

UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

Ljiljana E. Mihajlović-Lalić

**SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I
REDOKS PONAŠANJE Pt(II) I Pt(IV)
KOMPLEKSA SA N,N I N,S LIGANDIMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2014

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF CHEMISTRY

Ljiljana E. Mihajlović-Lalić

**SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND
REDOX BEHAVIOR OF Pt(II) AND Pt(IV)
COMPLEXES WITH N,N AND N,S
LIGANDS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014

Mentori:

dr Tibor J. Sabo,
redovni profesor Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Sanja Grgurić Šipka
vanredni profesor Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

dr Dragan D. Manojlović,
vanredni profesor Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Ivana Stojković Simatović,
docent Fakulteta za fizičku hemiju Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane: _____ 2014. godine.

Zahvalnica

Ova disertacija urađena je pri Katedri za opštu i neorgansku hemiju, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja pod nazivom „Racionalni dizajn i sinteza biološki aktivnih i koordinacionih jedinjenja i funkcionalnih materijala, relevantnih u (bio)nanotehnologiji”.

Zahvaljujem se mentorima, prof. dr Tiboru Sabou i prof. dr Sanji Grgurić Šipka, na ukazanom poverenju i velikoj pomoći tokom proteklih pet godina. Takođe bih se zahvalila i članovima komisije, prof dr Draganu Manojloviću i dr Ivani Stojković Simatović, docentkinji sa mog matičnog fakulteta.

Članovima laboratorije 525 (posebno Jeleni i Aleksandru) sam iskreno zahvalna na bezuslovnoj pomoći koju su mi pružali na samom početku rada i sjajnom druženju.

Zahvaljujem se i kolegama sa Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković” i Centra za instrumentalnu analizu Hemijskog fakulteta (posebno dr Ivanu Vučkoviću).

Velika hvala:

- prijateljima koji su mi (ne)posredno pružali podršku
- mom velikom heroju, Ani, za sve naše dobijene i izgubljene bitke
- dragoj porodici Lalić
- mami Emiliji, tati Nenadu i sestri Svetlani jer smo na okupu dočekali kraj mog školovanja
- mom Milošu.

Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei Dr. Nadia Mösch-Zanetti, der Professorin des Instituts für Chemie der Karl-Franzens-Universität Graz, bedanken, die mir die Möglichkeit in Ihrer Gruppe zu arbeiten gegeben hat. Prof. Dr. Ferdinand Belaj danke ich auch für alle Kristallstrukturen die er gelöst hat. Der ganzen Gruppe (Doris, Antoine, Alexandra, Natasha, Christof) danke ich für die Hilfe und die angenehme Atmosphäre in den Labors. Meinem lieben Kollegen Chris danke ich auch für keine wissenschaftliche aber gleich wichtige Diskussionen in unserem Büro. Großer Dank gebührt Lydia, die ganz immer mit mir geduldig und freundlich ist. Ein ganz besonderer Dank geht an Jörg für die außerordentlich gute Zusammenarbeit und vieles mehr.

Letzter Danke geht an alle weil ich während meines Besuches kein *nein*, *später* oder *unmöglich* gehört habe.

Sinteza, karakterizacija i redoks ponašanje Pt(II) i Pt(IV) kompleksa sa *N,N* i *N,S* ligandima

REZIME

U priloženoj disertaciji su opisane sinteze, karakterizacija i oksido-redukciona svojstva dialkil estara *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, njima odgovarajućih kompleksa Pt(IV) kao i kompleksa Pt(II) sa tiofenolat-oksazolinskim ligandom.

Spektroskopska karakterizacija sintetisanih jedinjenja je urađena standardnim metodama: infracrvenom i Ulj/Vid spektroskopijom, masenom spektrometrijom i NMR spektroskopijom ($1D-^1H$ i ^{13}C ; 2D-COSY, HSQC, HMBC tehnikama) dok je sastav jedinjenja potvrđen elementalnom analizom. Struktura kompleksnih jedinjenja platine(II), $[Pt(S-Phoz)_2]$ i $[Pt(\eta^2S-Phoz)(\eta^1S-Phoz)(PPh_3)]$, određena je i primenom rendgenske strukturne analize.

Dialkil estri *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline su dobijeni u reakciji reduktivnog metilovanja dialkil estara (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline triacetoborhidridom i formaldehidom u odgovarajućem stehiometrijskom odnosu. Sintetisani ligandi su reakcijom sa kalijum-heksahloridoplatinatom(IV) dali odgovarajuće komplekse platine(IV), oktaedarske geometrije sa *N,N* bidentatno vezanim ligandima. Dodatno je za ovu klasu jedinjenja ispitana citotoksična aktivnost na različitim ćelijskim linijama (A375, B16, CT26CL25, HCT116, PC3 i U251).

Tiofenolat-oksazolinski ligand, Li(SPh-oz), je s obzirom na prisustvo dva različita donorska atoma (azota i sumpora) pokazao različite načine koordinovanja za platinski metalni centar. Prvobitno je reakcijom Li(SPh-oz) sa kalijum-tetrahloridoplatinatom(II) sintetisan $[Pt(S-Phoz)_2]$ kompleks deformisane kvadratno-planarne geometrije. Izolovani monokristalni produkt ovog jedinjenja je ukazao na *S,S-trans* raspored liganada oko metalnog centra. Zatim je u reakciji istog liganda sa *cis*-bis(trifenilfosfin)platina(II)-hloridom dobijen $[Pt(\eta^2S-Phoz)(\eta^1S-Phoz)(PPh_3)]$

kompleks za koji su ^{31}P NMR spektroskopija i kristalna struktura potvrdile koordinaciju trifenilfosfinskog dela. Sem toga, u ovom slučaju je bilo moguće odrediti kristalnu strukturu oba formirana izomera iz odgovarajućih frakcija.

U nastavku su ispitana oksido-redukciona svojstva sintetisanih jedinjenja metodama ciklične i diferencijalne pulsne voltametrije. Kompleksi platine(IV) sa dialkil estrima *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline su potvrdili pretpostavljeni mehanizam dvoelektronske redukcije metalnog centra. Niske vrednosti elektrodnog potencijala ($-816 < E < -924$ mV vs. Ag/AgCl) su ukazale na sporu redukciju praćenu gubitkom oba hlorido liganda u aksijalnom položaju. Dobijeni elektrohemijski podaci iskorišćeni su za uspostavljanje potencijalne veze između bioreduktivnog karaktera ovih kompleksa i njihove citotoksičnosti. Shodno tome, dobijena je zadovoljavajuća E-IC₅₀ korelacija za dve ćelijske linije (CT26CL25 i PC3). Proučavanje redoks ponašanja kompleksa platine(II) sa tiofenolat-oksazolinskim ligandom je ukazalo na ireverzibilnu elektrohemijsku reakciju koja isključuje transfer elektrona sa metalnog centra. Stoga su detektovani stupnjevi oksidacije/redukcije objašnjeni na osnovu elektrohemijskog ponašanja odgovarajućeg ligandnog sistema.

Ključne reči: platinski kompleksi, aminski ligandi, tiofenolatni ligandi, citotoksičnost, oksido-redukciona svojstva, voltametrija.

Naučna oblast: hemija

Uža naučna oblast: Opšta i neorganska hemija

UDK broj: 546. 9

Synthesis, Characterization and Redox Behavior of Pt(II) and Pt(IV) Complexes with *N,N* and *N,S* ligands

SUMMARY

An enclosed dissertation describes the synthesis, characterization and oxidoreductive properties of dialkyl esters of *N,N'*-methylene-(*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoic acid, their corresponding Pt(IV) complexes as well as Pt(II) complexes with thiophenolate-oxazoline ligand.

Spectroscopic characterization of the synthesized compounds was performed by standard methods: infrared and UV/Vis spectroscopy, mass spectrometry and NMR spectroscopy (1D- ^1H and ^{13}C and 2D-COSY, HSQC, HMBC techniques) while the compounds' content was confirmed by elemental analysis. The structures of Pt(II) species, $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$ and $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, were determined using X-ray structural analysis.

Dialkyl esters of *N,N'*-methylene-(*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoic acid were obtained by reductive methylation of the parent compounds (dialkyl esters of (*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoic acid) adding triacetoxyborohydride and formaldehyde in appropriate stoichiometric amounts. A reaction between synthesized ligands and potassium tetrachloroplatinate(II) afforded octahedral Pt(IV) complexes giving rise to *N,N* bidentate coordination. The cytotoxic activity toward various cancer cell lines (A375, B16, CT26CL25, HCT116, PC3 and U251) was additionally investigated for this class of compounds.

Thiophenolate-oxazoline ligand, Li(SPh-oz) demonstrated different coordination modes due to the presence of two donor atoms (nitrogen and sulphur). Primarily, $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$ complex of distorted square planar geometry was obtained in a reaction of Li(SPh-oz) with potassium hexachloroplatinate(IV). The isolated monocrystal product of the specie indicated on *S,S-trans* arrangement of the ligands around the metal center. Nonetheless, a reaction between the identical ligand and *cis*-bis(triphenylphosphine)platinum(II) chloride afforded $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$ complex for which ^{31}P NMR spectroscopy and X-ray structural analysis confirmed

coordination of the triphenylphosphine moiety. Structural determination for both formed isomers obtained from suitable fractions was possible as well.

Part of the thesis also included studying oxidoreductive properties of the synthesized compounds using cyclic and differential pulse voltammetry. Pt(IV) complexes with dialkyl esters of *N,N'*-methylene-(*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoic acid confirmed proposed mechanism of a twoelectron reduction on the metal centre. Low redox potential values ($-816 < E < -924$ mV vs. Ag/AgCl) indicated hard reduction followed by the loss of two chlorido ligands in axial position. Obtained electrochemical data were used for establishing a potential correlation between bioreductive character of these compounds and their cytotoxicity. In that sense, satisfying E-IC₅₀ correlation was obtained for two cell lines (CT26CL25 and PC3). Redox behavior study of Pt(II) complexes with thiophenolate-oxazoline ligand indicated the irreversible electrochemical reaction which excludes electron transfer from the metal center. Thus detected oxidation/reduction steps were discussed due to the electrochemical behavior of the corresponding ligand system.

Keywords: platinum complexes, amine ligands, thiophenolate ligands, cytotoxicity, oxidoreductive properties, voltammetry.

Scientific area: Chemistry

Scientific Sub-area: General and Inorganic Chemistry

UDC number: 546. 9

Lista skraćenica:

DNK	dezoksiribonukleinska kiselina
en	etilendiamin (1,2-etandiamin)
edda	etandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
eddp	etandiamin- <i>N,N'</i> -di-3-propanoat
eddip	etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-propanoat
edma	etilendiaminmonoacetat
dien	dietilentriamin
ipa	izopropilamin
cha	cikloheksilamin
dach	1,2-diaminocikloheksan
Me	metil
Et	etil
<i>n</i> Pr	<i>n</i> -propil
<i>n</i> Bu	<i>n</i> -butil
<i>i</i> Bu	izobutil
<i>i</i> Pe	izopentil
<i>n</i> BuLi	<i>n</i> -butillitijum
PPh ₃	trifenilfosfin
PBS	fosfatni puferski rastvor
MTT	2,5-difenil-3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2 <i>H</i> -tetrazolijum-bromid
PI	propidijum-jodid
Ann	aneksin
FITC	fluorescein izotiocijanat
CV	ciklična voltametrij
DPV	diferencijalna pulsna voltametrij
E	elektrodni potencijal
I-E	struja-potencijal (kriva)
TBAP	tetrabutilamonijum-perhlorat
NMR	nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija

COSY	„Correlation spectroscopy”
HSQC	„Heteronuclear Single Quantum Coherence”
HMBC	„Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy”
LC-MS	„Liquid chromatography-mass Spectrometry”
HESI	„Heated Electrospray Ionization”
MSD	„Mass Selective Detector”
FT-IR	„Fourier transform infrared spectroscopy”
ATR	„Attenuated Total Reflection”
Ulj/Vid	ultraljubičasta-vidljiva spektroskopija

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPŠTI DEO.....	2
2.1. Platina (Pt)	2
2.1.1. Kratak osvrt na poreklo platine	2
2.1.2. Opšta svojstva platine.....	2
2.1.3. Oksidaciona stanja platine.....	3
2.2. Biološki aktivni Pt(II) i Pt(IV) kompleksi	4
2.3. Izbor, uloga i uticaj ligan(a)da na hemijska i biološka svojstva platinskih kompleksa	9
2.3.1. Etilendiamijski ligandi, njihovi derivati i koordinaciona hemija	11
2.3.2. Polidentatni ligandi sa različitim donorskim atomima.....	13
2.4. Redoks hemija biološki aktivnih jedinjenja.....	14
2.4.1. Korelacija struktura-elektrodni potencijal.....	16
2.4.2. Korelacija elektrodni potencijal-citotoksičnost.....	21
2.4.3. Metode određivanja elektrodnog potencijala: ciklična voltametrija i diferencijalna pulsna voltametrija	23
3. EKSPERIMENTALNI DEO.....	27
3.1. Sinteze liganada	27
3.1.1. Sintaza dimetil estra <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L1	27
3.1.2. Sintaza dietil estra <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L2.....	28
3.1.3. Sintaza dipropil estra <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L3.....	29
3.1.4. Sintaza dibutil estra <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L4.....	29
3.1.5. Sintaza diizobutil estra <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L5.....	30
3.1.6. Sintaza diizoamil estra <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L6.....	31
3.1.7. Sintaza litijum 2-(4,4-dimetil-4,5-dihidrooksazol-2-il)benzentiolata, Li(SPh-oz), L7	32
3.2. Sinteze kompleksa	32
3.2.1. Sintaza <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)-dimetilpropanoat-tetrahlridoplatina(IV), [PtL ¹ Cl ₄], K1	32

3.2.2. Sinteza <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)-dietilpropanoat-tetrahloridoplatina(IV), K2, [PtL ² Cl ₄]	33
3.2.3. Sinteza <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)-dipropilpropanoat-tetrahloridoplatina(IV), K3, [PtL ³ Cl ₄].....	34
3.2.4. Sinteza <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)-dibutilpropanoat-tetrahloridoplatina(IV), K4, [PtL ⁴ Cl ₄].....	35
3.2.5. Sinteza [Pt(<i>S</i> -Phoz) ₂], K5.....	35
3.2.6. Sinteza [Pt(η ² <i>S</i> -Phoz)(η ¹ <i>S</i> -Phoz)(PPh ₃)], K6	36
3.3. Materijali i metode	37
3.3.1. Hemikalije, reagensi i uslovi za sinteze	37
3.3.2. Određivanje tački topljenja	38
3.3.3. Elementalna analiza.....	38
3.3.4. NMR spektroskopija	38
3.3.5. Masena spektrometrija	38
3.3.6. Infracrvena spektroskopija	38
3.3.7. Elektronsko-apsorpciona spektroskopija.....	39
3.3.8. Rendgenska strukturna analiza.....	39
3.4. Biološka ispitivanja.....	41
3.4.1. Čelijske kulture i reagensi za ispitivanje citotoksičnosti	41
3.4.2. Evaluacija vijabiliteta ćelija kristal violet i MTT testovima	42
3.4.3. Analiza ćelijskog ciklusa.....	42
3.4.4. Detekcija aktiviranih formi kaspaza.....	42
3.4.5. Statistička obrada podataka	43
3.5. Elektrohemijska merenja	43
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	44
4.1. Sinteze liganada	44
4.1.1. Sinteze metilovanih estara <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil) propanske kiseline, L1-6	44
4.1.2. Sinteza Li(<i>S</i> Ph-oz) liganda, L7	45
4.2. Sinteze kompleksa platine	45
4.2.1. Sinteze Pt(IV) kompleksa sa metilovanim estrima <i>N,N'</i> -metilen-(<i>S,S</i>)-etilendiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, K1-4.....	45
4.2.2. Sinteza [Pt(<i>S</i> -Phoz) ₂], K5.....	46
4.2.3. Sinteza [Pt(η ² <i>S</i> -Phoz)(η ¹ <i>S</i> -Phoz)(PPh ₃)], K6	47
4.3. Spektroskopska karakterizacija sintetisanih liganada i kompleksa	48
4.3.1. NMR spektroskopija	48
4.3.2. Masena spektrometrija	50
4.3.3. IC spektroskopija.....	51
4.3.4. Rendgenska strukturna analiza Pt(II) kompleksa, K5 i K6.....	52
4.4. Određivanje citotoksičnosti liganada, L1-4 i Pt(IV) kompleksa, K1-4	55
4.4.1. Procena antitumorskog dejstva.....	55

4.4.2. Ispitivanje mehanizma ćelijske smrti	57
4.5. Ispitivanje redoks ponašanja sintetisanih jedinjenja	57
4.5.1. Oksido-redukciona svojstva liganada	57
4.5.2. Oksido-redukciona svojstva kompleksa Pt(IV) i Pt(II).....	60
4.5.3. Određivanje korelacije elektrodni potencijal-citotoksičnost.....	63
5. ZAKLJUČAK.....	66
6. LITERATURA	68
7. PRILOG.....	76

1. UVOD

Hemija platinskih kompleksnih jedinjenja svoje prisustvo u modernoj hemijskoj literaturi opravdava raznovrsnim primenama u različitim sferama. I pored intenzivnih istraživanja na polju katalitičkih reakcija i nanomaterijala, kompleksi platine su obično sinonim za biološki aktivna jedinjenja koja se prvenstveno koriste u terapiji malignih bolesti.

Primarni cilj ove disertacije je sinteza i kompletna karakterizacija kompleksnih jedinjenja platine sa dva različita tipa ligandnih sistema: *N,N* donorskim ligandom edda tipa i *N,S* donorskim ligandom tiofenolat-oksazolinskog tipa. Odabir struktura liganada opravdan je izraženim antitumorskim potencijalom velikog broja edda derivata. Na njihovom primeru je jasno demonstrirana ideja o ligand-metal sinergizmu kada je uvođenje odgovarajućeg metalnog centra (platine ili rutenijuma) dodatno pojačalo inače jaku antitumorsku aktivnost ove klase jedinjenja. S druge strane, tiofenolat-oksazolinskog ligand predstavlja jedan od potencijalnih bio-inspirisanih molekula s obzirom na prisustvo atoma sumpora kao dodatnog koordinacionog mesta i oksazolinskog prstena. Njegov koordinacioni potencijal je ispitan u reakcijama s različitim prekursorskim jedinjenjima platine.

Savremena literatura koja se odnosi na koordinacionu hemiju platinskih kompleksnih jedinjenja, između ostalog, podrazumeva i proučavanje oksido-redukcionih svojstava novosintetisanih molekula. Na značaj njihovog istraživanja ukazuje opšte prihvaćena teorija koja govori o aktivaciji jedinjenja putem redukcije metalnog centra. U ove svrhe primenjuju se relativno jednostavne voltametrijske metode koje omogućavaju detaljnu analizu elektrohemijskih reakcija od interesa. Stoga se jedan deo ovog rada odnosi i na procenu težine redukcije sintetisanih liganada i kompleksa.

2. OPŠTI DEO

Kompleksna jedinjenja platine predstavljaju neizostavni deo moderne koordinacione hemije s obzirom na njihovu raznovrsnu primenu [1-5]. Fraza *od biologije do nanotehnologije* možda najbolje oslikava njihovu prisutnost u savremenoj literaturi, nauci i tehnologiji. Ipak, svoj najveći potencijal platinski kompleksi iskazali su na polju katalize, biologije, medicine i hemije [6-9]. Zahvaljujući antitumorskoj aktivnosti jedinjenja na bazi pojedinih prelaznih metala, nekada nepovezive naučne discipline danas su više nego ikad upućene jedna na drugu. Stoga je u nastavku teksta dat sažet opis pojmova od značaja za ovu doktorsku disertaciju.

2.1. Platina (Pt)

2.1.1. Kratak osvrt na poreklo platine

Veruje se da je platina prvobitno korišćena u starom Egiptu kao slučajna zamena za srebro pri izradi nakita [10]. Njena pojava u Evropi krajem XVIII veka se povezuje sa interesantnom karakterizacijom platine kao *nepreradivog* metala od strane španskog astronoma, Don Antonio de Ulloa [11]. Naziv je potekao od španske reči platina koja znači malo srebro. Detaljnije istraživanje njenih svojstava započeto je 1748. god. u Engleskoj i Švedskoj. Tamo je ovaj plemeniti metal dobio nadimak belo zlato ili osmi metal (prethodnih sedam bili su Au, Ag, Hg, Cu, Fe, Sn i Pb, poznati i pre nove ere). Prve veće količine platine dobijene su na početku XIX veka kada je W. H. Wollaston ovaj plemeniti metal učinio komercijalno dostupnim.

2.1.2. Opšta svojstva platine

Platina je element 10. grupe PSE sa atomskim brojem 78 i predstavnik tzv. platinske grupe metala u koju još ubrajamo Ru, Rh, Pd, Os i Ir. S obzirom na njenu (ne)zastupljenost u Zemljinoj kori (~5 ppb), jasno je da se radi o vrlo retkom i vrednom metalu. Osnovna atomska i fizička svojstva platine data su u Tabeli 1.

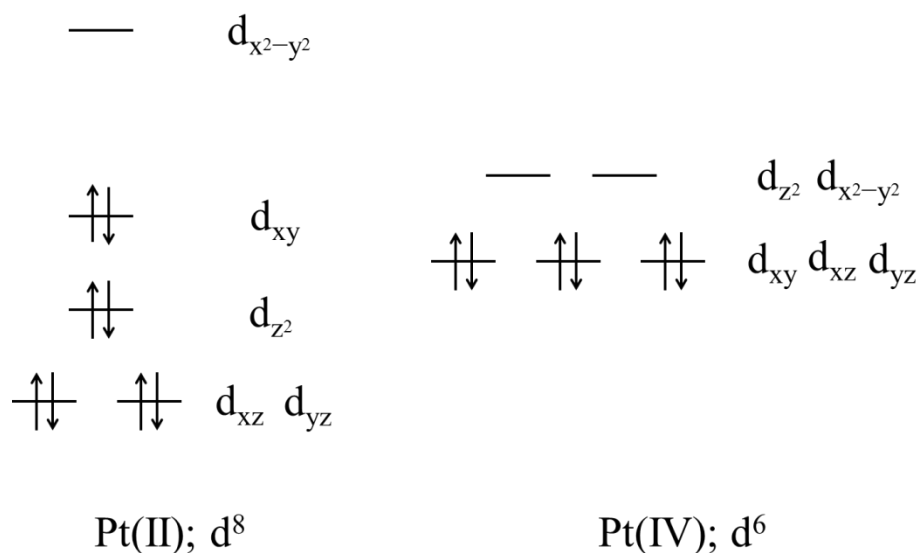
Tabela 1. Fizička i atomska svojstva platine.

Atomski broj		78
Relativna atomska masa		195,084
Gustina / g/cm ³ (na 293 K)		21,45
Tačka topljenja/ K		2045
Tačka ključanja/ K		4098
Elektronska konfiguracija	Pt ⁰	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ⁹ 6s ¹
	Pt ⁺²	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ⁸
	Pt ⁺⁴	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ⁶
Elektronegativnost		2,28
Afinitet prema elektronu/ kJ/mol		205,3
Energije jonizacije/ kJ/mol		prva: 870
		druga: 1791
Atomski radijus/ Å	Pt ⁰	1,375
	Pt ⁺²	0,74
	Pt ⁺⁴	0,765
Standardni elektrodni potencijal/ V	Pt ⁺⁴ /Pt ⁺²	+0,68
	Pt ⁺² /Pt ⁰	+1,2

Platina se u prirodi se javlja u vidu šest izotopa ¹⁹⁰Pt, ¹⁹²Pt, ¹⁹⁴Pt, ¹⁹⁵Pt, ¹⁹⁶Pt i ¹⁹⁸Pt od kojih je ¹⁹⁵Pt najzastupljeniji (~33,83%). Značajno je napomenuti da je ¹⁹⁵Pt jedini izotop koji je vidljiv u NMR spektroskopiji (I=½) zbog čega je detekcija ovog metala u kompleksnim jedinjenjima spektroskopski omogućena.

2.1.3. Oksidaciona stanja platine

Platina se može naći u sledećim oksidacionim stanjima: 0, +1, +2, +3, +4, +5 i +6 mada je njena hemija najčešće ograničena na +2 i +4 oksidacione brojeve. +1 i +3 stanje je prisutno u jedinjenjima sa metal-metal vezama. Pt(II) gradi kvadratno-planarne komplekse sa koordinacionim brojem 4 (Slika 1). S obzirom da se svrstava u tzv. meke metale, favorizuje komplekse sa mekim ligandima čiji su donorski atomi manje elektronegativni (S ili P).



Slika 1. Cepanje skupa d-orbitala u kristalnom polju kvadratno planarne (Pt(II); d^8) i oktaedarske (Pt(IV); d^6) geometrije.

Platina u oksidacionom stanju +4 ima d^6 elektronsku konfiguraciju i gradi niskospinske komplekse oktaedarske geometrije (Slika 1). Zbog visoke vrednosti energije stabilizacije ligandnog polja, Pt(IV) kompleksi su termodinamički stabilniji i kinetički inertniji u odnosu na Pt(II) jedinjenja. Upravo je ovo svojstvo iskorišćeno za poboljšano dejstvo antitumorskih jedinjenja na bazi platine [12, 13] o čemu će u nastavku teksta biti više reči.

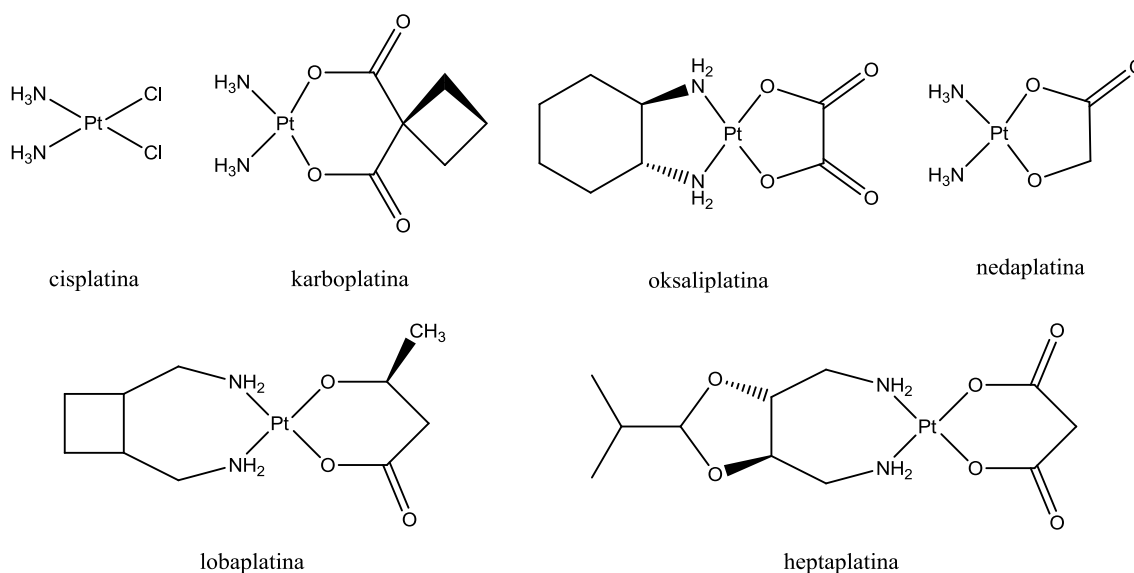
2.2. Biološki aktivni Pt(II) i Pt(IV) kompleksi

Upotreba metala i njihovih jedinjenja kao antitumorskih agenasa prvi put je zabeležena još u XVI veku kada su pripremani preparati na bazi žive i srebra [14]. Prvi hemioterapeutik, po svom hemijskom sastavu kalijum-arsenit ($KAsO_2$), patentirao je Fowler u XVIII veku za lečenje leukemije [15]. Međutim, hemioterapija je kao grana medicine počela da se razvija tek 80 godina kasnije kada su Koelle i Gilman 1946. god. [16] utvrdili antitumorsku aktivnost *bis*(2-hloretil)-etilamina [17, 18].

Najznačajniji iskorak na polju bioneorganske hemije napravljen je šezdesetih godina prošlog veka Rosenberg-ovim otkrićem antitumorskog dejstva cisplatine [19, 20]. Iako je cisplatina sintetisana od strane Peyronea davne 1844. god. [21], intenzivna

istraživanja njene (bio)hemije traju i danas [22-25]. Cisplatina je kompleks kvadratno planarne geometrije sa dva relativno inertna molekula amonijaka i dva hloridna anjona koordinovana za metalni centar u *cis* položaju (Slika 2). Mehanizam delovanja cisplatine obuhvata pasivnu difuziju kroz ćelijsku membranu u sredinu sa nižom koncentracijom hloridnih jona. Izmenom jednog ili oba hlorido liganda dolazi do hidrolize ovog kompleksa koju sledi vezivanje platine za N7 atom guanina. Rezultat interakcije između kompleksa i DNK je nastajanje specifičnih Pt-DNK adukata, pozicioniranih unutar lanca α -heliksa. Formirani adukti dovode do distorzije DNK čime se ometa ili potpuno onemogućava dalja replikacija i transkripcija, a ćelija posledično podleže apoptozi [26-28].

Paralelno s istraživanjem cisplatine i njenih derivata, sintetisan je veliki broj Pt(IV) kompleksa u cilju prevazilaženja glavnih nedostataka postojećih jedinjenja (prvenstveno sporednih efekata poput mučnina, nefro-, neuro- i ototoksičnosti) [29-31]. Imajući u vidu da Pt(IV) u odnosu na Pt(II) analoge imaju veći koordinacioni broj (šest prema četiri), javlja se mogućnost da se izborom liganada u aksijalnom položaju utiče na bitna farmakološka svojstva kao što su: kinetička inertnost, lipofilnost i elektroodni potencijal [32]. Sem toga, Pt(IV) kompleksi su stabilniji pa je moguća i njihova oralna primena [33]. Nakon rigoroznih kliničkih ispitivanja, jedino su karbo-, oksali-, neda-, loba- i heptaplatina (Slika 2) ostali prisutni u kliničkoj praksi kao predstavnici grupe Pt(II) kompleksa [34-38].

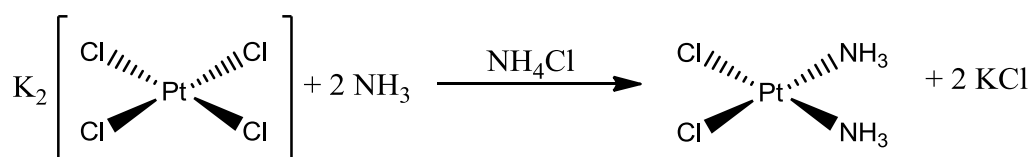


Slika 2. Strukture kompleksnih jedinjenja platine u kliničkoj upotrebi.

Mnogobrojni sintetički putevi biološki aktivnih kompleksa platine obuhvataju različite pristupe u cilju dobijanja jedinjenja željenih svojstava. U tom smislu se izdvajaju grupe Pt(II) i Pt(IV) kompleksa klasifikovane na osnovu tipičnih sintetičkih procedura u bioneorganskoj hemiji [39].

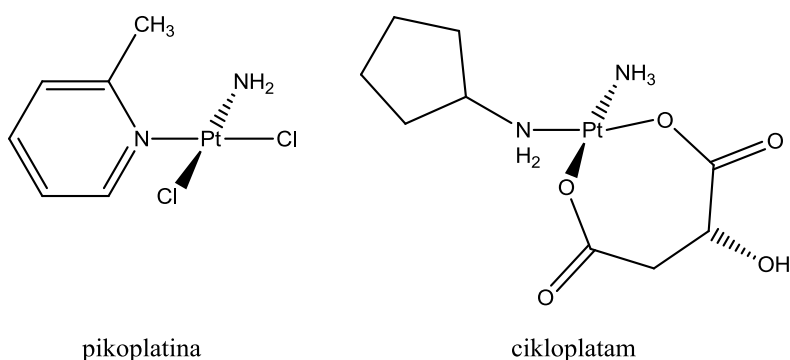
a) Pt(II) kompleksi:

- *cis*- i *trans*-[PtL₂X₂] sa am(m)inskim ili *N*-heterocikličnim ligandima i nekim od lako odlazećih (najčešće hlorido, bromido ili jodido) liganada. Tipični predstavnici ove grupe kompleksa su cisplatina [40] i njen *trans* izomer [41]. Kao polazni kompleks za sintezu ovog tipa Pt(II) kompleksa se najčešće koristi K₂[PtCl₄] rastvoran u vodi (Šema 1) [42].



Šema 1. Jedan od mnogobrojnih načina za sintezu cisplatine.

- *cis*- i *trans*-[PtLL'X₂] sa dva različita aminska ili *N*-heterociklična liganda od kojih su najistaknutiji primeri pikoplatine (*cis*-[Pt(NH₃)(2-pikolin)Cl₂]) [43] i cikloplatama (*cis*-[Pt(NH₃)(ciklopentilamin)(hidroksibutadionato)] [44], trenutno u III, odnosno II fazi kliničkih ispitivanja (Slika 3).

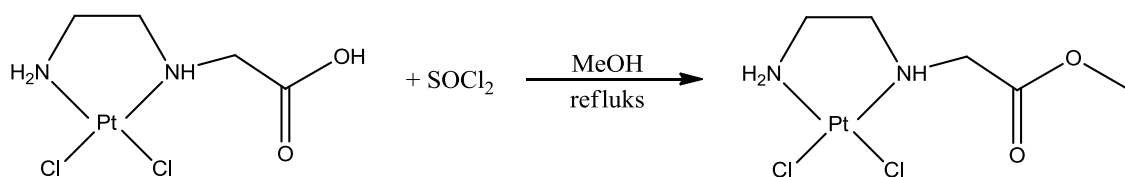


Slika 3. Strukture *cis*- i *trans*-[PtLL'X₂] kompleksa.

- monofunkcionalni Pt(II) kompleksi koji poseduju samo jedan supstituciono labilan ligand poput neaktivnih kompleksa [Pt(dien)Cl]Cl i [Pt(NH₃)₃Cl]Cl. Iako

pomenuta jedinjenja nisu pokazala očekivane biološke rezultate, njihov značaj se ogleda u doprinosu prilikom uspostavljanja osnovnih struktura-aktivnost pravila po kojima je za potencijalnu primenu, između ostalog, potrebno i da kompleksno jedinjenje bude elektroneutralno i bifunkcionalno (tj. da sadrži dva supstituciono labilna liganda) [39].

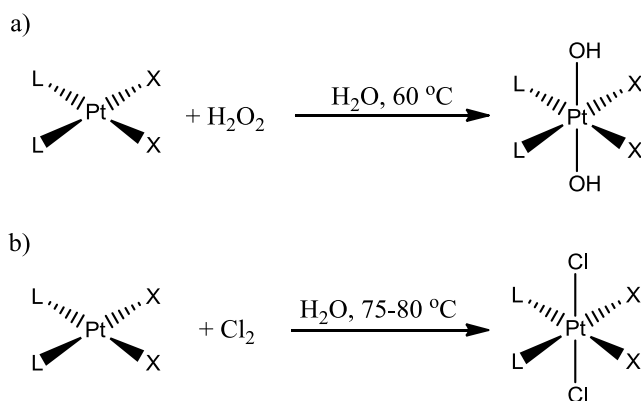
- kompleksi Pt(II) sa različitim *N*-donorskim ligandima izražene reaktivnosti. Za razliku od prethodnih sintetičkih metoda koje se zasnivaju na supstituciji ligan(a)da na metalnom centru, ove reakcije podrazumevaju promenu na funkcionalnoj grupi koja nije direktno vezana za jon platine. Šema 2 ilustruje jedan od mnogobrojnih načina za konverziju karboksilnog dela [Pt(edma)Cl₂] kompleksa do metil estarske grupe uz SOCl₂ [39].



Šema 2. Primer sinteze Pt(II) kompleksa modifikacijom liganda.

b) Pt(IV) kompleksi:

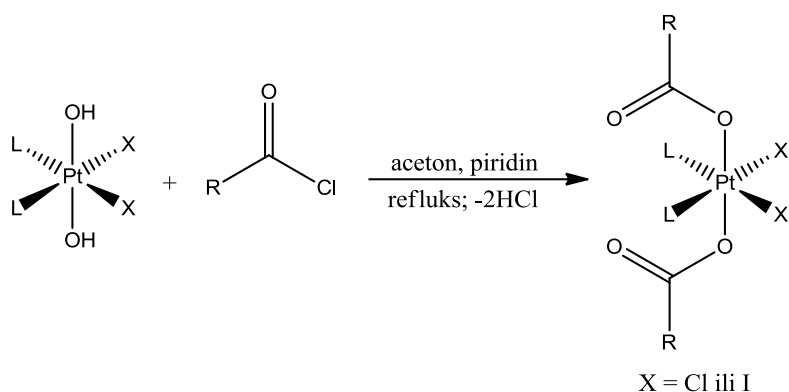
- dobijeni stanadardnom procedurom koja podrazumeva dvoelektronsku oksidaciju odgovarajućih Pt(II) prekursora. U ove svrhe najčešće se koriste vodonik-peroksid [45], hlor [46], alternativno KMnO₄, K₂Cr₂O₇, ozon i mnogi drugi (Šema 3) [39].



X = Cl ili I

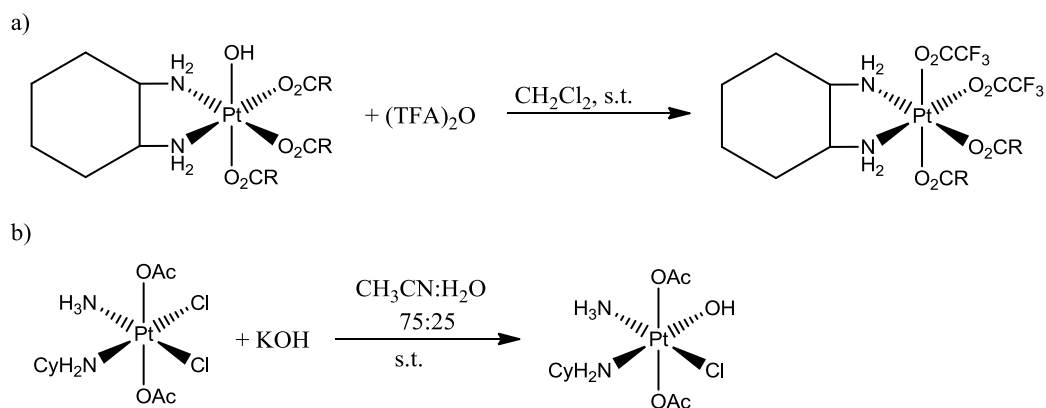
Šema 3. Dobijanje Pt(IV) kompleksa od odgovarajućih Pt(II) kompleksa oksidacijom a) vodonik-peroksidom i b) hlorom.

- sintetisani sa kinetički inertnim ligandima čiji su najznačajniji predstavnici Pt(IV) dikarboksilato kompleksi (Šema 4). Karboksilatni ligandi imaju veliki uticaj na lipofilnost i oksido-redukciona svojstva novosintetisanih Pt(IV) kompleksa [47, 48]. Dikarboksilato Pt(IV) kompleksi se mogu dobiti polazeći od odgovarajućih *cis*-[PtL₂(OH)₂] kompleksa kada aksijalni *cis* hidroksidni ligand ispoljava nukleofilna svojstva [49, 50].



Šema 4. Sinteza Pt(IV) karboksilatnih kompleksa.

- dobijeni reakcijama supstitucije liganada koje su, zbog inertne prirode Pt(IV) jedinjenja, generalno vrlo spore i zahtevaju oštrije reakcione uslove. Tako je veliki broj Pt(IV) kompleksa dobijen u pH kontrolisanim uslovima različitim mehanizmima (Šema 5) [51, 52].



Šema 5. Sinteza Pt(IV) karboksilatnih kompleksa u a) kiselim i b) baznim uslovima.

Nakon više od četrdeset godina intenzivnog istraživanja platinskih kompleksa u cilju dobijanja željenog antitumorskog agensa, izvedene su određene smernice kao deo modernih *struktura-aktivnost* studija. U kratkim crtama, sintetisana jedinjenja bi trebalo da zadovoljavaju sledeće preduslove:

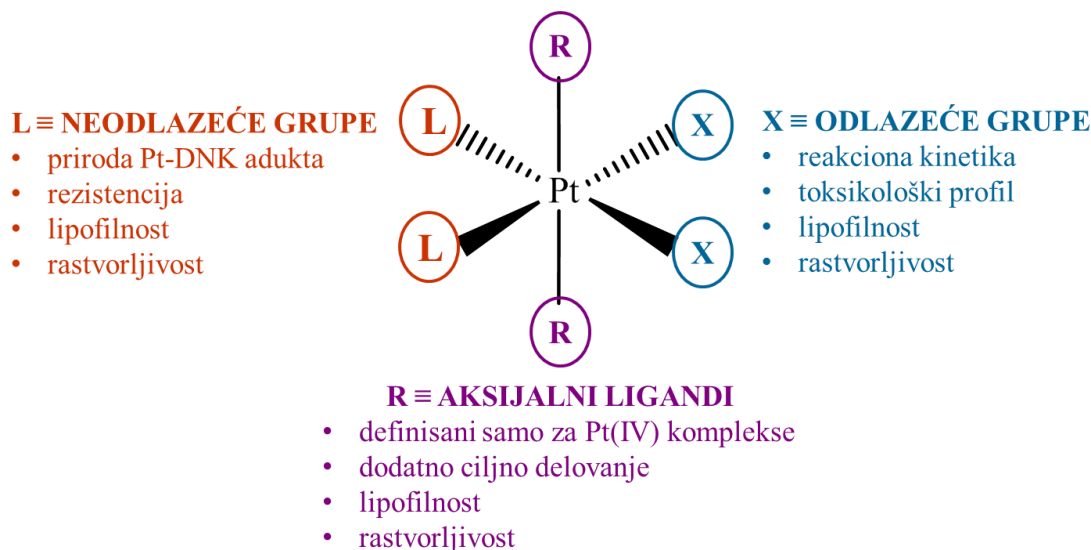
- da sadrže dva am(m)inska liganda ili jedan bidentatni, helatni diamin
- da sadrže dva lako izmenjiva liganda i samim tim da lako podležu hidrolizi
- da imaju mogućnost uvođenja novih donorskih grupa u aksijalnom položaju
- da budu elektroneutralna.

2.3. Izbor, uloga i uticaj ligan(a)da na hemijska i biološka svojstva platinskih kompleksa

Na značaj izbora liganada i njihovog uticaja na mehanizam delovanja kompleksnih jedinjenja, ukazano je krajem prošlog veka u detaljnim studijama platinskih kompleksa sa različitim aminskim ligandima [53]. Promena jačine *N*-donorskih liganada predstavlja jedan od načina da se utiče na biološka svojstva aktivnih jedinjenja [54]. Noviji sintetički trendovi favorizuju voluminozne ligande koji štite metalni centar od deaktivacije u fiziološkim uslovima. Sem toga, njihova bogata struktura povoljno utiče i na lipofilnost aktivnih kompleksnih jedinjenja olakšavajući prolaz kroz lipidni dvosloj [55]. Pogodnim odabirom ligan(a)da može se predvideti uticaj izmene određene grupe na hemijske (rastvorljivost, elektrodni potencijal) i farmakološka svojstva (rezistencija, mehanizam delovanja) [39].

Najčešće se problem izbora liganada razmatra u odnosu na položaj koji dati ligand zauzima u kompleksnom jedinjenju (Slika 4). Sa klasičnog hemijskog stanovišta razlikujemo 3 različita tipa liganada unutar kompleksa:

- ligandi **L** su tipično *N* donori obično označeni kao neodlazeće grupe zbog toga što sa platinom formiraju termodinamički stabilnu vezu, a prisutni su čak i u Pt-DNK aduktima. Pogodnim izborom bi- ili tridentatnih liganada utiče se na stabilnost posebno katjonskih platinskih kompleksa i smanjuje mogućnost neželjenih supstitucionih reakcija [54].



Slika 4. Ilustracija uticaja izbora ligan(a)da na različita svojstva kompleksa.

- izbor odlazeće grupe liganada obeležene sa **X**, takođe igra značajnu ulogu pri određivanju sudbine aplikovanog jedinjenja. Sam naziv ovog tipa liganada ukazuje na njegov gubitak koji prethodi vezivanju za DNK (usled npr. hidrolize). Smatra se da je jačina Pt-X veze ključna za formiranje odgovarajućih Pt-DNK adukata bez prethodne deaktivacije drugim biološkim nukleofilima [54]. Izuzetno slaba Pt-X veza će za posledicu imati ili deaktivaciju pre dolaska do ćelije mete ili akumulaciju kompleksa u zdravom tkivu. S druge strane, inertna odlazeća grupa će negativno uticati na intenzitet vezivanja platine za DNK pri čemu kompleks prolazi nepromenjen kroz telo. Neretko se za odlazeće grupe biraju hloridni joni, posebno pogodni za katjonski tip platinskih kompleksa.
- o prisustvu aksijalnih liganada **R** govorimo samo u slučaju Pt(III) i Pt(IV) kompleksnih jedinjenja. Nakon bioredukcije Pt(III) i Pt(IV) kompleksa u fiziološkim uslovima, aksijalni ligandi podležu disocijaciji. Sinteze mnogobrojnih Pt(IV) kompleksa bile su inspirisane upravo željom da se izmenom atoma/grupe u aksijalnom položaju optimizuju fizičke, redoks i/ili farmakokinetičke karakteristike. Pored toga, aksijalni položaj nudi dodatno koordinaciono mesto za neki od biološki aktivnih liganada čime se postiže sinergijski efekat metalnog centra i ligan(a)da [56- 58].

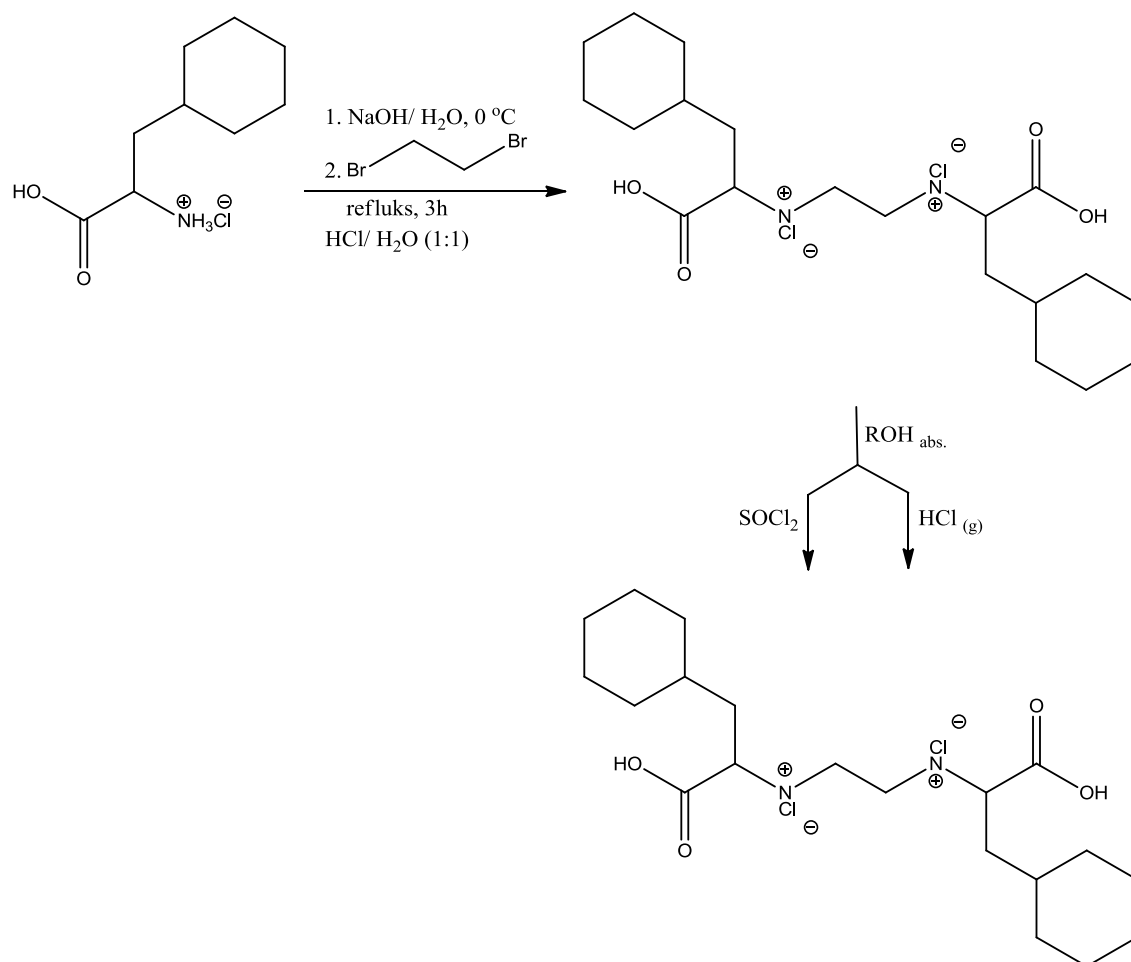
Ideja o sinergizmu između metala i ligan(a)da je u literaturi zastupljena poslednjih desetak godina [59]. Smatra se da oba konstituenta (metalni jon i ligand) jednog potencijalnog aktivnog kompleksa pozitivno doprinose njegovom krajnjem dejstvu. Obično uloga ligan(a)da obuhvata sledeće funkcije:

- ponašaju se kao nosioci na putu do ćelije-mete omogućavajući pristup samoj ćeliji
- štite metalni centar od potencijalnih reakcija sa mnogobrojnim biomolekulima
- svojim unapred utvrđenim antitumorskim delovanjem dodatno utiču na citotoksičnost jedinjenja od interesa.

