

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Aleksandar R. Savić

**KOMPLEKSI PLATINE(II) I
RUTENIJUMA(II) SA DIAMINSKIM
LIGANDIMA: SINTEZA,
KARAKTERIZACIJA I
CITOTOKSIČNOST**

doktorska disertacija

Beograd, 2014

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Aleksandar R. Savić

**COMPLEXES OF PLATINUM(II) AND
RUTHENIUM(II) WITH DIAMINE
LIGANDS: SYNTHESIS,
CHARACTERIZATION AND
CITOTOXICITY**

Doctoral Disertation

Belgrade, 2014

Mentor

dr Sanja Grgurić-Šipka, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet

Članovi komisije

dr Tibor Sabo, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet

dr Sonja Misirlić Denčić, docent

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija urađena je pri Katedri za opštu i neorgansku hemiju, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Istraživanja u okviru bioloških ispitivanja rađena su na Institutu za biohemiju, Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institutu za onkologiju i radiologiju u Beogradu i Institutu za biološka istraživanja u Beogradu.

Temu doktorske disertacije predložili su mentor dr Sanja Grgurić-Šipka, vanredni profesor i dr Tibor Sabo, redovni profesor, koji su rukovodili ovim radom i sve vreme mi pružali svestranu pomoć, na čemu im se najtoplije zahvaljujem.

Posebno se zahvaljujem dr Sonji Misirlić Denčić, docentu Medicinskog fakulteta u Beogradu, na velikom angažovanju i bezgraničnoj podršci tokom izrade ove teze.

Zahvaljujem se dr Vladimiru Arionu, vanrednom profesoru Instituta za neorgansku hemiju, Univerziteta u Beču, na pomoći u rešavanju kristalne strukture.

Prof. Luigi Messori i njegova istraživačka grupa su svojim angažovanjem na ispitivanju interakcija sintetisanih kompleksa sa malim model proteinima značajno unapredili ovaj rad, na čemu im se najiskrenije zahvaljujem.

Takođe se zahvaljujem zaposlenima na odeljenju za Instrumentalnu analizu, Hemijskog fakulteta, gde je urađena karakterizacija sintetisanih jedinjenja, a posebnu zahvalnost dugujem dr Snežani Trifunović i dr Ivanu Vučkoviću.

Zahvaljujem se svim kolegama, a posebno Ljiljani i Jeleni na lepim trenucima koje smo zajedno proveli.

Dugujem zahvalnost svim prijateljima na podršci i razumevanju, a naročito jedno veliko hvala Stani za iskreno druženje i prijateljstvo.

I najзад zahvaljujem se svojoj porodici na nesebičnoj podršci koju mi je pružila.

Kompleksi platine(II) i rutenijuma(II) sa diaminskim ligandima: sinteza, karakterizacija i citotoksičnost

REZIME

U ovom radu su opisani sinteza, karakterizacija i biološka aktivnost nove (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline i njenih estara (metil, etil, *n*-propil, *n*-butil, izobutil, *n*-pentil i izopentil), koji su korišćeni za sintezu kvadratno-planarnih Pt(II) jodido kompleksa, opšte formule $[PtI_2\{(S,S)-R_2pddchxp\}]$. Takođe je opisana sinteza, karakterizacija i biološka aktivnost novih organorutenijum(II) kompleksa sa estrima (*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (metil, etil, *n*-propil, *n*-butil, izobutil i izopentil), opšte formule $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)-R_2eddchxp\}]PF_6$.

Polazna kiselina je dobijena u reakciji (*S*)-2-amino-3-cikloheksilpropanske kiseline i 1,3-dibrompropana u vodenom rastvoru, dok je njena esterifikacija izvršena pomoću tionil-hlorida i odgovarajućeg alkohola. Jodido kompleksi platine(II) su dobijeni reakcijom kalijum-tetrahloridoplatinata(II) i odgovarajućih estara, uz dodatak kalijum-jodida, dok su odgovarajući rutenijum(II) kompleksi sintetisani u reakciji između $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl_2]_2$ i estara (*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline.

Karakterizacija ligandada je urađena klasičnim metodama: elementalnom analizom, IC, (1H i ^{13}C) NMR spektroskopijom i masenom spektrometrijom, dok su kompleksi pored navedenih metoda, okarakterisani i elektronskom apsorpcionom spektroskopijom, rendgenskom strukturnom analizom za kompleks $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}iBu_2eddchxp\}]PF_6$ i ^{195}Pt NMR spektroskopijom za kompleks $[PtI_2\{(S,S)\text{-}iBu_2pddchxp\}]$. Na osnovu rezultata dobijenih karakterizacijom, utvrđeno je da kompleksi platine(II) imaju kvadratno-planarnu strukturu, sa *N,N'* bidentatno vezanim estarskim ligandima. Na osnovu rendgenske-strukturne analize kompleksa $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}iBu_2eddchxp\}]PF_6$, potvrđena je pseudo-oktaedarska geometrija sintetisanih Ru(II) kompleksa, sa koordinacijom estarskog liganda preko

azotovih atoma. Takođe je ispitana stabilnost kompleksa platine i kompleksa rutenijuma u različitim rastvaračima, kao i mogućnost vezivanja ovih kompleksa za lizozim.

Na kraju je utvrđena i *in vitro* antitumorska aktivnost sintetisanih jedinjenja. Od sintetisanih liganada, *n*-butil ester (S,S) -1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline je ispoljio najveću antitumorsku aktivnost, kao i veoma dobru selektivnost prema ćelijama humanog glioma. Kompleksi $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-R}_2\text{pddchxp}\}]$ ($\text{R} = i\text{Bu}, n\text{Pe}, i\text{Pe}$) ispoljili su antitumorsko dejstvo uporedivo sa aktivnošću *cisplatina*, sa najvećim potencijalom prema HeLa i LS-174 ćelijskim linijama. Rutenijum(II) kompleks $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}n\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$ pokazao je veliku selektivnost prema polimorfonuklearnim ćelijama periferne krvi obolelih od leukemije, u odnosu na iste ćelije zdravih dobrovoljaca. Takođe, dokazana je dobra antitumorska aktivnost kompleksa $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-R}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$ ($\text{R} = i\text{Bu}$ i $i\text{Pe}$) na *cisplatin*-rezistentnoj ćelijskoj liniji HCT116.

Ključne reči: kompleksi platine(II), diaminski ligandi, organorutenijum(II) kompleksi, pseudo-oktaedarska geometrija, *in vitro* citotoksično dejstvo, tumorske ćelijske linije.

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Opšta i neorganska hemija

UDK broj: 546. 9

Complexes of platinum(II) and ruthenium(II) with diamine ligands:
synthesis, characterization and citotoxicity

SUMMARY

In this work, the synthesis, characterization and biological activity of novel (*S,S*)-1,3-propanediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoic acid, its esters (methyl, ethyl, *n*-propyl, *n*-butyl, *i*-butyl, *n*-pentyl and *i*-pentyl) and corresponding square-planar iodido Pt(II) complexes, of general formula $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-R}_2\text{pddchxp}\}]$, are presented. In addition, the synthesis, characterization and biological activity of novel organoruthenium(II) complexes with esters of (*S,S*)-ethanediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoic acid (methyl, ethyl, *n*-propyl, *n*-butyl, *i*-butyl and *i*-pentyl), general formula, of $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-R}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$, were reported.

Starting acid was obtained by reaction of (*S*)-2-amino-3-cyclohexyl-propanoic acid and 1,3-dibromopropane, in water solution, while esterification was performed with thionyl chloride and corresponding alcohol. Iodido complexes of platinum(II) were obtained by reaction of potassium tetrachloridoplatinate(II) and synthesized esters, with adding of potassium iodide. Ruthenium(II) complexes were synthesized by reaction between $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}_2]_2$ and different esters of (*S,S*)-ethanediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoic acid. Ligands were characterized by elemental analysis, IR, (^1H and ^{13}C) NMR spectroscopy and mass spectrometry, while the complexes, in addition to these methods, were characterized and UV/Vis, single crystal X-ray structure diffraction analysis for $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$ and ^{195}Pt NMR spectroscopy for $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{pddchxp}\}]$. Based on these results, it is found that complexes platinum(II) have square-planar geometry with coordination of ligands *via* nitrogen donor atoms of ester ligands. Single crystal X-ray structure diffraction analysis of $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$ showed the usual piano-stool geometry of complexes, with *N,N'* coordination of ester ligands. The stability of the complexes of platinum and ruthenium in different solvents was investigated, as well as the ability of these complexes to bind lysozyme.

Finally, *in vitro* antitumor activity of synthesized compounds is determined. Among all of the synthesized ligands, *n*-butyl ester of (*S,S*)-propylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl) propionic acid showed the highest antitumor activity, as well as a very good selectivity towards glioma cells. The $[\text{PtI}_2\{(\text{S,S})\text{-R}_2\text{pddchxp}\}]$ ($\text{R} = i\text{Bu}, n\text{Pe}, i\text{Pe}$) complexes showed good antitumor activity comparable to the activity of *cisplatin*, with the greatest potential on HeLa and LS-174. Ruthenium(II) complex $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}\{(\text{S,S})\text{-}n\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$ exhibited high selectivity against peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of leukemic patients, when compared to PBMC of healthy volunteers. Moreover, the investigated complexes $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}\{(\text{S,S})\text{-R}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$ ($\text{R} = i\text{Bu}$ and $i\text{Pe}$) were particularly active towards *cisplatin* resistant HCT116 cell line.

Keywords: Platinum(II) complexes, diamine ligands, organoruthenium(II) complexes, piano-stool geometry, *in vitro* cytotoxicity, tumor cell lines.

Area of science: Chemistry

Sub-area of science: General and Inorganic chemistry

UDC number: 546. 9

Lista skraćenica

DNK	dezoksiribonukleinska kiselina
SOD	superoksid dismutaza
HEWL	"hen egg-white lysozyme"
His	histidin
NAMI-A	imidazolijum [<i>trans</i> -tetrahlrido(dimetilsulfoksid)(imidazol)rutenat(III)]
KP1019	indazolijum [<i>trans</i> -tetrahlridobis(1 <i>H</i> -indazol)rutenat(III)]
Bpy	2,2'-bipiridin
Phen	1,10-fenantrolin
Terpy	2,2':6'2"-terpiridin
Dppz	dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazin
Dpq	dipirido[3,2-f:2',3'-h]-hinoksalin
Dpx	7,8-dimetildipiridofenazin
PTA	1,3,5-triaza-7-fosfatriciklo[3.3.1.1]dekan
DMSO	dimetil-sulfoksid
TFA	trifluorsirćetna kiselina
MTT	2,5-difenil-3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2 <i>H</i> -tetrazolijum-bromid
PBS	fosfatni puferski rastvor ("Phosphate Buffer Solution")
PI	propidijum jodid
Ann	aneksin
FITC	fluorescein izotiocijanat

CV	kristal violet
<i>R,R</i> -dach	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-cikloheksan-1,2-diamin
en	etilendiamin (1,2-etandiamin)
acac	asetilacetato
<i>p</i> -cimen	<i>para</i> -izopropilmetilbenzen
edda	etandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
dmedda	<i>N,N'</i> -dimetiletandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
deedda	<i>N,N'</i> -dietiletandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
dbedda	<i>N,N'</i> -dibenziletandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
cdda	1,2-cikloheksandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
me ₂ chxnda	<i>N,N'</i> -dimetil-1,2-cikloheksandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
uedda	<i>N</i> -(2-aminoetil)-iminodiacetat
eddp	etandiamin- <i>N,N'</i> -di-3-propanoat
eddp	etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-propanoat
eddl	etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(4-metil)-pentanoat
eddchxp	etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat
me ₂ eddp	<i>N,N'</i> -dimetiletandiamin- <i>N,N'</i> -di-3-propanoat
dmeddpa	<i>N,N'</i> -dimetiletandiamin- <i>N,N'</i> -di- α -propanoat
1,3-pdda	1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat
1,3-pddp	1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-3-propanoat
1,3-pddchxp	1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat
pdta	1,2-propandiamin- <i>N,N,N',N'</i> -tetraacetat

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>n</i> Pe	<i>n</i> -pentil
<i>i</i> Pe	izopentil
Cy	cikloheksil
ULj/Vid	ultraljubičasta/vidljiva (spektroskopija)
ATR	"Attenuated Total Reflection"
TFA	trifluorsirćetna kiselina
LC-MS	"Liquid Chromatography-Mass Spectrometry"
CD	cirkularni-dihroizam ili cirkularno-dihroična spektroskopija
NMR	nuklearno-magnetna rezonantna (spektroskopija)
HSQC	"Heteronuclear Single Quantum Coherence"
ESI-MS	elektrosprej masena spektrometrija

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPŠTI DEO	2
2.1. Tumori: značaj i strategije lečenja.....	2
2.2. Platinski lekovi	3
2.2.1. Mehanizam delovanja <i>cisplatina</i>	4
2.2.2. <i>Karboplatin</i>	6
2.2.3. <i>Oksaliplatin</i>	6
2.2.4. <i>Nedaplatin</i>	7
2.2.5. <i>Heptaplatin</i>	7
2.3. Odnos strukture i aktivnosti platinskih lekova	7
2.4. Kompleksi platine (IV).....	9
2.4.1. <i>Iproplatin</i>	9
2.4.2. <i>Tetraplatin</i>	10
2.4.3. <i>Satraplatin</i>	10
2.5. Rutenijumski kompleksi sa antitumorskim dejstvom.....	10
2.5.1. Kompleksi rutenijuma(III).....	11
2.5.2. Kompleksi rutenijuma(II)	13
2.5.3. Rutenijum(II) arenski kompleksi.....	13
2.6. Derivati etilendiamin- <i>N,N'</i> -diacetata kao ligandi.....	17
2.7. Kompleksi platine(II) sa ligandima edda tipa.....	19
2.8. Kompleksi rutenijuma sa ligandima edda tipa	21
3. EKSPERIMENTALNI DEO	23
3.1. Sinteza liganada.....	23
3.1.1. Sinteza (<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₄ pddchxp]Cl ₂	23

3.1.2. Estri (<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, [(<i>S,S</i>)-H ₂ R ₂ pddchxp]Cl ₂	24
3.1.2.1. Sinteza <i>O,O'</i> -dimetil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₂ Me ₂ pddchxp]Cl ₂	24
3.1.2.2. Sinteza <i>O,O'</i> -dietil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₂ Et ₂ pddchxp]Cl ₂	25
3.1.2.3. Sinteza <i>O,O'</i> -di- <i>n</i> -propil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>n</i> Pr ₂ pddchxp]Cl ₂	26
3.1.2.4. Sinteza <i>O,O'</i> -di- <i>n</i> -butil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>n</i> Bu ₂ pddchxp]Cl ₂	27
3.1.2.5. Sinteza <i>O,O'</i> -diizobutil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>i</i> Bu ₂ pddchxp]Cl ₂	28
3.1.2.6. Sinteza <i>O,O'</i> -di- <i>n</i> -pentil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>n</i> Pe ₂ pddchxp]Cl ₂	29
3.1.2.7. Sinteza <i>O,O'</i> -diizopentil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>i</i> Pe ₂ pddchxp]Cl ₂	30
3.2. Sinteza kompleksa	31
3.2.1. Kompleksi platine(II)	31
3.2.1.1. Sinteza diiodido(<i>O,O'</i> -dietil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), [PtI ₂ {(<i>S,S</i>)-Et ₂ pddchxp}]	31
3.2.1.2. Sinteza diiodido(<i>O,O'</i> -di- <i>n</i> -butil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), [PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>n</i> Bu ₂ pddchxp}]	32
3.2.1.3. Sinteza diiodido(<i>O,O'</i> -di-izobutil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), [PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>i</i> Bu ₂ pddchxp}]	33
3.2.1.4. Sinteza diiodido(<i>O,O'</i> -di- <i>n</i> -pentil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), [PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>n</i> Pe ₂ pddchxp}]	34
3.2.1.5. Sinteza diiodido(<i>O,O'</i> -di-izopentil-(<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), [PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>i</i> Pe ₂ pddchxp}]	35
3.2.2. Kompleksi rutenijuma(II)	36
3.2.2.1. Sinteza (η ⁶ - <i>p</i> -cimen)hlorido- <i>O,O'</i> -dimetil-(<i>S,S</i>)-etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [(η ⁶ - <i>p</i> -cimen)RuCl{(<i>S,S</i>)-Me ₂ eddchxp}]PF ₆	36
3.2.2.2. Sinteza (η ⁶ - <i>p</i> -cimen)hlorido- <i>O,O'</i> -dietil-(<i>S,S</i>)-etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [(η ⁶ - <i>p</i> -cimen)RuCl{(<i>S,S</i>)-Et ₂ eddchxp}]PF ₆	37

3.2.2.3. Sinteza (η^6 - <i>p</i> -cimen)hlorido- <i>O,O'</i> - <i>n</i> -propil-(<i>S,S</i>)-etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [$(\eta^6$ - <i>p</i> -cimen)RuCl{(<i>S,S</i>)- <i>n</i> Pr ₂ eddchxp}]PF ₆	38
3.2.2.4. Sinteza (η^6 - <i>p</i> -cimen)hlorido- <i>O,O'</i> - <i>n</i> -butil-(<i>S,S</i>)-etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [$(\eta^6$ - <i>p</i> -cimen)RuCl{(<i>S,S</i>)- <i>n</i> Bu ₂ eddchxp}]PF ₆	39
3.2.2.5. Sinteza (η^6 - <i>p</i> -cimen)hlorido- <i>O,O'</i> -diizobutil-(<i>S,S</i>)-etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [$(\eta^6$ - <i>p</i> -cimen)RuCl{(<i>S,S</i>)- <i>i</i> Bu ₂ eddchxp}]PF ₆	40
3.2.2.6. Sinteza (η^6 - <i>p</i> -cimen)hlorido- <i>O,O'</i> -diizopentil-(<i>S,S</i>)-etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [$(\eta^6$ - <i>p</i> -cimen)RuCl{(<i>S,S</i>)- <i>i</i> Pe ₂ eddchxp}]PF ₆	41
3.3. Ispitivanje stabilnosti kompleksa u različitim rastvaračima	43
3.3.1. Stabilnost Pt(II) kompleksa u različitim rastvaračima	43
3.3.2. Stabilnost Ru(II) kompleksa u različitim rastvaračima	43
3.4. Ispitivanje interakcija kompleksa sa lizozimom pomoću masene spektrometrije	43
3.5. Materijal i metode	44
3.5.1. Supstance korišćene u sintezama	44
3.5.2. Supstance korišćene za ispitivanje stabilnosti kompleksa u različitim rastvaračima i ispitivanje interakcija kompleksa sa lizozimom.	44
3.5.3. Elementalna analiza	44
3.5.4. Infracrvena spektroskopija	44
3.5.5. NMR spektroskopija	44
3.5.6. Masena spektrometrija	45
3.5.7. Elektronska apsorpciona spektroskopija	45
3.5.8. Tačka topljenja	45
3.5.9. Vrednosti za lipofilnost	45
3.5.10. Rendgenska strukturna analiza	46
3.5.11. Čelijske kulture i reagensi	47
3.5.12. Ispitivanje uticaja sintetisanih jedinjenja na vijabilitet ćelija	48

3.5.13. Analiza parametara ćelijske smrti metodom protočne citometrije	49
3.5.14. Analiza ukupne unutarćelijske akumulacije i unutarćelijske distribucije platine u DNK frakciji metodom ICP-MS.....	50
3.5.15. Statistička analiza	52
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	53
4.1. Sinteze	53
4.1.1. Sinteza (<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline dihidrohlorida	53
4.1.2. Sinteza estara (<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline.....	53
4.1.3. Sinteza platina(II) jodido kompleksa sa estrima (<i>S,S</i>)-1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline	54
4.1.4. Sinteza organorutenijum(II) kompleksa	55
4.2. Spektroskopska karakterizacija sintetisanih liganada i kompleksa	56
4.2.1. Infracrveni spektri sintetisanih liganada i Pt(II) kompleksa.....	56
4.2.2. Infracrveni spektri sintetisanih organorutenijum(II) kompleksa	57
4.2.3. Nuklearno-magnetni rezonancioni spektri liganada	58
4.2.4. Nuklearno-magnetni rezonancioni spektri Pt(II) kompleksa	59
4.2.5. Nuklearno-magnetni rezonancioni spektri organorutenijum(II) kompleksa	59
4.2.6. Masena spektrometrija.....	60
4.2.7. Maseni spektri sintetisanih jedinjenja.....	61
4.2.8. Rendgenska strukturna analiza	62
4.3. Stabilnost kompleksa u različitim rastvaračima i interakcije kompleksa sa lizozimom	64
4.4. <i>In vitro</i> antitumorsko dejstvo sintetisanih jedinjenja.....	68
4.4.1. Citotoksična aktivnost jedinjenja L1-L5	68
4.4.2. Utvrđivanje modaliteta smrti ćelija humanog glioma u tretmanu sa odabranim predstavnikom grupe jedinjenja-L5	69

4.4.3. Citotoksična aktivnost liganada L6-L8 i Pt(II) kompleksa, K3-K5	70
4.4.4. Utvrđivanje modaliteta smrti HeLa ćelija u tretmanu sa kompleksom K3 ..	71
4.4.5. Rezultati analize ukupne unutarćelijske akumulacije i distribucije platine u DNK frakciji	73
4.4.6. Rezultati ICP-MS merenja platina(II)-DNK vezivanja	74
4.4.7. Antitumorsko dejstvo organorutenijumovih kompleksa	74
4.4.8. Utvrđivanje tipa smrti HL-60 ćelija i mononuklearnih ćelija periferne krvi u tretmanu organorutenijumskim kompleksom K9	75
4.4.9. Antitumorsko dejstvo organorutenijum(II) kompleksa K10 i K11	77
4.4.10. Utvrđivanje tipa ćelijske smrti u tretmanu HCT116 ćelija kompleksom rutenijuma K10	78
5. ZAKLJUČAK.....	80
6. LITERATURA	83
7. PRILOG.....	93

1. UVOD

Kompleksi prelaznih metala pored svog fundamentalnog značaja u okviru koordinacione hemije, zauzimaju posebno mesto u oblastima bioneorganske i medicinske hemije, zbog njihove potencijalne primene u lečenju i dijagnostici različitih vrsta oboljenja.

Kompleksna jedinjenja sa polidentatnim ligandima edta i edda tipa intenzivno su proučavana još od sredine prošlog veka, baš zbog njihove sposobnosti da ispoljavaju raznovrsnu biološku aktivnost. Najznačajnija potencijalna primena ovih jedinjenja jeste upravo u terapiji različitih vrsta tumora. Sintetisan je veliki broj kompleksnih jedinjenja kobalta, platine, rutenijuma, zlata i paladijuma sa pomenutim ligandima, sa ciljem da se dobije kompleks sa što boljim i selektivnijim antitumorskim dejstvom. Takođe se veliki naponi ulažu i u rasvetljavanje potencijalnog mehanizma njihovog antitumorskog delovanja.

S obzirom na to, da su pojedini kompleksi platine već u kliničkoj upotrebi, a da su neki kompleksi rutenijuma stigli u fazu kliničkih ispitivanja, veoma je značajno ispitati mogućnosti dobijanja različitih kompleksa rutenijuma i platine sa ligandima koji predstavljaju derivate edda molekula, kao i u slučaju uspešne sinteze, analizirati njihovu *in vitro* antitumorsku aktivnost i potencijalni mehanizam delovanja. Istraživanja obuhvaćena ovom tezom usmerena su ka dobijanju jedinjenja sa što boljim antitumorskim svojstvima.

2. OPŠTI DEO

2.1. Tumori: značaj i strategije lečenja

Tumori su vrsta oboljenja koju karakteriše nekontrolisana deoba malignih ćelija, koje brojčano dominantne prodiru u okolno zdravo tkivo, ali i migriraju do udaljenih tkiva (metastaza)¹. Prema statističkim podacima svetske zdravstvene organizacije za 2012. godinu², maligna oboljenja su značajan uzrok mortaliteta kako u svetskoj populaciji, tako i kod nas. Kod muškaraca najdominantniji su karcinomi prostate i pluća, kao i kolorektalni karcinom, dok su kod žena najzastupljeniji karcinomi dojke i pluća³.

Kancerogeneza je složen proces maligne transformacije ćelije, koji se odvija kroz više sukcesivnih događaja, koji između ostalog, modulišu regulaciju ekspresije gena angažovanih u kontroli ćelijskog ciklusa, diferencijaciji, pokretanju i kontroli ćelijske smrti⁴.

Terapijski pristup lečenju malignih bolesti podrazumeva hirurško odstranjivanje tumora, terapiju zračenjem i hemioterapiju.

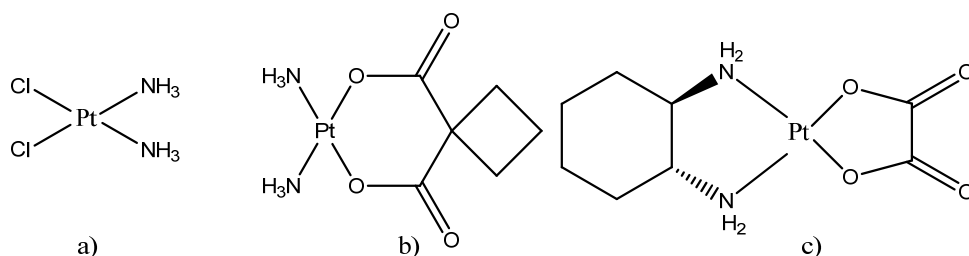
- **Hirurški pristup:** podrazumeva hiruško otklanjanje (ekcizija) tumora ili njegovog pristupačnog dela.
- **Radioterapija:** obuhvata dozirano i kontrolisano ozračivanje tumora ili regije u kojoj se isti nalazio nakon njegovog hirurškog odstranjivanja. Može da se koristi kod čvrstih tumora i lokalizovanih pojedinačnih metastaza. Ova metoda je jako štetna za zdrava tkiva i može prouzrokovati ozbiljna neželjena dejstva^{5,6}.
- **Hemioterapija:** se odnosi na primenu odgovarajućih hemioterapeutika tj. citostatika^{6,7}. To su jedinjenja koja ispoljavaju značajnu antitumorsku aktivnost. Glavna meta ovih lekova je najčešće DNK ili neki drugi biomolekuli koji učestvuju u ćelijskoj deobi i/ili njenoj regulaciji, kao što su topoizomerase i neki transportni proteini⁸. U mnogim slučajevima, citostatik se kovalentno vezuje za DNK ili interkalira u DNK heliks, što ima za posledicu inhibiciju transkripcije DNK i indukciju mehanizama koji rezultuju smrću tumorskih ćelija^{9,10}. Neki od lekova sadrže tipične organske molekule, kao *Busulfan* (alkil sulfonat)¹¹, koji se

koristi u terapiji hronične mijeloidne leukemije, dok se pojedini lekovi sastoje od neorganskih kompleksnih jedinjenja, kao *cisplatin* i *karboplatin*.

Izbor tj. kombinovanje ovih različitih pristupa zavisi kako od karakteristika samog tumora (vrsta, veličina, invazivnost, lokacija), tako i od opšteg stanja pacijenta (starost, prisustvo drugih hroničnih bolesti i sl.).

2.2. Platinski lekovi

Od otkrića *cisplatina* pa do danas, veliki broj kompleksnih jedinjenja je sintetisan u cilju pronalaženja potencijalnog hemioterapeutika sa boljim antitumorskim potencijalom, većom selektivnošću usmerenoj dominantno prema tumorskim ćelijama i manjim neželjenim dejstvima. U tom smislu, pažnja je naročito usmerena na sintezu platinskih kompleksa. Iako je nekoliko hiljada jedinjenja sintetisano, jedino su *cisplatin*, *karboplatin* i *oksaliplatin* (**Slika 1**) ušli u kliničku upotrebu^{12,13}. Ova tri jedinjenja se koriste u terapiji približno 50% svih tumora. *Cisplatin* se koristi za lečenje: karcinoma pluća, testisa, mokraćne bešike i grlića materice. *Karboplatin* se uglavnom upotrebljava za lečenje istih maligniteta, ali se zbog manje citotoksičnosti u odnosu na *cisplatin*, koriste veće doze ovog leka. *Oksaliplatin* se u kombinaciji sa 5-fluorouracilom koristi u lečenju kolorektalnog karcinoma. Glavni nedostaci *cisplatina* i njegovih analoga su razvijanje tumorske rezistentcije na hemioterapeutik i velika toksičnost prema zdravim ćelijama tj. tkivima i organima, što ima za posledicu brojne neželjene efekte: mučnina, povraćanje, neurotoksičnost, mijelosupresija, ototoksičnost, nefrotoksičnost^{14,15}. Upravo iz tog razloga postoji stalna potreba za sintezom boljeg, prema tumorskim ćelijama efikasnijeg, a manje toksičnog hemioterapeutika.

