dielectric spectroscopy [36], and theoretical methods such as molecular dynamics simulations [37,38] and quantum chemical calculations) [39–42]. Computational methods are particularly useful in the investigations of ILs, due to their ability to provide electronic structure, anion–cation binding energy and orbital properties.

Considering the fact that ILs are often used in the presence of different molecular solvents, it is necessary to understand their microstructure and anion–cation interactions in solution. Recent detailed study of ILs has shown that the interactions between cations and anions depend on the type of solvent, particularly on its polarity [43,44]. Namely, ILs behave as contacted ion pair in the solvents of low polarity, and as solvated ion pairs in the solvents of high polarity.

Recently, we investigated the antimicrobial activity of some green ethanolamine ILs and their Pd(II) complexes [16]. In the present study, a series of nine ethanolamine ILs was synthesized, and characterized

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [ducicahem@kg.ac.rs](mailto:ducicahem@kg.ac.rs) (D. Simijonović), [zorica@kg.ac.rs](mailto:zorica@kg.ac.rs) (Z.D. Petrović), [vladachem@kg.ac.rs](mailto:vladachem@kg.ac.rs) (V.P. Petrović).

by IR and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. To explore their properties in solvents with different dielectric constants density functional theory (DFT) was employed. It is worth pointing out that this type of data for the investigated ILs cannot be found in literature.

## 2. Experimental

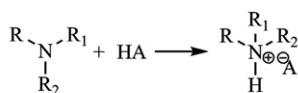
The compounds lactic, acetic, chloroacetic, and hydrochloric acids were obtained from Aldrich Chemical Co. All common chemicals were of reagent grade. DEA, TEA, and N,N diethylethanolamine (DEAE) were purchased from Fluka. The IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer using the thin film technique. The  $^1\text{H}$  NMR spectra were run in  $\text{CDCl}_3$  on a Varian Gemini 200 MHz spectrometer.

### 2.1. Preparation of ionic liquids

All investigated ILs (**1–9** in Scheme 1) were prepared by dropping the stoichiometric amount of corresponding carboxylic acid (acetic, lactic or chloroacetic acid) or hydrochloric acid to the dichloromethane-ethanol solution of corresponding amino alcohol (DEA, DEAE or TEA). The reaction mixture was stirred during 2 h at room temperature. After completion of the reaction, the resulting solution was washed with ethyl acetate ( $2 \times 5 \text{ cm}^3$ ) and ethyl ether ( $2 \times 5 \text{ cm}^3$ ). The organic solvents were evaporated under the reduced pressure. The residue was dried *in vacuo* at  $50^\circ\text{C}$  for 4 h to generate the corresponding product. The prepared ILs are colorless viscous liquids. Spectral characterizations of ILs are presented in Table 1.

### 2.2. Computational details

The geometrical parameters of all stationary points were optimized with Gaussian 09 [45]. The structures of all ILs, as well as of the corresponding separated ions, were optimized using the M06 functional [46] and 6-311+G(d,p) basis set. This triple split valence basis set adds p functions to hydrogen atoms in addition to the d and diffuse functions on heavy atoms. The calculations were performed for vacuum and condensed phase, using the CPCM model. This Conductor-like Polarized Continuum Model defines the cavity as the union of a series of joint atomic spheres, whereas solvent is represented as a continuum of a given dielectric constant. The gas phase geometry for each IL was used as the starting structure for optimizations in different solvents. The optimizations were performed without any constraints, except for the cases of **1**, **2**, **5**, **6**, and **8**. For these molecules, the N–H bond length was set to the fixed value. This restriction was applied to better simulate ionic nature of these compounds, and thus, agreement between the experimental and calculated spectra. Nine different solvents were used: water ( $\epsilon = 80.1$ ), dimethyl sulfoxide ( $\epsilon = 46.7$ ), acetonitrile ( $\epsilon = 37.5$ ), methanol ( $\epsilon = 32.7$ ), ethanol ( $\epsilon = 24.5$ ), tetrahydrofuran ( $\epsilon = 7.58$ ), chloroform ( $\epsilon = 4.81$ ), diethyl ether ( $\epsilon = 4.33$ ), and carbon tetrachloride ( $\epsilon = 2.44$ ). All calculated structures, in both phases, were



- 1: R=H, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>
- 2: R=H, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>CH(OH)COO<sup>-</sup>
- 3: R=H, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=ClCH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>
- 4: R=H, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=Cl<sup>-</sup>
- 5: R=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>
- 6: R=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>CH(OH)COO<sup>-</sup>
- 7: R=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=Cl<sup>-</sup>
- 8: R=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>
- 9: R=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, A=ClCH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>

Scheme 1. Synthesis of investigated ILs.

confirmed to be minima on the potential energy surface (all real vibrational frequencies) by frequency calculations. The experimental and simulated IR spectra of the investigated compounds were compared. As expected, the computed vibrational frequencies were overestimated. Due to the lack of the scaling factor for the applied theoretical model, the calculated frequencies were decreased by 5%, and agreement with the experimental values was achieved. The natural bond orbital analysis (Gaussian NBO version) was performed for all structures.

The solvation energies were calculated using the equation:

$$\Delta G_{\text{solv}} = G_{\text{solv}} - G_{\text{gas}} \quad (1)$$

Table 1

Spectral characterization of the ionic liquids.

IL	IR cm <sup>-1</sup>	Experimental Calculated	<sup>1</sup> H NMR
1	3415 (-NH, -OH st), 2525 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> st), 1637 (-COO <sup>-</sup> as), 1619 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> def), 1411 (COO <sup>-</sup> s), 1070 (-C-O- st) 651 (-NH def) 3234, 2290, 1612, 1556, 1360, 1063, 712		$\delta_{\text{H}}$ 1.96 (3H, CH <sub>3</sub> -CO, s), 3.10 (4H, -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> , t), 3.87 (4H, -CH <sub>2</sub> -OH, t)
2	3290 (-NH, -OH st), 2450 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> st), 1582 (-COO <sup>-</sup> as), 1582 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> def), 1450 (-NH def), 1411 (COO <sup>-</sup> s), 1040 (-C-N- st), 853 (-C-O- st) 3274, 2222, 1605, 1556, 1457, 1414, 1051, 1069		$\delta_{\text{H}}$ 1.25 (3H, CH <sub>3</sub> -, s), 2.92 (4H, -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> , t), 3.67 (1H, -CH, q), 3.79 (4H, -CH <sub>2</sub> -OH, t)
3	3242 (-NH, -OH st), 2545 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> st), 1594 (-COO <sup>-</sup> as), 1594 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> def), 1448 (-NH def), 1385 (COO <sup>-</sup> s), 1248 (-C-N- st), 1066 (-C-O- st) 3241, 2461, 1639, 1566, 1384, 1344, 1139, 1064		$\delta_{\text{H}}$ 3.22 (4H, -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> , t), 3.87 (4H, -CH <sub>2</sub> -OH, t), 4.12 (2H, Cl-CH <sub>2</sub> -, s)
4	3344 (-NH, -OH st), 2250 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> st), 1622 (-NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> def), 1448 (-NH def), 1063 (-C-N- st), 939 (-C-O- st) 3344, 2116, 1622, 1448, 1063, 939		$\delta_{\text{H}}$ 3.27 (4H, -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> , t), 3.89 (4H, -CH <sub>2</sub> -OH, t)
5	3243 (-OH st), 2126 (-NH <sup>+</sup> st), 1570 (-COO <sup>-</sup> as), 1395 (COO <sup>-</sup> s), 1264 (-C-N- st), 1050(-C-O- st) 3727, 1957, 1611, 1357, 1113, 1051		$\delta_{\text{H}}$ 1.28 (6H, CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -, t), 1.99 (3H, CH <sub>3</sub> -CO, s), 3.03 (4H, -CH <sub>2</sub> -NH, q), 3.11 (2H, -NH-CH <sub>2</sub> , t), 3.87 (2H, -CH <sub>2</sub> -OH, t)
6	3307 (-OH st), 2490 (-NH <sup>+</sup> st), 1594 (-COO <sup>-</sup> as), 1398 (COO <sup>-</sup> s), 1084 (-C-N- st), 924(-C-O- st) 3728, 2385, 1633, 1365, 1038, 952		$\delta_{\text{H}}$ 1.23 (3H, CH <sub>3</sub> -, s), 1.34 (6H, CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -, t), 3.09 (4H, -CH <sub>2</sub> -NH, q), 3.16 (2H, -NH-CH <sub>2</sub> , t), 3.65 (1H, -CH, q), 3.88 (2H, -CH <sub>2</sub> -OH, t)

**Table 1** (continued)

IL	IR cm <sup>-1</sup>	Experimental Calculated	<sup>1</sup> H NMR
7	3361 (-OH st), 1950 (-NH <sup>+</sup> st), 1076 (-C-N- st), 928 (-C-O- st), 3728, 1648, 1412, 1052		$\delta_{\text{H}}$ 1.45 (6H, CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -, t), 3.22 (4H, -CH <sub>2</sub> -NH, q), 3.31 (2H, -NH-CH <sub>2</sub> , t), 3.77 (2H, -CH <sub>2</sub> -OH, t)
8	3213 (-OH st), 2350 (-NH <sup>+</sup> st), 1567 (-COO <sup>-</sup> as), 1336 (COO <sup>-</sup> s), 1063 (-C-N- st), 916 (-C-O- st), 3385, 2056, 1603, 1330, 1036, 899		$\delta_{\text{H}}$ 2.03 (3H, CH <sub>3</sub> -CO, s), 2.90 (6H, -CH <sub>2</sub> -NH, t), 3.76 (6H, -CH <sub>2</sub> -OH, t)
9	3272 (-OH st), 2535 (-NH <sup>+</sup> st), 1602 (-COO <sup>-</sup> as), 1384 (COO <sup>-</sup> s), 1240(-C-N- st), 1050(-C-N- st), 3383, 2553, 1641, 1330, 1101, 1058		$\delta_{\text{H}}$ 3.05 (6H, -CH <sub>2</sub> -NH, t), 3.81 (6H, -CH <sub>2</sub> -OH, t), 4.15 (2H, Cl-CH <sub>2</sub> -, s)

The anion-cation interaction binding energies were determined by the formula:

$$\Delta E_{BE} = E_{IL} - E_{cation} - E_{anion} \quad (2)$$

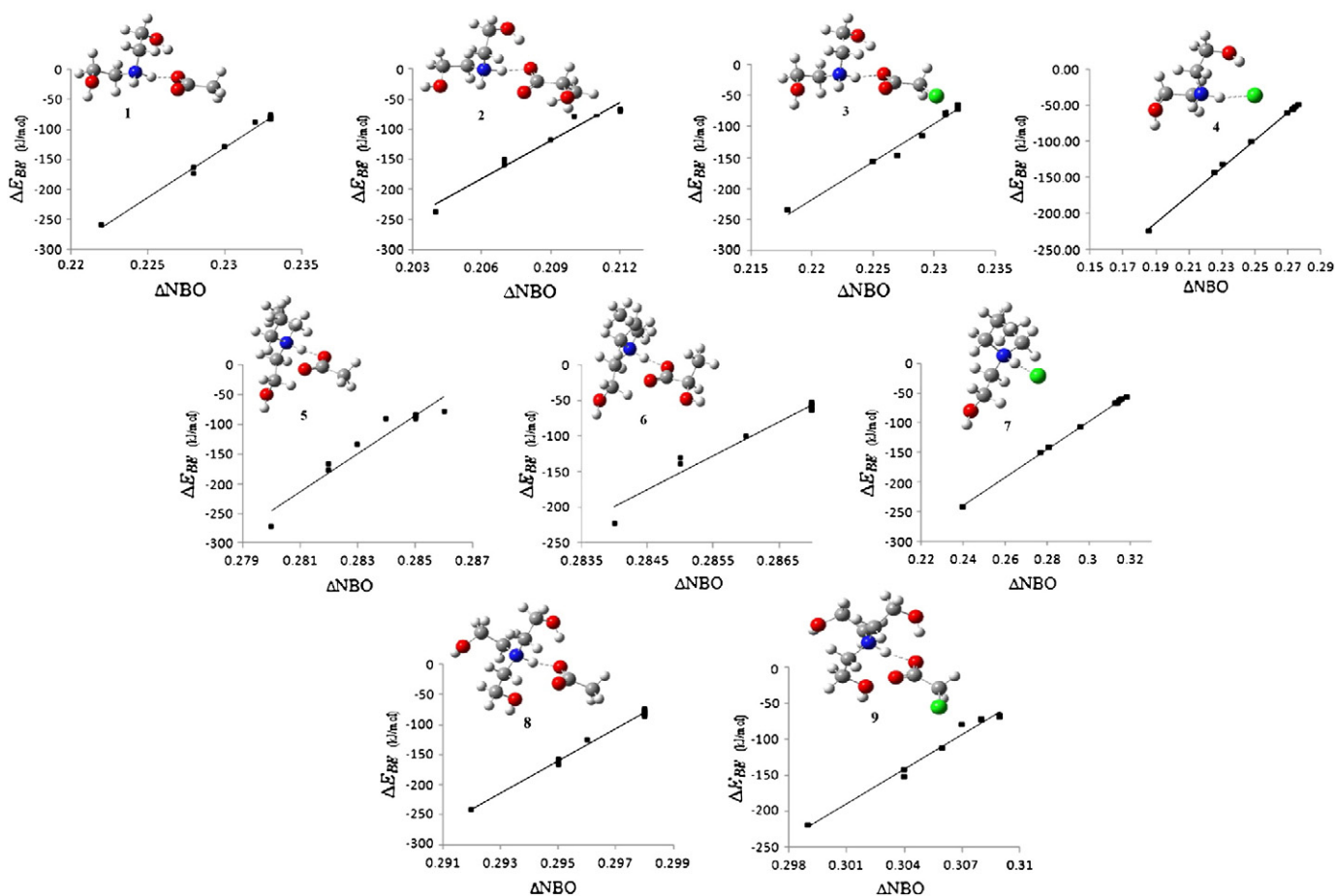
where  $E_{IL}$ ,  $E_{cation}$ , and  $E_{anion}$  represent the calculated enthalpies of the ionic liquid, cation, and anion, respectively, in different solvents.

### 3. Results and discussion

The series of nine ionic liquids: diethanolammonium acetate (**1**), diethanolammonium lactate (**2**), diethanolammonium chloroacetate (**3**), diethanolammonium chloride (**4**), *N,N* diethylethanolammonium acetate (**5**), *N,N* diethylethanolammonium lactate (**6**), *N,N* diethylethanolammonium chloride (**7**), triethanolammonium acetate (**8**), and triethanolammonium chloroacetate (**9**) was synthesized, starting from the corresponding ethanolamine derivative and acid (Scheme 1). Obtained ILs were investigated by IR and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, as well as by density functional theory. We explored the cation-anion interaction enthalpy and the influence of solvents with different dielectric constants on solvation energies.

On the basis of IR spectra it can be observed that stretching vibrations from NH<sub>2</sub><sup>+</sup> (for ILs **1–4** 2500–2250 cm<sup>-1</sup>) to NH<sup>+</sup> (for ILs **5–9** 2535–1950 cm<sup>-1</sup>) lie in the area characteristic for these groups (Table 1). Deformation vibrations from NH<sub>2</sub><sup>+</sup> are in anticipated area (1622–1582 cm<sup>-1</sup>) for this vibration, also. Existence of carboxylate anions in ILs **1–3**, **5**, **6**, **8**, and **9** is confirmed by the presence of the asymmetric stretching vibrations for this type of functional group (1637–1570 cm<sup>-1</sup>), as well as of symmetric vibrations (1411–1336 cm<sup>-1</sup>).

Since all examined ILs contain ethanolamine cation, these compounds are structurally very similar. Bearing in this fact mind, there are two possible binding sites for anions in all cations: hydrogen from N-H or O-H group (Fig. 1). On the basis of the <sup>1</sup>H NMR and



**Fig. 1.** The optimized structures of ILs and dependence of  $\Delta E_{BE}$  from the difference in NBO charges. The squared correlation coefficient in all cases was higher than 0.95.



IR spectra (Table 1), we concluded that the preferred binding pattern in the corresponding ammonium ion is *via* the N–H interaction.

The IR and  $^1\text{H}$  NMR spectra showed that investigated ILs are built of separated cations and anions. This was confirmed by performing density functional theory calculation, followed by comparison of the IR spectra obtained from the frequency calculation to those obtained by experiment. It was observed that, when acetate was employed as an anion (ILs 1, 2, 5, 6 and 8), the optimized structures of these ILs did not correspond to ionic, but neutral molecules consisting of corresponding amine and acetic acid. Namely, when the optimization was performed without any restrictions, the hydrogen atom originally placed between nitrogen of cation and oxygen of acetate anion was attracted by the acetate anion, resulting in neutral molecules. Since in the experimentally obtained IR and  $^1\text{H}$  NMR spectra the signals for the acetic anion and ammonium cation were present, we had to utilize a restriction based on the N–H bond fixation. In this way the ionic structures were achieved, and thus, good agreement between the experimental and calculated IR spectra (Table 1).

### 3.1. Behavior of ILs in different solvents

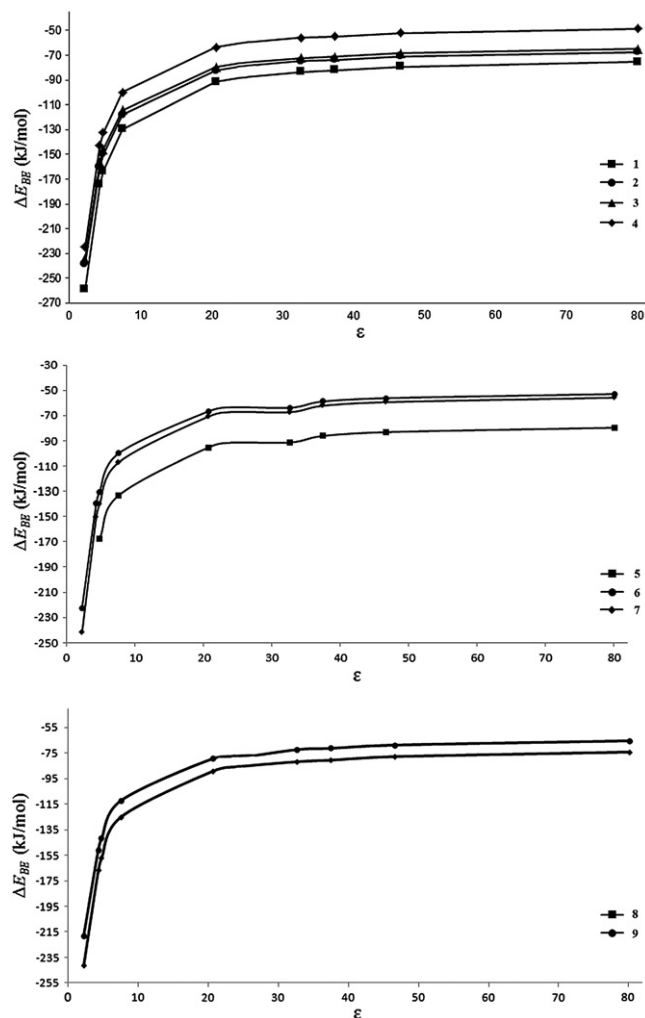
Our DFT calculations showed that distances between ions change with solvent polarity. It can be concluded that this is a consequence of the formation of hydrogen bonds with the molecules of solvents. Namely, as the dielectric constants of solvents increase, the distance between the ions of an investigated ILs also increases (H1–O1 or H1–Cl distances in Tables S1–S9). As a consequence, the N–H1 bond in the cations becomes stronger as solvent polarity increases (except for cases where the bond length is set to the fixed value). It is important to emphasize that in all investigated ILs, hydrogen bonds are present (Tables S1–S9). These hydrogen bonds are created between an anion and alkoxy or alkyl residue of a cation. The intensity of hydrogen bonding is noticeably strong when acetate, chloroacetate, and lactate are used as anions (ILs 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9), but they are weaker when it comes to chloride anion (ILs 4, 7). With the employment of solvents, hydrogen bonds between ions become weaker with increase of solvent polarity.

The binding enthalpies ( $\Delta E_{BE}$ ) were calculated for both gas and liquid phases using Eq. (2). The obtained results are presented in Table 2 and Fig. 2. In all investigated cases, the  $\Delta E_{BE}$  values for liquid phases, independently of solvent polarity, are substantially higher than the corresponding  $\Delta E_{BE}$  values calculated for gas. In addition,  $\Delta E_{BE}$  increases with the increasing dielectric constant of applied solvents (Fig. 2). On the basis of these data it can be concluded that behavior of the cation–anion pairs of ILs depends on solvent nature. In cases where lower dielectric constant solvents are used (carbon tetrachloride, diethyl ether, chloroform) cation–anion interaction is kept to contact ion pair. When solvents with higher dielectric constants are employed (water, dimethyl sulfoxide, acetonitrile) the behavior of ILs approaches to that of solvent-separated ion-pair structures. These results are in agreement with the literature data [33].