2.3.1. Etilendiaminski ligandi, njihovi derivati i koordinaciona hemija

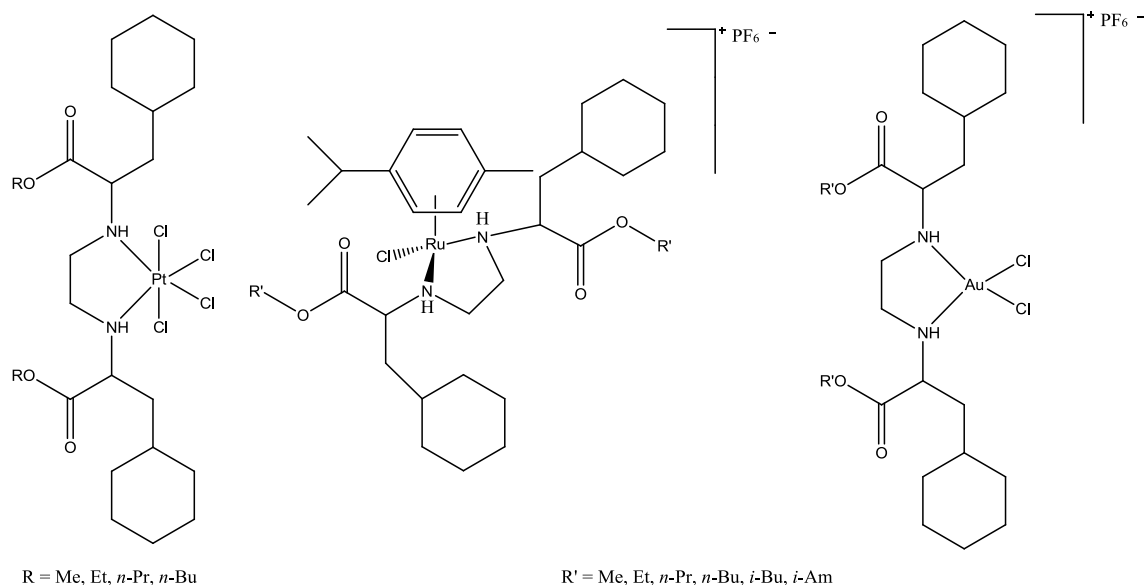
Etilendiamin-*N,N'*-diacetatni (edda, $-\text{OOCCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{COO}-$) tip ligan(a)da obuhvata veliki broj bioaktivnih jedinjenja sa dva, odnosno četiri donorska atoma (azota i kiseonika). Iz osnovne strukture ovog molekula izveden je čitav niz kiselina (H_2edda , H_2eddp , (*S,S*)- H_2eddip) i odgovarajućih estara sintetisanih u grupi Sabo i saradnici početkom XX veka [60, 61]. Značajno je pomenuti veliki broj Pt(IV) kompleksa koordinovanih za pomenute ligande čija je antitumorska aktivnost potvrđena na različitim ćelijskim linijama. Sem toga, koordinacioni potencijal liganada edda tipa i njihovih analoga je utvrđen i za mnoge druge prelazne metale poput Co, Cr, Cu, Ni, Zn, Mn, Sn, Fe, V, Rh i Ru [62].

Motivisana mnogobrojnim i raznovrsnim osobenostima bioaktivnih jedinjenja, grupa Sabo-Grgurić Šipka sintetisala je veliki broj strukturno sličnih organskih jedinjenja etilendiaminskog tipa [63-66] koja su pokazala uporedivu, neretko i veću citotoksičnost od cisplatine. Dobijene kiseline se najčešće koordinuju tetradentatno, preko atoma azota etilendiaminskog dela i kiseonika karboksilatne grupe. Za razliku od njih, odgovarajući diestri ovih kiselina se za metalne centre vezuju samo preko atoma azota, odnosno bidentatno. Na Šemi 6 je predstavljena procedura za dobijanje cikloheksil-funkcionalizovanih etilendiamin-*N,N'*-diacetatnih liganada [67, 68].



Šema 6. Tipična procedura za dobijanje cikloheksil-funkcionalizovanih etilendiamin-*N,N'*-diacetatnih liganada.

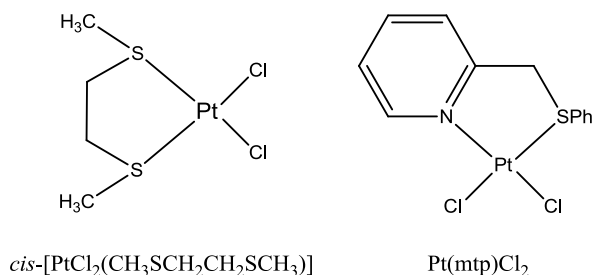
Najznačajnije svojstvo edda tipa liganada jeste njihova moć vezivanja za prelazne metale u različitim oksidacionim stanjima. U tom smislu, sintetisan je veliki broj odgovarajućih kompleksa Pt(II), Pt(IV), Pd(II), Ru(II) i Au(III) (Slika 5) sa estrima normalnog (R = Me, Et, *n*Pr, *n*Bu) i račvastog niza (R = *i*Bu, *i*Pe) [63, 64, 69-73]. Pored neosporno visoke citotoksičnosti gotovo svih sintetisanih jedinjenja ove klase, njihovu veliku prednost predstavlja mogućnost različitih strukturnih modifikacija kojima se dodatno može uticati na različite hemijska i farmakološka svojstva jedinjenja.



Slika 5. Sintetisani kompleksi sa cikloheksil-funkcionalizovanim ligandima etilendiaminskog tipa.

2.3.2. Polidentatni ligandi sa različitim donorskim atomima

Obično se pod hemijom bioaktivnih jedinjenja podrazumeva kompleks u kojem je metalni jon koordinovan isključivo za *N* donorske atome različitih ligandnih sistema. S obzirom na veliki uspeh karbo- i oksaliplatine gde je Pt vezana i preko dva atoma kiseonika, poslednjih desetak godina sintetisan je veliki broj Pt(II) kompleksa sa *N,S*, *N,O* ili *N,O,S* donorskim ligandima. Prisustvo različitih donorskih atoma svakako otvara nove sintetičke mogućnosti pri racionalizovanju struktura čime se dodatno može uticati na mehanizam delovanja dobijenih jedinjenja [74-77]. Podstaknuta ovom činjenicom, Sadlerova grupa je prvobitno sintetisala jednostavni *cis*-[PtCl₂(CH₃SCH₂CH₂SCH₃)] kompleks (Slika 6) čija je antitumorska aktivnost takođe potvrđena [78]. Nešto kasnije su započete sinteze platinskih kompleksa sa ligandima koji sadrže 2 ili više različita donorska atoma [79-82]. Tako je na primer kompleks dihlorido(2-metiltiometilpiridin)platina(II), Pt(mtp)Cl₂, sintetisan sa *N,S* organotiometilpiridinskim ligandom (Slika 6), da bi nakon bioloških ispitivanja bio klasifikovan kao obećavajući citostatik [83].

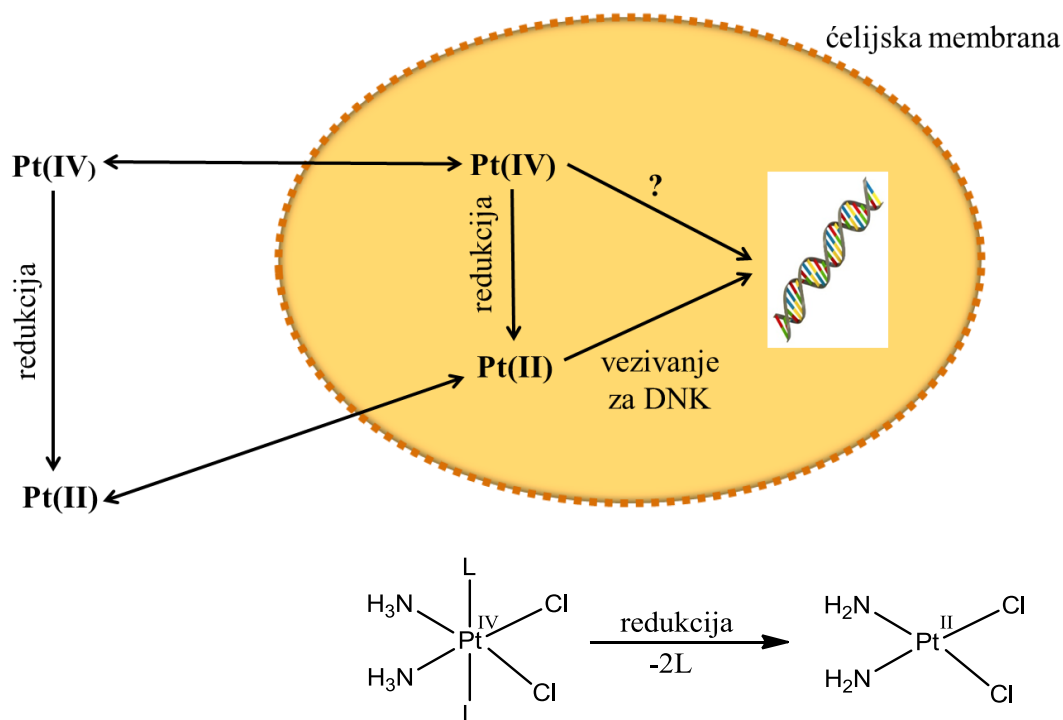


Slika 6. Kompleksi Pt(II) sa S,S i N,S donorskim ligandima.

Dosadašnje studije su pokazale da kompleksi sa bidentatnim ligandima pokazuju veću citotoksičnost od svojih analoga sa samo jednim koordinacionim mestom [84]. Sem toga značajno je pomenuti da su Pt-DNK adukti koje ovi kompleksi formiraju daleko fleksibilniji sa višim stepenom vezivanja između lanaca jedne DNK. Iako je literatura Pt(II, IV) kompleksnih jedinjenja sa *O*, *S* ili *P* donorskim ligandima i dalje oskudna, ova oblast pruža mogućnost da se pogodnim odabirom ligandnog sistema spreči vezivanje platine za proteine koji u svojim aminokiselinskim ostacima sadrže sumpor i koje je odgovorno za niz sporednih efekata u fiziološkim uslovima [85].

2.4. Redoks hemija biološki aktivnih jedinjenja

Osnovni koncept mehanizma delovanja antitumorskih agenasa bazira se na hipotezi *aktivacija putem redukcije* koja je ilustrativno prikazana na Slici 7 [86-89]. S medicinske tačke gledišta, ova hipoteza se objašnjava činjenicom da je elektrohemijski potencijal unutar čvrstog tumora generalno niži u odnosu na okolno, zdravo tkivo. Hipoksično tumorsko tkivo na ovaj način favorizuje redukciju metalnog jona koji se nalazi u višem oksidacionom stanju (npr. Pt(IV), Ru(III) ili Au(III)). Smatra se da za aktivaciju i delovanje potencijalno aktivnog jedinjenja neophodna ekstra- ili intracelularna redukcija [90] do prvog nižeg oksidacionog stanja. Stoga se u novijoj literaturi često susrećemo sa terminom *prolek* koji označava neaktivan oblik antitumorskog agensa. *In vivo* aktivacija Pt(IV) kompleksa obuhvata redukciju metalnog jona, najčešće praćenu gubitkom aksijalnih liganada. Međutim, treba naglasiti da nasuprot opšte prihvaćenom stavu o bioredukciji metala, postoje studije koje su dokazale da se Pt(IV) može vezati za DNK i ispoljiti svoje dejstvo bez prethodnog transfera elektrona [91-93].



Slika 7. Mehanizam delovanja Pt(IV) kompleksa: aktivacija redukcijom praćena gubitkom oba liganda u aksijalnom položaju.

Redoks hemija Pt(IV) i Ru(III) kompleksnih jedinjenja je poslednjih godina intenzivno proučavana [94-100]. Bioreduktivni karakter oba metala se istražuje u cilju dobijanja željene strukture koja će omogućiti izmenu odgovarajućeg liganda i optimalnu brzinu redukcije. Smatra se da na redukciju utiče vrsta odlazeće grupe kao i termodinamika i kinetika podstupnjeva ovog procesa. Međutim, bitno je napomenuti suštinsku razliku u mehanizmu delovanja Pt(IV) i Ru(III) kompleksnih jedinjenja. Dok Ru kompleksi zadržavaju svoju oktaedarsku geometriju nakon transfera elektrona [101], Pt(IV)→Pt(II) redukcija podrazumeva gubitak oba liganda u aksijalnom položaju i promenu geometrije iz oktaedarske u kvadratno-planarnu [102]. Glavna prednost Pt(IV) kompleksa u odnosu na odgovarajuće Pt(II) analoge se ogleda u njihovoj kinetičkoj inertnosti koja do izražaja dolazi u fiziološkim uslovima. Ovim je omogućeno da aktivno jedinjenje krvotokom dođe do ćelije-mete u neizmenjenom obliku, a zatim intracelularno reaguje s DNK. Bitno je napomenuti da moderne sintetičke metode omogućavaju modifikovanje različitih liganada [103-105] u aksijalnom položaju pri čemu se direktno utiče na lipofilnost sintetisanog jedinjenja i sposobnost da u neredukovanom obliku uđe u samu tumorsku ćeliju. Ometanje ili potpuno sprečavanje

sporednih reakcija između primenjenih Pt(IV) kompleksa i biomolekula jedno je od osnovnih načela pri oblikovanju željene strukture.

Transfer elektrona kod platinskih kompleksa može se postići hemijskim ili elektrohemijskim putem. U slučaju hemijske redukcije, Pt(IV) kompleks biva ekstracelularno redukovan uz prisustvo glutationa [106] ili nekog drugog redukujućeg agensa poput askorbinske kiseline i njenih soli [107]. Elektrohemijski transfer elektrona se proučava metodom ciklične voltametrije u pogodnom rastvaraču i uz odgovarajući elektrolit. Glavni nedostatak ovog pristupa se ogleda u činjenici da su elektrohemijski procesi ireverzibilni, pa su svi termodinamički i kinetički parametri elektrode potpuno zanemareni.

Detaljnije studije elektrohemijskog ponašanja potencijalno aktivnih organometalnih jedinjenja započeta su nedavno i obuhvataju mali procenat do sada sintetisanih kompleksa. Redoks hemija trenutno predstavlja neizostavni deo svakog ozbiljnijeg struktura-aktivnost istraživanja i najčešće se odnosi na ispitivanje odnosa struktura-elektrodni potencijal i elektrodni potencijal-biološka aktivnost.

Višegodišnja ispitivanja na temu značaja određivanja potencijala nekog bioreduktivnog jedinjenja dovela su do osnovne koncepcije koja bi trebalo da obuhvati:

- procenu težine redukcije oksidovanog oblika inertnog jedinjenja do labilnih redukovanih vrsta
- stepen reaktivnosti aktivne forme jedinjenja sa biološkom metom
- moguće posledice oksidativnog stresa unutar tkiva.

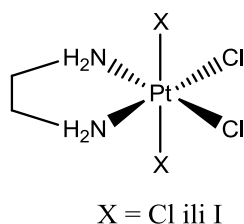
Značaj pristupa *aktivacija redukcijom* ogleda se u mogućnosti selekcije potencijalno aktivnog jedinjenja sklonog ka selektivnoj redukciji u hipoksičnoj sredini. Stoga bi strategija razvoja budućeg leka trebalo da obuhvati kompletan uvid u strukturalna, elektrohemijska i farmakološka svojstva čiji bi izbalansirani odnos znatno unapredio svojstva trenutno primenjivih jedinjenja.

2.4.1. Korelacija struktura-elektrodni potencijal

S obzirom na opšteprihvaćeno mišljenje da se Pt(IV) kompleksi najpre redukuju do odgovarajućeg Pt(II) oblika, od velikog značaja je ispitati kojom se težinom dato jedinjenje redukuje u fiziološkim uslovima. Stoga ne iznenađuje činjenica da

mnogobrojni faktori utiču na proces redukcije u složenom sistemu poput ljudskog organizma. Kinetička inertnost Pt(IV) kompleksa obezbeđuje potencijalnom leku da do ćelije-mete stigne nepromenjen. Međutim, velika prednost sintetisanih, biološki aktivnih jedinjenja jeste mogućnost izmene liganada u aksijalnom položaju. Funkcionalizovanjem primarnih molekula dobijaju se slične strukture sa poboljšanim fizičko-hemijskim svojstvima. Na ovaj način se istovremeno utiče i na rastvorljivost kompleksnih jedinjenja, a samim tim i na njihovu sposobnost da u tumorsku ćeliju ulaze u neredukovanom obliku.

Istraživanja Hambley-eve grupe [87] dovela su do saznanja da, pored metalnog centra, na vrednost elektrodnog potencijala utiče i priroda samih liganada. U tom smislu, redukcija je najbrža u slučaju hlorido liganda u aksijalnom položaju, nešto sporija za karboksilato- i najsporija za hidrokso- ligande (Slika 8) [92]. Pored toga, potvrđen je daleko jači uticaj aksijalnih liganada u poređenju sa ekvatorijalnim ligandima diaminskog tipa (Tabela 2). Izmena aaminskih liganada u ekvatorijalnom položaju kompleksa opšte formule $cis-[PtCl_4(NRH_2)_2]$ ($R = H, Me, Et, n\text{-}Pr, i\text{-}Pr, n\text{-}Bu, i\text{-}Bu, sec\text{-}Bu, terc\text{-}Bu, terc\text{-}CH_2Bu, CH_2Ph, C_6H_{11}$) pokazala je vrlo sličan efekat [87]. Sem toga, na brzinu redukcije su uticali i faktori poput sternih smetnji koje potiču od R ostatka i σ - donorskih sposobnosti. Ista grupa autora je proučavala i redoks karakter velikog broja Pt(IV) kompleksa polifluoroarilskog tipa [108]. Tako su promene dužine lanca aril dela karboksilato liganda dovele do neznatnih promena elektrodnih potencijala dok je promena prirode donorskog atoma imala daleko veći uticaj (npr. izmena hidrokso sa hlorido ligandom).



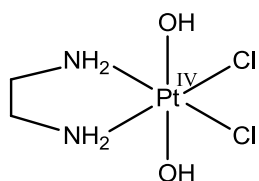
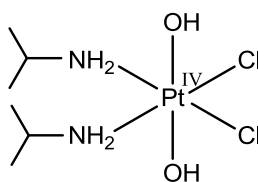
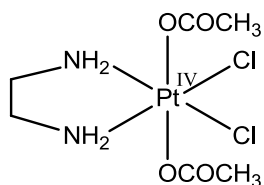
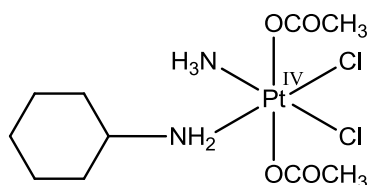
Slika 8. Opšta struktura kompleksa Pt(IV) u Hambley-evoj studiji.

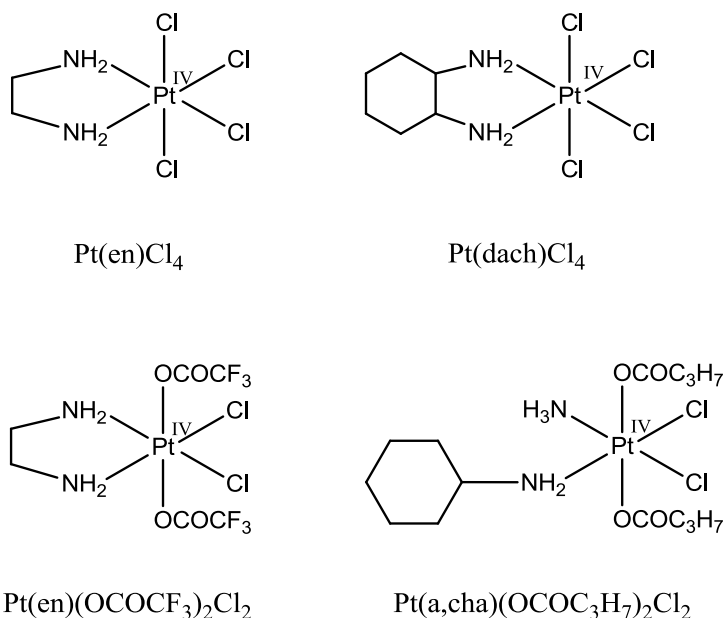
Tabela 2. Uticaj različitih aksijalnih liganada na elektrodne potencijale kompleksa tipa $cis-[PtCl_2X_2(NRH_2)_2]$.

Ligand (X)	E/ mV
Cl	– 4
OC(O)CH ₃	– 26
OC(O)CH ₂ CH ₃	– 301
OC(O)CH ₂ CH ₂ CH ₃	– 273
OH	– 664

* Prikazane E vrednosti su date u odnosu na standardnu vodoničnu elektrodu radi lakšeg poređenja.

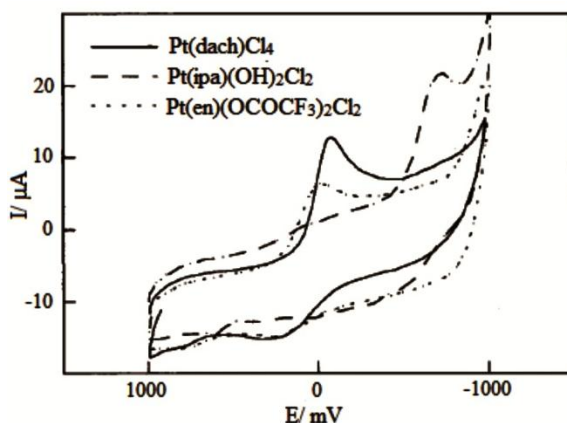
Sveobuhvatno i detaljno Choi-evo istraživanje jedno je od malobrojnih urađenih na velikom broju strukturno sličnih Pt(IV) kompleksnih jedinjenja prikazanih na Slici 9 [109]. Eksperimentalni rezultati dobijeni u pionirskoj Choi-evoj studiji ukazali su na značaj određivanja redukcionog mehanizma. Uticaj aksijalnih i ekvatorijalnih liganada na brzinu redukcije i citotoksičnost je ispitan na sledećim kompleksima: $\text{Pt(en)(OH)}_2\text{Cl}_2$, $\text{Pt(en)(CH}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$, Pt(en)Cl_4 i $\text{Pt(en)(CF}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$. Redukcijom uz prisustvo askorbinske kiseline utvrđeno je da brzina procesa i katodni elektrodni potencijal zavise od efekta privlačenja elektrona i sternih smetnji aksijalnih i ekvatorijalnih liganada. Redosled supstitucije u aksijalnom položaju sledi niz: $\text{OH}^- < \text{CH}_3\text{COO}^- < \text{Cl}^- < \text{CF}_3\text{COO}^-$ uz porast brzine redukcije i elektrodnog potencijala. Primećeno je i da izmena ekvatorijalnog liganda (izmena izopropilaminske cikloheksilaminskom grupom) povećava brzinu redukcije čak 12 puta. Dodatno je utvrđeno da citotoksičnost raste prateći isti trend supstitucije liganada u aksijalnom položaju $\text{OH}^- < \text{CH}_3\text{COO}^- < \text{Cl}^- < \text{CF}_3\text{COO}^-$. Kompleksi s istim aksijalnim, a različitim ekvatorijalnim ligandima potvrdili su pretpostavku da brža redukcija vodi ka većoj citotoksičnosti. Shodno tome, u nizu $\text{Pt(en)(OH)}_2\text{Cl}_2 < \text{Pt(ipa)(OH)}_2\text{Cl}_2$, $\text{Pt(en)(CH}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2 < \text{Pt(a,cha)(CH}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$, $\text{Pt(en)Cl}_4 < \text{Pt(dach)Cl}_4$ raste brzine redukcije i citotoksičnost. Međutim pokušaj korelacije između brzine redukcije i citotoksičnosti ispitane na L1210/0 ćelijskim linijama nije dao očekivane rezultate.

Pt(en)(OH)₂Cl₂Pt(ipa)(OH)₂Cl₂Pt(en)(OCOCH₃)₂Cl₂Pt(a,cha)(OCOCH₃)₂Cl₂



Slika 9. Ispitivane strukture Pt(IV) kompleksa u Choi-evoj studiji.

Ciklični voltagrami ispitivanih kompleksa Pt(IV) (Slika 10) ukazuju na ireverzibilnu redukciju metalnog centra praćenu gubitkom aksijalnih liganada. Vrednosti katodnih potencijala su prikazane u Tabeli 2, odakle se može primetiti identičan trend dobijen za brzinu redukcije. Generalno katodni elektrodni potencijal zavisi od efekta privlačenja elektrona aksijalnih i/ili ekvatorijalnih liganada kao i od njihove razgranatosti. Tako na primer, kompleks $\text{Pt(en)(CF}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$ ima viši elektrodni potencijal od Pt(en)Cl_4 zbog toga što je efekat privlačenja elektrona trifluoroacetatom jači od hlorido liganada.



Slika 10. Ciklični voltagrami ispitivanih kompleksa iz Choi-eve studije.

Choi-eva grupa je ispitala i uticaj razgranosti liganada na elektrodni potencijal (Tabela 3). Ustanovljeno je da $\text{Pt(a,cha)(C}_3\text{H}_7\text{COO)}_2\text{Cl}_2$ ima najveću vrednost elektrodnog potencijala među Pt(IV) kompleksima sa dikarboksilato ligandima u aksijalnom položaju. Dobijeni rezultat je očekivan s obzirom na izrazito razgranate $\text{C}_3\text{H}_7\text{COO}$ i cikloheksilaminske grupe. Da prisustvo razgranatih grupa utiče na elektrodni potencijal, utvrđeno je i u $\text{Pt(en)(RCOO)}_2\text{Cl}_2$ seriji kompleksa. Porast elektrodnih potencijala prati sledeći niz: $\text{C}_3\text{H}_7 > \text{C}_2\text{H}_5 > \text{CH}_3$. Za komplekse kod kojih je metalni centar sterno zaklonjen (npr. $\text{Pt(ipa)(OH)}_2\text{Cl}_2$), očekivano je dobijena veća vrednost elektrodnog potencijala.

Tabela 3. Elektrodni potencijali Pt(IV) kompleksa iz Choi-eve studije.

Jedinjenje	E/ mV (srednja vrednost $\pm$ SD) (N)*
$\text{Pt(en)(OH)}_2\text{Cl}_2$	– 884
$\text{Pt(ipa)(OH)}_2\text{Cl}_2$	– 730 $\pm$ 103
$\text{Pt(en)(CH}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$	– 546
$\text{Pt(a,cha)(CH}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$	– 250 $\pm$ 60
$\text{Pt(a,cha)(C}_3\text{H}_7\text{COO)}_2\text{Cl}_2$	– 150 $\pm$ 80
Pt(en)Cl_4	– 160 $\pm$ 53
$\text{Pt(en)(CF}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$	0 $\pm$ 25
Pt(dach)Cl_4	– 90 $\pm$ 19

* SD: standardna devijacija. N: broj eksperimenata.

Na osnovu izloženog, zaključeno je sledeće:

- da strukturne izmene u ekvatorijalnom položaju aaminskih liganada ne utiču drastično na promenu vrednosti elektrodnog potencijala
- da promene u dužini lanca u aksijalnom položaju karboksilato liganada takođe ne dovode do značajnije promene elektrodnog potencijala
- da potencijalna optimizacija strukture treba da se bazira na aksijalnom ligandu koji obezbeđuje stabilnost i inertnost kompleksnog jedinjenja
- da brzina redukcije i elektrodni potencijali ispitanih kompleksa Pt(IV) zavise od efekta privlačenja elektrona aksijalnih liganada kao i sternih smetnji koje potiču od aksijalnih i/ ili ekvatorijalnih liganada (kompleksi sa razgranatijim ligandima i jačim efektom privlačenja elektrona imaju više vrednosti elektrodnog potencijala i brže podležu redukciji)

- da generalno nije moguće uspostaviti korelaciju brzina redukcije-citotoksičnost osim za strukturno veoma slična jedinjenja koja se međusobno razlikuju u samo jednom položaju liganda.

2.4.2. Korelacija elektrodni potencijal-citotoksičnost

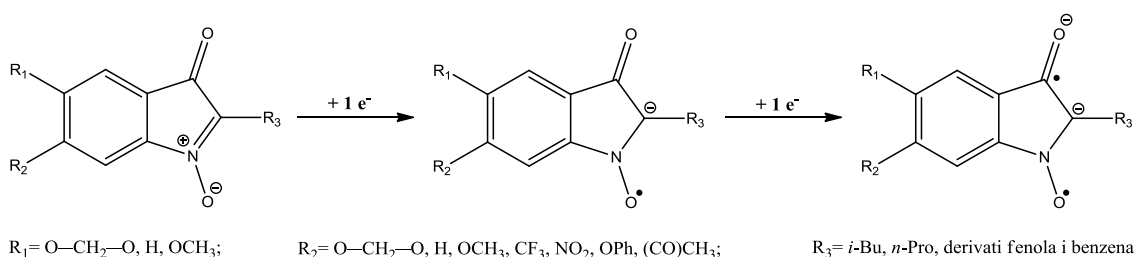
Ispitivanje redukcionog mehanizma biološki aktivnih jedinjenja postalo je nezaobilazan deo modernih studija u novije vreme. Iznenaduje činjenica da se samo mali broj istraživača bavi vezom između brzine redukcije i citotoksičnosti iako je na njen značaj ukazano dosta ranije.

Potencijalna veza između brzine redukcije i citotoksičnosti detaljno je ispitana u Choi-evoj studiji [109] na ćelijskim linijama tipa L1210/0, osetljivim na cisplatinu. Generalno, očekivana korelacija nije uspostavljena za seriju ispitivanih kompleksa. Tako je npr. kompleks $\text{Pt(ipa)(OH)}_2\text{Cl}_2$ sa visokim elektrodnim potencijalom, pokazao veći procenat inhibicije u poređenju sa Pt(en)Cl_4 kompleksom čija je vrednost elektrodnog potencijala znatno niža. Međutim, zaključeno je da u nizu struktura sa etilendiaminskim delom, komponente koje najbrže podležu redukciji pokazuju najveću citotoksičnost. U skladu s tim, citotoksičnost raste sa izmenom liganada u aksijalnom položaju $\text{OH}^- < \text{CH}_3\text{COO}^- < \text{Cl}^- < \text{CF}_3\text{COO}^-$ prateći identičan trend kao i brzina redukcije. Takođe je zapaženo da kompleksi koji sadrže etilendiaminski ligand pokazuju sporiju redukciju i manju citotoksičnost u odnosu na komplekse sa izopropil, cikloheksil i 1,2-diamincikloheksil ligandom. Brzina redukcije i citotoksičnost rastu u nizu $\text{Pt(en)(OH)}_2\text{Cl}_2 < \text{Pt(ipa)(OH)}_2\text{Cl}_2$, $\text{Pt(en)(CH}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2 < \text{Pt(a,cha)(CH}_3\text{COO)}_2\text{Cl}_2$, $\text{Pt(en)Cl}_4 < \text{Pt(dach)Cl}_4$. Važno je napomenuti da niska citotoksičnost Pt(en)Cl_4 kompleksa nije posledica samo male brzine redukcije već na njenu vrednost utiče čitav niz faktora poput rastvorljivosti, lipofilnosti, fizioloških uslova i mnogih drugih.

Sličan pristup ovoj problematici imala je i Hambley-ova grupa [108]. Istraživanje je urađeno na velikom broju Pt(IV) kompleksa (ukupno 23) sa anjonskim polifluoroarilskim ligandima (2,3,5,6-tetrafluorofenil ($p\text{-HC}_6\text{F}_4$); 2,3,5,6-tetrafluoro-4-metoksifenil ($p\text{-MeOC}_6\text{F}_4$) i pentafluorofenil (C_6F_5^-). Dobijeni voltamogrami su ukazali na ireverzibilnu dvoelektronsku redukciju uz gubitak aksijalnih liganada. Vrednosti

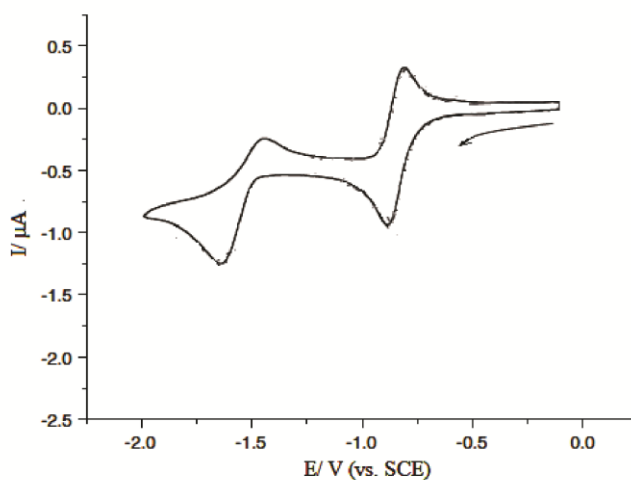
elektrodnih potencijala nalaze se između -1657 i -1744 mV ukazujući na sporu redukciju. Jasna korelacija između E i IC_{50} vrednosti nije ustanovljena čak ni za komplekse sa istim tipom liganda.

Značajno je pomenuti da su neznatno uspešniji bili pokušaji koreliranja E i IC_{50} vrednosti za biološki aktivna organska jedinjenja [110]. Jedna od studija je obuhvatila ispitivanje redoks ponašanja ukupno 37 derivata indolon- N -oksida metodama ciklične i stacionarne voltametrije čija je biološka aktivnost bila poznata (Slika 11).



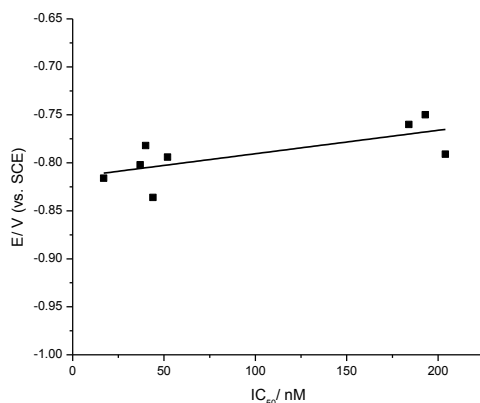
Slika 11. Redukcija indolon- N -oksida.

Prvi nedvosmisleno reverzibilan redukcionni proces lociran je na oko $-0,68 \pm 0,2$ V (vs. SCE) i predstavlja redukciju $-\text{C}=\text{N}-\text{O}-$ dvostruke veze. Drugi ireverzibilan redukcionni korak se nalazi na oko $-1,45 \pm 0,2$ V (vs. SCE) i odnosi se na redukciju karbonilne veze (Slika 12).



Slika 12. Ciklični voltamogram 1 mmol/dm^3 rastvora indolon- N -oksida u CH_3CN -u; brzina polarizacije 100 mV/s ; pomoćni elektrolit TBAP.

Zadovoljavajuća E-IC₅₀ korelacija je dobijena za grupu jedinjenja sa elektron donorskim supstituentima (npr. -OCH₃) i prikazana je na Slici 13. Naime, uvođenje metoksi grupe u *N*-oksidni prsten rezultuje manje negativnim elektrodnom potencijalima u odnosu na druge supstituente, olakšava redukciju i pojačava aktivnost. Na ovaj način se može izvršiti gruba selekcija jedinjenja za dalja ispitivanja.



Slika 13. Prikaz E-IC₅₀ korelacije dobijene za seriju indolon-*N*-oksidnih derivata.

Na osnovu izloženih podataka iz literature, može se zaključiti da mogućnost linearizovanja zavisnosti elektrodnog potencijala od aktivnosti ispitivanog jedinjenja ima veliki, ali ne i presudni značaj u odabiru pogodnih kandidata za dalja biološka ispitivanja.

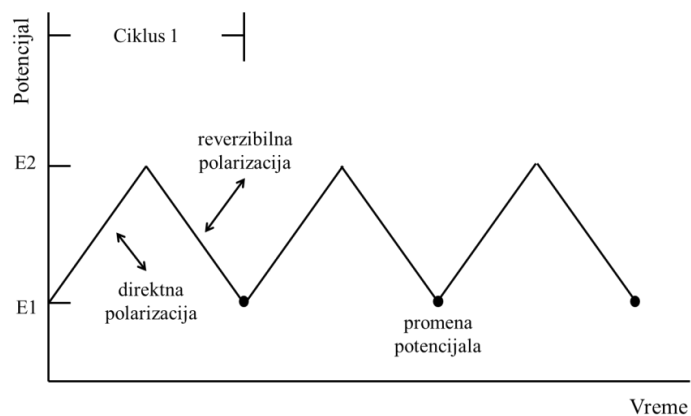
2.4.3. Metode određivanja elektrodnog potencijala: ciklična voltametrija i diferencijalna pulsna voltametrija

Iako predstavlja jednu od kompleksnijih elektrohemijskih tehnika, ciklična voltametrija je najčešće korišćena zbog raznovrsnosti eksperimentalnih informacija koje pruža. Ova metoda daje kompletan uvid u kinetička i termodinamička svojstva različitih hemijskih sistema.

Osnove voltametrije postavljene su Heyrovský-evim otkrićem polarografije 1922. godine [111]. Njegovi pionirski radovi su obuhvatali analize elektrohemijskih procesa u stanju ravnoteže na kapljućoj živinoj elektrodi. Prvobitne voltametrijske tehnike bile su ograničene mnogobrojnim faktorima koji su ometali intenzivniju

upotrebu istih sve do pojave troelektrodnog potenciostata 1942. godine. Šezdesete i sedamdesete godine prošlog veka donele su veliki napredak na polju teorije, instrumentacije i kompjuterizovanja metode. Na ovaj način je omogućeno proučavanje i najsloženih hemijskih sistema.

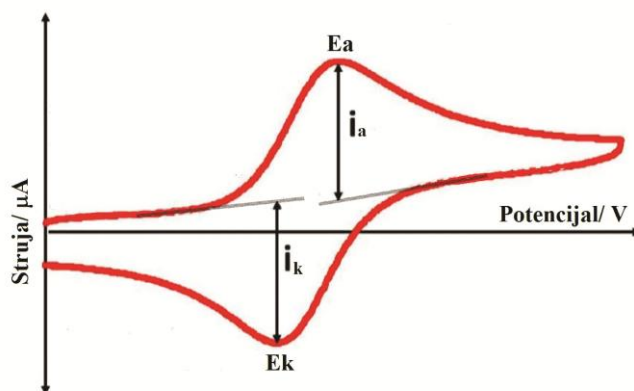
Ciklična voltametrija u osnovi predstavlja faradejsku elektroanalitičku metodu pa stoga podrazumeva direktnu razmenu elektrona između elektroaktivne vrste i radne elektrode [112-116]. Zasniva se na merenju zavisnosti struja-potencijal u elektrohemijskim ćelijama sa stacionarnim i fiksnim radnim elektrodama (poput viseće živine elektrode, elektrode od staklastog ugljenika, ugljenične paste, platine, srebra, zlata). Analitički signal je faradejska struja koja teče kroz elektrohemijsku ćeliju u toku reakcije analita na radnoj elektrodi. Analit može biti u obliku katjona, anjona ili elektroneutralnog molekula. Proces snimanja cikličnih voltamograma se sastoji od reverzne promene vrednosti potencijala E_1 do E_2 , a zatim ponovo do vrednosti E_1 odgovarajućom brzinom polarizacije (Slika 14).



Slika 14. Promena potencijala s vremenom u cikličnoj voltametriji.

Pri voltametrijskoj oksidaciji hemijske vrste, prielektrodni sloj je nakon dostizanja krajnjeg anodnog potencijala obogaćen oksidovanom vrstom dok se elektrodni potencijal menja ka pozitivnijim vrednostima. Tokom povratne (reverzibilne) polarizacije, oksidovani oblik se na određenom potencijalu (bliskom ravnotežnom potencijalu redoks para) redukuje. Tada je primetan prelazak struje iz pozitivne u negativnu. Kao što se može videti na Slici 15, I-E kriva snimljena tokom direktne polarizacije je vrlo slična krivoj dobijenoj tokom povratne polarizacije. Povlačenjem

osnovne linije na početak krive oksidacije/redukcije, maksimumi katodne i anodne struje imaju približne vrednosti, a rastojanje pikova po osi potencijala je nezavisno od brzine polarizacije.



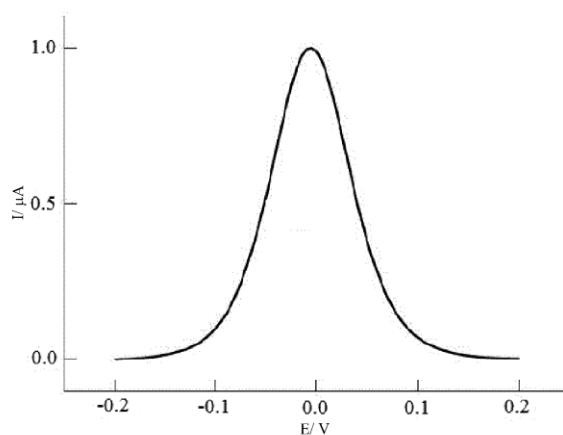
Slika 15. Izgled tipičnog cikličnog voltamograma reverzibilnog redoks procesa sa karakterističnim parametrima.

Sa aspekta koordinacione hemije, od značaja je upotreba ciklične voltametrije pri proučavanju elektrodnih reakcija s višestepenom izmenom elektrona. U slučaju da se slobodne energije proizvoda višestepene izmene elektrona međusobno značajno razlikuju, tada se na voltamogramu pojavljuje odgovarajući broj zasebnih strujnih maksimuma. Svaki od maksimuma odražava specifičnosti datog stupnja.

Za voltametrijska ispitivanja se koristi širok opseg vodenih i organskih rastvarača uz pomoćni elektrolit, najčešće tetraalkilamonijum-soli odgovarajuće koncentracije uz napomenu da sve komponente moraju biti visokog stepena čistoće. Od značaja je i naglasiti važnost pravilnog odabira tzv. potencijalskog prozora. Naime, ispitivana redoks reakcija bi trebalo da ima potencijale oksidacije/ redukcije u onom opsegu gde ne postoji mogućnost pojave signala nečistoća. Stoga se startni potencijal bira u tački potencijala gde nema prolaska struje kroz radnu elektrodu i koja je dovoljno udaljena od potencijala pika ispitivanog analita. Krajni potencijal (potencijal na kojem dolazi do promene smeru snimanja) se zadaje u zavisnosti od prirode analita. Obično odgovara vrednosti potencijala analita uvećanoj za 180 mV.

Ipak u novije vreme smatra se da je diferencijalna pulsna voltametrija (polarografija) jedna od najefikasnijih impulsnih metoda s obzirom da pruža mogućnost

detekcije organskih i neorganskih vrsta u tragovima (osetljivost reda veličine 10^{-7} do 10^{-8} mol/dm³, odnosno 1 µg/dm³). Kod ove metode se meri razlika dve struje, prve koja se meri odmah posle završetka zadavanja pulsa i druge koja se meri nekoliko milisekundi pre početka zadavanja pulsa. Zadati početni potencijal se tokom vremena povećava i posledično dobija oblik stepenica. Rezultujući diferencijalno pulsni voltamogram se sastoji od strujnih pikova čija je visina direktno proporcionalna koncentraciji ispitivanog analita. Obično se efektivna brzina polarizacije nalazi između 1 i 10 mV/s dok se vrednosti zadatog potencijala kreću između 25 i 50 mV. Tipičan DP voltamogram (Slika 16) se dobija nanošenjem razlike između prve i druge struje na ordinatu u funkciji zadatog potencijala.



Slika 16. Oblik pika u diferencijalnoj pulsnoj voltametriji.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Sinteze liganada

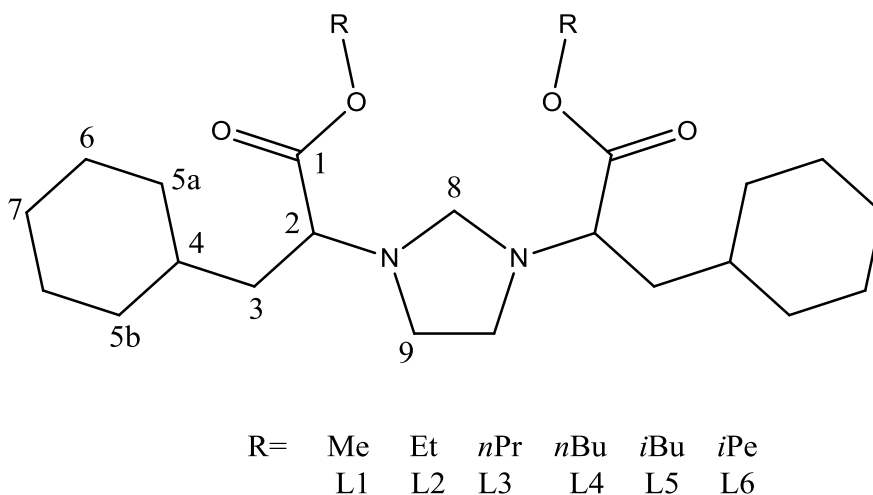
Estri (S,S)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, korišćeni za sintezu liganada **L1-6**, i ligand **L7**, Li(SPh-oz), su sintetisani u skladu s objavljenim procedurama [65, 117].

3.1.1. Sinteza dimetil estra *N,N'*-metilen-(S,S)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L1

Suspenzija prekursora, metil estra (S,S)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,20 g; 0,43 mmol) u metanolu (10 cm³) je blago zagrejana do 40 °C i mešana 20 min do potpunog homogenizovanja. Smeša za metilovanje je napravljena rastvaranjem natrijum-triacetoborhidrida (0,27 g; 1,28 mmol) u metanolu (10 cm³) uz dodatak 36% vodenog rastvora formaldehida (0,33 cm³; 4,26 mmol). Dobijeni rastvor je polako ukapavan u prethodno napravljenu suspenziju prekursorskog jedinjenja. pH reakcione smeše je podešena na 4-5 dodatkom 2 porcije glacijalne sirćetne kiseline (0,25 cm³). Nakon 2 sata mešanja, reakcionoj smeši se dodaje dietil-etar (40 cm³) i ispira rastvorom KOH (3 × 10 cm³, 1 mol/dm³) i zasićenim rastvorom NaCl (10 cm³). Kombinovani etarski rastvori sintetisanog liganda su osušeni iznad anhidrovanog K₂CO₃ i upareni na vakuumu do bezbojne, uljaste tečnosti (Slika 17).

Prinos: 137 mg, 79 %. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₃H₄₀N₂O₄·0,25CH₃OH (416,58): C 67,03; H 9,92; N 6,72; nađeno: C 66,77; H 9,98; N 6,82. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3,68 (s, CH₃OOC-, 6H), 3,60 (s, -NCH₂N-, 2H), 3,39–3,36 (m, -OOCCHN-, 2H), 3,00–2,94 (m, -NCH₂CH₂N-, 2H), 2,86–2,80 (m, -NCH₂CH₂N-, 2H), 1,74 (br d, *J* = 10,0 Hz, C5b, 2H), 1,68–1,59 (m, -CH₂Cy, C7, C5a, C6, 10H), 1,53–1,48 (m, -CH₂'Cy, 2H), 1,31–1,07 (m, C7', C6', C4, 8H), 0,93–0,83 (m, C5a', C5b', 4H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 173,65 (CH₃OOC-), 69,58 (-NCH₂N-), 61,98 (-OOCCHN-), 51,47 (CH₃OOC-), 48,23 (-NCH₂CH₂N-), 38,75 (-CH₂Cy),

34,48 (C4), 33,63 (C5a), 33,28 (C5b), 26,60 (C7), 26,26 (C6). ESI-MS (CH₃OH) *m/z* (%): 397,34 (100) [M-CH₂+3H]⁺. IC (ATR, cm⁻¹): 2923, 2850, 1734, 1683, 1448, 1356, 1259, 1193, 1161, 1019, 802.



Slika 17. Struktura liganada **L1-6** sa odgovarajućom numeracijom C atoma.

3.1.2. Sinteza dietil estra *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L2

Suspencija prekursora, etil estra (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,20 g; 0,40 mmol) u metanolu (10 cm³) je blago zagrejana do 40 °C i mešana 20 min do potpunog homogenizovanja. Smeša za metilovanje je napravljena rastvaranjem natrijum-triacetoborhidrida (0,26 g; 1,21 mmol) u metanolu (10 cm³) uz dodatak 36% vodenog rastvora formaldehida (0,31 cm³; 4,02 mmol). Dalja procedura podrazumeva isti postupak kao za **L1** (Slika 17).

Prinos: 103 mg, 59 %. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₅H₄₄N₂O₄·0,75CH₃OH (460,66): C 67,14; H 10,28; N 6,08; nađeno: C 66,88; H 10,77; N 6,32. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ = 4,19–4,10 (m, CH₃CH₂OOC–, 4H), 3,61 (s, –NCH₂N–, 2H), 3,36–3,33 (m, –OOCCHN–, 2H), 3,00–2,94 (m, –NCH₂CH₂N–, 2H), 2,87–2,81 (m, –NCH₂CH₂N–, 2H), 1,75 (br d, *J* = 10,0 Hz, C5b, 2H), 1,65–1,58 (m, –CH₂Cy, C7, C5a, C6, 10H), 1,52–1,46 (m, –CH₂'Cy, 2H), 1,31–1,07 (m, C7', C6', CH₃CH₂OOC–, C4, 14H), 0,92–0,82 (m, C5a', C5b', 4H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 173,15 (CH₃CH₂OOC–), 69,54 (–NCH₂N–), 62,06 (–OOCCHN–), 60,31 (CH₃CH₂OOC–),

48,22 ($-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-$), 38,79 ($-\text{CH}_2-\text{Cy}$), 34,50 (C4), 33,68 (C5a), 33,23 (C5b), 26,59 (C7), 26,26 (C6), 14,47 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOC}-$). ESI-MS (CH_3OH) m/z : 425,35 (100) $[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$. IC (ATR, cm^{-1}): 2920, 2848, 1727, 1681, 1446, 1370, 1253, 1155, 1098, 1028, 964, 931, 887, 847, 802.