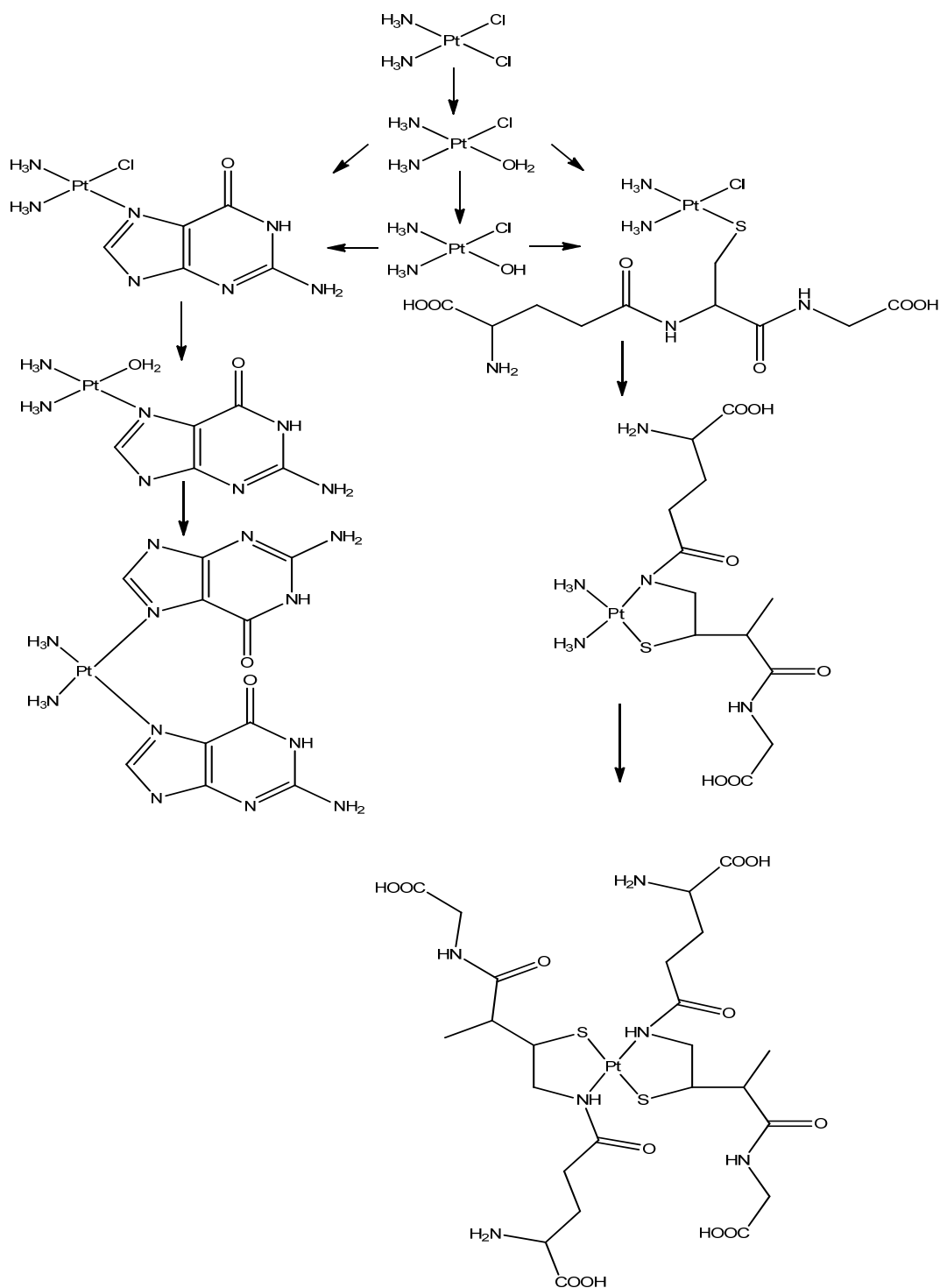


Slika 1. Platina(II) kompleksi u kliničkoj upotrebi: a) *cisplatin*; b) *karboplatin*; c) *oksaliplatin*.

2.2.1. Mehanizam delovanja *cisplatina*

Najpre se smatralo da *cisplatin* ispoljava antitumorsku aktivnost tako što vezivanjem za DNK zaustavlja njenu transkripciju, odnosno replikaciju¹⁶⁻¹⁹, što pokreće mehanizme ćelijske smrti pre svega apoptozom.

Utvrđeno je da zbog visoke koncentracije hloridnog jona u krvi (~ 100 mmol/l)²⁰, *cisplatin* dolazi neizmenjen do ćelije tumora. Nakon ulaska ovog molekula u ćeliju, gde je znatno niža koncentracija hloridnog jona (~ 3 mmol/l, koncentracija zavisi od tipa ćelije)²¹, dolazi do hidrolize jednog ili oba hlorido liganda²⁰. *Cisplatin* se zatim dominantno vezuje za N7 atom guanina i u manjoj meri za adenin, formirajući pri tome kovalentno koordinativnu vezu između platine i slobodnog elektronskog para sa azotovog atoma. Najzastupljeniji adukti koji nastaju ovim vezivanjem, jesu 1,2-GpG²² unutarlančani adukti, koji se formiraju između susednih guanoznih parova unutar jednog lanca DNK heliksa. Na ovaj način dolazi do distorzije molekula DNK²³, što onemogućava dalju replikaciju i transkripciju i samim tim ćelija pokreće mehanizme koji je uvode u apoptozu. Rezistencija nastaje ukoliko dolazi do: smanjene apsorpcije ili povećanog efluksa leka, povećanja kapaciteta za popravku DNK-adukta i sposobnosti tolerancije oštećenja DNK, kao i degradacijom i/ili deaktivacijom leka od strane unutarćelijskih tiola²⁴ (naime, u rezistentnim ćelijama, koncentracija glutaciona može biti veoma visoka, čak i do 10 mM)²⁵. Opisane interakcije *cisplatina* sa unutarćelijskim (bio)molekulima prikazane su na **Slici 2**.



Slika 2. Sudbina *cisplatina* u ćeliji: hidroliza hlorido liganda (gore); vezivanje za N7 atom guanina (levo); deaktiviranje i degradacija od strane triptida L-glutationa (desno).

U toku poslednje decenije, dokazano je da postoje i značajne interakcije između *cisplatina* i malih model proteina. Naime, podaci rendgenske strukturne analize ukazuju na adukte *cisplatina* i superoksid dismutaze (SOD), odnosno *cisplatina* i lizozima

(HEWL) u kojima su pomenuti proteini vezani za Pt(II) jon preko histidinskih ostataka (His-19 i His-15)^{26,27}. S obzirom na to, da kristalna struktura daje uvid u statičku interakciju kompleksa i model proteina, za sam mehanizam delovanja leka, od velikog je značaja utvrditi da li pomenute interakcije postoje u biološkim sistemima. U tom smislu, ESI-MS spektrometrijom je dokazano da postoje fragmenti, koji odgovaraju aduktu nastalom interakcijom $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}]^+$ i HEWL²⁷, odnosno $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}]^+$ i SOD^{28,29}.

2.2.2. Karboplatin

Diammin[1,1-ciklobutandikarboksilato(2-)-O,O']platina(II) je sintetisana sa ciljem da se smanje neželjena dejstva koja postoje pri terapiji sa *cisplatinom*. Ovo je postignuto supstitucijom hlorido liganada sa 1,1-ciklobutandikarboksilatom. Konstanta hidrolize *karboplatina* je reda veličine 10^{-8} s^{-1} , u poređenju sa 10^{-5} s^{-1} za *cisplatin*^{30,31}. Zbog niže reaktivnosti *karboplatin* se primenjuje u mnogo većim dozama (300-400 mgm⁻²) u odnosu na *cisplatin* (20-120 mgm⁻²). Posebno izraženi neželjeni efekti u terapiji sa *karboplatinom* su: leukopenija, neutropenija i trombocitopenija. Hidrolizom i interakcijom *karboplatina* sa DNK nastaju isti adukti, kao u slučaju *cisplatin*, što omogućava primenu u terapiji istih tipova karcinoma. *Karboplatin* trenutno ima primat u odnosu na *cisplatin* u lečenju karcinoma jajnika. Takođe, ovaj lek je ušao u drugu i treću fazu kliničkih ispitivanja, za ispitivanje mogućnosti primene u lečenju karcinoma pljuvačnih žlezda³².

2.2.3. Oksaliplatin

[Oksalat(2-)-O,O'][(1R,2R-cikloheksandiamin-N,N')]platina(II) je bio prvi lek koji je uspeo da prevaziđe rezistentnost na *cisplatin*. U *oksaliplatinu* dva aminska liganda su zamenjena jednim bidentatnim ligandom, (1R,2R)-cikloheksan-1,2-diaminom (R,R-dach). Takođe, i ovo jedinjenje dominantno formira GpG unutarlančane adukte^{33,34}, ali se uspeh u prevazilaženju rezistencije pripisuje voluminoznom, hidrofobnom dach ligandu koji znatno interaguje sa velikom brazdom DNK, i time sprečava njenu reparaciju.

2.2.4. Nedaplatin

Diammin[hidroksiacetato(2-)-O,O']platina(II) je lek druge generacije platinskih analoga, koji je deset puta rastvorljiviji u vodi od *cisplatina*. Ova supstanca ispoljava značajno manju nefrotoksičnost u odnosu na *cisplatin* i *karboplatin*^{35,36}. Pretklinička i klinička ispitivanja su pokazala da je aktivnost *nedaplatina* bolja u odnosu na *karboplatin* i ekvivalentna u odnosu na *cisplatin*^{36,37}. Ovaj lek je odobren u Japanu.

2.2.5. Heptaplatin

[Propandionato(2-)-O,O'] [2-(1-metiletil)-1,3-dioksolan-4,5-dimetanamin-N,N']platina(II) izabran je za klinička ispitivanja, jer je njegova *in vitro* i *in vivo* citotoksičnost jednaka ili bolja od *cisplatina*, na različitim ćelijskim linijama³⁸⁻⁴⁰. Takođe, ovaj lek pokazuje veliku stabilnost u rastvoru, nisku toksičnost, kao i antitumorsku aktivnost prema *cisplatin* rezistentnim ćelijama. Ovaj lek se trenutno koristi u terapiji pojedinih vrsta karcinoma u Koreji^{41,42}.

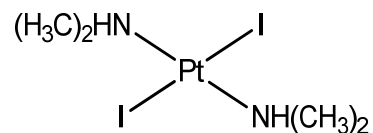
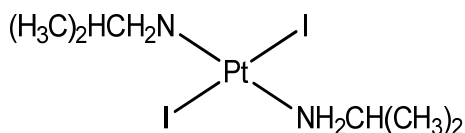
2.3. Odnos strukture i aktivnosti platinskih lekova

Dugi niz godina je pravilo struktura-aktivnost usmeravalo dizajn novih platinskih lekova, što se u velikoj meri odrazilo na kliničku primenu takvih kompleksa. Mnoga platina(II) jedinjenja, opšte formule $cis-[PtX_2Y_2]$ ⁴³⁻⁴⁵, gde X predstavlja labilni ligand (dobro odlazeća anjonska grupa), a Y predstavlja monodentatni ili bidentatni azot-donorski inertni ligand (sa najmanje jednom N-H vezom), ispoljavaju značajnu citotoksičnost na različitim tumorskim ćelijskim linijama. S obzirom na to, da *transplatin* u poređenju sa *cisplatinom* ispoljava neuporedivo nižu *in vitro* i *in vivo* antitumorsku aktivnost⁴⁶, dugo se smatralo da je *cis* geometrija odlazećih liganada neophodan preduslov za antitumorsku aktivnost. Međutim, u toku poslednje dve decenije pojedine studije pokazuju da je pri dizajniranju novih Pt(II) kompleksa narušeno pravilo struktura-aktivnost i da su pojedini kompleksi platine(II) sa *trans* geometrijom⁴⁷⁻⁴⁹ ispoljili znatno bolje antitumorsko dejstvo u odnosu na *cisplatin*.

Toksičnost lekova platinske grupe je u direktnoj vezi za lakoćom hidrolize labilnih liganada. Kompleksi koji sadrže lako odlazeće grupe kao što su voda ili nitrati, veoma su toksični, dok ligandi, kao što su *bis*-karboksilati⁵⁰, dosta sporije hidrolizuju i na taj način ispoljavaju znatno niže toksične efekte. Takođe, dijodido analozi klasičnih Pt(II) kompleksa nisu dugo bili proučavani kao farmakološki agensi, zbog velike stabilnosti Pt–I veza, u vodenim rastvorima, u odnosu na Pt–Cl veze⁵¹⁻⁵³. Prve studije vezane za citotoksičnu aktivnost jodido kompleksa, odnosile su se na jodido analog *cisplatinu*, *cis*-[PtI₂(NH₃)₂]⁵⁴. S obzirom na to, da ovaj kompleks nije ispoljio antitumorsko dejstvo, istraživanja vezana za biološku aktivnost jodido kompleksa platine su zaustavljena. Međutim, kasnije studije ukazale su na znatnu reaktivnost jodido Pt(II) i Pt(IV) kompleksa prema važnim biomolekulima (serum albumin, glutation)^{12,55}. Tako je za komplekse, opšte formule *cis*-[PtI₂(amin)₂] pokazano da pri vezivanju za model proteine, dolazi do supstitucije amino liganda, dok vezivanje pojedinih *trans* kompleksa prati supstitucija jodido liganda⁵⁶⁻⁵⁹.

U slučaju interakcije sa DNK, kompleksi ovog tipa se vezuju nakon odlaska jodido liganda, nezavisno od *cis/trans* izomerije⁵⁷. U nedavnoj studiji Messori (Messori) i saradnika⁵⁸ objavljena je kristalna struktura *cis*-[PtI₂(NH₃)₂] i HEWL-a, gde je nakon odlaska jednog amonijačnog liganda, kompleks preko Pt(II) centra vezan za His15.

Kada je reč o antiproliferativnoj aktivnosti jodido Pt(II) kompleksa, znatnu aktivnost su ispoljili *cis/trans*-kompleksi [PtI₂(amin)₂] (amin = izopropilamin, dimetilamin i metilamin) prema humanim ćelijskim linijama karcinoma grlića materice (HeLa) i duktalnog karcinoma dojke (T-47D)⁵⁹, pri čemu su *trans* kompleksi pokazali bolju citotoksičnu aktivnost (**Slika 3**).



Slika 3. *Trans* platina(II) kompleksi sa izraženom antitumorskom aktivnošću.

2.4. Kompleksi platine (IV)

Kompleksi Pt(IV) oktaedarske geometrije, mogu u svojim aksijalnim položajima imati različite ligande, što omogućava dizajniranje velikog broja kompleksa. Aksijalni ligandi imaju veliki uticaj na različita farmakološka svojstva jedinjenja, kao što su: lipofilnost, stabilnost i redukcionni potencijal⁶⁰. Kompleksi platine(IV) su kinetički inertniji²¹ u poređenju sa kompleksima platine(II) i imaju manju sistemsku toksičnost, što omogućava oralnu primenu citostatika. Relativna inertnost obezbeđuje da kompleksi dođu neizmenjeni do ćelije gde se redukuju do odgovarajućih Pt(II) jedinjenja, koja predstavljaju aktivne vrste, koje se vezuju za DNK. Stoga je redukcionni potencijal važan farmakološki parametar za procenu (re)aktivnosti Pt(IV) kompleksa. Kada je redukcionni potencijal visok, kao za *tetraplatin*, redukcija se javlja prilično brzo, već u krvotoku, što rezultuje brojnim i ozbiljnim neželjenim efektima. S druge strane, ako je redukcionni potencijal prenizak kao za *iproplatin* lek se ne redukuje dovoljno brzo i u značajnoj količini izlučuje nepromenjen⁶¹. Razlike u redukcionom potencijalu posledica su različitih aksijalnih liganada (hlorido vs. hidroksido). Jedan od najispitivanijih kompleksa platine(IV) je *satraplatin*, koji u aksijalnim položajima sadrži karboksilatno ligande, zbog kojih ovaj kompleks ima umerenu vrednost redukcionog potencijala^{62,63}. Kompleksi platine(IV) mogu imati i veliku lipofilnost, što omogućava bolji prolazak kroz ćelijske membrane.

Iako je manji broj platina(IV) kompleksa ispitivan *in vitro*, u odnosu na platina(II) komplekse, neki od njih su ušli u faze kliničkih ispitivanja⁶⁴.

2.4.1. Iproplatin

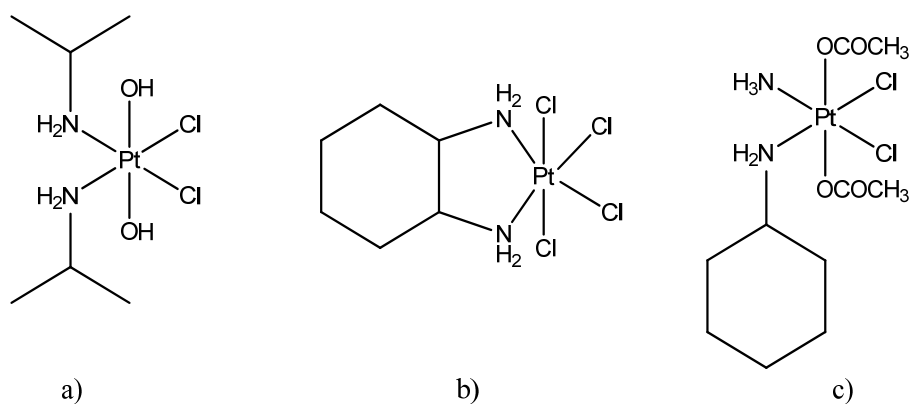
cis,trans,cis-Dihloridohidroksidobis(izopropilamin)platina(IV) (**Slika 4a**) se redukuje *in vivo* do platina(II) vrste, koja podleže hidrolizi i vezivanju za DNK. Od svih Pt(IV) kompleksa koji su ušli u klinička ispitivanja, *iproplatin* je otišao najdalje u kliničkim ispitivanjima i ispitan je na velikom broju pacijenata⁶⁵.

2.4.2. Tetraplatin

Tetrahlrido(1,2-cikloheksandiamin-*N,N'*)platina(IV) podleže veoma brzoj redukciji (u toku 5-15 minuta) u tkivima i plazmi, pri čemu nastaje (D,L-*trans*-1,2-diamincikloheksan)platina(II). *Tetraplatin* (*ormaplatin*) (**Slika 4b**), je inicijalno pokazao veliku aktivnost u pretkliničkim ispitivanjima, ali se usled velike neurotoksičnosti⁶⁶ odustalo od njegovih daljih ispitivanja.

2.4.3. Satraplatin

Kompleks, bis(acetato-*O*)ammindihlorido(cikloheksilamin)platina(IV)²¹ (**Slika 4c**) je pokazao značajnu antitumorsku aktivnost prema nekoliko platinski senzitivnih i rezistentnih ćelijskih linija, uključujući karcinome pluća, jajnika i prostate. Ovaj kompleks se lako absorbuje, i u plazmi redukuje na najmanje šest različitih platina(II) kompleksa, od kojih je *cis*-ammindihlorido(cikloheksilamin)platina(II) najaktivniji i najzastupljeniji.



Slika 4. a) *iproplatin*; b) *tetraplatin*; c) *satraplatin*.

2.5. Rutenijumski kompleksi sa antitumorskim dejstvom

Poslednjih godina kompleksna jedinjenja drugih metala, naročito galijuma, zlata, titana i rutenijuma proučavana su u pogledu mogućnosti primene u terapiji tumora^{67,68}.

Citotoksični potencijal rutenijumskih kompleksa ustanovljen je skoro pre četiri decenije. Preparativna hemija kompleksnih jedinjenja rutenijuma je jako dobro

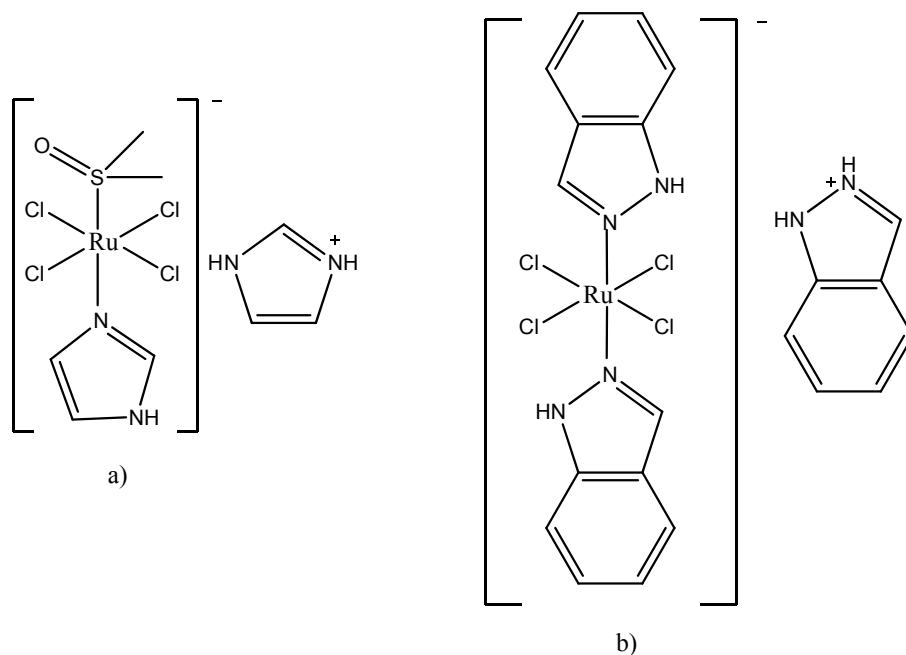
razvijena, jer je rutenijum stabilan u različitim oksidacionim stanjima (+2, +3, +4). Ovi kompleksi imaju u najvećem broju slučajeva oktaedarsku geometriju, nasuprot kvadratno-planarnim Pt(II) kompleksima, dok je brzina supstitucije liganada kod Ru kompleksa slična brzini supstitucije Pt(II) jedinjenja.

2.5.1. Kompleksi rutenijuma(III)

S obzirom na to, da *cisplatin* sadrži dva hlorido i dva amonijačna liganda, Klark (Clarke) i saradnici su prvi sintetisali komplekse rutenijuma(III), koji takođe sadrže pomenute ligande, *fac*-[Ru^{III}Cl₃(NH₃)₃]⁶⁹ i *cis*-[Ru^{III}Cl₂(NH₃)₄]⁺⁷⁰. Nasuprot *cisplatinu*, koji se dominantno vezuje za ostatke guanina unutar jednog lanca DNK, rutenijum-amminski kompleksi stupaju u interakciju sa DNK vezivanjem između dva lanca⁷¹, što je najverovatnije uslovljeno sternim zahtevima oktaedarske geometrije, u odnosu na kvadratno-planarnu koordinacionu geometriju Pt(II). Iako su ovi kompleksi pokazali veoma dobru antitumorsku aktivnost, niska rastvorljivost ovih jedinjenja ograničila je njihova dalja ispitivanja⁷².

Posebno su interesantni rutenijum kompleksi sa mešovitim oksidacionim stanjima metala: [(NH₃)₅Ru^{III}ORu^{IV}(NH₃)₄ORu^{III}(NH₃)₅]⁶⁺ (rutenijum crveno) i [Cl(NH₃)₄Ru^{III}ORu^{IV}(NH₃)₄OH]³⁺ (Ru360), koji se upotrebljavaju kao ćelijske boje⁷³, a mogu delovati kao mitohondrijalni inhibitori⁷⁴.

Dva najpoznatija kompleksa rutenijuma su: imidazolijum [*trans*-tetrahlrido(dimetilsulfoksid)(imidazol)rutenat(III)] (NAMI-A) i indazolijum [*trans*-tetrahlridobis(1*H*-indazol)rutenat(III)] (KP1019)⁷⁵ (Slika 5). Oba kompleksa su trenutno u drugoj fazi kliničkog ispitivanja. Ovi kompleksi imaju različito delovanje iako su strukturno slični. Naime, kompleks NAMI-A je ispoljio značajno efikasnost prema metastazama na pretkliničkim i kliničkim modelima, dok je KP1019 ispoljio odlično citotoksično dejstvo na ćelije primarnih tumora⁷⁶.



Slika 5. Kompleksi rutenijuma(III): a) NAMI-A i b) KP1019.

Pretpostavlja se da se nakon intravenozne aplikacije, kompleks KP1019 brzo vezuje za serumske proteine, što može biti razlog niske toksičnosti⁷⁷. Brzo vezivanje za ove proteine sprečava hidrolizu kompleksa KP1019, koja bi dovela do formiranja nerastvornog i neaktivnog akva-adukta^{77,78}. Naime, pokazano je da se kompleks KP1019 vezuje za transferin, protein koji prenosi gvožđe. S obzirom na to, da je gvožđe ograničavajući faktor rasta za maligne ćelije, one poseduju veliki broj receptora za transferin. Rutenijum i gvožđe mogu lako da se izmenjuju u transferinu, koji prenosi rutenijumski kompleks u hemijski nepromenjenom obliku⁷⁹. Nakon ulaska u ćeliju, Ru(III) kompleks se u prisustvu glutaciona⁸⁰ i drugih redukujućih biomolekula redukuje do Ru(II), koji je kinetički reaktivniji oblik.

Opisani proces se naziva "aktivacija redukcijom"^{81,82}, a objasnio ga je Klark (Clarke), još pre više od trideset godina. DNK, iako pogođena, nije glavna meta za KP1019, za razliku od većine Pt(II) kompleksa. Utvrđeno je, da se pod uticajem ovog kompleksa, apoptoza odvija unutrašnjim tj. mitohondrijalnim putem, ali je za razjašnjenje potpunog mehanizma delovanja KP1019 neophodno sagledati i istražiti sve potencijalne mete ovog kompleksa⁸³.

2.5.2. Kompleksi rutenijuma(II)

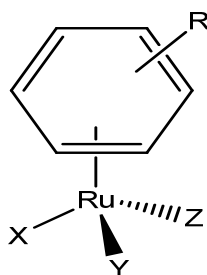
Ru(II) kompleksi su zauzeli značajno mesto u bioneorganskoj hemiji, naročito sa stanovišta njihovog citotoksičnog potencijala. Ru(II) kompleksi lako podležu oksidaciji, tako da važnu ulogu u stabilizaciji metalnog centra u oksidacionom stanju +2 imaju ligandi koji se koordinuju za metal. Ligandi koji sadrže sumpor, fosfor i azot, vrlo lako se koordinuju za Ru(II), pri čemu grade stabilne komplekse. Oktaedarski kompleksi *cis*- i *trans*-[Ru(DMSO)₄X₂] (X = Cl, Br) ispoljili su dobru antitumorsku aktivnost prema metastazama karcinoma pluća: C75B1 i BD2F1, pri čemu je *trans* izomer pokazao 20 puta veću aktivnost od *cis* kompleksa. Takođe je pokazano da se ovi kompleksi vezuju kovalentno za N7 atom guanina⁸⁴.

Bipiridil i polipiridil Ru(II) kompleksi intenzivno su proučavani kao antitumorski agensi. Ovi kompleksi su inertni prema supstituciji, koordinativno zasićeni i ispoljavaju jedinstvena redoks svojstva. Početkom pedesetih godina prošlog veka, publikovani su prvi radovi vezani za biološku aktivnost Ru(II) kompleksa sa bipiridil i polipiridil liganadima, kao što su: 2,2'-bipiridin (bpy), 1,10-fenantrolin (phen) i 2,2':6'2"-terpiridin (terpy)⁸⁵. Dokazano je da se polipiridil rutenijum(II) kompleksi vezuju za DNK nekovalentnim interakcijama, kao što su elektrostatičko vezivanje ili interkalacija⁸⁶. Takođe je pokazano da pomenute interakcije zavise od tipa helatnog liganda. Naime, kompleks [Ru(bpy)₃]²⁺ pokazuje veoma slabu sklonost ka vezivanju DNK, dok je vezivanje [Ru(phen)₃]²⁺ kompleksa za DNK mnogo izraženije. Sposobnost ovih kompleksa da interkaliraju između nukleinskih baza zavisi od veličine aromatičnog prstena polipiridilnog liganda. Tako na primer, kompleksi [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ i [Ru(phen)₂(dppz)]²⁺ (dppz-dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazin), veoma dobro interkaliraju u DNK, dok kompleksi [Ru(bpy)₂(dpq)]²⁺ (dpq-dipirido[3,2-f:2',3'-h]-hinoksalin) i [Ru(bpy)₂(dpx)]²⁺ (dpx-7,8-dimetildipiridofenazin) ispoljavaju izrazito manju sposobnost za interkalaciju⁸⁷.

2.5.3. Rutenijum(II) arenski kompleksi

Ru(II) jon se lako može stabilizovati η⁶-koordinacijom aromatičnih sistema, koje vode stvaranju "half sandwich" kompleksa⁸⁸. U ovom smislu, Ru(II) centar gradi

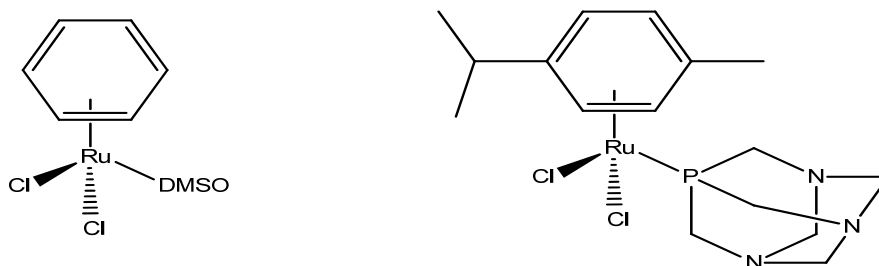
pseudo-oktaedarsku tzv. "piano-stool" geometriju, gde aromatični prsten formira "sedlo", a preostala tri liganda "nogare" klavirske stolice (**Slika 6**).



Slika 6. Opšta struktura Ru(II) kompleksa sa "piano-stool" geometrijom.

Organorutenijum(II) kompleksi mogu da sadrže različite arenske, mono- i bidentatne liganade⁸⁹⁻⁹². Dosadašnja istraživanja su pokazala da najmanje jedan halogenidni ligand mora biti koordinovan za rutenijum, jer je hidroliza^{93,94} bitan korak u mehanizmu njihovog antitumorskog delovanja. Naime, u mnogim slučajevima je pokazano da je akva-adukt vrsta koja interaguje sa biomolekulima⁹⁵. Dobra sposobnost ka hidrolizi praćena je u velikom broju slučajeva dobrom rastvorljivošću kompleksa, što olakšava dalja biološka istraživanja, kao i kliničku primenu. Dokazano je da aktivnost ovih kompleksa zavisi od tipa koordinovanog arenskog liganda⁹⁶⁻⁹⁸. Naime, aromatični ligand: stabilizuje metal u nižem oksidacionom stanju, i time sprečava mogućnost potencijalne oksidacije; predstavlja hidrofobni deo molekula koji olakšava pasivni transport kroz ćelijsku membranu; inertan je prema izmeni sa drugim arenskim ligandima; povećanjem aromatičnosti ovog liganda povezano je sa mogućnosti interkalacije kompleksa između baza DNK. Preostala tri mesta mogu zauzeti različiti monodentatni ili bidentatni ligandi sa N-, O-, S- ili P- donorskim atomima⁹⁹. Za razliku od Pt(II) kompleksa koji citotoksičnost ispoljavaju vezivanjem za DNK, mehanizam delovanja rutenijumskih kompleksa još uvek nije potpuno razjašnjen^{100,101}. Ova klasa organometalnih rutenijumovih jedinjenja intenzivno je proučavana prethodnih trideset godina. Jedan od prvih kompleksa ovog tipa bio je $[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)(\text{DMSO})\text{Cl}_2]$ (**Slika 7a**). Ovaj kompleks je pokazao značajnu inhibiciju topoizomerase II, koja je jedan od enzima odgovornih za sprečavanje gubitka genetičke informacije na telomerama u toku mitoze¹⁰². Zamenom DMSO liganda sa 1,3,5-triaza-7-fosfatriciklo[3.3.1.1]dekana (PTA) ligandom u Ru(II) arenskim kompleksima, dobijeni su kompleksi poznatiji pod imenom RAPTA¹⁰³ kompleksi (**Slika 7b**). Prisustvo hidrofilnog PTA liganda

obezbeđuje bolju rastvorljivost ovih jedinjenja u vodi, što znatno olakšava biološka ispitivanja. Takođe je dokazano da ova jedinjenja ispoljavaju veću selektivnosti, kao i nižu toksičnost. Zamenom aromatičnog prstena u RAPTA kompleksima, sumpornim makrociklom 1,4,7-tritiaciklononanom, dobijeni su kompleksi koji su ispoljili sličnu *in vitro* aktivnost^{104,105}.