The solvation energies ( $\Delta G_{solv}$ ) of ILs were calculated using Eq. (1), and are presented in Fig. 3. It can be seen that solvation energies decrease with the increase of solvent polarity. It should be noted that solvation process of investigated species is exothermic. On the basis of this, the ionic pairs of ILs are more stabilized in solvents with higher dielectric constant. This is in accordance with our former statement related to the ionic structure of investigated molecules.

**Table 2**  
Gas phase binding enthalpies for investigated ILs.

IL	$\Delta E_{BE}$ (kJ/mol)	IL	$\Delta E_{BE}$ (kJ/mol)	IL	$\Delta E_{BE}$ (kJ/mol)
1	–495.79	4	–463.91	7	–489.41
2	–458.82	5	–509.81	8	–461.01
3	–455.67	6	–438.43	9	–424.02



**Fig. 2.** The binding energies of ILs in solvents with different dielectric constants.

Also, it should be emphasized that the NBO charges carried by nitrogen of the cationic moiety and oxygen or chlorine of the anionic moiety slightly change with the solvent polarity. Namely, in accord with the behavior of ionic species, the mentioned atoms become more and more negative as the dielectric constant of solvents increases (Fig. S1). This provoked us to investigate possible connections between binding enthalpy of ions, as well as solvation energy, and the difference in NBO charges carried by nitrogen, oxygen, and chlorine. In all cases, both the difference in NBO charges and  $\Delta E_{BE}$  increases with the increase of solvents polarity. In this way, linear dependence between these two quantities is provided (Fig. 1). Dependence of  $\Delta G_{solv}$  on the difference in NBO charges is also linear (Fig. 4). It is worth pointing out that the correlation coefficient for all investigated ILs is higher than 0.99.

## 4. Conclusion

The structure of ethanolamine derived ILs 1–9 has been elucidated on the basis of IR and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. These ILs were fully optimized using density functional theory in gas phase, as well as in series of solvents with different dielectric constants. Good agreement between the experimental and calculated IR spectra was achieved. It was established, on the basis of the BDE values and strength of hydrogen bonds, that cation–anion interactions in ILs are kept to contact ion pair in solvents with lower dielectric constants, whereas in solvents with higher dielectric constants the behavior of ILs approaches to that of solvent-separated ion-pair structures. Density functional

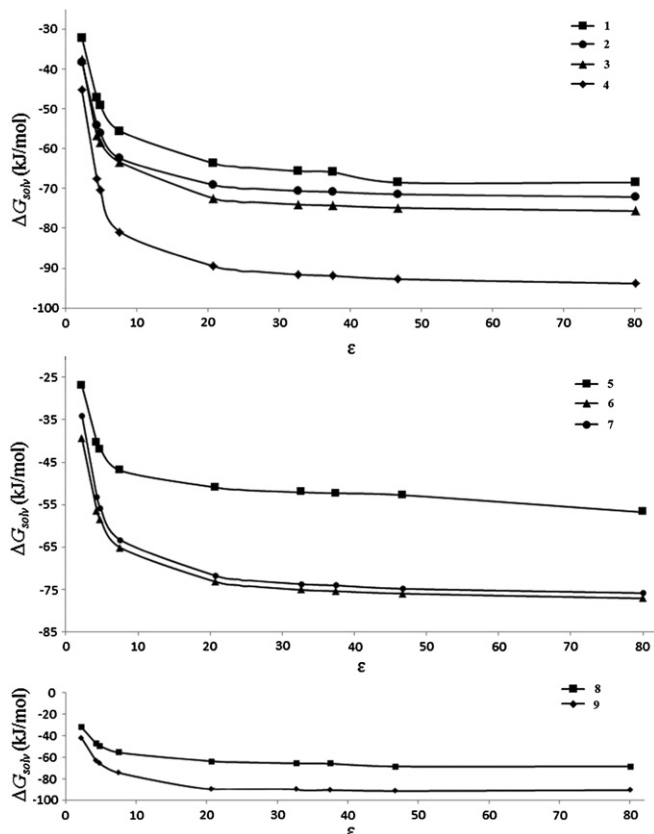


Fig. 3. The solvation energies of ILs in solvents with different dielectric constants.

studies showed that solvation energies decrease with the increase of solvent polarity. Therefore, the ionic pairs of ILs are more stabilized in solvents with higher dielectric constant.

### Acknowledgment

This work was supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia project No 172016.

### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2012.12.020>.

### References

- [1] S.H. Mudd, A.H. Datko, *Plant Physiology* 91 (1989) 587–597.
- [2] F. Gibellini, T.K. Smith, *IUBMB Life* 62 (2010) 414–428.
- [3] C. Kent, *Annual Review of Biochemistry* 64 (1995) 315–343.
- [4] D. Ronstein, I. Nishida, G. Tashiro, K. Yoshioka, W.I. Wu, D.R. Voelker, G. Basset, A.D. Hanson, *The Journal of Biological Chemistry* 276 (2001) 35523–35529.
- [5] D. Ronstein, D. Rhodes, A.D. Hanson, *Plant & Cell Physiology* 44 (2003) 1185–1191.
- [6] E.A. Eisen, P.E. Tolbert, R.R. Monson, T.J. Smith, *American Journal of Industrial Medicine* 22 (1992) 809–824.
- [7] K.H. Beyer, W.F. Bergfeld, W.O. Berndt, R.K. Boutwell, W.W. Carlton, D.K. Hoffmann, A.L. Schroeter, *Journal of the American College of Toxicology* 2 (1983) 183–235.
- [8] H. Hammer, W. Körnig, T. Weber, H. Kieczka, in: W. Gerhartz, Y.S. Yamamoto, L. Kaudy, J.F. Rounsaville, G. Schulz (Eds.), 5th rev. ed., *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, vol. A10, VCH Publishers, New York, 1987, pp. 1–19.
- [9] A.F. Bollmeier, in: J.I. Kroschwitz, M. Howe-Grant (Eds.), 4th ed., *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, vol. 2, John Wiley, New York, 1992, pp. 1–20.
- [10] A.A. Kalinin, V.G. Mel'nikov, *Chemistry and Technology of Fuels and Oils* 24 (1988) 294–297.
- [11] K. Oppenlaender, W. Kindscher, E. Getto, Alkanolamine salts of maleamic acids as anti-corrosion agents in aqueous systems. June 10 1980, US Patent 4207285.
- [12] Q. Zhong, R. Michael, Z. Zhang, *Surface and Coatings Technology* 185 (2004) 234–239.
- [13] M. Sandin, I. Mattsby-Baltzer, L. Edebo, *International Biodeterioration* 27 (1991) 61–74.
- [14] S. Bakalova, V. Mincheva, A. Doycheva, V. Groudeva, R. Dimkov, *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 22 (2008) 716–720.
- [15] M.I. Hossain, M. El-Harbawi, Y.A. Noaman, M.A.B. Bustam, N.B.M. Alitheen, N.A. Affandi, G. Hefter, C.-Y. Yin, *Chemosphere* 84 (2011) 101–104.
- [16] Z.D. Petrović, Lj. Čomić, O. Stefanović, D. Simijonović, V.P. Petrović, *Journal of Molecular Liquids* 170 (2012) 61–65.
- [17] T. Welton, *Chemical Reviews* 99 (1999) 2071–2083.

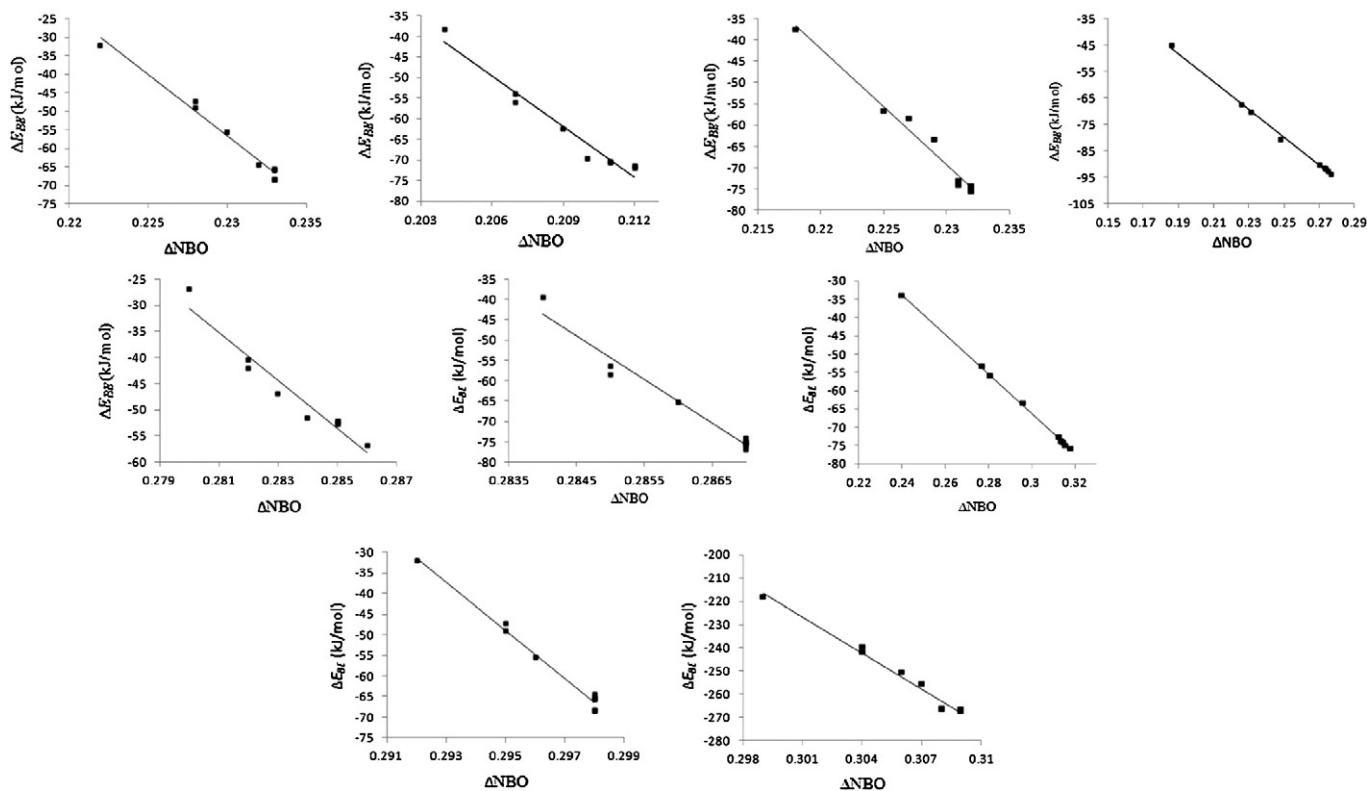


Fig. 4. Dependence of  $\Delta G_{solv}$  from the difference in NBO charges. The correlation coefficient in all cases was higher than 0.99.



- [18] T. Welton, *Coordination Chemistry Reviews* 248 (2004) 2459–2477.
- [19] J. Dupont, R.F. de Souza, P.A.Z. Suarez, *Chemical Reviews* 102 (2002) 3667–3692.
- [20] H. Weingartner, *Angewandte Chemie International Edition* 47 (2008) 654–670.
- [21] S. Keskin, D. Kayrak-Talay, U. Akman, Ö. Hortac, *Journal of Supercritical Fluids* 43 (2007) 150–180.
- [22] K.R. Seddon, *Kinetics and Catalysis* 37 (1996) 693–697.
- [23] K.R. Seddon, A. Stark, J. Torres, *Pure and Applied Chemistry* 72 (2000) 2275–2287.
- [24] J.G. Huddleston, A.E. Visser, W.M. Reichardt, H.D. Willauer, G.A. Broker, R.D. Rogers, *Green Chemistry* 3 (2001) 156–164.
- [25] C. Chiappe, D. Pieraccini, *Journal of Physical Organic Chemistry* 18 (2005) 275–297.
- [26] A. Shariati, C.J. Peters, *Journal of Supercritical Fluids* 34 (2005) 171–176.
- [27] A. Shariati, K. Gutkowski, C.J. Peters, *AIChE Journal* 51 (2005) 1532–1540.
- [28] H. Zhao, S. Xia, P. Ma, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80 (2005) 1089–1096.
- [29] P.A. Ganeshpure, *Asian Journal of Experimental Sciences* 22 (2008) 113–115.
- [30] S. Pavlovica, A. Zicmanis, E. Gzibovska, M. Klavins, P. Mekss, *Chemistry & Materials Science* 1 (2011) 103–110.
- [31] A. Triolo, O. Russina, H. Bleif, E. Cola, *The Journal of Physical Chemistry. B* 111 (2007) 4641–4644.
- [32] M. Deetlefs, C. Hardacre, M. Nieuwenhuyzen, O. Sheppard, A.K. Soper, *The Journal of Physical Chemistry. B* 109 (2005) 1593–1598.
- [33] J. Dupont, P.A.Z. Suarez, R.F. de Souza, R.A. Burrow, J.P. Kintzinger, *Chemistry A European Journal* 6 (2000) 2377–2381.
- [34] K. Fumino, A. Wulf, R. Ludwig, *Angewandte Chemie International Edition* 47 (2008) 3830–3834.
- [35] A. Wulf, K. Fumino, R. Ludwig, *Angewandte Chemie International Edition* 49 (2010) 449–453.
- [36] M. Krüger, E. Bründermann, S. Funkner, H. Weingärtner, M. Havenith, *The Journal of Chemical Physics* 132 (2010) 101101–101104.
- [37] B.L. Bhargava, S. Balasubramanian, *Chemical Physics Letters* 417 (2006) 486–491.
- [38] C. Hardacre, J.D. Holbrey, M. Nieuwenhuyzen, T.G.A. Youngs, *Accounts of Chemical Research* 40 (2007) 1146–1155.
- [39] H. Rong, W. Li, Z.H. Chen, X.M. Wu, *The Journal of Physical Chemistry. B* 112 (2008) 1451–1455.
- [40] R.W. Berg, A. Riisager, O.N. Van Buu, R. Fehrmann, P. Harris, A.A. Tomaszowska, K.R. Seddon, *The Journal of Physical Chemistry. B* 113 (2009) 8878–8886.
- [41] S.A. Katsyuba, T.P. Griaznova, A. Vidis, P.J. Dyson, *The Journal of Physical Chemistry. B* 113 (2009) 5046–5051.
- [42] D. Xiao, L.G. Hines, M.W. Holtz, K.Y. Song, R.A. Bartsch, E.L. Quitevis, *Chemical Physics Letters* 497 (2010) 37–42.
- [43] J. Dupont, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 15 (2004) 341–350.
- [44] X. Hu, Q. Lin, J. Gao, Y. Wu, Z. Zhang, *Chemical Physics Letters* 516 (2011) 35–39.
- [45] M.J. Frisch, W.G. Trucks, B.H. Schlegel, E.G. Scuseria, A.M. Robb, R.J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, A.G. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, P.H. Hratchian, F.A. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, L.J. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, A.J. Montgomery Jr., E.J. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, N.K. Kudin, N.V. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, C.J. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, E.R. Stratmann, O. Yazyev, J.A. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, W.J. Ochterski, L.R. Martin, K. Morokuma, G.V. Zakrzewski, A.G. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, D.A. Daniels, O. Farkas, B.J. Foresman, V.J. Ortiz, J. Cioslowski, J.D. Fox, *Gaussian 09, Rev A.1* Gaussian Inc., Wallingford, 2009.
- [46] Y. Zhao, E.N. Schultz, G.D. Truhlar, *Journal of Chemical Theory and Computation* 2 (2006) 364–382.

*Triethanolammonium acetate as a multifunctional ionic liquid in the palladium-catalyzed green Heck reaction*

**Zorica D. Petrović, Svetlana Marković,  
Vladimir P. Petrović & Dušica  
Simijonović**

**Journal of Molecular Modeling**

Computational Chemistry - Life Science  
- Advanced Materials - New Methods

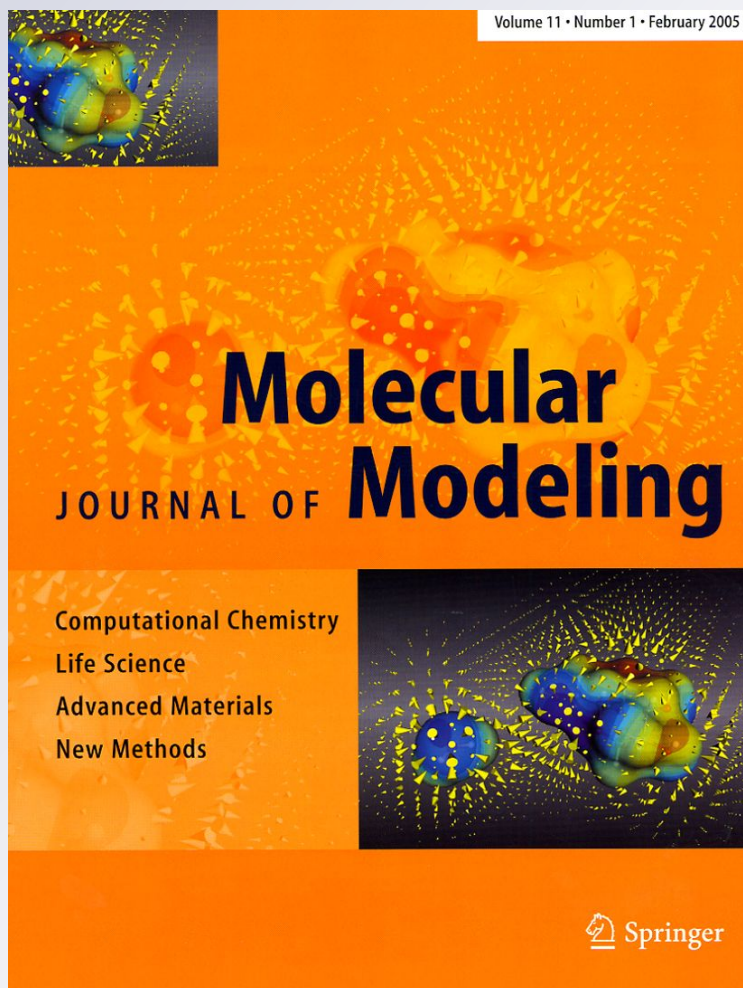
ISSN 1610-2940

Volume 18

Number 2

J Mol Model (2012) 18:433-440

DOI 10.1007/s00894-011-1052-1



**Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer-Verlag. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your work, please use the accepted author's version for posting to your own website or your institution's repository. You may further deposit the accepted author's version on a funder's repository at a funder's request, provided it is not made publicly available until 12 months after publication.**

# Triethanolammonium acetate as a multifunctional ionic liquid in the palladium-catalyzed green Heck reaction

Zorica D. Petrović · Svetlana Marković ·  
Vladimir P. Petrović · Dušica Simijonović

Received: 9 September 2010 / Accepted: 22 March 2011 / Published online: 3 May 2011  
© Springer-Verlag 2011

**Abstract** An efficient green Heck reaction protocol was performed using a triethanolammonium acetate ionic liquid–palladium(II) catalytic system. The ionic liquid used acts as a reaction medium, base, precatalyst-precursor, and mobile support for the active Pd species. Our experimental investigation indicates that performing the Heck reaction in ionic liquid is superior to the same procedure carried out in triethanolamine. The mechanism of the reaction of triethanolammonium acetate with PdCl<sub>2</sub> was examined using density functional theory (M06 method). It was found that two Pd(II) complexes are formed, one of which acts further as a precatalyst yielding catalytically active Pd(0) complex. The calculated activation energies are in agreement with our experimental findings.

**Keywords** Triethanolamine ionic liquid · Green Heck reaction · Reaction mechanism · Pd(II) precatalyst · Pd(0) catalytically active complex

## Introduction

The palladium-catalyzed arylation of olefins, known as the Heck reaction, is one of the most important methods of carbon–carbon bond formation in organic synthesis [1–4]. Due to its synthetic versatility, the Heck reaction attracts the

attention of both experimental [5–9] and theoretical chemists [10–22]. Much effort has been devoted to elucidation of the Heck reaction mechanism [10–12], including catalyst preactivation [13, 14], oxidative addition [15–21], and reductive elimination [22, 23].

In the last decade, phosphine-free Pd complexes have been introduced as a less complicated and environmentally more desirable alternative to the original Pd-phosphine catalysts [1]. In addition, the application of ionic liquids has been put forward as a very useful substitute for hazardous and volatile polluting organic solvents [24–27]. One of the predominant applications of ionic liquids focuses on homogeneous catalysis [24, 28]. Nowadays, multifunctional ionic liquids that can serve as good coordinating ligands, green solvents, as well as recyclable and mobile supports for palladium catalyst systems, are used. Functional groups that can complex palladium, such as amine, amide, nitrile, ether, alcohol, urea or thiourea [29, 30] have been introduced into the cationic and/or anionic moiety of ionic liquids.

Here, we report the use of triethanolammonium acetate [TEA][HOAc] as a multifunctional ionic liquid in a green Heck reaction. The investigated ionic liquid acts as a green solvent, base, precatalyst-precursor, and mobile support for the active Pd species. Our work focused on testing the efficiency of the obtained ionic liquid–palladium catalytic system in the Heck reaction, and on a density functional theory (DFT) investigation of the possible mechanism of in situ formation of the Pd(II) precatalyst. Since very little is known about the mechanism of formation and molecular structure of Pd(0) complexes [13, 14], which are generally accepted as the catalytically active forms, our additional goal was to elucidate the mechanism of reduction of the Pd(II) precatalyst to the catalytically active Pd(0) form.