3.1.3. Sinteza dipropil estra *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L3

Suspenzija prekursora, *n*-propil estra (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,20 g; 0,38 mmol) u metanolu (10 cm^3) je blago zagrejana do $40\text{ }^\circ\text{C}$ i mešana 20 min do potpunog homogenizovanja. Smeša za metilovanje je napravljena rastvaranjem natrijum-triacetoborhidrida (0,24 g; 1,14 mmol) u metanolu (10 cm^3) uz dodatak 36% vodenog rastvora formaldehida ($0,29\text{ cm}^3$; 3,81 mmol). Dalja procedura podrazumeva isti postupak kao za **L1** (Slika 17).

Prinos: 111 mg, 63 %. Elementalna analiza (%) izračunata za $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,5\text{CH}_3\text{OH}$ (480,70): C 68,71; H 10,48; N 5,83%; nađeno: C 69,09; H 10,97; N 6,06%. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ = 4,05 (t, $J_1 = 6,0$; $J_2 = 6,0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$, 4H), 3,63 (s, $-\text{NCH}_2\text{N}-$, 2H), 3,40–3,33 (m, $-\text{OOCCHN}-$, 2H), 3,03–2,79 (m, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-$, 4H), 1,79–1,43 (m, $-\text{CH}_2'\text{Cy}, -\text{CH}_2\text{Cy}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$, C7, C5a, C6, C5b, 18H), 1,31–1,06 (m, C7', C6', C4, 8H), 0,97–0,77 (m, C5a', C5b', $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$, 10H). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ = 173,04 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$), 69,29 ($-\text{NCH}_2\text{N}-$), 65,75 ($-\text{OOCCHN}-$), 61,80 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$), 47,99 ($-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-$), 38,63 ($-\text{CH}_2\text{Cy}$), 34,27 (C4), 33,47 (C5a), 33,00 (C5b), 26,37 (C7), 26,04 (C6), 21,92 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$), 10,38 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$). ESI-MS (CH_3OH) m/z (%): 453,39 (100) $[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$. IC (ATR, cm^{-1}): 2921, 2849, 1727, 1448, 1380, 1351, 1251, 1158, 1059, 971, 894, 845, 758.

3.1.4. Sinteza dibutil estra *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L4

Suspenzija prekursora, *n*-butil estra (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,20 g; 0,36 mmol) u metanolu (10 cm^3) je blago zagrejana do $40\text{ }^\circ\text{C}$ i mešana 20 min do potpunog homogenizovanja. Smeša za

metilovanje je napravljena rastvaranjem natrijum-triacetoborhidrida (0,23 g; 1,08 mmol) u metanolu (10 cm³) uz dodatak 36% vodenog rastvora formaldehida (0,28 cm³; 3,61 mmol). Dalja procedura podrazumeva isti postupak kao za **L1** (Slika 17).

Prinos: 106 mg, 60 %. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₉H₅₂N₂O₄·0,5CH₃OH (508,75): C 69,64; H 10,70; N 5,50; nađeno: C 69,48; H 10,90; N 5,68. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ = 4,09 (t, *J*₁ = *J*₂ = 6,0 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, 4H), 3,62 (s, -NCH₂N-, 2H), 3,39–3,32 (m, -OOCCHN-, 2H), 3,03–2,79 (m, -NCH₂CH₂N-, 4H), 1,79–1,52 (m, -CH₂Cy, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, C7, C5a, C6, C5b, 16H), 1,49–1,08 (m, C7', C6', CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, C4, -CH₂'Cy, 14H), 1,01–0,79 (m, C5a', C5b', CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, 10H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ = 173,35 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 69,61 (-NCH₂N-), 64,25 (-OOCCHN-), 62,13 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 48,27 (-NCH₂CH₂N-), 38,88 (-CH₂Cy), 34,50 (C4), 33,74 (C5a), 33,19 (C5b), 30,80 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 26,58 (C7), 26,27 (C6), 19,30 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 13,79 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-). ESI-MS (CH₃OH) *m/z* (%): 481,40 (100) [M-CH₂+3H]⁺. IC (ATR, cm⁻¹): 2925, 2851, 1730, 1450, 1252, 1163, 1065, 1023, 967, 890, 842, 750.

3.1.5. Sinteza diizobutil estra *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L5

Suspenzija prekursora, izobutil estra (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,20 g; 0,36 mmol) u metanolu (10 cm³) je blago zagrejana do 40 °C i mešana 20 min do potpunog homogenizovanja. Smeša za metilovanje je napravljena rastvaranjem natrijum-triacetoborhidrida (0,23 g; 1,08 mmol) u metanolu (10 cm³) uz dodatak 36% vodenog rastvora formaldehida (0,28 cm³; 3,61 mmol). Dalja procedura podrazumeva isti postupak kao za **L1** (Slika 17).

Prinos: 147 mg, 83 %. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₉H₅₂N₂O₄: C 70,69, H 10,64, N 5,69; nađeno: C 70,38; H 10,36; N 5,76. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3,86 (d, *J* = 10,0 Hz, (CH₃)₂CHCH₂OOC-, 4H), 3,63 (s, -NCH₂N-, 2H), 3,39–3,36 (m, -OOCCHN-, 2H), 3,01–2,95 (m, -NCH₂CH₂N-, 2H), 2,88–2,82 (m, -NCH₂CH₂N-, 2H), 1,92 (n, *J*₁ = 10,0; *J*₂ = 5,0; *J*₃ = 5,0; *J*₄ = 10,0 Hz (CH₃)₂CHCH₂OOC-, 2H), 1,76 (br d, *J* = 15,0 Hz, C5b, 2H), 1,66–1,60 (m, C6a, C5a, C7, -CH₂Cy, 10H), 1,52–1,47 (m, -CH₂'Cy, 2H), 1,31–1,06 (m, C4, C7', C6b, 8H), 0,92 (d, *J* = 10,0 Hz,

(CH₃)₂CHCH₂OOC–, 12H), 0,90–0,79 (m, C5a', C5b', 4H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 173,31 ((CH₃)₂CHCH₂OOC–), 70,59 ((CH₃)₂CHCH₂OOC–), 69,55 (–NCH₂N–), 62,05 (–OOCCHN–), 48,23 (–NCH₂CH₂N–), 38,89 (–CH₂Cy), 34,50 (C4), 33,74 (C5a), 33,20 (C5b), 27,80 ((CH₃)₂CHCH₂OOC–), 26,59 (C7), 26,28 (C6b), 26,25 (C6a), 19,29 ((CH₃)₂CHCH₂OOC–). ESI-MS (CH₃OH) m/z (%): 481,58 (100) [M–CH₂+3H]⁺; 493,40 (37,16) [M]⁺. IC (ATR, cm^{–1}): 2928, 2852, 1734, 1468, 1451, 1375, 1252, 1165, 994.

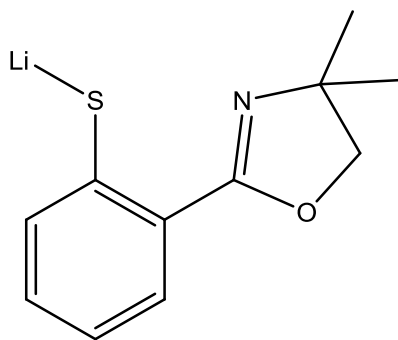
3.1.6. Sinteza diizoamil estra *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, L6

Suspenzija prekursora, izopentil estra (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,20 g; 0,34 mmol) u metanolu (10 cm³) je blago zagrejana do 40 °C i mešana 20 min do potpunog homogenizovanja. Smeša za metilovanje je napravljena rastvaranjem natrijum-triacetoborhidrida (0,22 g; 1,03 mmol) u metanolu (10 cm³) uz dodatak 36% vodenog rastvora formaldehida (0,27 cm³; 3,44 mmol). Dalja procedura podrazumeva isti postupak kao za **L1** (Slika 17).

Prinos: 126 mg, 71 %. Elementalna analiza (%) izračunata za C₃₁H₅₆N₂O₄ (520,79): C 71,49, H 10,84, N 5,38; nađeno: C 71,10; H 10,44; N 5,49. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ = 4,12 (t, *J*₁ = 8,0 Hz; *J*₂ = 6,0 Hz, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 4H), 3,62 (s, –NCH₂N–, 2H), 3,39–3,32 (m, –OOCCHN–, 2H), 3,03–2,79 (m, –NCH₂CH₂N–, 4H), 1,79–1,42 (m, C5b, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, –CH₂Cy, C7, C5a, C6a, –CH₂'Cy, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 20H), 1,31–1,08 (m, C4, C7', C6b, 8H), 1,02–0,78 (m, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, C5a', C5b', 16H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 173,35 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 69,60 (–NCH₂N–), 63,04 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 62,16 (–OOCCHN–), 48,30 (–NCH₂CH₂N–), 38,87 (–CH₂Cy), 37,50 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 34,52 (C4), 33,77 (C5a), 33,19 (C5b), 26,60 (C7), 26,25 (C6b), 25,16 (C6a), 22,56 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 11,32 i 16,61 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–). ESI-MS (CH₃OH) m/z: 509,43 (49) [M–CH₂+3H]⁺; 521,43 (100) [M]⁺. IC (ATR, cm^{–1}): 2924, 2851, 1732, 1683, 1449, 1367, 1164, 1050, 971.

3.1.7. Sinteza litijum 2-(4,4-dimetil-4,5-dihidrooksazol-2-il)benzentiolata, Li(SPh-oz), L7

4,4-dimetil-2-fenil-2-oksazol (1 cm³, 98 mmol) je rastvoren u pentanu (20 cm³) uz hlađenje na ledenom kupatilu i polako dodavanje *n*BuLi (3,7 cm³; 1,6 mol/dm³ u heksanu; 1,0 mmol) u kapima. Nakon mešanja reakcione smeše 1h, ceđenjem je izdvojen beli talog liganda, Li(Ph-oz), koji je ispiran sa dve porcije ohlađenog pentana (2 x 10 cm³). Zatim je sintetisani Li(Ph-oz) suspendovan u dietil-etru uz dodatak elementarnog sumpora (0,143 g; 4,5 mmol). Suspenzija je ostavljena preko noći da se meša pri čemu se izdvojio talog liganda (Slika 18) svetlo žute boje osušen pod vakuumom. Prinos: 583 mg, 49 %. ¹H NMR (300 MHz, CD₃CN) δ = 7,62 (dd, *J* = 9,0 Hz, Ar-*H*, 1H), 7,45 (dd, *J* = 8,1 Hz, Ar-*H*, 1H), 6,86 (ddd, *J*₁ = 8,1; *J*₂ = 7,0; *J*₃ = 1,7 Hz, Ar-*H*, 1H), 6,66 (ddd, *J*₁ = 8,3; *J*₂ = 7,0; *J*₃ = 1,4 Hz, Ar-*H*, 1H), 3,97 (s, -CH₂-, 2H), 1,33 (s, CH₃-, 6H). IC (ATR, cm⁻¹): 2967, 1621, 1460, 1355, 1314, 1248, 1203, 1133, 1086, 1040, 967, 774, 737, 695, 651, 513, 443, 424.



Slika 18. Struktura liganda Li(SPh-oz), L7.

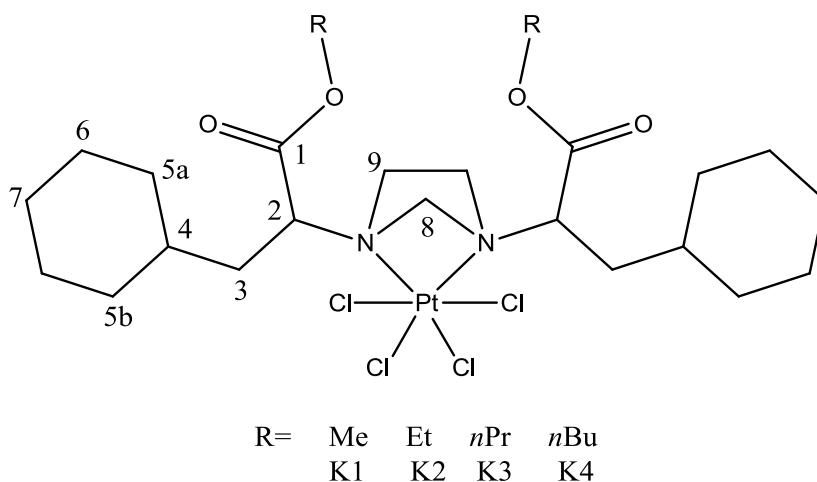
3.2. Sinteze kompleksa

3.2.1. Sinteza *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)-dimetilpropanoat-tetrahloridoplatina(IV), [PtL¹Cl₄], K1

Vodeni rastvor (10 cm³) kalijum-heksahloridoplatinata(IV) (0,12 g; 0,24 mmol) dodaje se u kapima rastvoru liganda **L1**, dimetil estru *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,10 g; 0,24 mmol) u metilen-hloridu (10

cm³). Dobijena smeša je refluktovana 3 dana nakon čega se izdvaja žutonarandžasti talog. Sintetisani kompleks (Slika 19) se odvaja filtracijom, ispira sa malom količinom dietil-etra i suši pod vakuumom.

Prinos: 86 mg, 47 %. t. t.: 88 °C. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₃H₄₀N₂O₄PtCl₄·0,5H₂O (754,47): C 36,61; H 5,48; N 3,71%; nađeno: C 37,05; H 5,97; N 3,50. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 3,70 (s, CH₃OOC-, 6H), 3,62 (s, -NCH₂N-, 2H), 3,43–3,33 (m, -OOCCHN-, 2H), 3,04–2,80 (m, -NCH₂CH₂N-, 4H), 1,94–1,43 (m, -CH₂'Cy, -CH₂Cy, C7, C5a, C6, C5b, 14H), 1,32–1,09 (m, C7', C6', C4, 8H), 0,98–0,80 (m, C5a', C5b', 4H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 169,56 (CH₃OOC-), 65,92 (-NCH₂N-), 58,42 (-OOCCHN-), 56,69 (CH₃OOC-), 44,56 (-NCH₂CH₂N-), 35,15 (-CH₂Cy), 30,82 (C4), 30,02 (C5a), 29,54 (C5b), 22,91 (C7), 22,59 (C6). ¹⁹⁵Pt NMR (86 MHz, CDCl₃): δ = 145,64. ESI-MS (CH₃OH) m/z (%): 407,33 (100) [M-PtCl₄+H]⁺. IC (ATR,cm⁻¹): 2924, 2851, 1742, 1634, 1503, 1444, 1271, 1218, 1151, 996, 886. ULj/Vid (CH₃OH): λ_{max} = 207 nm.



Slika 19. Struktura Pt(IV) kompleksa **K1-4** sa odgovarajućom numeracijom C atoma.

3.2.2. Sinteza *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)-dietilpropanoat-tetrahlridoplatina(IV), **K2**, [PtL²Cl₄]

Vodeni rastvor (10 cm³) kalijum-heksahloridoplatinata(IV) (0,11 g; 0,23 mmol) dodaje se u kapima rastvoru liganda **L2**, dietil estru *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,10 g; 0,23 mmol) u metilen-hloridu (10

cm³). Nastavak procedure podrazumeva isti postupak kao u slučaju sinteze **K1** (Slika 19).

Prinos: 89 mg, 50 %. t. t.: 90 °C. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₅H₄₄N₂O₄PtCl₄·0,5H₂O (782,52): C 38,37; H 5,80; N 3,58%; nađeno: C 38,52; H 6,29; N 4,06. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 4,10–4,03 (m, CH₃CH₂OOC–, 4H), 3,64 (s, –NCH₂N–, 2H), 3,42–3,35 (m, –OOCCHN–, 2H), 3,05–2,81 (m, –NCH₂CH₂N–, 4H), 1,80–1,44 (m, –CH₂'Cy, –CH₂Cy, C7, C5a, C6, C5b, 14H), 1,39–1,05 (m, C7', C6', C4, 8H), 1,01–0,78 (m, C5a', C5b', CH₃CH₂OOC–, 10H). ¹³C NMR (50MHz, CDCl₃): δ = 173,17 (CH₃CH₂OOC–), 69,41 (–NCH₂N–), 65,84 (–OOCCHN–), 61,91 (CH₃CH₂OOC–), 48,05 (–NCH₂CH₂N–), 38,69 (–CH₂Cy), 34,30 (C4), 33,52 (C5a), 32,99 (C5b), 26,38 (C7), 26,06 (C6), 10,40 (CH₃CH₂OOC–). ESI-MS (CH₃OH) m/z (%): 436,07 (100) [M–PtCl₄+H]⁺. IC (ATR, cm^{–1}): 2922, 2849, 1735, 1635, 1445, 1370, 1260, 1195, 1095, 1024, 802. ULj/Vid (CH₃OH): λ_{max} = 213 nm.

3.2.3. Sinteza *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)-dipropilpropanoat-tetrahloridoplatina(IV), **K3**, [PtL³Cl₄]

Vodeni rastvor (10 cm³) kalijum-heksahloridoplatinata(IV) (0,11 g; 0,22 mmol) dodaje se u kapima rastvoru liganda **L3**, dipropil estru *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,10 g; 0,22 mmol) u metilen-hloridu (10 cm³). Nastavak procedure podrazumeva isti postupak kao u slučaju sinteze **K1** (Slika 19).

Prinos: 87 mg, 50 %. t. t.: 93 °C. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₇H₄₈N₂O₄PtCl₄ (801,57): C 40,46; H 6,04; N 3,49; nađeno: C 40,27; H 6,35; N 3,78. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ = 4,07 (t, *J*₁ = 6,6; *J*₂ = 6,8 Hz, CH₃CH₂CH₂OOC–, 4H), 3,65 (s, –NCH₂N–, 2H), 3,42–3,35 (m, –OOCCHN– 2H), 3,06–2,81 (m, –NCH₂CH₂N–, 4H), 1,82–1,42 (m, –CH₂'Cy, –CH₂Cy, CH₃CH₂CH₂OOC–, C7, C5a, C6, C5b, 18H), 1,38–1,06 (m, C7', C6', C4, 8H), 0,99–0,80 (m, C5a', C5b', CH₃CH₂CH₂OOC–, 10H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 172,85 (CH₃CH₂CH₂OOC–), 69,12 (–NCH₂N–), 65,59 (–OOCCHN–), 61,62 (CH₃CH₂CH₂OOC–), 47,82 (–NCH₂CH₂N–), 38,46 (–CH₂Cy), 34,09 (C4), 33,30 (C5a), 32,80 (C5b), 26,18 (C7), 25,85 (C6), 21,74 (CH₃CH₂CH₂OOC–), 10,20 (CH₃CH₂CH₂OOC–). ESI-MS (CH₃OH) m/z (%): 464,89 (100) [M–PtCl₄+H]⁺. IC

(ATR/cm⁻¹): 2952, 2850, 1738, 1640, 1448, 1371, 1242, 1198, 1096, 1022, 832, 753.
 ULj/Vid (CH₃OH): $\lambda_{\max}$ = 208 nm.

3.2.4. Sinteza *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)-dibutilpropanoat-tetrahlridoplatina(IV), K4, [PtL⁴Cl₄]

Vodeni rastvor (10 cm³) kalijum-heksahloridoplatinata(IV) (0,10 g; 0,20 mmol) dodaje se u kapima rastvoru liganda **L1**, dibutil estru *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (0,10 g; 0,20 mmol) u metilen-hloridu (10 cm³). Nastavak procedure podrazumeva isti postupak kao u slučaju sinteze **K1** (Slika 19).

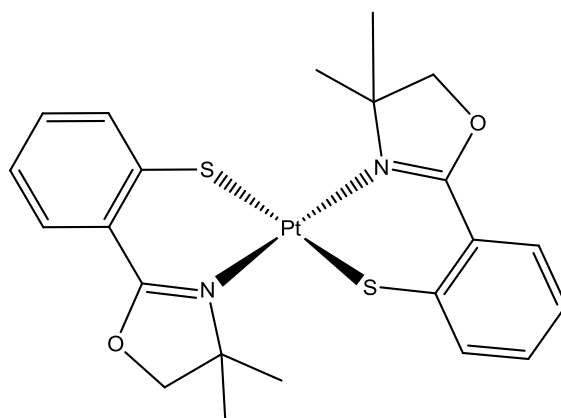
Prinos: 93 mg, 55 %. t. t.: 96 °C. Elementalna analiza (%) izračunata za C₂₉H₅₂N₂O₄PtCl₄·0,25H₂O (834,13): C 41,76; H 6,34; N 3,36; nađeno: C 41,47; H 6,25; N 3,85. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ = 4,10 (t, J_1 = 5,8; J_2 = 7,2 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, 4H), 3,62 (s, -NCH₂N-, 2H), 3,43–3,32 (m, -OOCCHN-, 2H), 3,03–2,87 (m, -NCH₂CH₂N-, 4H), 1,80–1,49 (m, -CH₂'Cy, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, C7, C5a, C6, C5b, 16H), 1,46–1,04 (m, C7', C6', CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, C4, -CH₂Cy, 14H), 1,00–0,82 (m, C5a', C5b', CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-, 10H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ = 173,18 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 69,44 (-NCH₂N-), 64,09 (-OOCCHN-), 61,97 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 48,10 (-NCH₂CH₂N-), 38,71 (-CH₂Cy), 34,34 (C4), 33,57 (C5a), 33,02 (C5b), 30,63 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 26,41 (C7), 26,11 (C6), 19,13 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-), 13,63 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC-). ESI-MS (CH₃OH) m/z (%): 492,38 (100) [M-PtCl₄+H]⁺. IC (ATR, cm⁻¹): 2924, 2851, 1737, 1635, 1451, 1251, 1195, 1062, 1026, 887, 843. ULj/Vid (CH₃OH): $\lambda_{\max}$ = 211 nm.

3.2.5. Sinteza [Pt(*S*-Phoz)₂], K5

Kalijum-tetrahlridoplatinat(II) (0,69 g; 1,66 mmol) je suspendovan u DMSO (4 cm³) i dobijena suspenzija mešana 2 sata na ~60 °C. Istoj je dodat rastvor acetonitrila (40 cm³) nakon čega je polako, u porcijama dodavan ligand **L7**, LiS-Phoz, (0,71 g; 3,33 mmol). Promena boje iz tamnocrvene do tamno narandžaste usledila je odmah po dodatku prve porcije liganda. Nakon dva sata mešanja reakcione smeše, rastvor je

uparen do $\sim 5 \text{ cm}^3$, a kompleks ekstrahovan toluenom iz izdvojenog taloga. Rastvor kompleksa u toluenu je proceden i naknadno uparen do male zapremine, a zatim je čist, mikrokristalni produkt *S,S-trans* izomera (*bis*(2-(4,4-dimetil-4,5-dihidro-1,3-oksazol-2-il)benzen-tiolato)-platina(II)) dobijen taloženjem uz dodatak etanola (Slika 20).

Prinos: 310 mg, 30 %. t. t.: 104 °C. Elementalna analiza (%) izračunata za $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\text{PtS}_2$ (607,65): C 43,48; H 3,98; N 4,61; S 10,55; nađeno: C 43,06; H 3,93; N 4,53; S 10,43. ^1H NMR (300 MHz, CD_2Cl_2) δ = 7,45 (dd, $J_1 = 3,0$; $J_2 = 1,2$ Hz, Ar-H, 4H), 7,08 (ddd, $J_1 = 1,5$; $J_2 = 1,8$; $J_3 = 1,8$ Hz, Ar-H, 2H), 6,92 (ddd, $J_1 = 1,2$; $J_2 = 1,5$; $J_3 = 1,2$ Hz, Ar-H, 2H), 4,27 (s, $-\text{CH}_2-$, 4H), 1,66 (s, $-\text{CH}_3$, 12H). ^{13}C NMR (75 MHz, CD_2Cl_2) *S,S-trans* izomer δ = 162,52 ($-\text{CH}=\text{N}$), 148,90 (Ar), 131,94 (Ar), 131,00 (Ar), 129,90 (Ar), 126,91 (Ar), 122,91 (Ar), 79,80 ($-\text{CH}_2-$), 73,39 ($-\text{CH}-$), 28,28 (CH_3-). EI-MS m/z : 607,1 (100) $[\text{M}]^+$. IC (cm^{-1}): 2953, 1625, 1459, 1371, 1271, 1134, 980, 933, 828, 781, 773.

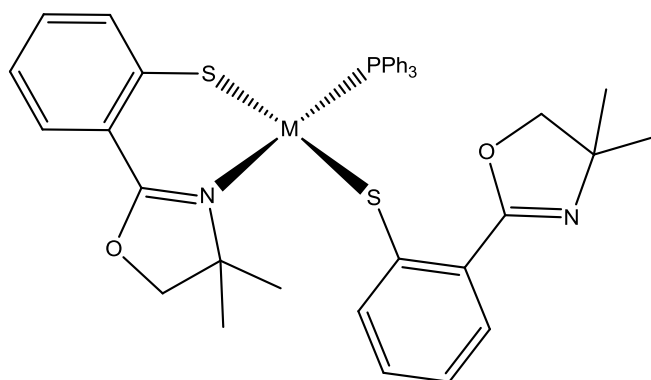


Slika 20. Struktura kompleksa $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5**.

3.2.6. Sinteza $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6**

$\text{Cis-}[\text{PtCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$ (0,37 g; 0,46 mmol) i ligand **L7**, LiS-Phoz, (0,20 g; 0,94 mmol) su suspendovani u suvom toluenu (50 cm^3) uz mešanje naredna dva sata. Rastvor tamnožute boje je propušten kroz sloj celita, uparen do polovine zapremine i ostavljen da kristališe. Dobijeni kristalni produkt je zatim ispiran sa hladnim dietil-etrom dajući svetložuti kompleks (Slika 21) koji je sušen pod vakuumom.

Prinos: 231 mg, 57 %. t. t.: 109 °C. Elementalna analiza (%) izračunata za $C_{40}H_{39}N_2O_2PPtS_2$ (869,94): C 55,23; H 4,52; N 3,22; S 7,37; nađeno: C 54,86; H 4,60; N 3,52; S 7,29. 1H NMR (300 MHz, CD_2Cl_2) δ = 7,73–7,66 (m, Ar–H, 6H), 7,49–7,06 (m, Ar–H, 15H), 6,68 (br s, Ar–H, 2H), 3,98 (br d, J = 96,3 Hz, $-CH_2-$, 4H), 1,77 (s, 6H, $-CH_3$), 1,19 (s, $-CH_3$, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CD_2Cl_2) δ = 163,82 ($-CH=N$), 147,31 (Ar), 146,33 (Ar), 135,41 (Ar), 135,27 (Ar), 134,61 (d, J = 9,75 Hz), 132,21 (Ar), 131,62 (Ar), 131,15 (Ar), 130,73 (d, J = 2,3 Hz, Ar), 130,50 (Ar), 129,61 (Ar), 129,63 (Ar), 129,51 (Ar), 128,30 (d, J = 11,1 Hz, Ar), 123,42 (Ar), 121,33 (Ar), 82,09 ($-CH_2-$), 78,94 ($-CH_2-$), 72,71 ($-CH-$), 67,92 ($-CH-$), 28,46 (CH_3-). ^{31}P NMR (121 MHz, CD_2Cl_2) δ = 14,45 (t, J_1 = 1971,1; J_2 = 1968,7 Hz). EI-MS: 896,3 $[M]^+$. IC (cm^{-1}): 2969, 1648, 1464, 1436, 1035, 736, 693, 543, 515.



Slika 21. Struktura kompleksa $[Pt(\eta^2S\text{-Phoz})(\eta^1S\text{-Phoz})(PPh_3)]$, **K6**.

3.3. Materijali i metode

3.3.1. Hemikalije, reagensi i uslovi za sinteze

Polazni platinski kompleksi, $K_2[PtCl_4]$ i $K_2[PtCl_6]$, su dobijeni standardnim procedurama polazeći od elementarne platine [42, 118]. Ostale supstance korišćene u sintezama i voltametrijskim merenjima (polazni kompleksi, rastvarači, elektrolit) su dobijene od različitih proizvođača i upotrebljene bez dodatnog prečišćavanja. Sinteze liganda **L7** i kompleksa **K5** i **K6** su urađene u atmosferi argona korišćenjem standardnih *Schlank* i *glovebox* tehnika na sobnoj temperaturi. U ovim procedurama su korišćeni suvi rastvarači prečišćeni pomoću *Pure Solv Solvent Purification System*.

3.3.2. Određivanje tački topljenja

Tačke topljenja kompleksa **K1-6** su određene na *Electrothermal melting point* aparatu.

3.3.3. Elementalna analiza

Rezultati elementalnih analiza (C, H, N i S) su dobijeni korišćenjem *Elemental Vario EL III Microanalyzer* (za jedinjenja **L1-6** i **K1-4**) i *EuroVector EA3000* (za jedinjenja **K5** i **K6**).

3.3.4. NMR spektroskopija

Svi NMR spektri dobijeni su rastvaranjem odgovarajuće količine uzorka (~15 mg) u CDCl_3 ili CD_2Cl_2 u prisustvu TMS kao internog standarda. Položaji signala su izraženi u δ -jedinicama (ppm), a konstante kupovanja (J) u Hz. 1D (^1H i ^{13}C) NMR spektri su snimani na *Varian Gemini 200* (za **L1-6** i **K1-4**) ili *Bruker Avance III 300 MHz* (za **L7**, **K5** i **K6**) NMR spektrometrima. Za snimanje 2D COSY i 2D ^1H - ^{13}C heteronuklearnih korelacionih NMR spektara korišćen je *Bruker Avance III 500* spektrometar. Dodatno je snimljen i ^{195}Pt NMR spektar kompleksa **K1** na *Varian Unity 400* NMR spektrometru u prisustvu heksahloroplatinske kiseline i ^{31}P NMR spektar kompleksa **K6** na *Bruker Avance III 300 MHz* spektrometru uz 85% H_3PO_4 kao eksterni standard.

3.3.5. Masena spektrometrija

Maseni spektri su snimani na *6210 Time-of-Flight LC-MS* (za **L1-4** i **K1-4**), *Orbitrap LTQ XL* (**L5**, **L6**) u metanolu i *Agilent Technologies 5975C inert XL MSD* (za **K5** i **K6**) instrumentima.

3.3.6. Infracrvena spektroskopija

Infracrveni spektri snimljeni su pomoću spektrometara *Nicolet 6700 FT-IR* (za **L1-6** i **K1-4**) i *Bruker ALPHA-P Diamant ATR-FTIR* spektrometru (za **L7**, **K5** i **K6**).

3.3.7. Elektronsko-apsorpciona spektroskopija

Elektronski apsorpcioni spektri kompleksa, **K1-4**, snimljeni su pomoću *GBC UV/Vis Cintra 6* spektrofotometra. Shodno tome, pripremljeni su rastvori koncentracije $0,1 \text{ mmol/dm}^3$ u metanolu.

3.3.8. Rendgenska strukturna analiza

Rendgenska strukturna analiza kompleksa **K5** i **K6** je urađena na Bruker AXS SMART APEX 2 CCD difraktometru korišćenjem monohromatskog Mo-K α zračenja ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) iz zatopljene tube preciznog fokusa na 100 K. Za rešavanje i utačnavanje strukture je korišćen SHELXS-97 softverski paket [119, 120]. Kristalograski podaci, prikazani u Tabelama 4 i 5, dati su na uvid u Cambridge Crystallographic Data Center pod odgovarajućim identifikacionim brojevima.

Tabela 4. Osnovni kristalogrfski podaci za kompleks **K5**, [Pt(S-Phoz) $_2$].

Kristalogrfski podaci	K5
Empirijska formula	C $_{22}$ H $_{24}$ N $_2$ O $_2$ PtS $_2$
Relativna molekulska masa	607,64
Opis kristala	blok žute boje
Veličina kristala	0,27 x 0,17 x 0,12 mm
Kristalni sistem	monoklinični
Prostorna grupa	P 21/n
Parametri elementarne ćelije kristala:	
a	18,2384(7) Å
b	11,0364(4) Å
c	22,0408(8) Å
β	106,8150(10) °
Zapremina elementarne ćelije kristala	4246,8(3) Å 3
Z (broj stehiometrijskih jedinica)	8
Izračunata gustina	1,901 Mg/m 3
F(000)	2368
Linearni koeficijent apsorpcije, μ	6,826 mm $^{-1}$
Korekcija apsorpcije	semi-empirijska
Transmisioni maksimum i minimum	0,7461 i 0,3697
Određena jedinična ćelija	2,67° < Θ < 30,81 °
Oblast merenja refleksa	2,18 do 30,00 °

Broj merenih refleksa	9865
Milerovi indeksi	$-25 \leq h \leq 20, -15 \leq k \leq 14, -29 \leq l \leq 31$
Utačnjavanje	K5
Metod utačnjavanja	Metod najmanjih kvadrata na F^2
Refleksi/ parametri/ ograničenja	12365/ 547/ 0
Faktor slaganja od F^2	1,094
Konačni R faktor, $[I > 2\sigma(I)]$	$R_1 = 0,0382, wR_2 = 0,0894$
R faktor	$R_1 = 0,0470, wR_2 = 0,0931$
Koeficijent ekstinkcije	nema
Težinska šema	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP]$ gde je $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
Parametri težinske šeme, a i b	0,0353 i 21,807
Najveći Δ/σ poslednjeg ciklusa	0,003
Najveći diferencijalni pik i šupljina	6,745 i -2,509 e/Å ³
Program za rešavanje i utačnjavanje struktura	SHELXS-97

Tabela 5. Osnovni kristalografski podaci za kompleks **K6**, [Pt(η^2 S-Phoz)(η^1 S-Phoz)(PPh₃)].

Kristalografski podaci	K6- konf. A	K6- konf. B
Empirijska formula	C ₄₄ H ₄₉ N ₂ O ₃ PPtS ₂	C ₄₀ H ₃₉ N ₂ O ₂ PPtS ₂
Relativna molekulska masa	944,03	869,91
Opis kristala	blok žute boje	blok narandžaste boje
Veličina kristala	0,15 x 0,15 x 0,12 mm	0,33 x 0,31 x 0,28 mm
Kristalni sistem	triklinični	monoklinični
Prostorna grupa	P -1	P 2 ₁ /n
Parametri elementarne ćelije kristala: a	11,2715(4) Å	19,1704(9) Å
b	13,1029(5) Å	8,6867(4) Å
c	14,2801(5) Å	22,8310(11) Å
α	73,9838(14) °	
β	82,3007(13) °	111,3460(10) °
γ	87,9455(13) °	
Zapremina elementarne ćelije kristala:	2008,88(13) Å ³	3541,2(3) Å ³
Z (broj stehiometrijskih jedinica)	2	4
Izračunata gustina	1,561 Mg/m ³	1,632 Mg/m ³
F(000)	952	1736
Linearni koeficijent apsorpcije, μ	3,678 mm ⁻¹	4,164 mm ⁻¹
Korekcija apsorpcije	semi-empirijska	semi-empirijska
Transmisioni maksimum i minimum	0,7461 i 0,5944	0,2611 i 0,1571
Određena jedinična ćelija	$2,44^\circ < \Theta < 30,86^\circ$	$2,61^\circ < \Theta < 31,36^\circ$
Oblast merenja refleksa	2,44 do 30,00 °	2,53 do 30,00 °

Broj merenih refleksa	9822	9193
Milerovi indeksi	$-15 \leq h \leq 15, -18 \leq k \leq 16,$ $-19 \leq l \leq 20$	$-26 \leq h \leq 25, -12 \leq k \leq 10,$ $-30 \leq l \leq 32$
Utačnjavanje		
Metod utačnjavanja	Metod najmanjih kvadrata na F^2	
Refleksi/ parametri/ ograničenja	11670/ 495/ 0	10337/ 448/ 0
Faktor slaganja od F^2	1,045	1,038
Konačni R faktor [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0240, wR_2 = 0.0609$	$R_1 = 0,0200, wR_2 = 0,0445$
R faktor	$R_1 = 0,0262, wR_2 = 0.0620$	$R_1 = 0,0237, wR_2 = 0,0453$
Koeficijent ekstinkcije	nema	nema
Težinska šema	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP]$ gde je $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP]$ gde je $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
Parametri težinske šeme, a i b	0,0323; 2,5217	0,0114; 3,3666
Najveći Δ/σ poslednjeg ciklusa	0,003	0,001
Najveći diferencioni pik i šupljina	2,520 i $-1,259e/\text{\AA}^3$	1,190 i $-1,325e/\text{\AA}^3$
Program za rešavanje i utačnjavanje struktura	SHELXS-97	SHELXS-97

3.4. Biološka ispitivanja

3.4.1. Čelijske kulture i reagensi za ispitivanje citotoksičnosti

Ispitivana jedinjenja (**L1-4**, **K1-4**) su rastvorena u DMSO-u i čuvana na -20°C . Serum fetusa teleta (FCS), RPMI-1640, rastvor fosfatnog pufera (PBS), DMSO, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid (MTT), kolagenaza IV iz *Clostridium histolyticum*, Dnaza i propidijumjodid (PI) su nabavljeni iz Sigma (St. Luis, MO), a aneksin V-FITC (AnnV) iz Biotiuma (Hayward, CA). U251 i B16 čelijske linije su dobijene od dr Pedra Tranquea (Univerzitet de Kastilja- La Mancha, Albacete, Španija) i dr Siniše Radulovića (Instituta za onkologiju i radiologiju u Beogradu, Srbija), respektivno. Humani melanom A375, čelijske linije kancera kolona HCT116 i SW620, prostate PC3 i čelijska linija kancera kolona poreklom od miša CT26CL25 su nabavljene zahvaljujući prof. Ferdinanda Nikoletija (Departman biomedicinskih nauka, Univerzitet u Kataniji, Italija). Čelije su gajene u HEPES-puferskom RPMI-1640 medijumu uz dodatak 10% FCS, 2 mmol/dm^3 L-glutamina, 0,01% natrijum-piruvata i

antibiotika u inkubatoru sa vlažnom atmosferom na temperaturi od 37 °C i pri koncentraciji CO₂ od 5 %. Čelije su, za potrebe eksperimenata, odvojene postupkom standardne tripsinizacije, resuspendovane u ćelijskom medijumu i ravnomerno sadene na sterilnim plastičnim pločicama pri gustini od 1×10^4 ćelija/ bunarić (ploče sa 96 bunarića) za određivanje vijabiliteta, odnosno $2,5 \times 10^5$ / bunarić (ploče sa 6 bunarića) za protočnu citofluorimetriju. Čelijske kulture primarnih citokeratina su pripremljene iz kože mišjeg uha dok su primarni fibroblasti poreklom iz pluća odraslog miša.

3.4.2. Evaluacija vijabiliteta ćelija kristal violet i MTT testovima

Dozno-zavisna kriva vijabiliteta i procena citotoksičnosti ispitivanih supstanci je dobijena na osnovu standardnih kolorimetrijskih testova. U tom smislu je vijabilitet adherentnih ćelija u kulturi procenjen kristal violet testom, dok je za neadherentne ćelije upotrebljen MTT. Dobijeni rezultati su prikazani u vidu procentualne vrednosti apsorbance izmerene kod netretiranih kultura kojima je arbitrarno dato maksimalnih 100 % vijabiliteta.

3.4.3. Analiza ćelijskog ciklusa

Za potrebe analize ćelijskog ciklusa ćelije su tretirane 24h IC₅₀ dozama za svako jedinjenje, fiksirane 45 min. sa 70 % etanolom na 4 °C, dva puta ispirane hladnim PBS i nakon toga inkubirane u rastvoru PI (20 µg/ml) i RNaze (0,1 mg/ml) u PBS-u 30 min. na 37 °C u mraku. FACSCalibur protočnim citofluorimetrom (BD, Hajdelberg, Nemačka) je izmerena crvena fluorescenca PI dok je za razvrstavanje ćelija po fazama ćelijskog ciklusa korišćen CellQuestPro program (BD Biosciences, San Dijego, Kalifornija, SAD).

3.4.4. Detekcija aktiviranih formi kaspaza

U ove svrhe je korišćen ApoStat, pan-kaspazni inhibitor konjugovan FITC-om. Ćelije su tretirane 24 h IC_{50} dozama odabranih jedinjenja, skupljene tripsinizacijom i bojene 15 min. na 37 °C sa ApoStat uz dodatak 5 % FCS. Nakon ispiranja, ćelije su ispitivane na FACSCalibur protočnom citofluorimetru i analizirane CellQuestPro programom.

3.4.5. Statistička obrada podataka

Dobijeni rezultati su dati u vidu SV + SD triplikata kultura reprezentativnog eksperimenta od najmanje tri izvedena, ili SV + SD više istih eksperimenata. Analiza varijanse (ANOVA) uz Student-Newman-Keuls-ovim test za višestruka poređenja je korišćena za analizu statistički značajne razlike između rezultata dobijenih različitim tretmanima triplikata kultura. Vrednost parametra p manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom.

3.5. Elektrohemijska merenja

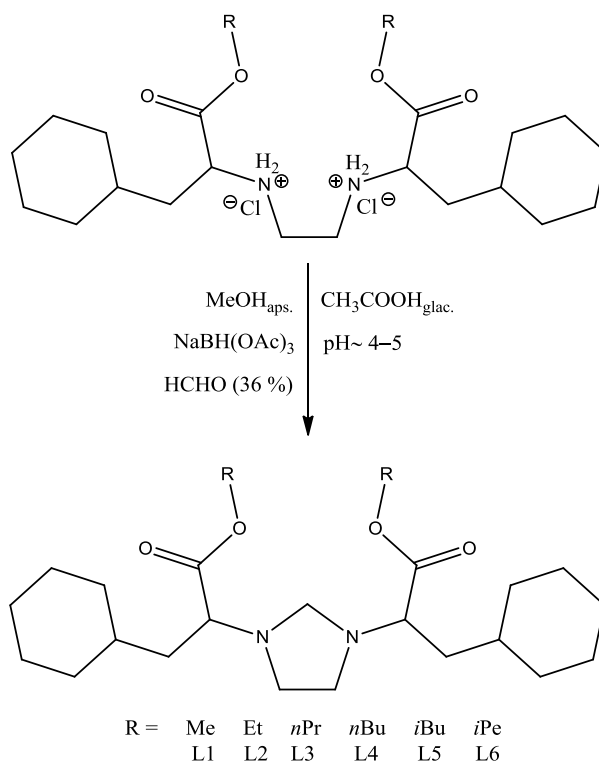
Elektrohemijsko ponašanje liganada (**L1-4**, **L7**) i kompleksa (**K1-6**) je ispitano pomoću CHI-760B instrumenta za cikličnu i diferencijalnu pulsnu voltametriju (CHI Instruments, USA) na sobnoj temperaturi. U ove svrhe napravljeni su 0,1 mmol/dm³ rastvori ispitivanih jedinjenja u DMSO-u uz dodatak LiClO₄ kao pomoćnog elektrolita. Merenja su izvršena korišćenjem troelektrodnog sistema koji obuhvata radnu elektrodu od staklastog ugljenika (Model 6.1204.300), pomoćnu platinsku elektrodu velike površine (Model CHI221) i Ag/AgCl referentnu elektrodu (Model CHI111). Elektrodni potencijali kompleksa **K1-4** su određeni diferencijalnom pulsnom voltametrijom s obzirom da se u datim eksperimentalnim uslovima očekivala redukcija samo Pt(IV) kompleksa, **K1-4**. U ovom slučaju se dobijeni elektrohemijski podaci odnose na drugi redukcionni pik (Pt(III) → Pt(II) redukcija).

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Sinteze liganada

4.1.1. Sinteze metilovanih estara *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil) propanske kiseline, L1-6

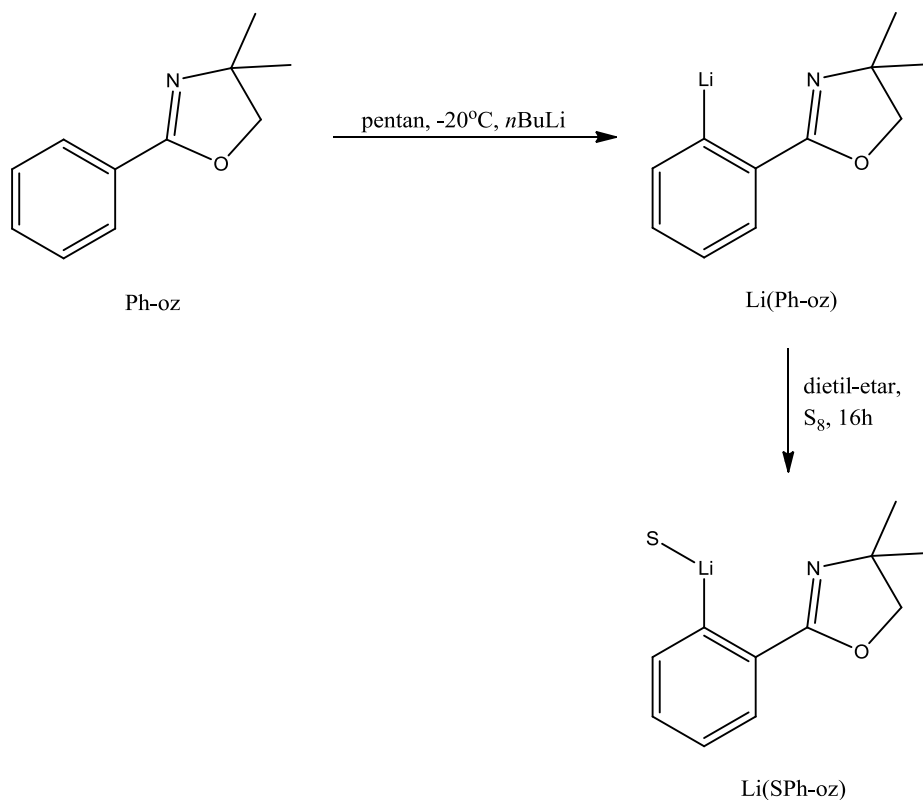
Reduktivno metilovanje prekursorskih supstanci (metil, etil, *n*-propil, *n*-butil, *i*-butil i *i*-pentil estara (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline) je tipična reakcija metilovanja sekundarnih amina uz određene izmene [121, 66]. Polazni estar je dobro homogenizovan u metanolu, dok je smeša za metilovanje sa 36% formaldehidom i natrijum-triacetoborhidridom polakao ukapavana u rastvor estara. pH reakcione smeše je podešena dodatkom glacijalne sirćetne kiseline (Šema 7). Dobijeni rastvor je tretiran dietil-etrom, rastvorima KOH i NaCl i uparen do suva. Sintetisani ligandi **L1-6** su rastvorni u većini organskih rastvarača (dimetil-sulfoksid, acetonitril, metanol, aceton, hloroform, dihlormetan), a nerastvorni u vodi.



Šema 7. Sinteza liganada **L1-6**.

4.1.2. Sinteza Li(SPh-oz) liganda, L7

4,4-dimetil-2-fenil-2-oksazol (Ph-oz) je rastvoren u pentanu uz hlađenje na ledenom kupatilu i polako dodavanje *n*BuLi u kapima [117]. Nakon mešanja reakcione smeše tokom 1h, ceđenjem je izdvojen beli talog liganda, Li(Ph-oz), koji je ispiran sa dve porcije ohlađenog pentana. Zatim je sintetisani Li(Ph-oz) suspendovan u dietil-etru uz dodatak elementarnog sumpora (Šema 8). Suspenzija je ostavljena da se meša preko noći pri čemu se izdvojio talog produkta svetlo žute boje koji je osušen pod vakuumom.



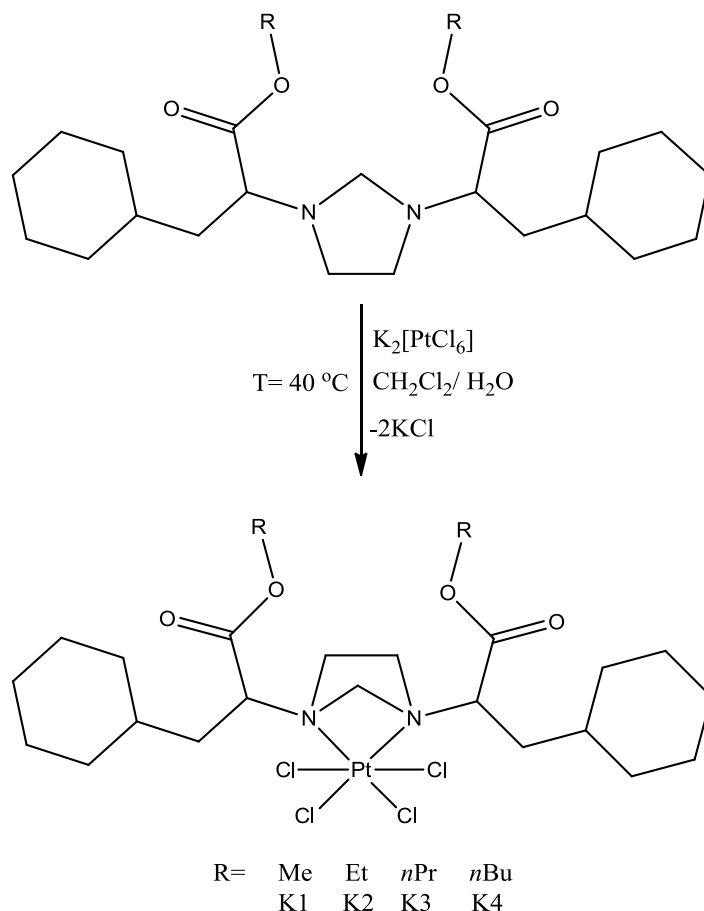
Šema 8. Sinteza liganda L7, Li(SPh-oz).

4.2. Sinteze kompleksa platine

4.2.1. Sinteze Pt(IV) kompleksa sa metilovanim estrima *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, K1-4

Kompleksi, **K1-4**, opšte formule $[\text{PtL}^n\text{Cl}_4]$, ($n=1-4$), sintetisani su u reakciji između $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$, rastvorenog u vodi i odgovarajućeg liganda rastvorenog u

dihlormetanu (Šema 9). Dobijena smeša je refluktovana tri dana nakon čega se izdvojio žutonarandžasti talog koji je nakon odvajanja iz reakcione smeše, osušen pod vakuumom. Sintetisani kompleksi su rastvorni u većini organskih rastvarača (dimetil-sulfoksid, acetonitril, metanol, aceton, hloroform, dihlormetan), a nerastvorni u vodi [66].