Slika 7. a) $[\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6)(\text{DMSO})\text{Cl}_2]$ i b) RAPTA-C.

Takođe, koordinacijom oksalatnog ili ciklobutan-1,1-dikarboksilatog liganda umesto hlorido liganada dobijeni su analozi *oksaliplatina* i *karboplatina*, ali ova strukturna modifikacija nije imala uticaja na biološku aktivnost^{106,107}. Kompleksi opšte formule, $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})(\text{X})(\text{Y})(\text{Z})]$ (X, Y ili Z predstavljaju halogenide, acetonitril ili izonikotinamid) sa tri monodentatna liganda, nisu pokazali značajnu antitumorsku aktivnost prema A2780 ćelijskoj liniji humanog karcinoma jajnika. Izostanak citotoksičnosti može se objasniti njihovom velikom i brzom reaktivnošću sa malim biomolekulima, čime se sprečava da pomenuta jedinjenja reaguju sa glavnim unutarćelijskim metama^{83,108}. Kompleksi sa *N,N*-helatnim ligandima ispoljili su citotoksičnu aktivnost uporedivu sa *cisplatinom*, na brojnim ćelijskim linijama^{109,110}. Zbog toga su organometalna jedinjenja opšte formule $[\text{Ru}(\text{aren})(\text{en})(\text{X})]^+$ (aren = benzen ili derivat benzena; en = etilendiamin; X = halogenid)^{96,97,111}, intenzivno proučavana i pokazano je da koordinacija helatnog etilendiamina utiče na sniženje reaktivnosti, u poređenju sa monodentatnim ligandima, što ima za posledicu interesantnu biološku aktivnost i hemijska svojstva⁸³. Citotoksična aktivnost ovih kompleksa prema A2780 humano ćelijskoj liniji zavisi od veličine koordinovanog arenskog dela^{102,108} (**Tabela 1**). Jasno se uočava da kompleks sa najhidrofobnijim arenskim ligandom ispoljava najveću antitumorsku aktivnost.

Tabela 1. IC₅₀ vrednosti¹⁰⁸ dobijene na A2780 ćelijskoj liniji, MTT testom, nakon 24 sata tretmana odgovarajućim Ru(II) arenskim kompleksima, *cisplatinom* i *karboplatinom*.

Ru-aren/Pt kompleks	IC₅₀(μM)
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}(\text{CH}_3\text{CN})_2]\text{PF}_6$	> 150
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}_2(\text{izonikotinamid})]$	> 150
$[(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{RuCl}(\text{en})]\text{PF}_6$	17
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}(\text{en})]\text{PF}_6$	9
$[(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_5\text{CO}_2\text{CH}_3)\text{RuCl}(\text{en})]\text{PF}_6$	55
$[(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_5)\text{RuCl}(\text{en})]\text{PF}_6$	6
<i>karboplatin</i>	6
<i>cisplatin</i>	0,5

Kao što je pomenuto, hidroliza halogenida kod organorutenijum(II) kompleksa ima značajnu ulogu u mehanizmu ispoljavanja citotoksične aktivnosti^{92-94,112}. Odlaskom halogenidnog liganda, disocijativnim putem, halogenidni jon preuzima na sebe elektronski par koji je delio sa metalom. Na ovaj način nastaje 16 elektronski kompleks, koji veoma lako reaguje sa molekulima rastavarača gradeći 18 elektronski kompleks. Pod fiziološkim uslovima hidrolizovani oblik reaguje izuzetno brzo sa biomolekulima, koji utiču na farmakokinetičke i farmakodinamičke parametre^{83,113}. Neki kompleksi arenskog tipa, ispoljavaju visoku selektivnost ka vezivanju za N7 atom guanina^{108,110}. Nekovalentne interakcije, vodonično vezivanje, kao i hidrofobne i elektrostatičke interakcije veoma su važne pri vezivanju kompleksa za biološke mete, naročito za nukleinske kiseline¹¹⁴. Takođe, vrsta helatnog liganda, ima značajni uticaj na hemijska, fizička i biološka svojstva Ru(II) jedinjenja. U tom smislu, zamena etilendiamina anjonskim *O,O*- helatnim ligandima ima za posledicu nastajanje neutralnih kompleksa, koji imaju povećanu elektronsku gustinu oko Ru(II) centra čime olakšava izmena liganda i proces hidrolize, što u mnogim slučajevima vodi boljoj rastvorljivosti⁸³. Ispitivanjem biološke aktivnosti pojedinih Ru(II) arenskih kompleksa sa *O,O*- i *S,O*- helatima pokazano je da ova jedinjenja deluju kao inhibitori protein kinaza⁹⁹. Takođe je dokazano da je selektivnost nekih organorutenijum(II) kompleksa sa *O,O*- bidentatnim ligandima prema nukleinskim bazama, promenjena u odnosu na pomenutu selektivnost

za Ru(II) etilendiaminski kompleks¹¹⁵⁻¹¹⁷. Naime, kompleks $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})(\text{acac})\text{Cl}]$ pokazuje mnogo veći stepen vezivanja za adenin nego za guanin¹¹⁸.

2.6. Derivati etilendiamin-*N,N'*-diacetata kao ligandi

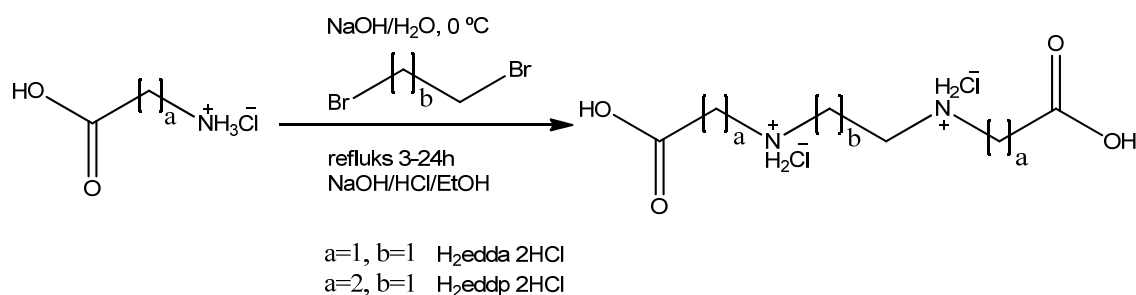
U **Tabeli 2** prikazani su najznačajniji ligandi edda tipa, koji su do sada opisani.

Tabela 2. Tabelarni prikaz liganada edda tipa i odgovarajućih derivata.

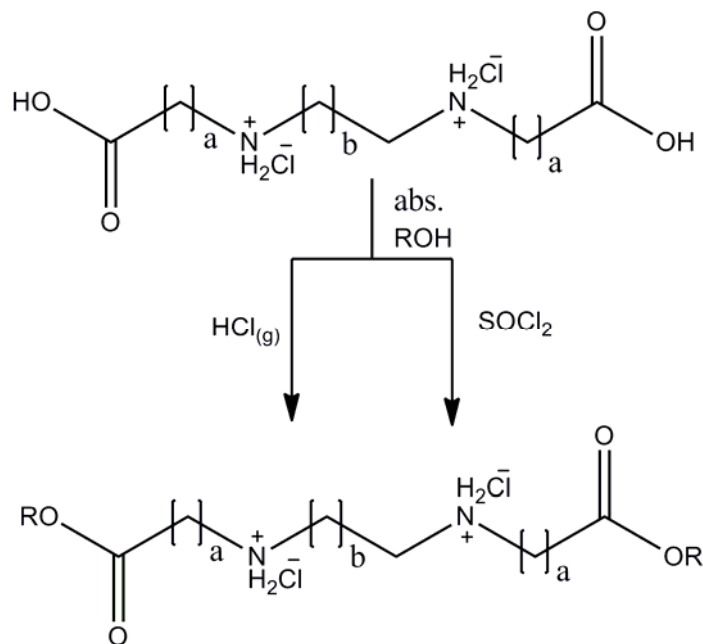
Naziv i formula liganda	Skraćenica
etandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat $^-\text{OOCCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{COO}^-$	edda
<i>N,N'</i> -dimetiletandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat $^-\text{OOCCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{COO}^-$	dmedda
<i>N,N'</i> -dietiletandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat $^-\text{OOCCH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{COO}^-$	deedda
<i>N,N'</i> -dibenziletandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat $^-\text{OOCCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)\text{CH}_2\text{COO}^-$	dbedda
1,2-cikloheksandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat $^-\text{OOCCH}_2\text{NHchxNHCH}_2\text{COO}^-$	cdda (chxnda)
<i>N,N'</i> -dimetil-1,2-cikloheksandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat $^-\text{OOCCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{chx}(\text{CH}_3)\text{NHCH}_2\text{COO}^-$	me ₂ chxnda
<i>N</i> -(2-aminoetil)-iminodiacetat $(^-\text{OOCCH}_2)_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	uedda
etandiamin- <i>N,N'</i> -di-3-propanoat $^-\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$	eddp
etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-propanoat $^-\text{OOC}(\text{CH}_3)\text{CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$	eddip
etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(4-metil)-pentanoat $^-\text{OOC}((\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2)\text{CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)\text{COO}^-$	eddl
etandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat $^-\text{OOCCH}(\text{CH}_2\text{chx})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{chx})\text{COO}^-$	eddchxp
<i>N,N'</i> -dimetiletandiamin- <i>N,N'</i> -di-3-propanoat $^-\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$	me ₂ eddp
<i>N,N'</i> -dimetiletandiamin- <i>N,N'</i> -di- α -propanoat $^-\text{OOC}(\text{CH}_3)\text{CHN}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COO}^-$	dmeddpa
1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -diacetat $^-\text{OOCCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{COO}^-$	1,3-pdda
1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-3-propanoat $^-\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$	1,3-pddp
1,3-propandiamin- <i>N,N'</i> -di-2-(3-cikloheksil)propanoat $^-\text{OOCCH}(\text{CH}_2\text{chx})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{chx})\text{COO}^-$	1,3-pddchxp

Etandiamin-*N,N'*-diacetat (edda) predstavlja tetradentatni ligand koji poseduje po dva donorska atoma azota i kiseonika. Iz ovog molekula izveden je veliki broj liganada, koji predstavljaju N- ili C- supstituisane derivate edda liganda ili njegove homologe sa produženim diaminskim lancem (1,3-propandiamin-*N,N'*-disirćetna kiselina, H₂pdda) ili produženim karboksilatnim lancem (etandiamin-*N,N'*-di-3-propionska kiselina, H₂eddp)¹¹⁹⁻¹³³ (**Tabela 2**).

Kiseline se mogu sintetisati po metodi koju je predložio Bersworth¹³⁴, 1955. godine (**Shema 1**). Diestri ovih kiselina se mogu dobiti koristeći takođe uobičajene metode¹³⁵ (**Shema 2**).



Shema 1. Metoda sinteze kiselina.

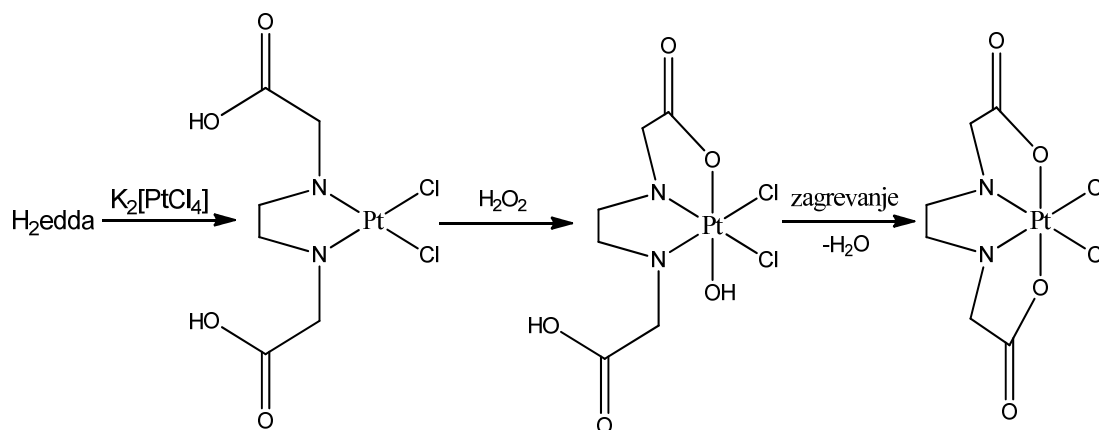


Shema 2. Metoda sinteze estara.

Jedinjenja ovog tipa se veoma često koriste kao helatni ligandi, zbog njihove velike sposobnosti da se koordinuju za dvovalentne, trovalentne i četvorovalentne jone metala, gradeći pri tome stabilne komplekse. Same kiseline se koordinuju tetradentatno, κ^2N,N' , κ^2O,O' , a esterifikovani derivati najčešće bidentatno, κ^2N,N' . Veliki broj kompleksnih jedinjenja Ru(II), Pd(II), Pt(II), Pt(IV), Co(III), Au(III) je sintetisan sa ovim ligandima. Pored svog fundamentalnog značaja u okviru koordinacione hemije, ligandi ovog tipa zauzimaju posebno mesto u bioneorganskoj hemiji, jer neki estri pomenutih kiselina ispoljavaju snažnu biološku aktivnost. Pojedini estri (*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske¹³⁶ i (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline¹³⁷ ispoljavaju antitumorsku aktivnost koja je uporediva ili čak bolja od *cisplatina*.

2.7. Kompleksi platine(II) sa ligandima edda tipa

Među prvim sintetisanim kompleksima platine(II) sa edda tipom liganada bio je kompleks dihlorido(etandiamin-*N,N'*-diacetatna kiselina)platina(II), [Pt(H₂edda)Cl₂], od strane Liu-a¹³⁸, 1963. Nađeno je da se edda može koordinovati bidentatno i tetradentatno za platinu(II) i da se pomenuti kompleks platine(II) vrlo lako može oksidovati do platina(IV) kompleksa (**Shema 3**).



Shema 3. Sinteza platina(II) i platina(IV) edda kompleksa.

Kasnije su sintetisani mnogobrojni kompleksi platine(II), od kojih je veliki broj sa aminskim ligandima¹³⁹⁻¹⁴². Nekoliko godina kasnije, Zheligovskaya i saradnici¹⁴³

ponovili su istu sintezu sa edda i uedda ligandima i izolovali komplekse opšte formule $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{L})\text{Cl}_2]$. Komplex Pt(II) sa bidentatno koordinovanim edda ligandom okarakterisan je rendgenskom strukturnom analizom¹³². Jolley i saradnici¹⁴⁴ su 2001. godine sintetisali platina(II) i platina(IV) kompleksa sa hidroksialkil ili karboksialkil derivatima etandiamina. Za sintezu Pt(II) kompleksa korišćen je i edda ligand za koji je utvrđeno da je koordinovan bidentatno za platinu(II).

Hlorido platina(II) kompleksi sa eddp¹⁴¹ i 1,3-pdda¹⁴² ligandima dobijeni su prema već opisanoj proceduri, koju je predložio Liu¹³⁸. Takođe, poslednjih godina sintetisani su i kompleksi platine(II) sa eddip i eddl ligandima. Za komplekse platine(II), opšte formule: $[\text{PtCl}_2\{(S,S)\text{-R}_2\text{eddip}\}]$, gde je R= *i*Pr, *i*Bu određena je citotoksična aktivnost prema humanim ćelijskim linijama karcinoma grlića materice (HeLa), malignog melanoma (Fem-x) i mijeloidnoj leukemiji (K562). Rezultati su pokazali da ispitivani kompleksi imaju mnogo veću aktivnost u odnosu na odgovarajuće ligande. U slučaju kompleksa platine(II) supstitucija izopropil grupe izobutilom je rezultovala povećanjem antiproliferativne aktivnosti prema svim ispitivanim ćelijskim linijama. Takođe je ustanovljeno da kompleks $[\text{PtCl}_2\{(S,S)\text{-iBu}_2\text{eddip}\}]$ indukuje apoptozu, dok je za drugi takav kompleks $[\text{PtCl}_2\{(S,S)\text{-iPr}_2\text{eddip}\}]$ primećeno da indukuje razaranje ćelija tj. nekrozu¹⁴⁵. Kod analognih kompleksnih jedinjenja platine(II) sa R₂eddp tipom¹⁴⁶ extra pokazano je da kompleks $[\text{PtCl}_2(\text{Bu}_2\text{eddp})]$ indukuje apoptozu humanih ćelijskih linija HeLa i K562. Ova razlika u mehanizmu ćelijske smrti, može se pripisati različitoj lipofilnosti pomentih kompleksa.

Za komplekse $[\text{PtCl}_2\{(S,S)\text{-R}_2\text{eddl}\}]$ (R= Et, *n*Pr, *n*Bu, *n*Pe) pokazano je da su najefikasniji prema ćelijama hronične limfocitne leukemije (CLL). Najbolju citotoksičnost prema pomenutim ćelijskim linijama ispoljio je kompleks sa *n*-butil ligandom¹⁴⁷. Rezultati su pokazali da ovi kompleksi indukuju apoptozu ćelija CLL kao i da postoji dozna zavisnost citotoksičnog efekta analiziranih kompleksa. Takođe, ispitana je citotoksičnost pomenutih kompleksa prema humanim ćelijskim linijama kolorektalnog karcinoma SW480, karcinoma dojke (MDA-MB-361 i MDA-MB-453), akutnoj T limfocitnoj (Jurkat) i hroničnoj mijeloidnoj (K562) leukemiji¹⁴⁸. Zapaženo je za sve pomenute Pt(II) komplekse da su ispoljili značajno bolju citotoksičnu aktivnost od samih liganada.

Sa eddp ligandom sintetisan je jodido platina(II) kompleks, $[\text{Pt}(\text{Heddp})\text{I}]^{149}$. Ovaj kompleks je ispoljio znatno manju antitumorsku aktivnost u poređenju sa odgovarajućim dihlorido platina(II) kompleksom, $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{eddp})\text{Cl}_2]$. To je i očekivano, s obzirom na to, da pomenuti jodido kompleks poseduje samo jedan dobro odlazeći jodido ligand. Otuda se javila ideja da se sintetišu diiodido platina(II) kompleksi sa estarskim edda derivatima. U ovom radu opisana je sinteza i karakterizacija diiodido Pt(II) kompleksa, opšte formule, $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-R}_2(1,3\text{-pddchxp})\}]$ ($\text{R} = \text{Et}, n\text{-Bu}, i\text{Bu}, n\text{Pe}, i\text{Pe}$). Na ovaj način, postojanjem dva dobro odlazeća liganda, znatno je olakšana mogućnost formiranja pogodnog kompleksnog adukta, koji može da stupi u interakciju sa biomolekulima, što za posledicu ima neuporedivo bolju citotoksičnu aktivnost prema odabranim ćelijskim linijama.

2.8. Kompleksi rutenijuma sa ligandima edda tipa

Kompleksna jedinjenja rutenijuma sa poliaminopolikarboksilatnim helatnim ligandima spadaju u posebnu grupu potencijalnih antitumorskih agenasa¹⁵⁰⁻¹⁵². Najreprezentativniji primer predstavlja kompleks $\text{H}[\text{Ru}(\text{H}_3\text{pdta})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, ($\text{pdta} = 1,2\text{-propandiamin-}N,N,N',N'\text{-tetraacetat}$), za koji je pokazano da ispoljava naročitu antitumorsku aktivnost prema ćelijskoj liniji mišje leukemije L1210. Proučavana je interakcija ovog kompleksa sa proteinima plazme (albumin i transferin) pomoću elektronske apsorpcione, CD i NMR spektroskopije¹⁵³. Na osnovu ovih analiza dobijeni su rezultati koji ukazuju da se kompleks najverovatnije vezuje za pomenute proteine preko imidazolovog prstena histidina, nakon odlaska hlorido liganda iz kompleksa, dok polidentat ostaje koordinovan za metalni centar^{154,155}.

Prvi kompleksi rutenijuma sa edda ligandima, sintetisani su još sedamdesetih godina prošlog veka. Reč je o rutenijum(III) kompleksima: $\text{K}[\text{Ru}(\text{edda})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ i $[\text{Ru}(\text{edda})\text{ClH}_2\text{O}]^{156}$, koji su dobijeni polazeći od $\text{K}_2[\text{RuCl}_5\text{H}_2\text{O}]$ i H_2edda , uz neutralizaciju rastvorom kalijum-hidroksida. Kompleksi su okarakterisani elektronskom apsorpcionom i infracrvenom spektroskopijom, kao i termičkom analizom. Takođe su sintetisani kompleksi rutenijuma(III) sa eddp ligandom i monodentatnim ligandima, vodom i hloridnim anjonom¹⁵⁷. Kompleks $\text{K}[\text{Ru}(\text{eddp})\text{Cl}_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dobijen je u reakciji $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ i eddp liganda, u kiseloj sredini ($\text{pH}=3$). Dužim stajanjem kompleksa u

vodi, dolazi do supstitucije hlorido liganda vodom, pri čemu se gradi nerastvorni $K[Ru(eddp)(H_2O)Cl] \cdot 4H_2O$ kompleks. Za karakterizaciju ovih kompleksa korišćena je elektronska apsorpciona i infracrvena spektroskopija. Na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem antiproliferativne aktivnosti i citotoksičnosti pokazano je da kompleks $K[Ru(eddp)Cl_2] \cdot 3H_2O$ ispoljava značajnu i selektivnu antiproliferativnu aktivnost prema HeLa i HT-29 ćelijskim linijama¹⁵⁸. Takođe, metodom cirkularno-dihroične spektroskopije i elektroforezom praćena je interakcija ovog kompleksa sa pBR322 plazmidom DNK. Rezultati ovih ispitivanja ukazali su na kovalentnu interakciju između kompleksa rutenijuma i DNK. Ova interakcija se najpre odvija preko jednog koordinacionog mesta, a posle razmotavanja DNK heliksa preko dva koordinaciona mesta, najverovatnije istog lanca. Mogući mehanizam kidanja molekula DNK pod uticajem kompleksa praćen je na osnovu elektroforetske pokretljivosti dva oblika plazmida DNK u prisustvu, kao i u odsustvu askorbata. Dobijeni rezultati su potvrdili pretpostavku da kompleksi Ru(III) u *in vivo* sistemima mogu da se transformišu u veoma reaktivne Ru(II) vrste¹⁵⁸.

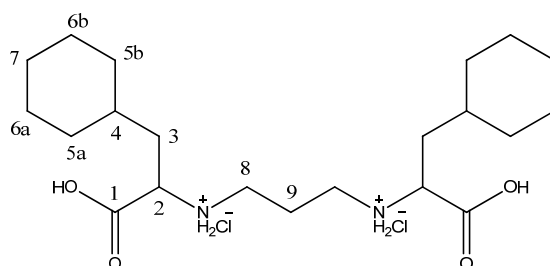
Imajući u vidu veliki razvoj organorutenijum(II) kompleksnih jedinjenja u oblasti bioneorganske hemije, naročito tokom poslednje decenije, ideja ovog rada je bila da se sintetišu i organometalni kompleksi rutenijuma(II) sa ligandima derivatima edda molekula. Organorutenijum(II) kompleksi cimenskog tipa sa eddp tipom liganada su po prvi put sintetisani u istraživačkoj grupi Sabo-Grgurić Šipka, 2010. godine¹⁵⁹, sa ciljem da se ispita njihova biološka aktivnost. Dobijeni kompleksi, opšte formule $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})Ru(R_2\text{eddchxp})Cl]^+$, ($R = \text{Me, Et, } n\text{Pr, } n\text{Bu, } i\text{Bu, } i\text{Pe}$) potpuno su okarakterisani standardnim metodama karakterizacije, a njihova pseudo-oktaedarska geometrija je potvrđena rendgenskom strukturnom analizom za kompleks sa *i*Bu grupom u estarskom alkil lancu¹⁶⁰.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Sinteza liganada

3.1.1. Sinteza (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline dihidrohlorida, [(*S,S*)-H₄pddchxp]Cl₂

(*S*)-2-amino-3-cikloheksilpropanska kiselina hidrohlorid, (1,00 g; 4,82 mmol) dodavana je u malim porcijama u vodeni rastvor natrijum-hidroksida (10 cm³; 1,25 mol/dm³), koji je hlađen u ledu, nakon čega je smeša zagrejana na 85 °C. Zatim je dodat 1,3-dibrompropan (0,244 cm³; 2,41 mmol) i reakciona smeša je refluktovana 24 sata. Suspenzija je ohlađena do sobne temperature, procedena i čvrsti ostatak je ispran rastvorom natrijum-hidroksida (4 cm³; 1×10⁻² mol/dm³). Dobijena kiselina (**Slika 8**) je tretirana vodenim rastvorom HCl (20 cm³; 1 mol/dm³). Proizvod je proceden, ispran hladnim etanolom i osušen pod *vakuumom*.



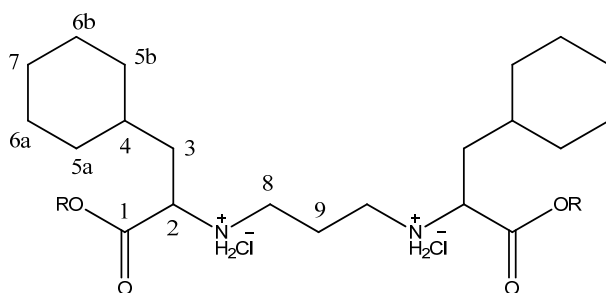
Slika 8. [(*S,S*)-H₄pddchxp]Cl₂.

(**L1**): 0,52 g (47,4%). t.t. = 248–250 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₂₁H₄₀O₄N₂Cl₂ (%): C, 55,38; H, 8,85; N, 6,15. Nađeno (%): C, 55,51; H, 9,13; N, 5,82. ¹H NMR (500,26 MHz, TFA-*d*₁): δ = 1,09 (m, C5aH, C5bH, 4H), 1,26–1,39 (m, C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; NH, 1H), 1,66 (m, C4H, 2H), 1,76–1,92 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; NH, 1H), 2,05 (t, –CH₂Cy, 4H), 2,75 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 2H), 3,58 i 3,63 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 4H), 4,35 (t, HOOCCH–, 2H). ¹³C NMR (125,79 MHz, TFA-*d*₁): 25,73 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 27,40 (C7), 27,48 i 27,61 (C6a i C6b), 34,40 i 35,07 (C5a i C5b), 36,16 (C4), 39,59 (–CH₂Cy), 47,25 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 61,89 (HOOCCH–), 175,45 ppm (C1). IC (ATR, cm⁻¹): ν̃ = 3398, 2932, 2853, 2794, 1732, 1626, 1558, 1514, 1454, 1389, 1338,

1281, 1233, 1204, 1073, 813 cm^{-1} . ESI-MS: m/z (%): 383,29 (100) $[\text{M}-2\text{HCl}+\text{H}]^+$; 192,14 (73,09) $[\text{M}-2\text{HCl}+2\text{H}]^{2+}$.

3.1.2. Estri (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, $[(S,S)\text{-H}_2\text{R}_2\text{pddchxp}]\text{Cl}_2$

Sintetisani su metil, etil, *n*-propil, *n*-butil, *i*-butil, *n*-pentil i *i*-pentil estri (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, čija je opšta struktura, sa numeracijom ugljenikovih atoma prikazana na **Slici 9**.



Slika 9. $[(S,S)\text{-H}_2\text{R}_2\text{pddchxp}]\text{Cl}_2$.

3.1.2.1. Sinteza *O,O'*-dimetil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, $[(S,S)\text{-H}_2\text{Me}_2\text{pddchxp}]\text{Cl}_2$

U 30 cm^3 apsolutnog metanola, u kapima je dodavan tionil-hlorid (4,5 cm^3), a potom je u reakcionu sistem dodata (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorid (1,50 g; 3,30 mmol). Nakon 1 sata mešanja na 0 °C, suspenzija je refluktovana 24 sata. Reakciona smeša je procedena i filtrat koncentrovan na vodenom kupatilu. Nakon hlađenja do sobne temperature, filtratu je dodat aceton i smeša ostavljena u frižideru na 4 °C, preko noći. Odgovarajući estar u obliku belog kristaličnog proizvoda je proceden, ispran hladnim metanolom i sušen pod vakuumom.

(L2): Prinos 0,84 g (52.8%). t.t. = 200–202 °C. Elementalna analiza: izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{O}_4\text{N}_2\text{Cl}_2$ (%): C, 57,13; H, 9,17; N, 5,79. Nađeno (%): C, 57,05; H, 9,44; N, 6,02. ^1H NMR (500,26 MHz, TFA- d_1): δ = 0,99 (m, C5aH, C5bH, 4H), 1,17–1,28 (m, C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; NH, 1H), 1,46 (m, C4H, 2H), 1,69–1,80 (m, C5aH', C5bH', 4H;

$C6aH'$, $C6bH'$, 4H; $C7H'$, 2H; NH , 1H), 1,93 (t, $-CH_2Cy$, 4H), 2,66 (m, $-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$, 2H), 3,44 i 3,53 (m, $-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$, 4H), 3,95 (s, CH_3OOC- , 6H), 4,23 (t, $-OOCCH-$, 2H). ^{13}C NMR (125,79 MHz, TFA- d_1): 25,80 ($-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$), 27,52 (**C7**), 27,57 i 27,67 (**C6a** i **C6b**), 34,44 i 35,17 (**C5a** i **C5b**), 36,27 (**C4**), 39,65 ($-CH_2Cy$), 47,28 ($-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$), 56,12 (CH_3OOC-), 62,33 ($-OOCCH-$), 173,22 ppm (**C1**). IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 2929, 2855, 2712-2452, 1742, 1529, 1475, 1453, 1337, 1282, 1241, 1207, 1079, 979, 842$. ESI-MS: m/z (%): 411,32 (100) $[M-2HCl+H]^+$; 206,16 (51,05) $[M-2HCl+2H]^{2+}$.