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s00894-011-1052-1) contains supplementary material, which is available to authorized users.

Z. D. Petrović · S. Marković (✉) · V. P. Petrović · D. Simijonović  
Faculty of Science, University of Kragujevac,  
12 Radoja Domanovića,  
34000 Kragujevac, Serbia  
e-mail: mark@kg.ac.rs



## Computational methods

The geometrical parameters of all stationary points and transition states were optimized in vacuum, using Gaussian09 [31]. All calculations were performed using the M06 functional [32]. This hybrid meta functional is a functional with good accuracy “across-the-board” for transition metals, main group thermochemistry, medium-range correlation energy, and barrier heights [32]. The triple split valence basis set 6-311 G(d,p) was used for C, H, O, N, and Cl, whereas LANL2DZ+ECP [33] was employed for the Pd center. All calculated structures were confirmed to be local minima (all positive vibrational frequencies) for ground state structures, or first-order saddle points (one negative vibrational frequency) for transition state structures, by frequency calculations. The intrinsic reaction coordinates (IRCs), from the transition states down to the two lower energy structures, were traced using the IRC routine in Gaussian in order to verify that each saddle point is linked with two putative minima. Natural bond orbital analysis (Gaussian NBO version) was performed for all structures.

## Results and discussion

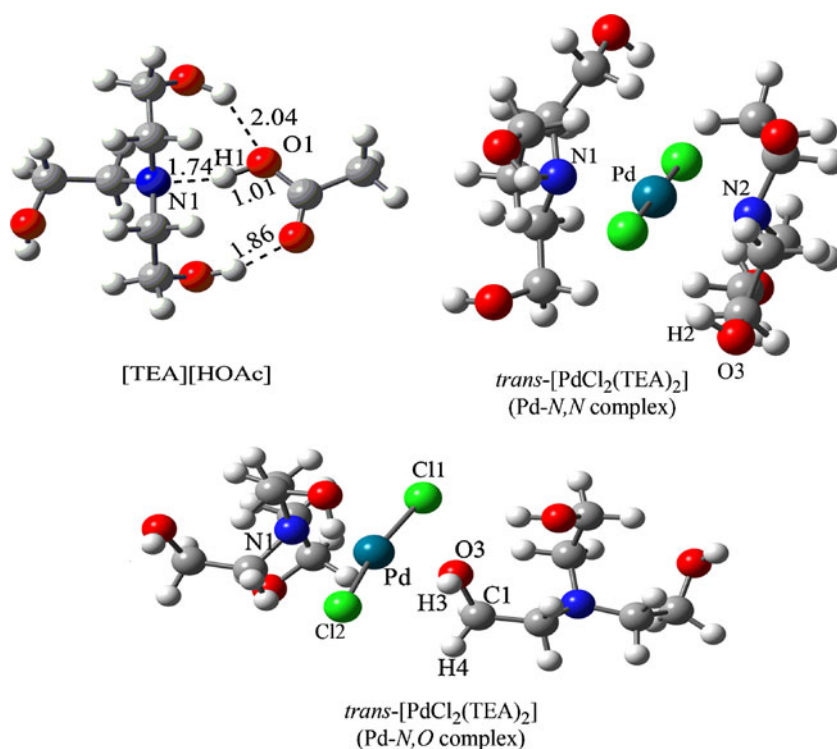
The structure of ionic liquid triethanolammonium acetate ([TEA][HOAc]) was examined using DFT (Fig. 1). Our investigation revealed that there are no distinguishing cations and anions in [TEA][HOAc]. Bond distances reveal

strong hydrogen bonding in the ionic liquid. The NBO analysis was in accord with this finding, namely there is strong donation of density from the p orbital on N to the  $\sigma^*$  antibonding O–H orbital of acetic acid. Owing to hydrogen bonding, it is obvious that molecular association is present. In addition, the molecule is polar (nitrogen and oxygen bear partial negative charge, whereas H1 is partially positively charged). These properties are characteristic of molecular liquids, and generally for ionic liquids. The role of the ionic liquid used and its triethanolamine Pd(II) complexes (Fig. 1) in a green Heck reaction protocol was investigated in this work.

Bearing in mind that the *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] complex acts as a precatalyst in the Heck reaction in [DEA][HOAc] as reaction medium [34], we assumed that [TEA][HOAc] would be good reaction medium, and that the triethanolamine Pd(II) complex would also yield a catalytically active species in the Heck reaction. Thus, we decided to investigate the efficiency of the ionic liquid–palladium ([TEA][HOAc]/ Pd(II) complex) catalytic system. Above all we were interested in the mechanisms of in situ formation of the Pd(II) precatalyst and the catalytically active Pd(0) complex.

The Heck reaction was performed with the corresponding aryl halide (iodobenzene and bromobenzene) and activated olefine (methyl, ethyl, and butyl acrylate) in the investigated ionic liquid at 110°C, and with 2 mol% PdCl<sub>2</sub>. A 100% conversion of acrylates to the *trans* cross-coupling products was achieved, with 99% selectivity. The yield of products

**Fig. 1** Optimized geometries of triethanolammonium acetate ([TEA][HOAc]), and *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] (Pd-N,N and Pd-N,O complexes)



obtained in this reaction was very good (90–93%, Table 1). Next, we wished to compare the experimental procedure and yield of the ionic liquid–Pd(II) catalyzed reaction with the same reaction performed in the absence of ionic liquid, where TEA was used as a reaction medium (Table 1).

When the Heck reaction was performed in TEA, the yield was lower (75–81%). The lower yield of these reactions can be attributed to a competitive polymerization reaction. Our results indicate that the Heck reaction performed in the ionic liquid is superior compared to the procedure carried out in TEA. The ionic liquid used facilitates solubility of PdCl<sub>2</sub> and the appropriate Pd(II) catalyst precursor. It seems that the nature of the ionic liquid used increases the stability of the palladium catalyst, extending its lifetime. In addition, this catalytic system remains unchanged during the reaction. The reaction products can be separated via simple extraction, and ionic liquid–palladium catalytic system can be recycled easily.

After extraction of the products from the reaction mixture, the ionic liquid–palladium catalytic system was recovered and fresh reactants were charged. The ionic liquid–Pd catalytic system was recycled three times without significant loss in activity (yields of coupling products were up to 5% lower).

#### Mechanism of formation of Pd(II) complexes

In order to elucidate the mechanism of formation and structure of the Pd(II) precatalyst and catalytically active Pd(0) species, we investigated the possible mechanism of reaction of [TEA][HOAc] with PdCl<sub>2</sub>. It turned out that two complexes can be formed in this reaction: Pd–N,N and Pd–N,

O complexes (Figs. 1, 2). The selected bond distances of transition states and intermediates are given in Table 2, whereas the relative total energies, enthalpies, and free energies of all relevant species are provided in Table S1 in the Electronic Supplementary Material.

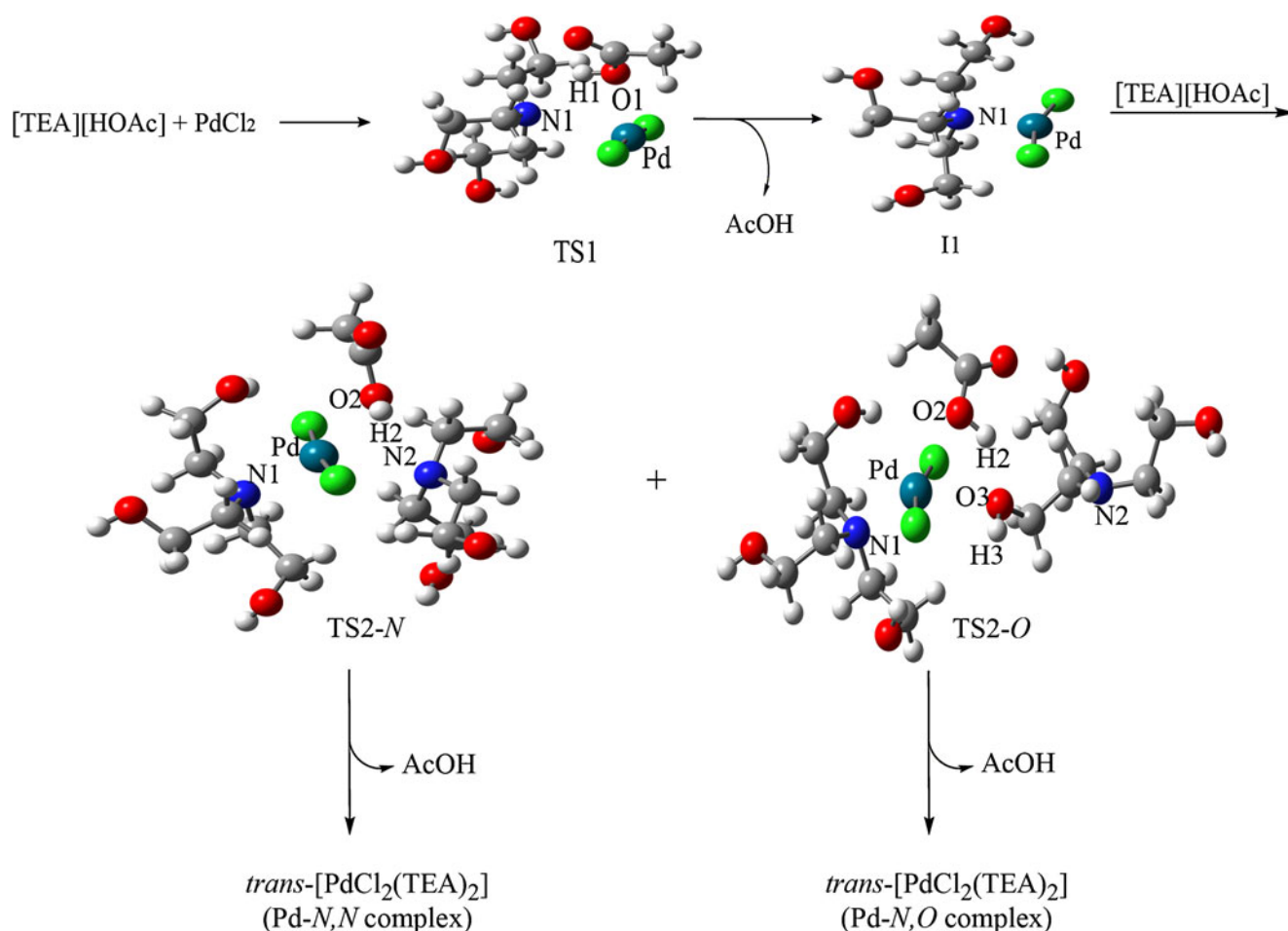
NBO analysis of PdCl<sub>2</sub> reveals that palladium is electron deficient, as it bears only four lone pairs in the d orbitals. On the other hand, the HOMO map of [TEA][HOAc] (Fig. S3) delineates the area in the molecule that is most electron sufficient (N1). In addition, the NBO charges of Pd (0.750), and N1 in [TEA][HOAc] (–0.582) indicate that palladium will perform an electrophilic attack on the nitrogen of the ionic liquid.

Our assumption was confirmed by revealing transition state TS1 (Fig. 2), which requires an activation energy of 127.0 kJ mol<sup>–1</sup> (Table S1). In TS1, the Pd–N1 bond is being formed, whereas the hydrogen N1–H1 bond is being broken (Table 2). The O1–H1 bond is completely formed, implying that the acetic acid molecule leaves the reaction system as a solvent molecule. In this way, the tricoordinated intermediate II is formed (Fig. 2). Tricoordinated Pd complexes are known from the literature [12, 18–21]. NBO analysis of the intermediate shows that the p orbitals of the ligating atoms participate with over 80% in the bonds around palladium. Each Pd–Cl bond delocalizes into the adjacent σ\* antibonding Pd–Cl orbital, whereas the Pd–N1 bond delocalizes into both σ\* antibonding Pd–Cl orbitals. Palladium still bears only four lone electron pairs and, thus, it is electron deficient. The LUMO map of the intermediate (Fig. S4) is in accord with NBO analysis, and indicates Pd as a possible electrophilic site.

**Table 1** Palladium-catalyzed Heck reaction in different reaction media. [TEA][HOAc] Triethanolammonium acetate, TEA triethanolamine

ArX + CH <sub>2</sub> =CHR		2 mol.% PdCl <sub>2</sub> , 110 °C		ArCH=CHR	
		[TEA][HOAc] or TEA			
Entry	ArX	R	Reaction medium	Time (h)	Yield (%) <sup>a</sup>
1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	[TEA][HOAc]	12	93
2	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	[TEA][HOAc]	14	90
3	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	[TEA][HOAc]	12	93
4	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	[TEA][HOAc]	14	91
5	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[TEA][HOAc]	12	93
6	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	[TEA][HOAc]	14	90
7	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOCH <sub>3</sub>	TEA	12	81
8	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOCH <sub>3</sub>	TEA	14	77
9	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	TEA	12	80
10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COO C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	TEA	14	75
11	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> I	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	TEA	12	80
12	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Br	COOC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	TEA	14	75

<sup>a</sup> Isolated yield; only the *trans* product was detected by <sup>1</sup>H NMR



**Fig. 2** Proposed mechanism for the formation of Pd-N,N and Pd-N,O complexes

Our investigations revealed two pathways for the electrophilic attack of Pd of I1 on another molecule of [TEA][HOAc]. The first pathway, in which Pd attacks nitrogen, occurs via transition state TS2-N (Fig. 2). An energy barrier of 139.7 kJ mol<sup>-1</sup> is required for the formation of this transition state (Table S1). Similarly to the case of transition state TS1, the Pd–N2 bond is being formed, whereas the hydrogen N2–H2 bond is completely broken (Fig. 2, Table 2), again implying that acetic acid leaves the reaction system as a solvent molecule. In this way, a Pd–N,N complex is yielded (Figs. 1, 2). Our experiments confirm that the Pd–N,N complex is formed during the course of the Heck reaction, as it was identified in the reaction mixture by means of NMR spectroscopy. This identification was achieved by comparing the NMR spectrum of the reaction mixture to the NMR spectrum of the separately prepared Pd–N,N complex. Indeed, this complex was formed upon mixing of PdCl<sub>2</sub> with [TEA][HOAc] in molar ratio 1:2, at 100°C. The Pd–N,N complex exhibits a square planar coordination. According to NBO analysis, palladium is sp<sup>2</sup>d

hybridized, and builds covalent bonds with both nitrogens and both chlorines. The sp<sup>3</sup> orbitals of the Cl atoms and almost pure p orbitals of the N atoms participate with about 85% in the bonds around palladium. There is strong donation of density from each Pd–N bond to the adjacent σ\* antibonding Pd–N orbital. As a consequence, the occupancies in the Pd–N orbitals are noticeable low (1.86).

The second pathway, in which Pd of I1 attacks the oxygen of [TEA][HOAc], proceeds via transition state TS2-O (Fig. 2), which has an activation barrier of 85.8 kJ mol<sup>-1</sup> (Table S1). In TS2-O the Pd–O3 bond is being formed, whereas the hydrogen bond between N2 and H2 is completely broken (Fig. 2, Table 2). In this way the Pd–N,O complex is formed (Fig. 1). Our finding is supported by previously reported experimental results [35] that showed that oxygen coordination to Pd(II) and proton abstraction from the alcoholic group is possible, even in weak acidic medium. It is worth pointing out that acetate buffer is formed during our Heck reaction (AcOH/[TEA][HOAc], measured pH≈6).

**Table 2** Selected bond distances (Å) in the investigated species for the mechanism of formation of Pd(II) complexes

Ionic liquid + PdCl <sub>2</sub>	
N1-H1	1.05
O1-H1	1.61
Pd-Cl	2.31, 2.35
TS1	
N1-H1	2.11
O1-H1	0.98
Pd-N1	2.89
I1	
Pd-N1	2.08
Pd-Cl	2.32, 2.35
TS2-N	
Pd-N1	2.15
Pd-Cl	2.36, 2.38
N2-H2	3.40
O2-H2	0.98
Pd-N2	2.88
TS2-O	
Pd-N1	2.17
Pd-Cl	2.36, 2.38
N2-H2	4.42
O2-H2	0.98
Pd-N2	5.75
Pd-O3	2.59
Pd-N,N complex	
Pd-N1	2.17
Pd-Cl	2.38, 2.42
Pd-N2	2.17
Pd-N,O complex	
Pd-N1	2.13
Pd-N2	5.08
Pd-Cl	2.36, 2.40
Pd-O3	2.12

It should be emphasized that, in the Heck reaction with TEA, instead of [TEA][HOAc], a competitive polymerization reaction occurred, and formation of the Pd-N,N complex was not observed during the course of the reaction. In agreement with this experimental finding, our attempts to reveal a transition state for an electrophilic attack of Pd on the nitrogen or oxygen of TEA were unsuccessful.

#### Mechanism of formation of the Pd(0) complex

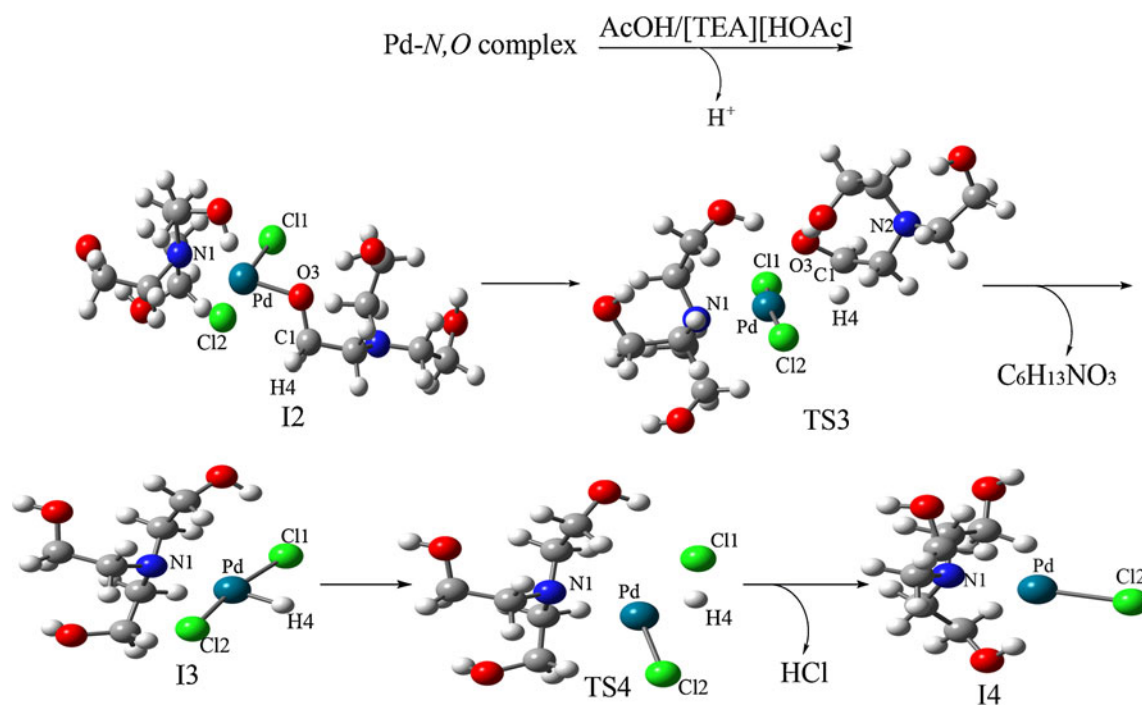
Analysis of the stability of the complexes obtained showed that the Pd-N,O complex is less stable than the Pd-N,N complex by 31.4 kJ mol<sup>-1</sup>. This instability is a probable reason why it has not been identified in the reaction mixture. Thus we assume that it undergoes further transformation, yielding catalytically active Pd(0) complex.

The proposed mechanism is presented in Fig. 3. All relevant bond distances in transition states and intermediates are given in Table 3, whereas the relative total energies, enthalpies, and free energies of all relevant species are provided in Table S2.

NBO analysis of the Pd-N,O complex shows that Pd forms covalent bonds with both chlorines and nitrogen (Fig. 1). The p orbitals of the ligating atoms participate with over 80% in the bonds around palladium. The O3-H3 orbital and lone pair on O3 (sp<sup>3</sup> orbital) delocalize into formally empty p orbital (with little s and d mixing) on Pd, thus forming a coordinative Pd-O3 bond. Density is also donated from the sp<sup>3</sup> orbital of O3 to the σ\* antibonding Pd-N1 orbital. The Pd-N1 bond delocalizes into both σ\* antibonding Pd-Cl orbitals. Due to this, the occupancies of all palladium bonds are low (about 1.90). NBO analysis also reveals that the O3-H3 bond is particularly polar (NBO charges of O3 and H3 amount -0.697 and 0.517). Taking into account that O3 is engaged in the coordinative bond with Pd, and that H3 is acidic, we supposed that this H3 can be abstracted by the acetate buffer. Our assumption was confirmed by successful optimization of the intermediate I2 (Fig. 3). NBO analysis of I2 shows that p orbitals of the ligating atoms participate with over 80% in the bonds around palladium. Each Pd-Cl bond delocalizes into the adjacent σ\* antibonding Pd-Cl orbital, whereas the Pd-O3 bond delocalizes into both σ\* antibonding Pd-Cl orbitals. The lone pair on N1 delocalizes into σ\* antibonding Pd-O3.