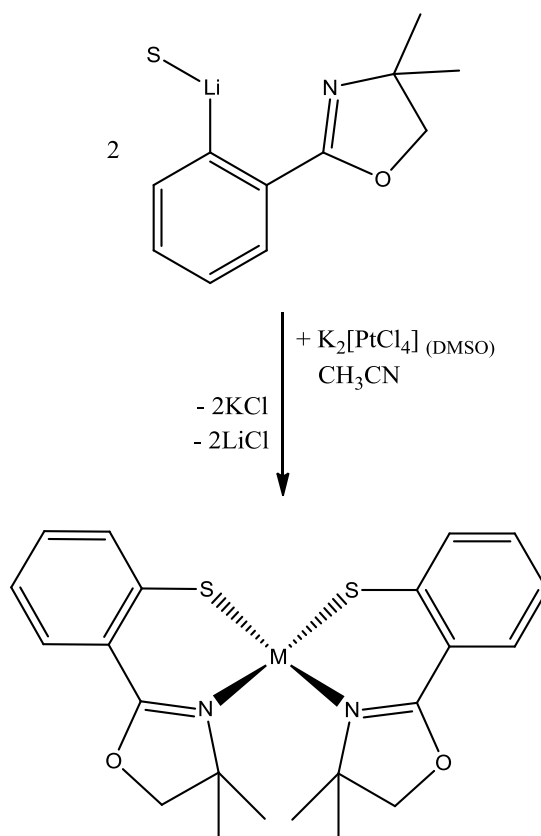


Šema 9. Sinteza kompleksa **K1-4**, $[\text{PtL}^n\text{Cl}_4]$, ($n=1-4$).

4.2.2. Sinteza $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5**

Kompleks $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5**, je dobijen u reakciji $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$, prethodno rastvorenog u DMSO sa $\text{Li}(\text{SPh-oz})$ ligandom, **L7**, rastvorenog u acetonitrilu (Šema 10). Izdvojeni talog tamnožute boje je nakon prečišćavanja osušen pod vakuumom. Kompleks je stabilan na vazduhu, rastvoran u polarnim rastvaračima (dimetil-sulfoksid,

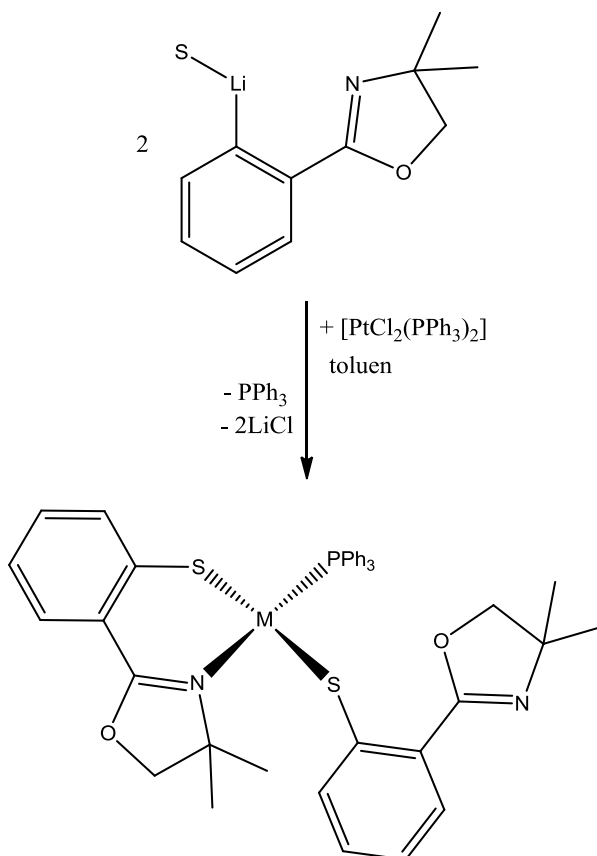
acetonitril, hloroform, dihlormetan), delimično rastvoran u EtOH i potpuno nerastvoran u vodi [122].



Šema 10. Sinteza kompleksa **K5**, $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$.

4.2.3. Sinteza $[\text{Pt}(\eta^2\text{-S-Phoz})(\eta^1\text{-S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6**

Kompleks $[\text{Pt}(\eta^2\text{-S-Phoz})(\eta^1\text{-S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6** je dobijen u reakciji *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$ sa $\text{Li}(\text{SPh-oz})$ ligandom, **L7**, u toluenu (Šema 11). Iz prve frakcije izolovan je mikrokristalni produkt *trans* izomera dok je druga frakcija sadržala smešu oba, *cis* i *trans* izomera. Kompleksno jedinjenje žute boje je rastvorno u polarnim hlorovanim i nehlorovanim rastvaračima (hloroform, dihlormetan, dimetil-sulfoksid, acetonitril, aceton), delimično rastvorno u dietil-etru, a potpuno nerastvorno u vodi [122].



Šema 11. Sinteza kompleksa **K6**, $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$.

4.3. Spektroskopska karakterizacija sintetisanih liganada i kompleksa

4.3.1. NMR spektroskopija

- NMR spektri sintetisanih liganada, **L1-6** i Pt(IV) kompleksa, **K1-4**

U cilju nedvosmislene asignacije NMR spektara liganada, pored standardnih 1D (^1H i ^{13}C) NMR spektara snimljeni su i 2D (COSY, HSQC, HMBC) NMR spektri. U širokoj oblasti hemijskih pomeranja od 0,80–1,60 ppm nalaze se protoni cikloheksil prstena i alkil grupa estarskog dela ($\text{RCH}_2\text{O}-$) sa izuzetkom protona vezanih za C5 atom. Naime, ovi protoni se javljaju na nešto većim hemijskim pomeranjima ($\sim 1,70$ i $\sim 1,75$ ppm) u vidu dva odvojena seta signala usled dijastereotopne prirode hiralnog C atoma. Očekivano, koordinacija nije uticala na položaj i oblik signala gore pomenutih protona koji se u spektrima odgovarajućih Pt(IV) kompleksa, **K1-4**, nalaze u istoj oblasti u vidu širokih multipleta. Etilendiaminski protoni ($-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-$) su uočeni u oblasti između 2,85 i 2,98 ppm kao dva multipleta jasno razdvojena u pojedinim ^1H

NMR spektrima (snimljenim na 500 MHz). Prisustvo $-\text{CH}_2-$ grupe uvedene između dva atoma azota etilendiaminskog dela potvrđeno je singletom na $\sim 3,60$ ppm. Ovaj signal je u HSQC spektru pokazao negativnu korelaciju sa rezonancijom odgovarajućeg C atoma na $\sim 69,50$ ppm. Analizom HMBC spektara je ustanovljeno da isti signal korelira sa C atomima etilendiaminskog dela lociranim na 48,22 ($-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-$) i 62,05 ppm ($-\text{NCH}_2\text{N}-$) čime je dodatno potvrđeno prisustvo novoformiranog imidazolinskog prstena. U ^1H NMR spektrima kompleksa **K1-4**, koordinacija preko atoma azota je uslovala pomeranje $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-$ i $-\text{NCH}_2\text{N}-$ signala ka nižim frekvencijama. ^{13}C NMR spektri potvrđuju prisustvo svih C atoma molekula liganada i kompleksa. Karbonilni ugljenici su očekivano zapaženi na najvećim hemijskim pomeranjima, između 169 i 173 ppm. Signali alkil grupa estarskog dela nalaze se na njima karakterističnim pomeranjima dok se C atomi cikloheksil grupe nalaze u oblasti 25,80-33,52 ppm, nezavisno od koordinacije. Karakterizacija je upotpunjena ^{195}Pt NMR spektrom snimljenim za kompleks **K1** u kojem je signal na 145,64 ppm nedvosmisleno potvrdio prisustvo ovog metalnog centra. Vrednost pomeranja ovog ^{195}Pt signala odgovara literaturnim podacima koji se odnose na ovu klasu Pt(IV) kompleksnih jedinjenja sa aminskim ligandima [123].

- NMR spektri liganda, **L7**, i sintetisanih Pt(II) kompleksa, **K5** i **K6**

U ^1H NMR spektru Li(SPh-oz) liganda, **L7**, na karakterističnim hemijskim pomeranjima nalaze se aromatični protoni jasno razdvojeni u dva seta signala, dublet dubleta ($\sim 7,64$ i $7,48$ ppm) i multipleta ($\sim 6,88$ i $\sim 6,69$ ppm) kao posledica supstitucije u orto položaju. Protoni benzenovog jezgra se u spektrima kompleksa, **K5** i **K6**, javljaju takođe u dva seta signala, ali složenijeg multipliciteta. S obzirom da je u kompleksu **K6** za platinu kooordinovan i trifenilfosfin, odgovarajući protoni se nalaze u oblasti 7,58-6,99 ppm. $-\text{CH}_2-$ protoni oksazolinskog prstena se u spektru liganda očekivano javljaju na $\sim 4,00$ ppm u formi jasno definisanog singleta, dok se u spektru kompleksa **K5** javljaju na većem hemijskom pomeranju ($\sim 4,27$ ppm). Ovi protoni su u kompleksu **K6** najviše pretrpeli uticaj koordinacije dajući širok dublet s velikom konstantom kuplovanja ($J = 96,3$ Hz). U alifatičnoj oblasti ($\sim 1,65$ – $1,20$ ppm) liganda **L7** i odgovarajućih Pt(II) kompleksa **K5** i **K6**, izdvajaju se oštri singleti koji potiču od dve CH_3- grupe petočlanog prstena. ^{13}C NMR spektri potvrdili su prisustvo svih atoma ugljenika. Usled sniženja simetrije koordinacionog okruženja, protoni $-\text{CH}_2-$ grupe

oksazolinskog dela locirani su na znatno manjim hemijskim pomeranjima ($\sim 79,80$ i $\sim 78,94$ ppm za **K5**, odnosno **K6**) u odnosu na njihov položaj u slobodnom ligandu **L7**. Iz istog razloga dolazi do značajnijeg pomeranja aromatičnih ugljenikovih atoma ka nižem polju. Sem toga, za kompleks **K6** snimljen je ^{31}P NMR spektar koji je izdvojio triplet na 14,45 ppm uz očekivane ^{195}Pt satelite koji potiču od odgovarajućeg P–Pt kuplovanja.

4.3.2. Masena spektrometrija

- MS spektri sintetisanih liganada, **L1-6**, i Pt(IV) kompleksa, **K1-4**

U masenim spektrima liganada, **L1-6**, detektovane su dve vrste jona, molekulski jon ($[\text{M}]^+$) i fragment ($[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$) koji odgovara masi molekula u odsustvu metilenskog mosta između dva atoma azota. Značajno je napomenuti da je u MS spektrima liganada **L6** i **L7** moguće prepoznati obe vrste jona s obzirom na to da su isti snimljeni Orbitrap LTQ XL spektrometrom koji koristi *mekšu* metodu jonizacije (HESI). Za sve komplekse Pt(IV), **K1-4**, dobijeni su fragmentni joni $[\text{M}-\text{PtCl}_4+\text{H}]^+$ čija se masa slaže sa izračunatim vrednostima. Pregled identifikovanih jona za ovu klasu jedinjenja dat je u Tabeli 6.

Tabela 6. Pregled detektovanih jona u masenim spektrima sintetisanih jedinjenja.

Ligandi	Detektovan molekulski jon/ fragment	m/ z	Intenzitet jona/ %
L1	$[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$	397,34	100
L2	$[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$	425,35	100
L3	$[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$	453,39	100
L4	$[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$	481,40	100
L5	$[\text{M}]^+$; $[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$	493,40; 481,58	37,16; 100
L6	$[\text{M}]^+$; $[\text{M}-\text{CH}_2+3\text{H}]^+$	521,43; 509,43	100; 49
Pt(IV) kompleksi	Detektovan molekulski jon/ fragment	m/ z	Intenzitet jona/ %
K1	$[\text{M}-\text{PtCl}_4+\text{H}]^+$	408,29	100
K2	$[\text{M}-\text{PtCl}_4+\text{H}]^+$	436,07	100
K3	$[\text{M}-\text{PtCl}_4+\text{H}]^+$	464,89	100
K4	$[\text{M}-\text{PtCl}_4+\text{H}]^+$	492,38	100

- MS spektri Pt(II) kompleksa, **K5** i **K6**

Maseni spektri Pt(II) kompleksa, **K5** i **K6**, nedvosmisleno su potvrdili pretpostavljenu strukturu ovih jedinjenja (Tabela 7).

Tabela 7. Pregled detektovanih jona u masenim spektrima sintetisanih jedinjenja.

Pt(II) kompleksi	Detektovan molekularni jon/ fragment	m/ z	Intenzitet jona/ %
K5	$[M]^+$	607,1	100
K6	$[M]^+$	896,3	100

4.3.3. IC spektroskopija

- Infracrveni spektri sintetisanih liganada, **L1-6**, i Pt(IV) kompleksa, **K1-4**

U IC spektrima sintetisanih liganada, **L1-6**, najintenzivnija traka se nalazi u oblasti oko $\sim 1730\text{ cm}^{-1}$ i potiče od valencione vibracije C=O grupe [124]. Bidentatnim koordinovanjem platine preko dva atoma azota etilendiaminskog dela, dolazi do neznatnog pomeranja estarske C=O trake ka nešto višim frekvencijama ($\sim 1740\text{ cm}^{-1}$). Stoga je mogućnost vezivanja metalnog centra preko atoma kiseonika izuzeta iz daljeg razmatranja. Asimetrične C–H vibracije javljaju se u oblasti između 2950 i 2850 cm^{-1} u vidu dve intenzivne trake, približno na ~ 2920 i $\sim 2850\text{ cm}^{-1}$ u spektrima pomenutih jedinjenja. Apsorpcija u oblasti 1150 – 1250 cm^{-1} upućuje na estarske C–O valencione vibracije od kojih je asimetrična vibracija izraženija. C–N valencione vibracije apsorbuju na sličnim frekvencijama kao i C–C vibracije (1210 – 1150 cm^{-1}), ali su njihove trake intenzivnije usled polarnije C–N veze. Pregled svih karakterističnih apsorpcionih traka za ligande, **L1-6**, i Pt(IV) komplekse, **K1-4**, se nalazi u Tabeli 8.

Tabela 8. Položaj traka karakterističnih vibracija u IC spektrima liganada, **L1-6**, i Pt(IV) kompleksa, **K1-4**.

Ligandi	$\nu(\text{CH}_2)/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=O})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-O})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-N})/\text{cm}^{-1}$
L1	2923; 2850	1734	1193	1161
L2	2920; 2848	1727	1155	1098
L3	2924; 2851	1733	1258	1165
L4	2925; 2851	1730	1252	1163
L5	2928; 2852	1734	1252	1165
L6	2924; 2851	1732	1252	1164
Pt(IV) kompleksi	$\nu(\text{CH}_2)/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=O})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-O})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-N})/\text{cm}^{-1}$
K1	2924; 2851	1742	1271	1218
K2	2922; 2849	1735	1260	1195
K3	2925; 2850	1738	1242	1198
K4	2924; 2851	1737	1251	1195

- Infracrveni spektri liganda, **L7**, i sintetisanih Pt(II) kompleksa, **K5** i **K6**

IC spektri liganda **L7** i Pt(II) kompleksa, **K5** i **K6**, izdvajaju trake jakog do srednjeg inteziteta tipične za aromatični, odnosno oksazolinski deo ovih molekula (Tabela 9). Oblast apsorpcije između $3100\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ karakteristična je za C–H valencione vibracije benzenovog prstena i znatno izraženija u IC spektru liganda u odnosu na spektre odgovarajućih kompleksa. C–H deformacione vibracije van ravni benzenovog jezgra apsorbuju u oblasti $780\text{--}735\text{ cm}^{-1}$ u vidu trake vrlo jakog inteziteta. C=N apsorpcija oksazolinskog prstena se javlja u vidu trake jakog intenziteta u delu spektra između $1650\text{--}1620\text{ cm}^{-1}$.

Tabela 9. Položaj traka karakterističnih vibracija u IC spektrima liganda **L7** i odgovarajućih Pt(II) kompleksa, **K5** i **K6**.

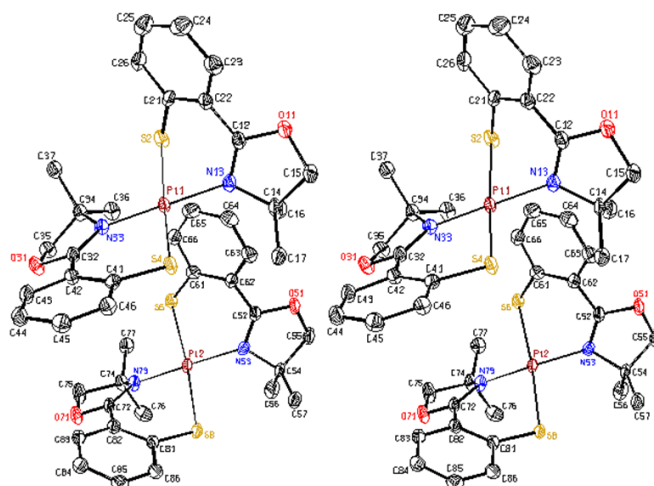
Ligand	$\nu(\text{CH})_{\text{arom}}/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=N})_{\text{oksaz}}/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-H})_{\text{oksaz}}/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{CH})_{\text{arom}}/\text{cm}^{-1}$
L7	2967	1621	1355	737
Pt(II) kompleksi	$\nu(\text{CH})_{\text{arom}}/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=N})_{\text{oksaz}}/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-H})_{\text{oksaz}}/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{CH})_{\text{arom}}/\text{cm}^{-1}$
K5	2953	1625	1371	781
K6	2969	1648	1359	736

4.3.4. Rendgenska strukturna analiza Pt(II) kompleksa, **K5** i **K6**

- Rendgenska strukturna analiza kompleksa $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5**

Monokristalni uzorak jedinjenja **K5**, pogodan za rendgensku strukturnu analizu, dobijen je sporim isparavanjem etanolnog rastvora prve, izomerski čiste frakcije (*S,S-trans* izomera) na sobnoj temperaturi. Jedinična ćelija iskristalisanog kompleksa prikazana je na Slici 22.

Ispitivani kompleks $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5** potvrdio je očekivanu kvadratno-planarnu geometriju sa određenim devijacijama. Najveće odstupanje od idealne kvadratno-planarne geometrije se ogleda u dužini N13–Pt–S2 veze sa uglom od $84,54(10)^\circ$, a najmanje u N13–Pt–S4 vezi sa uglom od $88,56(10)^\circ$ (Tabela 10). Ostale dužine veza i uglovi su u skladu s literaturnim podacima.



Slika 22. ORTEP prikaz kompleksa $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5** sa odgovarajućom numeracijom nevodoničnih atoma.

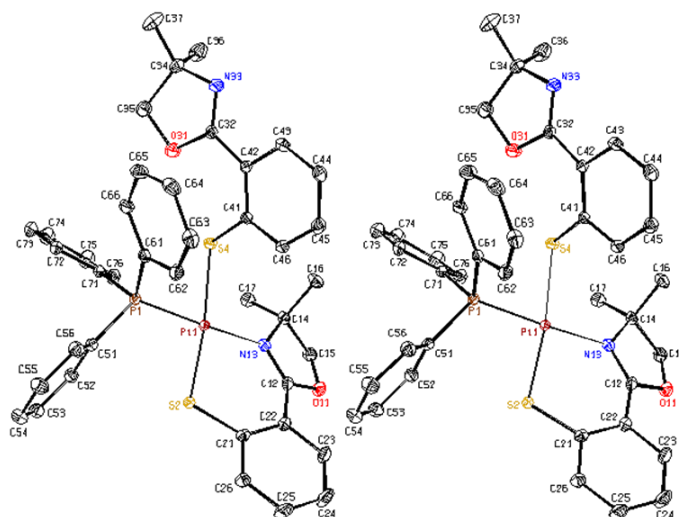
Tabela 10. Pojedini geometrijski parametri kompleksa $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5**.

Dužine hemijskih veza/ Å		Vrednosti valentnih uglova/ °	
Pt–N13	2,052(4)	S4–Pt–S2	168,60(5)
Pt–N33	2,034(4)	N13–Pt–N33	178,29(16)
Pt–S4	2,2964(11)	N13–Pt–S4	88,56(10)
Pt–S2	2,3422(11)	N33–Pt–S4	92,36(10)

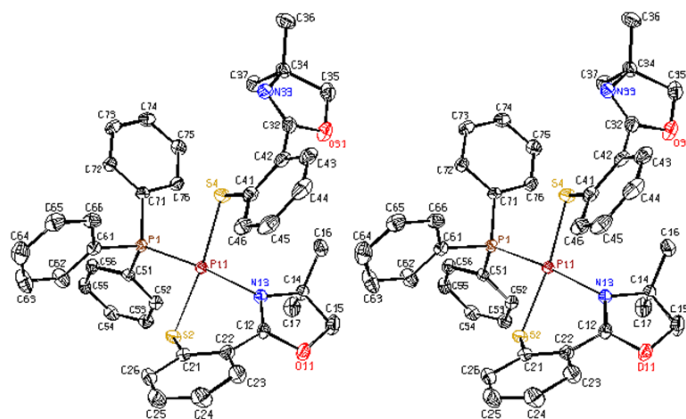
- Rendgenska strukturna analiza kompleksa $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6**

Kompleksno jedinjenje $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6** je iskristalisalo u dve konformacije, obeležene sa A i B (Slika 23). Pojedinačni kristali pogodni za rendgensku strukturnu analizu izdvojeni su nakon sporog isparavanja dietil-etra (konf. A) odnosno acetonitrila (konf. B) na sobnoj temperaturi.

a)



b)



Slika 23. ORTEP prikazi kompleksa $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6**, a) konf. A; b) konf. B sa odgovarajućom numeracijom nevodoničnih atoma.

Obe konformacije kompleksa **K6** pokazuju da je za metalni centar vezan jedan bidentatni η^2 S-Phoz ligand dok je drugi, η^1 S-Phoz ligand, koordinovan samo preko atoma sumpora. PPh_3 donorski deo se nalazi u *trans* položaju u odnosu na koordinovan atom azota. Najveća razlika između dve strukturno određene konformacije se ogleda u orijentaciji oksazolinskog prstena. U slučaju konf. A samo je O31 atom usmeren ka metalnom centru dok je u konf. B ravan celog oksazolinskog prstena orijentisana prema Pt atomu. Ova pojava se najviše odražava na vrednosti torzionih uglova između S4–C41–C42–C32 i C41–C42–C32–O31. Tako su npr. u konf. A odgovarajuće vrednost uglova 7,57 i 12,31 ° dok su u konf. B 1,83 i 81,23 °, respektivno (Tabela 11). Sem toga, utvrđeno je da je konf. A favorizovana ukoliko su molekuli rastvarača umetnuti u jediničnu ćeliju.

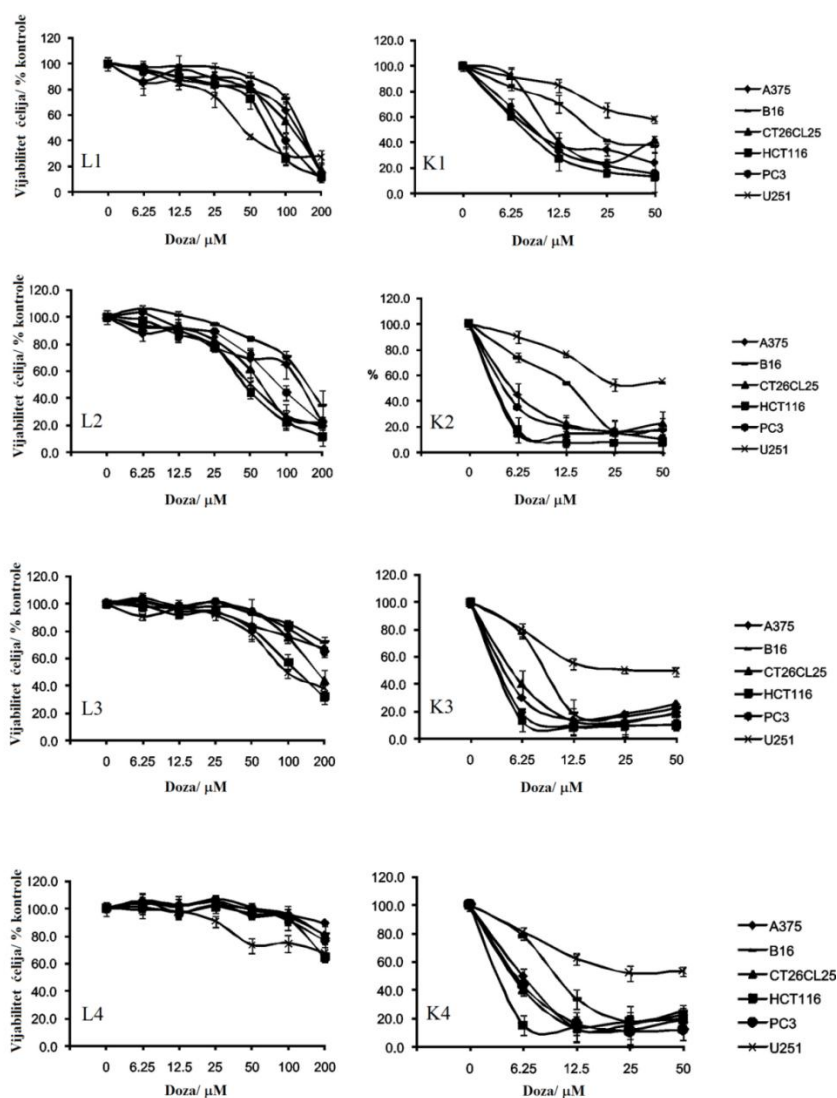
Tabela 11. Pojedini geometrijski parametri kompleksa $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6**, konf. A i konf. B.

Dužine hemijskih veza/ Å	konf. A	konf. B	Vrednosti valentnih uglova/ °	konf. A	konf. B
Pt1–N13	2,104(2)	2,1078(16)	N13–Pt1–P1	173,51(5)	171,33(5)
Pt1–P1	2,2337(6)	2,2204(5)	S2–Pt1–S4	169,56(2)	168,67(2)
Pt1–S2	2,2886(5)	2,3198(5)	N13–Pt1–S2	92,49(5)	86,49(5)
Pt1–S4	2,3624(5)	2,3409(5)	P1–Pt1–S2	91,76(2)	87,497(18)
Pt1–O312	5,015	5,638	N13–Pt1–S4	97,33(5)	96,49(5)
Pt1–N334	6,687	5,788	P1–Pt1–S4	78,78(2)	90,612(18)
			O31–Pt1–N33	15,04	22,81

4.4. Određivanje citotoksičnosti liganada, L1-4 i Pt(IV) kompleksa, K1-4

4.4.1. Procena antitumorskog dejstva

Potencijalno antitumorsko dejstvo novოსintetisanih jedinjenja (L1-4, K1-4) ispitano je na paleti različitih ćelijskih linija (A375, B16, CT26CL25, HCT116, PC3 i U251). Stoga su ćelije tretirane širokim opsegom doza navedenih supstanci u toku 24h dok je vijabilitet procenjen kristal violet testom. Dobijeni rezultati su grafički prikazani na Slici 24.



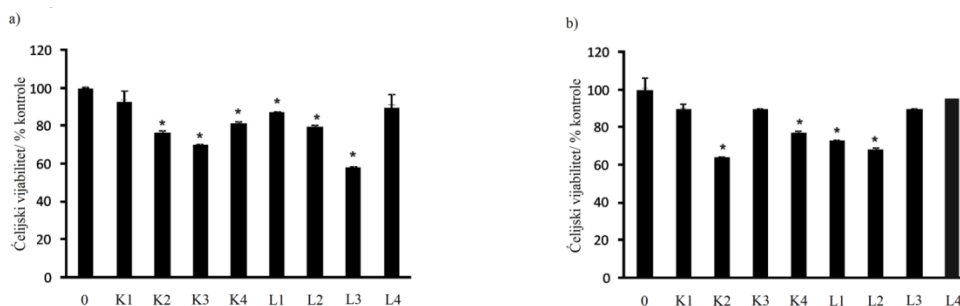
Slika 24. Efekat liganada, L1-4, i kompleksa, K1-4, na vijabilitet tumorskih ćelija.

Kompleksi Pt(IV) su očekivano znatno efikasniji u inhibiranju rasta tumorskih ćelija u odnosu na odgovarajuće ligande. Shodno tome, njihove IC₅₀ vrednosti dostižu doze za koje su ligandi potpuno neefikasni (Tabela 12). Pomenute vrednosti su čak niže u odnosu na konvencionalni citostatik, cisplatinu, za sve testirane ćelijske linije. Iz Tabele 12 se uočava i uticaj dužine alkil dela na aktivnost liganada (duži alkil niz, manja aktivnost). Međutim, odgovarajući kompleksi Pt(IV), **K1-4**, pokazali su daleko snažniji antitumorski potencijal (osim u slučaju jedinjenja **K1**) koji nije ograničen tipom i poreklom ćelijskih linija. Od značaja je pomenuti da su kompleksi bili aktivni i prema CT26CL25 i HCT116 ćelijskim linijama koje su rezistentne na cisplatinu te su odabrane za dalje analize.

Tabela 12. *In vitro* citotoksičnost ispitivanih jedinjenja određena kristal violet testom. IC₅₀ vrednosti su reprezentativne, dobijene iz tri nezavisna eksperimenta.

Jedinjenje	cisplatina	L1	L2	L3	L4	K1	K2	K3	K4
Ćel. linija									
A375	45	127,3	134,8	> 200	> 200	9,1	7,2	5,7	6,2
B16	94,3	108,3	135,5	> 200	> 200	21,3	13,8	9,1	10,2
CT26CL25	120	114	65,9	179,9	> 200	11,3	5,2	6,3	6,3
HCT116	> 120	74,1	45,9	127,1	> 200	8,8	4,1	6,3	5,9
PC3	12,5	88,3	89,2	> 200	> 200	8,1	6,2	5,4	5,1
U251	20	44,1	51	98,3	> 200	17,5	2,9	12,5	11,8

Dodatno je ispitana toksičnost prema primarnim ćelijama, ćelijama fibroblasta i citokeratina, poreklom iz miša. Analizom ćelijskog vijabiliteta MTT i kristal violet testovima nakon 24h, dobijeni su rezultati koji su pokazali da su aplikovane doze značajno manje toksične prema primarnim ćelijama nego prema tumorskim (Slika 25). Stoga su ispitivana jedinjenja pored potencijalno snažnog antitumorskog efekta, u manjoj meri uticala na vijabilitet normalnih ćelija u odnosu na cisplatinu.



Slika 25. Efekat liganada, **L1-4** i kompleksa, **K1-4** na vijabilitet normalnih ćelija: a) fibroblasta; b) citokeratina.

4.4.2. Ispitivanje mehanizma ćelijske smrti

Deo biološke studije o sintetisanim ligandima, **L1-4**, i njima odgovarajućim Pt(IV) kompleksima, **K1-4**, obuhvata i ispitivanje mehanizma ćelijske smrti na CT26CL25 i HCT116 ćelijskim linijama, rezistentnim na klasičnu terapiju cisplatinom (**L4** je isključen iz daljeg ispitivanja zbog visoke IC_{50} vrednosti). Dobijeni podaci su pokazali da novosintetisana jedinjenja indukuju apoptozu generalno praćenu aktivacijom kaspaze.

U poređenju sa literaturnim podacima za istu klasu jedinjenja, ovaj tip liganada/kompleksa pokazao je veliku prednost u smislu mehanizma ćelijske smrti. Naime, alkil estri (S,S)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline i odgovarajući Pt(IV) kompleksi ispoljavaju uporedivu ili pak neznatno bolju citotoksičnost u odnosu na njihovu metilovanu formu (**L1-4**, **K1-4**) uz veliko ograničenje u vidu brze nekroze [60]. Stoga možemo reći da je strukturna promena u etilendiaminskom delu ovog tipa lig(a)nada nastala uvođenjem metilenskog mosta između dva atoma azota, dovela do pozitivnog efekta koji predstavlja glavnu prednost ove klase jedinjenja.

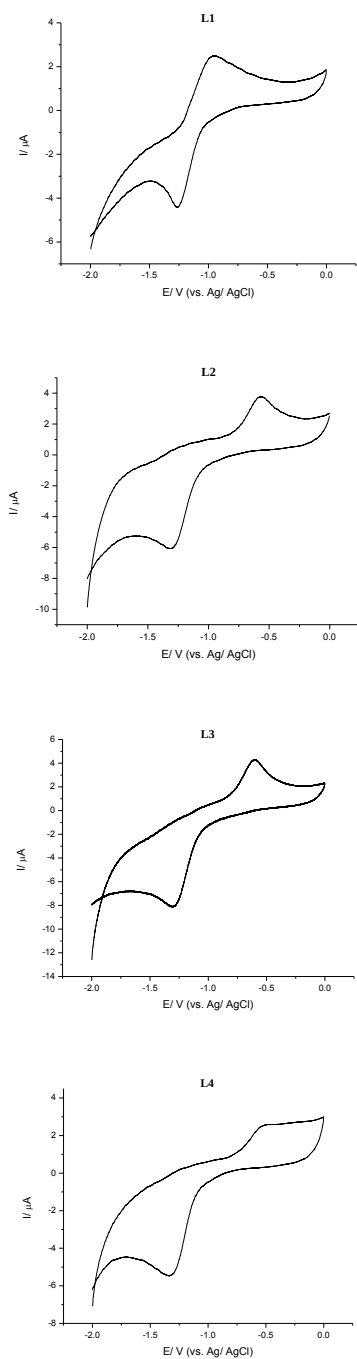
4.5. Ispitivanje redoks ponašanja sintetisanih jedinjenja

4.5.1. Oksido-redukciona svojstva liganada

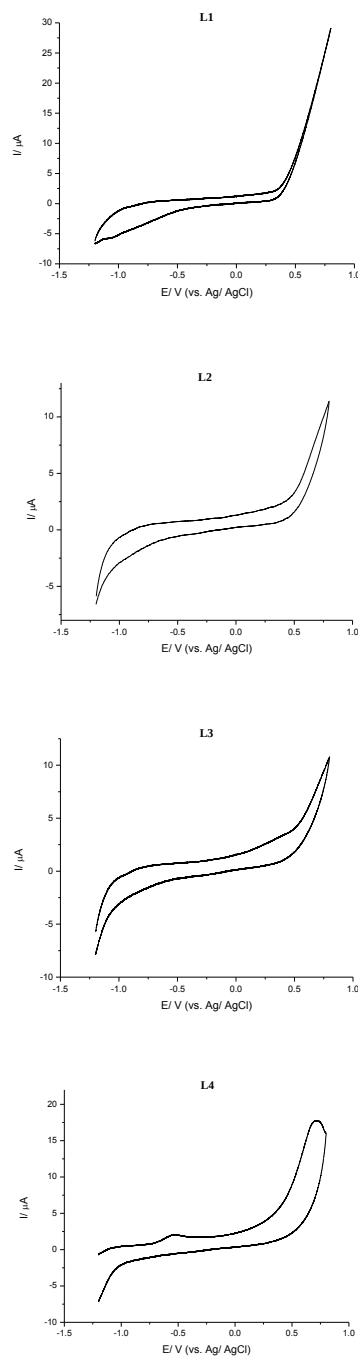
Ciklovoltamogrami dimetil-, dietil-, dipropil- i dibutil estra *N,N'*-metilen-(S,S)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, **L1-4**, respektivno, snimljeni su u različitim oblastima elektrodnih potencijala ($-2 < E < 0$ V i $-1,2 < E < 1,0$ V) kako bi se detaljno ispitalo njihovo elektrohemijsko ponašanje (Slika 26). Dobijene I-E krive upućuju na reverzibilan proces pri čemu jasno pokazuju da na položaj pika najviše utiče volumoniznost liganada. Naime, produžavanje alkil lanca estarskog dela liganada dovodi do primetnog pomeranja oksidacionog pika ka pozitivnijim vrednostima elektrodnih potencijala koje je istovremeno praćeno smanjenjem pika (od $E = -0,97$ V za **L1** do $E = -0,49$ V za **L4**, Slika 26, a). Isti trend je vidljiv i u slučaju redukcionog pika koji se s produžetkom alkil niza pomera ka negativnijim vrednostima potencijala (od $E = -1,26$ V za **L1** do $E = -1,34$ V za **L4**, Slika 26, a). U oblasti pozitivnijih potencijala ($-1,2 < E < 1,0$ V) dolazi do pojave oksidacionog pika na $E = -0,54$ V koji

se povećava s produžavanjem alkil niza i koji je najizraženiji za **L4** (Slika 26, b). S obzirom da jedinjenja **L5** i **L6** nisu koordinovana za Pt(II, IV) jon njihovo elektrohemijsko ponašanje nije ispitano.

a)



b)



Slika 26. Ciklični voltamogrami 0,1 mmol/dm³ rastvora liganada **L1-4** u DMSO-u u oblasti potencijala: a) $-2 < E < 0$ V; b) $-1,2 < E < 1,0$ V; brzina polarizacije 100 mV/s; pomoćni elektrolit LiClO₄.

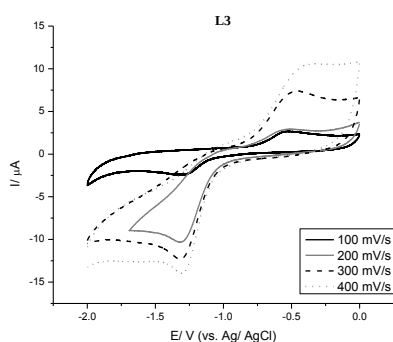
Naredni korak je obuhvatio ispitivanje elektrohemijskog ponašanja liganda **L3** pri različitim brzinama polarizacije (izbor je napravljen na osnovu srednje dužine alkil niza, Slika 27a). Zavisnost maksimuma struja od brzina polarizacije se može izraziti analitički u skladu sa *Randles-Ševčik*-ovom jednačinom [115, 116]:

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 A n^{\frac{3}{2}} D^{\frac{1}{2}} v^{\frac{1}{2}} C_o$$

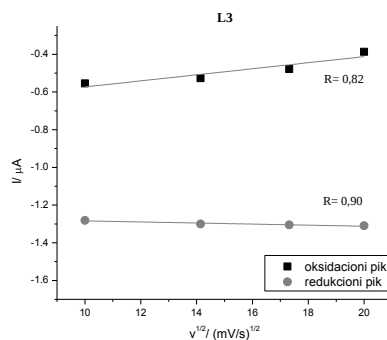
u kojoj numerički koeficijent ima datu vrednost na $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ukoliko se struja pika (I_p) izražava u amperima, površina elektrode (A) u cm^2 , difuzioni koeficijent (D) u cm^2/s , brzina polarizacije (v) u V/s , koncentracija oksidovanog oblika (C_o) u mol/cm^3 , a n predstavlja broj elektrona koji se razmenjuju u oksido-redukcionom procesu.

Linearna zavisnost jačine struje od kvadratnog korena brzine polarizacije za ligand **L3** je prikazana na Slici 27b i pokazuje da je proces difuziono kontrolisan u datom opsegu brzina polarizacije [112, 113].

a)



b)

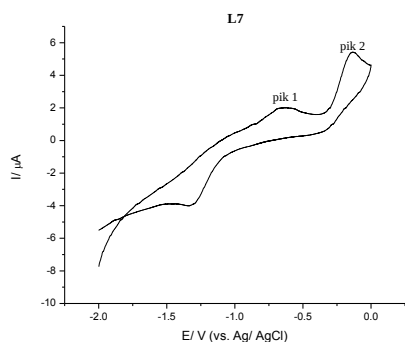


Slika 27. a) Ciklični voltamogrami $0,1\text{ mmol}/\text{dm}^3$ rastvora liganda **L3** u DMSO-u pri različitim vrednostima brzina polarizacije (100, 200, 300 i 400 mV/s); b) zavisnost jačine struje oksidacionog i redukcionog pika od kvadratnog korena brzine snimanja.

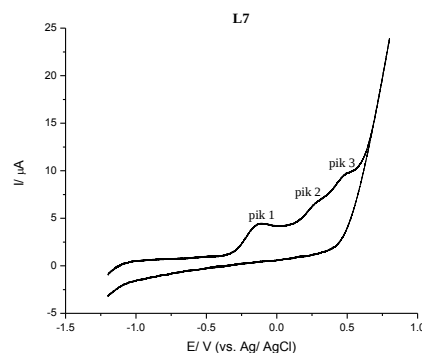
Imajući u vidu velike razlike u strukturi između liganada edda tipa i tiofenolat-oksazolinskog liganda, elektrohemijsko ponašanje liganda **L7**, Li(Ph-oz) se očekivano znatno razlikuje od prethodnih (Slika 28a). Anodni pikovi se javljaju na $-0,64\text{ V}$ i $-0,13\text{ V}$, a s obzirom na literaturne podatke u vezi s ovom klasom jedinjenja, najverovatnije potiču od ireverzibilne oksidacije tiolatnog prstena do odgovarajućeg disulfida [127]. Dodatno je primećeno da se u pozitivnoj oblasti elektrodnih potencijala ($-1,2 < E < 1,0$

V, Slika 28b) pojavljuju jasno formirani pikovi oksidacije ($E = -0,13$ V za pik 1, $E = 0,27$ V za pik 2 i $E = 0,50$ V za pik 3) koja je ireverzibilnog karaktera.

a)



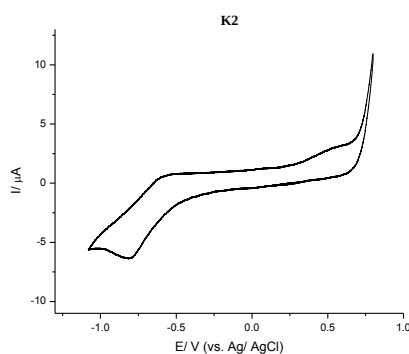
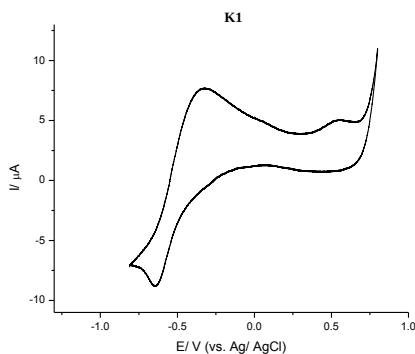
b)

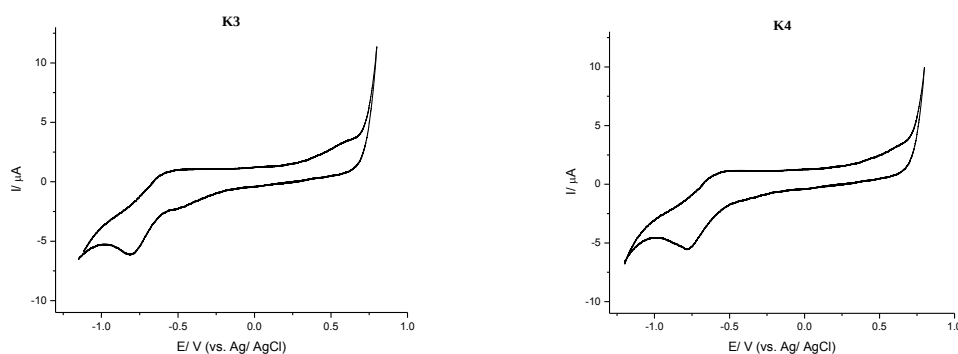


Slika 28. Ciklični voltamogrami $0,1 \text{ mmol/dm}^3$ rastvora liganda **L7** u DMSO-u u oblasti potencijala: a) $-2 < E < 0$ V; b) $-1,2 < E < 1,0$ V; brzina polarizacije 100 mV/s .

4.5.2. Oksido-redukciona svojstva kompleksa Pt(IV) i Pt(II)

Ciklični voltamogrami Pt(IV) kompleksa, **K1-4**, predstavljeni na Slici 29 snimljeni su u užem intervalu elektrodnih potencijala ($-1,2 < E < 0,8$ V) u odnosu na odgovarajuće ligande s obzirom da je u ovom slučaju od interesa praćenje redukcije metalnog jona koji se u kompleksnim jedinjenjima nalazi u višem oksidacionom stanju. I-E krive ukazuju na dvoelektronski proces praćen gubitkom dva hlorido liganda u aksijalnom položaju i ireverzibilni redukcionni korak.



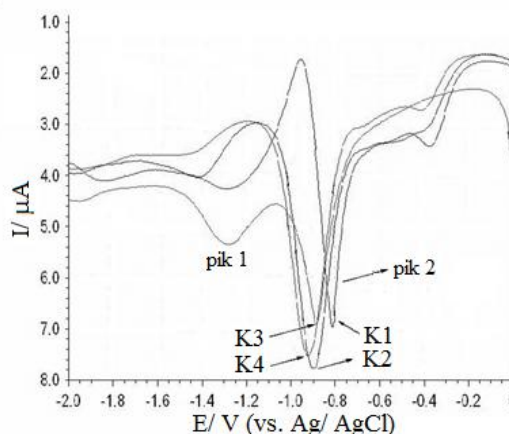


Slika 29. Ciklični voltamogrami 0,1 mmol/dm³ rastvora kompleksa **K1-4** u DMSO-u u oblasti potencijala: $-1,2 < E < 0,8$ V; brzina polarizacije 100 mV/s; pomoćni elektrolit LiClO₄.

U cilju preciznijeg određivanja elektrodnih potencijala Pt(IV) kompleksa snimljeni su i DP voltamogrami koji su potvrdili mehanizam dvoelektronske redukcije u vidu dva pika obeleženih na Slici 30. Svaki pik predstavlja transfer jednog elektrona. U tom smislu, prvi pik slabog intenziteta, predstavlja prelazno (nestabilno) stanje i obuhvata Pt(IV)→Pt(III) redukciju. Ovaj proces je praćen drugim, znatno izraženijim pikom koji podrazumeva Pt(III)→Pt(II) redukciju odnosno transfer elektrona od interesa. S obzirom da se u fiziološkim uslovima očekuje redukcija do Pt(II), u Tabeli 13 su predstavljene samo vrednosti elektrodnih potencijala za drugi redukcionni korak.

Tabela 13. Vrednosti elektrodnih potencijala za komplekse **K1-4**.

Jedinjenje	R-supstituent	E/ mV
K1	Me-	-816
K2	Et-	-900
K3	<i>n</i> -Pr	-884
K4	<i>n</i> -Bu	-924



Slika 30. DP voltamogrami 0,1 mmol/dm³ rastvora kompleksa **K1-4** u DMSO-u; pomoćni elektrolit LiClO₄.

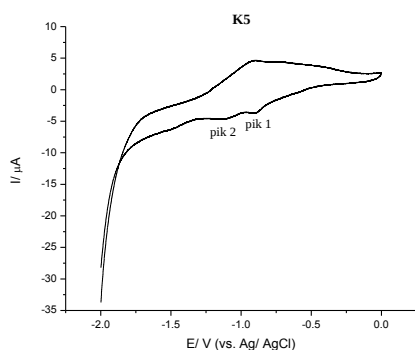
Na osnovu DP voltamograma su određene vrednosti elektrodnih potencijala koje se kreću u intervalu $-924 \text{ mV} < E < -816 \text{ mV}$. Niske vrednosti E ukazuju na tešku redukciju ovih jedinjenja (Tabela 13). Objašnjenje za ovakvo ponašanje proizilazi iz činjenice da je metalni centar sterno zaklonjen metilenskim mostom između dva atoma azota što za posledicu ima sporiju redukciju. Vrednosti elektrodnih potencijala se pomeraju ka negativnijim s porastom dužine alkil lanca, tj. od metil, preko etil do *n*-butil grupe s obzirom da su difuzione promene inicirane upravo strukturnom izmenom alkil dela. Sem toga, zapaženo je da razlike između prvog i drugog redukcionog koraka ostaju približno konstantne ($\sim 0,4 \text{ mV}$).

Pored utvrđivanja mehanizma redukcije sintetisanih kompleksnih jedinjenja, od značaja je i upoređivanje dobijenih rezultata sa elektrohemijskim podacima strukturno sličnih jedinjenja. Nedavno je opisano i elektrohemijsko ponašanje Pt(IV) kompleksa sa alkil estrima (*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline u kojima su atomi azota povezani etilendiaminskim lancem bez prisustva metilenskog mosta čineći metalni centar dostupnijm odgovarajućoj elektrodi [125]. Pomenuta strukturna razlika uticala je na brzinu redukcije i pomeranje oblasti elektrodnih potencijala ka nižim vrednostima pri istim eksperimentalnim uslovima ($-798 \text{ mV} < E < -701 \text{ mV}$ vs. Ag/AgCl). Značajno je pomenuti da su i ova jedinjenja takođe ukazala na tipičan mehanizam dvoelektronske redukcije Pt(IV) kompleksa koji između ostalog zavisi od prirode i razgranatosti alkil dela ligan(a)da. Uporedive vrednosti elektrodnih potencijala pokazali su i Pt(IV) kompleksi sa $R_2\text{eddp}$ tipom liganada ($R = \text{Et}, n\text{-Pr}$) [126]. Tako je kompleks sa kraćim alkil delom pokazao znatno niži elektrodni potencijal (-705 mV vs. Ag/AgCl) u odnosu na kompleks sa *n*-Pr supstituentom (-846 mV vs. Ag/AgCl). Na osnovu rezultata dobijenih u radu i podataka iz literature nedvosmisleno je ukazano na redukcionu mehanizam Pt(IV) kompleksa sa edda ili eddp ligandima i zavisnost elektrodnog potencijala od alkil dela estarskog lanca.