3.1.2.2. Sinteza *O,O'*-dietil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(*S,S*)- $H_2Et_2pddchxp$] Cl_2

U 30 cm^3 apsolutnog etanola, u kapima je dodavan tionil-hlorid (4,5 cm^3), a potom je u reakcionim sistem dodata (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat dihidrohlorid (1,50 g; 3,30 mmol). Nakon 1 sata mešanja na 0 °C, suspenzija je refluktovana 24 sata. Reakciona smeša je procedena i filtrat koncentrovan na vodenom kupatilu. Nakon hlađenja do sobne temperature, filtratu je dodat aceton i smeša ostavljena u frižideru na 4 °C, preko noći. Odgovarajući ester u obliku belog kristaličnog proizvoda je proceden, ispran hladnim etanolom i sušen pod vakuumom.

(**L3**): Prinos 0,94 g (55,9%). t.t. = 204–206 °C. Elementalna analiza: izračunato za $C_{25}H_{48}O_4N_2Cl_2$ (%): C, 58,70; H, 9,46; N, 5,48. Nađeno (%): C, 58,35; H, 9,20; N, 5,33. 1H NMR (500,26 MHz, TFA- d_1): $\delta=0,98$ (m, $C5aH$, $C5bH$, 4H), 1,17–1,26 (m, $C6aH$, $C6bH$, 4H; $C7H$, 2H; NH , 1H), 1,37 (t, CH_3CH_2OOC- , 6H), 1,49 (m, $C4H$, 2H), 1,70–1,83 (m, $C5aH'$, $C5bH'$, 4H; $C6aH'$, $C6bH'$, 4H; $C7H'$, 2H; NH , 1H), 1,92 (t, $-CH_2Cy$, 4H), 2,64 (m, $-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$, 2H), 3,43 i 3,54 (m, $-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$, 4H), 4,21 (t, $-OOCCH-$, 2H), 4,38 i 4,45 (m, CH_3CH_2OOC- , 4H). ^{13}C NMR (125,79 MHz, TFA- d_1): 14,47 (CH_3CH_2OOC-), 25,72 ($-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$), 27,44 (**C7**), 27,55 i 27,58 (**C6a** i **C6b**), 34,27 i 35,19 (**C5a** i **C5b**), 36,31 (**C4**), 39,66 ($-CH_2Cy$), 47,17 ($-NH_2CH_2CH_2CH_2NH_2-$), 62,36 ($-OOCCH-$), 67,20 (CH_3CH_2OOC-), 172,77 ppm (**C1**). IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3435, 2928, 2854, 2722-2455, 1739, 1551, 1456, 1372,$

1279, 1236, 1198, 1039, 1009, 852. ESI-MS: m/z (%): 439,35 (100) $[M-2HCl+H]^+$; 220,17 (63,59) $[M-2HCl+2H]^{2+}$.

3.1.2.3. Sinteza *O,O'*-di-*n*-propil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(*S,S*)-H₂*n*Pr₂pddchxp]Cl₂

U 30 cm³ apsolutnog *n*-propanola, u kapima je dodavan tionil-hlorid (4,5 cm³), a potom je u reakcionu sistem dodata (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorid (1,50 g; 3,30 mmol). Nakon 1 sata mešanja na 0 °C, suspenzija je refluktovana 24 sata. Reakciona smeša je procedena i filtrat koncentrovan na vodenom kupatilu. Nakon hlađenja do sobne temperature, filtratu je dodat aceton i smeša ostavljena u frižideru na 4 °C, preko noći. Odgovarajući estar u obliku belog kristaličnog proizvoda je proceden, ispran hladnim *n*-propanolom i sušen pod vakuumom.

(L4): Prinos: 0,96 g (53,9%). t.t. = 198–200 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₂₇H₅₂O₄N₂Cl₂ (%): C, 60,10; H, 9,71; N, 5,19. Nađeno (%): C, 60,42; H, 10,00; N, 4,88. ¹H NMR (500,26 MHz, TFA-*d*₁): δ = 1,14 (m, C5aH, C5bH, 4H; CH₃CH₂CH₂OOC–, 6H), 1,31–1,41 (m, C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; NH, 1H), 1,64 (m, C4H, 2H), 1,83–1,98 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; NH, 1H, CH₃CH₂CH₂OOC–, 4H), 2,06 (t, –CH₂Cy, 4H), 2,78 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 2H), 3,57 i 3,68 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 4H), 4,36 (t, –OOCCH–, 2H), 4,42 i 4,49 (m, CH₃CH₂CH₂OOC–, 4H). ¹³C NMR (125,79 MHz, TFA-*d*₁): 10,86 (CH₃CH₂OOC–), 23,47 (CH₃CH₂CH₂OOC–) 25,82 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 27,52 (C7), 27,64 i 27,66 (C6a i C6b), 34,31 i 35,32 (C5a i C5b), 36,38 (C4), 39,81 (–CH₂Cy), 47,22 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 62,43 (–OOCCH–), 72,81 (CH₃CH₂CH₂OOC–), 173,00 ppm (C1). IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 3447, 2928, 2856, 2723, 2551, 2455, 1737, 1552, 1459, 1396, 1280, 1259, 1235, 1198, 1056, 926. ESI-MS: m/z (%): 467,38 (100) $[M-2HCl+H]^+$; 234,19 (71,83) $[M-2HCl+2H]^{2+}$.

3.1.2.4. Sinteza *O,O'*-di-*n*-butil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida, [(*S,S*)-H₂*n*Bu₂pddchxp]Cl₂

U 30 cm³ apsolutnog *n*-butanola, u kapima je dodavan tionil-hlorid (4,5 cm³), a potom je u reakcioni sistem dodata (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorid (1,50 g; 3,30 mmol). Nakon 1 sata mešanja na 0 °C, suspenzija je refluktovana 24 sata. Reakciona smeša je proceđena i filtrat koncentrovan na vodenom kupatilu. Nakon hlađenja do sobne temperature, filtratu je dodat aceton i smeša ostavljena u frižideru na 4 °C, preko noći. Odgovarajući ester u obliku belog kristaličnog proizvoda je proceđen, ispran hladnim *n*-butanolom i sušen pod *vakuumom*.

(L5): Prinos: 1,11 g (59,4%). t.t. = 200 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₂₉H₅₆O₄N₂Cl₂ (%): C, 61,36; H, 9,94; N, 4,93. Nađeno (%): C, 61,12; H, 9,95; N, 5,05. ¹H NMR (500,26 MHz, TFA-*d*₁): δ = 0,96 (t, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 6H), 1,05 (m, C5aH, C5bH, 4H), 1,19–1,29 (m, C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; NH, 1H), 1,47 (m, C4H, 2H; CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H), 1,73–1,86 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; NH, 1H, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H), 1,94 (t, –CH₂Cy, 4H), 2,66 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 2H), 3,46 i 3,56 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 4H), 4,24 (t, –OOCCH–, 2H), 4,36 i 4,42 (m, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H). ¹³C NMR (125,79 MHz, TFA-*d*₁): 14,12 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 20,83 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 25,84 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 27,54 (C7), 27,68 (C6a i C6b), 32,20 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 34,32 i 35,38 (C5a i C5b), 36,41 (C4), 39,81 (–CH₂Cy), 47,25 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 62,46 (–OOCCH–), 71,12 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 172,99 ppm (C1). IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 3451, 2930, 2856, 2723–2457, 1743, 1702, 1550, 1471, 1362, 1279, 1235, 1196, 1064 cm^{–1}. ESI-MS: m/z (%): 495,41 (100) [M–2HCl+H]⁺; 248,20 (69,62) [M–2HCl+2H]²⁺.

3.1.2.5. Sinteza *O,O'*-diizobutil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorida, [(*S,S*)-H₂*i*Bu₂pddchxp]Cl₂

U 30 cm³ apsolutnog izobutanola, u kapima je dodavan tionil-hlorid (4,5 cm³), a potom je u reakcioni sistem dodata (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorid (1,50 g; 3,30 mmol). Nakon 1 sata mešanja na 0 °C, suspenzija je refluktovana 24 sata. Reakciona smeša je procedena i filtrat koncentrovan na vodenom kupatilu. Nakon hlađenja do sobne temperature, filtratu je dodat aceton i smeša ostavljena u frižideru na 4 °C, preko noći. Odgovarajući estar u obliku belog kristaličnog proizvoda je proceden, ispran hladnim izobutanolom i sušen pod *vakuomom*.

(L6): Prinos: 0,82 g (42,5%). t.t. = 208–210 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₂₉H₅₆O₄N₂Cl₂·H₂O (%): C, 59,47; H, 9,98; N, 4,78. Nađeno (%): C, 59,23; H, 9,58; N, 4,81. ¹H NMR (500,26 MHz, TFA-*d*₁): δ = 1,15 (d, (CH₃)₂CHCH₂OOC–, 12H), 1,20 (m, C5aH, C5bH, 4H), 1,33–1,46 (m, C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; NH, 1H), 1,69 (m, C4H, 2H), 1,86–2,01 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; NH, 1H), 2,09 (t, –CH₂Cy, 4H), 2,19 (sept, (CH₃)₂CHCH₂OOC–, 2H), 2,81 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 2H), 3,60 i 3,71 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 4H), 4,27 i 4,32 (m, (CH₃)₂CHCH₂OOC–, 4H), 4,40 (t, –OOCCH–, 2H). ¹³C NMR (125,79 MHz, TFA-*d*₁): 19,61 i 19,66 ((CH₃)₂CHCH₂OOC–) 25,86 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 27,54 (C7), 27,67 i 27,69 (C6a i C6b), 29,76 ((CH₃)₂CHCH₂OOC–), 34,32 i 35,39 (C5a i C5b), 36,39 (C4), 39,86 (–CH₂Cy), 47,22 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 62,42 (–OOCCH–), 77,19 ((CH₃)₂CHCH₂OOC–), 173,05 ppm (C1); IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 3435, 2927, 2854, 2715, 2653–2372, 1746, 1540, 1470, 1373, 1277, 1200, 1069, 978. ESI-MS: m/z (%): 495,41 (100) [M–2HCl+H]⁺; 248,21 (68,33) [M–2HCl+2H]²⁺.

3.1.2.6. Sinteza *O,O'*-di-*n*-pentil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorida, [(*S,S*)-H₂*n*Pe₂pddchxp]Cl₂

U 30 cm³ apsolutnog *n*-pentanola, u kapima je dodavan tionil-hlorid (4,5 cm³), a potom je u reakcioni sistem dodata (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorid (1,50 g; 3,30 mmol). Nakon 1 sata mešanja na 0 °C, suspenzija je refluktovana 24 sata. Reakciona smeša je procedena i filtrat koncentrovan na vodenom kupatilu. Nakon hlađenja do sobne temperature, filtratu je dodat aceton i smeša ostavljena u frižideru na 4 °C, preko noći. Odgovarajući estar u obliku belog kristaličnog proizvoda je proceden, ispran hladnim *n*-pentanolom i sušen pod *vakuumom*.

(L7): Prinos: 0,79 g (39,1%). t.t. = 182–184 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₃₁H₆₀O₄N₂Cl₂·H₂O (%): C, 60,67; H, 10,18; N, 4,56. Nađeno (%): C, 60,76; H, 9,71; N, 4,61. ¹H NMR (500,26 MHz, TFA-*d*₁): δ = 1,18 (t, **CH**₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–, 6H), 1,25 (m, C5a**H**, C5b**H**, 4H), 1,43–1,56 (m, C6a**H**, C6b**H**, 4H; C7**H**, 2H; NH, 1H), 1,63 (m, CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H; CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H), 1,76 (m, C4**H**, 2H), 1,94–2,11 (m, C5a**H'**, C5b**H'**, 4H; C6a**H'**, C6b**H'**, 4H; C7**H'**, 2H; NH, 1H; CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H), 2,17 (t, –CH₂Cy, 4H), 2,87 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 2H), 3,69 i 3,78 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 4H), 4,47 (t, –OOCCH–, 2H), 4,57 i 4,67 (m, CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H). ¹³C NMR (125,79 MHz, TFA-*d*₁): 14,59 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–), 24,05 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–), 25,86 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 27,62 (**C7**), 27,74 (**C6a** i **C6b**), 29,97 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–), 30,00 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–), 34,34 i 35,45 (**C5a** i **C5b**), 36,46 (**C4**), 39,90 (–CH₂Cy), 47,26 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 62,51 (–OOCCHNH₂–), 71,52 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OOC–), 173,07 ppm (**C1**). IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 2959, 2928, 2857, 2717, 2648, 2453, 2370, 1749, 1537, 1472, 1453, 1279, 1215, 1197, 1073, 1049, 968. ESI-MS: m/z (%): 523,44 (100) [M–2HCl+H]⁺; 262,22 (36,45) [M–2HCl+2H]²⁺.

3.1.2.7. Sinteza *O,O'*-diizopentil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorida, [(*S,S*)-H₂iPe₂pddchxp]Cl₂

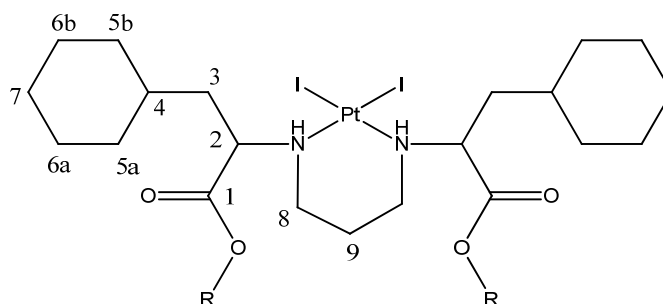
U 30 cm³ apsolutnog izopentanol, u kapima je dodavan tionil-hlorid (4,5 cm³), a potom je u reakcioni sistem dodata (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanska kiselina dihidrohlorid (1,50 g; 3,30 mmol). Nakon 1 sata mešanja na 0 °C, suspenzija je refluktovana 24 sata. Reakciona smeša je procedena i filtrat koncentrovan na vodenom kupatilu. Nakon hlađenja do sobne temperature, filtratu je dodat aceton i smeša ostavljena u frižideru na 4 °C, preko noći. Odgovarajući ester u obliku belog kristaličnog proizvoda je proceden, ispran hladnim izopentanolom i sušen pod *vakuomom*.

(L8): Prinos: 0,96 g (47,5%). t.t. = 176–178 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₃₁H₆₀O₄N₂Cl₂·1.25H₂O (%): C, 60,22; H, 10,19; N, 4,53. Nađeno (%): C, 59,89; H, 9,85; N, 4,50. ¹H NMR (500,26 MHz, TFA-*d*₁): δ = 1,10–1,20 (m, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 12H; (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 2H; C5aH, C5bH, 4H), 1,33–1,44 (m, C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; NH, 1H), 1,65 (m, C4H, 2H), 1,77–2,00 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; NH, 1H; (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 4H), 2,01 (t, –CH₂Cy, 4H), 2,80 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 2H), 3,60 i 3,70 (m, –NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–, 4H), 4,38 (t, –OOCCH–, 2H), 4,52 i 4,62 (m, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 4H). ¹³C NMR (125,79 MHz, TFA-*d*₁): 11,80 i 17,06 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 22,97 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 25,79 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 27,25 (C7), 27,65 i 27,73 (C6a i C6b), 34,27 i 35,36 (C5a i C5b), 36,33 (C4), 38,88 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 39,79 (–CH₂Cy), 47,18 (–NH₂CH₂CH₂CH₂NH₂–), 62,42 (–OOCCHNH₂–), 69,91 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 172,96 ppm (C1). IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 3468, 2929, 2856, 2719, 2653, 2449, 1744, 1539, 1472, 1367, 1338, 1277, 1238, 1200, 1139, 1070, 941. ESI-MS: m/z (%): 523,44 (100) [M–2HCl+H]⁺; 262,22 (76,86) [M–2HCl+2H]²⁺.

3.2. Sinteza kompleksa

3.2.1. Kompleksi platine(II)

Sintetisani su Pt(II) jodido kompleksi sa etil, *n*-butil, *i*-butil, *n*-pentil i *i*-pentil estrima (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, čija je opšta struktura, sa numeracijom ugljenikovih atoma prikazana na **Slici 10**.



Slika 10. $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-R}_2\text{pddchxp}\}]$.

3.2.1.1. Sinteza dijodido(*O,O'*-dietil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-Et}_2\text{pddchxp}\}]$

Kalijum-tetrahloridoplatinat(II) (70,55 mg; 0,17 mmol) rastvoren je u 1,5 cm³ H₂O nakon čega je dodat kalijum-jodid (141,1 mg; 0,85 mmol), pri čemu je nastao odgovarajući jodido kompleks platine(II). Ligand, *O,O'*-dietil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat dihidrohlorid (86,96 mg; 0,17 mmol) dodat je u 8 cm³ smeše etanol/voda (v:v, 5:1). Suspenzija liganda je tretirana vodenim rastvorom litijum-hidroksida, koji je dobijen rastvaranjem litijum-hidroksida monohidrata (14,27 mg; 0,34 mmol) u 1,5 cm³ vode. Rastvor liganda je ukapavan, tokom 20 minuta, u rastvor polaznog kompleksa, a potom je reakciona smeša ostavljena na magnetnoj mešalici, tokom 24 časa, na sobnoj temperature, zaštićena od svetlosti. Dobijeni kompleks žute boje, odvojen je filtracijom, ispran sa malo hladnog etanola i sušen pod *vakuumom*.

(K1): Prinos: 80,23 mg (53,5%). t.t = 148–150 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₂₅H₄₆O₄N₂I₂Pt (%): C, 33,83; H, 5,22; N, 3,16. Nađeno (%): C, 34,20; H, 5,30; N 3,21.

^1H NMR (500,26 MHz, CDCl_3): δ = 0,93–1,03 (m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOC}$ –, 6H), 1,18–1,40 (m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H); 1,43–1,91 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; $-\text{CH}_2\text{Cy}$, 1H; $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ –, 2H; C4H, 2H), 2,11 i 2,89 (t, m $-\text{CH}_2\text{Cy}$, 3H), 2,74, 3,27, 3,55 (m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ –, 4H), 3,70 i 3,80 (m, $-\text{OOCCH}$ –, 2H), 4,25–4,42 (m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOC}$ –, 4H), 4,82 i 5,69 (d, NH, 2H). ^{13}C NMR (125,79 MHz, CDCl_3): 14,18 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOC}$ –), 19,69 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ –), 25,82 (C6a i C6b), 26,13 (C7), 31,37, 32,10, 32,72 i 34,07 (C5a i C5b), 33,13 i 34,46 (C4), 35,19 i 37,16 ($-\text{CH}_2\text{Cy}$), 48,12 i 49,35 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ –), 59,72 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOC}$ –), 61,82 i 62,31 ($-\text{OOCCH}$ –), 170,52 i 173,21 ppm (C1). IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3189, 2979, 2927, 2852, 1736, 1449, 1371, 1258, 1208, 1123, 1096, 1023, 959, 917, 850. UV/Vis (acetone): λ_{max} (ϵ) = 378,25 nm (110,35 $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). ESI-MS: m/z (%): 888,12 (25,43) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 760,21 (100) $[\text{M}-\text{I}]^+$.

3.2.1.2. Sinteza dijodido(*O,O'*-di-*n*-butil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), $[\text{PtI}_2\{(\text{S,S})\text{-}n\text{Bu}_2\text{pddchxp}\}]$

Kalijum-tetrahloridoplatinat(II) (62,25 mg; 0,15 mmol) rastvoren je u 1,5 cm^3 H_2O nakon čega je dodat kalijum-jodid (124,5 mg; 0,75 mmol), pri čemu je nastao odgovarajući jodido kompleks platine(II). Ligand, *O,O'*-di-*n*-butil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat dihidrohlorid (85,15 mg; 0,15 mmol) dodat je u 8 cm^3 smeše etanol/voda (v:v, 5:1). Suspenzija liganda je tretirana vodenim rastvorom litijum-hidroksida, koji je dobijen rastvaranjem litijum-hidroksida monohidrata (12,59 mg; 0,30 mmol), u 1,5 cm^3 vode. Dalja procedura sinteze identična je kao za kompleks **K1**.

(**K2**): Prinos: 87,12 mg (61,6%). t.t. = 136–138 °C. Elementalna analiza: izračunato za: $\text{C}_{29}\text{H}_{54}\text{O}_4\text{N}_2\text{I}_2\text{Pt}$ (%): C, 36,91; H, 5,77; N, 2,97. Nađeno (%): C, 37,39; H, 5,88; N, 3,02. ^1H NMR (500,26 MHz, CDCl_3): δ = 0,93 (t, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}$ –, 6H), 1,05–1,36 (m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H); 1,47 (kv, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}$ –, 4H), 1,61–1,82 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}$ –, 4H; $-\text{CH}_2\text{Cy}$, 1H; $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ –, 2H; C4H, 2H), 2,11 i 2,89 (t, m $-\text{CH}_2\text{Cy}$, 3H), 2,74, 3,30, 3,50 (m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ –, 4H), 3,70 i 3,78 (m, $-\text{OOCCH}$ –, 2H), 4,15–4,39 (m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}$ –, 4H), 4,81 i

5,68 (d, **NH**, 2H); ^{13}C NMR (125,79 MHz, CDCl_3): 13,58 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$), 19,11 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$), 19,73 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$), 25,64 (**C6a** i **C6b**), 26,09 (**C7**), 30,41 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$), 31,45, 32,12, 32,52, 34,23 (**C5a** i **C5b**), 33,25 i 34,47 (**C4**), 35,15 i 37,23 ($-\text{CH}_2\text{Cy}$), 46,43 i 49,33 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$), 61,92 i 62,45 ($-\text{OOCCHNH}_2-$), 65,67 i 66,11 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC}-$), 170,57 i 173,48 ppm (**C1**); IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3194, 2958, 2931, 2855, 1743, 1452, 1321, 1268, 1197, 1127, 1155, 1127, 1064$. ULj/Vid (acetone): λ_{max} (ϵ) = 379,31 nm (139,42 $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$); ESI-MS: m/z (%): 944,19 (15,12) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 816,28 (100) $[\text{M}-\text{I}]^+$.

3.2.1.3. Sinteza dijodido(*O,O'*-di-izobutil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), $[\text{PtI}_2\{(\text{S,S})\text{-iBu}_2\text{pddchxp}\}]$

Kalijum-tetrahloridoplatinat(II) (50,00 mg; 0,12 mmol) rastvoren je u 1,5 cm^3 H_2O nakon čega je dodat kalijum-jodid (99,6 mg; 0,6 mmol), pri čemu je nastao odgovarajući jodido kompleks platine(II). Ligand, *O,O'*-diizobutil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat dihidrohlid monohidrat (70,28 mg; 0,12 mmol) dodat je u 6 cm^3 smeše etanol/voda (v:v, 5:1). Suspenzija liganda je tretirana vodenim rastvorom litijum-hidroksida, koji je dobijen rastvaranjem litijum-hidroksida monohidrata (10,07 mg; 0,24 mmol), u 1,5 cm^3 vode. Dalja procedura sinteze identična je kao za kompleks **K1**.

(**K3**): Prinos: 78,34 mg (68,9%). t.t. = 138–140 °C. Elementalna analiza: izračunato za $\text{C}_{29}\text{H}_{54}\text{O}_4\text{N}_2\text{I}_2\text{Pt}$ (%): C, 36,91; H, 5,77; N, 2,97. Nađeno (%): C, 36,76; H, 5,66; N, 3,18. ^1H NMR (500,26 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,90\text{--}1,01$ (m, dd, (**CH**₃)₂**CHCH**₂**OOC-**, 12H; **C5aH**, **C5bH**, 4H), 1,14–1,40 (m, **C6aH**, **C6bH**, 4H; **C7H**, 2H; $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$, 2H; **C4H**, 1H), 1,52 (m, **C4H**, 1H), 1,68–1,94 (m, $-\text{CH}_2\text{Cy}$, 3H; **C5aH'**, **C5bH'**, 4H; **C6aH'**, **C6bH'**, 4H; **C7H'**, 2H), 2,03 (sept, (**CH**₃)₂**CHCH**₂**OOC-**, 2H), 2,48 (t, $-\text{CH}_2\text{Cy}$, 1H), 2,86 i 3,21 (m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$, 4H), 3,89–4,06 (m, (**CH**₃)₂**CHCH**₂**OOC-**, 4H), 4,76 i 4,88 (td, $-\text{OOCCH}-$, 2H), 5,61 i 6,02 (d, **NH**, 2H); ^{13}C NMR (125,79 MHz, CDCl_3): 19,26 i 19,30 ((**CH**₃)₂**CHCH**₂**OOC-**), 25,71 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$), 26,00 i 26,26 (**C6a** i **C6b**), 26,41 (**C7**), 27,65 ((**CH**₃)₂**CHCH**₂**OOC-**), 32,38, 32,71, 33,13 i 34,32 (**C5a** i **C5b**), 33,83 i 35,28 (**C4**), 35,57 i 39,31 ($-\text{CH}_2\text{Cy}$), 50,41 i 51,28 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$), 60,57 i 61,39 ($-\text{OOCCH}-$), 71,56 i 71,74 ((**CH**₃)₂**CHCH**₂**OOC-**

), 170,72 i 171,22 ppm (**C1**). ^{195}Pt NMR (CDCl_3): – 3371 i – 3469 ppm. IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3436, 3182, 3163, 2928, 2853, 1737, 1449, 1375, 1286, 1263, 1222, 1199, 1129, 1034, 1003, 961, 917$. ULj/Vid (acetone): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 376,86 \text{ nm}$ ($210 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$); ESI-MS: m/z (%): 944,19 (20,53) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 967,17 (74,12) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.2.1.4. Sinteza dijodido(*O,O'*-di-*n*-pentil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), $[\text{PtI}_2\{(\text{S,S})\text{-}n\text{Pe}_2\text{pddchxp}\}]$

Kalijum-tetrahloridoplatinat(II) (50,00 mg; 0,12 mmol) rastvoren je u $1,5 \text{ cm}^3$ H_2O nakon čega je dodat kalijum-jodid (99,6 mg; 0,6 mmol), pri čemu je nastao odgovarajući jodido kompleks platine(II). Ligand, *O,O'*-di-*n*-pentil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat dihidrohlorid monohidrat (73,93 mg; 0,12 mmol) dodat je u 6 cm^3 smeše etanol/voda (v:v, 5:1). Suspenzija liganda je tretirana vodenim rastvorom litijum-hidroksida, koji je dobijen rastvaranjem litijum-hidroksida monohidrata (10,07 mg; 0,24 mmol), u $1,5 \text{ cm}^3$ vode. Dalja procedura sinteze identična je kao za kompleks **K1**.

(**K4**): Prinos: 71,42 mg (61,0%). t.t. = 134–136 °C. Elementalna analiza: izračunato za $\text{C}_{31}\text{H}_{58}\text{O}_4\text{N}_2\text{I}_2\text{Pt}$ (%): C, 38,32; H, 6,02; N, 2,88. Nađeno (%): C, 38,00; H, 5,84; N, 2,88. ^1H NMR (500,26 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,91\text{--}1,05$ (m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 6H), 1,10–1,29 (m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H), 1,32–1,45 (m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 4H; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 4H), 1,46–1,76 (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 4H; –CH₂Cy, 1H), 1,78–1,95 (m, C4, 2H; –NHCH₂CH₂CH₂NH–, 2H), 2,11 i 2,92 (m i t, –CH₂Cy, 3H), 2,73, 3,29 i 3,51 (m, –NHCH₂CH₂CH₂NH–, 4H), 3,61 i 3,77 (td, –OOCCH₂–, 2H), 4,22 i 4,36 (m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 4H), 4,81 i 5,68 (d, NH, 2H). ^{13}C NMR (125,79 MHz, CDCl_3): 13,92 i 13,97 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 19,77 (–NHCH₂CH₂CH₂NH–), 22,22 i 22,31 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 25,67 i 26,05 (C6a i C6b), 26,14 i 26,29 (C7), 27,45 i 27,97 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 28,12 i 28,16 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 31,47 i 32,14 (C5a i C5b), 34,16 i 34,49 (C4), 35,18 i 37,24 (–CH₂Cy), 46,46 i 49,32 (–NHCH₂CH₂CH₂NH–), 61,96 i 62,46 (–OOCCH₂NH₂–), 66,33 i 66,50 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 168,56, 170,53 i 173,40 ppm (**C1**); IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3186, 3113, 2930, 2855, 1735, 1450, 1379, 1316, 1286,$

1259, 1203, 1155, 1128, 1047, 994, 959, 918, 874, 735. ULj/Vid (acetone): $\lambda_{\max} (\epsilon) = 377,66 \text{ nm}$ ($136 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). ESI-MS: m/z (%): 972,22 (6,83) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

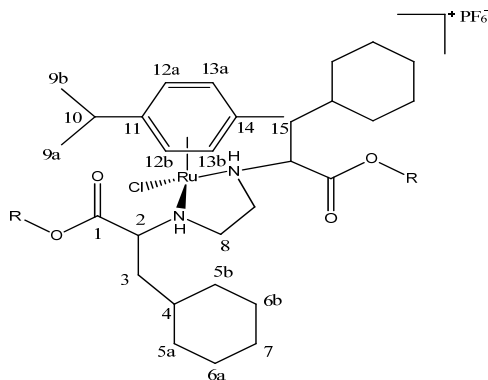
3.2.1.5. Sintaza dijodido(*O,O'*-di-izopentil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat)platina(II), $[\text{PtI}_2\{(\text{S,S})\text{-iPe}_2\text{pddchxp}\}]$

Kalijum-tetrahloridoplatinat(II) (50,00 mg; 0,12 mmol) rastvoren je u $1,5 \text{ cm}^3$ H_2O nakon čega je dodat kalijum-jodid (99,6 mg; 0,6 mmol), pri čemu je nastao odgovarajući jodido kompleks platine(II). Ligand, *O,O'*-diizopentil-(*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoat dihidrohlorid monohidrat (74,47 mg; 0,12 mmol) dodat je u 6 cm^3 smeše etanol/voda (v:v, 5:1). Suspenzija liganda je tretirana vodenim rastvorom litijum-hidroksida, koji je dobijen rastvaranjem litijum-hidroksida monohidrata (10,07 mg; 0,24 mmol), u $1,5 \text{ cm}^3$ vode. Dalja procedura sinteze identična je kao za kompleks **K1**.