Our experience with the preactivation process of trans-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] [13, 14] shows that β hydrogens (with respect to Pd) have affinity to coordinate to Pd. As H4 has the most favorable position, we supposed a nucleophilic attack of H4 to palladium(II) to be a plausible next step of the reaction. Our assumption was confirmed by revealing transition state TS3 (Fig. 3). The results of the IRC calculation for TS3 are presented in Fig. S5. The formation of TS3 has an energy barrier of 141.9 kJ mol<sup>-1</sup> (Table S2). In TS3, Pd-O3 and C1-H4 bonds are being broken, while a Pd-H4 bond is being formed (Table 3). It is worth pointing out that hydrogen is transferred from carbon to palladium as a hydride ion. This transfer leads to the formation of the intermediate I3a (Fig. S2). The structure of I3a shows that it contains a completely separated molecule [N,N-bis(2-hydroxyethyl)amino-acetaldehyde] that probably acts further as a solvent molecule. For this reason we excluded the N,N-bis(2-hydroxyethyl)amino-acetaldehyde molecule (C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>) from further consideration (I3 in Fig. 3). NBO analysis of I3 reveals that the intermediate complex exhibits a square planar coordination, where Pd forms covalent bonds with both chlorines and hydrogen. As for nitrogen, its almost pure p orbital donates density to the formally empty p orbital (with little s and d mixing) on Pd.





**Fig. 3** Proposed mechanism for the formation of the Pd(0) complex

**Table 3** Selected bond distances (Å) in the investigated species for the mechanism of formation of Pd(0) complex

I2		
Pd-N1	2.25	
Pd-N2	4.87	
Pd-Cl1	2.40	
Pd-Cl2	2.43	
Pd-O3	1.99	
C1-H4	1.10	
Pd-H4	3.15	
TS3		
Pd-N1	2.15	
Pd-Cl1	2.38	
Pd-Cl2	2.37	
Pd-O3	2.42	
C1-H4	1.15	
Pd-H4	2.11	
I3		
Pd-N1	2.42	
Pd-Cl1	2.39	
Pd-Cl2	2.42	
Pd-H4	1.52	
TS4		
Pd-N1	2.55	
Pd-Cl1	2.81	
Pd-Cl2	2.39	
Pd-H4	1.56	
Cl1-H4	1.71	
I4		
Pd-N1	2.28	
Pd-Cl2	2.38	

The Pd–H4 orbital delocalizes into both  $\sigma^*$  antibonding Pd–Cl orbitals, and vice versa.

In the further course of the reaction, I3 undergoes reductive elimination of HCl. Our investigation shows that this step of the reaction proceeds via transition state TS4, which requires an activation energy of  $78.9 \text{ kJ mol}^{-1}$  (Table S2). The results of the IRC calculation for TS4 are presented in Fig. S6. In TS4, the Pd–H4 and Pd–Cl1 bonds are being cleaved, whereas the Cl1–H4 bond is being formed, implying that HCl leaves the reaction system. This process leads to the formation of the catalytically active Pd(0) complex, the final product of preactivation reaction (I4 in Fig. 3). NBO analysis reveals that palladium bears five lone pairs in the d orbitals, implying that the oxidative number of Pd is 0. Ligating atoms (chlorine and nitrogen) participate in bonds around palladium with more than 90%. The Pd–Cl bond delocalizes into the  $\sigma^*$  antibonding Pd–N1 orbital, and vice versa.

### Summary

The structure of the ionic liquid [TEA][HOAc] was examined using DFT. It was shown that [TEA][HOAc] acts as multifunctional ionic liquid providing a good reaction medium, base, precatalyst-precursor, and mobile support for the active Pd species in a phosphine-free Heck reaction. The mechanism of the reaction of [TEA][HOAc] with PdCl<sub>2</sub> was examined using DFT. It was found that two

Pd(II) complexes, Pd–N,N and Pd–N,O, are formed where the Pd–N,O complex further acts as a precatalyst, yielding the catalytically active Pd(0) species. The calculated activation energies are in agreement with our experimental findings.

The reaction of PdCl<sub>2</sub> with [TEA][HOAc] provides an effective ionic liquid–palladium catalytic system for the Heck reaction. The catalytic system used is ecologically friendly and can be recovered and recycled.

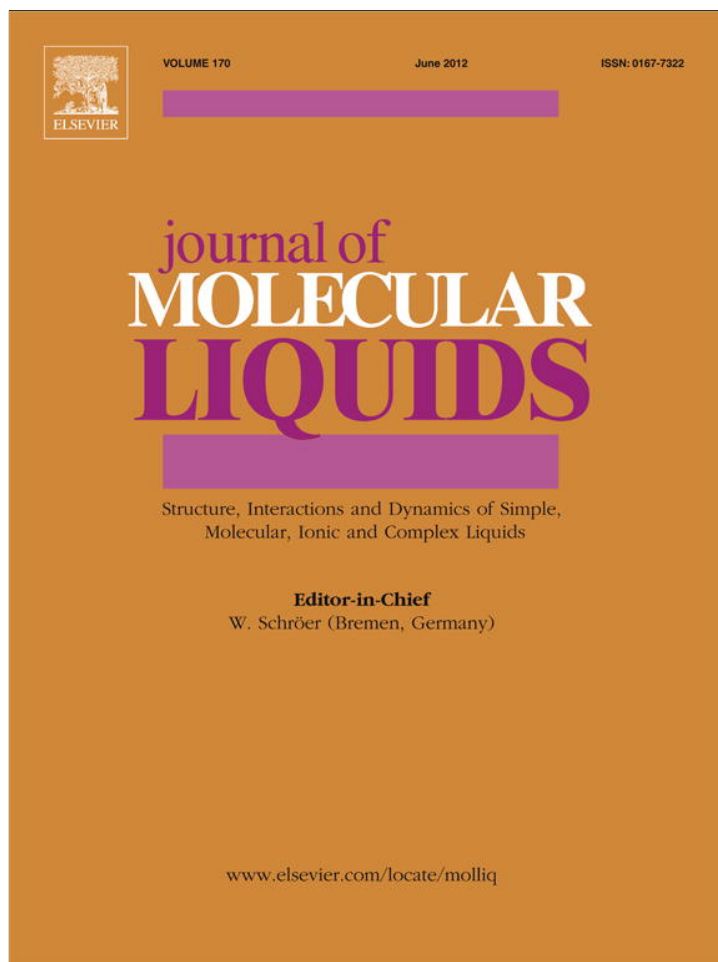
**Acknowledgment** This work is supported by the Ministry of Science and Environment of Serbia, project N<sup>o</sup> 172016.

## References

- Heck RF (1979) Palladium-catalyzed reactions with olefins of organic halides. *Acc Chem Res* 12:146–151
- Heck FR (1985) Palladium reagents in organic synthesis. Academic, London
- Heck FR (1991) In: Trost MB, Fleming I (eds) *Comprehensive organic synthesis*, vol 4. Pergamon, Oxford
- Meijere A, Diederich F (2004) Metal-catalyzed cross-coupling reactions. Wiley-VCH, New York
- Carmichael AJ, Earle MJ, Holbrey JD, McCormac PB, Seddon KR (1999) The Heck reaction in ionic liquids: a multiphase catalyst system. *Org Lett* 1:997–1000
- Ye C, Xiao JC, Twamley B, LaLonde AD, Norton MG, Shreeve JM (2007) Basic ionic liquids: facile solvents for carbon-carbon bond formation reactions and ready access to palladium nanoparticles. *Eur J Org Chem* 5095–5100
- Wang L, Li H, Li P (2009) Task-specific ionic liquid as base, ligand and reaction medium for the palladium-catalyzed Heck reaction. *Tetrahedron* 65:364–368
- Xu L, Chen W, Xiao J (2000) Heck reaction in ionic liquids and the in situ identification of *N*-heterocyclic carbene complexes of palladium. *Organometallics* 19:1123–1127
- Pryjomska-Ray I, Trzeciak AM, Ziolkowski JJ (2006) Base-free efficient palladium catalyst of Heck reaction in molten tetrabutylammonium bromide. *J Mol Catal A Chem* 257:3–8
- Henriksen ST, Norrby PO, Kaukoranta P, Andersson PG (2008) Combined experimental and theoretical study of the mechanism and enantioselectivity of palladium-catalyzed intermolecular Heck coupling. *J Am Chem Soc* 130:10414–10421
- Surawatanawong P, Hall MB (2008) Theoretical study of alternative pathways for the Heck reaction through dipalladium and “ligand-free” palladium intermediates. *Organometallics* 27:6222–6232
- Surawatanawong P, Fan Y, Hall MB (2008) Density functional study of the complete pathway for the Heck reaction with palladium diphosphines. *J Organomet Chem* 693:1552–1563
- Petrović ZD, Marković S, Simijonović D, Petrović VP (2009) Mechanistic insight into the preactivation of a modern palladium catalyst precursor in phosphine-free Heck reactions. *Monatsh Chem* 140:371–374
- Marković S, Petrović ZD, Petrović VP (2009) DFT study on the preactivation reaction of a palladium catalyst precursor in phosphine-free Heck reactions. *Monatsh Chem* 140:171–175
- Goossen LJ, Koley D, Hermann H, Thiel W (2005) Mechanistic pathways for oxidative addition of aryl halides to palladium(0) complexes: a DFT study. *Organometallics* 24:2398–2410
- Green JC, Herbert BJ, Lonsdale R (2005) Oxidative addition of aryl chlorides to palladium *N*-heterocyclic carbene complexes and their role in catalytic arylamination. *J Organomet Chem* 690:6054–6067
- Cui X, Li Z, Tao ZC, Xu Y, Li J, Liu L, Guo QX (2006) *N*, *N*-dimethyl-β-alanine as an inexpensive and efficient ligand for palladium-catalyzed Heck reaction. *Org Lett* 8:2467–2470
- Ahlquist M, Norrby PO (2007) Oxidative addition of aryl chlorides to monoligated palladium(0): A DFT-SCRF study. *Organometallics* 26:550–553
- Li Z, Fu Y, Guo QX, Liu L (2008) Theoretical study on monoligated Pd-catalyzed cross-coupling reactions of aryl chlorides and bromides. *Organometallics* 27:4043–4049
- Huang YL, Weng CM, Hong FE (2008) Density functional studies on palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions assisted by *N*- or *P*-chelating ligands. *Chem Eur J* 14:4426–4434
- Petrović ZD, Petrović VP, Simijonović D, Marković S (2009) Mechanistic pathways for oxidative addition of aryl iodides to the low-ligated diethanolamine palladium(0) complex in phosphine-free Heck reactions. *J Organomet Chem* 694:3852–3858
- Deeth RJ, Smith A, Hii KKM, Brown JM (1998) The Heck Olefination reaction; a DFT study of the elimination pathway. *Tetrahedron Lett* 39:3229–3232
- Graham DC, Cavell KJ, Yates BF (2006) The influence of *N*-substitution on the reductive elimination behaviour of hydrocarbyl-palladium-carbene complexes—a DFT study. *Dalton Trans* 1768–1775
- Dupont J, de Souza RF, Suarez PAZ (2002) Ionic liquid (molten salt) phase organometallic catalysis. *Chem Rev* 102:3667–3692
- Calò V, Nacci A, Monopoli A (2006) Effects of ionic liquids on Pd-catalysed carbon-carbon bond formation. *Eur J Org Chem* 2006:3791–3802
- Cassol CC, Umpierre AP, Machado G, Wolke SI, Dupont J (2005) The role of Pd nanoparticles in ionic liquid in the Heck reaction. *J Am Chem Soc* 127:3298–3299
- Fonseca GS, Umpierre AP, Fichtner PF, Teixeira SR, Dupont J (2003) The use of imidazolium ionic liquids for the formation and stabilization of ir<sup>0</sup> and rh<sup>0</sup> nanoparticles: efficient catalysts for the hydrogenation of arenes. *Chem Eur J* 9:3263–3269
- Hagiwara H, Sugawara Y, Isobe K, Hoshi T, Suzuki T (2004) Immobilization of Pd(OAc)<sub>2</sub> in ionic liquid on silica: application to sustainable Mizoroki-Heck reaction. *Org Lett* 6:2325–2328
- Bates DE, Mayton DR, Ntai I, Davis HJ Jr (2002) CO<sub>2</sub> capture by a task-specific ionic liquid. *J Am Chem Soc* 124:926–927
- Lee MK, Lee TY, Lin BJI (2003) Supramolecular liquid crystals of amide functionalized imidazolium salts. *J Mater Chem* 13:1079–1084
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery JA Jr, Montgomery JA Jr, Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ (2009) Gaussian 09, Rev A.1. Gaussian Inc, Wallingford

32. Zhao Y, Schultz NE, Truhlar DG (2006) Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *J Chem Theor Comput* 2:364–382
33. Hay JP, Wadt RW (1985) Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. *J Chem Phys* 82:270–283
34. Petrović ZD, Simijonović D, Petrović VP, Marković S (2010) Diethanolamine and N, N-diethylethanolamine ionic liquids as precatalyst-precursors and reaction media in green Heck reaction protocol. *J Mol Catal A Chem* 327:45–50
35. Bouquillon S, du Moulinet d'Hardemare A, Averbuch-Pouchot MT, Hénin F, Muzart J, Durif A (1999) A coordination compound of (–) ephedrine and palladium(II). *Acta Cryst C* 55:2028–2030

Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



## Antimicrobial activity of the ionic liquids triethanolamine acetate and diethanolamine chloride, and their corresponding Pd(II) complexes

Zorica D. Petrović<sup>a,\*</sup>, Ljiljana Čomić<sup>b</sup>, Olgica Stefanović<sup>b</sup>, Dušica Simijonović<sup>a</sup>, Vladimir P. Petrović<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P. O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

<sup>b</sup> Department of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P. O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 16 January 2012

Received in revised form 7 March 2012

Accepted 10 March 2012

Available online 24 March 2012

#### Keywords:

Ionic liquids

Palladium(II) complexes

Antimicrobial activity

Density functional theory

### ABSTRACT

The antimicrobial activity of the ionic liquids triethanolamine acetate [TEA][HOAc] and diethanolamine chloride [HDEA][Cl], as well as of their Pd(II) complexes *trans*-dichlorobis(triethanolamine-*N*)palladium(II) (*trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>]) and diethanolammonium-tetrachloridopalladate(II) ([HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]), is presented. The investigated compounds showed low antibacterial activity. Better results were for antifungal activity. [TEA][HOAc] exhibited better activity than corresponding complex. *Aspergillus* species were especially sensitive to [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]. The activity of this complex against *A. restrictus*, *A. fumigatus* was up to ten times higher than the activity of positive control, fluconazole.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

The term ionic liquids (ILs) refer to the compounds composed only of ions, and are liquid below 200 °C [1–4]. This relatively new class of substances is composed of an organic cation and an organic or inorganic anion, whose careful choice, provides their unique properties: *i*) good solvents for a wide range of organic, inorganic and organometallic compounds, *ii*) polar substances, *iii*) immiscible with a number of organic solvents, *iv*) ILs are thermally stable (are not explosive and flammable), and do not evaporate since they have very low vapor pressures. All these features significantly distinguish ILs from classical volatile and toxic organic solvents, and due to that are considered as environmentally friendly and more attractive and ecologically acceptable green solvents [5–12]. Ionic liquids attract much interest in the context of green chemistry, and they are one of the most exciting topics nowadays [13–15].

Recent studies have investigated the effects of ionic liquids on enzyme activity [16], mammalian cell lines [17], survivorship of the marine bacterium *Vibrio fischeri* [17], acute and chronic toxicity on *Daphnia magna* [18,19] and survivorship and life history of the freshwater snail, *Physa acuta* [20]. The effect of ionic liquids on microorganisms has been also studied. Scientists noted that antimicrobial activity is greatly affected by the alkyl chain length. Pernak et al. [21,22] and Roslonkiewicz et al. [23] have reported a trend of increasing toxicity towards a range of bacteria and fungi with increasing chain

length of alkyl substituents in pyridinium, imidazolium and quaternary ammonium salts. The antimicrobial activities of five new groups of choline-like quaternary ammonium chloride ionic liquids were evaluated against a range of Gram positive and Gram negative bacteria [24]. The ionic liquids tested all showed good antimicrobial activity, and confirmed that lipophilicity was the main factor in determining antimicrobial activity. Recently, the antimicrobial activity of six common ionic liquids with halogen anion was tested and the results indicate that the growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* was inhibited in the presence of ionic liquids [25]. Carson et al. [26] reported for the first time the *in vitro* antibiofilm activity of a 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids while Busetti et al. [27] described the antimicrobial and antibiofilm activities of a range of 1-alkylquinolinium bromide ionic liquids. These ionic liquids exhibited potent antibiofilm activity which was also dependent on alkyl chain length.

The subject of numerous scientific papers relating to the palladium and its complexes is the examination of their biological activity. Some of these studies relate to the examination of their cytotoxicity [28–32] and cardiotoxicity [33–35]. Published data on effects of palladium on heart showed that palladium(II) complexes and palladium in the form of organic compounds, do not contribute significantly to cardiotoxicity, while inorganic compounds of palladium are more toxic to myocardium. The main reason for studying palladium(II) complexes as potential antitumor drugs is the significant similarity of the coordination chemistry between palladium(II) and platinum(II) compounds. It was shown that palladium complexes are not promising as anticancer drugs, but they are good models for the mechanistic study of the activity of the analogous Pt(II) complexes.

\* Corresponding author. Tel.: +381 34 336 223, +381 34 335 039.

E-mail address: [zorica@kg.ac.rs](mailto:zorica@kg.ac.rs) (Z.D. Petrović).



Antimicrobial activity of the Pd(II) complexes [36–38] and the ability to hydrolyse peptide bond in peptides and proteins, as well as their behavior as artificial metalloproteinases [39–42] are studied, also. Many investigations of the antimicrobial activity of Pd(II) complexes and their ligands showed that the complexes are more active than the ligands, that they could possibly be used as broad spectrum antibiotics in the near future.

The aim of this study was to investigate *in vitro* antibacterial and antifungal activity of the ionic liquids triethanolamine acetate [TEA][HOAc] and diethanolamine chloride [HDEA][Cl], and their Pd(II) complexes *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] and [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>], recently synthesized [43,44].

## 2. Experimental

Nutrient liquid medium, a Mueller–Hinton broth was from Liofilchem, Italy, while a Sabouraud dextrose broth was from Torlak, Belgrade. An antibiotic, doxycycline, was purchased from Galenika A.D., Belgrade, and antimycotic, fluconazole, was from Pfizer Inc., USA.

### 2.1. DFT studies

The geometrical parameters of all stationary points were optimized with Gaussian09 [45], using the CPCM model, and dimethyl sulfoxide as solvent ( $\epsilon = 46.83$ ). All calculations were performed using the M06 functional [46]. The triple split valence basis set 6-311 + G(d,p) was used for C, H, O, N, and Cl, whereas LANL2DZ + ECP [47] was employed for the Pd center. All calculated structures were confirmed to be local minima (all positive vibrational frequencies) for ground state structures by frequency calculations. The natural bond orbital analysis (Gaussian NBO version) was performed for all structures.

### 2.2. Microbiological assays

#### 2.2.1. Test microorganisms

Antimicrobial activity of the complex and its precursors was tested against 29 microorganisms. The experiment involved 16 strains of pathogenic bacteria, including 7 standard strains (*E. coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus mirabilis* ATCC12453) and 9 clinical isolates (*E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. lutea*, *B. subtilis*, *P. mirabilis*, *Salmonella enterica*, *Salmonella typhimurium*). Also, five species of pathogenic fungi (*Aspergillus fumigatus* PMFKG-F23; *Aspergillus flavus* PMFKG-F24; *Aspergillus restrictus* PMFKG-F25; *Aspergillus niger* PMFKG-F26 and standard strain *A. niger* ATCC 16404); three yeast species (*Candida albicans* (clinical isolate), *C. albicans* ATCC 10231 and *Rhodotorula sp.* PMFKG-F27) and five species of probiotics (*Lactobacillus plantarium* PMFKG-P31, *B. subtilis* IP 5832 PMFKG-P32, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* PMFKG-P33, *Lactobacillus rhamnosus* PMFKG-P35 and *Saccharomyces boulardii* PMFKG-P34) were tested. All clinical isolates were generous gift from the Institute of Public Health, Kragujevac. The other microorganisms were provided from a collection held by the Microbiology Laboratory Faculty of Science, University of Kragujevac.

#### 2.2.2. Suspension preparation

Bacterial and yeast suspensions were prepared by the direct colony method. The turbidity of initial suspension was adjusted by comparing with 0.5 McFarland's standard [48]. Initial bacterial suspension contains about 10<sup>8</sup> colony forming unites (CFU)/mL and suspension of yeast contains 10<sup>6</sup> CFU/mL. 1:100 dilutions of initial suspension were additionally prepared into sterile 0.85% saline. The suspensions of fungal spores were prepared by gentle stripping of spore from slopes with growing aspergilli. The resulting suspensions were 1:1000 diluted in sterile 0.85% saline.