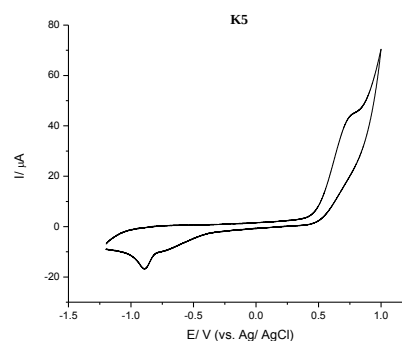
Elektrohemijsko ponašanje kompleksa $[\text{Pt}(\text{S-Phoz})_2]$, **K5** je ispitano u širokom opsegu elektrodnih potencijala ($-2 \text{ V} < E < 0$ i $-1,5 < E < 1,0 \text{ V}$) i prikazano na Slici 31. Ciklični voltamogrami ukazuju na oksidaciju ireverzibilnog karaktera koja verovatno potiče od oksidacije tiolatnog liganda praćenu formiranjem odgovarajućeg disulfida [127]. Prvi i drugi anodni pikovi, uočeni na $-0,90 \text{ V}$ i $-0,71 \text{ V}$ respektivno, su slabije definisani i приметно razvučeni u odnosu na katodne pikove ($-0,90 \text{ V}$ i $-1,12 \text{ V}$,

Slika 31a). Niske vrednosti elektrodnih potencijala su karakteristične za redoks hemiju kompleksa prelaznih metala sa *N* donorskim ligandima [128, 129]. Snimljeni voltamogrami u oblasti pozitivnijih potencijala ($-1,2 < E < 1,0$ V, Slika 31b) ukazuju na formiranje dodatnog pika koji potiče od ireverzibilne oksidacije tiofenolatnog dela molekula. Ovaj signal je pomeren ka pozitivnijim vrednostima elektrodnih potencijala (0,76 V) u odnosu na odgovarajući pik liganda **L7** (0,50 V) što je u skladu s pretpostavkom da se u izmenjenom okruženju tj. koordinovanom obliku teže oksiduje. Ispitivanjem elektrohemijskog ponašanja kompleksa $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$, **K6** dobijeni su vrlo slični rezultati te se ciklovoltamogram ovog jedinjenja nalazi u Prilogu.

a)



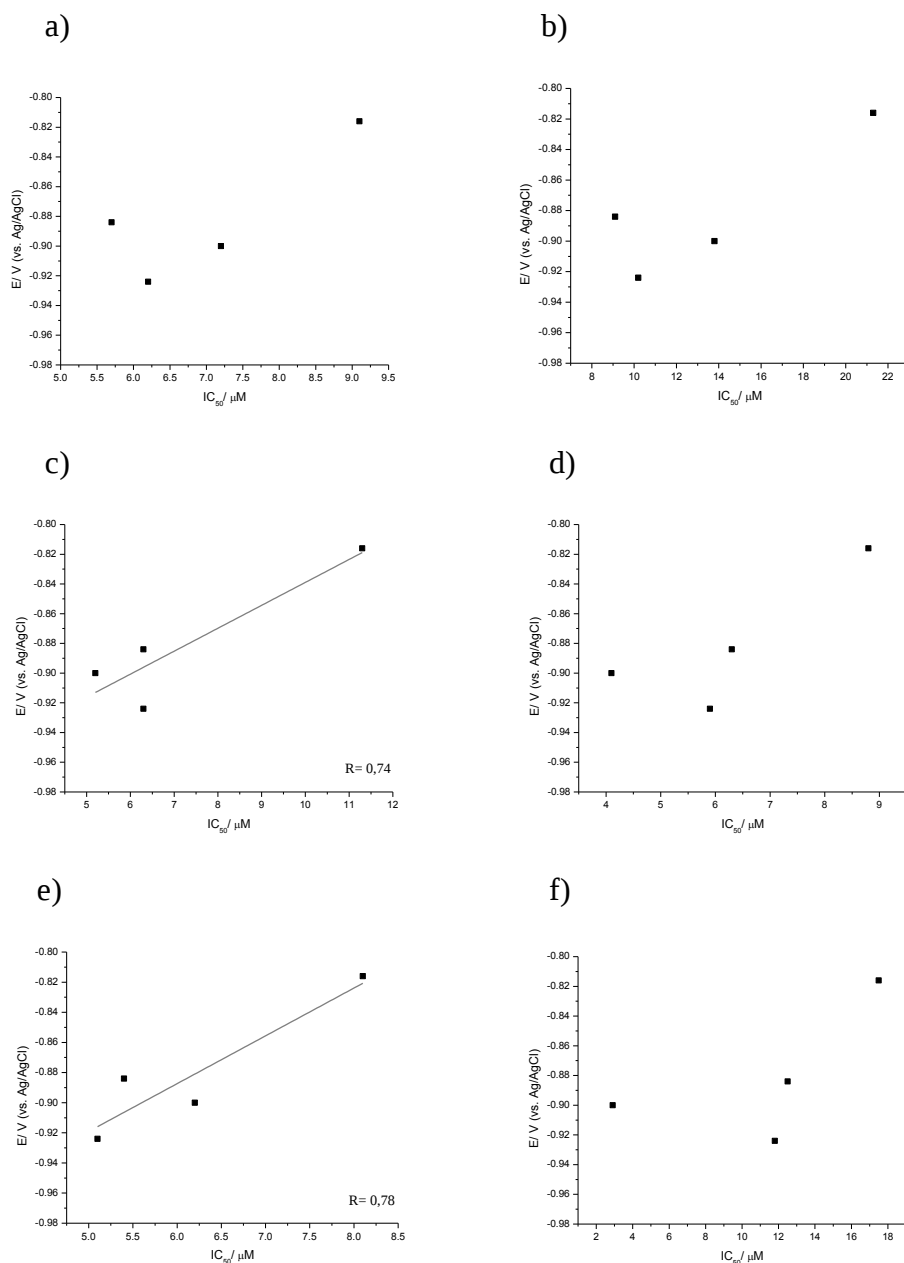
b)



Slika 31. Ciklični voltamogrami 0,1 mmol/dm³ rastvora kompleksa **K5** u DMSO-u u oblasti potencijala: a) $-2 < E < 0$ V; b) $-1,2 < E < 1,0$ V; brzina polarizacije 100 mV/s; pomoćni elektrolit LiClO₄.

4.5.3. Određivanje korelacije elektrodni potencijal-citotoksičnost

Dodatno je ispitana potencijalna veza između elektrohemijskog ponašanja i biološke aktivnosti Pt(IV) kompleksa, **K1-4** na osnovu određenih *E* i IC₅₀ vrednosti na različitim ćelijskim linijama (A375, B16, CT26CL25, HCT116, PC3 i U251).



* linearizovanje je urađeno samo u slučajevima gde je $R > 0,7$

Slika 32. Korelacija E- IC_{50} vrednosti Pt(IV) kompleksa, **K1-4**, dobijenih za a) A375; b) B16; c) CT26CL25; d) HCT116; e) PC3; f) U251.

Na osnovu dijagrama sa Slike 32, uočljivo je da jasna korelacija između IC_{50} i E vrednosti u većini slučajeva nije postignuta, ali da je za ćelijske linije CT26CL25 i PC3 pokazala najbolje rezultate koji su u saglasnosti sa sličnim podacima iz literature vezane za Pt(IV) komplekse sa aminskim tipom liganada [83]. Međutim, ovaj pristup nudi mogućnost odabira najpogodnijeg jedinjenja za dalja ispitivanja i pored nemogućnosti

direktnog, linearnog povezivanja IC_{50} i E vrednosti. Naime, ispitivanja citoksičnosti izdvajaju **K3** i **K4** kao najaktivnije komplekse (Tabela 12) dok vrednosti elektrodnih potencijala pokazuju da se lakše/ brže redukuje **K3**. Stoga je za optimalni izbor kandidata od interesa za dalja istraživanja, najbolje izabrati jedinjenje koje se, s jedne strane relativno lako redukuje, a s druge strane pokazuje dovoljno snažno citotoksično dejstvo (u ovom slučaju **K3**).

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu je opisana sinteza i karakterizacija novih liganada, derivata *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, njihovih odgovarajućih kompleksa platine(IV) kao i kompleksa platine(II) sa tiofenolat-oksazolinским ligandom. Novosintetisani ligandi su okarakterisana standardnim metodama karakterizacije: infracrvenom spektroskopijom, masenom spektrometrijom i NMR spektroskopijom (1D-¹H i ¹³C; 2D-COSY, HSQC, HMBC tehnikama) dok je sastav svih jedinjenja potvrđen elementalnom analizom. Kompleksi platine(IV) su pored pomenutih metoda, okarakterisani i elektronsko-apsorpcionom spektroskopijom i ¹⁹⁵Pt NMR spektroskopijom (za jedan platina(IV) kompleks). Molekulska i kristalna struktura kompleksa platine(II), [Pt(S-Phoz)₂] i [Pt(η²S-Phoz)(η¹S-Phoz)(PPh₃)], je određena na osnovu rendgenske strukturne analize.

Karakterizacijom sintetisanih jedinjenja zaključeno je da:

- sastav jedinjenja odgovara prvobitno pretpostavljenoj molekulskoj formuli
- detektovani signali u karakterističnim oblastima hemijskih pomeranja NMR spektara nedvosmisleno potvrđuju strukture liganada i kompleksnih jedinjenja. U slučaju liganda, dietil estra *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, urađena je kompletna asignacija svih protona na osnovu ugljenik-vodonik korelacije dobijene pomoću 2D NMR spektara. Za kompleksno jedinjenje platine(IV) sa ovim ligandom, snimljen je ¹⁹⁵Pt NMR spektar koji je karakterističnim signalom potvrdio prisustvo metalnog jona
- molekularni ili fragmentni joni detektovani u masenim spektrima dodatno ukazuju na pretpostavljene strukture novosintetisanih jedinjenja
- najintenzivnije trake u IC spektrima odgovaraju vibracijama karakterističnim za obe klase proučavanih jedinjenja
- apsorpcioni maksimumi u elektronskim spektrima kompleksnih jedinjenja platine(IV) potiču od odgovarajućih *d-d* prelaza
- rendgenska strukturna analiza kompleksa platine(II), [Pt(S-Phoz)₂], potvrdila je delimično deformisanu kvadratno-planarnu geometriju uz *S,S-trans* raspored

liganada oko metala. U kompleksu $[\text{Pt}(\eta^2\text{S-Phoz})(\eta^1\text{S-Phoz})(\text{PPh}_3)]$ je jedan ligand bidentatno koordinovan za metal dok je drugi vezan samo preko atoma sumpora, odnosno monodentatno. Za metal je dodatno koordinovan PPh_3 i to u *trans* položaju u odnosu na *N* donorski atom liganda.

Ispitivanja citotoksične aktivnosti dialkil estara *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline i odgovarajućih Pt(IV) kompleksa na različitim ćelijskim linijama potvrdila su snažan antitumorski efekat koji je u pojedinim slučajevima znatno bolji od efekta cisplatine. Sem toga, dodatno je utvrđeno da ispitivana jedinjenja indukuju apoptozu praćenu aktivacijom kaspaze što predstavlja osnovnu prednost ove klase u poređenju sa strukturno sličnim molekulima. IC_{50} vrednosti dobijene na osnovu ovih ispitivanja citotoksičnosti su upotrebljene za određivanje potencijalne korelacije struktura-aktivnost.

U nastavku rada objašnjena su oksido-redukciona svojstva sintetisanih jedinjenja u skladu s voltamogramima dobijenim metodama ciklične i diferencijalne pulsne voltametrije. Kompleksi Pt(IV) sa dialkil estrima *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline su očekivano ukazali na dvoelektronsku redukciju metalnog centra praćenu gubitkom dva hlorido liganda u aksijalnom položaju. Na osnovu snimljenih voltamograma, određene su vrednosti elektrodnih potencijala koje se kreću u intervalu $-924 \text{ mV} < E < -816 \text{ mV}$ vs. Ag/AgCl . Dobijeni elektrohemijski podaci su u ovom slučaju korišćeni za uspostavljanje potencijalne korelacije između redoks potencijala i citotoksičnosti. Na ovaj način je postignuta zadovoljavajuća $E\text{-IC}_{50}$ korelacija za dve ćelijske linije (CT26CL25 i PC3). Rezultati bioloških i elektrohemijskih ispitivanja su ukazali da je kompleksno jedinjenje *N,N'*-metilen-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)-dipropilpropanoat-tetrahloridoplatina(IV) najbolji kandidat za dalja ispitivanja s obzirom da se s jedne strane relativno lako redukuje dok sa druge strane pokazuje jako citotoksično dejstvo. Nasuprot kompleksima Pt(IV), kompleksi Pt(II) sa tiofenolat-oksazolinskim ligandom se nisu redukovali u datim eksperimentalnim uslovima, a snimljeni voltamogrami su u širokom opsegu elektrodnih potencijala ukazali su na ireverzibilnu elektrohemijsku reakciju nezavisnu od brzine snimanja.

6. LITERATURA

- [1] J. A. McCleverty, T. J. Meyer, Comprehensive Coordination Chemistry: From biology to nanotechnology. II, Volume 2, Elsevier, 2004.
- [2] M. L. Crawley, B. M. Trost, Applications of Transition Metal Catalysis in Drug Discovery and Development, John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, 2012.
- [3] A. Chen, P. Holt-Hindle, Chem. Rev. **110** (2010) 3767.
- [4] Platinum Metals Rev. **48** (2004) 101.
- [5] C. G. Hartinger, N. Metzler-Nolte, P. J. Dyson, Organometallics **31** (2012) 5677.
- [6] H. M. Pinedo, J. H. Schornagel, Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2, Plenum Press, New York, 1996.
- [7] A. Bergamo, G. Sava, Dalton Trans. **40** (2011) 7817.
- [8] S. J. Lippard, J. M. Berg, Principles of Bioinorganic Chemistry, University Science Books: Mill Valley, CA 1994.
- [9] I. Kostova, Recent Pat. Anticancer Drug Discov. **1** (2006) 1.
- [10] N. N. Greenwood, A. Earnshaw, Chemistry of the Elements, 2nd Edition, Elsevier, Oxford, UK, 1997 str. 1144.
- [11] L. B. Hunt, Platinum Metals Rev. **24** (1980) 31.
- [12] L. R. Kelland, N. P. Farrell, Platinum-Based Drugs in Cancer Therapy, Humana Press, New Jersey, 2000.
- [13] M. D. Hall, H. R. Mellor, R. Callaghan, T. W. Hambley, J. Med. Chem. **50** (2007) 3403.
- [14] W. E. Butler, doktorska disertacija: Synthesis, Characterisation and Biological Evaluation of *N*-Ferrocenylmethyl Amino Acid Benzene Carboxamide Derivatives and *N*-Ferrocenyl Benzoyl Amino Alkane Derivatives as Anti- Cancer Agents (2012) str. 19.
- [15] E. P. Swindell, P. L. Hankins, H. Chen, Đ. U. Miodragović, T. V. O' Halloran, Inorg. Chem. **52** (2013) 12292.
- [16] G. B. Koelle, A. Gilman, J. Pharmacol. **87** (1946) 421.
- [17] P. Saha, C. Debnath, G. Bérubé, J. Steroid Biochem. **137** (2013) 271.

- [18] A. I. Koutsourea, M. A. Fousteris, E. S. Arsenou, A. Papageorgiou, G. N. Pairasa, S. S. Nikolaropoulos, *Bioorg. Med. Chem.* **16** (2008) 5207.
- [19] B. Rosenberg, L. van Camp, T. Krigas, *Nature* **205** (1965) 698.
- [20] B. Rosenberg, L. van Camp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **222** (1969) 385.
- [21] M. Peyrone, *Ann. Chem. Pharm.* **51** (1844) 1.
- [22] B. Lippert, in: B. Lippert (Ed.), *Cisplatin Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, Wiley-VCH, Weinheim, 1999, str. 29.
- [23] D. Shen, L. M. Pouliot, M. D. Hall, M. M. Gottesman, *Pharmacol. Rev.* **64** (2012) 706.
- [24] A. Casini, J. Reedijk, *Chem. Sci.* **3** (2012) 3135.
- [25] T. Gianferrara, I. Bratsos, E. Alessio, *Dalton Trans.* (2009) 7588.
- [26] W. Ang, M. Myint, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 7429.
- [27] R. C. Todd, S. J. Lippard, *J. Inorg. Biochem.* **104** (2010) 902.
- [28] H. Liu, P. J. Sadler, *Accounts Chem. Res.* **44** (2011) 349.
- [29] P. D. Sánchez-González, F. J. López-Hernández, J.M. López-Novoa, A. I. Morales, *Crit. Rev. in Toxicol.* **41** (2011) 803.
- [30] R. Y. Tsang, T. Al-Fayea, H. Au, *Drug Safety* **32** (2009) 1109.
- [31] B. Köberle, M. T. Tomicic, S. Usanova, B. Kaina, *BBA-Rev. Cancer* **1806** (2010) 172.
- [32] M. R. Reithofer, A. K. Bytze, S. M. Valiahdi, C. R. Kowol, M. Groessl, C. G. Hartinger, M. A. Jakupiec, M. Galanski, B. K. Keppler, *J. Inorg. Biochem.* **105** (2011) 46.
- [33] M. D. Hall, R. C. Dolman, T. W. Hambley, *Met. Ions Biol. Sys.* **42** (2004) 297.
- [34] A. J. Di Pasqua, J. Goodisman, J. C. Dabrowiak, *Inorg. Chim. Acta* **389** (2012) 29.
- [35] F. Montagnani, G. Turrise, C. Marinozzi, C. Aliberti, G. Fiorentini, *Gastric Cancer* **14** (2011) 50.
- [36] M. Shimada, H. Itamochi, J. Kigawa, *Cancer Manag. Res.* **5** (2013) 67.
- [37] Z. Wang, X. Tang, Y. Zhang, R. Qi, Z. Li, K. Zhang, Z. Liu, X. Yang, *Biomed. Pharmacother.* **66** (2012) 161.
- [38] W. Liu, X. Chen, Q. Ye, Y. Xu, C. Xie, M. Xie, Q. Chang, L. Lou, *Inorg. Chem.* **50** (2011) 5324.

- [39] J. J. Wilson, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **114** (2014) 4470.
- [40] E. A. Pedrick, N. E. Leadbeater, *Inorg. Chem. Commun.* **14** (2011) 481.
- [41] G. B. Kauffman, L.A. Teter, *Inorg. Synth.* **7** (1963) 241.
- [42] G. B. Kauffman, L.A. Teter, *Inorg. Synth.* **7** (1963) 240.
- [43] N. J. Wheate, S. Walker, G. E. Craig, R. Oun, *Dalton Trans.* **39** (2010) 8113.
- [44] M. Drees, W. M. Dengler, H. R. Hendriks, L. R. Kelland, H.H. Fiebig, *Eur. J. Cancer* **31** (1995) 356.
- [45] R. J. Mishur, C. Zheng, T. M. Gilbert, R. N. Bose, *Inorg. Chem.* **47** (2008) 7972.
- [46] N. Margiotta, R. Ranaldo, F. P. Intini, G. Natile, *Dalton Trans.* **40** (2011) 12877.
- [47] P. Gramatica, E. Papa, M. Luini, E. Monti, M. B. Gariboldi, M. Ravera, E. Gabano, L. Gaviglio, D. Osella, *J. Biol. Inorg. Chem.* **15** (2010) 1157.
- [48] J. A. Platts, G. Ermondi, G. Caron, M. Ravera, E. Gabano, L. Gaviglio, G. Pelosi, D. Osella, *J. Biol. Inorg. Chem.* **16** (2011) 361.
- [49] J. Yang, X. Sun, W. Mao, M. Sui, J. Tang, Y. Shen, *Mol. Pharmaceutics* **9** (2012) 2793.
- [50] J. Z. Zhang, P. Bonnitche, E. Wexselblatt, A. V. Klein, Y. Najajreh, D. Gibson, T. W. Hambley, *Chem. Eur. J.* **19** (2013) 1672.
- [51] H. J. Kim, K. M. Kim, R. Song, Y. S. Sohn, *Inorg. Chim. Acta* **358** (2005) 415.
- [52] C. F. J. Barnard, J. F. Vollano, P. A. Chaloner, S. Z. Dewa, *Inorg. Chem.* **35** (1996) 3280.
- [53] R. M. Orr, C. F. O'Neill, M. C. Nicolson, C. F. J. Barnard, B. A. Murrer, C. M. Giandomenico, J. F. Vollano, K.R. Harrap, *Brit. J. Cancer* **70** (1994) 415.
- [54] K. S. Lovejoy, S. J. Lippard, *Dalton Trans.* (2009) 10651.
- [55] I. V. Tetko, I. Jaroszewicz, J. A. Platts, J. Kuduk-Jaworska, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 1424.
- [56] J. J. Wilson, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **50** (2011) 3103.
- [57] S. Mukhopadhyay, C. M. Barnés, A. Haskel, S. M. Short, K. R. Barnes, S. J. Lippard, *Bioconjugate Chem.* **19** (2008) 39.
- [58] W. H. Ang, I. Khalaila, C. S. Allardyce, L. Juillerat-Jeanneret, P. J. Dyson, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 1382.
- [59] E. Alessio, I. Zanellato, I. Bonarrigo, E. Gabano, M. Ravera, D. Osella, *J. Inorg. Biochem.* **129** (2013) 52.

- [60] G. N. Kaludjerović, D. Miljković, M. Momcilović, V. M. Djinović, Marija Mostarica Stojković, T. J. Sabo, Vladimir Trajković, *Int. J. Cancer* **116** (2005) 479.
- [61] G. N. Kaluđerović, H. Schmidt, D. Steinborn, T. J. Sabo, in *Inorganic Biochemistry: Research Progress*, Nova Science Publishers, Inc. New York (2008) 305.
- [62] T. J. Sabo, S. R. Grgurić-Šipka, S. R. Trifunović, *Syn. React. Inorg. Met.* **32** (2002) 1661.
- [63] J. M. Lazić, L. J. Vučićević, S. Grgurić-Šipka, K. Janjetović, G. N. Kaluđerović, M. Misirlić, M. Gruden-Pavlović, D. Popadić, R. Paschke, V. Trajković, T. Sabo, *ChemMedChem* **5** (2010) 881–889.
- [64] Lj. E. Mihajlović, A. Savić, J. Poljarević, I. Vučković, M. Mojić, M. Bulatović, D. Maksimović-Ivanić, S. Mijatović, S. Stošić-Grujičić, Đ. Miljković, S. Grgurić-Šipka, T. J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.* **109** (2012) 40.
- [65] A. Savić, S. Misirlic-Dencic, M. Dulovic, Lj. E. Mihajlović, M. Jovanovic, S. Grgurić-Šipka, I. Markovic, T. J. Sabo, *Bioorg. Chem.* **54** (2014) 73.
- [66] Lj. E. Mihajlović-Lalić, A. Savić, G. Brađan, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, *J. Serb. Chem. Soc.* doi:10.2298/JSC140212042M.
- [67] F. C. Bersworth, *British Patent* **723** (1955) 316.
- [68] D. B. Haydock, T. P. C. Mulholland, *J. Chem. Soc. C* (1971) 2389.
- [69] A. Savić, M. Dulović, J. M. Poljarević, S. Misirlić-Denčić, M. Jovanović, A. Bogdanović, V. Trajković, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, I. Marković, *ChemMedChem* **6** (2011) 1.
- [70] N. Pantelić, B. B. Zmejkovski, J. Trifunović-Macedoljan, A. Savić, D. Stanković, A. Damjanović, Z. Juranić, G. N. Kaluđerović, T. J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.* **128** (2013) 146.
- [71] M. Mojić, A. Savić, V.B. Arion, M. Bulatović, J. M. Poljarević, Dj. Miljković, T. J. Sabo, S. Mijatović, D. Maksimović-Ivanić, S. Grgurić-Šipka, *J. Organomet. Chem.* **749** (2014) 142.
- [72] B. B. Zmejkovski, A. Savić, J. Poljarević, N. Pantelić, S. Arandelović, S. Radulović, S. Grgurić-Šipka, G. N. Kaluđerović, T. J. Sabo, *Polyhedron* **80** (2014) 106.

- [73] A. Savić, L. Filipović, S. Arandelović, B. Dojčinović, S. Radulović, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, *Eur. J. Med. Chem.* **82** (2014) 372.
- [74] S. Hochreuther, R. Puchta, R. Eldik, *Inorg. Chem.* **50** (2011) 12747.
- [75] S. C. F. Kui, P. K. Chow, G. Cheng, C. Kwok, C. L. Kwong, K. Low, Chi-Ming Che, *Chem. Commun.* **49** (2013) 1497.
- [76] J. García-Antón, J. Pons, X. Solans, M. Font-Bardia, J. Ros, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2992.
- [77] G. Bogdanović, V. Kojić, T. Srdić, D. Jakimov, M. I. Djuran, Ž. D. Bugarčić, M. Baltić, V. V. Baltić, *Metal-Based Drugs* **9** (2002) 33.
- [78] M. I. Djuran, S. U. Milinkovic, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *J. Inorg. Biochem.* **88** (2002) 268.
- [79] S. Mandal, A. Castiñeiras, T. K. Mondal, A. Mondal, D. Chattopadhyay, S. Goswami, *Dalton Trans.* **39** (2010) 9514.
- [80] B. Pitteri, M. Bortoluzzi, G. Marangoni, *Trans. Met. Chem.* **30** (2005) 1008.
- [81] Ž. D. Bugarčić, T. Soldatović, R. Jelić, B. Algueró, A. Grandas, *Dalton Trans.* **22** (2004) 3869.
- [82] G. Annibale, M. Brandolisio, B. Pitteri, *Polyhedron* **14** (1995) 451.
- [83] R. C. Jones, B. W. Skelton, V. Tolhurst, A. H. White, A. J. Wilson, A. J. Canty, *Polyhedron* **26** (2007) 708.
- [84] Y. Qu, N. Farrell, *J. Am. Chem. Soc.* **113** (1991) 4851.
- [85] J. Reedijk, *Chem. Commun.* (1996) 801.
- [86] H. Sigel (Ed.), *Metal Ions in Biological Systems*, Marcel Dekker, Basel and New York **11** (1980) 427.
- [87] M. D. Hall, T. W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.* **232** (2002) 49.
- [88] E. Reisner, V. B. Arion, B. K. Keppler, A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chim. Acta* **361** (2008) 1569.
- [89] E. Wexselblatt, D. Gibson, *J. Inorg. Biochem.* **117** (2012) 220.
- [90] Y. Song, K. Suntharalingam, J. S. Yeung, M. Royzen, S. J. Lippard, *Bioconjugate Chem.* **24** (2013) 1733.
- [91] R. M. Roat, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.* **52** (1993) 263.
- [92] L. T. Ellis, H. M. Er, T. W. Hambley, *Aust. J. Chem.* **48** (1995) 793.

- [93] E. G. Talman, W. Brüning, J. Reedijk, A. L. Spek, N. Veldman, *Inorg. Chem.* **36** (1997) 854.
- [94] E. Reisner, V. B. Arion, M. F. C. Guedes da Silva, R. Lichtenecker, A. Eichinger, B. K. Keppler, V.Yu. Kukushkin, A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chem.* **43** (2004) 7083.
- [95] E. Reisner, V. B. Arion, A. Eichinger, N. Kandler, G. Giester, A. J. L. Pombeiro, B. K. Keppler, *Inorg. Chem.* **44** (2005) 6704.
- [96] D. Gibson, *Dalton Trans.* (2009) 10681.
- [97] A. Nemirovski, I. Vinograd, K. Takrouri, A. Mijovilovich, A. Rompelc, D. Gibson, *Chem. Commun.* **46** (2010) 1842.
- [98] M. R. Reithofer, A. K. Bytzek, S. M. Valiahdi, C. R. Kowol, M. Groessl, C. G. Hartinger, M. A. Jakupec, M. Galanski, B. K. Keppler, *J. Inorg. Biochem.* **105** (2011) 46.
- [99] E. Wexselblatt, E. Yavin, D. Gibson, *Inorg. Chim. Acta* **393** (2012) 75.
- [100] J. Z. Zhang, E. Wexselblatt, T. W. Hambley, D. Gibson, *Chem. Commun.* **48** (2012) 847.
- [101] A. Bergamo, Gianni Sava, *Dalton Trans.* **40** (2011) 7817.
- [102] T. Gianferrara, I. Bratsos, E. Alessio, *Dalton Trans.* (2009) 7588.
- [103] S. Guo, D. N. Mason, S. A. Turland, E. T. Lawrenz, L. C. Kelly, G. D. Fallon, B. M. Gatehouse, A. M. Bond, G. B. Deacon, A. R. Battle, T. W. Hambley, S. Rainone, L. K. Webster, C. Cullinane, *J. Inorg. Biochem.* **115** (2012) 226.
- [104] H. P. Varbanov, S. M. Valiahdi, C. R. Kowol, M. A. Jakupec, M. Galanski, B. K. Keppler, *Dalton Trans.* **41** (2012) 14404.
- [105] M. V. Babak, S. M. Meier, A. A. Legin, M. S. Adib Razavi, A. Roller, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *Chem. Eur. J.* **19** (2013) 4308.
- [106] Y. Kido, A.R. Khokhar, A.H. Siddik, *Biochem. Pharmacol.* **47** (1994) 1635.
- [107] C. K. J. Chen, J. Z. Zhang, J. B. Aitken, T. W. Hambley, *J. Med. Chem.* **56** (2013) 8757.
- [108] T. W. Hambley, A. R. Battle, G. B. Deacon, E. T. Lawrenz, G. D. Fallon, B. M. Gatehouse, L. K. Webster, S. Rainone, *J. Inorg. Biochem.* **77** (1999) 3.
- [109] S. Choi, C. Filotto, M. Bisanzo, S. Delaney, D. Lagasee, J. L. Whitworth, A. Jusko, C. Li, N. A. Wood, J. Willingham, A. Schwenker, K. Spaulding, *Inorg. Chem.* **37** (1998) 2500.

- [110] K. Reybier, T. H. Y. Nguyen, H. Ibrahim, P. Perio, A. Montrose, P. L. Fabre, F. Nepveu, *Bioelectrochemistry* **88** (2012) 57.
- [111] K. Lubert, K. Kalcherb, *Electroanal.* **22** (2010) 1937.
- [112] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2nd Ed, 2000, Wiley-VCH.
- [113] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2001, John Wiley & Sons, Inc.
- [114] K. Izutsu, *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*, 2002, Wiley-VCH.
- [115] S. Mentus, *Elektrohemija*, II izdanje, 2001, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, 282.
- [116] D. Manojlović, J. Mutić, D. Šegan, *Osnove elektroanalitičke hemije*, II izdanje, 2011, Hemijski fakultet, Beograd, 232.
- [117] L. M. Peschel, J. A. Schachner, C. H. Sala, F. Belaj, N. C. Mösch-Zanetti, Z. *Anorg. Allg. Chem.* **639** (2013) 8.
- [118] G. B. Kauffman, L. A. Teter, *Inorg. Synth.* **7** (1963) 232.
- [119] C. K. Johnson, ORTEP. Report ORNL-3794. Oak Ridge National Laboratory, Tennessee, USA (1965).
- [120] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **A64** (2008) 112.
- [121] R. F. Borch, A. I. Hassid, *J. Org. Chem.* **37** (1972) 1674.
- [122] L. Peschel, C. Holzer, Lj. Mihajlović-Lalić, F. Belaj, N. Mösch-Zanetti: Coordinative Flexibility of a Thiophenolate Oxazoline Ligand in Ni(II), Pd(II) and Pt(II) Complexes, rad u procesu recenzije.
- [123] B. M. Still, P. G. Anil Kumar, J. R. Aldrich-Wright, W. S. Price, *Chem. Soc. Rev.* **36** (2007) 665.
- [124] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, Wiley Interscience, New York, 1986.
- [125] Lj. E. Mihajlović, D. Stanković, J. Poljarević, D. Manojlović, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, *Int. J. Electrochem. Sci.* **8** (2013) 8433.
- [126] G. N. Kaluđerović, H. Kommera, S. Schwieger, A. Paethanom, M. Kunze, H. Schmidt, R. Paschke, D. Steinborn, *Dalton Trans.* (2009) 10720.
- [127] G. J. Colpas, M. Kumar, R. O. Day, M. J. Maroney, *Inorg. Chem.* **29** (1990) 4779.
- [128] H. J. Krueger, R. H. Holm, *Inorg. Chem.* **28** (1989) 1149.

- [129] L. Johansson, O. B. Ryan, C. Romming, M. Tilse, *Organometallics* **17** (1998) 3957.

7. PRILOG

- Slika P1.** ^1H NMR spektar liganda **L1**.
Slika P2. ^{13}C NMR spektar liganda **L1**.
Slika P3. Maseni spektar liganda **L1**.
Slika P4. Infracrveni spektar liganda **L1**.
Slika P5. ^1H NMR spektar liganda **L2**.
Slika P6. ^{13}C NMR spektar liganda **L2**.
Slika P7. DEPT NMR spektar liganda **L2**.
Slika P8. COSY NMR spektar liganda **L2**.
Slika P9. HSQC NMR spektar liganda **L2**.
Slika P10. NOESY NMR spektar liganda **L2**.
Slika P11. Maseni spektar liganda **L2**.
Slika P12. Infracrveni spektar liganda **L2**.
Slika P13. ^1H NMR spektar liganda **L3**.
Slika P14. ^{13}C NMR spektar liganda **L3**.
Slika P15. Maseni spektar liganda **L3**.
Slika P16. Infracrveni spektar liganda **L3**.
Slika P17. ^1H NMR spektar liganda **L4**.
Slika P18. ^{13}C NMR spektar liganda **L4**.
Slika P19. Maseni spektar liganda **L4**.
Slika P20. Infracrveni spektar liganda **L4**.
Slika P21. ^1H NMR spektar liganda **L5**.
Slika P22. ^{13}C NMR spektar liganda **L5**.
Slika P23. HSQC NMR spektar liganda **L5**.
Slika P24. NOESY NMR spektar liganda **L5**.
Slika P25. Maseni spektar liganda **L5**.
Slika P26. Infracrveni spektar liganda **L5**.
Slika P27. ^1H NMR spektar liganda **L6**.
Slika P28. ^{13}C NMR spektar liganda **L6**.
Slika P29. Maseni spektar liganda **L6**.

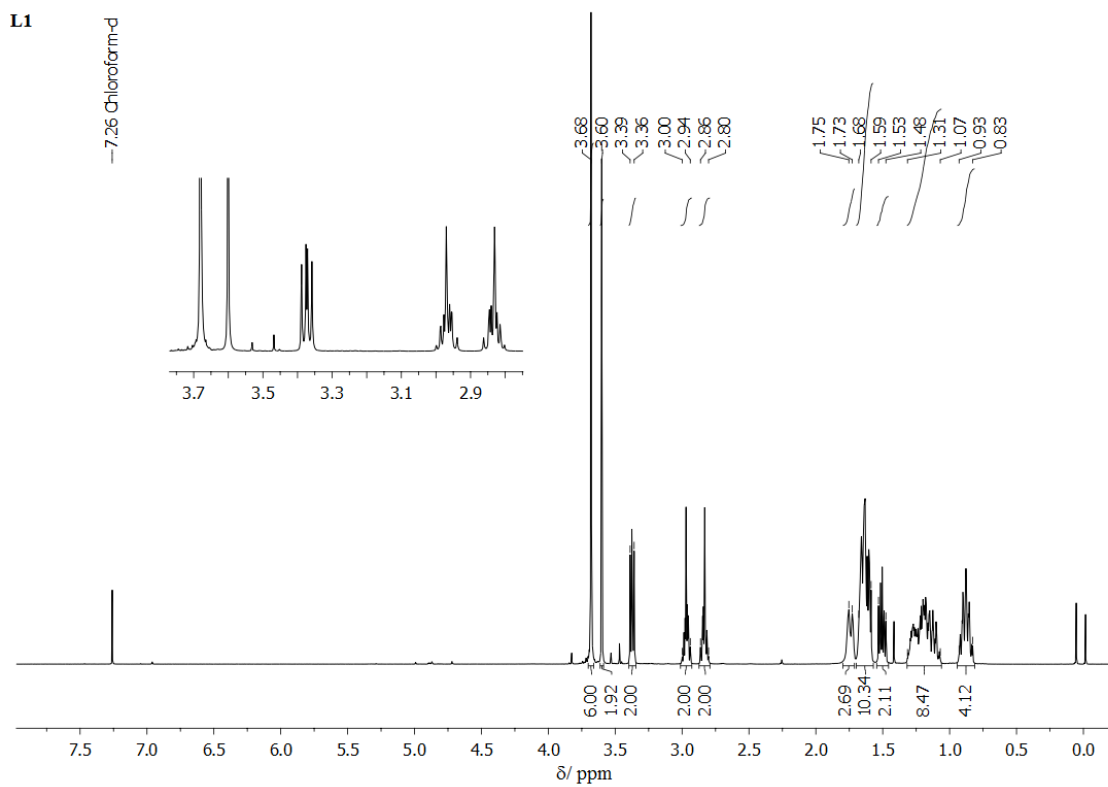
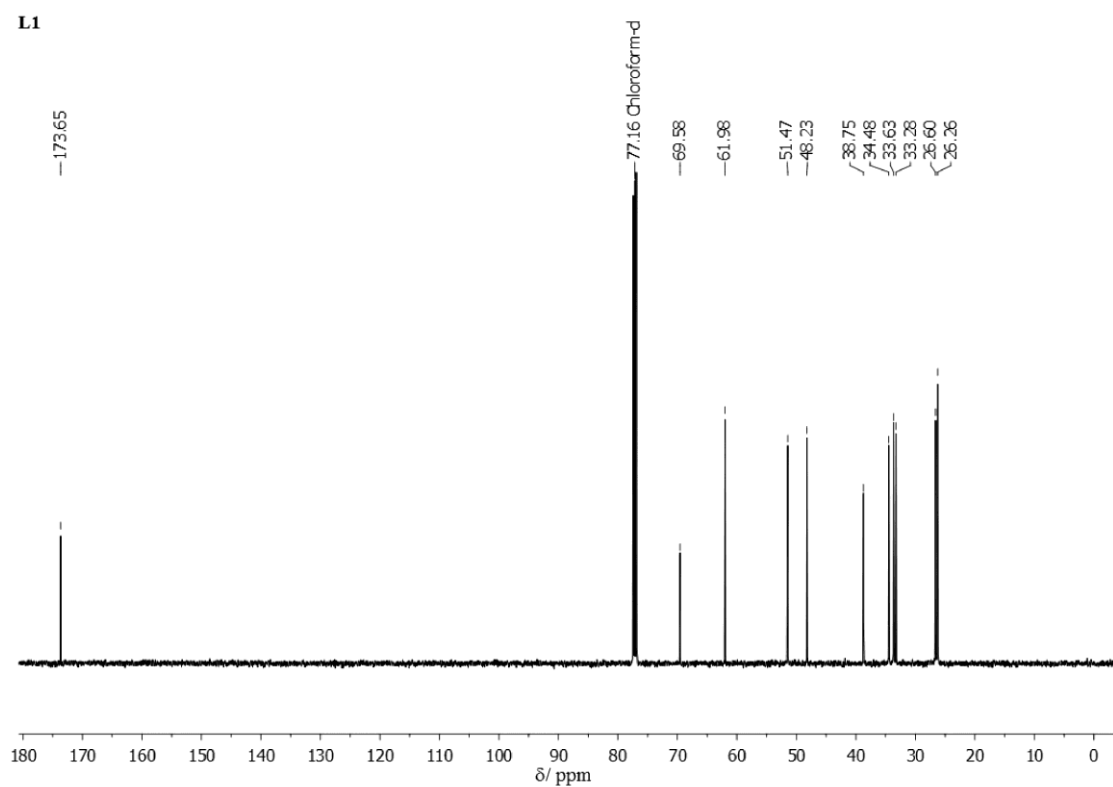
- Slika P30.** Infracrveni spektar liganda **L6**.
- Slika P31.** ^1H NMR spektar liganda **L7**.
- Slika P32.** Infracrveni spektar liganda **L7**.
- Slika P33.** ^1H NMR spektar kompleksa **K1**.
- Slika P34.** ^{13}C NMR spektar kompleksa **K1**.
- Slika P35.** ^{195}Pt NMR spektar kompleksa **K1**.
- Slika P36.** Maseni spektar kompleksa **K1**.
- Slika P37.** Infracrveni spektar kompleksa **K1**.
- Slika P38.** Ultraljubičasti spektar kompleksa **K1**.
- Slika P39.** ^1H NMR spektar kompleksa **K2**.
- Slika P40.** ^{13}C NMR spektar kompleksa **K2**.
- Slika P41.** Maseni spektar kompleksa **K2**.
- Slika P42.** Infracrveni spektar kompleksa **K2**.
- Slika P43.** Ultraljubičasti spektar kompleksa **K2**.
- Slika P44.** ^1H NMR spektar kompleksa **K3**.
- Slika P45.** ^{13}C NMR spektar kompleksa **K3**.
- Slika P46.** Maseni spektar kompleksa **K3**.
- Slika P47.** Infracrveni spektar kompleksa **K3**.
- Slika P48.** Ultraljubičasti spektar kompleksa **K3**.
- Slika P49.** ^1H NMR spektar kompleksa **K4**.
- Slika P50.** ^{13}C NMR spektar kompleksa **K4**.
- Slika P51.** Maseni spektar kompleksa **K4**.
- Slika P52.** Infracrveni spektar kompleksa **K4**.
- Slika P53.** Ultraljubičasti spektar kompleksa **K4**.
- Slika P54.** ^1H NMR spektar kompleksa **K5**.
- Slika P55.** ^{13}C NMR spektar kompleksa **K5**.
- Slika P56.** Maseni spektar kompleksa **K5**.
- Slika P57.** Infracrveni spektar kompleksa **K5**.
- Slika P58.** ^1H NMR spektar kompleksa **K6**.
- Slika P59.** ^{13}C NMR spektar kompleksa **K6**.
- Slika P60.** ^{31}P NMR spektar kompleksa **K6**.
- Slika P61.** Maseni spektar kompleksa **K6**.

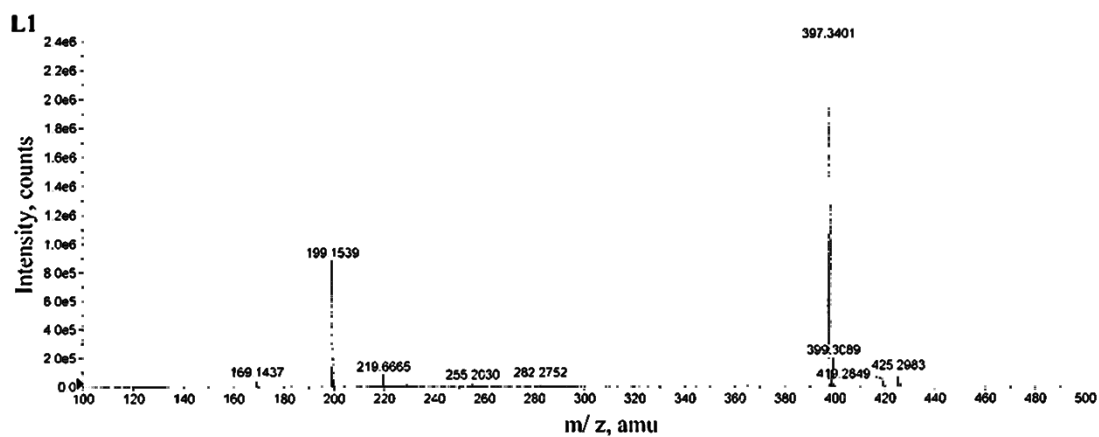
Slika P62. Infracrveni spektar kompleksa **K6**.

Slika P63. Ciklični voltamogram elektrolita LiClO_4 .

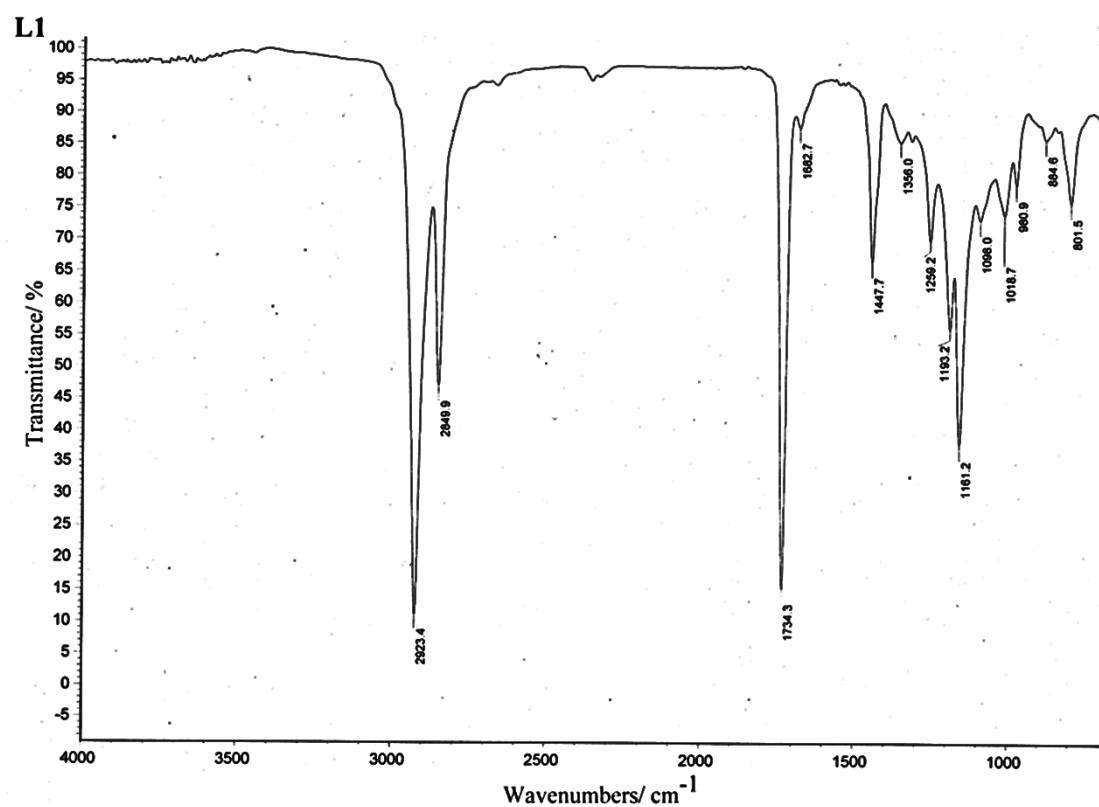
Slika P64. Ciklični voltamogram kompleksa $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$.

Slika P65. Ciklični voltamogram kompleksa **K6**.

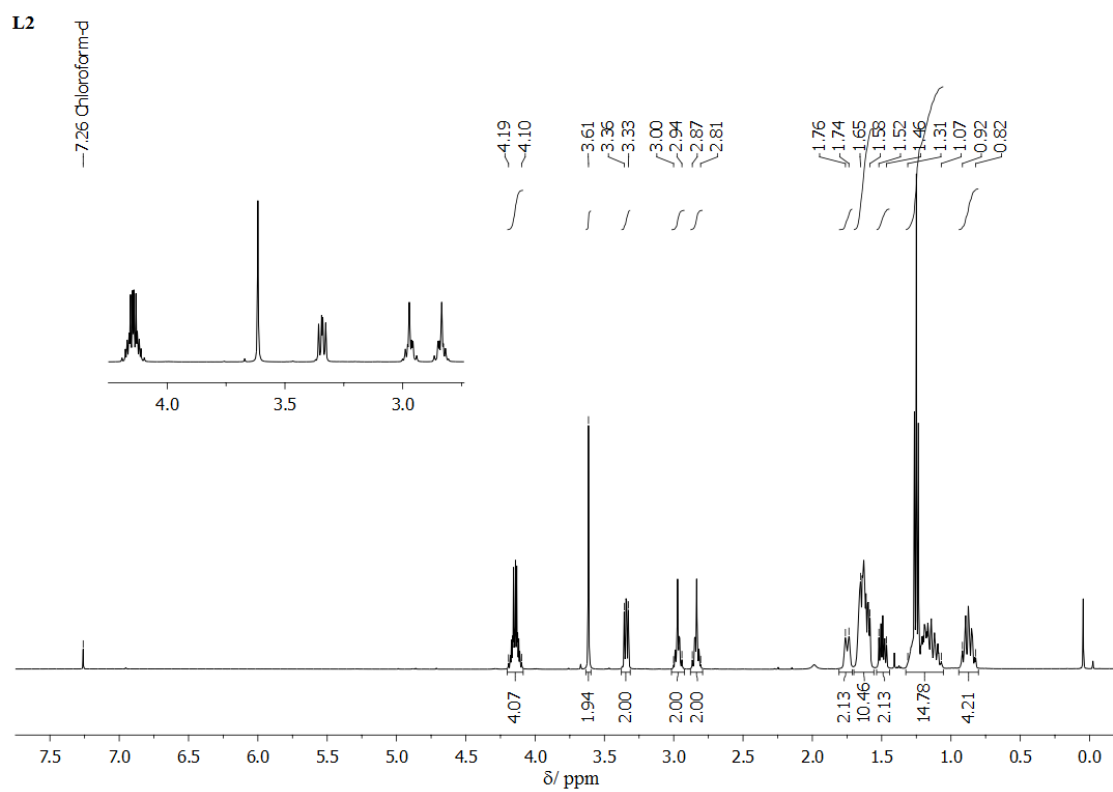
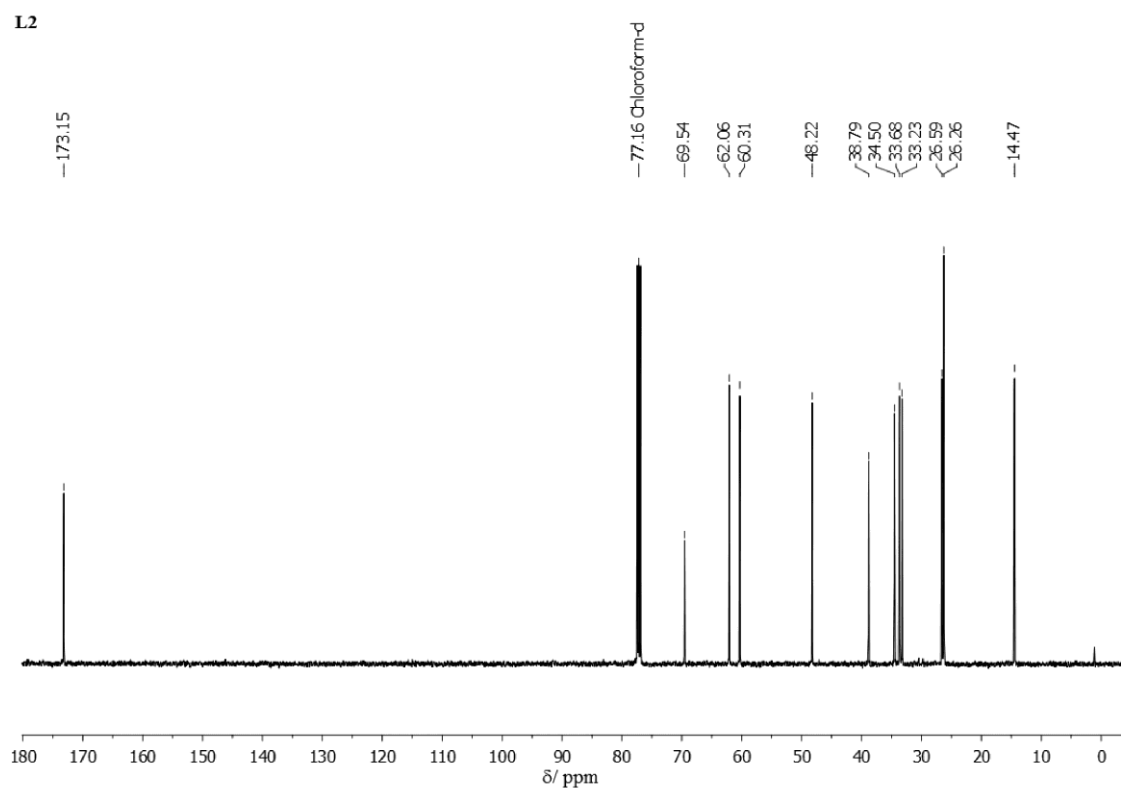
Slika P1. ^1H NMR spektar liganda L1.Slika P2. ^{13}C NMR spektar liganda L1.