(K5): Prinos: 74,33 mg (62,4%). t.t. = 142–144 °C. Elementalna analiza: izračunato za $\text{C}_{31}\text{H}_{58}\text{O}_4\text{N}_2\text{I}_2\text{Pt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (%): C, 37,62; H, 6,11; N, 2,83. Nađeno (%): C, 37,20; H, 5,78; N, 2,85. ^1H NMR (500,26 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,93\text{--}1,05$ (m, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 12H), $1,10\text{--}1,40$ (m. C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 2H), $1,42\text{--}1,77$ (m, C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 4H; $-\text{CH}_2\text{Cy}$, 1H), $1,78\text{--}2,10$ (m, C4H, 2H; $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$, 2H), 2,10 i 2,89 ($-\text{CH}_2\text{Cy}$, 3H), 2,73, 3,31 i 3,52 (m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$, 4H), 3,62 i 3,77 (m, td $-\text{OOCCH-}$, 2H), 4,00–4,40 (m, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$, 4H) 4,82 i 5,68 (d, NH, 2H). ^{13}C NMR (125,79 MHz, CDCl_3): 11,21 i 16,45 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 19,71 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$), 22,31 i 22,49 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 24,98 i 25,63 (C6a i C6b), 26,06 i 27,05 (C7), 31,78 i 32,97 (C5a i C5b), 34,01 i 34,36 (C4), 35,18 i 37,11 ($-\text{CH}_2\text{Cy}$), 39,86 i 42,29 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 46,53 i 49,43 ($-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$), 61,96 i 62,52 ($-\text{OOCCHNH}_2-$), 64,55 i 64,87 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OOC-}$), 168,48, 170,51 i 173,40 ppm (C1). IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3188, 3168, 2959, 2928, 2855, 1733, 1451, 1386, 1315, 1285, 1265, 1220, 1199, 1128, 1051, 994, 959, 920$. ULj/Vid (acetone): $\lambda_{\max} (\epsilon) = 376,34$ ($132 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). ESI-MS: m/z (%): 972,22 (7,03) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 844,31 (15,10) $[\text{M-I}]^+$

3.2.2. Kompleksi rutenijuma(II)

Sintetisani su organorutenijum(II) hlorido kompleksi sa metil, etil, *n*-propil, *n*-butil, *i*-butil i *i*-pentil estrima (*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, čija je opšta struktura, sa numeracijom ugljenikovih atoma prikazana na **Slici 11**.



Slika 11. $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-Me}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$.

3.2.2.1. Sinteza $(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})$ hlorido-*O,O'*-dimetil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-Me}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$

Polazni kompleks, $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}_2]_2$ (0,13 g; 0,22 mmol), rastvoren je u 12 cm³ metanola. Suspenzija liganda, *O,O'*-dimetil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida (0,21 g; 0,44 mmol) u metanolu (12 cm³) tretirana je litijum-hidroksidom monohidratom (0,04 g; 0,88 mmol), pri čemu je nastao bistar rastvor liganda. Rastvor polaznog kompleksa je ukapavan, tokom 20 minuta, u rastvor liganda i reakciona smeša ostavljena na magnetnoj mešalici, na 40° C, tokom 2,5 sata. Narandžasti rastvor nastalog kompleksa koncentrovan je na rotacionom vakuum uparivaču, na zapreminu od 10 cm³. Nakon dodatka amonijum-heksafluorofosfata (0,12 g; 0,74 mmol), rastvor kompleksa je ostavljen na magnetnoj mešalici, pri sobnoj temperaturi. Tokom jednog sata precipitirao je željeni kompleks, žuto-narandžaste boje. Nastali proizvod je odvojen filtracijom, a druga frakcija kompleksa je dobijena sporim isparavanjem matičnog rastvora na sobnoj temperaturi. Sve frakcije kompleksa su

rastvorene u dihlormetanu i nakon filtracije i isparavanja rastvarača, odvojen je kompleks koji je sušen pod *vakuuumom*.

(K6): Prinos: 0,17 g (47,5%). t.t. = 170 °C. Elementalna analiza: izračunato za $C_{32}H_{54}ClF_6N_2O_4PRu$ (%): C, 47,32; H, 6,70; N, 3,45. Nađeno (%): C, 47,21; H, 6,81; N, 3,41. 1H NMR (199,97 MHz, DMSO- d_6): δ = 0,80–1,40 (m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; $-CH(CH_3)_2$, 6H), 1,40–2,10 (m, $-CH_2Cy$, 4H; C4H, 2H; C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; $CH_3(aren)$, 3H), 2,25 (m, $-NHCH_2CH_2NH-$, 4H), 2,81 (sept, $-CH(CH_3)_2$, 1H), 3,63 i 4,22 (m, $-OOCCHNH-$, 2H), 3,71 i 3,84 (s, CH_3OOC- , 6H), 5,04 (d, C12aH(aren), 1H), 5,34 (d, C13aH(aren), 1H), 5,79 (d, C12bH(aren), 1H), 6,08 (d, C13bH(aren), 1H), 6,88 i 7,07 ppm (m, $-NHCH_2CH_2NH-$, 2H). ^{13}C NMR (50,28 MHz, DMSO- d_6): δ = 16,14 ($CH_3(aren)$), 20,58 i 22,48 ($-CH(CH_3)_2$), 25,61 (C6), 25,94 (C7), 30,65 ($-CH(CH_3)_2$), 31,65 (C5), 34,34 (C4), 38,03 ($-CH_2Cy$), 45,95 i 50,48 ($-NHCH_2CH_2NH-$), 52,28 (CH_3OOC-), 58,98 i 60,78 ($-OOCCHNH-$), 74,08 i 75,52 (C12aH(aren), C12bH(aren)), 86,19 i 87,13 (C13aH(aren), C13bH(aren)), 92,27 (C14(aren)), 112,40 (C11(aren)), 172,34 i 173,74 ppm (CH_3OOC-). IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3434, 3233, 2924, 2852, 1753, 1736, 1628, 1450, 1386, 1331, 1250, 1218, 1191, 1126, 1086, 1057, 1035, 994, 976, 841. ULj/Vid (CH_3CN): λ_{max} (ϵ) = 325,96 (107), 411,06 nm (67 $Lmol^{-1}cm^{-1}$). ESI-MS: m/z (%): 667,28 (100) $[M]^+$; 668,28 (42,43) $[M+H]^+$.

3.2.2.2. Sinteza (η^6 -*p*-cimen)hlorido-*O,O'*-dietil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, $[(\eta^6$ -*p*-cimen)RuCl{(*S,S*)-Et₂eddchxp}]PF₆

Polazni kompleks, $[(\eta^6$ -*p*-cimen)RuCl₂]₂ (0,12 g; 0,19 mmol) rastvoren je u 11 cm³ metanola. Suspenzija liganda, *O,O'*-dietil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida (0,19 g; 0,38 mmol) u metanolu (10 cm³) tretirana je litijum-hidroksidom monohidratom (0,03 g; 0,76 mmol), pri čemu je nastao bistar rastvor liganda. Rastvor polaznog kompleksa je ukapavan, tokom 20 minuta, u rastvor liganda i reakciona smeša ostavljena na magnetnoj mešalici, na 40 °C, tokom 2,5 sata. Narandžasti rastvor nastalog kompleksa koncentrovan je na rotacionom vakuum uparivaču na zapreminu od 10 cm³. Nakon dodatka amonijum-heksafluorofosfata (0,10

g; 0,61 mmol), rastvor kompleksa je ostavljen na magnetnoj mešalici, pri sobnoj temperaturi. Dalja procedura sinteze ista je kao za kompleks **K6**.

(K7): Prinos: 0,18 g (55,8%). t.t. = 172 °C. Elementalna analiza: izračunato za $C_{34}H_{58}ClRuN_2O_4PF_6$ (%): C, 48,60; H, 6,96; N, 3,33. Nađeno (%): C, 48,32; H, 6,98; N 3,28. 1H NMR (500,26 MHz, DMSO- d_6): δ = 0,80–1,38 (m, CH_3CH_2OOC- , 6H; $C5aH$, $C5bH$, 4H; $C6aH$, $C6bH$, 4H; $C7H$, 2H; $(-CH(CH_3)_2)$, 6H), 1,50–2,04 (m, $-CH_2Cy$, 4H; $C4H$, 2H; $C5aH'$, $C5bH'$, 4H; $C6aH'$, $C6bH'$, 4H; $C7H'$, 2H; $CH_3(aren)$, 3H), 2,24 (m, $-NHCH_2CH_2NH-$, 4H), 2,81 (sept, $-CH(CH_3)_2$, 1H), 3,64 i 4,15 (m, $-OOCCHNH-$, 2H), 4,24 i 4,39 (m, CH_3CH_2OOC- , 4H), 5,06 (d, $C12aH(aren)$, 1H), 5,34 (d, $C13aH(aren)$, 1H), 5,79 (d, $C12bH(aren)$, 1H), 6,07 (d, $C13bH(aren)$, 1H), 6,84 i 7,03 ppm (m, $-NHCH_2CH_2NH-$, 2H). ^{13}C NMR (125,79 MHz, DMSO- d_6): δ = 13,99 (CH_3CH_2OOC-), 15,97 ($CH_3(aren)$), 20,51 i 22,24 ($-CH(CH_3)_2$), 25,36 ($C6$), 25,78 ($C7$), 30,43 ($-CH(CH_3)_2$), 31,34 ($C5$), 34,19 ($C4$), 37,92 ($-CH_2Cy$), 45,76 i 50,15 ($-NHCH_2CH_2NH-$), 58,72 i 60,45 ($-OOCCHNH-$), 60,98 (CH_3CH_2OOC-) 74,02 i 75,42 ($C12aH(aren)$, $C12bH(aren)$), 86,02 i 86,83 ($C13aH(aren)$, $C13bH(aren)$), 92,10 ($C14(aren)$), 112,04 ($C11(aren)$), 171,70 i 173,04 ppm (CH_3CH_2OOC-). IC (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3443, 3261, 2926, 2852, 1731, 1632, 1450, 1376, 1327, 1277, 1212, 1192, 1094, 1038, 843. ULj/Vid (CH_3CN): λ_{max} (ϵ) = 325,96 (105), 408,51 nm (63 $Lmol^{-1}cm^{-1}$). ESI-MS: m/z (%): 695,31 (100) $[M]^+$; 696,31 (43,90) $[M+H]^+$.

3.2.2.3. Sinteza (η^6 -*p*-cimen)hlorido-*O,O'*-*n*-propil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, $[(\eta^6$ -*p*-cimen) $RuCl\{(S,S)$ -*nPr*₂edchxp}] PF_6

Polazni kompleks, $[(\eta^6$ -*p*-cimen) $RuCl_2$]₂ (0,12 g; 0,19 mmol) rastvoren je u 11 cm^3 metanola. Suspenzija liganda, *O,O'*-di-*n*-propil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida (0,20 g; 0,38 mmol) u metanolu (12 cm^3) tretirana je litijum-hidroksidom monohidratom (0,03 g; 0,76 mmol), pri čemu je nastao bistar rastvor liganda. Rastvor polaznog kompleksa je ukapavan, tokom 20 minuta, u rastvor liganda i reakciona smeša ostavljena na magnetnoj mešalici, na 40° C, tokom 2,5 sata. Narandžasti rastvor nastalog kompleksa koncentrovan je na rotacionom vakuum uparivaču na zapreminu od 10 cm^3 . Nakon dodatka amonijum-heksafluorofosfata (0,11

g; 0,67 mmol), rastvor kompleksa je ostavljen na magnetnoj mešalici, pri sobnoj temperaturi. Dalja procedura sinteze ista je kao za kompleks **K6**.

(K8): Prinos: 0,16 g (48,2%). t.t. = 174 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₃₆H₆₂ClRuN₂O₄PF₆ (%): C, 49,79; H, 7,20; N, 3,23. Nađeno (%): C, 49,48; H, 7,53; N, 3,29. ¹H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0,75–1,01 (dt, CH₃CH₂CH₂OOC–, 6H; m, C7H, 2H), 1,02–1,20 (m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H), 1,23 (dd, –CH(CH₃)₂, 6H), 1,50–2,10 (m, CH₃CH₂CH₂OOC–, 4H; –CH₂Cy, 4H; C4H, 2H; C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; (CH₃(aren), 3H), 2,25 (m, –NHCH₂CH₂NH–, 4H), 2,81 (sept, –CH(CH₃)₂, 1H), 3,65 i 4,05 (m, –OOCCHNH–, 2H), 4,16 i 4,23 (m, CH₃CH₂CH₂OOC–, 4H), 5,07 (d, C12aH(aren), 1H), 5,36 (d, C13aH(aren), 1H), 5,81 (d, C12bH(aren), 1H), 6,06 (d, C13bH(aren), 1H), 6,83 i 7,01 ppm (m, –NHCH₂CH₂NH–, 2H). ¹³C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10,33 (CH₃CH₂CH₂OOC–), 16,00 (CH₃(aren)), 21,38 (CH₃CH₂CH₂OOC–), 20,74 i 22,10 (–CH(CH₃)₂), 25,35 (C6), 25,77 (C7), 30,42 (–CH(CH₃)₂), 31,37 (C5), 34,17 (C4), 37,92 (–CH₂Cy), 45,87 i 50,15 (–NHCH₂CH₂NH–), 58,81 i 60,42 (–OOCCHNH–), 66,52 (CH₃CH₂CH₂OOC–), 74,14 i 75,36 (C12aH(aren), C12bH(aren)), 86,09 i 86,75 (C13aH(aren), C13bH(aren)), 92,16 (C14(aren)), 111,98 (C11(aren)), 171,91 i 173,14 ppm (CH₃CH₂CH₂OOC–). IR (ATR, cm^{–1}): ν̃ = 3437, 3261, 2926, 2853, 1734, 1631, 1451, 1211, 1189, 1059, 843. ULj/Vid (CH₃CN): λ_{max} (ε) = 325,96 (109), 412,77 nm (70 Lmol^{–1}cm^{–1}). ESI-MS: m/z (%): 723,35 (100) [M]⁺; 724,35 (46,87) [M+H]⁺.

3.2.2.4. Sinteza (η⁶-*p*-cimen)hlorido-*O,O'*-*n*-butil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [(η⁶-*p*-cimen)RuCl{(*S,S*)-*n*Bu₂eddchxp}}]PF₆

Polazni kompleks, [(η⁶-*p*-cimen)RuCl₂]₂ (0,12 g; 0,20 mmol) rastvoren je u 11 cm³ metanola. Suspenzija liganda, *O,O'*-di-*n*-butil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida (0,22 g; 0,40 mmol) u metanolu (10 cm³) tretirana je litijum-hidroksidom monohidratom (0,03 g; 0,80 mmol), pri čemu je nastao bistar rastvor liganda. Rastvor polaznog kompleksa je ukapavan, tokom 20 minuta, u rastvor liganda i reakciona smeša ostavljena na magnetnoj mešalici, na 40° C, tokom 2,5 sata. Narandžasti rastvor nastalog kompleksa koncentrovan je na rotacionom vakuum

uparivaču na zapreminu od 10 cm³. Nakon dodatka amonijum-heksafluorofosfata (0,11 g; 0,67 mmol), rastvor kompleksa je ostavljen na magnetnoj mešalici, pri sobnoj temperaturi. Dalja procedura sinteze ista je kao za kompleks **K6**.

(K9): Prinos: 0,18 g (51,7%). t.t. = 176 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₃₈H₆₆ClRuN₂O₄PF₆ (%): C, 50,91; H, 7,42; N, 3,13. Nađeno (%): C, 50,80; H, 7,41; N 3,13. ¹H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0,78–0,98 (dt, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 6H; m, C7H, 2H), 1,00–1,20 (m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H), 1,24 (dd, –CH(CH₃)₂), 6H), 1,27–2,06 (m, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H; CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H; –CH₂Cy, 4H; C4H, 2H; C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; (CH₃(aren), 3H), 2,25 (m, –NHCH₂CH₂NH–, 4H), 2,81 (sept, –CH(CH₃)₂, 1H), 3,65 i 4,07 (m, –OOCCHNH–, 2H), 4,17 i 4,30 (m, CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–, 4H), 5,06 (d, C12aH(aren), 1H), 5,34 (d, C13aH(aren), 1H), 5,80 (d, C12bH(aren), 1H), 6,06 (d, C13bH(aren), 1H), 6,83 i 7,04 ppm (m, –NHCH₂CH₂NH–, 2H). ¹³C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 13,47 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 15,99 (CH₃(aren)), 18,65 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 20,78 i 22,04 (–CH(CH₃)₂), 25,34 (C6), 25,78 (C7), 30,02 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 30,43 (–CH(CH₃)₂), 31,40 (C5), 34,17 (C4), 37,90 (–CH₂Cy), 45,90 i 50,10 (–NHCH₂CH₂NH–), 58,83 i 60,36 (–OOCCHNH–), 64,66 (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–), 74,15 i 75,28 (C12aH(aren), C12bH(aren)), 86,15 i 86,74 (C13aH(aren), C13bH(aren)), 92,15 (C14(aren)), 112,01 (C11(aren)), 171,88 i 173,09 ppm (CH₃CH₂CH₂CH₂OOC–). IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 3439, 3260, 2927, 2852, 1722, 1451, 1210, 1189, 1062, 1036, 844. ULJ/Vid (CH₃CN): λ_{max} (ε) = 333,62 (86), 412,77 nm (58 Lmol^{–1}cm^{–1}). ESI-MS: m/z (%): 751,38 (100) [M]⁺; 752,38 (47,43) [M+H]⁺.

3.2.2.5. Sinteza (η⁶-*p*-cimen)hlorido-*O,O'*-diizobutil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [(η⁶-*p*-cimen)RuCl{(*S,S*)-*i*Bu₂eddchxp}]PF₆

Polazni kompleks, [(η⁶-*p*-cimen)RuCl₂]₂ (0,061g; 0,10 mmol) rastvoren je u 10 cm³ smeše metanola/hloroform (v:v, 1:1). Suspenzija liganda, *O,O'*-diizobutil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida (0,11 g; 0,20 mmol) u metanolu (5 cm³) tretirana je litijum-hidroksidom monohidratom (0,017g; 0,40 mmol), pri čemu je nastao bistar rastvor liganda. U rastvor polaznog kompleksa je ukapavan

ligand, tokom 20 minuta i reakciona smeša ostavljena na magnetnoj mešalici, na 40 °C, tokom 3 sata. Narandžasti rastvor nastalog kompleksa koncentrovan je na rotacionom vakuum uparivaču na zapreminu od 10 cm³. Nakon dodatka amonijum-heksafluorofosfata (0,06 g; 0,37 mmol), rastvor kompleksa je ostavljen na magnetnoj mešalici, pri sobnoj temperaturi. Tokom jednog sata precipitirao je željeni kompleks, žuto-narandžaste boje, koji je odvojen filtracijom, ispran sa malo hladnog metanola i sušen pod *vakuumom*.

(K10): Prinos: 0,09 g (51,3%). t.t. = 182 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₃₈H₆₆ClF₆N₂O₄PRu (%): C, 50,91; H, 7,42; N, 3,13. Nađeno (%): C, 50,85; H, 7,21; N 3,17. ¹H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0,90 i 0,98 (d, (CH₃)₂CHCH₂O–, 12H), 1,10 (m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H), 1,24 (dd, (CH₃)₂CH(aren)), 6H), 1,55–1,96 i 2,18 (m, C4H, 2H; C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; –CH₂Cy, 4H; –NHCH₂CH₂NH–, 4H), 2,25 (s, CH₃(aren), 3H), 2,57 (m, (CH₃)₂CHCH₂O–, 2H), 2,82 (sept, –CH(CH₃)₂, 1H), 3,91 i 4,03 (m, d (CH₃)₂CHCH₂OOC–, 4H), 3,65 i 4,17 (td, –OOCCHNH–, 2H), 5,08 (d, C12aH(aren), 1H), 5,36 (d, C13aH(aren), 1H), 5,81 (d, C12bH(aren), 1H), 6,05 (d, C13bH(aren), 1H), 6,82 i 7,05 ppm (td, m, –NHCH₂CH₂NH–, 2H). ¹³C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 16,04 (CH₃(aren)), 18,79 ((CH₃)₂CHCH₂O–), 21,52 (–CH(CH₃)₂), 25,31 (C6), 25,74 (C7), 27,05 ((CH₃)₂CHCH₂O–), 30,38 (–CH(CH₃)₂), 31,36 (C5), 34,08 (C4), 37,89 (–CH₂Cy), 45,96 i 50,12 (–NHCH₂CH₂NH–), 58,82 i 60,33 (–OOCCHNH–), 70,90 (CH₃)₂CHCH₂OOC, 74,36 i 75,41 (C12aH(aren), C12bH(aren)), 85,69 i 86,35 (C13aH(aren), C13bH(aren)), 92,29 (C14(aren)), 111,82 (C11(aren)), 171,85 i 173,12 ppm ((CH₃)₂CHCH₂OOC–). IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 3254, 2927, 2853, 1731, 1470, 1450, 1384, 1277, 1189, 1038, 991, 840. ULj/Vid (CH₃CN): λ_{max} (ε) = 325,96 (107), 411,06 nm (67 Lmol^{–1}cm^{–1}). ESI-MS: *m/z* (%): 751,38 (100) [M]⁺; 752,38 (50,31) [M+H]⁺.

3.2.2.6. Sinteza (η⁶-*p*-cimen)hlorido-*O,O'*-diizopentil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfata, [(η⁶-*p*-cimen)RuCl{(*S,S*)-*i*Pe₂eddchxp}]PF₆

Polazni kompleks, [(η⁶-*p*-cimen)RuCl₂]₂ (0,067 g; 0.11 mmol) rastvoren je u 10 cm³ smeše metanol/hloroform (v:v, 1:1). Suspenzija liganda, *O,O'*-diizopentil-(*S,S*)-

etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoata dihidrohlorida (0,13 g; 0,22 mmol) u metanolu (5 cm³) tretirana je litijum-hidroksidom monohidratom (0,018 g; 0,44 mmol), pri čemu je nastao bistar rastvor liganda. U rastvor polaznog kompleksa je ukapavan ligand, tokom 20 minuta i reakciona smeša ostavljena na magnetnoj mešalici, na 40° C, tokom 3 sata. Narandžasti rastvor nastalog kompleksa koncentrovan je na rotacionom vakuum uparivaču na zapreminu od 10 cm³. Nakon dodatka amonijum-heksafluorofosfata (0,06 g; 0,37 mmol), rastvor kompleksa je ostavljen na magnetnoj mešalici, pri sobnoj temperaturi. Tokom jednog sata precipitirao je željeni kompleks, žuto-narandžaste boje, koji je odvojen filtracijom, ispran sa malo hladnog metanola i sušen pod *vakuumom*.

(K11): Prinos: 0,11 g (62,9%). t.t. = 184 °C. Elementalna analiza: izračunato za C₄₀H₇₀ClF₆N₂O₄PRu (%): C, 51,97; H, 7,63; N 3,03. Nađeno (%): C, 51,81; H, 7,41; N, 2,98. ¹H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0,78–1,38 (dt, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 12H; m, C5aH, C5bH, 4H; C6aH, C6bH, 4H; C7H, 2H; (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 4H; dd, (CH₃)₂CH(aren), 6H), 1,54–1,95 i 2,19 (m, C4H, 2H; C5aH', C5bH', 4H; C6aH', C6bH', 4H; C7H', 2H; –CH₂Cy, 4H; –NHCH₂CH₂NH–, 4H), 2,25 (s, CH₃(aren), 3H), 2,56 (m, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 2H), 2,81 (sept, –CH(CH₃)₂, 1H), 3,64 i 4,07 (m, –OOCCHNH–, 2H), 4,18 i 4,29 (m, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–, 4H), 5,05 (d, C12aH(aren), 1H), 5,35 (d, C13aH(aren), 1H), 5,80 (d, C12bH(aren), 1H), 6,07 (d, C13bH(aren), 1H), 6,83 i 7,03 ppm (m, –NHCH₂CH₂NH–, 2H). ¹³C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*₆): δ=13,83 i 20,81 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 16,01 (CH₃(aren)), 21,77 (–CH(CH₃)₂), 22,05 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 25,37 (C6), 25,77 (C7), 27,66 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 30,46 (–CH(CH₃)₂), 31,39 (C5), 34,27 (C4), 37,91 (–CH₂Cy), 45,91 i 50,13 (–NHCH₂CH₂NH–), 58,83 i 60,39 (–OOCCHNH–), 64,75 i 65,01 ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–), 74,15 i 75,28 (C12aH(aren), C12bH(aren)), 86,16 i 86,78 (C13aH(aren), C13bH(aren)), 92,13 (C14(aren)), 112,05 (C11(aren)), 171,88 i 173,01 ppm ((CH₃)₂CHCH₂CH₂OOC–). IC (ATR, cm^{–1}): $\tilde{\nu}$ = 3434, 3261, 2928, 2854, 1733, 1632, 1451, 1392, 1349, 1213, 1189, 1132, 1040, 988, 961, 844, 559. ULj/Vid (CH₃CN): λ_{max} (ε) = 333,62 (86), 412,77 nm (58 Lmol^{–1}cm^{–1}). ESI-MS: *m/z* (%): 779,41 (100) [M]⁺; 780,41 (50,80) [M+H]⁺.

3.3. Ispitivanje stabilnosti kompleksa u različitim rastvaračima

3.3.1. Stabilnost Pt(II) kompleksa u različitim rastvaračima

ULj/Vid spektri kompleksa $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{pddchxp}\}]$, **K3** snimani su u hloroformu, acetonu, metanolu i dimetil-sulfoksidu. Pripremani su rastvori koncentracije $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ u pomenutim rastvaračima i ULj/Vid spektri snimani su tokom 24 sata na sobnoj temperaturi. U toku prvog sata, spektri su snimani svakih 10 minuta, a nakon ovog perioda svakih sat vremena.

3.3.2. Stabilnost Ru(II) kompleksa u različitim rastvaračima

ULj/Vid spektri kompleksa $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{pddchxp}\}]\text{PF}_6$, **K10** i $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Pe}_2\text{pddchxp}\}]\text{PF}_6$, **K11** snimani su u metanolu, dimetil-sulfoksidu i smeši dimetil-sulfoksid/voda (v:v, 90:10). Pripremani su rastvori koncentracije $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ u pomenutim rastvaračima, osim u metanolu, gde je koncentracija rastvora pomenutih kompleksa iznosila $5 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$. ULj/Vid spektri snimani su tokom 24 sata na sobnoj temperaturi. U toku prvog sata, spektri su snimani svakih 10 minuta, a nakon ovog perioda svakih sat vremena.

3.4. Ispitivanje interakcija kompleksa sa lizozimom pomoću masene spektrometrije

Za ovo ispitivanje korišćeni su kompleksi **K3**, **K10** i **K11**. Svi uzorci su pripremljeni u DMSO, pri čemu je koncentracija proteina bila 10^{-4} mol/dm^3 , a molski odnos kompleks-protein 3:1. Reakciona smeša je inkubirana 24 ili 72 sata, na 37°C i nakon razblaženja 20 puta sa MilliQ vodom analizirana ESI MS-om.

3.5. Materijal i metode

3.5.1. Supstance korišćene u sintezama

Polazni kompleksi $K_2[PtCl_4]$ ¹⁶¹, $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl_2]_2$ ¹⁶², ligandi $R_2eddchxp$ ¹³⁶ su sineteisani po već poznatim procedurama. Ligandi $R_2pddchxp$ ¹³⁷, koji su korišćeni za sinteze Pt(II) kompleksa, sintetisani su po procedurama koje su opisane u ovoj disertaciji. Ostale supstance koje su korišćene u sintezama liganada i kompleksa, kupljene su od različitih proizvođača.

3.5.2. Supstance korišćene za ispitivanje stabilnosti kompleksa u različitim rastvaračima i ispitivanje interakcija kompleksa sa lizozimom.

HEWL je nabavljen iz Sigme, dok su rastvarači kupljeni od različitih proizvođača.

3.5.3. Elementalna analiza

Elementalne analize (C, H, N) su urađene su uz pomoć Elemental Vario EL III microanalyzer.

3.5.4. Infracrvena spektroskopija

Infracrveni spektri su snimljeni pomoću spektrometra Nicolet 6700 FT-IR (ATR tehnika, 4000 - 400 cm^{-1}).

3.5.5. NMR spektroskopija

NMR spektri su snimani na spektrometrima Varian Gemini 2000 (200 MHz za protone) i Bruker Avance III 500 (500 MHz za protone). Uzorci liganada su rastvarani u TFA- d_1 i NMR spektri snimani na 500 MHz za protone. Takođe, NMR spektri liganada **L1-L3** snimani su i u DMSO- d_6 na 500 MHz za protone, kako bi se dokazali izmenjivi protoni. NMR spektri Pt(II) kompleksa, **K1** i **K2** snimani su u $CDCl_3$ na 200 MHz za protone, dok su NMR spektri za komplekse **K3-K5** snimani u $CDCl_3$, na 500 MHz za

protone. Kompleksi rutenijuma su rastvarani u DMSO- d_6 i odgovarajući spektri su dobijeni za **K6** na 200 MHz za protone i za **K7-K11**, na 500 MHz za protone. ^{195}Pt NMR je dobijen za kompleks **K3**, snimanjem tokom 2 dana, u CDCl_3 , na Bruker Avance III 500 instrumentu.

3.5.6. Masena spektrometrija

Maseni spektri su snimani na 6210 Time-of-Flight LC-MS i Orbitrap LTQ XL instrumentima. Svi ligandi rastvarani su u metanolu uz dodatak formijatne kiseline, i odgovarajući maseni spektri snimani na 6210 Time-of-Flight LC-MS. Maseni spektri za sve platinske komplekse dobijeni su pomoću Orbitrap LTQ XL instrumenta, rastvaranjem uzoraka u acetonitrilu, uz dodatak formijatne kiseline, dok su rutenijumski kompleksi snimani u acetonitrilu, na 6210 Time-of-Flight LC-MS spektrometru.

Za ispitivanje interakcija sintetisanih kompleksa sa lizozimom korišćen je Orbitrap LTQ HR maseni spektrometar, opremljen konvencionalnim ESI izvorom.

3.5.7. Elektronska apsorpciona spektroskopija

Elektronski apsorpcioni spektri za sve komplekse snimani su na GBC UV/Vis Cintra 6 spektrofotometru. Za komplekse platine pripremani su rastvori koncentracije $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ u acetonu, dok su kompleksi rutenijuma snimani u rastvoru acetonitrila koncentracije: $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ (**K6-K9**) i $1 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ (**K10 i K11**).

Za ispitivanje stabilnosti sintetisanih kompleksa u različitim rastvaračima korišćen je Varian Cary 50 UV/Vis spektrofotometar.

3.5.8. Tačka topljenja

Tačke topljenja su određivane na Electrothermal melting point aparatu.

3.5.9. Vrednosti za lipofilnost

Vrednosti za ClogPo/w su izračunate pomoću softvera ChemDraw Ultra 9.0.