#### 2.2.3. Microdilution method

*In vitro* antimicrobial activity was tested by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum microbicidal concentration (MMC) using microdilution method with resazurin [49]. Serial twofold dilutions of tested compounds were made in a concentration range from 1000 µg/mL to 7.81 µg/mL in sterile 96-well plates containing Mueller–Hinton broth for bacteria, and Sabouraud dextrose broth for fungi and yeasts. After that, 10 µL of diluted bacterial, yeast suspension and suspension of spores was added to each well to give a final concentration of 5 × 10<sup>5</sup> CFU/mL for bacteria, and 5 × 10<sup>3</sup> CFU/mL for fungi and yeast. Finally, 10 µL resazurin solution, as an indicator of microbial growth, was added to each well inoculated with bacteria and yeast. Resazurin is a blue non-fluorescent dye that becomes pink and fluorescent when reduced to resorufin by oxidoreductases within viable cells. The inoculated plates were incubated at 37 °C for 24 h for bacteria, 28 °C for 48 h for the yeast and 28 °C for 72 h for molds. MIC was defined as the lowest concentration of tested substance that prevented resazurin color change from blue to pink. For molds, MIC values of the tested substance were determined as the lowest concentration that visibly inhibited mycelia growth.

Doxycycline and fluconazole, dissolved in nutrient liquid medium, were used as a positive control. The tested compounds were dissolved in DMSO and then diluted into nutrient liquid medium to achieve a concentration of 10% DMSO. Solvent control test was performed to study an effect of 10% DMSO on the growth of microorganism. It was observed that 10% DMSO did not inhibit the growth of microorganism. Also, in the experiment, the concentration of DMSO was additionally decreased because of the twofold serial dilution assay (the working concentration was 5% and lower). Each test included growth control and sterility control. All tests were performed in duplicate and MICs were constant.

Minimum bactericidal and fungicidal concentration (MBC/MFC) was determined by plating 10 µL of samples from wells, where no indicator color change was recorded, on nutrient agar medium. At the end of the incubation period the lowest concentration with no growth (no colony) was defined as minimum microbicidal concentration.

## 3. Results and discussion

The ionic liquids [TEA][HOAc] and [HDEA][Cl] were prepared by dropping the stoichiometric amount of acetic acid or hydrochloric acid to the dichloromethane solution of corresponding amino alcohol (TEA or DEA) [43,44]. The reactions of PdCl<sub>2</sub> with these ionic liquids, in molar ratio 1:2, afford the complexes *trans*-dichlorobis(triethanolamine-N)palladium(II) (*trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>]) and diethanolammonium-tetrachloridopalladate(II) ([HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]), respectively [43,44].

The structures of ionic liquids [TEA][HOAc] and [HDEA][Cl], and of complexes *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] and [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] were examined using DFT method. Since the biological evaluation was performed in DMSO as solvent, the optimization of the investigated compounds was done in DMSO as solvent, Fig. 1. The NBO analysis reveals N–H bonds in both ionic liquids, implying that they consist of acetate and chloride anion, and triethanolammonium and diethanolammonium cations, respectively. Bond distances reveal strong hydrogen bonding in all ILs, Table S1 of Supplementary data. The NBO analysis is in accordance with this finding. Namely, there is strong donation of density from the p orbitals on O to the  $\sigma^*$  antibonding N–H orbital of [TEA][HOAc]. Similarly, the p orbitals on Cl delocalize into the  $\sigma^*$  antibonding N–H orbital of [HDEA][Cl]. Owing to hydrogen bonding, it is obvious that molecular association is present. In addition, the molecules are polar (nitrogen, oxygen and chlorine bear partial negative charge, whereas H is partially positively charged). These properties are characteristic for molecular liquids.

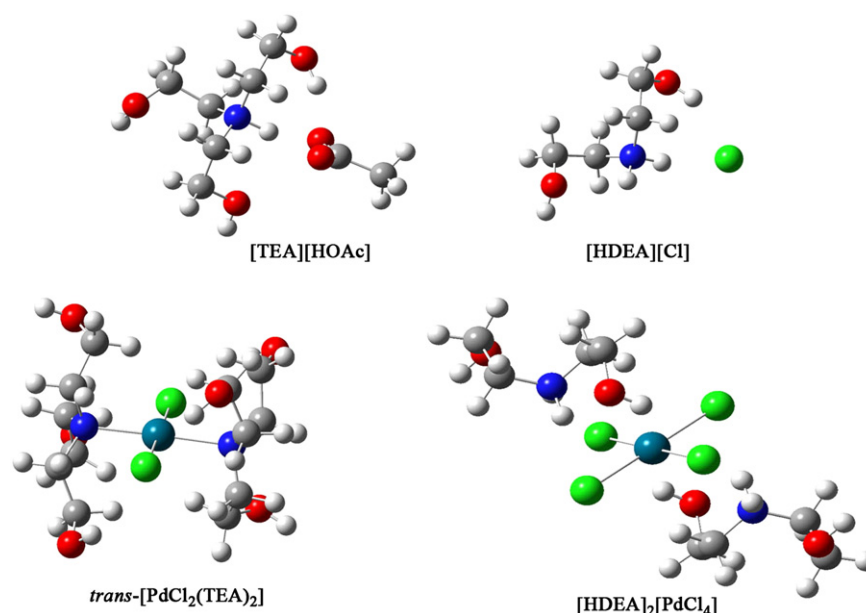


Fig. 1. The optimized structures of [TEA][HOAc] and [HDEA][Cl] ionic liquids, and of *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] and [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] complexes.

The *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] complex exhibits a square planar coordination. According to the NBO analysis, palladium is sp<sup>2</sup>d hybridized, and builds covalent bonds with both nitrogens and both chlorines. The sp<sup>3</sup> orbitals of the Cl atoms and almost pure p orbitals of the N atoms participate with about 88% in the bonds around palladium. There is strong donation of density from each Pd–N bond to the adjacent σ\* antibonding Pd–N orbital. As a consequence, the occupancies in the Pd–N orbitals are noticeable low (1.83).

The optimized structure of [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] complex is presented in Fig. 1. [PdCl<sub>4</sub>]<sup>2-</sup> anion exhibits a square planar coordination, where the four chlorine anions lie in the equatorial plane, whereas the two protonated diethanolamine cations form hydrogen bonding with chlorido ligands. Cis- and trans-chlorido ligands form with palladium bond angles of 90° and 180°, respectively. The Pd–Cl bond length is equal to 2.38 Å, whereas the distances between chlorido ligands and hydrogens bonded to nitrogen lie in the range of 2.33–2.48 Å. The NBO analysis of the complex reveals covalent Pd–Cl

bonds, with hybrid compositions of 0.41(sp<sup>2</sup>d)Pd + 0.91(sp<sup>3</sup>)Cl. Lower occupancy in all σ Pd–Cl orbitals (1.90) is due to donation of density from each σ bonding orbital to the trans-σ\* Pd–Cl antibonding orbital, in accord with the usual chemical picture of delocalized chemical systems.

*In vitro* antibacterial and antifungal activity of the ionic liquids, [TEA][HOAc] and [HDEA][Cl], and their corresponding Pd(II) complexes, *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] and [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>], were tested in relation to considerable number of microorganisms, including human pathogenic bacteria, probiotics, yeasts, molds, in order to evaluate broad-spectrum antimicrobial activity. The tested compounds showed low antimicrobial activity or no activity at tested concentrations (Tables 1 and 2). There was no significant difference in activity between corresponding complexes and its precursors. Detectable MIC values were in range from 15.6 μg/ml to 1000 μg/ml, while MMC were at 125 μg/ml and 1000 μg/ml. The most sensitive bacterium was probiotic *B. subtilis* IP 5832 in case of *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] and

Table 1  
Antibacterial activity of [TEA][HOAc], [HDEA][Cl] and corresponding complex (μg/mL).

Species	<i>trans</i> -[PdCl <sub>2</sub> (TEA) <sub>2</sub> ]		[TEA][HOAc]		[HDEA] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ]		[HDEA][Cl]		Doxycycline	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	> 1000	> 1000	1000	> 1000	500	1000	500	1000	<0.448	7.81
<i>Sarcina lutea</i>	> 1000	> 1000	1000	> 1000	500	1000	500	> 1000	<0.448	3.75
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	> 1000	> 1000	1000	> 1000	250	1000	250	> 1000	7.81	62.5
<i>Enterococcus faecalis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	7.81	62.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1000	> 1000	> 1000	> 1000	62.5	125	125	500	1.953	31.25
<i>Bacillus subtilis</i>	1000	> 1000	> 1000	> 1000	250	1000	1000	> 1000	0.112	1.95
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	62.5	> 1000	250	> 1000	0.224	3.75
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	0.448	7.81
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	15.625	31.25
<i>Escherichia coli</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	7.81	15.63
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1000	> 1000	> 1000	> 1000	500	1000	> 1000	> 1000	62.5	125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	500	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	250	> 250
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	500	1000	> 1000	> 1000	15.625	62.5
<i>Proteus mirabilis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	250	> 250
<i>Salmonella enterica</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	15.625	31.25
<i>Salmonella typhimurium</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	15.625	125
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1000	> 1000	500	> 1000	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	7.81	31.25
<i>Lactobacillus plantarum</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	500	> 1000	1000	> 1000	0.448	7.81
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	31.25	62.5
<i>Bacillus subtilis</i> IP 5832	125	> 1000	> 1000	> 1000	250	> 1000	500	> 1000	1.95	15.63

N.T. – not tested.

**Table 2**  
Antifungal activity of [TEA][HOAc], [HDEA][Cl] and corresponding complex ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Species	<i>trans</i> -[PdCl <sub>2</sub> (TEA) <sub>2</sub> ]		[TEA][HOAc]		[HDEA] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ]		[HDEA][Cl]		Fluconazole	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000	31.25	1000
<i>Candida albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000	62.5	1000
<i>Rhodotorula sp.</i>	1000	1000	1000	1000	> 1000	> 1000	500	1000	62.5	1000
<i>Saccharomyces boulardii</i>	1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000	31.25	1000
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	1000	> 1000	500	> 1000	125	250	> 1000	> 1000	62.5	62.5
<i>Aspergillus niger</i>	1000	> 1000	250	500	125	250	> 1000	> 1000	500	1000
<i>Aspergillus restrictus</i>	> 1000	> 1000	1000	1000	62.5	125	> 1000	> 1000	500	1000
<i>Aspergillus fumigatus</i>	> 1000	> 1000	500	1000	15.6	15.6	> 1000	> 1000	500	1000
<i>Aspergillus flavus</i>	1000	> 1000	500	500	1000	1000	> 1000	> 1000	1000	1000

*B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923 in case of [PdCl<sub>4</sub>(DEAH)<sub>2</sub>]. It is known that certain bacteria can utilize ethanolamines as source of carbon and/or nitrogen. This process, encoded by genes located together on the chromosome in the ethanolamine utilization operon (*eut*), is characteristic for species of *Salmonella*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Escherichia* [50]. This could be explaining the low antibacterial activity of tested compounds. Antifungal activity was better against molds than yeasts. *C. albicans*, clinical and standard strain, was resistant. Better results were for *Aspergillus* species, MIC values were between 15.6 and 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . [TEA][HOAc] exhibited better activity than corresponding complex with MIC values from 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  to 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Sensitivity of *Aspergillus* species were increased especially to [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]. The activity of [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] against *A. restrictus*, *A. fumigatus* was up to ten times higher than the activity of positive control, fluconazole.

#### 4. Conclusion

The structures of ionic liquids [TEA][HOAc] and [HDEA][Cl], and of complexes *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(TEA)<sub>2</sub>] and [HDEA][PdCl<sub>4</sub>] are investigated using DFT method. These compounds were tested for their *in vitro* antibacterial and antifungal activity. It was shown that complexes and their precursors showed low antimicrobial activity. Antibacterial activity was recorded against certain G<sup>+</sup> bacteria (*S. lutea*, *E. faecalis*, *B. subtilis*), probiotics (*L. rhamnosus*, *B. subtilis* IP 5832) and strains of *P. aeruginosa*. Antifungal activity was better against molds than yeasts. *Aspergillus* species were affected by tested compounds while *C. albicans*, clinical and standard strain, was resistant. The ionic liquid [TEA][HOAc], and especially complex [HDEA][PdCl<sub>4</sub>], with their high activity against *Aspergillus* species, can be considered as agents with potential antifungal activity, and therefore candidates for further stages of screening *in vitro* and/or *in vivo*.

#### Acknowledgment

This work was supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (projects No 172016, 173032).

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at doi:10.1016/j.molliq.2012.03.009.

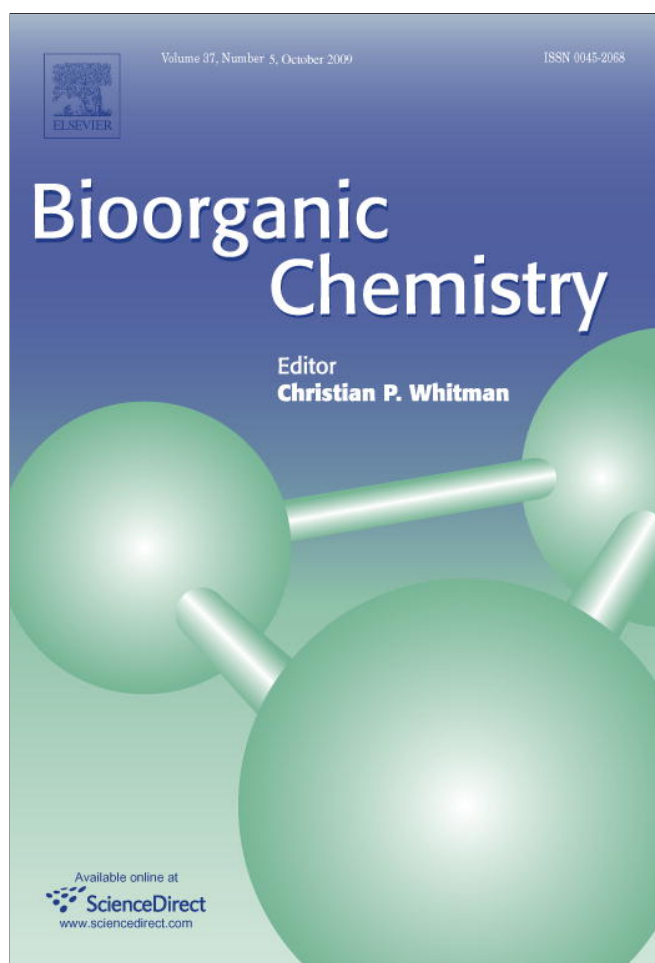
#### References

- [1] H. Weingartner, *Angewandte Chemie International Edition* 47 (2008) 654–670.
- [2] R.A. Sheldon, *Green Chemistry* 7 (2005) 267–278.
- [3] B.L. Bhargava, S. Balasubramanian, M.N. Klein, *Chemical Communications* (2008) 3339–3351.
- [4] T. Welton, *Coordination Chemistry Reviews* 248 (2004) 2459–2477.
- [5] J. Gorman, *Science News* 160 (2001) 156–158.
- [6] J.F. Brennecke, E.J. Maginn, *AIChE Journal* 47 (2001) 2384–2388.
- [7] Q. Yang, D.D. Dionysiou, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 165 (2004) 229–240.
- [8] K.R. Seddon, *Kinetics and Catalysis* 37 (1996) 693–697.
- [9] C. Lagrost, D. Carrié, M. Vaultier, P. Hapiot, *Journal of Physical Chemistry A* 107 (2003) 745–752.
- [10] A. Shariati, C.J. Peters, *Journal of Supercritical Fluids* 34 (2005) 171–176.
- [11] A. Shariati, K. Gutkowski, C.J. Peters, *AIChE Journal* 51 (2005) 1532–1540.
- [12] H. Zhao, S. Xia, P. Ma, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80 (2005) 1089–1096.
- [13] J. Li, Y. Peng, G. Song, *Catalysis Letters* 102 (2005) 159–162.
- [14] G.W. Kabalka, K.B. Ven, G. Dong, *Tetrahedron Letters* 45 (2004) 729–731.
- [15] S. Sahoo, T. Joseph, S.B. Halligudi, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 244 (2006) 179–182.
- [16] F. Stock, J. Hoffmann, J. Ranke, R. Störmann, B. Ondruschka, B. Jastorff, *Green Chemistry* (2004) 286–290.
- [17] J. Ranke, K. Mölter, F. Stock, U. Bottin-Weber, J. Poczbott, J. Hoffmann, B. Ondruschka, J. Filser, B. Jastorff, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58 (2004) 396–404.
- [18] R.J. Bernot, M.A. Brueseke, M.A. Evans-White, G.A. Lamberti, *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (2005) 87–92.
- [19] M.J. Villaroel, E. Sancho, M.D. Ferrando, E. Andreu, *Chemosphere* 53 (2003) 857–864.
- [20] R.J. Bernot, E.E. Kennedy, A.G.A., *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (2005) 1759–1765.
- [21] J. Pernak, K. Sobaszkiwicz, I. Mirska, *Green Chemistry* 5 (2003) 52–56.
- [22] J. Pernak, I. Goc, I. Mirska, *Green Chemistry* 6 (2004) 323–329.
- [23] A.C. Roslonkiewicz, J. Pernak, J.K. Feder, A. Ramani, A.J. Robertson, K.R. Seddon, *Green Chemistry* 7 (2005) 855–862.
- [24] J. Pernak, P. Chwala, *Chemistry: A European Journal* 38 (2003) 1035–1042.
- [25] Y. Yu, Y. Nie, *Journal of Environmental Protection* 2 (2011) 298–303.
- [26] L. Carson, P.K.W. Chau, M.J. Earle, M.A. Gilea, B.F. Gilmore, S.P. Gorman, M.T. McCann, K.R. Seddon, *Green Chemistry* 11 (2009) 492–497.
- [27] A. Busetti, D.E. Crawford, M.J. Earle, M. Gilea, B.F. Gilmore, S.P. Gorman, G. Laverly, A.F. Lowry, M. McLaughlin, K.R. Seddon, *Green Chemistry* 12 (2010) 420–425.
- [28] M. Islami-Moghaddam, H. Mansouri-Torshizi, A. Divsalar, A.A. Saboury, *Journal of the Iranian Chemical Society* 6 (2009) 552–569.
- [29] Z. Trávníček, L. Szűčová, I. Popa, *Journal of Inorganic Biochemistry* 101 (2007) 477–492.
- [30] A.S. Abu-Surrah, H.H. Al-Sa'doni, M.Y. Abdalla, *Cancer Therapy* 6 (2008) 1–10.
- [31] G. Zhao, H. Sun, H. Lin, P. Yu, S. Zhu, X. Su, Y. Chen, *Journal of Inorganic Biochemistry* 72 (1998) 173–177.
- [32] G. Zhao, H. Lin, P. Yu, H. Sun, S. Zhu, X. Su, Y. Chen, *Journal of Inorganic Biochemistry* 73 (1999) 145–149.
- [33] N.P. Sudheesh, T.A. Ajith, K.K. Janardhanan, C.V. Krishnan, *Food and Chemical Toxicology* 47 (2009) 2124–2128.
- [34] N.P. Sudheesh, T.A. Ajith, K.K. Janardhanan, C.V. Krishnan, *Food and Chemical Toxicology* 4 (2010) 1858–1862.
- [35] T. Perić, V.Lj. Jakovljević, V. Zivković, J. Krkeljić, Z.D. Petrović, D. Simijonović, S. Novokmet, D.M. Djurić, S.M. Janković, *Medicinal Chemistry* 8 (2012) 9–13.
- [36] B.T. Khan, J. Bhatt, K. Najmoddin, S. Shamsuddin, K. Annapoorna, *Journal of Inorganic Biochemistry* 44 (1991) 55–63.
- [37] C. Navarro-Eanninger, J.M. Pérez, F. Zamora, V.M. Gonzáles, J.M. Masaguer, C. Alonso, *Journal of Inorganic Biochemistry* 52 (1993) 37–49.
- [38] I. Brudzinska, Y. Mikata, M. Obata, C. Ohtsuki, S. Yano, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14 (2004) 2533–2536.
- [39] M.N. Milović, N.M. Kostić, in: A. Sigel, H. Sigel (Eds.), *Metal Ions in Biological Systems, Pd(II) and Pt(II) Complexes as Synthetic Peptidases*, XXXVIII, Marcel Dekker Inc., New York, 2001, pp. 145–186.
- [40] Z.D. Petrović, M.I. Djuran, F.W. Heinemann, S. Rajković, S. Trifunović, *Bioorganic Chemistry* 34 (2006) 225–234.
- [41] Z.D. Petrović, D. Hadjipavlou-Litina, V.P. Petrović, *Journal of Molecular Liquids* 144 (2009) 55–58.
- [42] Z.D. Petrović, D. Hadjipavlou-Litina, E. Pontiki, D. Simijonović, V.P. Petrović, *Bioorganic Chemistry* 37 (2009) 162–166.
- [43] Z.D. Petrović, S. Marković, V.P. Petrović, D. Simijonović, *Journal of Molecular Modeling* 18 (2012) 433–440.
- [44] Z.D. Petrović, D. Simijonović, V.P. Petrović, S. Marković, *Journal of Molecular Catalysis A* 327 (2010) 45–50.