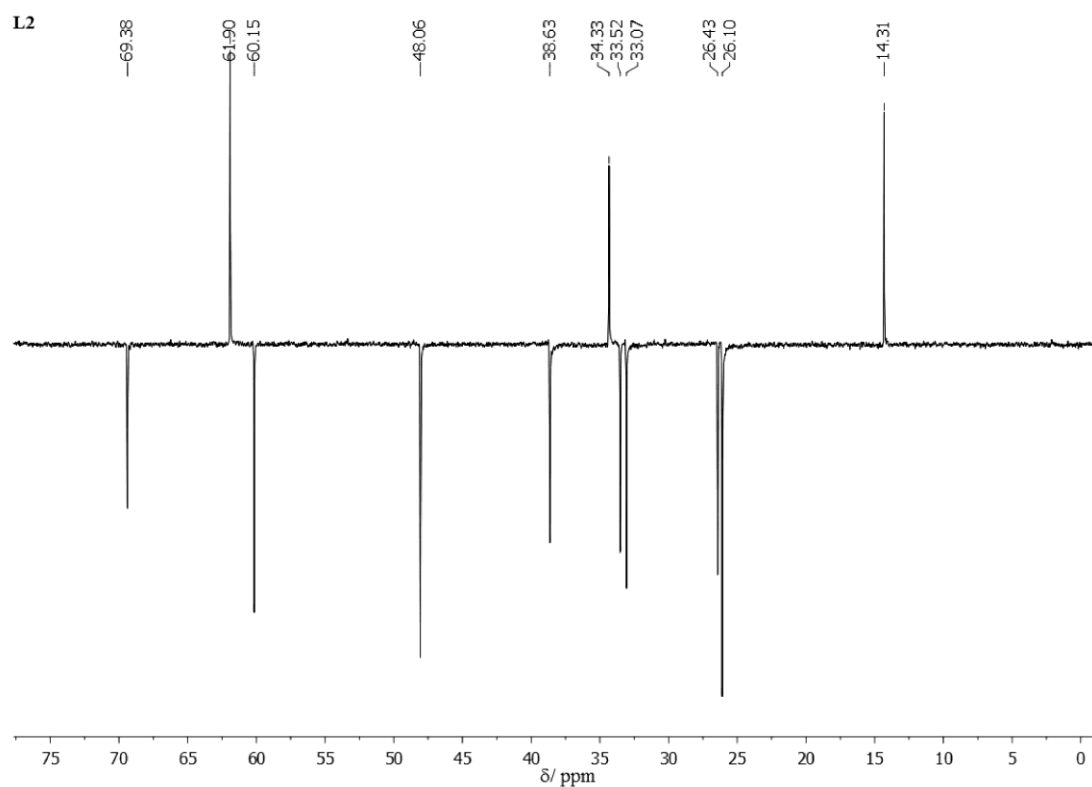


Slika P3. Maseni spektar liganda L1.

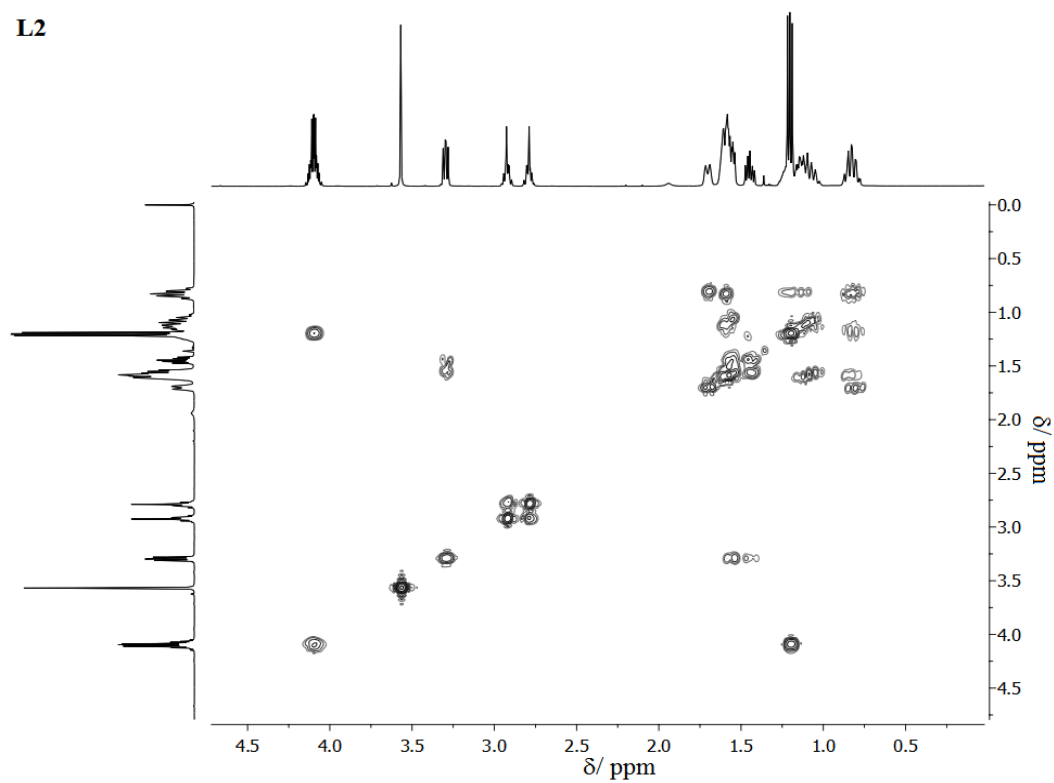


Slika P4. Infracrveni spektar liganda L1.

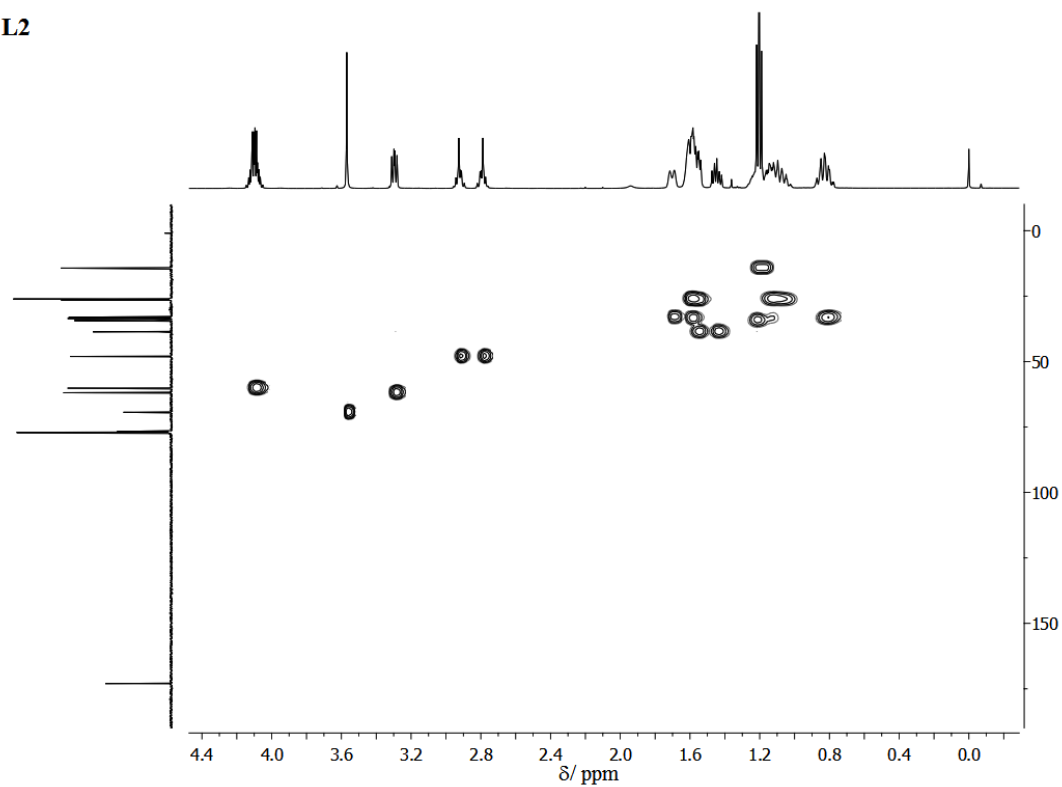
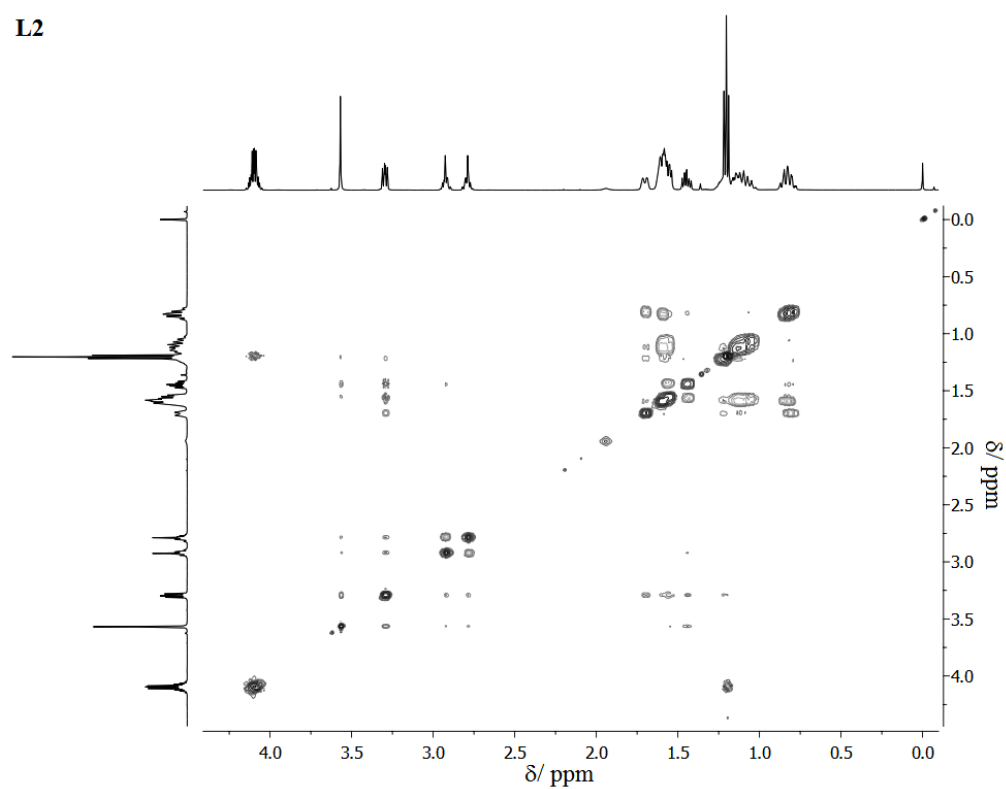
Slika P5. ^1H NMR spektar liganda L2.Slika P6. ^{13}C NMR spektar liganda L2.

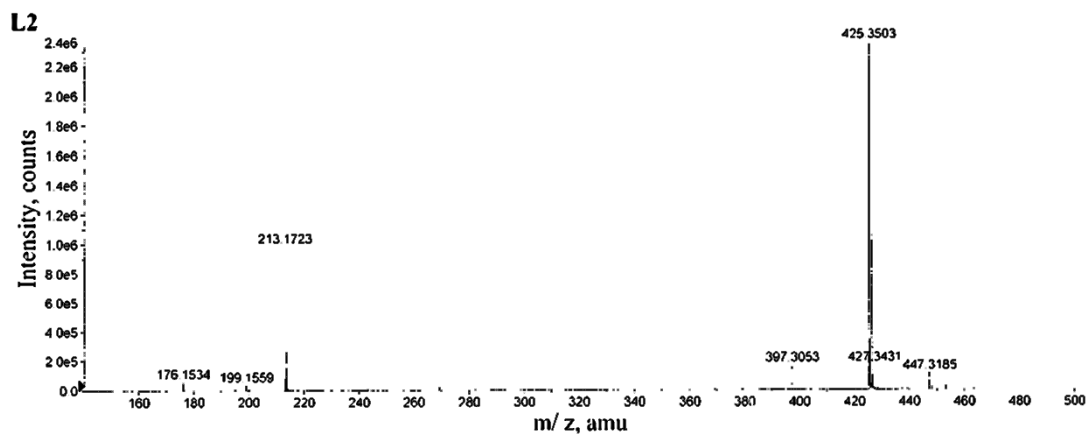


Slika P7. DEPT NMR spektar liganda L2.

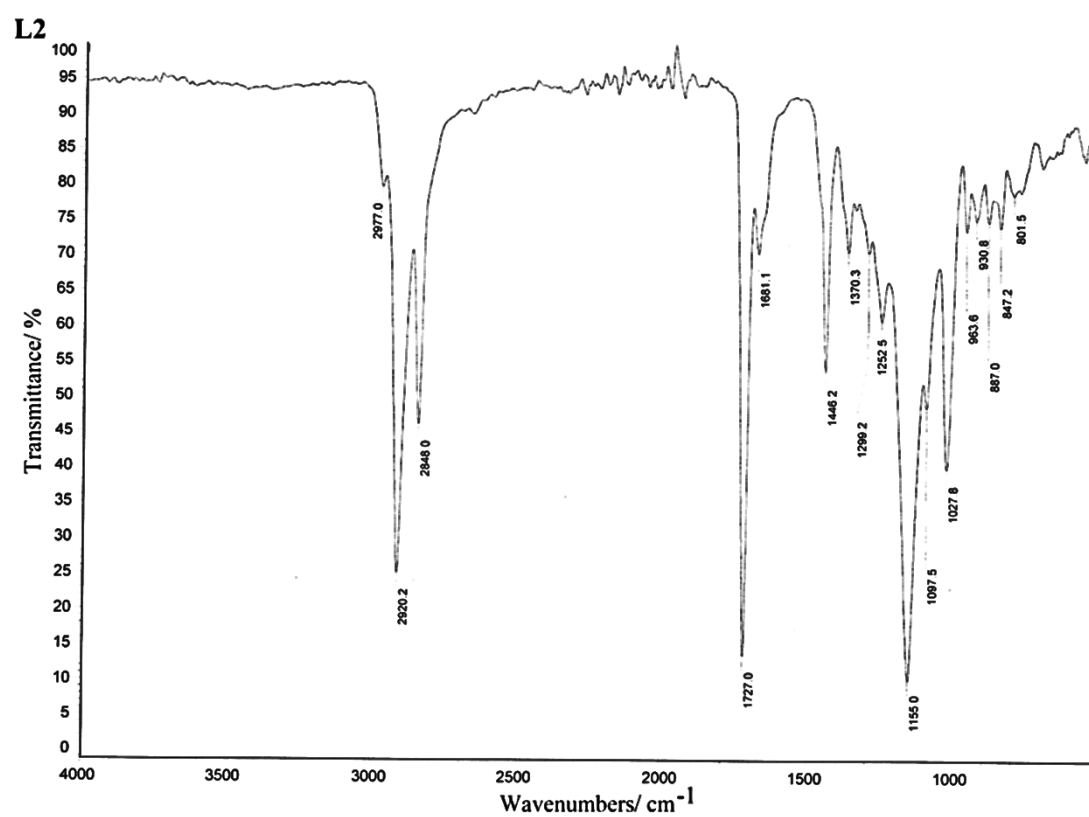


Slika P8. COSY NMR spektar liganda L2.

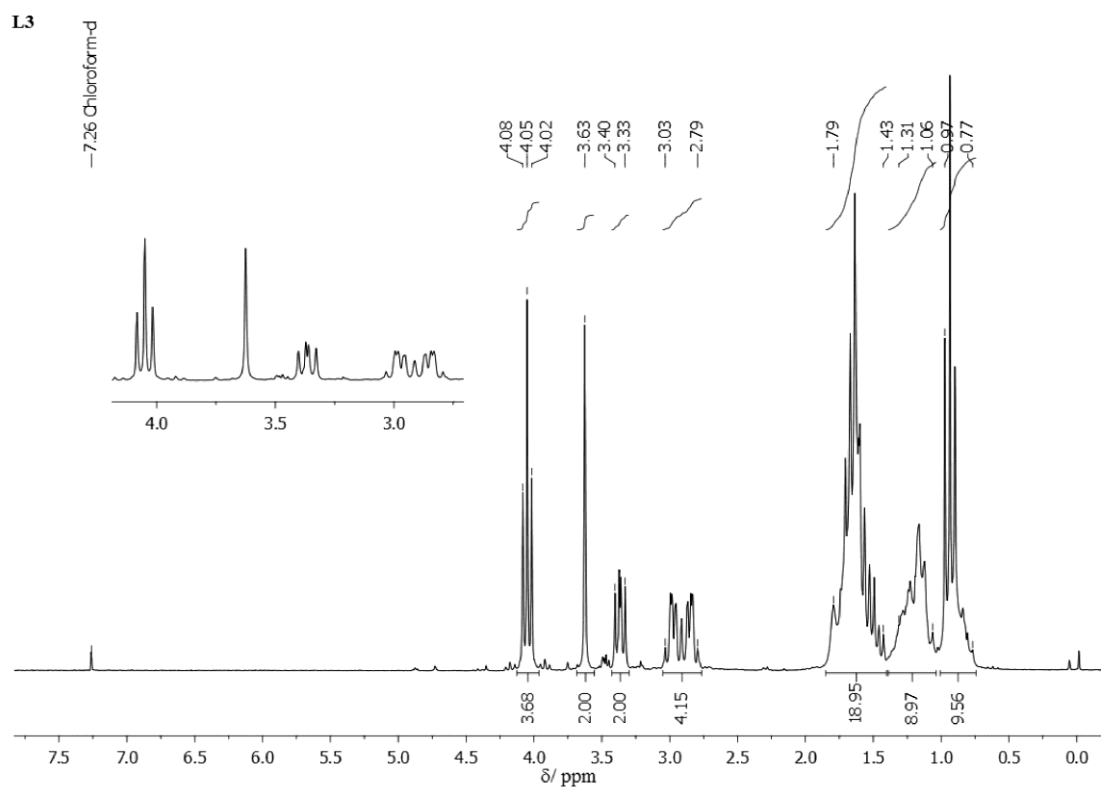
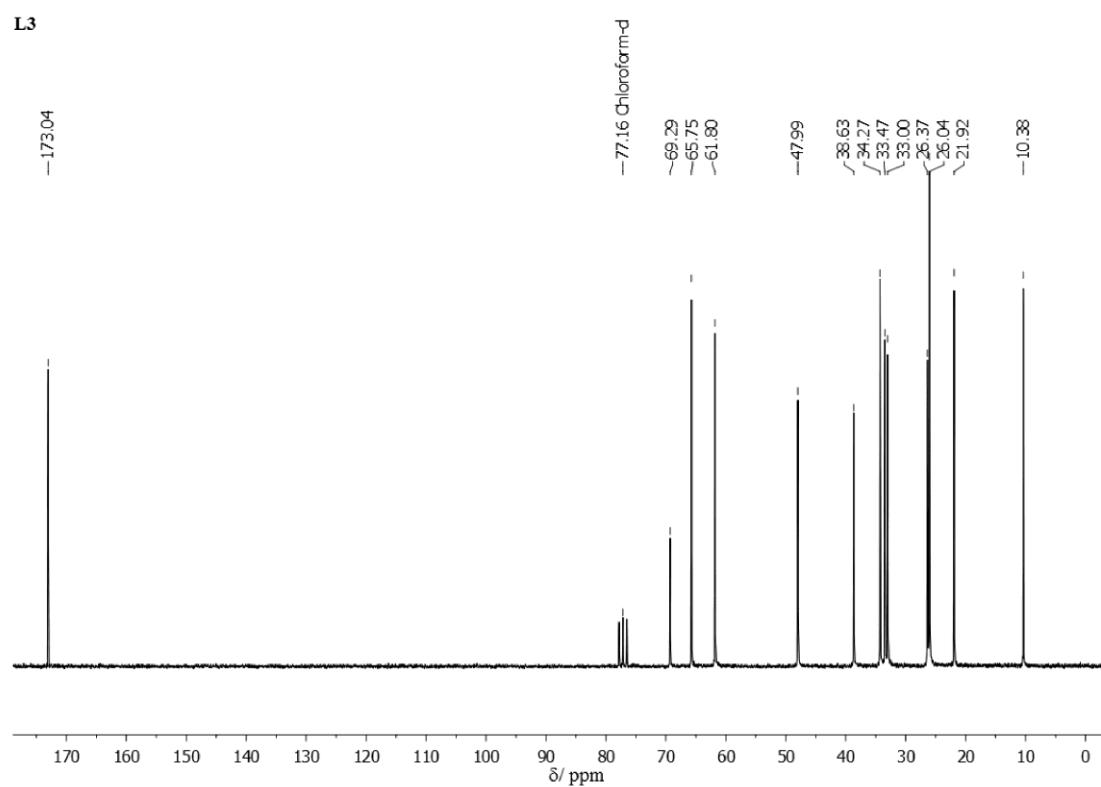
L2**Slika P9.** HSQC NMR spektar liganda **L2**.**L2****Slika P10.** NOESY NMR spektar liganda **L2**.

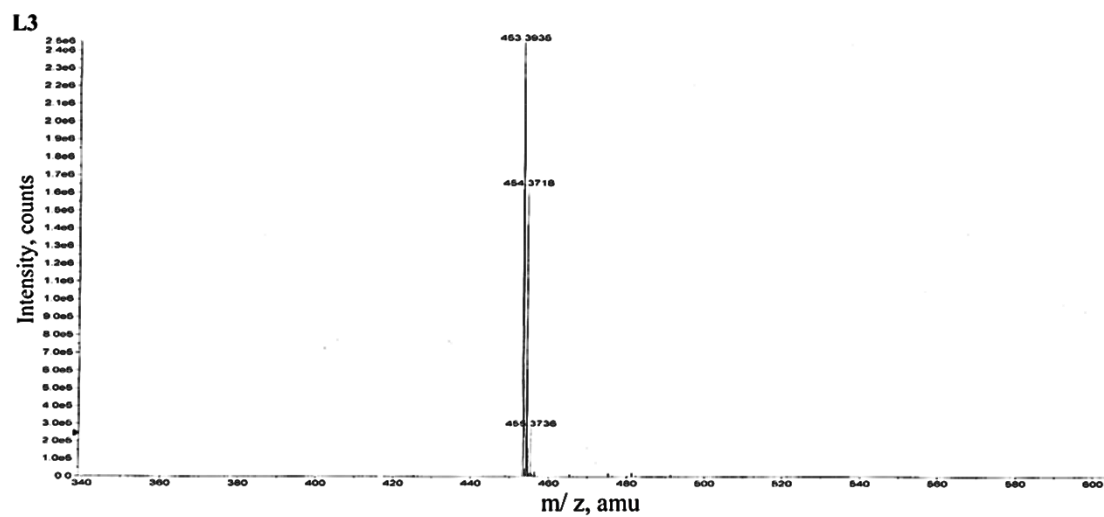


Slika P11. Maseni spektar liganda L2.

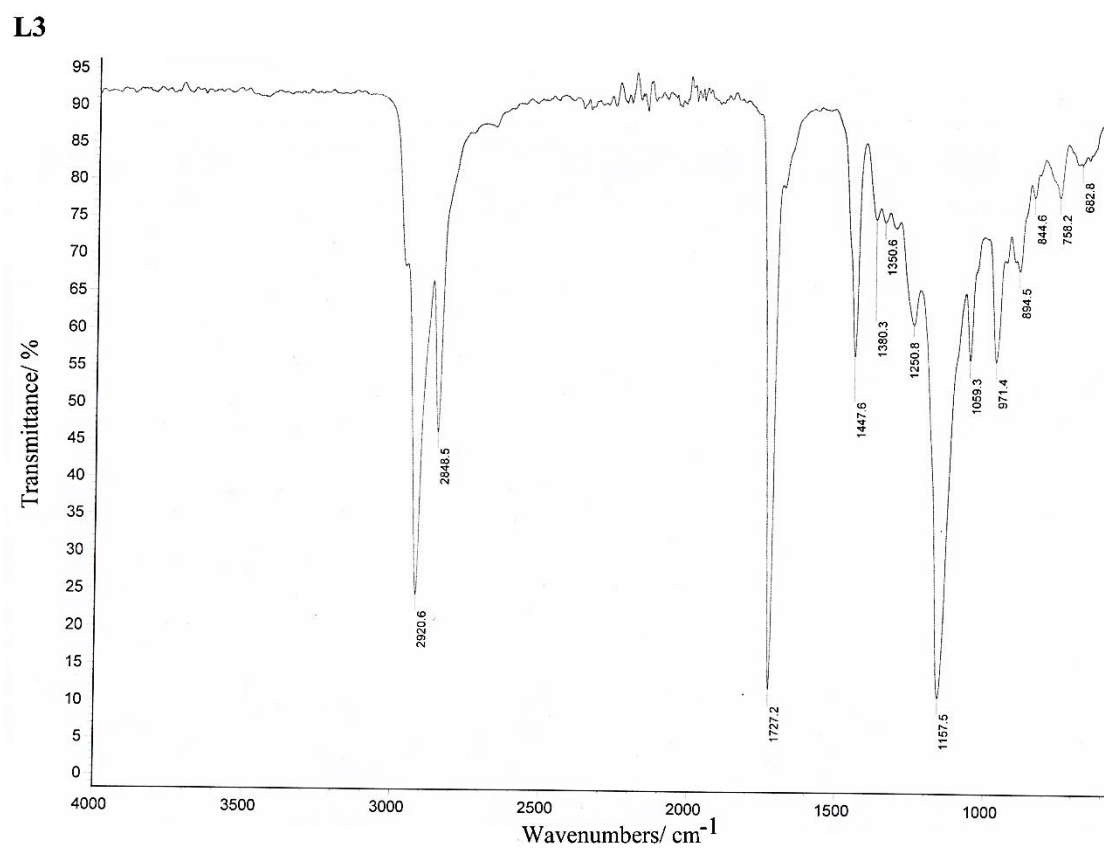


Slika P12. Infracrveni spektar liganda L2.

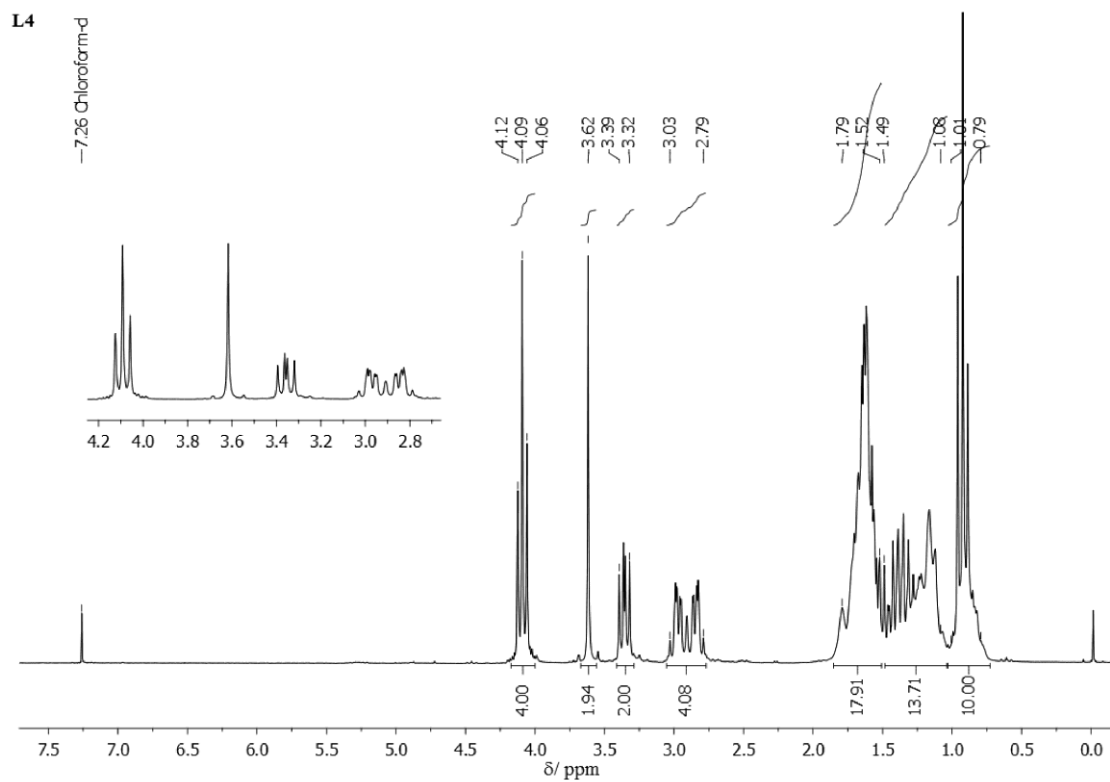
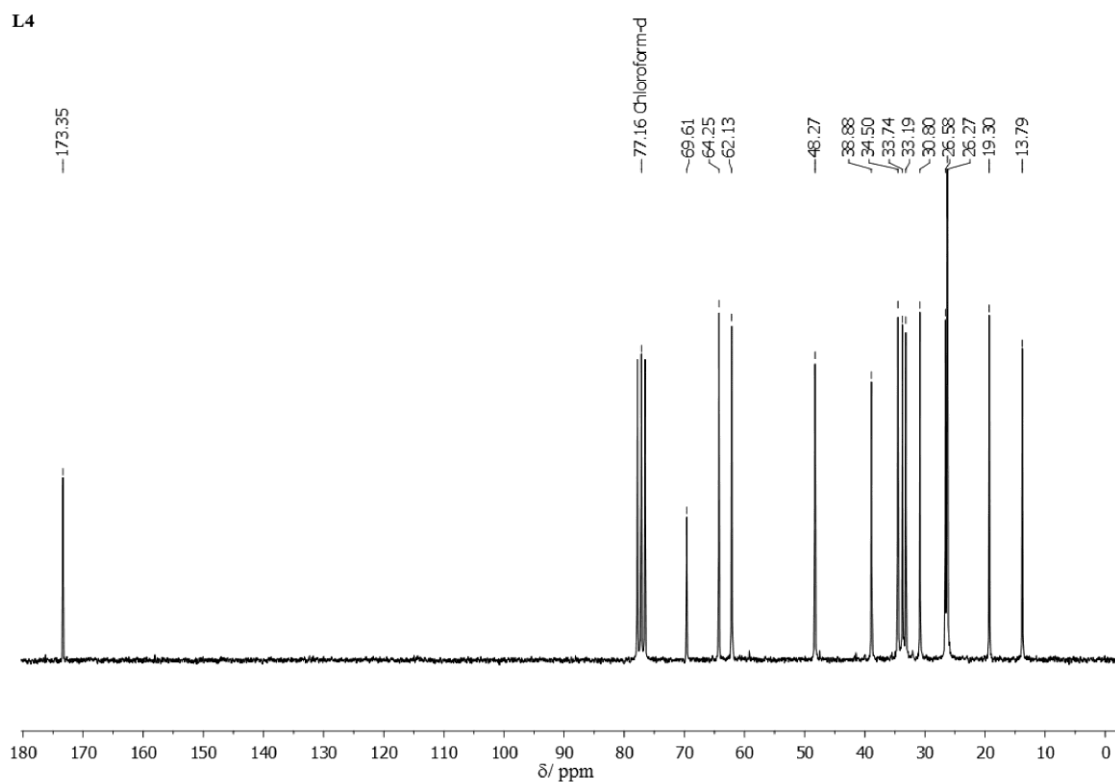
Slika P13. ^1H NMR spektar liganda L3.Slika P14. ^{13}C NMR spektar liganda L3.

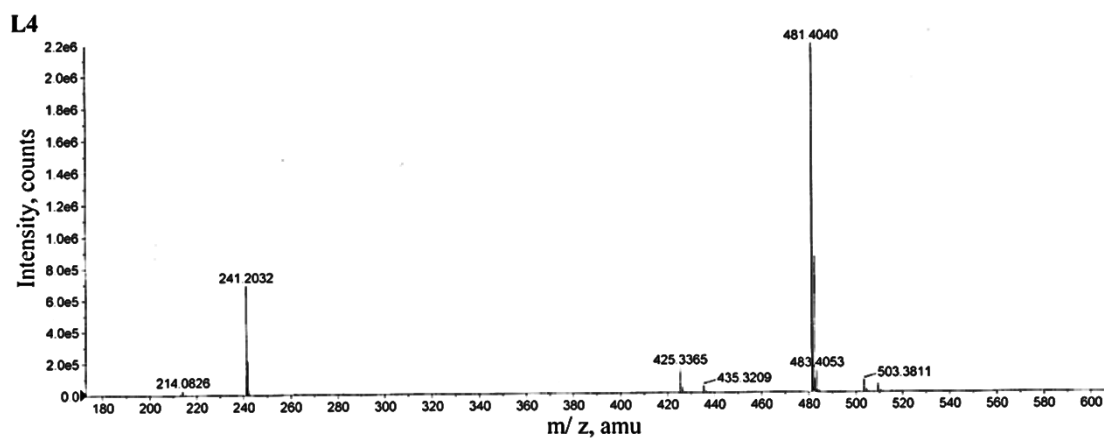


Slika P15. Maseni spektar liganda L3.

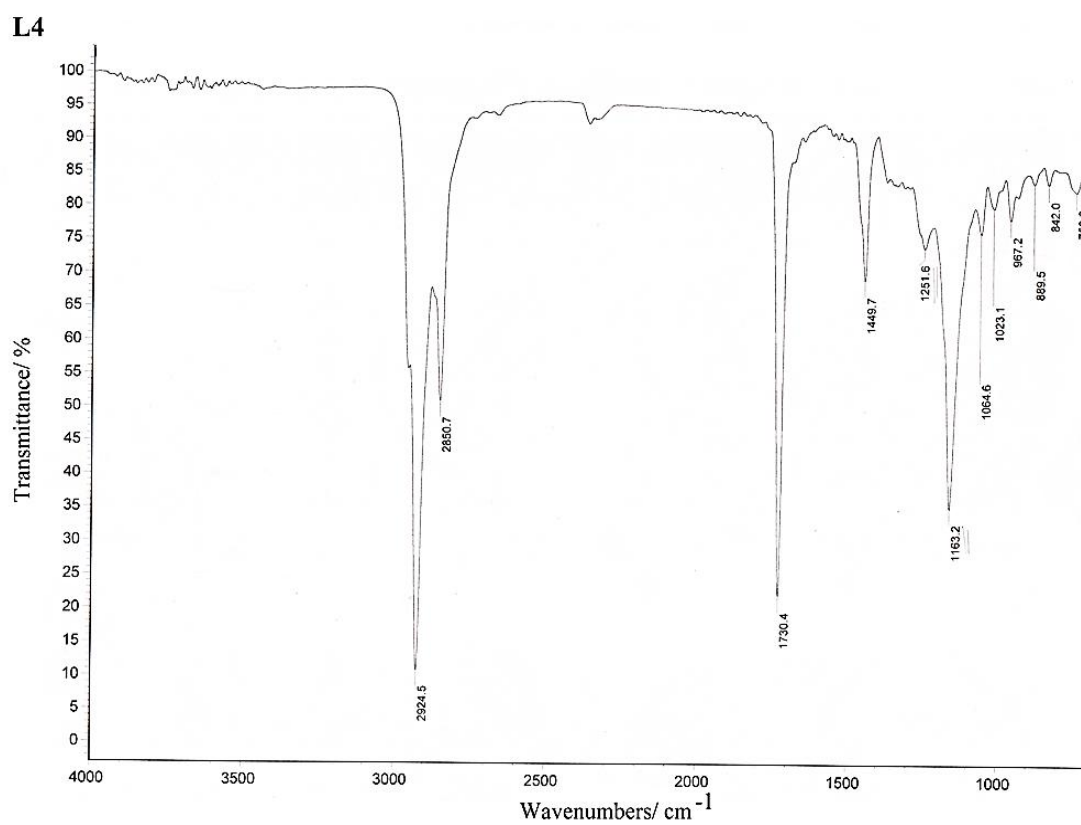


Slika P16. Infracrveni spektar liganda L3.

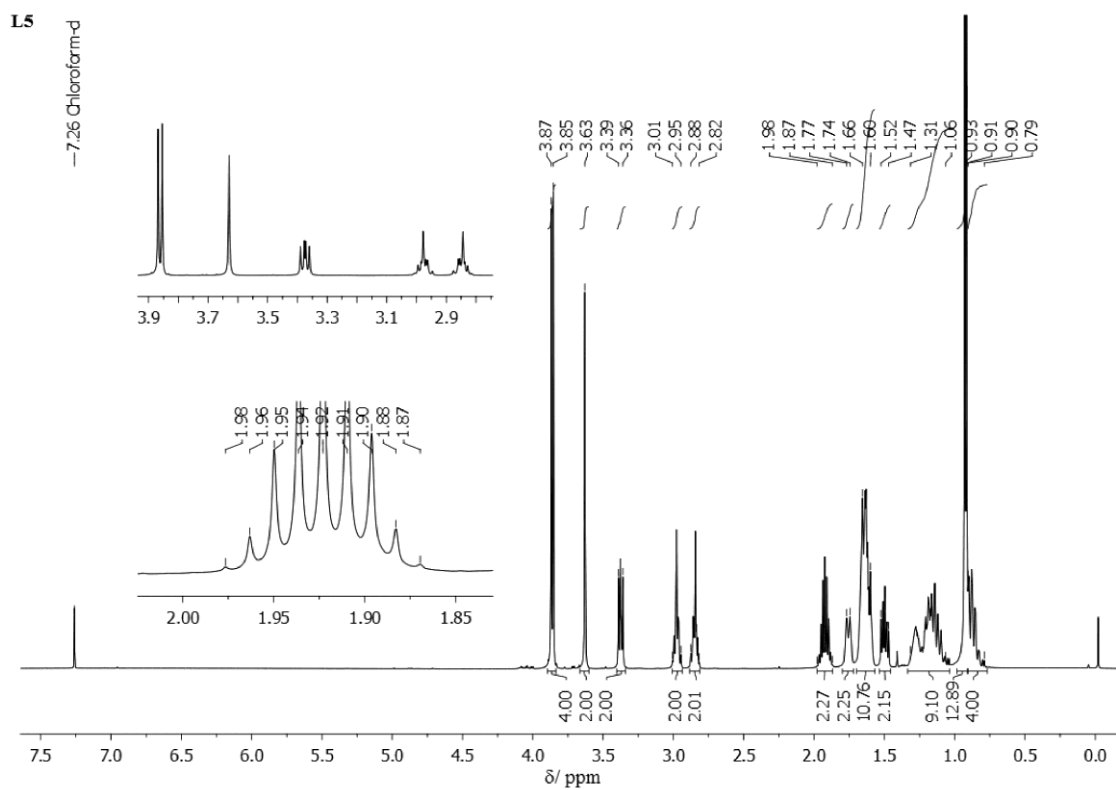
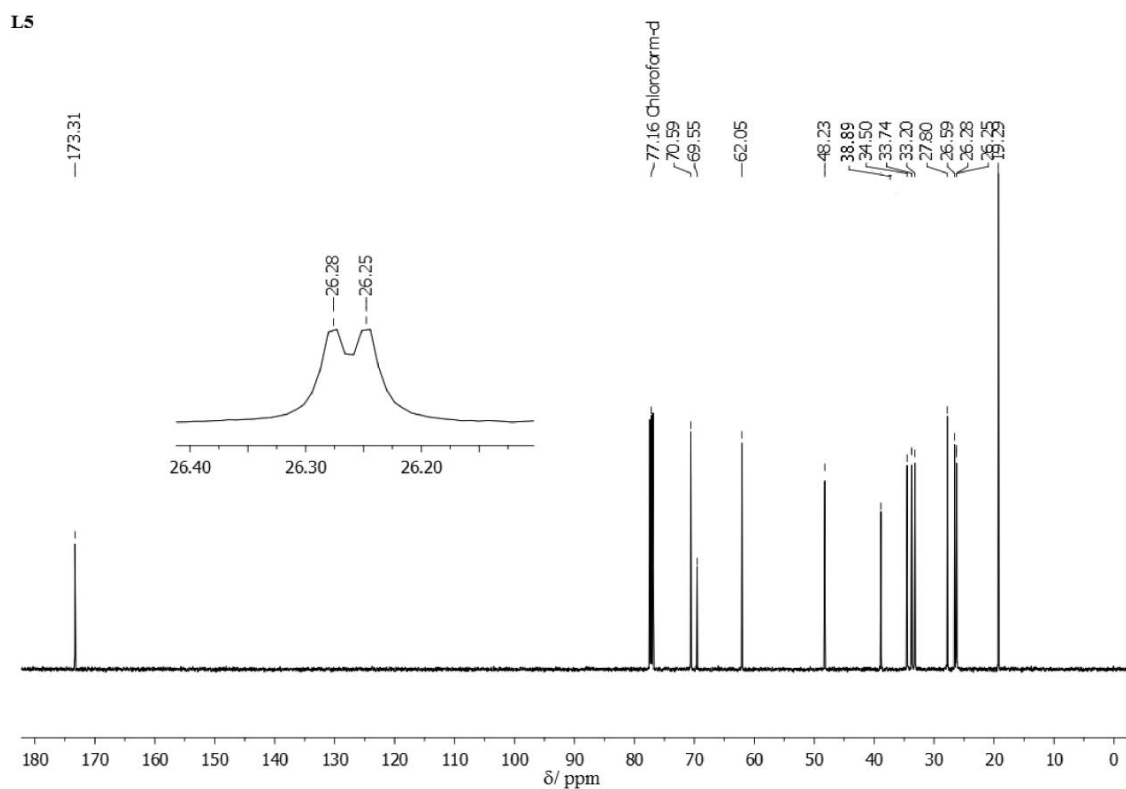
Slika P17. ^1H NMR spektar liganda **L4**.Slika P18. ^{13}C NMR spektar liganda **L4**.

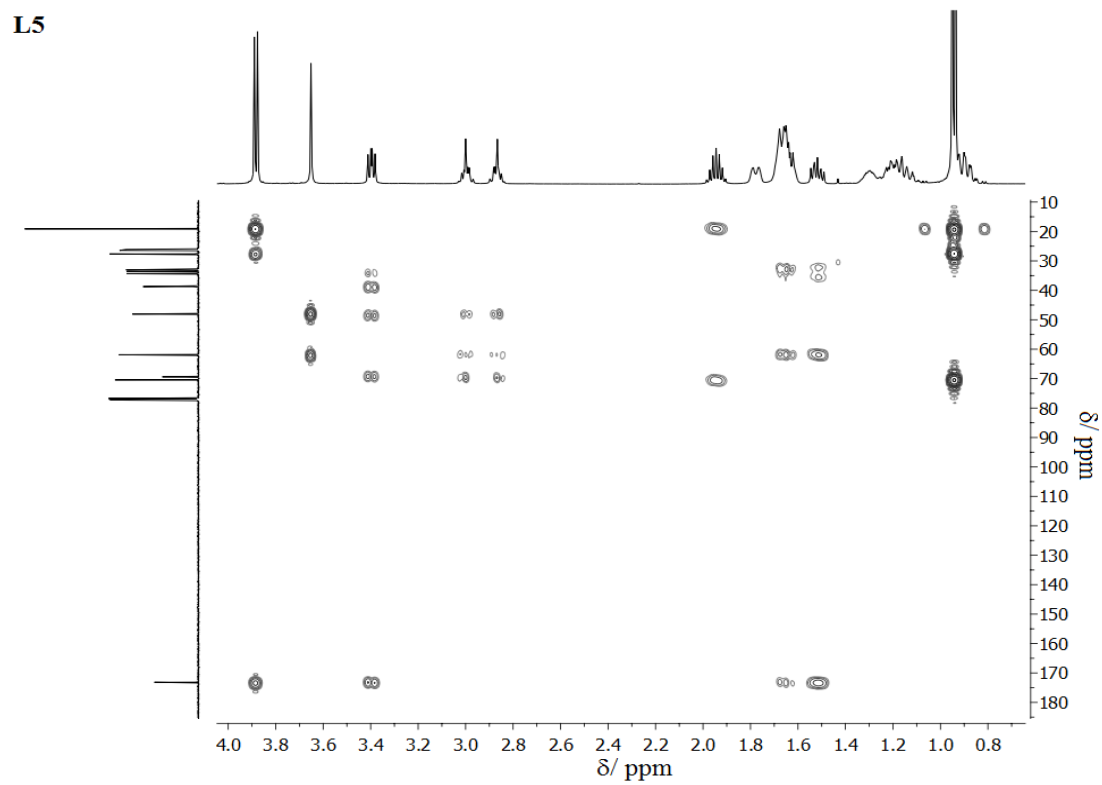


Slika P19. Maseni spektar liganda L4.

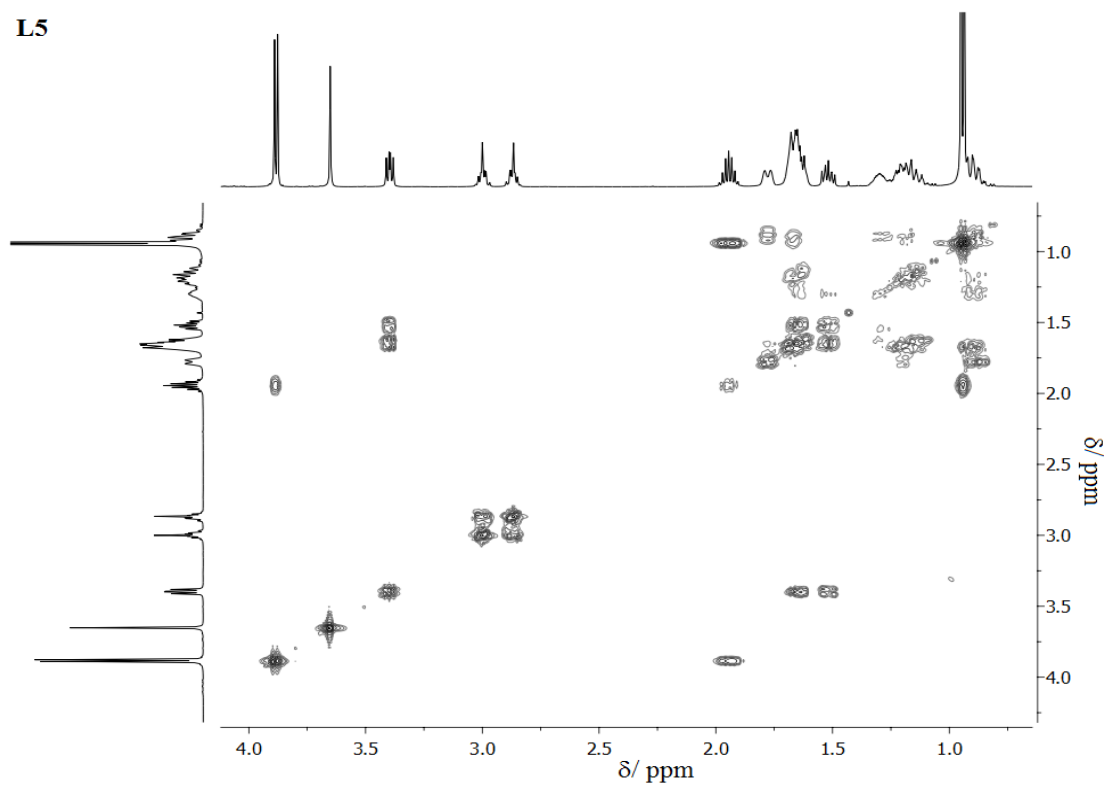


Slika P20. Infracrveni spektar liganda L4.