3.5.10. Rendgenska strukturna analiza

Rendgenska strukturna analiza za kompleks (η^6 -*p*-cimen)hlorido-*O,O'*-diizobutil-(*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanoatorutenijum(II)-heksafluorofosfat urađena je na Bruker X8 APEXII CCD difraktometru. Monokristal je postavljen na 40 mm od detektora. Izmereno je ukupno 1935 snimaka, na svakih 40 s sa širinom skeniranja većom od 1°. Podaci su obrađeni pomoću SAINT softvera¹⁶³. Svi kristalografski podaci su prikazani u **Tabeli 3**. Struktura je rešena direktnim metodama i utačnjena metodom najmanjih kvadrata. Svi atomi, osim atoma vodonika, su utačnjeni uz anizotropne parametre pomeranja. Izuzetak su činili atomi uključeni u neuređenost (videti niže). Atomi vodonika su postavljeni u izračunate položaje i utačnjeni su pomoću modela jašućeg atoma (engl. riding model). Dva cikloheksanska prstena i jedna estarska grupa u drugom kompleksnom katjonu su neuređeni preko dva položaja sa okupacionim faktorima redom 0,6:0,4; 0,5:0,5 i 0,5:0,5. Neuređenost je rešena primenom komandi SADI i EADP koje su implementirane u *SHELXL*. Korišćeni su sledeći programi: *SHELXS-97* za rešavanje strukture, *SHELXL-97* za utačnjavanje strukture¹⁶⁴ i ORTEP za crtanje molekulskih dijagrama¹⁶⁵.

Tabela 3. Osnovni kristalografski podaci za $[(\eta^6$ -*p*-cimen) $\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$.

Empirijska formula	$\text{C}_{38}\text{H}_{66}\text{ClF}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{PRu}$	$V [\text{\AA}^3]$	2115.05(17)
Mr	896.42	Z	2
Kristalni sistem	triklinični	$\lambda [\text{\AA}]$	0.71073
Prostorna grupa	<i>P1</i>	$\rho_{\text{calcd}} [\text{g cm}^{-3}]$	1.408
$a [\text{\AA}]$	10.2886(5)	Dimenzije kristala	$0.12 \times 0.08 \times 0.04$
$b [\text{\AA}]$	14.9911(7)	$T [\text{K}]$	100(2)
$c [\text{\AA}]$	15.7340(7)	$\mu [\text{mm}^{-1}]$	0.538
$\alpha [^\circ]$	63.685(2)	$R_1^{[a]}$	0.0509
$\beta [^\circ]$	83.782(3)	$wR_2^{[b]}$	0.1211
$\gamma [^\circ]$	76.489(3)	GOF ^[c]	1.050

$$^a R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$$

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

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

3.5.11. Čelijske kulture i reagensi

Za ispitivanje citotoksičnog delovanja liganada **L1-L5** korišćene su tumorske čelijske linije: glioma pacova (C6), humanog glioma (U251), mišjeg fibrosarkoma (L929), humanog neuroblastoma (SHSY-5Y) i humane promijelocitne leukemije (HL-60). Citotoksično delovanje liganda **L6-L8** i odgovarajućih kompleksa **K3-K5** ispitivano je na sledećim humanim čelijskim linijama: karcinomu grlića materice (HeLa), alveolarnom bazalnom adenokarcinomu (A549), karcinomu dojke (MDA-MB-231), kolorektalnom adenokarcinomu (LS-174). Takođe, korišćene su i humana čelijska linija fibroblasta iz pluća (MRC-5) i humana čelijska linija endotela (EA.hy 926). Citotoksičnost kompleksa **K6-K9** je ispitana na čelijskim linijama: mišjeg melanoma (B16), glioma pacova (C6), mišjeg fibrosarkoma (L929), humane promijelocitne leukemije (HL-60), mijelogene eritroleukemija (K562) i limfocitne leukemije (REH). Kompleksima **K10** i **K11** citotoksičnost je ispitana na čelijskim linijama: mišjeg melanoma (B16), humanog melanoma (A375), humanog kolorektalnog karcinoma (HCT116), alveolarnog bazalnog adenokarcinoma (A549), adenokarcinoma dojke (MCF7) kao i na humanoj čelijskoj liniji fibroblasta iz pluća (MRC-5). Sve čelijske linije su nabavljene od Evropske kolekcije čelijskih kultura (Salisbury, United Kingdom).

Mononuklearne ćelije periferne krvi (MNPK) su izolovane iz uzorka periferne krvi dobijene venepunkcijom 7 pacijenata sa leukemijom (2 sa dijagnostikovanom hroničnom mijeloidnom leukemijom, 2 u akutnoj mijeloidnoj transformaciji hronične mijeloidne leukemije i 3 sa akutnom mijeloidnom leukemijom; prosečna starost $41,0 \pm 12,0$ godina), čija je bolest dijagnostikovana na Klinici za hematologiju u sastavu Kliničkog centra Srbije u Beogradu. Kontrolnu grupu su činili uzorci MNPK 7 zdravih dobrovoljaca usklađenih sa grupom obolelih po polu i uzrastu (prosečna starost $32,0 \pm 6,7$ godina). Istraživanje je sprovedeno u skladu sa principima dobre kliničke prakse i saradnje pretkliničkih i kliničkih disciplina, na osnovu odobrenja Etičkog komiteta Kliničkog centra Srbije. Oboleli i zdravi dobrovoljci su nakon upoznavanja sa procedurom, rizicima i svrhom ispitivanja u pisanoj formi dali svoj pristanak za vađenje krvi. Iz uzorka heparizirane krvi MNPK su izolovani uz pomoć gustinskog gradijenta nizom centrifugiranja uz pomoć LymphoPrepTM (Axis Shield, Oslo, Norway).

Ispitivane supstance su rastvarane u skladu sa svojom rastvorljivošću u pogodnom rastvaraču. Ligand **L1** je rastvaran u formijatnoj kiselini, dok su ligandi **L2-L5** rastvarani u etanolu. Ostala jedinjenja (**L6-L8**, **K3-K11**) rastvarana su u dimetil-sulfoksidu. Osnovni rastvori su čuvani zaštićeni od svetlosti na sobnoj temperaturi ne duže od 14 dana. *Cisplatin* je rastvaran u DMSO i to neposredno pre eksperimenta.

Za svaki eksperiment su urađene dve kontrole: netretirane ćelije i ćelije tretirane maksimalnom korišćenom koncentracijom rastvarača. Ni u jednom od eksperimenata nije pokazana statistički značajna razlika između vrednosti dobijenih za ove dve kontrole, tako da su u cilju jasnijeg prikaza i bolje preglednosti i tumačenja dobijenih rezultata, kao kontrolne vrednosti prezentovane samo one dobijene za netretirane ćelije.

3.5.12. Ispitivanje uticaja sintetisanih jedinjenja na vijabilitet ćelija

U cilju utvrđivanja broja živih ćelija u tretmanu sa sintetisanim jedinjenjima, primenjeni su različiti testovi. U tom smislu, citotoksičnost liganada **L1-L8** i kompleksa **K3-K5** je ispitana kolorimetrijskom metodom, zasnovanom na merenju redukcije tetrazolijumove soli (MTT) do formazana, u mitohondrijama živih ćelija delovanjem dehidrogenaza. Dehidrogenaze dovode do cepanja tetrazolijumskog prstena i pojave formazana karakteristične boje čiji je intenzitet meren na talasnoj dužini od 570 nm na čitaču za mikrotitar ploče (Sunrise; Tecan, Dorset, UK).

Citotoksičnost kompleksa **K6-K9** je takođe određena kolorimetrijskom metodom zasnovanom na merenju aktivnosti lizozomalnog enzima kisele fosfataze po prethodno opisanoj proceduri¹⁶⁶. Princip testa je da u živim ćelijama kiselu fosfatazu hidrolizuje *p*-nitrofenil fosfat pri čemu nastaje *p*-nitrofenol. Supstrat za kiselu fosfatazu sadrži: 10 mM *p*-nitrofenil fosfat u 0,3 M natrijum acetatu, pH 5,5, sa 0,3% Triton X-100). Nakon dvočasovne inkubacije na 37 °C, reakcija je prekidana dodavanjem 1,3 M NaOH. Apsorbance su merene na talasnoj dužini od 405 nm na čitaču za mikrotitar ploče (Sunrise; Tecan, Dorset, UK).

Citotoksičnost kompleksa **K10** i **K11** je utvrđena kristal violet (CV) metodom, kojom se ćelijski vijabilitet procenjuje merenjem proteina u ćelijama u kulturi koje se prethodno fiksiraju metanolom u toku 10 min. Nakon dekantovanja i sušenja mikrotitar ploče na sobnoj temperaturi, nalivan je 1 % CV (15 min) koji je kasnije rastvoren uz

pomoć 33% glacijalne sirćetne kiseline. Apsorbanca je merena na čitaču za mikrotitar ploče na 570 nm.

Za sve tri pomenute metode za evaluaciju citotoksičnog delovanja rezultati su predstavljeni u procentima (%) apsorbanci u odnosu na netretirane (kontrolne) ćelije, čiji je vijabilitet (broj živih ćelija) arbitrarno preračunat na 100%. Pomoću računarskog programa GraphPad Prism izračunata je ona koncentracija, koja je dovela do smanjenja broja živih ćelija za 50%, tzv. IC_{50} vrednost, za svako od ispitivanih jedinjenja, na svim korišćenim ćelijskim linijama.

Na osnovu dobijenih IC_{50} vrednosti odabrana je ćelijska linija najosetljivija na citotoksično dejstvo ispitivanih jedinjenja tj. ona ćelijska linija na kojoj je dobijena najniža IC_{50} vrednost. Takođe je izdvojen i reprezent grupe jedinjenja tj. ligand ili kompleks za koga je dobijena najniža IC_{50} vrednost. U daljim eksperimentima sa ciljem utvrđivanja modaliteta ćelijske smrti korišćeno je najtoksičnije jedinjenje, kojim je tretirana najosetljivija ćelijska linija.

3.5.13. Analiza parametara ćelijske smrti metodom protočne citometrije

Parametri ćelijske smrti su analizirani metodom protočne citometrije na aparatu FACSCalibur (BD Biosciences, Heidelberg, Germany). Svaka analiza je obuhvatila 10 000 događaja tj. ćelija po pojedinačnom uzorku za tretmane koji su rađeni u duplikatu ili triplicatu. Dobijeni podaci su analizirani korišćenjem kompjuterskog programa BD Cell Quest Pro.

Tip ćelijske smrti (apoptoza/nekroza) ispitivan je dvostrukim bojenjem sa *annexinV*-fluorescein izotiocijanatom (*annexinV*-FITC) i propidijum jodidom (PI). *AnnexinV*-FITC je protein mase 35-36 kDa obeležen fluorescein izotiocijanatom (FITC) koji nakon pobuđivanja svetlošću argonskog lasera FACSCalibur aparata (talasna dužina 488 nm) emituje zelenu fluorescencu (FL1). *AnnexinV* ima veliki afinitet za vezivanje za fosfatidil-serin koji se kod ćelija u apoptozi eksternalizuje iz unutrašnjeg u spoljašnji sloj lipidnog dvosloja ćelijske membrane. PI je fluorescentna boja koja se umeće između nukleobaza dvolančane DNK i po pobuđivanju laserskom svetlošću protočnog citometra emituje crvenu fluorescencu (FL2) koja je proporcionalna sadržaju DNK u ćeliji. PI ne može da prođe kroz očuvanu ćelijsku membranu. Međutim, prilikom smrti ćelije dolazi do oštećenja ćelijske membrane tako da PI može da uđe u ćeliju i reaguje

sa DNK. Zahvaljujući ovome, PI se koristi za razlikovanje živih (ne pokazuju fluorescencu u FL2) od mrtvih ćelija (pokazuju fluorescencu u FL2). Dvostrukim bojenjem, *AnnexinV*-FITC i PI, se tako mogu razlikovati četiri populacije ćelija koje se na tačkastom dijagramu prikazuju u kvadratnoj raspodeli kao: zdrave ćelije (*annexin*⁻/PI⁻); ćelije u ranoj apoptozi (*annexin*⁺/PI⁻); ćelije u kasnoj apoptozi (*annexin*⁺/PI⁺) i ćelije u nekrozi (*annexin*⁻/PI⁺). Bojenje ćelija je sprovedeno prema instrukcijama proizvođača (BD Pharmingen, San Diego, CA). Svaki uzorak je zatim analiziran na protočnom citometru, a rezultati su izraženi kao procenat (%) *annexin*⁺ od ukupnog broja analiziranih ćelija.

Fragmentacija DNK je ispitivana protočnom citometrijom nakon fiksacije ćelija u etanolu i bojenja sa PI po prethodno opisanom protokolu¹⁶⁷. Ova metoda omogućava analizu faza ćelijskog ciklusa, a koristiti se i za određivanje broja ćelija sa hipodiploidnim sadržajem DNK. Hipodiploidnost je posledica fragmentacije DNK do koje dolazi u uslovima oštećenja ćelije i može biti jedan od pokazatelja apoptoze. Ćelije sa hipodiploidnim sadržajem se nakon analize rezultata dobijenih protočnom citometrijom na histogramu distribucije intenziteta PI-FL2 fluorescence vide u sub-G₀ segmentu (fazi), koji prethodi G₀/G₁ fazi ćelijskog ciklusa.

3.5.14. Analiza ukupne unutarćelijske akumulacije i unutarćelijske distribucije platine u DNK frakciji metodom ICP-MS

Nivo platine(II) u ukupnoj ćelijskoj frakciji, odnosno DNK frakciji, određen je korišćenjem metode ICP-MS¹⁶⁸ (eng. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry). DNK je izolovana korišćenjem TRI Reagent[®] (Sigma-Aldrich Co) prema proceduri proizvođača i koncentracije su određene sprektrofotometrijski merenjem absorbanci na 260 i 280 nm respektivno (Eppendorf BioPhotometer 6131). Nivo platine je određen u izolovanim DNK frakcijama, nakon što su uzorci pripremljeni za ICP-MS prema standardnoj proceduri, korišćenjem Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS (Thermo Scientific, Bremen, Germany).

Priprema uzoraka

6×10^6 HeLA ćelija je zasađeno, a nakon 24 sata kada su se stabilizovale, tretirane su 4 sata odgovarajućim kompleksima ili *cisplatinom*, u koncentracijama jednakim 10 μM , dok su za ispitivanje vezivanja DNK za platinu(II) ćelije tretirane 4 sata kompleksima, nakon čega je usledila postinkubacija u trajanju od 20 sati. Analizirane su i kontrolne-netretirane ćelije. Nakon tretmana ćelije su isprane hladnim PBS-om i sakupljene guljenjem. Nakon centrifugiranja na 2000 rpm, 10 minuta, na 4 °C, talog ćelija je zamrznut na -80 °C.

Razdvajanje faza

Na $5-10 \times 10^6$ ćelija dodavano je 1 ml TRI reagensa i ćelije su lizirane mehanički, uvlačenjem i izbacivanjem iz nastavka pipete. Uzorci su ostavljeni 5 min. na sobnoj temperaturi. Zatim je dodavano po 0,2 ml hloroforma na 1 ml početnog reagensa. Nakon stajanja 7 minuta, na sobnoj temperaturi, uzorci su centrifugirani 15 minuta na 11000 rpm na 4 °C. Centrifugiranjem se dobijaju tri faze, donja – organska u kojoj se nalaze proteini, interfaza – u kojoj je DNK, i gornja – vodena faza u kojoj je RNK.

Izolovanje DNK

Na interfazu u kojoj je DNK, dodavano je 0,3 ml apsolutnog etanola i ostavljeno 2-3 minuta, na sobnoj temperaturi. Uzorci su zatim centrifugirani na 4500 rpm, 5 minuta na 2-8 °C. Supernatant je sačuvan za izolovanje proteina na 2-8 °C, u frižideru. DNK talog je resuspendovan u 75 % etanolu i ostavljen da stoji 20-30 minuta na sobnoj temperaturi. Koncentracije DNK u uzorcima su određene spektrofotometrijski, merenjem absorbanci na 260 i 280 nm (Eppendorf BioPhotometer 6131).

Nivo platine je određen u izolovanim DNK frakcijama, nakon što su uzorci pripremljeni za ICP-MS¹⁶⁸ prema standardnoj proceduri korišćenjem Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS (Thermo Scientific, Bremen, Germany).

Priprema ćelijskog taloga

Nakon 4 sata tretmana, HeLa ćelije su pokupljene i prebrojane, jer je važno da svaki uzorak za dalju analizu ima isti broj ćelija. Zatim su ćelije isprane u PBS i centrifugirane na 2000 rpm, 10 minuta, na 4 °C, nakon čega je talog ćelija zamrznut na -80 °C. Nivo platine je određen u ukupnom ćelijskom talogu, nakon što su uzorci pripremljeni za ICP-MS prema standardnoj proceduri korišćenjem Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS (Thermo Scientific, Bremen, Germany). Rezultati su izraženi prema broju ćelija u svakom od uzoraka.

3.5.15. Statistička analiza

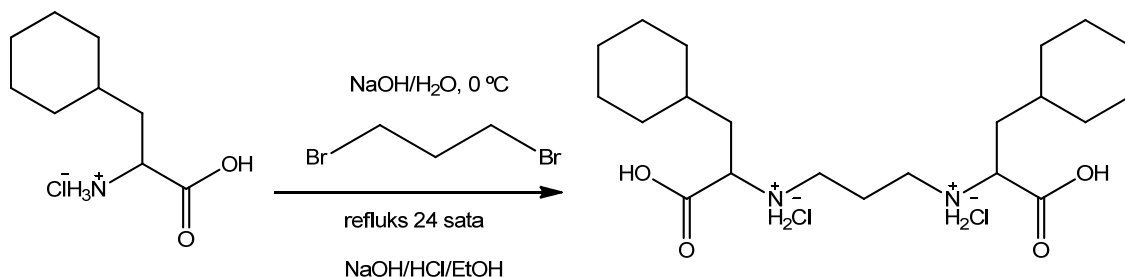
U statističkoj obradi podataka korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. Za procenu značajnosti razlike nezavisnih uzoraka korišćen je parametarski test, Studentov t-test, kao i Student-Newman-Keulsov test i Kruskal-Wallis test. Vrednost $p < 0,05$ je smatrana statistički značajnom.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Sinteze

4.1.1. Sinteza (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline dihidrohlorida

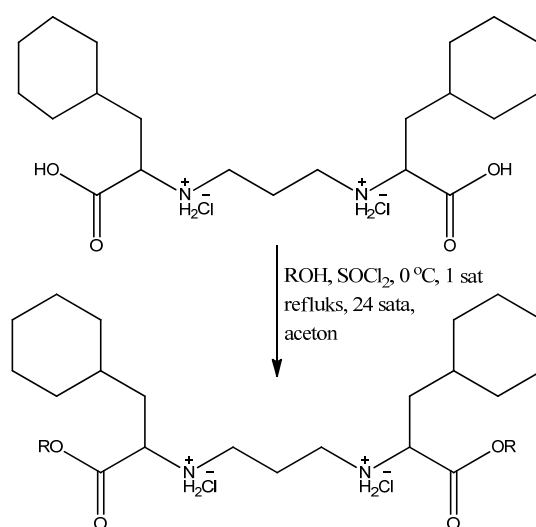
Ova kiselina¹³⁷ je dobijena u reakciji (*S*)-2-amino-3-cikloheksilpropanske kiseline i 1,3-dibrompropana u vodenom rastvoru, na temperaturi ključanja reakcione smeše. Nakon dodatka razblažene hlorovodonične (hloridne) kiseline željeni proizvod je dobijen u obliku hidrohlorida. Dobijena kiselina je rastvorna u trifluorsirćetnoj i metanskoj kiselini (**Shema 4**).



Shema 4. Sinteza osnovne kiseline.

4.1.2. Sinteza estara (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline

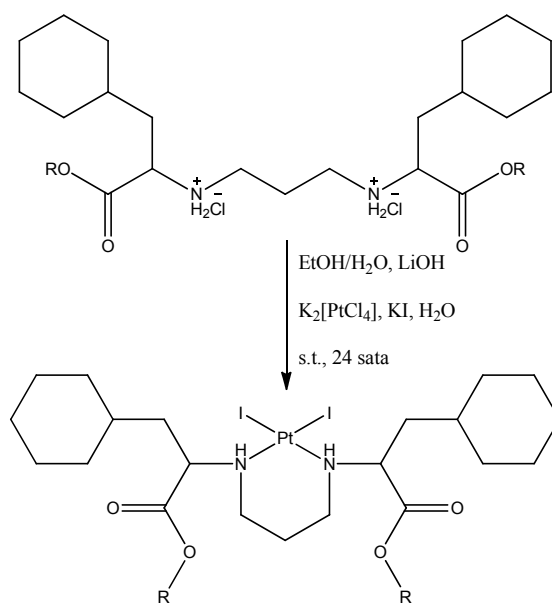
Metil, etil, *n*-propil, *n*-butil, *i*-butil, *n*-pentil i *i*-pentil estri^{137,169} (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline dobijeni su u reakciji polazne kiseline, odgovarajućeg apsolutnog alkohola i tionil-hlorida. (**Shema 5**). Dobijeni estri su rastvorni u etanolu, metanskoj kiselini, trifluorsirćetnoj kiselini i delimično su rastvorni u vodi i dimetil-sulfoksidu.



Shema 5. Sinteza estara.

4.1.3. Sinteza platina(II) jodido kompleksa sa estrima (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline

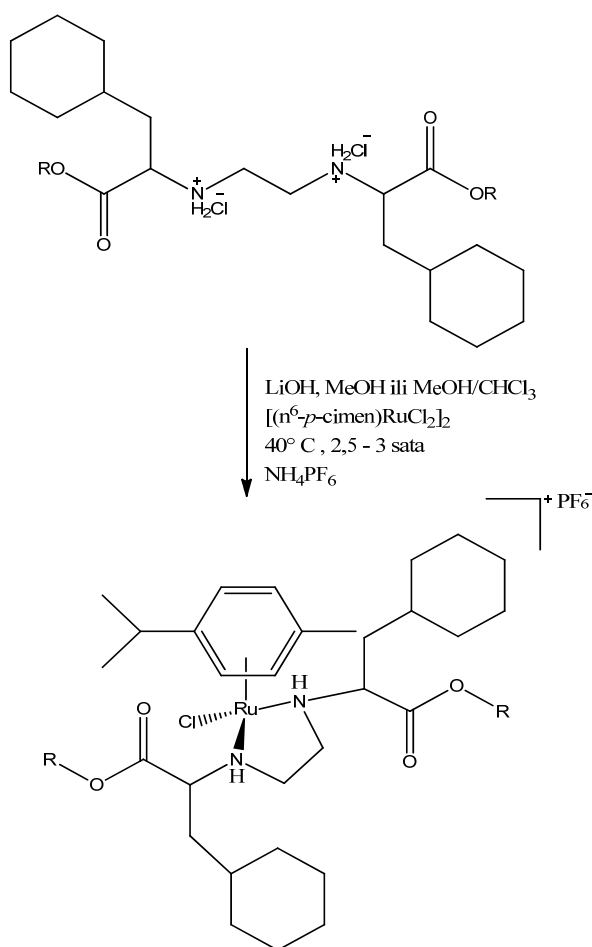
Kompleksi opšte formule, [PtI₂(L^{3,5,6,7,8})]¹⁶⁹ (**K1-K5**), dobijeni su u reakciji između K₂[PtCl₄] i odgovarajućih liganada, uz dodatak KI u smeši etanol/voda (**Shema 6**). Dobijeni kompleksi precipitiraju direktno iz reakcione smeše i rastvorni su u hloroformu, acetonu, dimetil-sulfoksidu i delimično su rastvorni u etanolu.



Shema 6. Sinteza Pt(II) kompleksa.

4.1.4. Sinteza organorutenijum(II) kompleksa

Kompleksi, opšte formule $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{Ru}(\text{L})\text{Cl}]^{+159,160}$ (**K6-K11**), gde L predstavlja metil, etil, *n*-propil, *n*-butil, *i*-butil ili *i*-pentil ester (*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, dobijeni su u reakciji $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}_2]_2$ sa odgovarajućim ligandima u metanolu ili smeši metanol/hloroform, uz dodatak amonijum-heksafluorofosfata. Dobijeni kompleksi su rastvorni u dimetil-sulfoksidu, acetonitrilu, hloroformu i dihlormetanu (**Shema 7**).



Shema 7. Sinteza organorutenijum(II) kompleksa.

Pri građenju svih pomenutih kompleksa estri se koordinuju bidentatno $\kappa^2\text{N,N'}$ za centralne metalne jone.

4.2. Spektroskopska karakterizacija sintetisanih liganada i kompleksa

4.2.1. Infracrveni spektri sintetisanih liganada i Pt(II) kompleksa

Infracrveni spektri estara i Pt(II) kompleksa imaju odgovarajuće trake koje su u skladu sa njihovim pretpostavljenim strukturama. U infracrvenim spektrima svih sintetisanih liganada **L1-L8**, uočene su sledeće važne apsorpcione trake: za sekundarne amonijum soli $\nu(\text{R}_2\text{NH}_2^+)$, za alifatične grupe $\nu(\text{CH}_2)$, za karboksilatnu i estarske grupe $\nu(\text{C=O})$ i $\nu(\text{C-O})$. Koordinacijom liganada za metal, dolazi do formiranja sekundarne amino grupe, što se odražava na pojavu valencione NH vibracije u infracrvenim spektrima kompleksa. Pregled svih karakterističnih apsorpcionih traka za ligande i odgovarajuće Pt(II) komplekse prikazan je u **Tabeli 4**.

Tabela 4. Karakteristične apsorpcione vibracije za ligande i Pt(II) komplekse.

Ligandi	$\nu(\text{CH}_2)$	$\nu(\text{NH}_2^+)$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-O})$
[(<i>S,S</i>)-H ₄ pddchxp]Cl ₂	2932	2853	1732	1233
[(<i>S,S</i>)-H ₂ Me ₂ pddchxp]Cl ₂	2929	2855	1742	1241
[(<i>S,S</i>)-H ₂ Et ₂ pddchxp]Cl ₂	2928	2854	1739	1236
[(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>n</i> Pr ₂ pddchxp]Cl ₂	2928	2856	1737	1235
[(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>n</i> Bu ₂ pddchxp]Cl ₂	2930	2856	1743	1235
[(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>i</i> Bu ₂ pddchxp]Cl ₂	2927	2854	1746	1200
[(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>n</i> Pe ₂ pddchxp]Cl ₂	2928	2857	1749	1215
[(<i>S,S</i>)-H ₂ <i>i</i> Pe ₂ pddchxp]Cl ₂	2929	2856	1744	1200
Pt(II) kompleksi	$\nu(\text{CH}_2)$	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-O})$
[PtI ₂ {(<i>S,S</i>)-Et ₂ pddchxp}]	2927	3189	1736	1208
[PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>n</i> Bu ₂ pddchxp}]	2931	3194	1743	1197
[PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>i</i> Bu ₂ pddchxp}]	2928	3182	1737	1222
[PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>n</i> Pe ₂ pddchxp}]	2930	3186	1735	1203
[PtI ₂ {(<i>S,S</i>)- <i>i</i> Pe ₂ pddchxp}]	2928	3188	1733	1199

Trake koje odgovaraju sekundarnim amonijum solima za estre, izostaju u odgovarajućim spektrima kompleksa. U IC spektrima liganada i kompleksa položaj

odgovarajućih apsorpcionih traka je u skladu sa pretpostavljenim strukturama sintetisanih jedinjenja. Karakteristične apsorpcione vibracije koje odgovaraju sekundarnim amino grupama, uočene su u spektrima svih Pt(II) kompleksa. Ove činjenice jasno ukazuju na koordinaciju liganada preko atoma azota. Apsorpcione trake koje potiču od valencione C=O vibracije nalaze se na približno istim talasnim brojevima u spektrima liganada i u spektrima kompleksa, što nedvosmisleno potvrđuje pretpostavku da nije došlo do koordinacije liganada preko atoma kiseonika.

4.2.2. Infracrveni spektri sintetisanih organorutenijum(II) kompleksa

U **Tabeli 5** prikazane su vrednosti talasnih brojeva karakterističnih traka sintetisanih kompleksa rutenijuma. Kao ligandi korišćeni su estri (*S,S*)-etandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline, koji su već opisani u literaturi^{136,160}. U infracrvenim spektrima ovih kompleksa takođe nisu prisutne trake koje odgovaraju sekundarnim amonijum solima, a koje se inače javljaju u spektrima slobodnih liganada. Zapažene su apsorpcione vibracije na talasnim brojevima koji odgovaraju apsorpciji sekundarnih amina, što ukazuje na koordinaciju liganda preko azotovih atoma. Apsorpcione trake koje odgovaraju valencionim C=O vibracijama, u spektrima kompleksa, nalaze se na približno istim položajima, kao u IC spektrima slobodnih liganada, što isključuje mogućnost koordinacije liganada preko atoma kiseonika.

Tabela 5. Karakteristične apsorpcione vibracije za organorutenijum(II) komplekse.

Organorutenijum(II) kompleksi	ν (NH)	ν (CH ₂)	ν (C=O)	ν (C–O)
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{Me}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$	3233	2924	1736	1250
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{Et}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$	3261	2926	1731	1212
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)n\text{Pr}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$	3261	2926	1734	1211
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)n\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$	3260	2927	1722	1210
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$	3254	2927	1731	1189
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)i\text{Pe}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$	3261	2928	1733	1213

4.2.3. Nuklearno-magnetni rezonancioni spektri liganada

Svi sintetisani ligandi su okarakterisani i na osnovu (^1H , ^{13}C i HSQC) NMR spektara. U ^1H NMR spektrima liganada u regionu 0,96–2,19 ppm nalaze se protoni iz cikloheksil grupe, protoni iz alkil grupe estarskog lanca ($\text{RCH}_2\text{O}-$), kao i $-\text{CH}_2\text{Cy}$ i NH protoni. U pomenutom regionu jasno su uočljivi signali u obliku tripleta na oko 2 ppm koji se pripisuju protonima iz $-\text{CH}_2\text{Cy}$ grupe. Takođe, u spektru izobutil liganda, na 2,19 ppm zapažen je signal u obliku septeta, koji se odnosi na proton vezan za tercijarni ugljenik iz estarskog alkil niza $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OOC}-$. Hemijska pomeranja protona iz diaminskog lanca uočena su na oko 2,75 ppm ($-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$) i u regionu 3,43–3,78 ppm ($-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$). Karakterističan triplet na oko 4,35 ppm označava protone iz $-\text{OOCCH}-$ dela molekula. Takođe, u oblasti 3,95–4,67 ppm, uočeni su signali u obliku razdvojenih multipleta, koji potiču od protona iz estarske grupe $\text{RCH}_2\text{O}-$. U ^1H NMR spektrima jedinjenja **L1-L8** (snimanim u $\text{TFA}-d_1$) karboksilatni protoni (**L1**) i protoni koji potiču od hidrohlorida, nisu detektovani, zbog njihove brze izmene sa protonima deuterisanog rastvarača. Kako bismo dokazali ove protone, snimljeni su ^1H NMR spektri ovih jedinjenja u $\text{DMSO}-d_6$. Karboksilatni i hidrohloridni protoni za **L1** detektovani su na hemijskom pomeranju od 9,44 ppm, dok su protoni iz hidrohlorida za **L2** uočeni na 9,61 i 10,04 ppm. Na osnovu HSQC NMR spektara, utvrđena je jasna C–H korelacija, kod svih sintetisanih liganada. Na osnovu ovih spektara potvrđeno je da se aksijalni i ekvatorijalni protoni iz cikloheksil grupe sa istog ugljenika, nalaze na različitim hemijskim pomeranjima.