- [45] M.J. Frisch, W.G. Trucks, B.H. Schlegel, E.G. Scuseria, A.M. Robb, R.J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, A.G. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, P.H. Hratchian, F.A. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, L.J. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, A.J. Montgomery Jr., E.J. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, N.K. Kudin, N.V. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, C.J. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, E.R. Stratmann, O. Yazyev, J.A. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, W.J. Ochterski, L.R. Martin, K. Morokuma, G.V. Zakrzewski, A.G. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, D.A. Daniels, O. Farkas, B.J. Foresman, V.J. Ortiz, J. Cioslowski, J.D. Fox, Gaussian 09 Rev A.1, Gaussian Inc., Wallingford, 2009.
- [46] Y. Zhao, E.N. Schultz, G.D. Truhlar, *Journal of Chemical Theory and Computation* 2 (2006) 364–382.
- [47] J.P. Hay, R.W. Wadt, *Journal of Chemical Physics* 82 (1985) 270–283.
- [48] J.M. Andrews, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 (2001) 5–16.
- [49] S.D. Sarker, L. Nahar, Y. Kumarasamy, *Methods* 42 (2007) 321–324.
- [50] D.A. Garsin, *Nature Reviews Microbiology* 8 (2010) 290–295.

Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

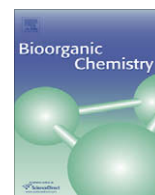
In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Contents lists available at ScienceDirect

## Bioorganic Chemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/bioorg](http://www.elsevier.com/locate/bioorg)

## Diethanolamine Pd(II) complexes in bioorganic modeling as model systems of metallopeptidases and soybean lipoxygenase inhibitors

Zorica D. Petrović<sup>a,\*</sup>, Dimitra Hadjipavlou-Litina<sup>b,\*</sup>, Eleni Pontiki<sup>b</sup>, Dušica Simijonović<sup>a</sup>, Vladimir P. Petrović<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, P.O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

<sup>b</sup> Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 18 June 2009

Available online 18 July 2009

## Keywords:

Palladium(II) complex

Structure

Hydrolytic activity

Soybean lipoxygenase inhibitors

Free radical scavenger activity

## ABSTRACT

The reaction of PdCl<sub>2</sub> with diethanolammonium chloride (DEAxHCl), in the molar ratio 1:2, affords the [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] complex (**1**). The hydrolytic activity of the novel Pd(II) complex **1** was tested in reaction with *N*-acetylated *L*-histidylglycine dipeptide (AcHis-Gly). Complex **1**, as well as earlier prepared *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] complex (**2**), and DEA, as their precursor, were tested for their *in vitro* free radical scavenging activity. UV absorbance-based enzyme assays were done in order to evaluate their inhibitory activity of soybean lipoxygenase (LOX). Also, assays with superoxide anion radical were done. The scavenging activities of the complexes were measured and compared with those of their precursors and caffeic acid. Complex **2** exhibits the highest antioxidant activity and the highest inhibitory effect against the soybean LOX.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

It was shown that some of palladium(II) complexes, as model systems in bioorganic chemistry, can be interesting as artificial metallopeptidases, inhibitors of enzymes, and free radical scavengers.

Interest in the study of interactions of platinum(II) and palladium(II) complexes with sulfur- and histidine-containing peptides and proteins became of capital importance after the discovery that their aqua complexes can be promising reagents for the selective hydrolytic cleavage of the above mentioned peptides [1–12]. Furthermore, it was found that some of palladium complexes can be enzyme inhibitors. These compounds inhibit various enzymes such as RNA polymerase [13], topoisomerase III, reverse transcriptase (by free radical generation) [14], leukemia virus reverse transcriptase [15], cellobiohydrolase [16], and soybean LOX [11]. Some palladium complexes have been evaluated for their anti-inflammatory and antioxidant activities *in vitro*, whereby palladium complexes exhibited higher activity compared to the activity of the ligand [12,17,18].

The lipoxygenases are non-heme iron containing enzymes which catalyze the oxidative metabolism of fatty acids, and are useful target for the design and development of new drugs that substantially inhibit the generation of the final inflammatory

products and the propagation of inflammation [19,20]. Linoleic acid is the primary substrate in the reaction of dioxygenation of polyunsaturated fatty acids catalyzed by plant LOX, while the mammalian isozymes mainly catalyze the metabolism of arachidonic acid [21]. In mammalian cells, LOXs play an essential role in the biosynthesis of many bioregulatory molecules such as leukotrienes, lipoxins and hepxoylines. These compounds are mediators in the pathophysiology of variety of diseases, for example bronchial asthma, psoriasis and inflammation [22]. The fatty acid hydroperoxides, generated in the reaction of dioxygenation of polyunsaturated fatty acids catalyzed by LOX, significantly contribute to the creation of atherosclerotic lesions [23]. These compounds have critical influence on the development of several human cancers [24]. For these reasons, extensive research was done to find efficient inhibitors of LOX activity [21,25–33]. Most of these studies have used readily obtainable soybean lipoxygenase, which is a homologue of mammalian lipoxygenase and well examined [34,35]. Most of the lipoxygenases inhibitors are antioxidants or free radical scavengers, since lipoxygenation occurs via a carbon-centered radical.

In the present study, a new diethanolammonium-tetrachloridopalladate(II) complex (**1**) ([HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]), where DEA is diethanolamine), was synthesized and employed to study its hydrolytic activity in the reaction with *N*-acetylated *L*-histidylglycine dipeptide (AcHis-Gly). New complex **1** and earlier prepared diethanolamine complex *trans*-[PdCl<sub>2</sub>(DEA)<sub>2</sub>] complex (**2**), as well as diethanolamine, precursor of these compounds, were tested for their LOX inhibitory activity and free radical scavenging activity.

\* Corresponding authors.

E-mail addresses: [zorica@kg.ac.rs](mailto:zorica@kg.ac.rs) (Z.D. Petrović), [hadjipav@pharm.auth.gr](mailto:hadjipav@pharm.auth.gr) (D.Hadjipavlou-Litina).

## 2. Materials and methods

The compounds  $D_2O$ ,  $DNO_3$ , and  $PdCl_2$  were obtained from Aldrich Chemical Co. All common chemicals were of reagent grade. Dipeptide *L*-histidylglycine (His-Gly), soybean lipoxygenase, linoleic acid sodium salt, NADH, and nitrotetrazolium blue (NBT) were obtained from Sigma Chemical Co. *N*-methylphenazonium-methyl sulfate and diethanolamine (DEA;  $NH(CH_2CH_2OH)_2$ ) were purchased from Fluka. The terminal amino group in His-Gly was acetylated by standard method to obtain AcHis-Gly [1].

All pH measurements were made at 25 °C. The pH meter (Iskra MA 5704) was calibrated with Fischer certified buffer solutions of pH 4.00 and 7.00. The results were not corrected for the deuterium isotope effect. Reactions of AcHis-Gly with palladium(II) complex in  $D_2O$  solutions were followed by  $^1H$  NMR spectroscopy using a Varian 200 MHz spectrometer. The palladium(II) complex **1** and peptide were mixed in an NMR tube in molar ratio 1:2. The pH was 2.0. The internal reference was TSP (sodium trimethylsilylpropane-3-sulfonate). The IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer using the KBr pellet technique. Elemental microanalyses for carbon, hydrogen, and nitrogen were performed at the Faculty of Chemistry, Belgrade University.

### 2.1. Computational method

All calculations were conducted using Gaussian03 [36] with the B3LYP hybrid functional [37–39]. The triple split valence basis set 6-311G(d,p) was used for C, H, O, N, and Cl [40], whereas LANL2DZ + ECP [41] was employed for the Pd center. Geometrical parameters of all investigated species were optimized in vacuum. Vibrational analysis was performed for all structures. All calculated structures were verified to be local minima (all positive eigenvalues) for ground state structures by frequency calculations. The natural bond orbital analysis [42,43] (Gaussian NBO version) was performed for all structures.

## 3. Synthesis of the diethanolammonium–tetrachloridopalladate (II) complex, $[HDEA]_2[PdCl_4]$

### 3.1. Synthesis of the diethanolammonium chloride, $[HDEA]Cl$

Diethanolamine hydrochloride was prepared by slowly dropping hydrochloric acid to diethanolamine dichlorometane solution. Hydrochloric acid was added excessively to 5% of the stoichiometric amount. Resulting solution was mixed during 2 h at room temperature. Finally, volatile component was evaporated in vacuo. Prepared ionic liquid is colourless viscous liquid whose boiling point is 112 °C.

Spectral characterization of the ionic liquid  $[HDEA]Cl$ :  $^1H$  NMR spectrum (200 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta = 3.266$  (4H,  $-CH_2-NH_2$ , t,  $J = 5.0$  Hz) ppm; 3.891 (4H,  $-CH_2-OH$ , t,  $J = 5.0$  Hz) ppm. IR (film):  $\nu = 325$ , 631, 949, 1039, 1064, 1408, 2852, 3336, 3384  $cm^{-1}$ .

### 3.2. Synthesis of the $[HDEA]_2[PdCl_4]$ complex

The  $[HDEA]_2[PdCl_4]$  complex was synthesized starting from  $PdCl_2$  and two equivalents of diethanolamine hydrochloride, according to the procedure published earlier [11]. In the course of 3 h, the reaction of 0.1774 g (0.001 mol) of  $PdCl_2$  dissolved in 15 mL of water with 0.283 g (0.002 mol) of diethanolamine hydrochloride, at 50–60 °C, afforded an orange–brown solution which was left at room temperature for 2 days. The precipitated brown crystals were filtered off, washed with ethanol, air-dried and showed a melting point of 115–116 °C. Yield 0.446 g (97%). Calculated for  $[HDEA]_2[PdCl_4] = C_8H_{22}O_4N_2Cl_4Pd$  ( $FW = 460.42$ ): C, 20.95; N, 6.09; H, 5.21%; found: C, 21.01; N, 6.13; H, 5.18%.

Spectral characterization of the complex  $[HDEA]_2[PdCl_4]$ :  $^1H$  NMR spectrum (200 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta =$ , t, 3.24 (4H,  $-CH_2-NH$   $J = 5.2$  Hz), 3.86 (4H,  $-CH_2-OH$ , t,  $J = 5.2$  Hz) ppm; IR (KBr):  $\nu = 323$ , 698, 958, 1065, 1088, 1405, 1574, 2874, 3299, 3343  $cm^{-1}$ .

### 3.3. Soybean lipoxygenase inhibition study in vitro

*In vitro* study was evaluated as reported previously [44]. The tested compounds dissolved in ethanol were incubated at room temperature with sodium linoleate (0.1 mM) and 0.2  $cm^3$  of enzyme solution ( $1/9 \times 10^{-4}$  w/v in saline). The conversion of sodium linoleate to 13-hydroperoxylinoleic acid at 234 nm was recorded and compared with the appropriate standard inhibitor.

### 3.4. Assay of superoxide anion radical scavenging activity [44,45]

The superoxide-producing system was set up by mixing phenazine methylsulfate (PMS), NADH and air-oxygen. The production of superoxide was estimated by the nitroblue tetrazolium method. The reaction mixture containing investigated compound, 3  $\mu M$  PMS, 78  $\mu M$  NADH, and 25  $\mu M$  NBT in 19  $\mu M$  phosphate buffer pH 7.4 was incubated for 2 min at room temperature and the absorption measured at 560 nm against a blank containing PMS. The tested compounds were preincubated for a blank containing PMS. The tested compounds were preincubated for 2 min before adding NADH.

## 4. Results and discussion

### 4.1. Structure examination of $[HDEA]_2[PdCl_4]$ complex (**1**)

The structure of complex  $[HDEA]_2[PdCl_4]$  was examined using DFT method. The optimized structure of complex is presented in Fig. 1.  $[PdCl_4]^{2-}$  anion exhibits square planar coordination, where the four chlorine anions lie in the equatorial plane, whereas the two protonated diethanolamine cations form hydrogen bonding with chlorido ligands. *Cis*- and *trans*-chlorido ligands form with palladium bond angles of 90° and 180°, respectively. The Pd–Cl bond length is equal to 2.40 Å, whereas the distances between chlorido ligands and hydrogens bonded to nitrogen lie in the range of 2.10–2.15 Å. The NBO analysis of the complex reveals covalent Pd–Cl bonds, with hybrid compositions of 0.41( $sp^2d$ )<sub>Pd</sub> + 0.91( $sp^{5.80}$ )<sub>Cl</sub>.

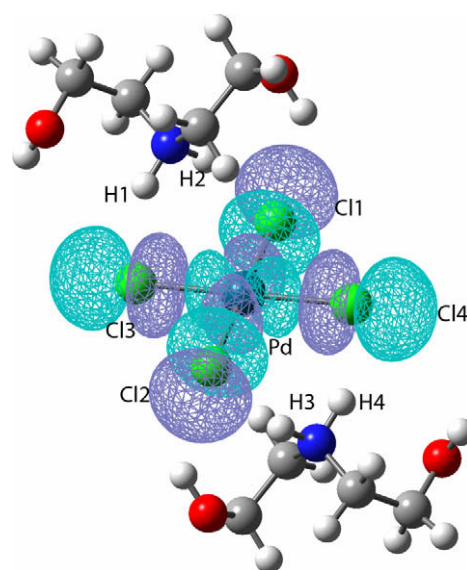


Fig. 1. Optimized geometry of complex **1** with delineated LUMO map.

Lower occupancy in all  $\sigma$  Pd–Cl orbitals (1.90) is due to donation of density from each  $\sigma$  bonding orbital to the *trans*- $\sigma^*$  Pd–Cl antibonding orbital, in accord with the usual chemical picture of delocalized chemical systems.

The vibrational analysis of complex **1** was performed. There are characteristic vibrations at  $3740\text{ cm}^{-1}$  (stretching vibrations of OH groups of protonated diethanolamine),  $3128$  and  $3042\text{ cm}^{-1}$  (stretching vibrations of  $\text{NH}_2^+$  ions),  $1623\text{ cm}^{-1}$  (deformational vibrations of  $\text{NH}_2^+$  ions),  $3011\text{ cm}^{-1}$  (stretching vibrations of  $\text{CH}_2$  groups), and  $1505$  (deformational vibrations of  $\text{CH}_2$  groups). These values are significantly different from the experimental values of  $3343$ ,  $3051$ ,  $2874$ ,  $1574$ ,  $2912$ , and  $1455\text{ cm}^{-1}$ . It is well known that the computed values of vibrational frequencies contain systematic error due to neglect of electron correlation. There is also a contribution to the error due to the fact that the calculated frequencies come from treating the potential energy surface near the stationary point as a harmonic oscillator. In reality, the potential energy surface near the stationary point is generally anharmonic. This results in overestimating the vibrational frequencies values, on average, by anywhere between 0% and 20%, implying that they need to be scaled to provide satisfactory approximation of experimental vibrational frequencies. By applying a scaling factor for B3LYP/6-311G(d,p) of  $0.967 \pm 0.021$  [46] to the computed values of vibrational frequencies for complex **1**, the agreement with experimental data is improved. The only exception is the stretching vibration of OH groups of protonated diethanolamine, which can be attributed to association of complex via hydrogen bonds crosswise OH groups. Such agreement between experimental and computational

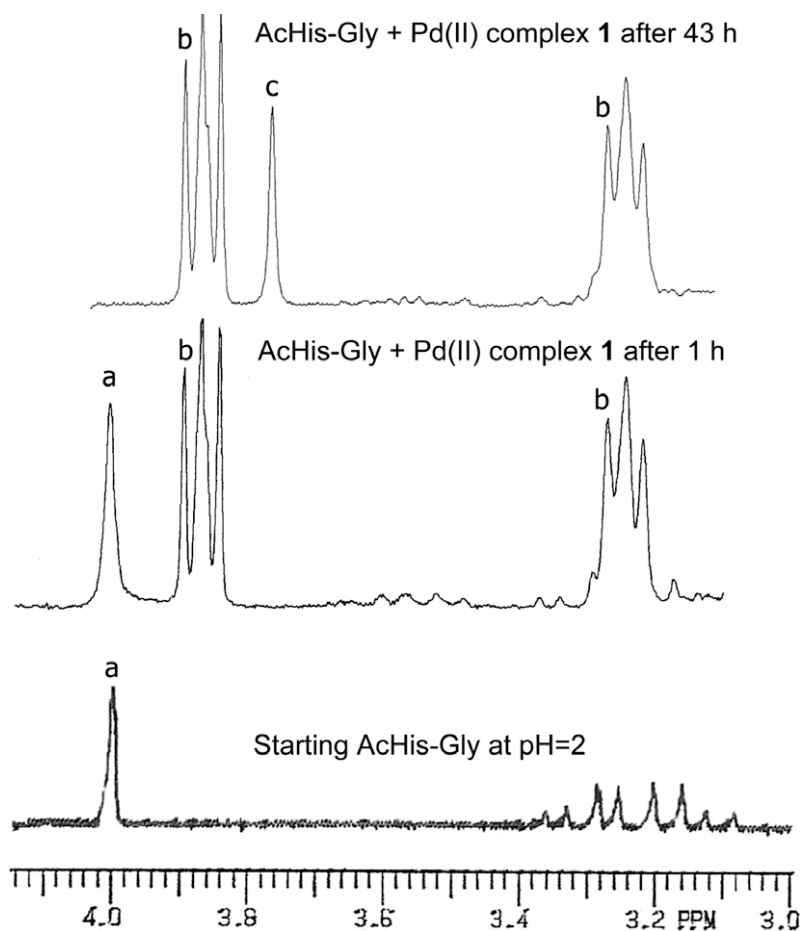
results confirms the predicted structure of complex **1**. These results were used in order to describe the structure–activity relationship (SAR) of complex compound **1**.

#### 4.2. Hydrolytic reaction of $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ complex with AcHis-Gly

The Pd(II)-diethanolamine complex *trans*- $[\text{PdCl}_2(\text{DEA})_2]$  [11] showed selective hydrolytic activity in the reaction with *N*-acetylated *L*-histidylglycine dipeptide (AcHis-Gly). We supposed that novel Pd(II)-diethanolamine complex **1** can be artificial metallopeptidase, also. To confirm our presumption, we performed the reaction of this complex and dipeptide AcHis-Gly (molar ratio 1:2) at pH 2.0 and  $60\text{ }^\circ\text{C}$  in  $\text{D}_2\text{O}$ , and studied by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. In our experiment, under the above mentioned conditions, only one complex and selective cleavage of peptide bond were observed after 15 h. The NMR spectra showed decreasing of the singlet at 4.00 (due to methylene glycine protons of the non-hydrolyzed substrate) and increasing of the singlet at 3.77 ppm for these protons in free glycine. After 43 h of heating the reaction mixture at  $60\text{ }^\circ\text{C}$ , the intensity of singlet at 3.77 ppm was not changed, Graphic 1. Addition of amino-acid glycine to the reaction mixture caused an increase of the signal at 3.77 ppm. Under these reaction conditions free acetic acid was not detected by NMR spectroscopy during investigated reaction time.

#### 4.3. Soybean lipoxygenase inhibition study *in vitro* [44]

In continuation of our study on biological significant derivatives of histidine, this part of our work is devoted to the study of *in vitro*



**Graphic 1.** Parts of  $^1\text{H}$  NMR spectra for the hydrolytic reaction of AcHis-Gly with  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  complex as function of time at pH = 2 and  $60\text{ }^\circ\text{C}$  in  $\text{D}_2\text{O}$  as solvent. The chemical shifts are in ppm relative to TSP. Resonance are indicated as follows: (a) methylene glycine protons of the starting dipeptide; (b) protons of the protonated diethanolamine units of the  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  complex (**1**); and (c) methylene protons of the free glycine.

inhibition of soybean lipoxygenase (LOX), as a histidine-containing enzyme. Availability and stability of mammalian lipoxygenases is limited, and therefore research on lipoxygenases was done with readily obtainable enzyme from soybean seeds. The active site in soybean LOX is non-heme Fe(III) atom coordinated by three histidines, isoleucine, asparagine and a hydroxide group [47], Fig. 2. Inhibition of this enzyme was investigated by using complexes **1** and **2**, and DEA.

Considering the radical mechanism of inhibition of LOX and the fact that palladium(II) ion is “soft” Lewis acid, we assumed that complexes **1** and **2** can act as free radical scavengers in LOX-catalyzed reaction of dioxygenation of fatty acids.

The generally accepted mechanism of action of LOX is radical mechanism which involves hydrogen abstraction from the fatty acid by the iron(III)-hydroxide group, accompanied with the reduction of LOX to Fe(II) form (Scheme 1). The obtained pentadienyl radical is then trapped by dioxygen to yield a peroxy radical of fatty acid as a catalytic intermediate. Reduction of the peroxy radical by the Fe(II) ion yields the hydroperoxide product and regenerates the Fe(III) ion (active LOX form) [48].