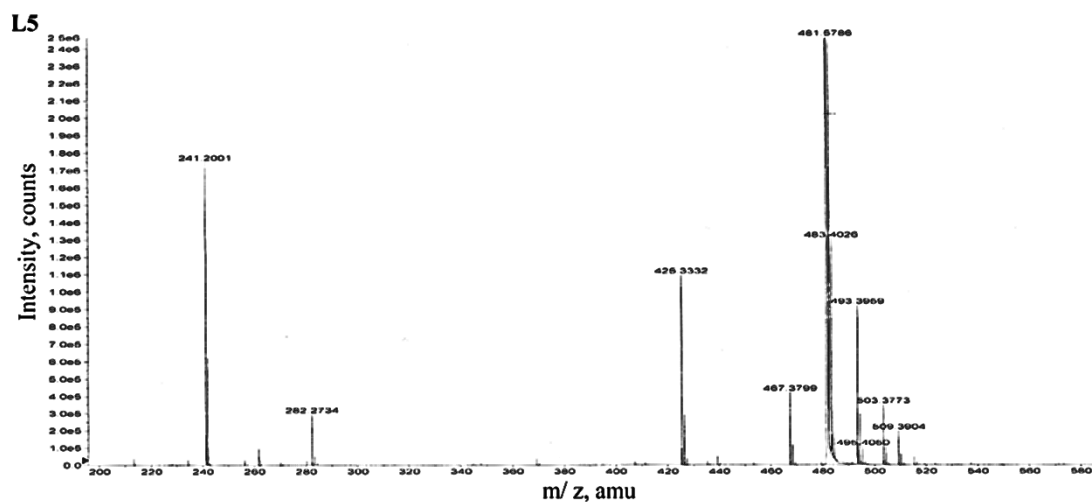
Slika P21. ^1H NMR spektar liganda L5.Slika P22. ^{13}C NMR spektar liganda L5.



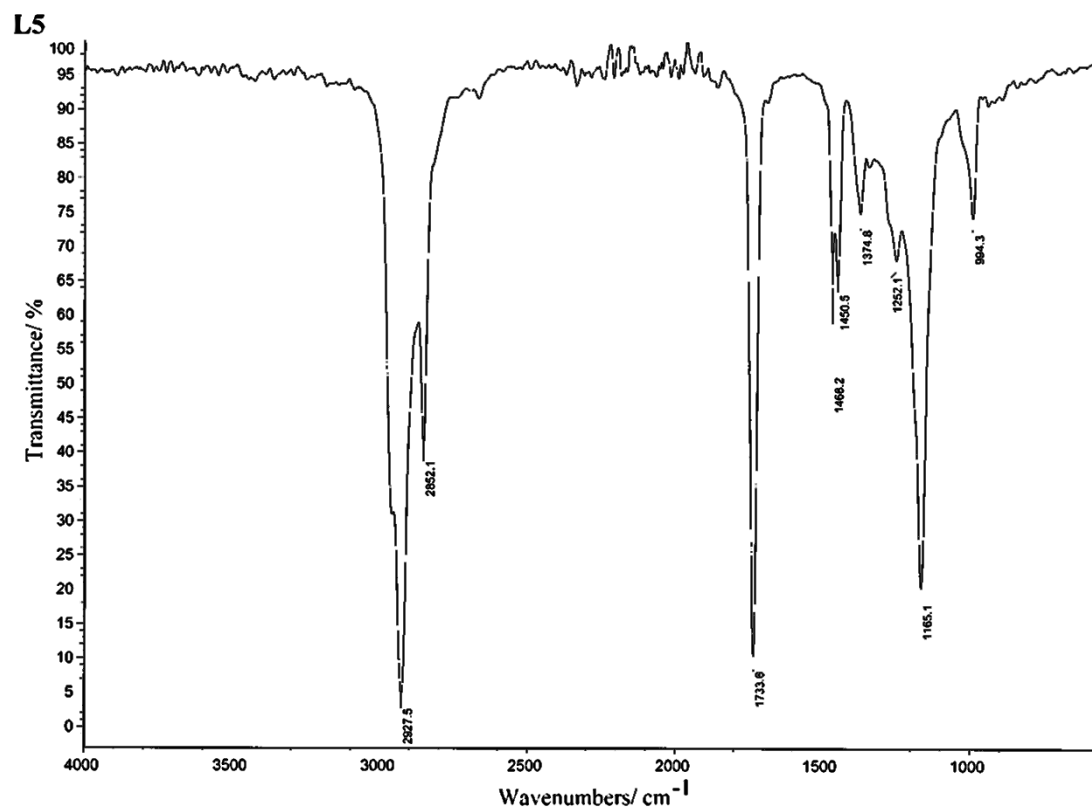
Slika P23. HSQC NMR spektar liganda L5.



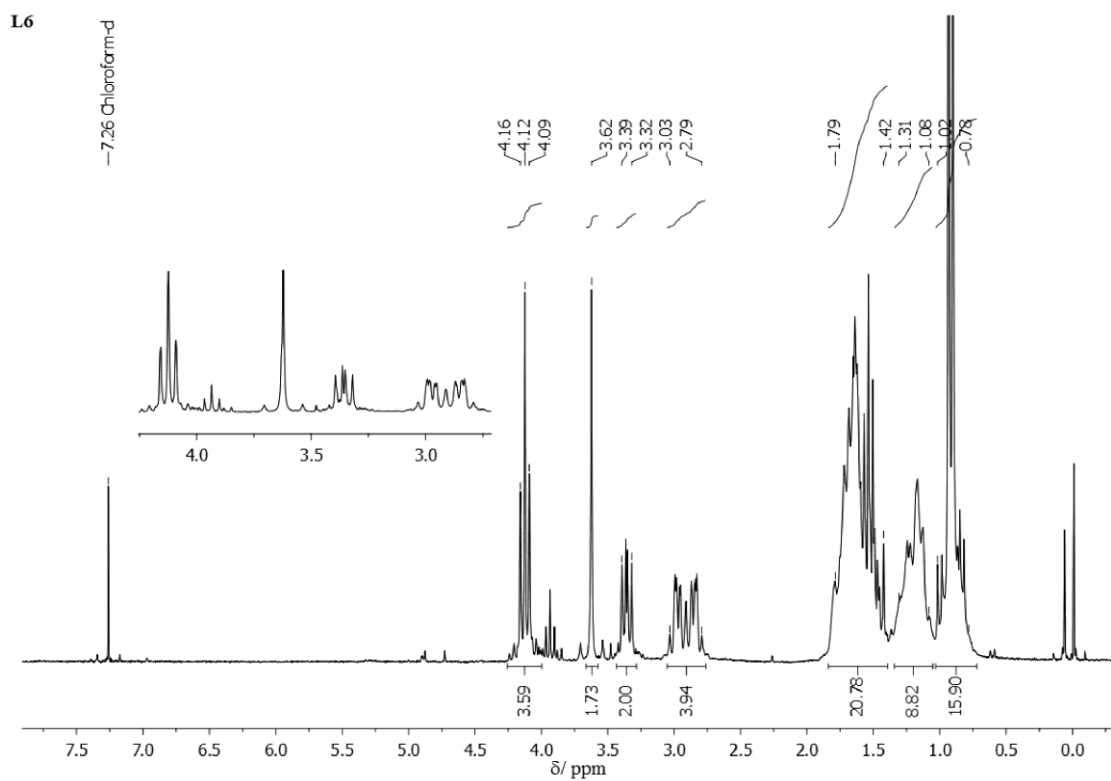
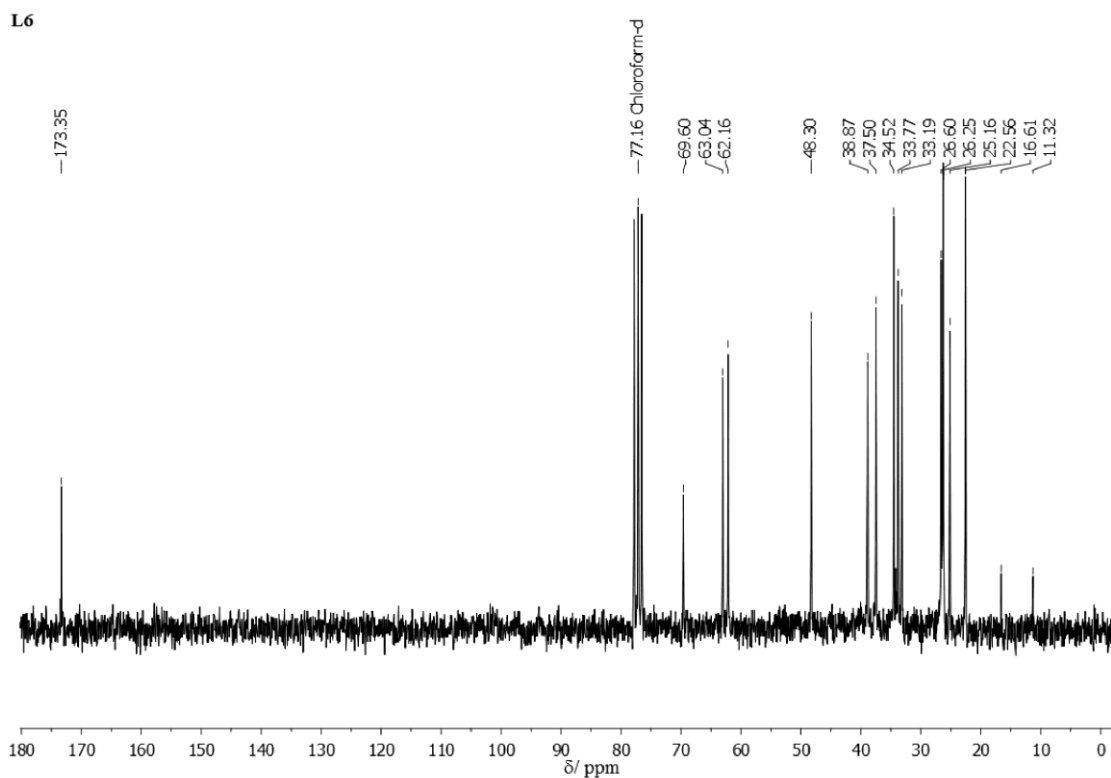
Slika P24. NOESY NMR spektar liganda L5.

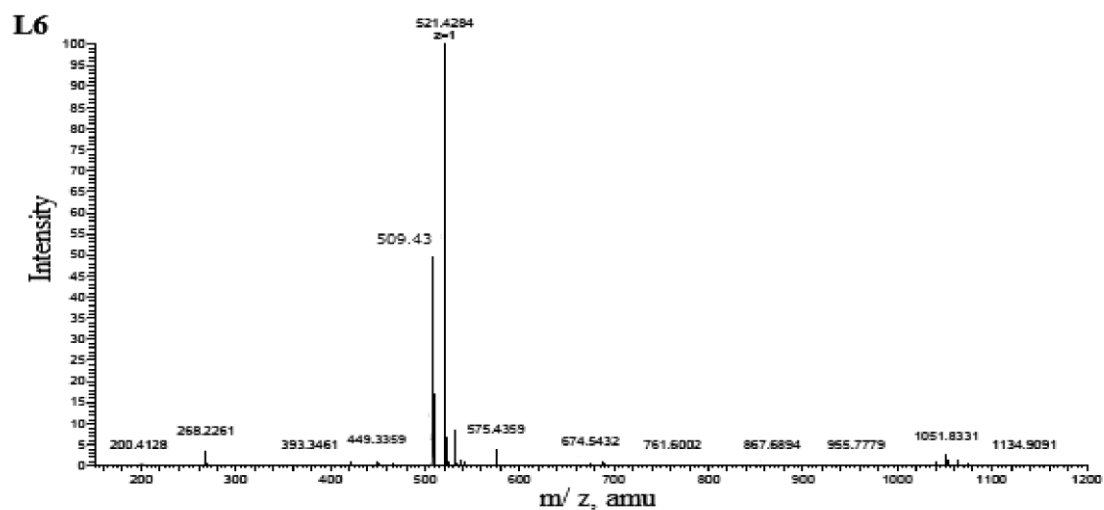


Slika P25. Maseni spektar liganda L5.

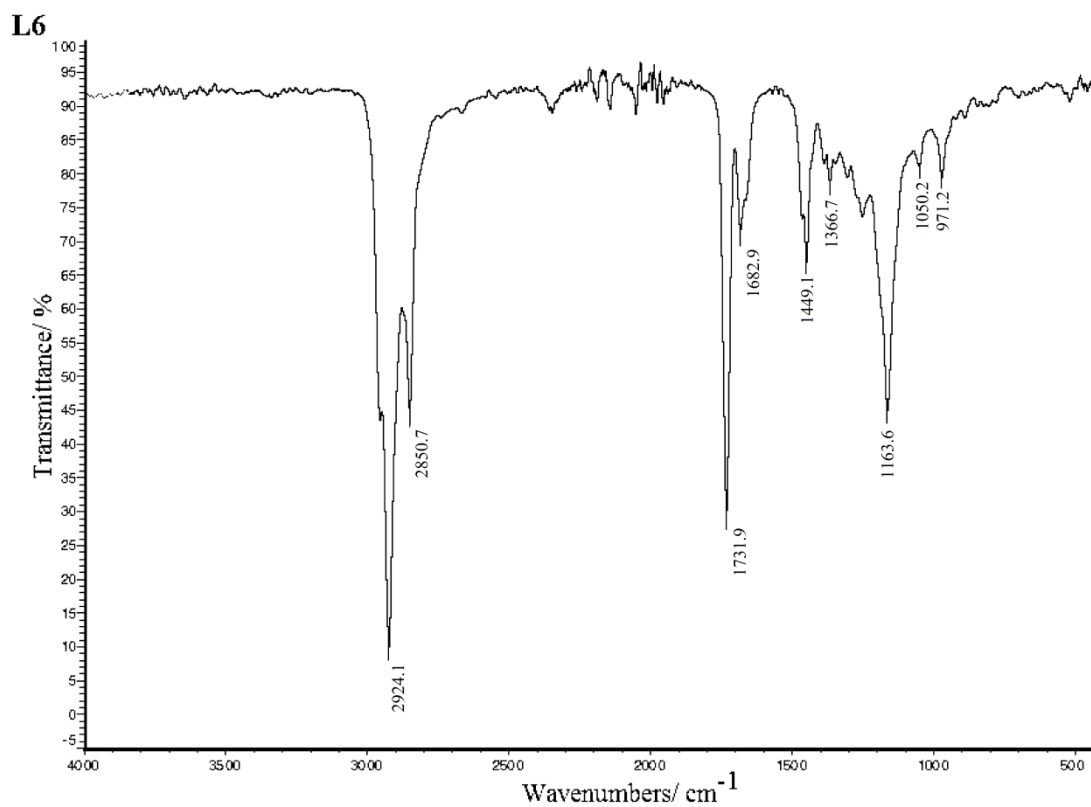


Slika P26. Infracrveni spektar liganda L5.

Slika P27. ^1H NMR spektar liganda **L6**.Slika P28. ^{13}C NMR spektar liganda **L6**.

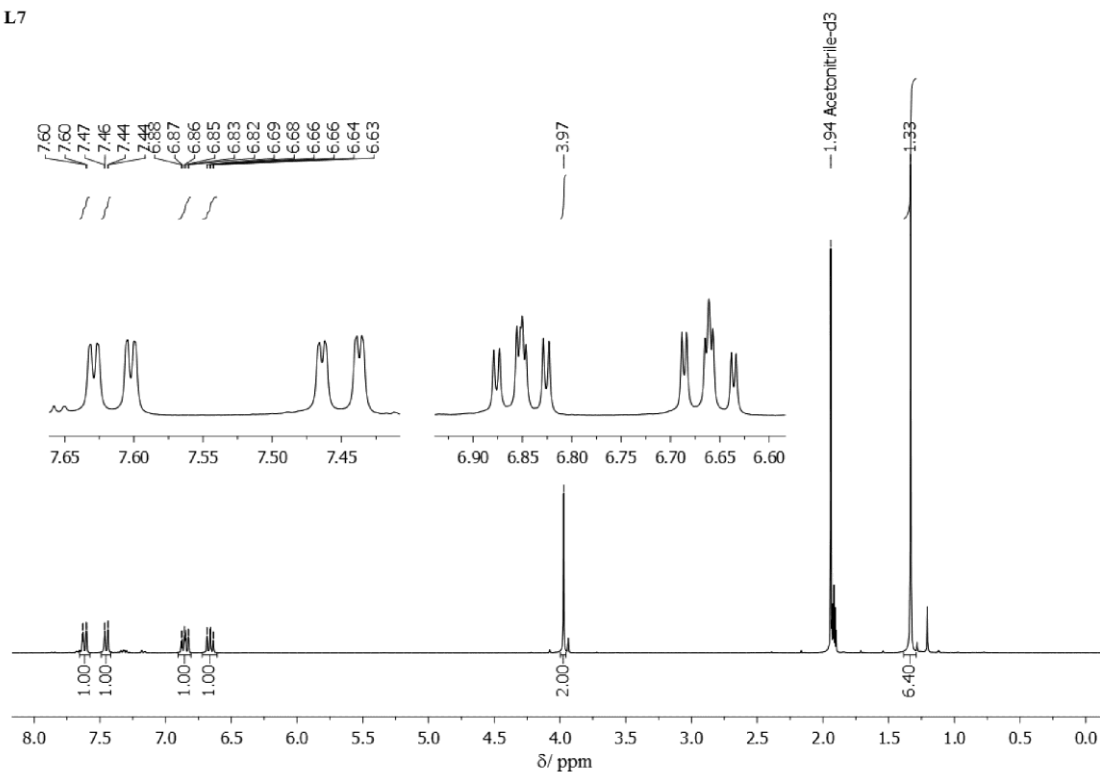


Slika P29. Maseni spektar liganda L6.

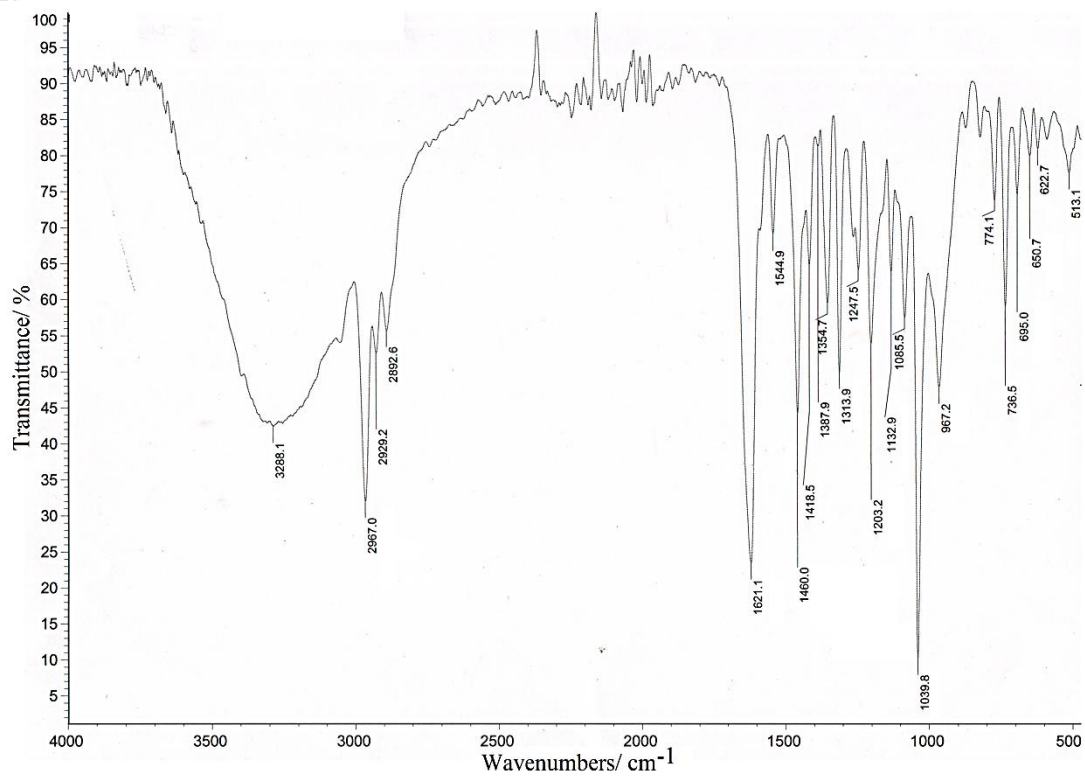


Slika P30. Infracrveni spektar liganda L6.

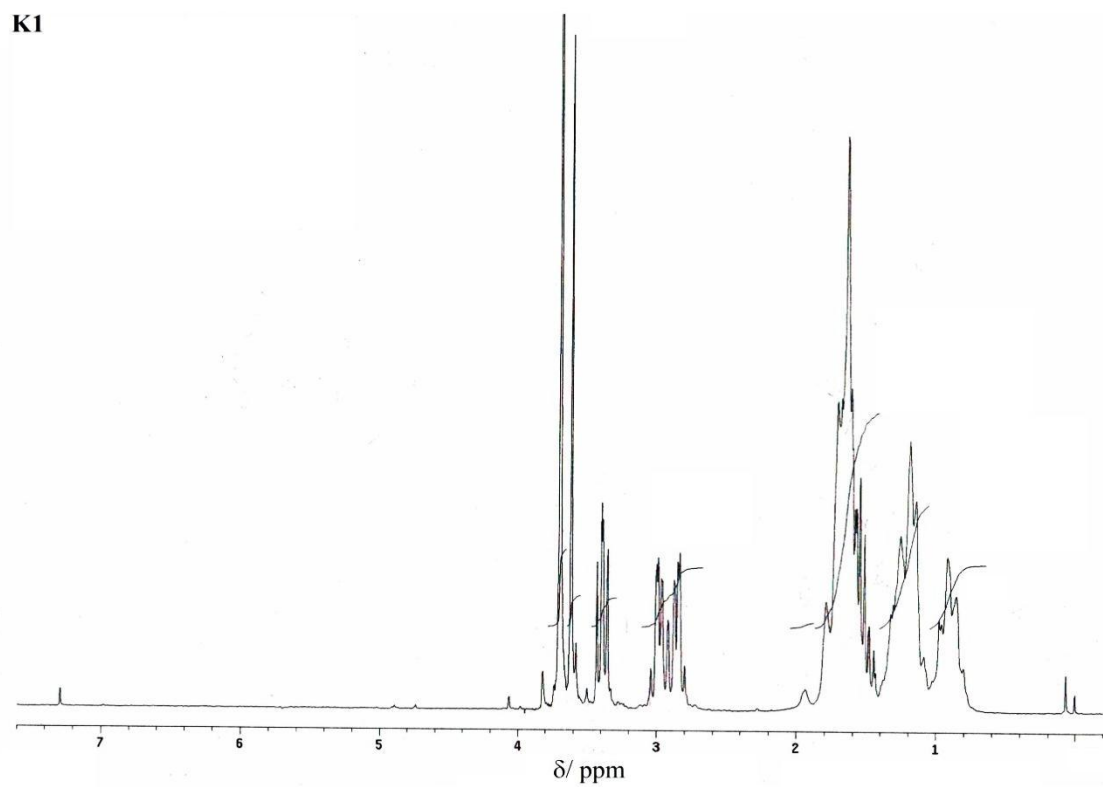
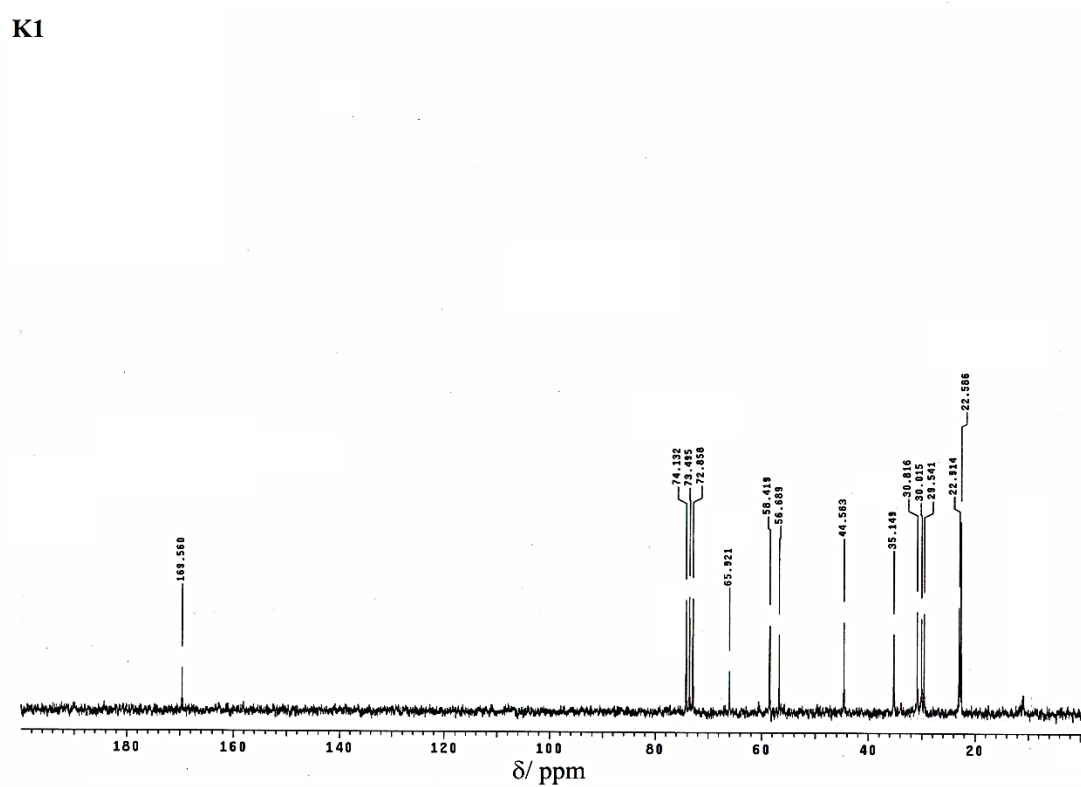
L7

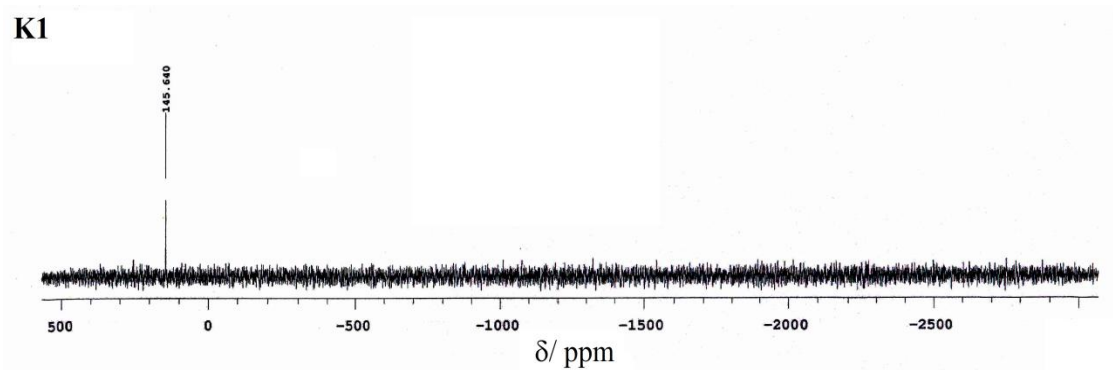
Slika P31. ¹H NMR spektar liganda L7.

L7

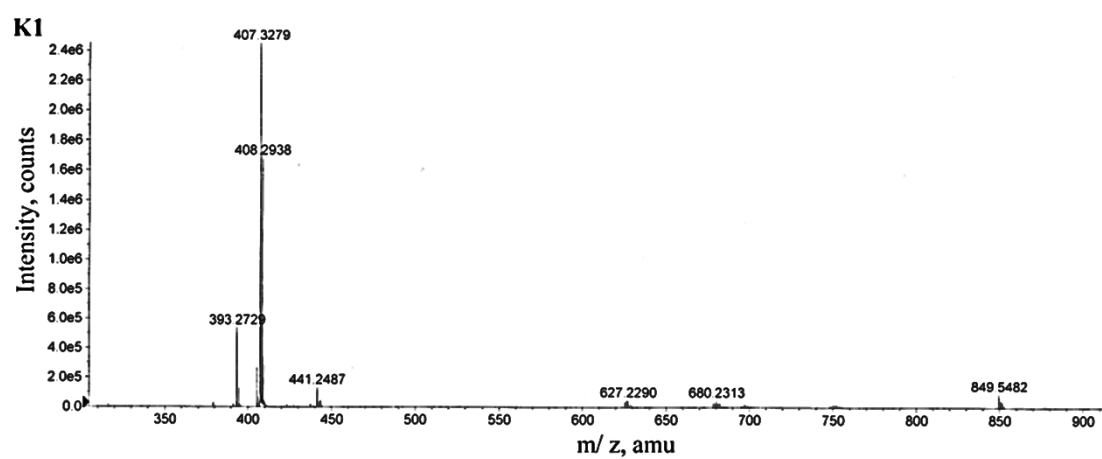


Slika P32. Infracrveni spektar liganda L7.

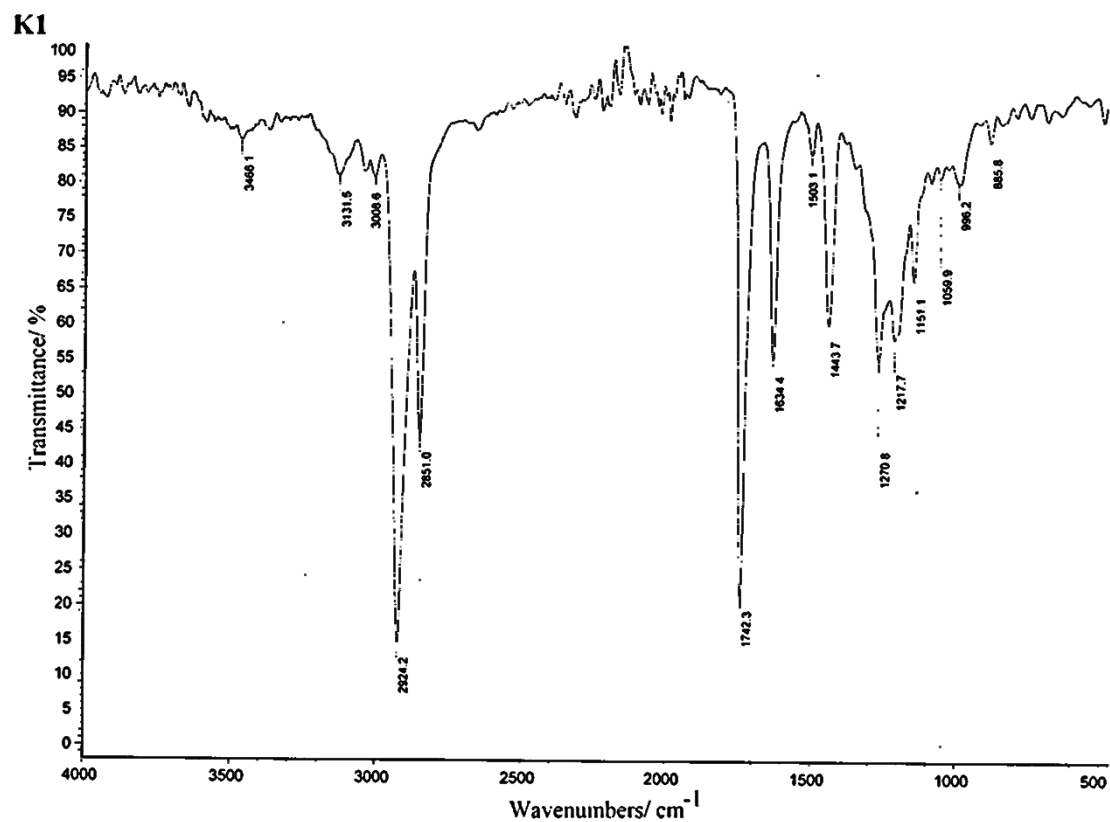
Slika P33. ^1H NMR spektar kompleksa K1.Slika P34. ^{13}C NMR spektar kompleksa K1.



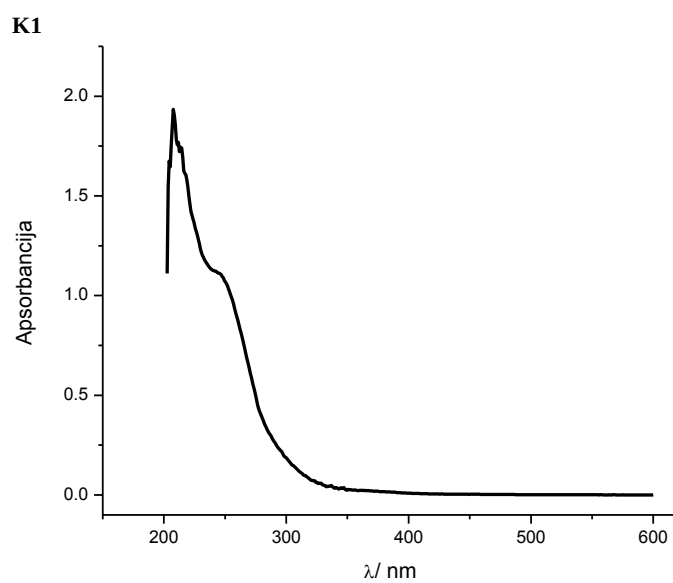
Slika P35. ^{195}Pt NMR spektar kompleksa K1.



Slika P36. Maseni spektar kompleksa K1.

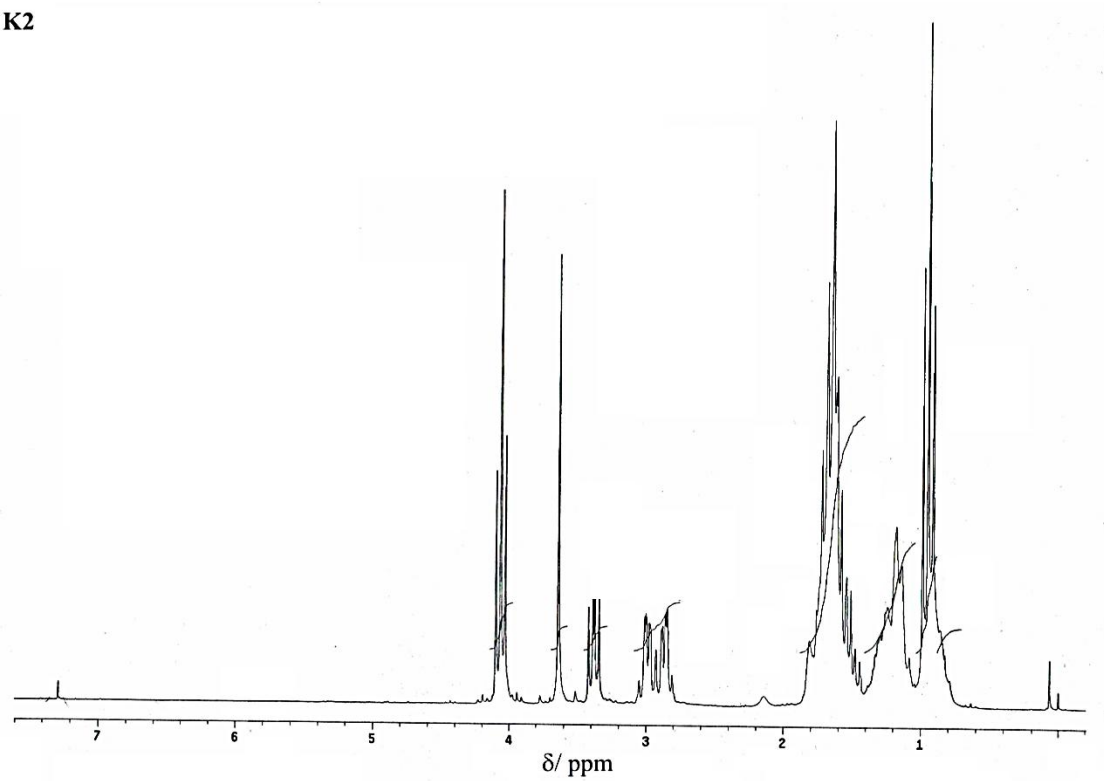


Slika P37. Infracrveni spektar kompleksa **K1**.

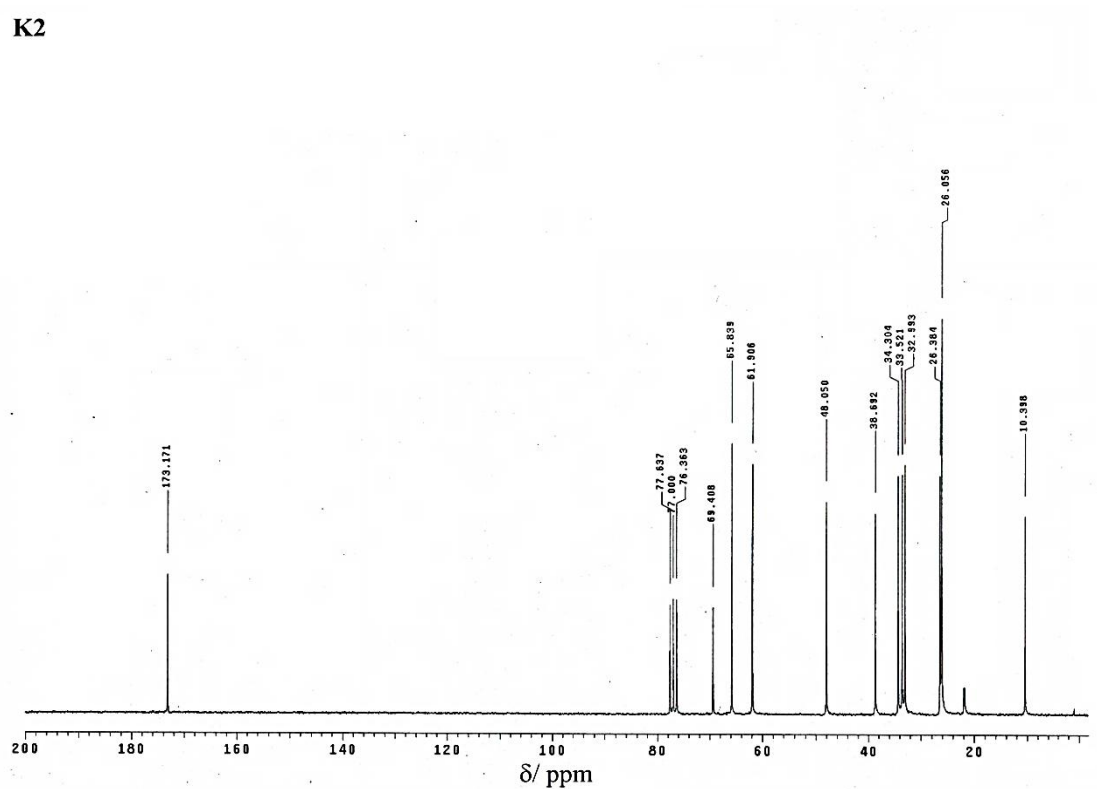


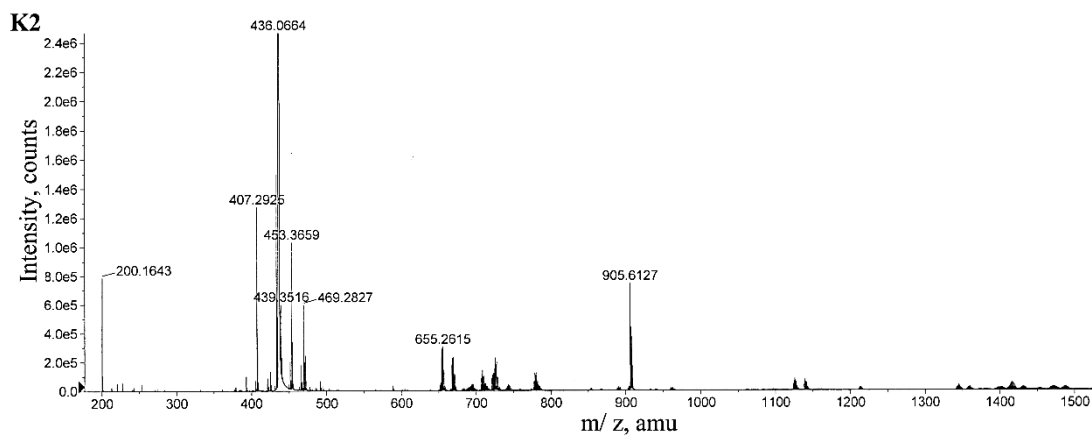
Slika P38. Ultraljubičasti spektar kompleksa **K1**.

K2

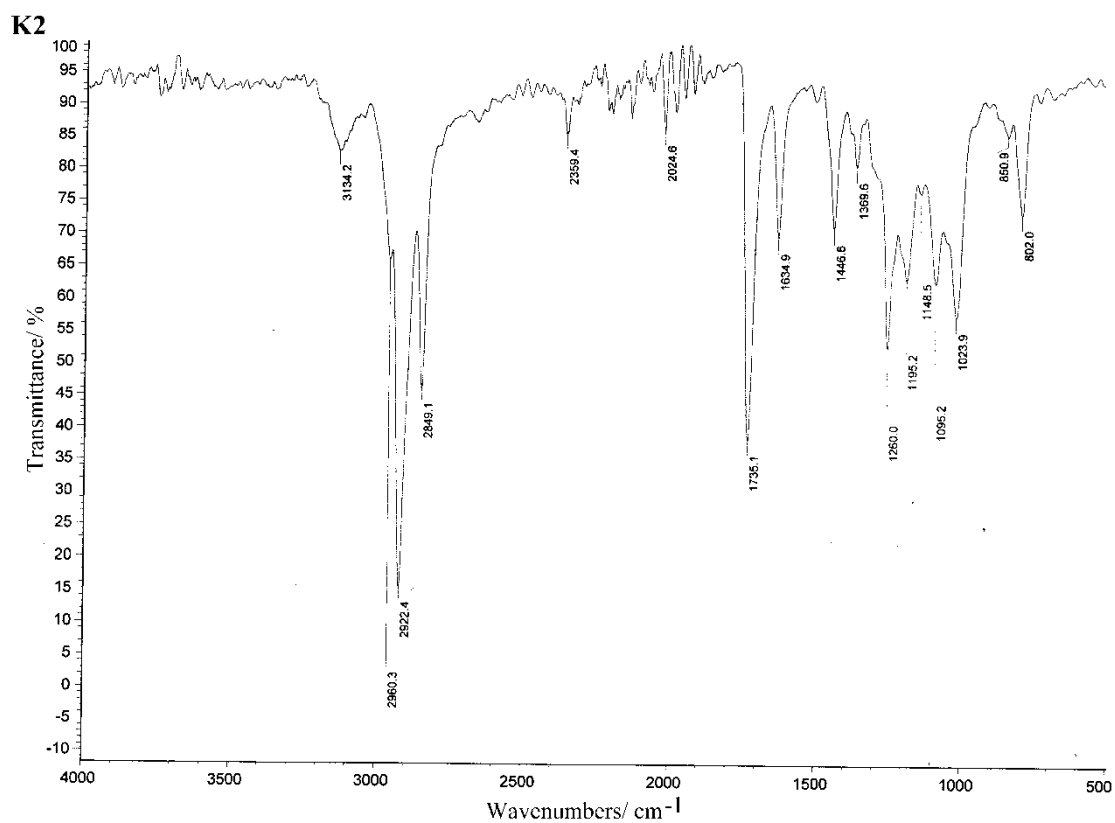
Slika P39. ^1H NMR spektar kompleksa K2.

K2

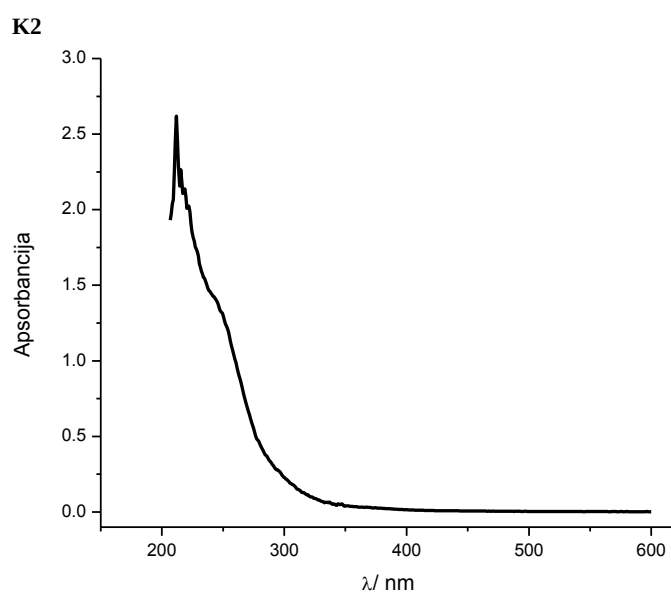
Slika P40. ^{13}C NMR spektar kompleksa K2.



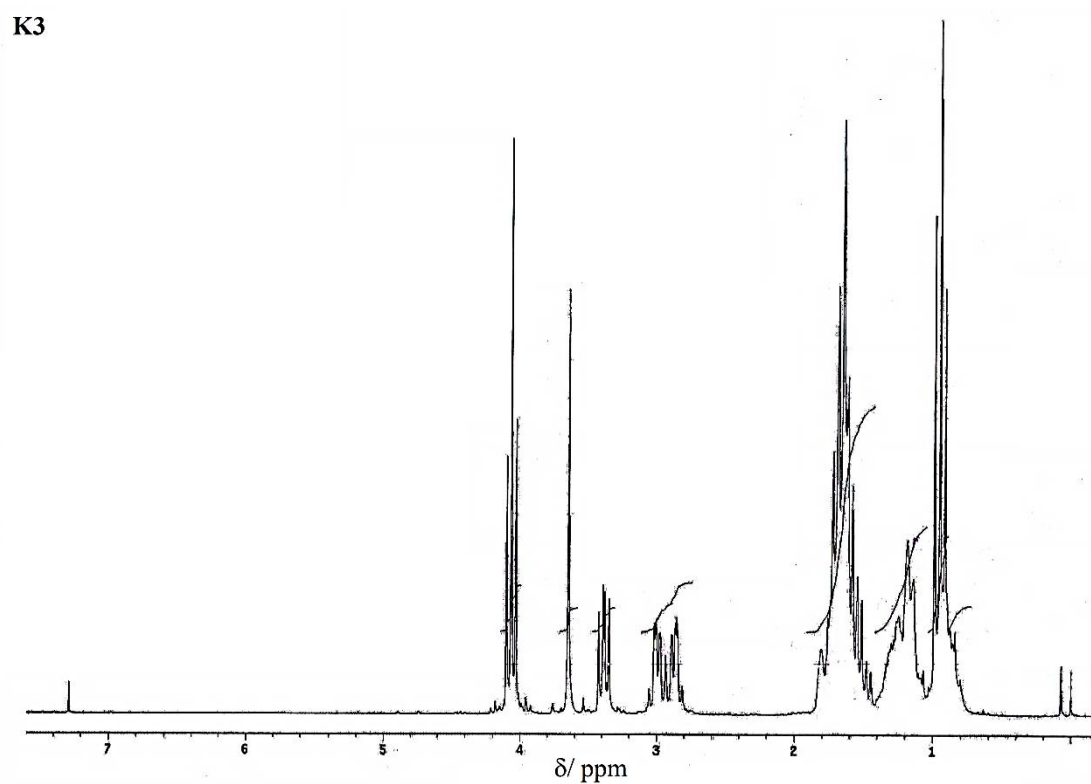
Slika P41. Maseni spektar kompleksa K2.



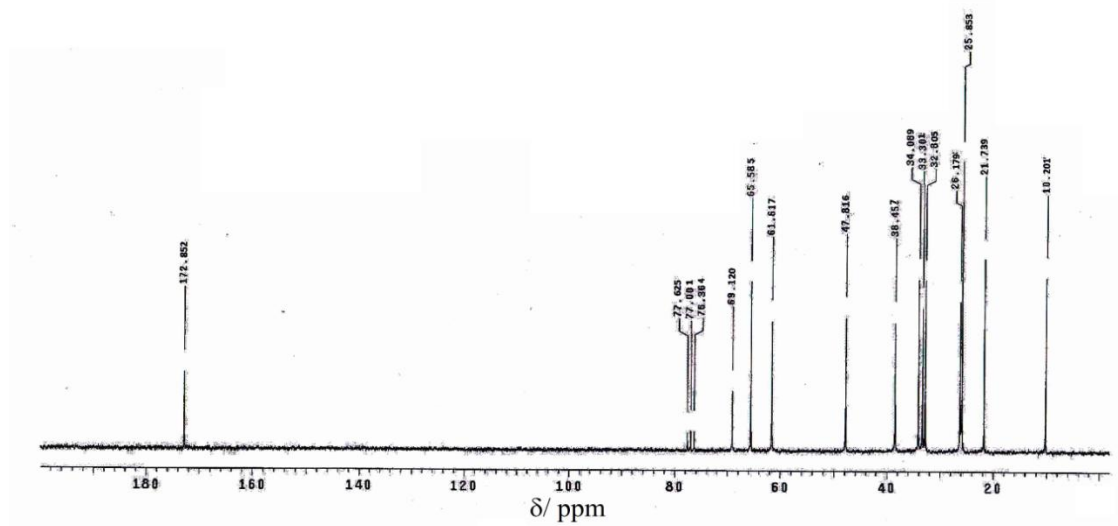
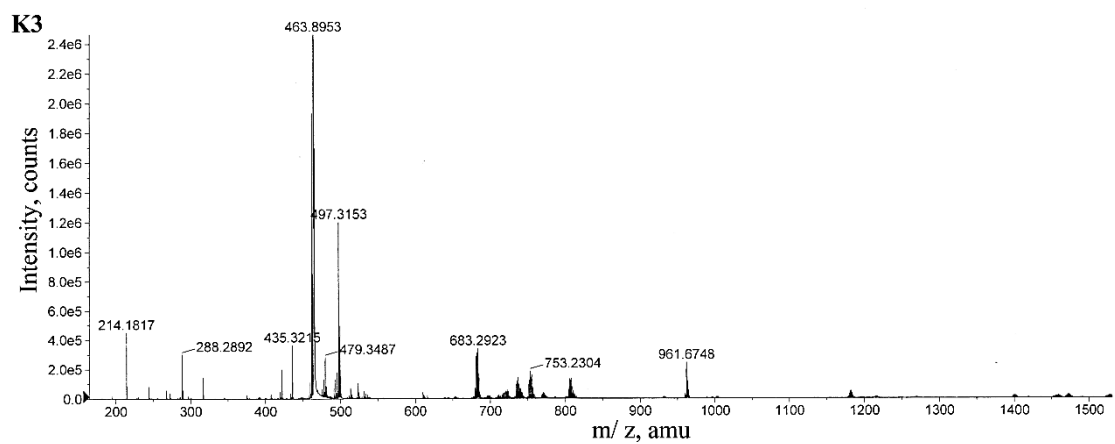
Slika P42. Infracrveni spektar kompleksa K2.