U ^{13}C NMR spektrima svi signali se nalaze na očekivanim hemijskim pomeranjima. Ugljenici iz cikloheksil grupe nalaze se u regionu 27,25–36,46 ppm, dok su signali za ugljenike iz diaminskog dela molekula locirani na oko 25,80 ppm ($-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$) i 47,20 ppm ($-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$). Tipično pomeranje za ugljenik iz karbonilne grupe sintetisane kiseline detektovano je 175,45 ppm, dok je signal ove grupe za estre pomeren ka nižem hemijskom pomeranju (172,77–173,22 ppm).

4.2.4. Nuklearno-magnetni rezonancioni spektri Pt(II) kompleksa

U ^1H NMR spektrima Pt(II) kompleksa, signali koji odgovaraju protonima iz cikloheksil grupe i alkil grupe estarskog lanca ($\text{RCH}_2\text{O}-$) nalaze se na sličnim hemijskim pomeranjima, kao i u nekoordinovanim ligandima. Zapažena je očekivana promena hemijskih pomeranja protona iz diaminskog alkil lanca $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$, što je uslovljeno formiranjem šestočlanog prstena pri koordinovanju liganda za metal. Najznačajnu promenu u hemijskom pomeranju pretrpeli su vodonici vezani za azot, koji se u slobodnom ligandu nalaze na oko 1,25 i 1,75 ppm, dok su u kompleksima **K1-K5** locirani na oko 5 i 6 ppm. U ^1H NMR spektrima sintetisanih kompleksa uočavaju se jasni signali protona vezanih za α -ugljenikov atom estarskog alkil niza i nalaze se na sličnim hemijskim pomeranjima, kao u slobodnom ligandu. U ^{13}C NMR spektrima Pt(II) kompleksa svi ugljenici su locirani na očekivanim hemijskim pomeranjima. Ugljenici iz cikloheksil grupa locirani su u oblasti: 24,98–35,28 ppm. Za komplekse **K1-K5** karakteristično je da se u ^{13}C NMR spektrima, za ugljenike iz $-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$ grupe, javljaju po dva signala u regionu: 46,43–51,28 ppm. Hemijska pomeranja za ugljenike iz estarskog alkil ostatka nalaze se na tipičnim pomeranjima za estarski alkil niz. Karakteristična pomeranja za karbonilu grupu detektovana su u regionu: 168,48–173,48 ppm. Za kompleks **K3** urađen je ^{195}Pt NMR. Detektovana su dva signala u platinskom NMR spektru, na -3371 i -3469 ppm. Pojava dva pika na bliskim hemijskim pomeranjima, uslovljena je ligatorskim atomima azota, koji predstavljaju stereogene centre.

4.2.5. Nuklearno-magnetni rezonancioni spektri organorutenijum(II) kompleksa

^1H NMR spektri jasno pokazuju karakteristične signale za η^6 -*p*-cimen i diaminski deo. Nakon kompleksiranja za metal, simetrija ligandnog okruženja je snižena, što se u ^1H NMR spektrima kompleksa manifestuje na taj način što hemijski ekvivalentni protoni u slobodnom ligandu postaju neekvivalentni, koordinovanjem za metal ($-\text{CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}-$). Ovo je takođe opaženo i za protone iz cimenskog prstena koji se u kompleksima pojavljuju kao četiri dubleta u regionu 5,04–6,08 ppm, nasuprot jednom signalu, koji se javlja u protonskom spektru polaznog kompleksa [$(\eta^6$ -

p-cimene) RuCl_2] $_2$. Signali koji potiču od diaminskog lanca $-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$, u kompleksu su pomereni ka nižem hemijskom pomeranju, što je u saglasnosti sa promenom koordinacionog okruženja. Na hemijskim pomeranjima, koji se javljaju u regionu 0,75–2,57 ppm pojavljuju se protoni iz: cikloheksil grupe, alkil grupa $\text{RCH}_2\text{OOC}-$ liganda, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ i CH_3 (arene) iz *p*-cimenskog dela. Karakterističan septet na oko 2,80 ppm označava jedan proton, koji potiče iz izopropil grupe aromatičnog liganda. U svim ^1H NMR spektrima kompleksa zapaženo je da su NH protoni razdvojeni na oko 6,8 i 7 ppm i pomereni ka nižim hemijskim pomeranjima u odnosu na slobodni ligand.

Sníženje simetrije koordinacionog okruženja takođe je opaženo i u ^{13}C NMR spektrima, naročito za ugljenike iz: $-\text{CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}-$, cimenskog prstena i karbonilne grupe. Signali koji se pripisuju ugljenicima iz arenskog prstena pojavljuju se u sledećim regionima: 74,02–75,52 ppm, dva signala; 85,69–87,13 ppm, dva signala; 92,10–92,29 ppm, jedan signal; 111,82–112,40 ppm, jedan signal, kod šest različitih kompleksa. Za sve komplekse je primećeno da se za karbonilni ugljenik javljaju po dva signala, na oko 171 i 173 ppm, što je uslovljeno različitom prostornom usmerenošću karbonilnih grupa. Ugljenici iz diaminskog dela liganda u kompleksu su pomereni ka nižem polju, u odnosu na ove ugljenike u slobodnom ligandu. Naime, koordinovanjem liganda preko azotovih atoma za rutenijum, nastaje petočlani prsten, pri čemu se javlja određeni napon prstena, usled čega dolazi do pomeranja signala ovih ugljenika u ^{13}C NMR spektrima.

4.2.6. Masena spektrometrija

Masena spektrometrija je korisna metoda kojom je moguće analizirati molekulsku strukturu ispitivanog jedinjenja, na osnovu molekulskih i fragmentacionih jona. Takođe, prisustvo metala se može dokazati ovom metodom, jer se pomoću masene spektrometrije mogu detektovati svi izotopi koji potiču od centralnog metalnog jona/atoma iz kompleksa. S obzirom na to, da većina molekula jonizacijom fragmentiše, masenom spektrometrijom je moguće pratiti sve fragmente koji nastaju tokom jonizacije.

4.2.7. Maseni spektri sintetisanih jedinjenja

U Tabeli 6 dat je pregled detektovanih jona, sa odgovarajućim relativnim stepenom zastupljenosti za sva sintetisana jedinjenja.

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

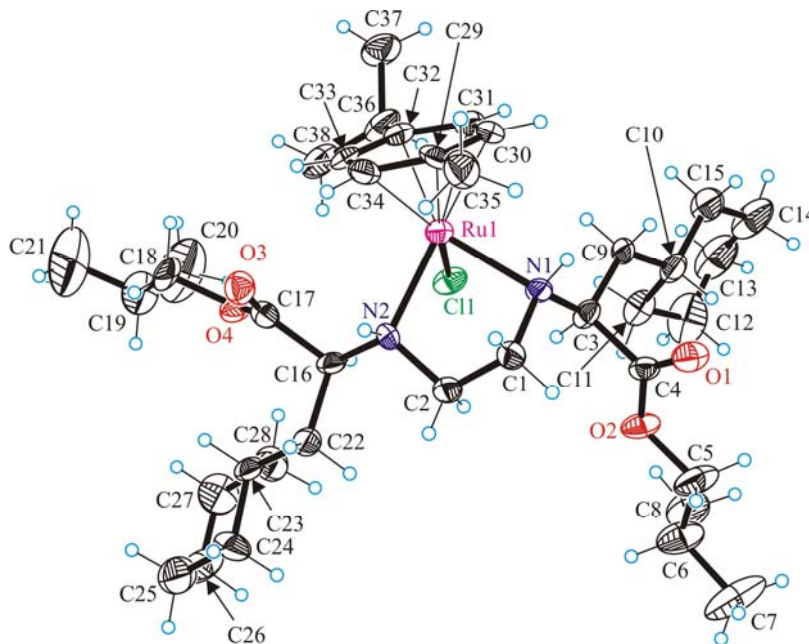
Ligandi	$[M-2HCl+H]^+$	$[M-2HCl+2H]^{2+}$
$[(S,S)\text{-}H_4pddchxp]Cl_2$	383,29 (100%)	192,14 (73,09%)
$[(S,S)\text{-}H_2Me_2pddchxp]Cl_2$	411,32 (100%)	206,16 (51,05%)
$[(S,S)\text{-}H_2Et_2pddchxp]Cl_2$	439,35 (100%)	220,18 (63,59%)
$[(S,S)\text{-}H_2nPr_2pddchxp]Cl_2$	467,38 (100%)	234,19 (71,83%)
$[(S,S)\text{-}H_2nBu_2pddchxp]Cl_2$	495,41 (100%)	248,21 (69,62%)
$[(S,S)\text{-}H_2iBu_2pddchxp]Cl_2$	495,42 (100%)	248,21 (68,33%)
$[(S,S)\text{-}H_2nPe_2pddchxp]Cl_2$	523,45 (100%)	262,23 (36,45%)
$[(S,S)\text{-}H_2iPe_2pddchxp]Cl_2$	523,45 (100%)	262,23 (76,86%)
Pt(II) kompleksi	$[M+H]^+$	$[M-I]^+$
$[PtI_2\{(S,S)\text{-}Et_2pddchxp\}]$	888,13 (25,43%)	760,21 (100%)
$[PtI_2\{(S,S)\text{-}nBu_2pddchxp\}]$	944,19 (15,12%)	816,28 (100%)
$[PtI_2\{(S,S)\text{-}iBu_2pddchxp\}]$	944,19 (20,53%)	967,17 $[M+Na]^+$
$[PtI_2\{(S,S)\text{-}nPe_2pddchxp\}]$	972,22 (6,83%)	/
$[PtI_2\{(S,S)\text{-}iPe_2pddchxp\}]$	972,22 (7,03%)	844,31 (15,10%)
Organorutenijum(II) kompleksi	$[M+H]^+$	$[M]^+$
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}Me_2eddchxp\}]PF_6$	668,28 (42,23%)	667,28 (100%)
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}Et_2eddchxp\}]PF_6$	696,31 (43,90%)	695,31 (100%)
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}nPr_2eddchxp\}]PF_6$	724,35 (46,87%)	723,35 (100%)
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}nBu_2eddchxp\}]PF_6$	752,38 (47,43%)	751,38 (100%)
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}iBu_2eddchxp\}]PF_6$	752,38 (50,31%)	751,38 (100%)
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})RuCl\{(S,S)\text{-}iPe_2eddchxp\}]PF_6$	780,41 (50,80%)	779,41 (100%)

Maseni spektri svih liganada sadrže pikove jona: $[M-2HCl+H]^+$ i $[M-2HCl+2H]^{2+}$, koji se slažu sa izračunatom molekulskom masom. Molekulski jon je detektovan za sve

sintetisane komplekse. U masenim spektrima Pt(II) kompleksa **K1**, **K2** i **K5** detektovani su pikovi, koji potiču od sledećih jona: $[M+H]^+$ i $[M-I]^+$. Za kompleks **K3** detektovan je molekulski jon u obliku $[M+H]^+$ i $[M+Na]^+$, dok je za komplekse **K4** utvrđeno prisustvo $[M+H]^+$ pika. S obzirom na to, da su kompleksi rutenijuma u obliku kompleksnog katjona, masenom spektrometrijom je bilo moguće detektovati čist molekulski jon, tako da su za sve sintetisane komplekse rutenijuma dobijeni $[M]^+$ i $[M+H]^+$ signali.

4.2.8. Rendgenska strukturna analiza

Monokristal kompleksa $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$, pogodan za rendgensku strukturnu analizu dobijen je isparavanjem rastvarača iz matičnog rastvora, na $+4^\circ\text{C}$. Kompleks kristališe u trikliničnoj necentrosimetričnoj prostornoj grupi $P1$ sa dva kompleksna katjona $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{Ru}(\text{L})\text{Cl}]^+$ i dva kontra jona $[\text{PF}_6]^-$ u jediničnoj ćeliji. Svakom rutenijumovom atomu odgovara tipična "piano-stool" konfiguracija (geometrija "klavirske stolice") sa jednim hlorido ligandom i dva azotova ligatorska atoma, organskog helatnog liganda. Oba atoma azota su sp^3 hibridizovana i iste su hiralnosti, S . Asimetrična jedinična ćelija kompleksa prikazana je na **Slici 12**.



Slika 12. ORTEP slika kompleksnog katjona $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]^+$.

U **Tabeli 7** prikazani su odabrani geometrijski parametri za kompleks $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$.

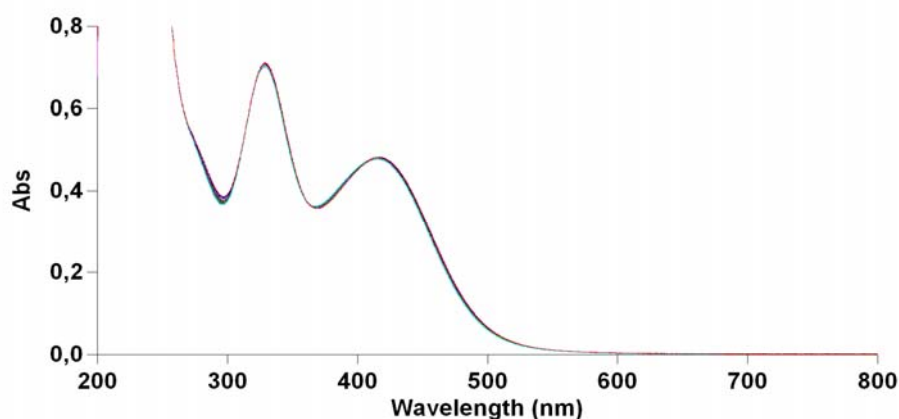
Dužine veza Ru–Cl su u saglasnosti sa podacima iz literature¹⁷⁰. Prosečne dužine veza između Ru(II) i ugljenikovih atoma arenskog prstena *p*-cimen su 2.1549(1)–2.2243(1) Å, što takođe odgovara literaturnim podacima^{95,171}. Različita rastojanja za veze Ru–N, kao i razlika u uglovima veza N1–C2–C1 (111.0°(6)) i N2–C2–C1 (109.9°(6)), ukazuju na blagu zakrivljenost petočlanog prstena, nastalog koordinovanjem liganda za Ru centar. Uglovi veza: Cl1–Ru1–N1 (90.9°(2)) i Cl1–Ru1–N2 (86.1°(2)) su u skladu za literaturnim podacima vezanim za pseudo-oktaedarsku geometriju organorutenijumovih kompleksa⁹⁵ cimenskog tipa.

Tabela 7. Odabrani geometrijski parametri za kompleks $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$.

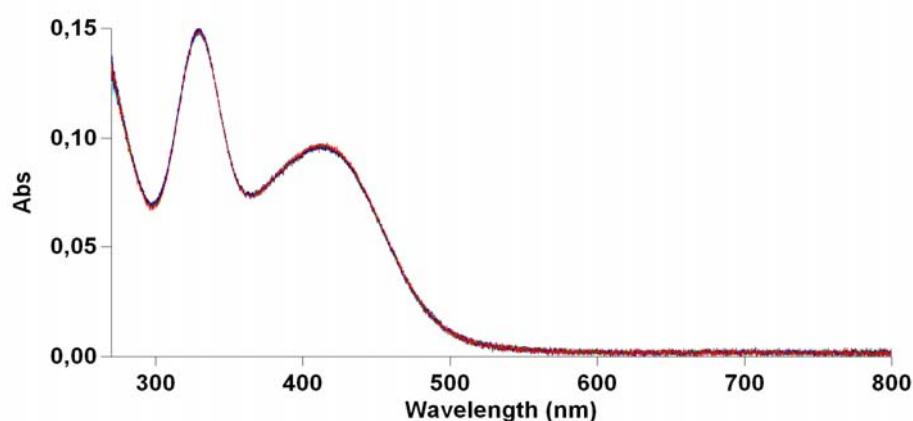
Atomi	Dužine veza (Å)	Atomi	Uglovi veza (°)
Ru1–Cl1	2.3888(1)	Cl1–Ru1–N1	90.9(2)
Ru1–N1	2.2087(1)	Cl1–Ru1–N2	86.1(2)
Ru1–N2	2.2065(1)	Cl1–Ru1–C29	166.6(2)
Ru1–C29	2.2033(1)	Cl1–Ru1–C33	107.3(2)
Ru1–C33	2.2106(1)	N1–Ru1–N2	81.3(2)
N1–C11	1.4997(1)	N1–Ru1–C29	93.4(3)
N1–C3	1.5190(1)	N1–Ru1–C33	161.6(3)
N2–C2	1.4703(1)	N2–Ru1–C29	107.1(3)
N2–C16	1.4924(1)	N2–Ru1–C33	101.7(3)
Ru2–Cl2	2.4040(1)	C29–Ru1–C34	67.6(3)
Ru2–N3	2.1809(1)	C32–Ru1–C34	69.0(3)
Ru2–N4	2.2019(1)	Ru1–N1–C1	104.3(4)
Ru2–C67	2.2075(1)	N1–C2–C1	111.0(6)
Ru2–C69	2.1926(1)	N2–C2–C1	109.9(6)
Ru2–C68	2.1399(1)	C4–C3–C9	109.4(5)
O6–C42	1.3182(1)	O2–C4–C3	110.3(6)
N3–C41	1.3541(1)	C5–C6–C7	107.1(8)
C31–C32	1.4089(1)	C9–C10–C11	113.7(6)
C32–C33	1.4426(1)	C18–C19–C21	105.5(7)
C32–C36	1.5009(1)	C25–C26–C27	111.0(8)
C36–C37	1.5002(1)	N4–C40–C39	110.2(7)
C36–C38	1.5076(1)	Ru2–C68–C69	73.7(6)
P1–F1	1.5847(1)	Ru2–C72–C67	71.9(5)
P2–F8	1.6397(1)	F8–P2–F11	86.3(4)
P1–F2	1.6540(1)	F6–P1–F4	89.1(4)

4.3. Stabilnost kompleksa u različitim rastvaračima i interakcije kompleksa sa lizozimom

Proučavanje interakcija kompleksa metala sa biomolekulima izvodi se u vodenim puferima kako bi se što više imitirali fiziološki uslovi. Zbog činjenice da su određeni kompleksi slabo rastvorljivi u vodenim puferima, organski rastvarači se dodaju u veoma malim procentima, kako bi povećali rastvorljivost kompleksa u vodenim sistemima. S obzirom na to, da sintetisani kompleksi platine i rutenijuma precipitiraju čak i kada je organski rastvarač prisutan u visokom procentu, dalja istraživanja su bila usmerena na proučavanje stabilnosti pomenutih kompleksa u čistim organskim rastvaračima. Dobijeni rezultati su pokazali da su kompleksi rutenijuma prilično stabilni, dok kompleks platine ispoljava značajne spektralne promene tokom vremena. Dobijeni rezultati ukazuju na izuzetnu stabilnost rutenijumskih kompleksa **K10** i **K11** u metanolu i DMSO. Na **Slici 13** i **Slici 14** prikazani su elektronski apsorpcioni spektri za komplekse **K10** i **K11**, na kojima se vidi da nema varijacija u apsorpcionim maksimumima (na oko 330 i 414 nm) u toku 24 časovnog snimanja spektara, na sobnoj temperaturi.

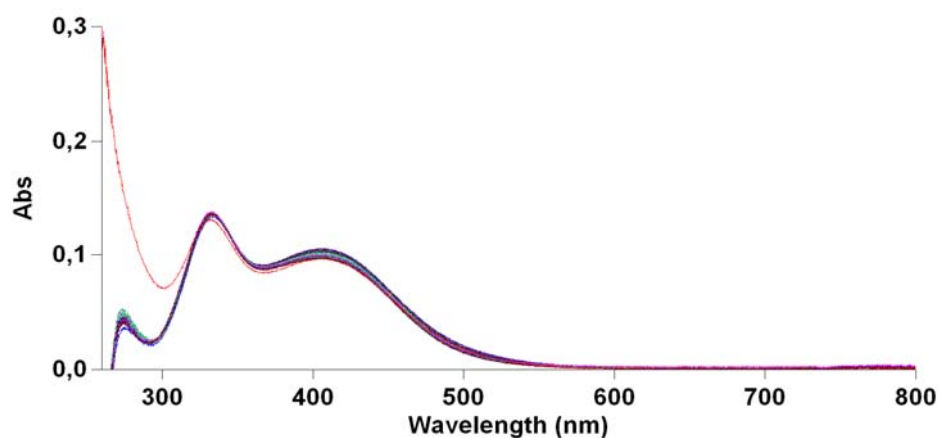


Slika 13. ULj/Vid spektar za kompleks **K10** sniman u metanolu, tokom 24 sata, na sobnoj temperaturi.



Slika 14. ULj/Vid spektar za kompleks **K11**, sniman u DMSO, tokom 24 sata, na sobnoj temperaturi.

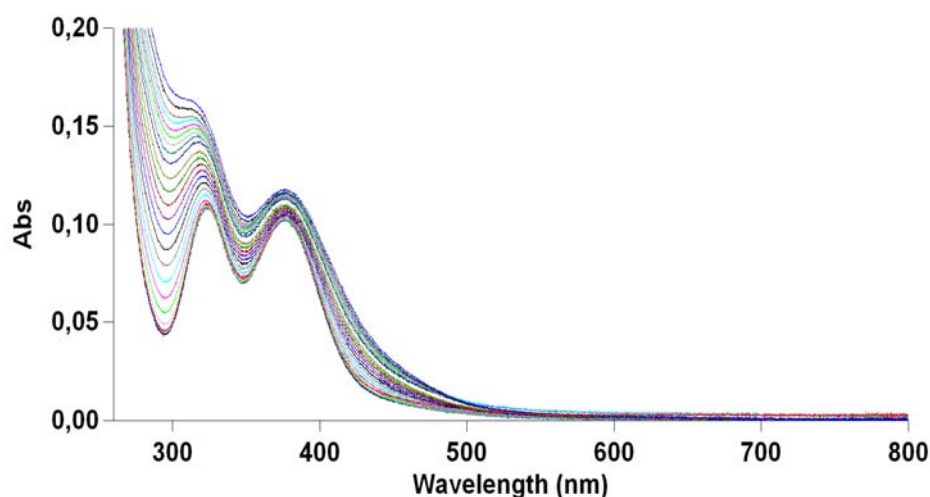
Na osnovu ULj/Vid spektra za kompleks **K10** (**Slika 15**) snimanom u smeši dimetil-sulfoksid/voda (v:v, 90:10) tokom 24 časa, primećena je pojava nove trake na oko 280 nm, koja ukazuje na potencijalnu supstituciju hlorido liganda, molekulom vode.



Slika 15. ULj/Vid spektar za kompleks **K10** u smeši DMSO/H₂O (v:v, 90:10), sniman tokom 24 sata, na sobnoj temperaturi.

Kompleks platine **K3**, pokazao je izvesnu stabilnost jedino u acetonu, dok su zapažene spektralne promene u spektrima koji su snimani u hloroformu (**Slika 16**) i metanolu, posledica asocijacije i oligomerizacije kompleksa. Tokom 24 sata snimanja spektra, zapaženo je konstantno povećanje apsorbanice, na odgovarajućom talasnim

dužinama. Spektralne promene u ULj/Vid spektru kompleksa **K3**, koji je sniman u DMSO, ukazuju na moguću supstituciju jodido liganda, molekulima dimetil-sulfoksida.



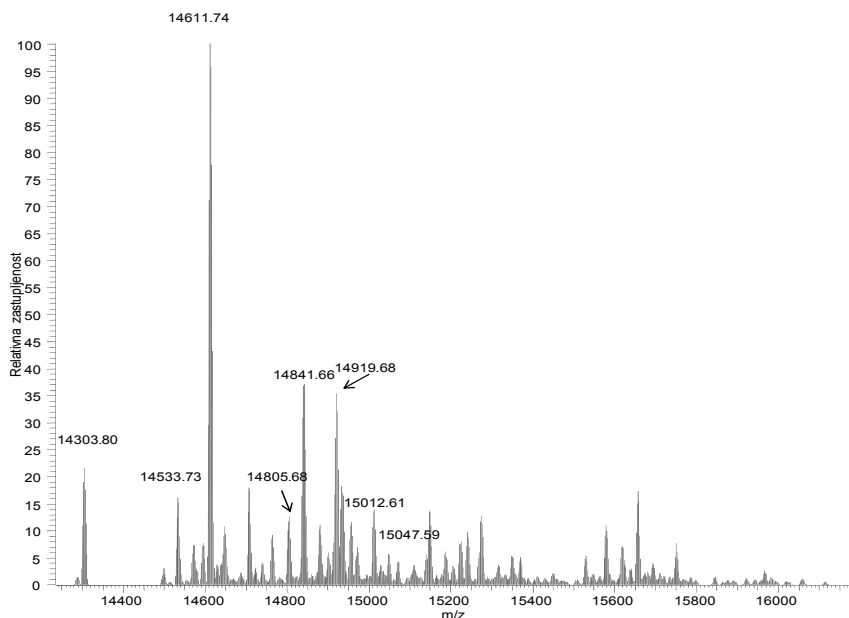
Slika 16. ULj/Vid spektar za kompleks **K3**, sniman u hloroformu, tokom 24 sata, na sobnoj temperaturi.

Zbog neobične rastvorljivosti lizozima u DMSO, ovaj rastvarač je izabran za ispitivanja interakcija kompleksa platine i rutenijuma sa ovim model proteinom, primenom ESI-MS. Svaki od kompleksa **K3**, **K10** i **K11** reagovao je sa lizozimom u molaskom odnosu 3:1. Dobijeni adukti su okarakterisani pomoću ESI-MS, nakon 24 i 72 sata, na 37 °C u DMSO. Veoma slični rezultati su dobijeni u eksperimentima nakon 24 i 72 sata inkubacije. Ispitivani Ru kompleksi pokazali su sličnu reaktivnost prema lizozimu. Naime, dobijeni rezultati ukazuju da dobijeni metal-protein adukti sadrže sledeće fragmente: lizozim-[RuCimen] i lizozim-[RuCimenCl] za kompleks **K10**, kao i lizozim-[RuCimen] fragment za kompleks **K11** (**Tabela 8**).

Tabela 8. Lizozim-metal adukti i odgovarajuće m/z vrednosti.

Lizozim-metal adukt	Da
Lizozim-RuCimen	14538,81
Lizozim-RuCimenCl	14574,78
Lizozim-[Pt(H ₂ O) ₂]	14533,73
Lizozim-[Pt(H ₂ O) ₂ DMSO]	14611,74
Lizozim-[Pt(H ₂ O) ₂ DMSO+Pt(H ₂ O) ₂]	14841,66
Lizozim-2×[Pt(H ₂ O) ₂ DMSO]	14919,68
Lizozim-[Pt(DMSO) ₂ I+Pt(H ₂ O) ₂]	15012,61

Kod kompleksa platine **K3**, detektovani su sledeći fragmenti (**Slika 17**): lizozim-[Pt(H₂O)₂], lizozim-[Pt(H₂O)₂DMSO], lizozim-[Pt(H₂O)₂(DMSO)+Pt(H₂O)₂], lizozim-2x[Pt(H₂O)₂(DMSO)], lizozim-[Pt(DMSO)₂I+Pt(H₂O)₂] (**Tabela 8**). Prisustvo Pt(amin) vrste nije detektovano, kao ni kod *cisplatina* i drugih *cis* ili *trans* analoga sa hlorido ligandima⁵⁹. Prisustvo poli platina-lizozim adukata ukazuje na postojanje nekoliko dostupnih Pt vezivnih mesta.



Slika 17. ESI-MS spektar lizozima tretiranog kompleksom **K3** u DMSO, nakon inkubacije od 24 sata, na 37 °C.

4.4. *In vitro* antitumorsko dejstvo sintetisanih jedinjenja

4.4.1. Citotoksična aktivnost jedinjenja L1-L5

In vitro antitumorska aktivnost liganada **L1-L5** ispitana je na pet tumorskih ćelijskih linija: gliomu pacova (C6) i humanom gliomu (U251), mišjem fibrosarkomu (L929), humanom neuroblastomu (SHSY-5Y) i humanoј promijelocitnoj leukemiji (HL-60). Dobijene IC₅₀ vrednosti prikazane su u **Tabeli 9**.

Tabela 9. *In vitro* citotoksična aktivnost (**L1-L5**) određena MTT testom nakon 24 sata inkubacije

Ligand	IC ₅₀ [μM]				
	U251	SH-SY5Y	C6	L929	HL-60
L1	56,39±11,03	17,48±1,45	42,00±11,91	32,16 ± 8,23	63,2±9,06
L2	35,69±0,79	37,54±8,29	54,78±1,26	40,01 ± 4,85	20,4 ± 3,33
L3	16,93±0,23	14,18±0,94	15,36±0,91	14,57 ± 0,31	10,9 ± 1,05
L4	5,87±0,31	11,54±3,20	7,88±0,26	6,86 ± 1,13	30,2 ± 4,78
L5	3,78±0,23*	14,41±0,76	5,81±1,56*	9,79 ± 0,68	13,1 ± 0,92

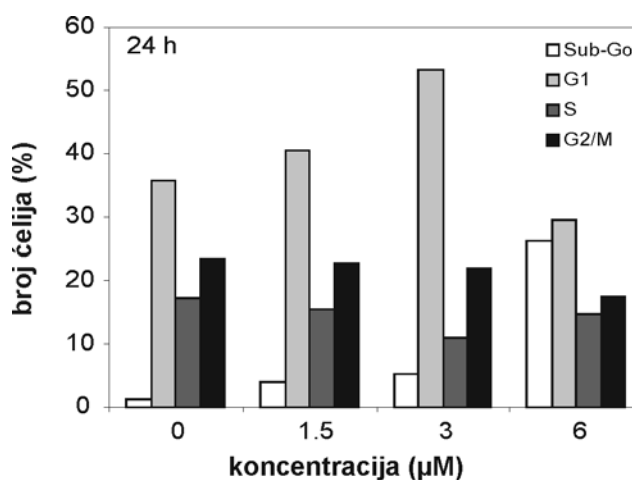
Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± SD (IC₅₀, 24 sata; MTT), izračunata iz dva nezavisna eksperimenta (* $p < 0,05$ označava nižu IC₅₀ vrednost u odnosu na dobijenu za *cisplatin*).