Studies on inhibitors of soybean LOX show several possible mechanisms, e.g., by binding inhibitor to sites around the active

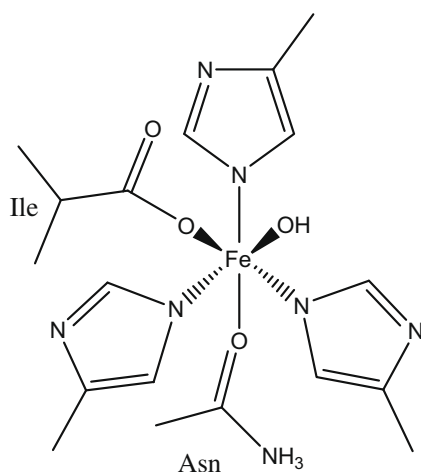


Fig. 2. The active site in soybean LOX.

site of the enzyme molecule [49], by preventing the formation of the activated Fe(III) form of LOX [50] or by trapping the free radicals formed during the lipoxygenase-catalyzed oxygenation of polyunsaturated fatty acids [51]. In our cases it is reasonable to expect that palladium(II)-chlorido complexes, as electrophiles, react as free radical scavengers by trapping radical intermediate(s) and blocking the catalytic cycle.

UV absorbance-based enzyme assays with diethanolamine palladium(II) complexes **1** and **2**, and DEA were done in order to evaluate their inhibitory activity of soybean LOX. Perusal of % inhibition values, or  $IC_{50}$  values, shows that DEA as a complex precursor has lower  $IC_{50}$  than complexes. Significant higher inhibitor activity of complex **1**, and especially **2**, relative to DEA (Table 1) clearly shows that palladium(II)-chlorido moiety of these complexes is meritorious for higher inhibitor activity. Complex **2** is very active and more potent than the reference compound caffeic acid. These results are supported by our DFT calculations and structure-activity relationship (SAR) investigation. In Fig. 1 the LUMO map of complex **1** is depicted. It is shown that the most electron-deficient area of complex **1** is delocalized over palladium (II) ion and four chlorido ligands, namely over the  $[PdCl_4]^{2-}$  ion. Therefore, the  $[PdCl_4]^{2-}$  moiety of the complex acts as weak Lewis acid capable for accepting electrons from other species, such as radicals. In case of complex **2**, LUMO orbital is delocalized over palladium (II) ion, two chlorido ligands and two nitrogen atoms of diethanolamine ligands, Fig. 3. For this reason, one can suppose that complexes **1** and **2** can be used as successful radical scavengers.

In order to prove free radical scavenger properties of complexes **1** and **2**, and DEA, assays *in vitro* with superoxide anion radical were done. The superoxide-producing system was set up by mixing phenazine methosulfate (PMS), nicotinamide-adenine-dinucle-

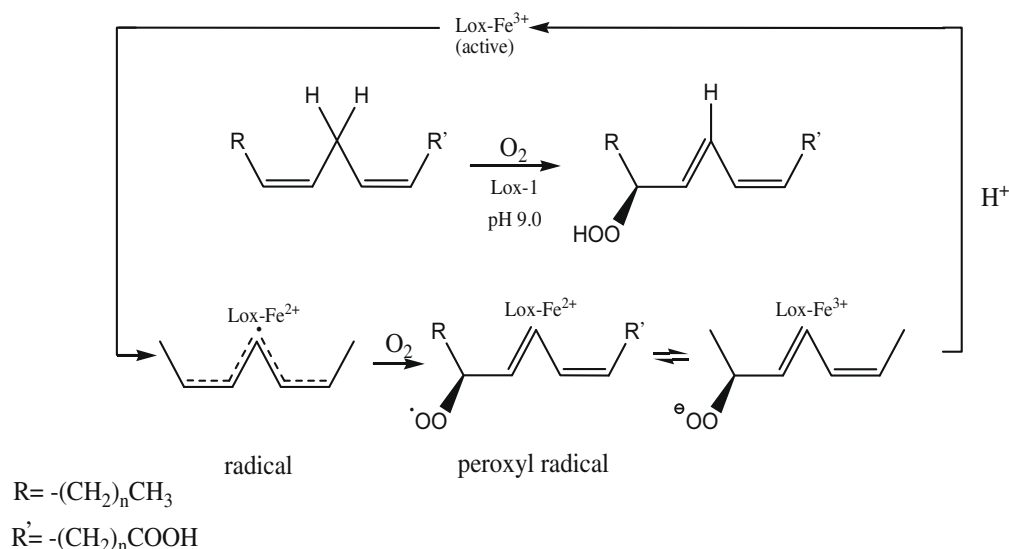
Table 1

% Superoxide radical scavenging activity ( $O_2^{\cdot-}$ ); *in vitro* inhibition of soybean lipoxygenase (LOX) ( $IC_{50}$ ).

Compound	( $O_2^{\cdot-}$ ) (%) 0.01 mM	( $O_2^{\cdot-}$ ) (%) 0.1 Mm	LOX $IC_{50}$ ( $\mu$ M)
Complex <b>1</b>	78	100	210
Complex <b>2</b>	64	100	76
DEA	83	92	500
CA		45	600

CA caffeic acid; DEA diethanolamine.

Each value represents the mean of two independent experiments.



Scheme 1. Radical mechanism for lipoxygenase-catalyzed oxidation of polyunsaturated fatty acids under aerobic conditions.



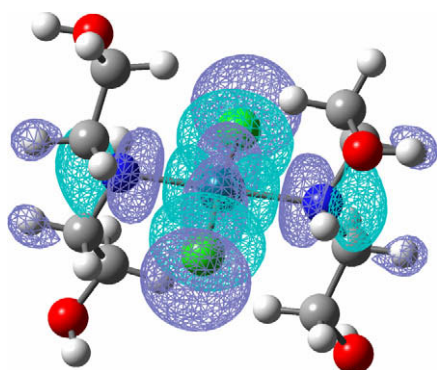


Fig. 3. Optimized geometry of complex **2** with delineated LUMO map [52,53].

otide (NADH) and air-oxygen. Generation of the superoxide radical anion is a first step of the spectrophotometric method that has been applied to the measurement of the antioxidant activity of investigated complexes. The complexes showed very high scavenging activity which was concentration dependent. Diethanolamine, as precursor of the investigated complexes, exhibited lower activity, Table 1. The complexes **1** and **2**, as well as DEA, are very active and more potent than the reference compound caffeic acid.

## 5. Concluding remarks

The reaction between PdCl<sub>2</sub> and diethanolammonium chloride in a molar ratio of 1:2, leads to the easy formation of the [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] complex (**1**), whose structure was optimized by DFT methods. In order to prove hydrolytic activity, the reaction between the [HDEA]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] complex with MeCOHis-Gly dipeptide at pH = 2.0 and 60 °C was done. Selective cleavage of peptide bond was observed under these experimental conditions during the course of 43 h. Also, complexes **1** and **2**, and DEA, as their precursor, were tested for their *in vitro* soybean LOX inhibitory and free radical scavenging activities. UV absorbance-based enzyme assay and assay with superoxide anion radical were done. The scavenging activities of the complexes were measured and compared with those of their precursor and vitamin C. Complex **2** with high antioxidant ability and low IC<sub>50</sub> value is considered as agent with potential antioxidant activity, and can therefore be candidate for further stages of screening *in vitro* and/or *in vivo*.

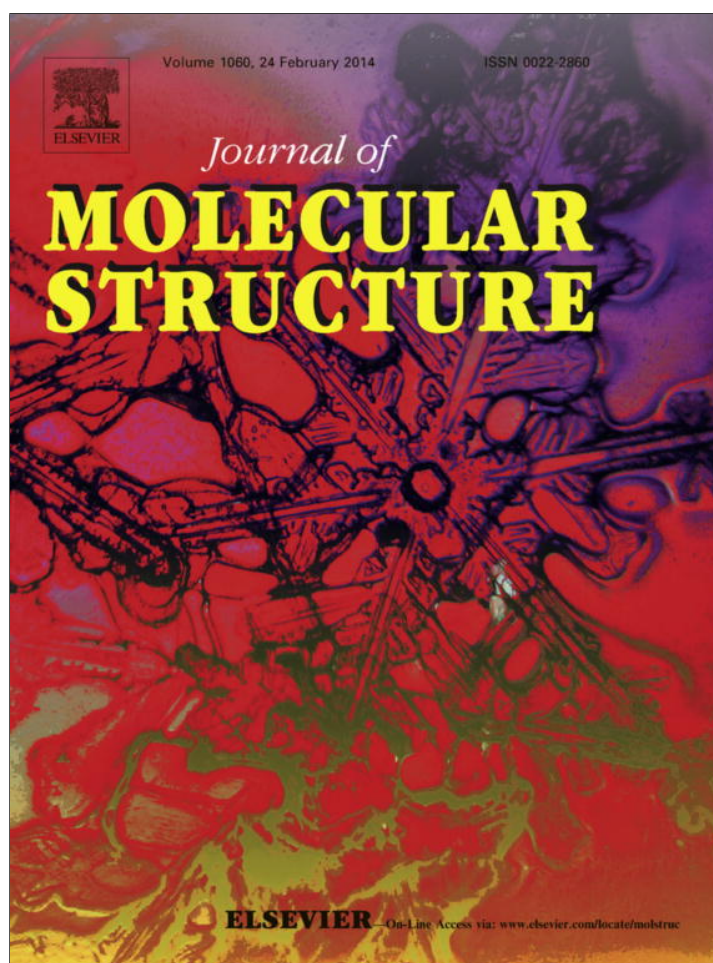
## Acknowledgments

This work was funded in part by the Ministry of Science and Environmental Protection of the Republic of Serbia (Project No. 142013B).

## References

- [1] L. Zhu, N.M. Kostić, *Inorg. Chem.* 31 (1992) 3994–4001.
- [2] L. Zhu, N.M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 4566–4570.
- [3] L. Zhu, N.M. Kostić, *Inorg. Chim. Acta* 217 (1994) 21–28.
- [4] E.N. Korneeva, M.V. Ovchinnikov, N.M. Kostić, *Inorg. Chim. Acta* 243 (1996) 9–13.
- [5] T.N. Parac, N.M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 51–58.
- [6] T.N. Parac, N.M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 5946–5951.
- [7] S.U. Milinković, T.N. Parac, M.I. Djuran, N.M. Kostić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1997) 2771–2776.
- [8] X. Chen, L. Zhu, H. Yan, X. You, N.M. Kostić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1996) 2653–2658.
- [9] T.N. Parac, G.M. Ullmann, M.N. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 3127–3135.
- [10] N.M. Milovic, N.M. Kostic, in: A. Sigel, H. Sigel (Eds.), *Metal Ions in Biological Systems, Palladium(II) and Platinum(II) Complexes as Synthetic Peptidases*, XXXVIII, Marcel Dekker Inc., 2001, pp. 145–186 (refs. therein Z.D.).
- [11] Petrović, M.I. Duran, F.W. Heinemann, S. Rajković, S.R. Trifunović, *Bioorg. Chem.* 34 (2006) 225–234.
- [12] Z.D. Petrović, D. Hadjipavlou-Litina, V.P. Petrović, *J. Mol. Liq.* 144 (2009) 55–58.
- [13] R. Mital, M.G. Shah, S.T. Srivastava, K.R. Bhattacharya, *Life Sci.* 50 (1992) 781–790.
- [14] M.M. Harding, V.G. Long, *Curr. Med. Chem.* 4 (1997) 405–420.
- [15] J. Nacs, L. Nagy, J. Molnar, *Anticancer Res.* 18 (1998) 1373–1376.
- [16] J. Lassig, M. Shultz, M. Gooch, B. Evans, J. Woodward, *Arch. Biochem. Biophys.* 322 (1995) 119–126.
- [17] Q. Chen, L.J. Stevens, *Arc. Biochem. Biophys.* 284 (1991) 422–430.
- [18] I. Giuliani, A. Baeza-Squiban, F. Marano, *Toxicol. In Vitro* 11 (1997) 695–702.
- [19] H. Kuhn, *Lipoxygenases*, in: F. Marks, G. Fustenberger (Eds.), *Prostaglandins, Leukotrienes and Other Eicosanoids*, Wiley-VCH, Weinheim, 1999, pp. 109–141.
- [20] E. Pontiki, D. Hadjipavlou-Litina, *Curr. Enz. Inh.* 1 (2005) 309–328.
- [21] I. Ahmad, S.A. Nawaz, N. Afza, A. Malik, I. Fatima, S.B. Khan, M. Ahmad, M.I. Choudhary, *Chem. Pharm. Bull.* 53 (2005) 907–910.
- [22] D. Steinhilber, *Curr. Med. Chem.* 6 (1999) 71–85.
- [23] S. Ylä-Herttuala, E.M. Rosenfeld, S. Parthasarathy, K.C. Glass, E. Sigal, L.J. Witztum, D. Steinberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (1990) 6959–6963.
- [24] Y.X. Ding, G.W. Tong, E.T. Adrian, *Pancreatology* 4 (2001) 291–296.
- [25] M. Maccarrone, G.A. Veldink, J.F. G. Vliegthart, A. Finazzi Agro, *Lipids* 30 (1995) 51–54.
- [26] S.G. Rival, C.G. Boeriu, H.J. Wichers, *J. Agric. Food Chem.* 49 (2001) 295–302.
- [27] M. Maccarrone, A. Baroni, A. Finazzi Agro, *Arch. Biochem. Biophys.* 356 (1998) 35–40.
- [28] W. Chamulitrat, R.P. Mason, D. Riendeau, *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 9574–9579.
- [29] T. Kuninori, J. Nishiyama, M. Shirakawa, A. Shimoyama, *Biochim. Biophys. Acta* 1125 (1) (1992) 49–55.
- [30] M.J. Nelson, D.G. Batt, J.S. Thompson, S.W. Wright, *J. Biol. Chem.* 266 (1991) 8225–8229.
- [31] G.F.J. Vliegthart, A.G. Veldink, *Free Radicals Biol.* (1982) 29–64.
- [32] A.G. Veldink, G.F.J. Vliegthart, *Stud. Nat. Products Chem.* 9 (1991) 559–589.
- [33] T.J. Ha, I. Kubo, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 446–451.
- [34] M. Wladek, S. Janusz, B. T. Jeffrey, O. Zbyszczek, A. Bernard, *Biochemistry* 32 (1993) 6320–6323.
- [35] E. Skrzypczak-Jankun, L.M. Amzel, B.A. Kroa, M.O. Funk, *Proteins* 29 (1997) 15–31.
- [36] M.J. Frisch, W.G. Trucks, B.H. Schlegel, E.G. Scuseria, A.M. Robb, R.J. Cheeseman, G.V. Zakrzewski, A.J. Montgomery Jr., E.R. Stratmann, C.J. Burant, S. Dapprich, M.J. Millam, D.A. Daniels, N.K. Kudin, C.M. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, A.G. Petersson, Y.P. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D.A. Malick, D.K. Rabuck, K. Raghavachari, B.J. Foresman, J. Cioslowski, V.J. Ortiz, G.A. Baboul, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, L.R. Martin, J.D. Fox, T. Keith, A.M. Al-Laham, Y.C. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, W.M. Wong, L.J. Andres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, S.E. Replogle, A.J. Pople, *Gaussian 03, Revision E.01-SMP*, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA, 2003.
- [37] D.A. Becke, *Phys. Rev. A* 38 (1988) 3098–3100.
- [38] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Phys. Rev. B* 37 (1988) 785–789.
- [39] D.A. Becke, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648–5652.
- [40] R. Krishnan, J.S. Binkley, R. Seeger, J.A. Pople, *J. Chem. Phys.* 72 (1980) 650–654.
- [41] J. P. Hay, R.W. Wadt, *J. Chem. Phys.* 82 (1985) 270–283.
- [42] E.A. Reed, B.R. Weinstock, F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* 83 (1985) 735–746.
- [43] E.A. Reed, A.L. Curtiss, F. Weinhold, *Chem. Rev.* 88 (1988) 899–926.
- [44] E. Pontiki, D. Hadjipavlou-Litina, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 5819–5827.
- [45] D. Panagoulis, E. Pontiki, E. Skeva, C. Raptopoulou, S. Girousi, D. Hadjipavlou-Litina, C. Dendrinous-Samara, *J. Inorg. Biochem.* 101 (2007) 623–634.
- [46] The Computational Chemistry Comparison and Benchmark Database of Standards and Technology. <<http://srdata.nist.gov/cccbdb/vibscale.asp>>.
- [47] W. Minor, J. Steczko, B. Stec, Z. Otwinowski, T.J. Bolin, R. Walter, B. Axelrod, *Biochemistry* 35 (1996) 10687–10701.
- [48] C.M.J.J. de Groot, A.G. Veldink, G.F.J. Vliegthart, J. Boldingh, R. Wever, F.B. Van Gelder, *Biochim. Biophys. Acta* 377 (1975) 71–79.
- [49] L. Lomnitski, R. Bar-Natan, D. Sklan, S. Grossman, *Biochim. Biophys. Acta* 1167 (1993) 331–338.
- [50] F.G. Sud'ina, K.O. Mirzoeva, A.M. Pushkareva, A.G. Korshunova, V.N. Sumbatyan, D.S. Varfolomeev, *FEBS Lett.* 329 (1993) 21–24.
- [51] J. Van der Zee, E.T. Eling, P.R. Mason, *Biochemistry* 28 (1989) 8363–8367.
- [52] Z.D. Petrović, S. Marković, D. Simijonović, V. Petrović, *Monatsh. Chem.* 140 (2009) 371–374.
- [53] S. Marković, Z.D. Petrović, V. Petrović, *Monatsh. Chem.* 140 (2009) 171–175.

Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

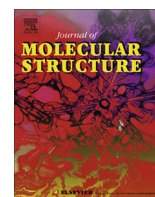
<http://www.elsevier.com/authorsrights>





Contents lists available at ScienceDirect

## Journal of Molecular Structure

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/molstruc](http://www.elsevier.com/locate/molstruc)

# Use of diethanolammonium–tetrachloridopalladate(II) complex in bioorganic modelling as artificial metallopeptidase in the reaction with *N*-acetylated *L*-methionylglycine dipeptide. NMR and DFT study of the hydrolytic reaction



Vladimir P. Petrović\*, Dušica Simijonović, Zorica D. Petrović

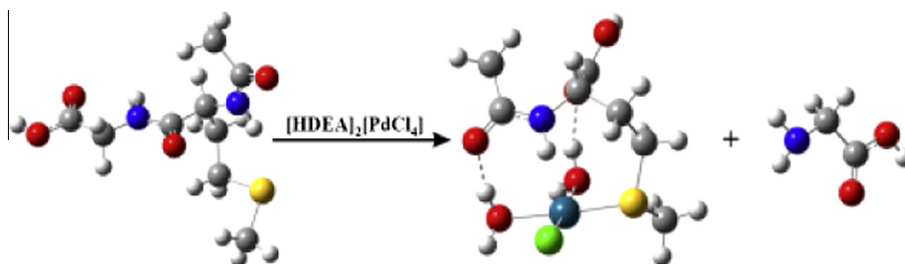
Faculty of Science, University of Kragujevac, P.O. Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

## HIGHLIGHTS

- Hydrolytic activity of the palladium(II) complex with AcMet-Gly was investigated.
- The reaction was monitored by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy.
- Regioselective cleavage of the peptide bond was achieved.
- The possible mechanism of this reaction was investigated using DFT.

## GRAPHICAL ABSTRACT

Hydrolytic activity of the diethanolamine palladium(II) complex was tested in the reaction with AcMet-Gly at pH = 2.0 and 60 °C. DFT study was applied in order to explore the mechanism of this hydrolytic reaction.



## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 3 December 2013  
 Received in revised form 13 December 2013  
 Accepted 13 December 2013  
 Available online 21 December 2013

## Keywords:

Peptide hydrolysis  
 Palladium(II) complex catalyst  
<sup>1</sup>H NMR spectroscopy  
 Reaction mechanism  
 Density functional theory

## ABSTRACT

Hydrolytic activity of diethanolammonium–tetrachloridopalladate(II) complex was tested in the reaction with AcMet-Gly at pH = 2.0 and 60 °C. The reaction was monitored using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, during the course of 45 h. It was shown that regioselective cleavage of amide bond involving the carboxylic group of methionine is achieved under these experimental conditions. DFT study was performed, in order to explore the mechanism of this hydrolytic reaction. This study contributes to a better understanding of the mechanism of the peptide bond hydrolysis of the methionine-containing peptides, and generally interaction of Pd(II) with –SR groups of biological relevant molecules.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Hydrolytic cleavage of peptides and proteins plays important functional and regulatory role in many physiological processes. Proteolysis is responsible for many fundamental biological pro-

cesses, such as control of the cell cycle, transcription, antigen processing, and apoptosis. However, it is worth pointing out that the peptide bond is exceptionally unreactive, and that the half-life for its hydrolysis in solution with pH 4–8 is several hundred years at room temperature [1,2].