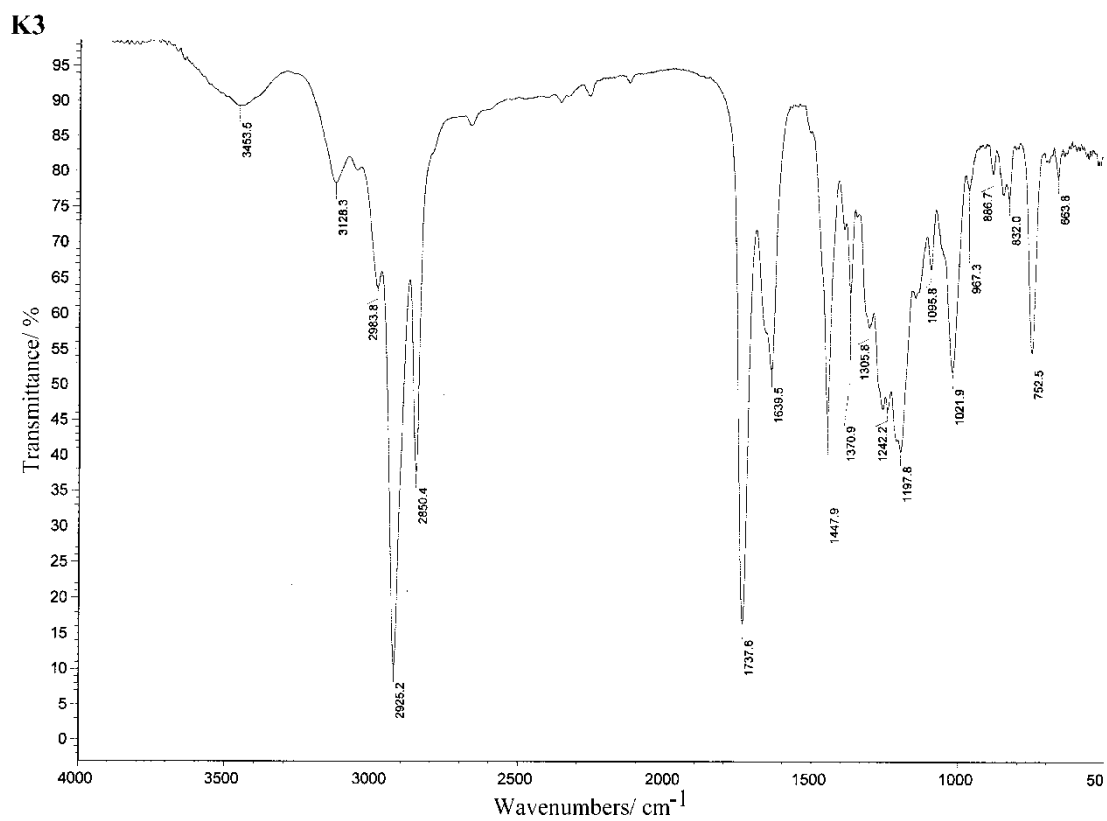


Slika P43. Ultraljubičasti spektar kompleksa **K2**.

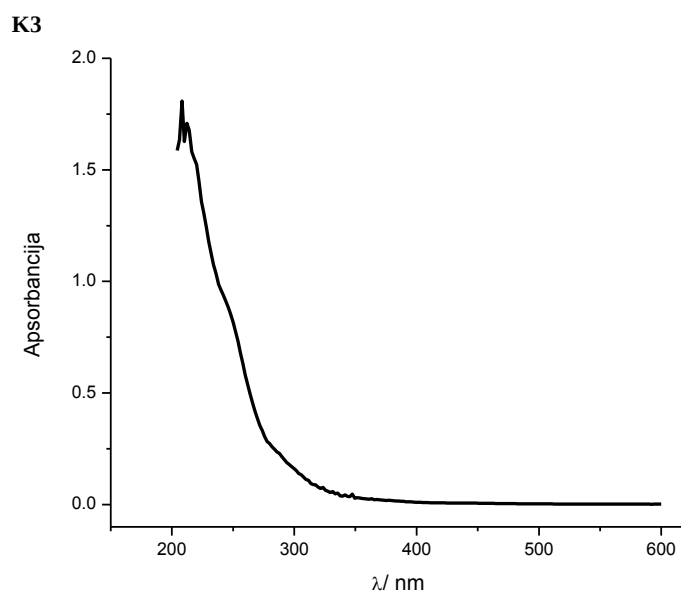


Slika P44. ^1H NMR spektar kompleksa **K3**.

K3**Slika P45.** ^{13}C NMR spektar kompleksa K3.**Slika P46.** Maseni spektar kompleksa K3.

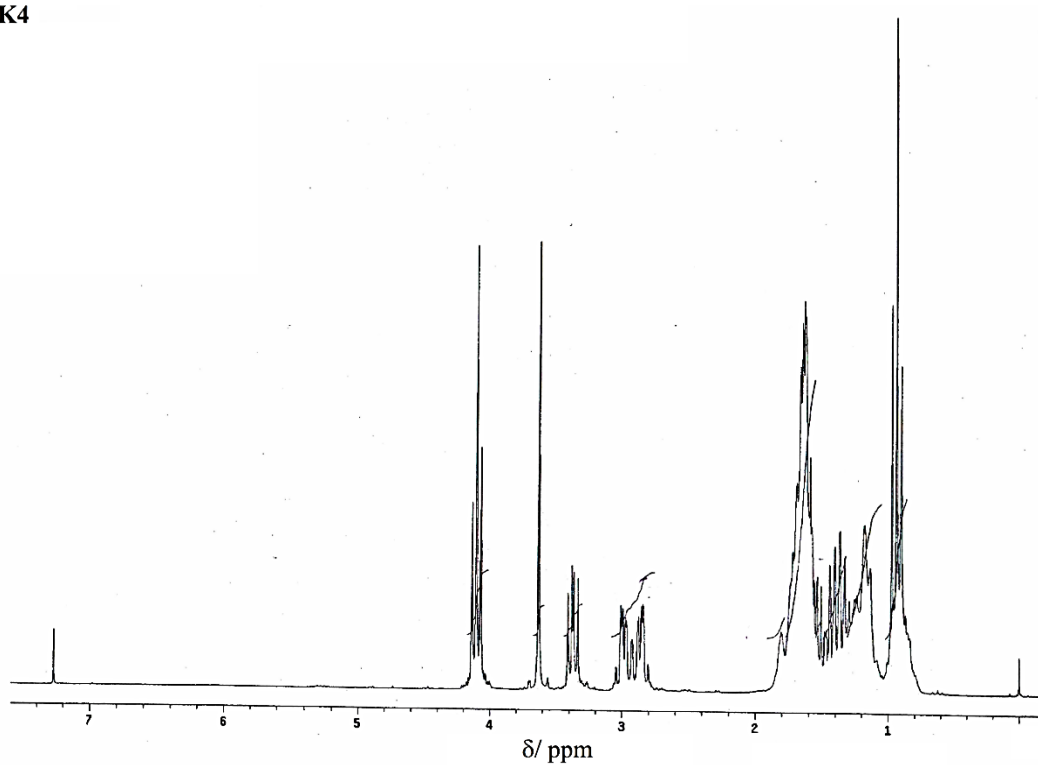


Slika P47. Infracrveni spektar kompleksa **K3**.

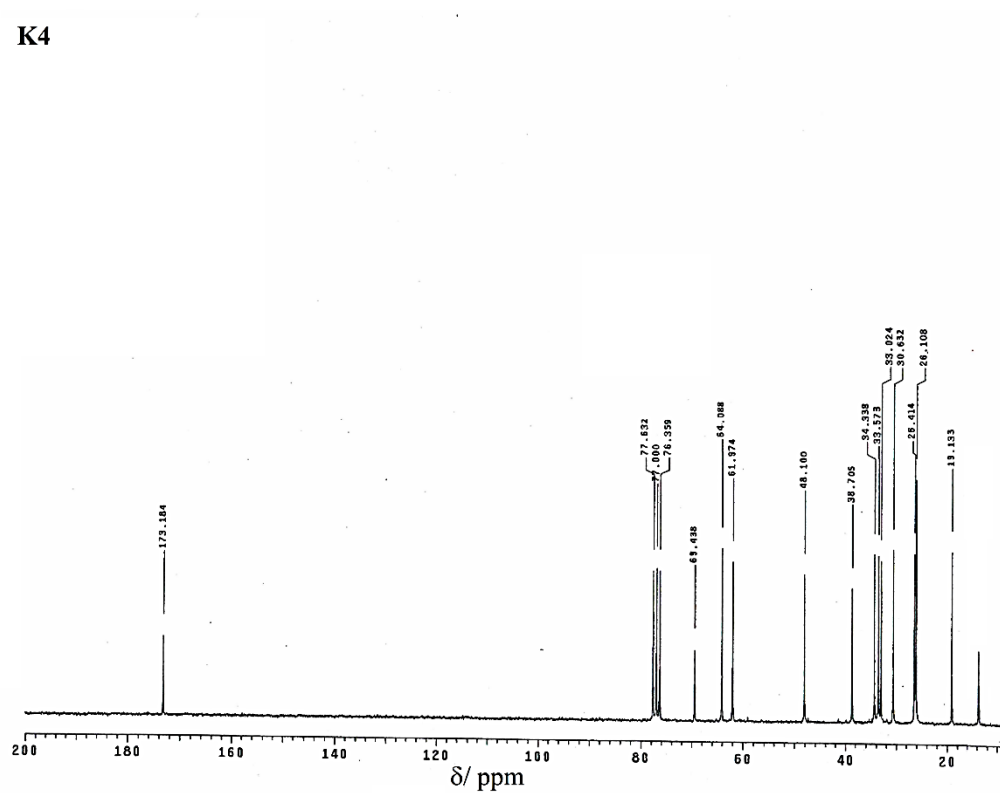


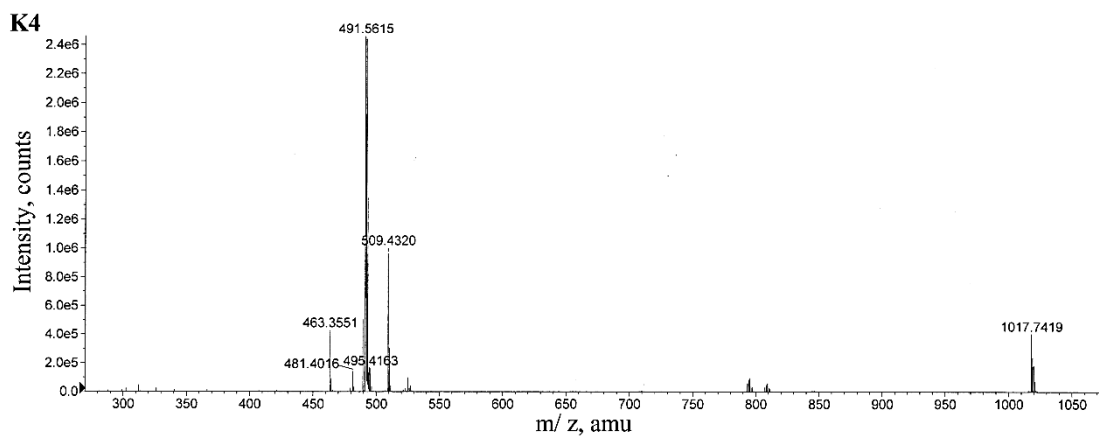
Slika P48. Ultraljubičasti spektar kompleksa **K3**.

K4

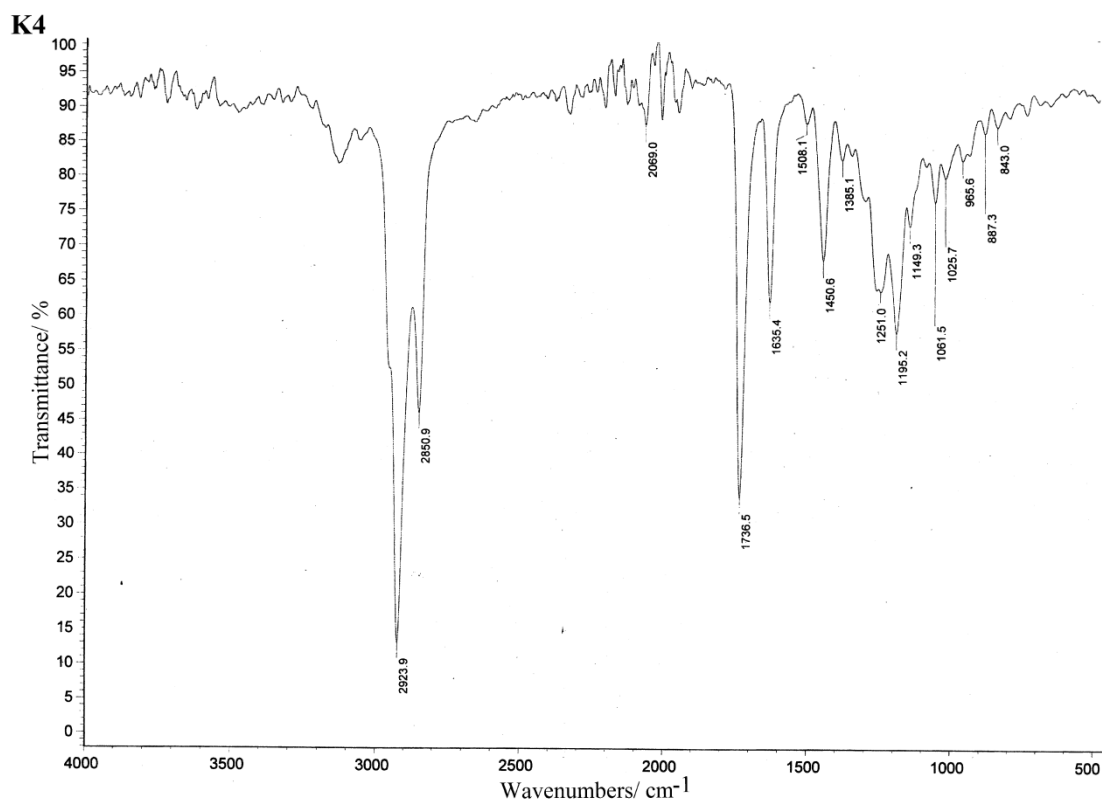
Slika P49. ^1H NMR spektar kompleksa K4.

K4

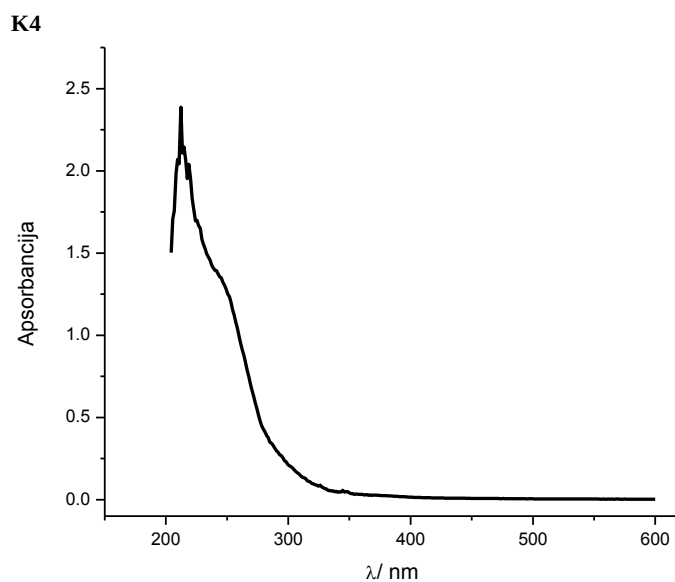
Slika P50. ^{13}C NMR spektar kompleksa K4.



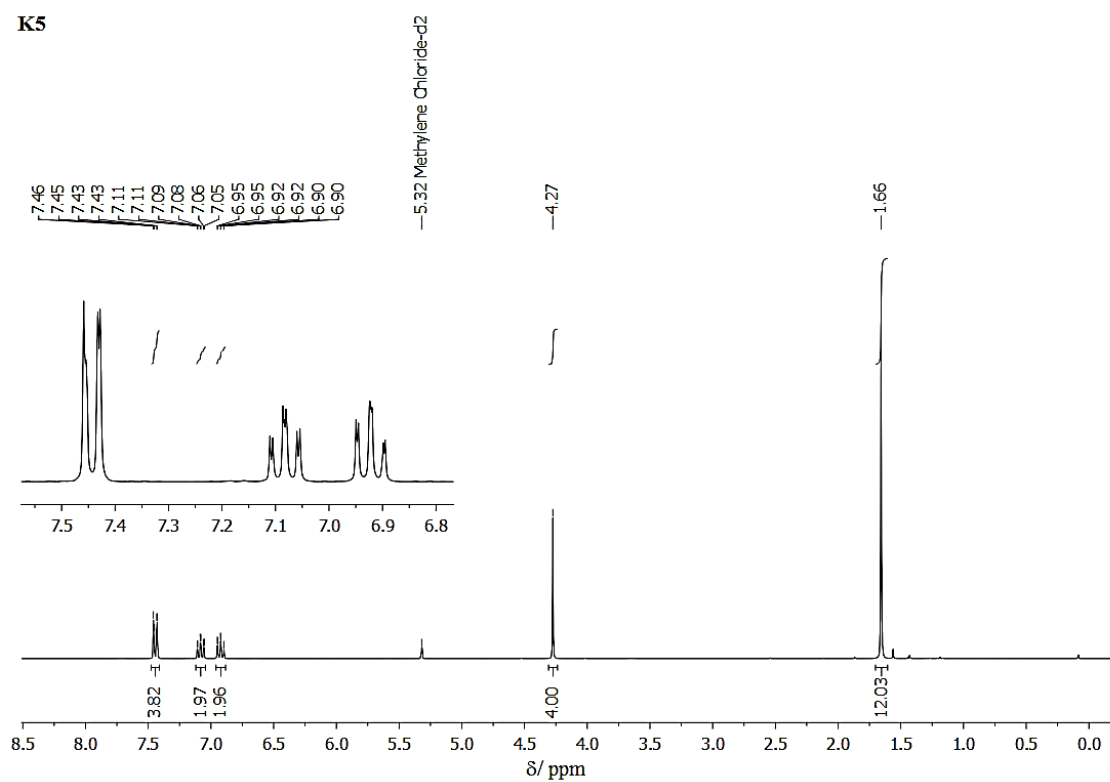
Slika P51. Maseni spektar kompleksa K4.



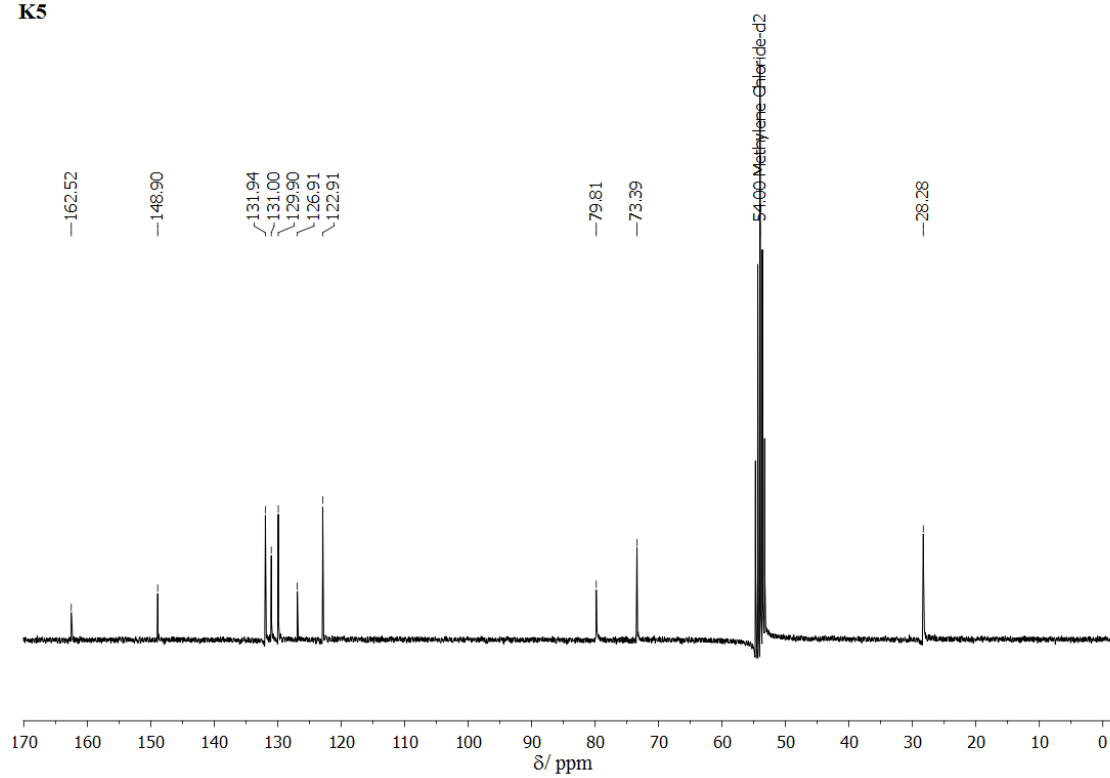
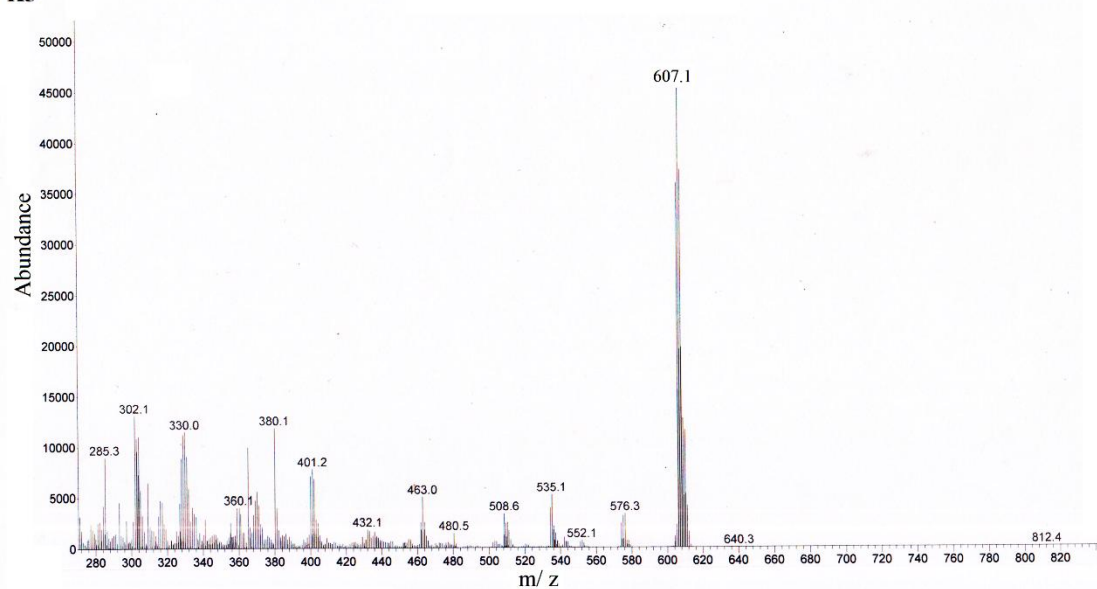
Slika P52. Infracrveni spektar kompleksa K4.

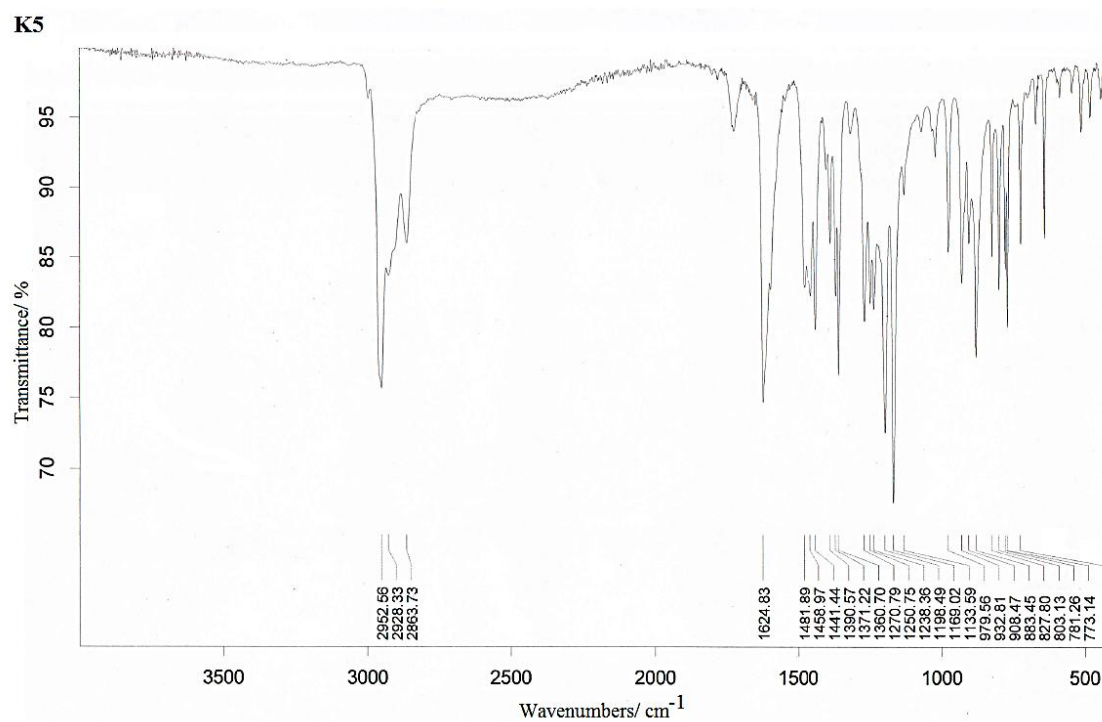


Slika P53. Ultraljubičasti spektar kompleksa **K4**.

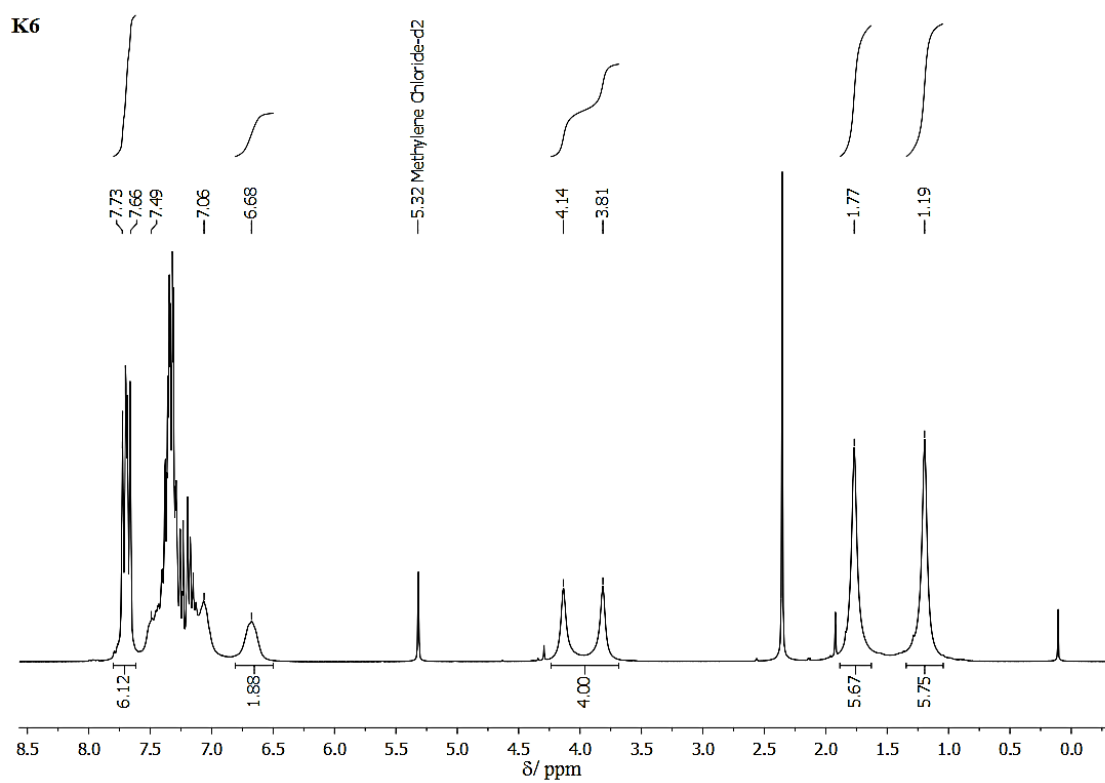


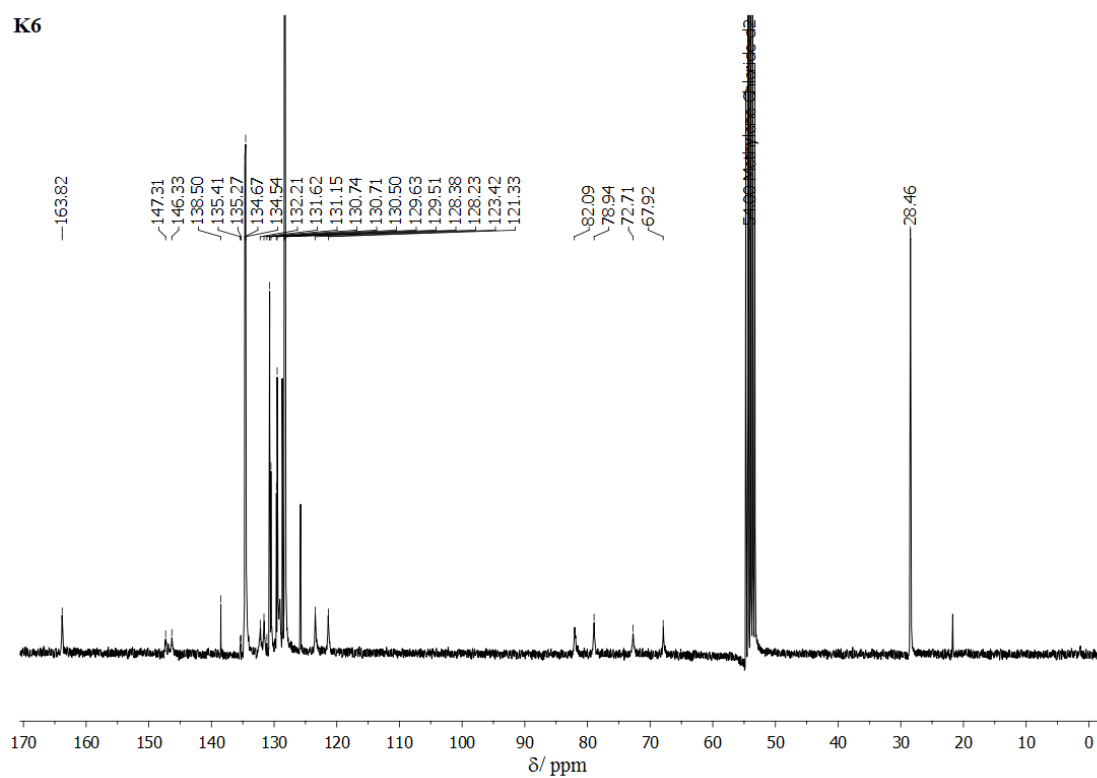
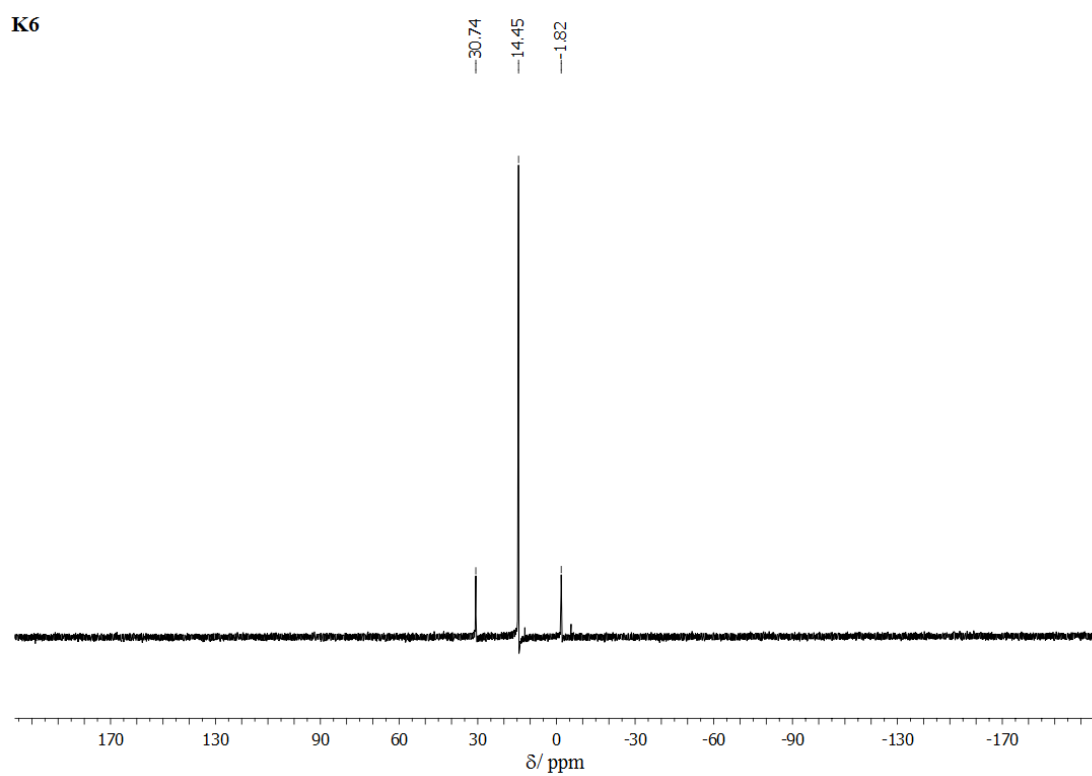
Slika P54. ^1H NMR spektar kompleksa **K5**.

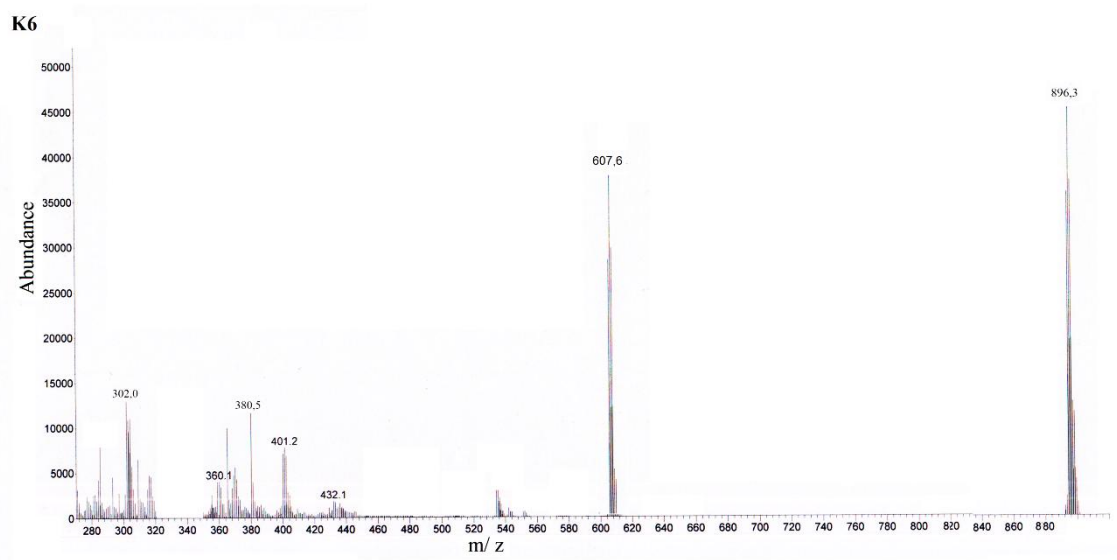
K5**Slika P55.** ^{13}C NMR spektar kompleksa **K5**.**K5****Slika P56.** Maseni spektar kompleksa **K5**.



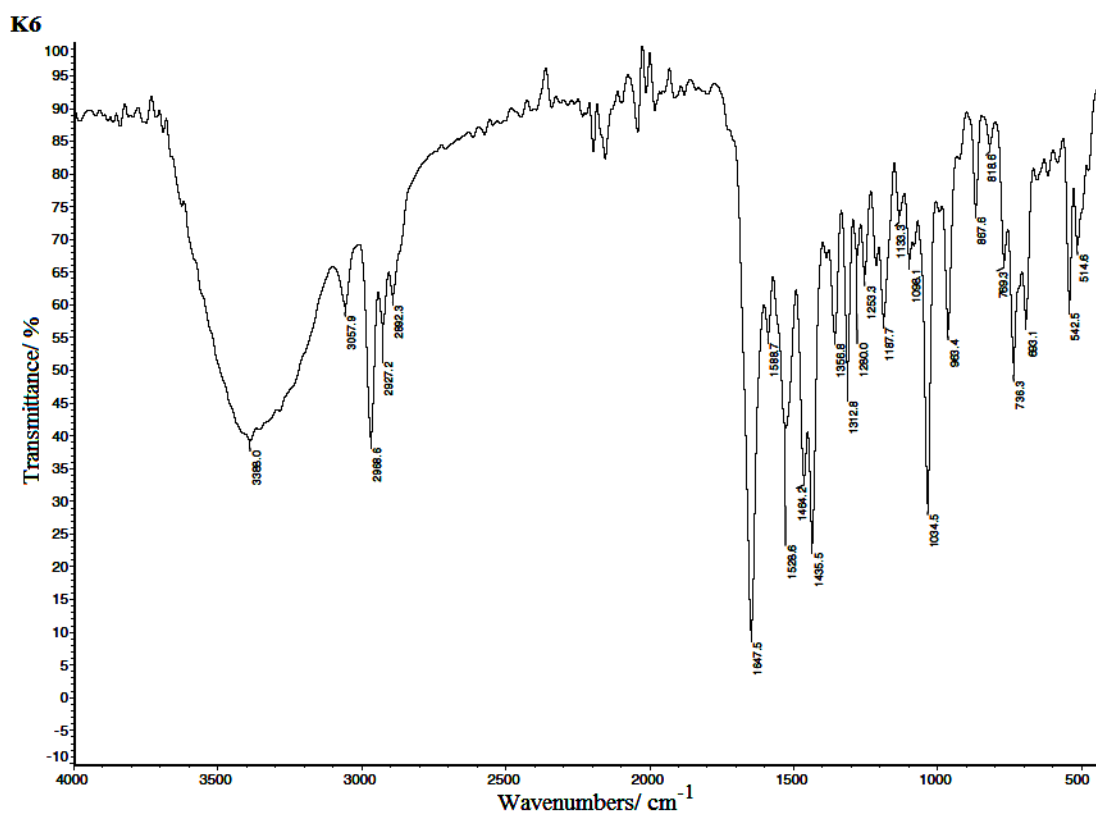
Slika P57. Infracrveni spektar kompleksa K5.

Slika P58. ^1H NMR spektar kompleksa K6.

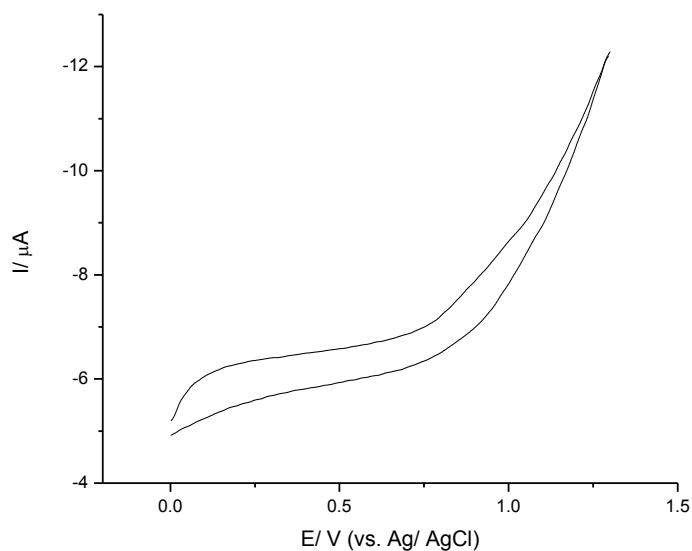
Slika P59. ^{13}C NMR spektar kompleksa K6.Slika P60. ^{31}P NMR spektar kompleksa K6.



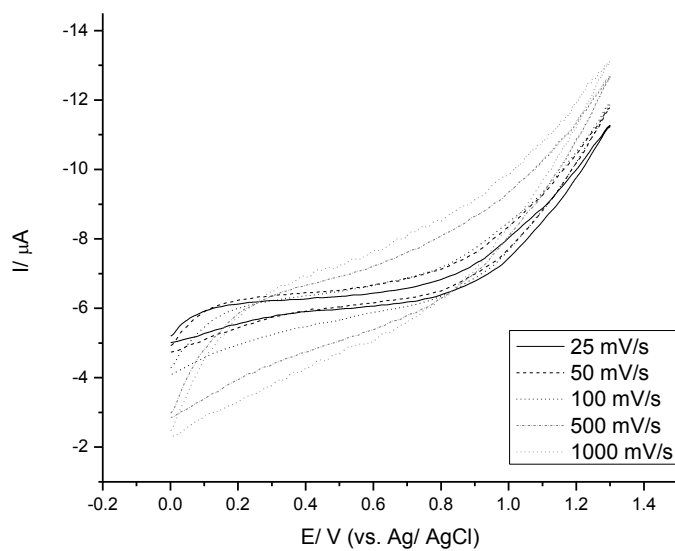
Slika P61. Maseni spektar kompleksa K6.



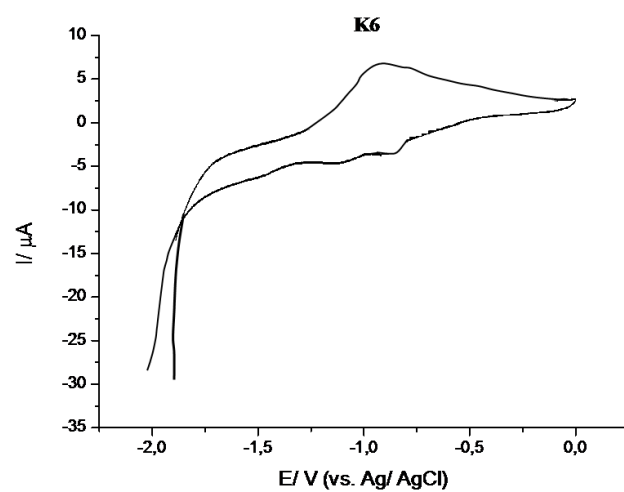
Slika P62. Infracrveni spektar kompleksa K6.



Slika P63. Ciklični voltamogram 0,1 mmol/dm³ rastvora elektrolita LiClO₄ u DMSO-u u oblasti potencijala $0 < E < 1,3$ V pri brzini polarizacije 25 mV/s.



Slika P64. Ciklični voltamogram 0,1 mmol/dm³ rastvora kompleksa K₂[PtCl₆] u DMSO-u u oblasti potencijala $0 < E < 1,3$ V pri različitim vrednostima brzina polarizacije (25, 50, 100, 500, 1000 mV/s).



Slika P65. Ciklični voltamogram kompleksa **K6**.

8. BIOGRAFIJA AUTORA

Ljiljana Mihajlović-Lalić je rođena 18.01.1983. godine u Zrenjaninu, Republika Srbija, gde je završila Osnovnu i Srednju Medicinsku školu. Fakultet za fizičku hemiju Univerziteta u Beogradu je upisala 2002. godine. Diplomski rad pod nazivom „Termička stabilnost i kristalizacija amorfne legure $\text{Fe}_{75}\text{Ni}_2\text{Si}_8\text{B}_{13}\text{C}_2$ ” je uradila na matičnom fakultetu pod rukovodstvom prof. dr Dragice Minić. Diplomirala je 11. 04. 2008. godine sa prosečnom ocenom 8,33 i iste godine nastavile master studije. Godinu dana kasnije je odbranila master rad, a zatim u oktobru 2009. godine upisala doktorske studije pri Katedri za opštu i neorgansku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Rad na Hemijskom fakultetu u Beogradu je započela 01.09.2008. godine u zvanju istraživač-pripravnik. Od 01.07.2011. godine je zaposlena na Inovacionom centru Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu u zvanju istraživač-saradnik.

U toku doktorskih studija je kao dobitnica JoinEU-SEE (*Erasmus Mundus*) stipendije boravila ukupno sedam meseci školske 2012/2013. godine u istraživačkoj grupi dr Nadia Mösch-Zanetti, profesorke Karl-Franzens Univerziteta u Gracu, Austrija.

Objavljeni naučni radovi koji su direktno proistekli iz doktorske disertacije:

1. Lj. E. Mihajlović-Lalić, A. Savić, G. Brađan, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: Novel methylene bridged ethylenediamine-type ligands: synthesis and spectral characterization, J. Serb. Chem. Soc. doi:10.2298/JSC140212042M.
2. Lj. E. Mihajlović, D. Stanković, J. Poljarević, D. Manojlović, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: Electrochemistry and Bioactivity Relationship of Pt(IV) Complexes with Cyclohexyl-Functionalized Ethylenediamine-*N,N'*-Diacetate-Type Ligands, Int. J. Electrochem. Sci. **8** (2013) 8433.
3. Lj. E. Mihajlović, A. Savić, J. Poljarević, I. Vučković, M. Mojić, M. Bulatović, D. Maksimović-Ivanić, S. Mijatović, S. Stošić-Grujičić, Đ. Miljković, S. Grgurić-Šipka, T. J. Sabo: Novel methylene modified cyclohexyl ethylenediamine-*N,N'*-diacetate ligands and their platinum(IV) complexes. Influence on biological activity, J. Inorg. Biochem. **109** (2012) 40.

Rad proistekao iz doktorske disertacije u procesu recenzije:

1. L. M. Peschel, C. Holzer, Lj. Mihajlović-Lalić, F. Belaj, N. C. Mösch-Zanetti, Coordinative Flexibility of a Thiophenolate Oxazoline Ligand in Ni(II), Pd(II) and Pt(II) Complexes.

Ostali naučni radovi:

1. A. Savić, S. Misirlić Denčić, M. Dulović, Lj. E. Mihajlović-Lalić, M. Jovanović, S. Grgurić-Šipka, I. Marković, T. J. Sabo: Synthesis, characterization and ROS-mediated cytotoxic action of novel (*S,S*)-1,3-propanediamine-*N,N'*-di-2-(cyclohexyl)propanoic acid and corresponding esters, Bioorganic Chemistry **54** (2014) 73.
2. D. G. Minić, V. A. Blagojević, Lj. E. Mihajlović, V. R. Čosović, D. M. Minić: Kinetics and mechanism of structural transformations of $\text{Fe}_{75}\text{Ni}_2\text{Si}_8\text{B}_{13}\text{C}_2$

amorphous alloy induced by thermal treatment, *Thermochimica Acta* **519** (2011) 83.

Saopštenja:

1. J. Poljarević, Lj. E. Mihajlović, D. Stanković, A. R. Savić: Electrochemical behavior of biologically active Pt(IV) complexes with edda type ligands, 1st international conference of young chemists of Serbia, HA P22, October 19-20, 2012, Belgrade, Serbia.
2. S. Grgurić-Šipka, Lj. E. Mihajlović, A. R. Savić, J. Poljarević, M. Mojić, M. Bulatović, T. J. Sabo: Antitumor activity of new *N,N'*-methylene modified cyclohexyl ethylenediamine-*N,N'*-diacetate (EDDA)-type ligands and their Pt(IV) complexes, P-87, September 12-16, 2012, Eurobic11, Granada, Spain.
3. Lj. E. Mihajlović, A. R. Savić, J. Poljarević, M. Mojić, M. Bulatović, S. Grgurić-Šipka, T. J. Sabo: Antitumor activity of platinum(IV) complexes with modified edda type of ligands, NH-P5, June 14-15, 2012, 50th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia.
4. A. R. Savić, Lj. E. Mihajlović, M. Dulović, I. Marković, T. J. Sabo, S. R. Grgurić-Šipka: New ruthenium(II) complexes with anti-leukaemic activity, NH04-O, May 13-14, 2011, 49th Meeting of the Serbian Chemical Society, Kragujevac, Serbia.
5. D. M. Minić, Lj. Mihajlović, A. Gavrilović, L. Rafailović, D. M. Minić: Kinetics of structural transformations of Fe₇₅Ni₂Si₈B₁₃C₂ amorphous alloy induced by thermal treatment, September 21-24, 2010, 10th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, Serbia.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписана Љиљана Е. Михајловић-Палић

број индекса ДХ20/2009

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, карактеризација и редокс понашање платина(II) и платина(IV) комплекса са N,N и N,S лигандима

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

Потпис докторанда

У Београду, 07.10.2014.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Љиљана Е. Михајловић-Палић

Број индекса ДХ20/2009

Студијски програм Доктор хемијских наука

Наслов рада Синтеза, карактеризација и редокс понашање платина(II) и платина(IV) комплекса са N,N и N,S лигандима

Ментори др Тибор Сабо

др Сања Гргурић-Шипка

Потписана Љиљана Е. Михајловић-Палић

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, 07.10.2014.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

Синтеза, карактеризација и редокс понашање платина(II) и платина(IV) комплекса са N,N и N,S лигандима

која је моје ауторско дело.

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

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, 07.10.2014.