Selective hydrolysis of peptide bond can be achieved with enzymes and synthetic reagents, such as acids, bases, and metal complexes. Several proteolytic enzymes are used for the cleavage, but

\* Corresponding author. Tel.: +381 34336223; fax: +381 34335040.  
 E-mail address: [vladachem@kg.ac.rs](mailto:vladachem@kg.ac.rs) (V.P. Petrović).

among them only trypsin is highly regioselective [3]. The enzymes application is limited due to their special requirements related to the temperature and pH. Also, they are sometimes inapplicable because they cleave peptide bond indiscriminately, in several sites, giving unwanted short fragments. Today, the selective hydrolysis of this bond can be achieved by several methods. Among them, transition-metal complexes have been used as artificial metalloproteases, whereby Pd(II) and Pt(II) complexes deserve special attention [4–12]. Both of the mentioned types of the complexes possess similar properties, but due to much faster ligand substitution ( $10^5$ ), palladium(II) complexes are more suitable for reaction monitoring and mechanism elucidation [13]. A key requirement for the complex to act as an artificial metallopeptidase is to have at least two coordination sites available for the substitution. Namely, during hydrolytic reaction one site is used for anchoring to the side chain of the amino acid in the peptide, and second for interaction with the proximate scissile peptide bond. Therefore, these coordination places should be occupied by weak ligands which can be easily substituted in a given time [14–16]. It has been shown that peptides containing methionine [4,6,14,16,17–19] or histidine [7,20–27] in the side chain, can be good model molecules for the study of their interactions with different Pd(II) and Pt(II) complexes, due to the fact that these complexes are able to bind to the sulfur or nitrogen, and promote hydrolysis of peptide bond. However, the mechanism of these hydrolytic reactions has not been completely elucidated. Elucidation of the mechanism of the peptide bond hydrolysis is also important for better understanding of some side effects which cause Pt and Pd complexes, such as nephrotoxicity, since both of these biological processes are associated with interaction with –SR or –SH groups.

In this paper we report the study of the hydrolytic reaction of earlier prepared diethanolammonium-tetrachloridopalladate(II) complex ( $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$ ) [28] with *N*-acetylated *L*-methionylglycine dipeptide (AcMet-Gly). To examine the structures of the proposed reaction participants, this hydrolytic reaction was studied by using  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy and density functional theory.

## 2. Experimental

### 2.1. Reagents

The compounds  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{DNO}_3$  and  $\text{PdCl}_2$ , were obtained from Aldrich Chemical Co. All common chemicals were of reagent grade. Diethanolamine, dipeptide *L*-methionylglycine (Met-Gly), were obtained from Sigma Chemical Co. The terminal amino group in Met-Gly was acetylated by a standard method to obtain AcMet-Gly [5].

### 2.2. Measurements

Reactions of AcMet-Gly with Pd(II) complexes were followed by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy, using a Varian Gemini 200 MHz spectrometer, in  $\text{D}_2\text{O}$  solutions containing TSP (sodium trimethylsilylpropionate) as the internal reference. All pH measurements were made at 25 °C. The pH meter (Iskra MA 5704) was calibrated with Fischer certified buffer solutions of pH 4.00. The results were not corrected for the deuterium isotope effect.

### 2.3. Computational method

All calculations were conducted using Gaussian09 [29] with the M06 hybrid meta functional [30]. The 6-311+G(d,p) basis set was used for C, H, O, N, and Cl, whereas def2-TZVPD [31] was employed for the Pd center. This triple-zeta-valence basis set contains polarization and diffuse functions, as well as effective core potential.

Geometrical parameters of all investigated species in water were optimized using the CPCM solvation model (Polarizable Conductor Calculation Model,  $\epsilon = 78.36$ ). All calculated structures were verified to be local minima (all positive eigenvalues) for ground state structures by frequency calculations. The natural bond orbital analysis [32] (Gaussian NBO version) was performed for all structures. The  $^1\text{H}$  NMR properties of the crucial reaction product were predicted, and the chemical shifts for all hydrogen atoms relative to TMS were calculated. For the simulation of the  $^1\text{H}$  NMR spectrum, the model mentioned above, which involves different basis sets for nonmetals and the Pd center, was not suitable. For this reason, the M06/LANL2DZ method was used for the prediction of the  $^1\text{H}$  NMR properties.

## 3. Results and discussion

In our previous study we reported that  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  complex [28] shows selective hydrolytic activity in the reaction with *N*-acetylated *L*-histidylglycine dipeptide (AcHis-Gly). Bearing this in mind, we assumed that this complex can also act as artificial metallopeptidase in the reaction with methionine-containing dipeptide. To confirm our presumption, the reaction with AcMet-Gly dipeptide was performed. The Pd(II) complex and dipeptide were mixed in equimolar amounts, 20 mM in  $\text{D}_2\text{O}$ , at pH = 2 and 60 °C. The reaction was monitored by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy, which proved to be a very useful tool for studying complex hydrolytic reactions. The reaction products were distinguished on the basis of the chemical shifts of the *S*-methyl protons of methionine, methylene glycine protons (from non-hydrolyzed dipeptide substrate and free glycine), and protons of the methylene groups from the diethanolamine units (Fig. 1). Immediately after mixing the reactants, spontaneous coordination of the Pd(II) to the sulfur atom of methionine occurs, yielding the intermediate Pd(II) complex **A** (Fig. 2). This is documented with the simultaneous decline of the resonance at 2.11 ppm (*S*-methyl protons of the free dipeptide) and the growth of the resonance at 2.50 ppm (corresponding to the *S*-methyl protons of the complex **A**, Fig. 1) [13].

The appearance of a new singlet in the  $^1\text{H}$  NMR spectrum at 3.62 ppm was an indication that the hydrolytic reaction occurs. Namely, during the reaction the resonance at 4.00 ppm of methylene glycine protons from the non-hydrolyzed dipeptide decreased, while the singlet at 3.62 ppm for methylene protons of the free glycine increased. After 45 h of heating of the reaction mixture at 60 °C, the intensity of the singlet at 3.62 ppm was not changed, Fig. 1. In addition, a new singlet at 3.68 ppm and a multiplet at 3.86 ppm appeared in the NMR spectrum. We assumed that these signals can be assigned to the salt  $[\text{C}_6\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}_2]^+$  (**D** in Fig. 2) which is formed in the reaction of outgoing glycine with diethanolamine ligand (Fig. 2). Indeed, the same compound was formed in a separate reaction, where equimolar amounts of diethanolamine and glycine were mixed, confirming that the new singlet at 3.68 ppm belongs to the methylene protons of glycine, while the triplet at 3.86 ppm belongs to the protons of  $-\text{CH}_2-\text{N}$  of diethanolammonium moiety. The formation of the salt **D** is not unexpected due to the fact that under our reaction conditions (pH = 2) glycine amino group ( $\text{p}K_a \sim 9.6$ ) is protonated and the carboxyl group ( $\text{p}K_a \sim 2.3$ ) is partially deprotonated. Therefore, carboxylate oxygen is more available for the reaction with diethanolamine [9,33]. It is worth pointing out that some of the liberated glycine reacts with the catalyst to form a small amount of the Pd-Gly complex, which was detected by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy at 3.52 ppm [27]. Under these reaction conditions, free acetic acid was not detected by NMR spectroscopy, confirming that the reaction is regioselective.

Success of the hydrolytic process is determined on the basis of the integrated resonance of methylene protons from free glycine

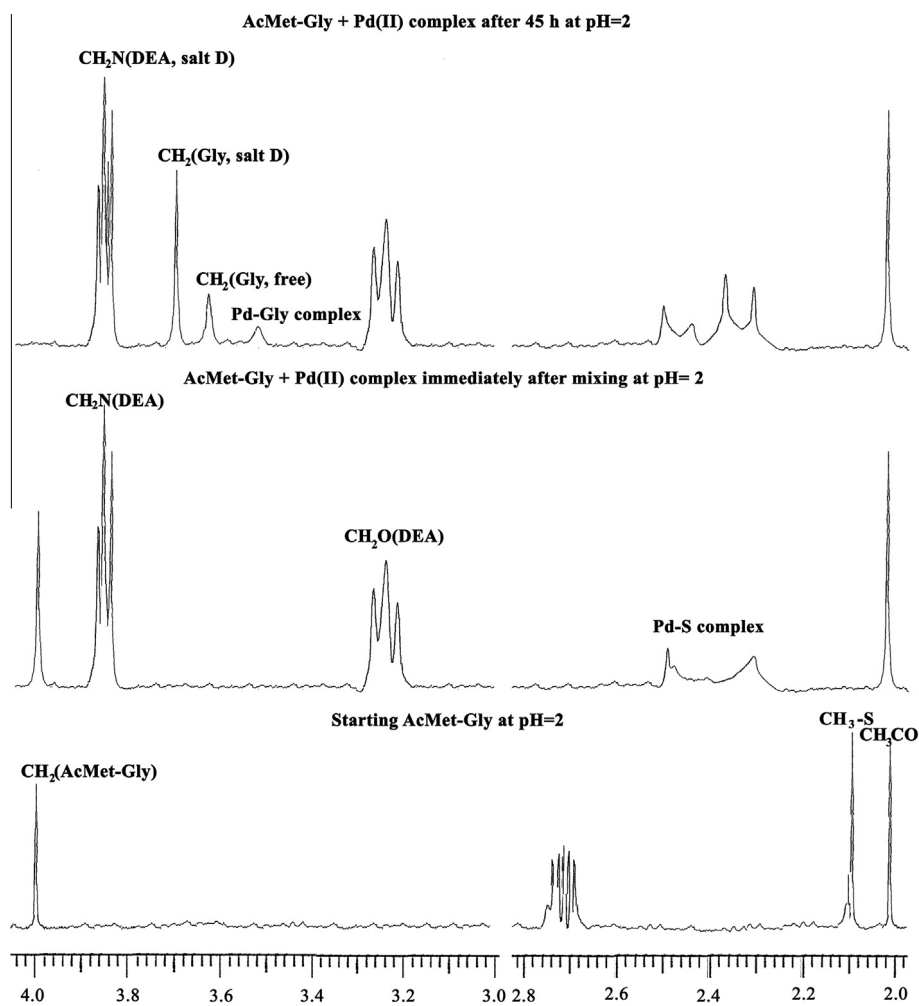


Fig. 1. Parts of  $^1\text{H}$  NMR spectra for the hydrolytic reaction of AcMet-Gly with  $[\text{HDEA}]_2[\text{PdCl}_4]$  complex as a function of time, in  $\text{D}_2\text{O}$  as solvent. The chemical shifts are given in ppm relative to TSP.

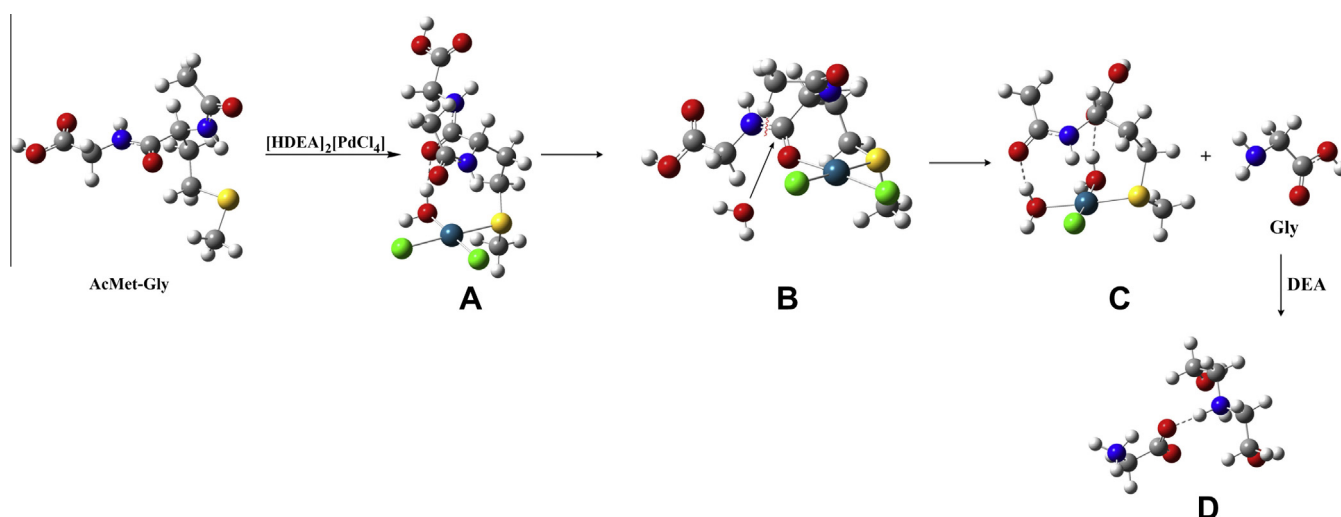


Fig. 2. Optimized structures of the starting dipeptide, intermediates and products.

and glycine from unreacted dipeptide. After 45 h, about 90% of the starting dipeptide was hydrolyzed.

Bearing in mind the results from reference [17] we applied density functional theory to examine the structures of the intermedi-

ates and reaction products, and propose possible mechanism of this reaction. Taking into account the fact that we used  $[\text{PdCl}_4]^{2-}$  as promoter of the hydrolytic process, known to give mononuclear palladium(II)-sulfur complex as active form in the hydrolytic

**Table 1**  
Selected bond distances (Å) in the crucial intermediate and products.

<i>Dipeptide</i>	
C–O (from peptide bond)	1.22
C–N (from peptide bond)	1.35
<i>B</i>	
Pd–S	2.35
Pd–Cl	2.32
Pd–Cl	2.36
Pd–O (O from peptide bond)	2.12
C–O (from peptide bond)	1.24
C–N (peptide bond)	1.33
<i>C</i>	
Pd–S	2.31
Pd–Cl	2.30
Pd–O(H <sub>2</sub> O) (both)	2.14

reactions of methionine-containing peptides [17], as well as our experimental findings, we assumed possible structure of the intermediate **A** (Fig. 2). The calculated chemical shift for the S-methyl protons singlet amounts 2.93 ppm, while for the methylene glycine protons this value is 4.34 ppm. The Pd(II)-S peptide complex **A**, contains water molecule as a ligand, which is a good leaving group. Departure of this ligand enables the Pd(II) ion to come close to the unreactive amide bond. In this way the amide oxygen coordinates to the Pd(II), forming the hydrolytically active intermediate **B**. The carbonyl group of methionine moiety becomes more polarized (the NBO charges on the oxygen and carbon of this group are –0.63, and 0.74), which facilitates the external nucleophilic attack of the molecule of solvent water. Regioselective cleavage of the amide bond, involving the carboxylic group of methionine is achieved, and glycine is liberated. As a result of the hydrolytic reaction of Pd(II)-anchored complex **B** (regioselective cleavage of the amide bond and substitution of the chlorido ligand with water molecule) the complex **C** is formed. The calculated chemical shift for the S-methyl protons amounts 2.55 ppm, which is in accord with the signal at 2.49 ppm from the experimental <sup>1</sup>H NMR spectrum. Such good agreement between the experimental and calculated <sup>1</sup>H NMR spectra indicates that the optimized geometry of **C** corresponds to the structure of the reaction product. The NBO analysis of the product **C** shows that Pd forms covalent bonds with sulfur and chlorido ion, whereas the lone electron pairs from the p orbitals of ligating atoms participate with more than 70% in the bonds around palladium. The lone pairs on the oxygen atoms of the ligating water molecules delocalize into the formally empty almost pure palladium p orbital, enabling coordinative interactions. The selected bond distances in the starting dipeptide, intermediate **B**, as well as for the product **C** are given in Table 1.

#### 4. Conclusion

Hydrolytic activity of the diethanolammonium-tetrachlorido-palladate(II) complex with methionine-containing dipeptides was tested in the reaction with AcMet-Gly at pH = 2.0 and 60 °C. Based on the <sup>1</sup>H NMR spectroscopy monitoring, it is shown that regioselective cleavage of peptide bond involving the carboxylic group of methionine is achieved under these experimental conditions, during the course of 45 h. Under these reaction conditions, free acetic acid was not detected by NMR spectroscopy, confirming that the reaction is regioselective. DFT method was applied for better explanation of the mechanism of this hydrolytic reaction, and pro-

vides a better insight into the coordination chemistry of methionine-containing peptides. Good agreement between the experimental and calculated <sup>1</sup>H NMR spectra for the proposed intermediates **A** and **B** and the reaction product **C** confirms the proposed mechanism. This study contributes to the better understanding of the mechanism of the peptide bond hydrolysis of the methionine-containing peptides, and generally interaction of Pd(II) with –SH or –SR groups, as well as indicates a direction for the development of new palladium(II) complexes for their future application in bioorganic chemistry and structural biology.

#### Acknowledgment

This work is supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of Serbia, Project No 172016.

#### References

- [1] N.V. Kaminskaja, N.M. Kostić, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 2368–2377.
- [2] A. Radzicka, R. Wolfenden, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 6105–6109.
- [3] K.L. Ramachandran, B. Witkop, *Methods Enzymol.* 11 (1976) 283–299.
- [4] I.E. Burgeson, N.M. Kostić, *Inorg. Chem.* 30 (1991) 4299–4305.
- [5] L. Zhu, N.M. Kostić, *Inorg. Chem.* 31 (1992) 3994–4001.
- [6] E.N. Korneeva, M.V. Ovchinnikov, N.M. Kostić, *Inorg. Chim. Acta* 243 (1996) 9–13.
- [7] S.U. Milinković, T.N. Parac, M.I. Djuran, N.M. Kostić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1997) 2771–2776.
- [8] P. Tsvieriotis, N. Hadjiladis, *Coord. Chem. Rev.* 171 (1999) 190–192.
- [9] T.G. Appleton, *Coord. Chem. Rev.* 166 (1997) 313–359.
- [10] M.D. Živković, S. Rajković, M.I. Djuran, *Bioorg. Chem.* 36 (2008) 161–164.
- [11] T.G. Appleton, J.R. Hall, T.W. Hambley, P.D. Prenzler, *Inorg. Chem.* 29 (1990) 3562–3569.
- [12] B.E. Schwederski, H.D. Lee, D.W. Margerum, *Inorg. Chem.* 29 (1990) 3569–3578.
- [13] X. Luo, W. Huang, Y. Mei, S. Zhou, L. Zhu, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 1474–1480.
- [14] L. Zhu, N.M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 4566–4570.
- [15] L. Zhu, L. Qin, T.N. Parac, N.M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994) 5218–5224.
- [16] L. Zhu, N.M. Kostić, *Inorg. Chim. Acta* 217 (1994) 21–28.
- [17] N.M. Milović, N.M. Kostić, in: A. Sigel, H. Sigel (Eds.), *Metal Ions in Biological Systems, Palladium(II) and Platinum(II) Complexes as Synthetic Peptidases*, vol. XXXVIII, Marcel Dekker Inc., New York, 2001, pp. 145–186.
- [18] S. Rajković, M.D. Živković, C. Kallay, I. Savago, M.I. Djuran, *Dalton Trans.* 39 (2009) 8370–8377.
- [19] D.P. Ašanin, S. Rajković, D. Molnar-Gabor, M.I. Djuran, *Monatsh. Chem.* 135 (2004) 1445–1453.
- [20] T.N. Parac, N.M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 51–58.
- [21] T.N. Parac, N.M. Kostić, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 5946–5951.
- [22] X. Chen, L. Zhu, H. Yan, X. You, N.M. Kostić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1996) 2653–2658.
- [23] M.I. Djuran, S.U. Milinković, *Monatsh. Chem.* 130 (1999) 613–622.
- [24] M.I. Djuran, S.U. Milinković, *Polyhedron* 18 (1999) 3611–3616.
- [25] M.I. Djuran, S.U. Milinković, *Polyhedron* 19 (2000) 959–963.
- [26] Z.D. Petrović, M.I. Djuran, F.W. Heinemann, S. Rajković, S.R. Trifunović, *Bioorg. Chem.* 34 (2006) 225–234.
- [27] M.D. Živković, S. Rajković, U. Rychlewska, B. Warzajtis, M.I. Djuran, *Polyhedron* 26 (2007) 1541–1549.
- [28] Z.D. Petrović, D. Hadjipavlou-Litina, E. Pontiki, D. Simijonović, V.P. Petrović, *Bioorg. Chem.* 37 (2009) 162–166.
- [29] M.J. Frisch, W.G. Trucks, B.H. Schlegel, E.G. Scuseria, A.M. Robb, R.J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, A.G. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, P.H. Hratchian, F.A. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, L.J. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, A.J. Montgomery Jr., A.J. Montgomery Jr., E.J. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, N.K. Kudin, N.V. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, C.J. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, M.J. Millam, M. Klene, E.J. Knox, B.J. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, E.R. Stratmann, O. Yazyev, J.A. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, W.J. Ochterski, L.R. Martin, K. Morokuma, G.V. Zakrzewski, A.G. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, D.A. Daniels, O. Farkas, B.J. Foresman, V.J. Ortiz, J. Cioslowski, J.D. Fox, *Gaussian 09*, Rev A.1 Gaussian Inc, Wallingford, 2009.
- [30] Y. Zhao, E.N. Schultz, G.D. Truhlar, *J. Chem. Theory Comput.* 2 (2006) 364–382.
- [31] D. Rappoport, F. Furche, *J. Chem. Phys.* 133 (2010) 134105–134116.
- [32] E.A. Reed, B.R. Weinstock, F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* 83 (1985) 735–747.
- [33] T.G. Appleton, J.R. Hall, S.F. Ralph, *Aus. J. Chem.* 39 (1986) 1347–1362.