Dobijeni rezultati pokazuju da su IC₅₀ vrednosti za ligande (**L2-L5**) niže u poređenju sa kiselinom (**L1**), na svim ćelijskim linijama, osim na ćelijskoj liniji humanog neuroblastoma (SH-SY5Y). Ovakav rezultat upućuje na zaključak da je esterifikacija preduslov za ispoljavanje citotoksičnog dejstva. Takođe, zapažena je direktna zavisnost citotoksičnog potencijala i dužine estarskog alkil lanca, kod ovih jedinjenja. Naime, **L5** je ispoljio najveći citotoksični efekat prema svim ispitivanim ćelijskim linijama, osim prema humanoј promijelocitnoj leukemiji (HL-60), gde su **L3** i **L5** pokazali uporedivu citotoksičnu aktivnost, što ukazuje na mogućnost specifičnog delovanja prema tumorskim ćelijama različitog porekla. Pored toga, **L5** je ispoljio snažnije citotoksično dejstvo u odnosu na *cisplatin* na obe najosetljivije ćelijske linije glioma. Naime, za njega je na humanoј ćelijskoj liniji glioma (U251) dobijena IC₅₀ vrednost 11,5±3,30 μM, dok je na ćelijskoj liniji glioma pacova (C6) dobijena vrednost iznosila 10,9±3,10 μM, što je bilo statistički značajno ($p < 0,05$) više u odnosu na

vrednosti dobijene za **L5** na ovim ćelijskim linijama (**Tabela 9**). U skladu sa ovim rezultatima, dalje utvrđivanje tipa ćelijske smrti vršeno je na najosetljivijoj ćelijskoj liniji humanog glioma (U251) koja je tretirana najefikasnijim ligandom **L5**.

4.4.2. Utvrđivanje modaliteta smrti ćelija humanog glioma u tretmanu sa odabranim predstavnikom grupe jedinjenja-L5

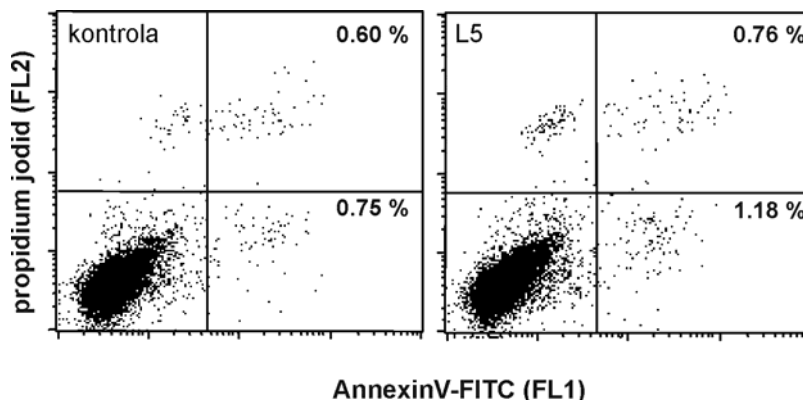
Apoptozu, najpoželjniji tip ćelijske smrti koga hemioterapeutici mogu indukovati karakteriše: eksternalizacija fosfatidil-serina iz unutrašnjeg u spoljašnji sloj fosfolipidnog dvosloja ćelijske membrane, kondenzacija hromatina i fragmentacija DNK u odsustvu oštećenja ćelijske membrane i stimulacije imunskog odgovora¹⁷². Sa druge strane, nekroza se odlikuje gubitkom integriteta ćelijske membrane sa sledstvenim izlivanjem citoplazme u okolinu i pokretanjem imunske reakcije, što dovodi do oštećenja okolnih ćelija tj. tkiva¹³⁷. Analiza rezultata dobijenih protočnom citometrijom nakon tretiranja ćelija humanog glioma (U251) ligandom **L5**, ukazala je na promene u ćelijskom ciklusu (**Slika 18**).



Slika 18. Stubičast dijagram dobijen analizom reprezentativnog ćelijskog ciklusa nakon 24 sata tretmana U251 ćelija sa odabranim koncentracijama **L5**: 1,5 µM (1/2 x IC₅₀), 3 µM (IC₅₀) i 6 µM (2 x IC₅₀).

Naime, nakon 24 sata tretmana sa **L5** u opsegu koncentracija koje su bile oko IC₅₀ vrednosti (1/2 x IC₅₀, IC₅₀ i 2 x IC₅₀) zapažena je akumulacija U251 ćelija u G₀/G₁ fazi ćelijskog ciklusa praćena povećanjem broja ćelija (%) sa hipodiploidnim sadržajem tj. sa fragmentisanom DNK, što sugeriše apoptotski tip smrti ćelija humanog glioma.

Međutim, nakon dvostrukog bojenja AnnexineV-FITC i PI, analiza na protočnom citometru nije ukazala (**Slika 19**) na povećanje broja ćelija sa eksternalizovanim fosfatidil-serinom (annexine⁺). U tom smislu, za egzaktno utvrđivanje modaliteta ćelijske smrti treba sprovesti dodatna ispitivanja.



Slika 19. Reprezentativni tačkasti dijagram dobijen analizom dvostruko (Ann/PI) obojenih U251 ćelija tretiranih 24 sata sa **L5** (6 μ M).

4.4.3. Citotoksična aktivnost liganada **L6-L8** i Pt(II) kompleksa, **K3-K5**

Citotoksičnost liganada **L6-L9** i odgovarajućih jodido platina(II) kompleksa **K3-K5** ispitana je na sledećim tumorskim ćelijskim linijama: karcinomu grlića materice (HeLa), alveolarnom bazalnom adenokarcinomu (A549), karcinomu dojke (MDA-MB-231), kolorektalnom adenokarcinomu (LS-174), a korišćene su i humana ćelijska linija fibroblasta iz pluća (MRC-5) i humana ćelijska linija endotela (EA.hy 926). Dobijene IC₅₀ vrednosti su prikazane u **Tabeli 10**.

Tabela 10. *In vitro* citotoksična aktivnost liganada **L6-L8** i Pt(II) kompleksa, **K3-K5**, određena MTT testom nakon 24 sata inkubacije.

Jedinjenje	IC ₅₀ [μ M]					
	HeLa	A549	MRC-5	MDA-MB-231	LS-174	EA.hy 926
L6	13,7 $\pm$ 3,2	27,6 $\pm$ 5,1	30,6 $\pm$ 2,6	25,7 $\pm$ 0,3	27,6 $\pm$ 2,7	9,1 $\pm$ 0,7
L7	13,2 $\pm$ 2,7	31,1 $\pm$ 4,4	20,6 $\pm$ 9,4	31,3 $\pm$ 0,8	26,6 $\pm$ 2,9	11,6 $\pm$ 0,8
L8	16,4 $\pm$ 3,2	38,5 $\pm$ 1,7	26,2 $\pm$ 6,5	16,3 $\pm$ 1,5	27,5 $\pm$ 2,1	10,1 $\pm$ 1,3
K3	7,2 $\pm$ 3,7	15,2 $\pm$ 2,3	17,2 $\pm$ 2,1	9,7 $\pm$ 0,5	8,6 $\pm$ 0,9	4,6 $\pm$ 0,6
K4	5,4 $\pm$ 1,2	11,1 $\pm$ 3,6	11,9 $\pm$ 4,1	12,2 $\pm$ 0,4	5,9 $\pm$ 1,1	8,2 $\pm$ 0,2
K5	6,3 $\pm$ 1,7	14,7 $\pm$ 4,2	14,2 $\pm$ 1,9	6,6 $\pm$ 0,5	5,5 $\pm$ 0,6	8,1 $\pm$ 0,8

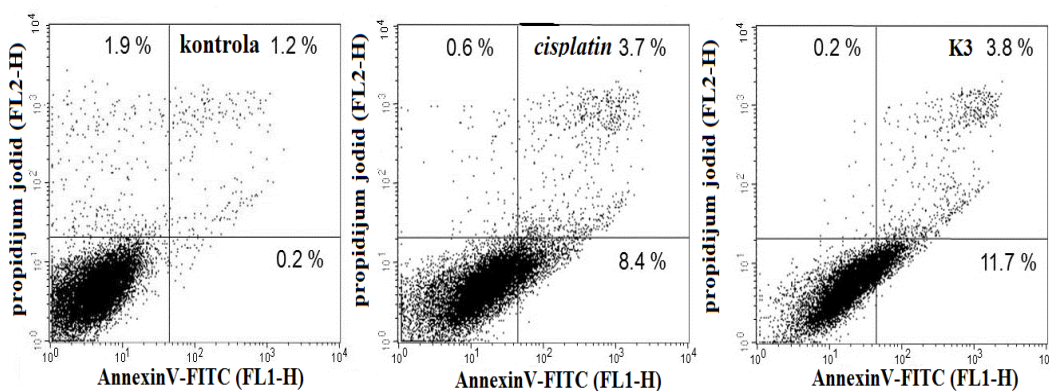
Rezultati su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ SD (IC₅₀, 24 sata; MTT), izračunata iz dva ili više nezavisnih eksperimenata.

IC₅₀ (μM) vrednosti dobijene za *cisplatin* iznosile su 6,9±1,7 (HeLa); 17,2±0,7 (A549); 15,4±3,1 (MRC-5) i bile su istog reda veličine kao i za komplekse **K3-K5**. Značajno je istaći da je aktivnost kompleksa **K3-K5** prema tumorskoj ćelijskoj liniji kolorektalnog adenokarcinoma (LS-174) (**Tabela 10**) i do četiri puta veća nego za *cisplatin* (IC₅₀=22,4±0,4 μM), a dobijene IC₅₀ (μM) vrednosti opadaju u nizu: 22,4±0,4 (*cisplatin*) < 8,6±0,9 (**K3**) < 5,9±1,1 (**K4**) < 5,5±0,6 (**K5**). Sami ligandi (**L6-L8**) pokazali su približno dva do četiri puta manju aktivnost u poređenju sa odgovarajućim kompleksima što potvrđuje logiku pristupa sintezi kompleksa. Ćelijske linije humanih fibroblasta iz pluća (MRC-5) i alveolarnog bazalnog adenokarcinoma (A549) su bile najmanje osetljive na dejstvo ovih kompleksa i liganada. Sa izuzetkom ćelijskih linija: karcinoma dojke (MDA-MB-231) i humanog endotela (EA.hy 926), kod svih kompleksa je zapažena korelacija između porasta citotoksične aktivnosti i povećanja dužine alkil niza estarske funkcije. Iz ovog segmenta istraživanja izdvojena je tumorska ćelijska linija karcinoma grlića materice (HeLa) kao najosetljivija na delovanje sintetisanih kompleksa. S obzirom na to, da su na ovoj ćelijskoj liniji IC₅₀ vrednosti za sve sintetisane komplekse bile približno istog reda veličine, **K3** je odabran za utvrđivanje tipa smrti HeLa ćelija nakon 6 tj. 24 sata tretmana.

4.4.4. Utvrđivanje modaliteta smrti HeLa ćelija u tretmanu sa kompleksom K3

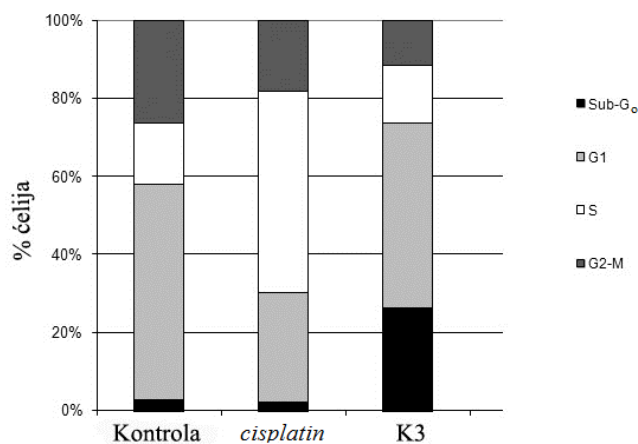
Uticaj izabranog kompleksa na indukciju apoptoze na tumorskoj ćelijskoj liniji karcinoma grlića materice (HeLa) ispitan je metodom protočne citometrije, korišćenjem dvostrukog bojenja AnnexineV-FITC i PI. HeLa ćelije su 6 sati tretirane kompleksom **K3**. Dobijeni rezultat je predstavljen tačkastim dijagramima na **Slici 20**. Ćelije u ranoj fazi apoptoze (Ann⁺PI⁻) se boje samo aneksinom i vidljive su u donjem desnom kvadrantu dijagrama, dok žive ćelije u donjem levom kvadrantu ne vezuju ni jednu boju (Ann⁻PI⁻). Ćelije u nekrozi (Ann⁻PI⁺) vezuju samo PI i uočavaju se u gornjem levom kvadrantu, dok one u kasnoj fazi apoptoze (Ann⁺PI⁺) vezuju obe boje i zauzimaju gornji desni kvadrant. Aneksinom obojene ćelije imaju eksternalizovan fosfatidil-serin i smatraju se apoptotičnim. Reprezentativni dijagrami prikazani na **Slici 20** odnose se na rezultate dobijene nakon 6 sati delovanja kompleksa **K3**, koji indukuje apoptozu tj. porast broja Ann⁺ HeLa ćelija, u većoj meri od *cisplatina* (11,7% u odnosu na 8,4%).

Do sličnih promena tj. povećanja broja Ann^+PI^+ ili Ann^-PI^+ obojenih ćelija ovaj kompleks dovodi i nakon 24 sata tretmana.



Slika 20. Reprezentativni tačkasti dijagrami distribucije HeLa ćelija netretiranih (kontrola) i tretiranih *cisplatinom* i **K3** dobijeni primenom protočne citometrije nakon bojenja aneksinom i propidijum jodidom. HeLa ćelije su tretirane tokom 6 sati *cisplatinom* i **K3** u koncentracijama jednakim IC_{50} vrednostima.

Za ispitivanje uticaja **K3** na ćelijski ciklus HeLa ćelija, iste su tretirane kompleksom **K3** u koncentraciji koja odgovara IC_{50} vrednosti. Promene su zapažene nakon 24 sata tretmana, kada je uočena akumulacija HeLa ćelija u sub- G_0 fazi ćelijskog ciklusa (**Slika 21**). Smatra se da je akumulacija ćelija u sub- G_0 fazi posledica internukleozomalne fragmentacije DNK pod uticajem nukleaza, što se smatra pokazateljem apoptotske ćelijske smrti¹⁷³.



Slika 21. Stubičast dijagram dobijen analizom reprezentativnog HeLa ćelijskog ciklusa nakon 24 sata tretmana, sa koncentracijom **K3** koja odgovara IC_{50} vrednosti.

Svakako su potrebna dodatna istraživanja sa ciljem razumevanja celokupnog molekularnog mehanizma ćelijske smrti uzrokovane ispitivanim kompleksom.

4.4.5. Rezultati analize ukupne unutarćelijske akumulacije i distribucije platine u DNK frakciji

U cilju utvrđivanja unutarćelijske akumulacije novih platina(II) jodido kompleksa, u poređenju sa *cisplatinom*, unutarćelijski sadržaj platine je analiziran u HeLa ćelijama tretiranim sa ekvivalentnom koncentracijom svih ispitivanih kompleksa (**K3-K5**) ili *cisplatina* (10 μ M), u toku 4 sata, koristeći ICP-MS. Dobijeni podaci pokazuju da ispitivani kompleksi ulaze u ćelije značajno efikasnije u odnosu na *cisplatin*, a da se unutarćelijska koncentracija platine (μ gPt/ 10^6 ćelija) povećava u nizu: *cisplatin* (2,5) < **K3** (10,1) < **K4** (11,6) < **K5** (14,5). Poređenjem strukture i aktivnosti utvrđeno je da se unutarćelijska akumulacija testiranih kompleksa povećava sa povećanjem dužine i razgranatosti estarske alkil grupe: *i*-butil (**K3**) < *n*-pentil (**K4**) < *i*-pentil (**K5**). Upečatljivo povećanje koncentracije platinskih kompleksa unutar ćelije, u odnosu na *cisplatin*, može se objasniti porastom lipofilnosti novih kompleksa, Clog Po/w: 10,2 (**K3**) < 11,3 (**K4**) $\approx$ 11,5 (**K5**), koja je uslovljena lipofilnošću samih liganada. Naime, prethodne studije koje se odnose na komplekse rutenijuma i paladijuma sa sličnim ligandnim sistemima pokazale su da povećanje lipofilnosti estarskih alkil grupa (etil < *n*-propil < *n*-butil < *n*-pentil) rezultuje povećanom citotoksičnom aktivnošću^{159,174}. S tim u vezi, izračunate su vrednosti za ClogPo/w, koje odražavaju lipofilnost molekula za sintetisane ligande **L6-L8** i komplekse **K3-K5**. Dobijeni podaci za **L6-L8** (ClogPo/w vrednosti) povećavaju se u nizu: *i*-butil (**L6**) < *n*-pentil (**L7**) $\approx$ *i*-pentil (**L8**). Kod kompleksa **K3-K5** zabeležen isti trend. Dakle, možemo zaključiti da povećanje dužine i razgranatosti estarske alkil grupe sintetisanih liganada i kompleksa povećava njihovu liposolubilnost i doprinosi boljem ulasku ovih jedinjenja u ćelije humanog karcinoma grlića materice.

4.4.6. Rezultati ICP-MS merenja platina(II)-DNK vezivanja

Ispitivanje vezivanja novih Pt(II) kompleksa za DNK izvršeno je takođe na HeLa ćelijskoj liniji. Ćelije su sakupljene po isteku 4 sata tretmana sintetisanim kompleksima, nakon čega je inkubacija nastavljena narednih 20 sati u medijumu bez platinskih kompleksa. Platina(II)-DNK sadržaj je izmeren ICP-MS-om i rezultati su pokazali da se kompleksi vezuju za jedarnu DNK mnogo efikasnije nego *cisplatin*. Nakon 4 sata tretmana kompleksi su ispoljili značajno visok stepen vezivanja za DNK (pg Pt/ μ g DNK): $13,3 \pm 0,2$ (*cisplatin*) < $32,9 \pm 1,3$ (**K3**) < $49,8 \pm 0,6$ (**K4**) < $56,9 \pm 0,4$ (**K5**). Nakon 20 sati od tretmana zapaženo je povećanje u vezivanju približno: 1,6 puta za *cisplatin*; 1,2 puta za **K3**; 2 puta za **K4**; 2,4 puta za **K5**. Dobijeni rezultati su u skladu sa u prethodnom poglavlju prikazanim rezultatima. Naime, analizirani kompleksi ulaze u HeLa ćelije karcinoma glića materice u zavisnosti od svoje liposolubilnosti, koja je pak uslovljena liposolubilnošću samih liganada. U tom smislu, u HeLa ćelije namanje ulazi **K3**, malo više **K4** a najviše **K5**. U skladu sa tim, za jedarnu DNK se najmanje vezuje **K3**, dok se najintenzivnije vezuje **K5**. Dodatno, svi analizirani kompleksi **K3-K5** se vezuju intenzivnije od *cisplatina* za jedarnu DNK HeLa ćelija, a intenzitet vezivanja se po isteku tretmana povećava s vremenom. Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim, koji govore u prilog nastajanja odgovarajućih Pt(II)-DNK adukta u interakciji platinskih kompleksa sa DNK, koji verovatno imaju uticaja na indukciju ćelijske smrti⁵².

4.4.7. Antitumorsko dejstvo organorutenijumovih kompleksa

Na osnovu rezultata dobijenih primenom testa za određivanje broja živih ćelija merenjem aktivnosti enzima kisele fosfataze, za komplekse rutenijuma **K6-K9** na ćelijskim linijama: mišjeg melanoma (B16), glioma pacova (C6), mišjeg fibrosarkoma (L929), humanoj promijelocitnoj leukemiji (HL-60), mijelogenoj eritroleukemiji (K562) i limfocitnoj leukemiji (REH), izračunate su IC₅₀ vrednosti prikazane u **Tabeli 11**.

Tabela 11. *In vitro* antitumorsko dejstvo Ru(II) kompleksa određeno testom kisele fosfataze nakon 24 sata tretmana.

Kompleks	IC ₅₀ [μM]					
	B16	C6	L929	HL-60	K562	REH
K6	22,8±1,7*	51,1±2,2	61,7±1,4	20,4±2,7	55,6±2,5	25,8±3,8
K7	10,8±0,9*	5,5±1,9*	12,1±0,2*	4,9±2,4*	13,9±0,9*	20,2±1,1
K8	6,9±1,5*	5,2±3,2*	10,3±3,9*	2,5±0,9*	5,9±1,8*	11,2±0,7*
K9	2,8±0,6*	3,7±1,5*	12,3±4,1*	1,0±0,2*	3,4±0,6*	6,6±0,7*

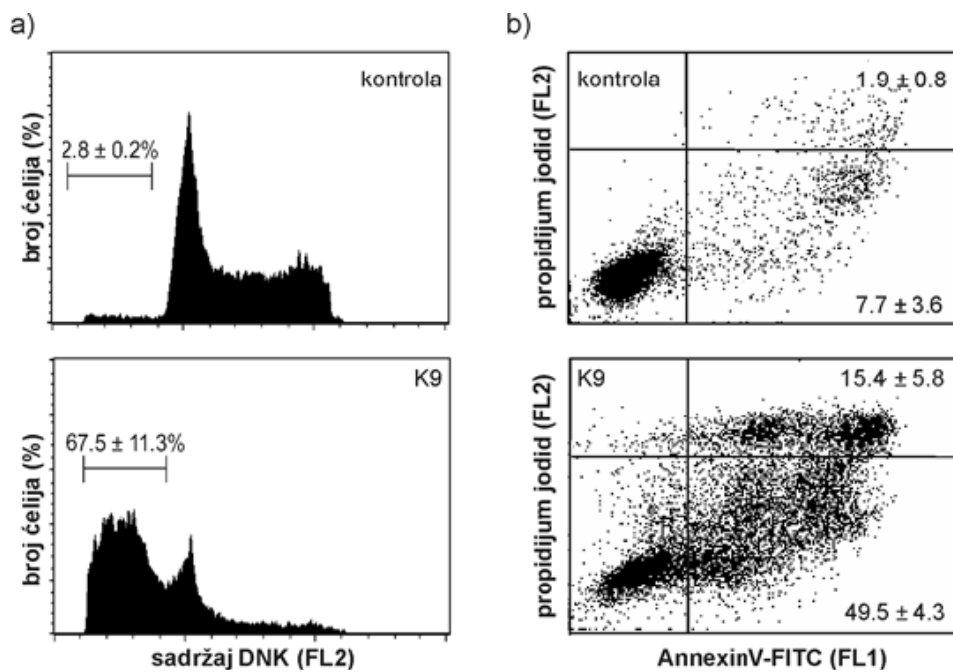
Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± SD (IC₅₀, 24 sata; kisel fosfataza), izračunata iz tri nezavisna eksperimenta (* $p < 0,05$ označava nižu IC₅₀ vrednost u odnosu na dobijenu za *cisplatin*).

Redosled citotoksične efikasnosti Ru kompleksa je **K9** > **K8** > **K7** > **K6**, što nedvosmisleno ukazuje da sa povećanjem alkil niza dolazi do povećanja citotoksičnog dejstva. Ovaj trend citotoksičnosti je takođe povezan sa pretpostavljenom razlikom u lipofilnosti ispitivanih rutenijumskih kompleksa. Naime, za očekivati je da se povećanjem alkil ostatka iz estarskog dela liganda povećava lipofilnost kompleksa¹⁷⁴. Ovakav trend porasta lipofilnosti je zapažen kod prethodno diskutovanih platina(II) kompleksa **K3-K5**. Značajno je istaći da su IC₅₀ vrednosti za komplekse **K7-K9** (Tabela 11) znatno niže u odnosu na IC₅₀(μM) vrednosti dobijene za *cisplatin*: > 100 (B16); 10,9±4,8 (C6); 31,8±4,6 (L929); 17,5±2,4 (HL-60); 33,9±3,2 (K562), sa izuzetkom **K7** koji ima veću IC₅₀(μM) vrednost u odnosu na *cisplatin* (17,1±1,6) na REH ćelijskoj liniji. Za dalje ispitivanje modaliteta indukovane ćelijske smrti odabrana je najosetljivija ćelijska linija humane promijelocitne lekumije HL-60 i najtoksičniji predstavnik grupe kompleksa-**K9**.

4.4.8. Utvrđivanje tipa smrti HL-60 ćelija i mononuklearnih ćelija periferne krvi u tretmanu organorutenijumskim kompleksom **K9**

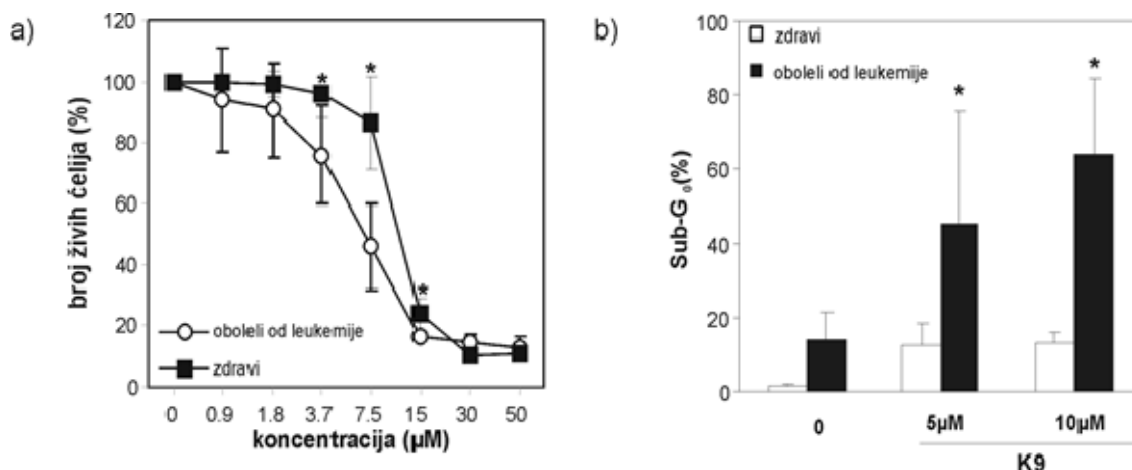
Analiza HL-60 ćelija nakon tretmana sa **K9** (5 μM) u toku 24 sata (Slika 22a) dovela je do značajnog ($p < 0,05$) povećanja broja ćelija sa fragmentisanom DNK (67,5±11.3%) u odnosu na kontrolu (2,8±0.2%). Dvostruko bojenje, AnnexineV-FITC i PI, HL-60 ćelija nakon tretmana sa **K9** (5 μM) u istom vremenskom okviru (24 sata) pokazalo je značajno povećanje broja annexine⁺ ćelija u tretmanu (~ 65%), u odnosu na kontrolne netretirane ćelije (~ 10%) (Slika 22b). Kako su i fragmentacija jedarne DNK i vezivanje annexinV-FITC za eksternalizovan fosfatidil-serin¹⁷⁵ na plazma membrani

pokazatelji apoptoze, možemo zaključiti da reprezent ove grupe rutenijumskih kompleksa **K9** najverovatnije svoje citotoksično dejstvo ostvaruje upravo pokretanjem apoptoze, na njegovo dejstvo najosetljivijim, ćelijama humane promijelocitne leukemije.



Slika 22. Rutenijumski kompleks **K9** (5 μM) dovodi do apoptoze HL-60 ćelija. Analiza na protočnom citometru nakon bojenja HL-60 ćelija propidijum jodidom (a) i AnnexineV-PI (b). a) Reprezentativni histogrami kontrolnih i tretiranih (24 sata) ćelija. b) Reprezentativni tačkasti dijagram kontrolnih i tretiranih (24 sata) ćelija.

U cilju ispitivanja selektivnosti rutenijumskog kompleksa **K9**, analiziran je njegov uticaj na leukemijske ćelije i upoređen je sa efektom ostvarenim na mononuklearnim ćelijama periferne krvi zdravih dobrovoljnih davaoca. Dobijeni rezultati su prikazani na **Slici 23**. Uočeno je da **K9** na MNPK obolelih od leukemije ima statistički značajno nižu ($p < 0,05$) IC_{50} vrednost ($6,58 \pm 1,96 \mu M$) u odnosu na vrednost dobijenu na MNPK zdravih ($12,33 \pm 1,87 \mu M$) (**Slika 23**). U skladu sa tim, broj ćelija sa fragmentisanom DNK je bio statistički značajno veći u grupi pacijenata obolelih od leukemije, u odnosu na zdrave, potvrđujući dobru selektivnost **K9**.



Slika 23. Citotoksičnost rutenijumskog kompleksa **K9** na MNPK zdravih i obolelih od leukemije. Rezultati su predstavljeni kao aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija dobijena iz rezultata analize uzoraka 7 pacijenata sa leukemijom i 7 zdravih kontrola (* $p < 0,05$). a) Linijski dijagram dozne zavisnosti broja živih MNPK zdravih i pacijenata sa leukemijom nakon 24 sata tretmana, odabranim koncentracijama **K9**. b) Tretman (24 sata) sa **K9** (5 i 10 μM) dovodi do statistički značajnog povećanja broja MNPK sa fragmentisanom DNK (Sub-G₀) kod obolelih od leukemije, u odnosu na zdrave.

4.4.9. Antitumorsko dejstvo organorutenijum(II) kompleksa **K10** i **K11**

U **Tabeli 12.** su prikazane IC₅₀ vrednosti dobijene analizom podataka nakon 24 sata tretmana odabranih ćelijskih linija: mišjeg melanoma (B16), humanog melanoma (A375), humanog kolorektalnog karcinoma (HCT116), alveolarnog bazalnog adenokarcinoma (A549), adenokarcinoma dojke (MCF7), humanog fibroblasta iz pluća (MRC-5), kompleksima rutenijuma **K10** i **K11** i primenom kristal violet (CV) metode.

Tabela 12. *In vitro* antitumorsko dejstvo Ru(II) kompleksa **K10** i **K11** određeno kristal violet metodom nakon 24 sata tretmana.

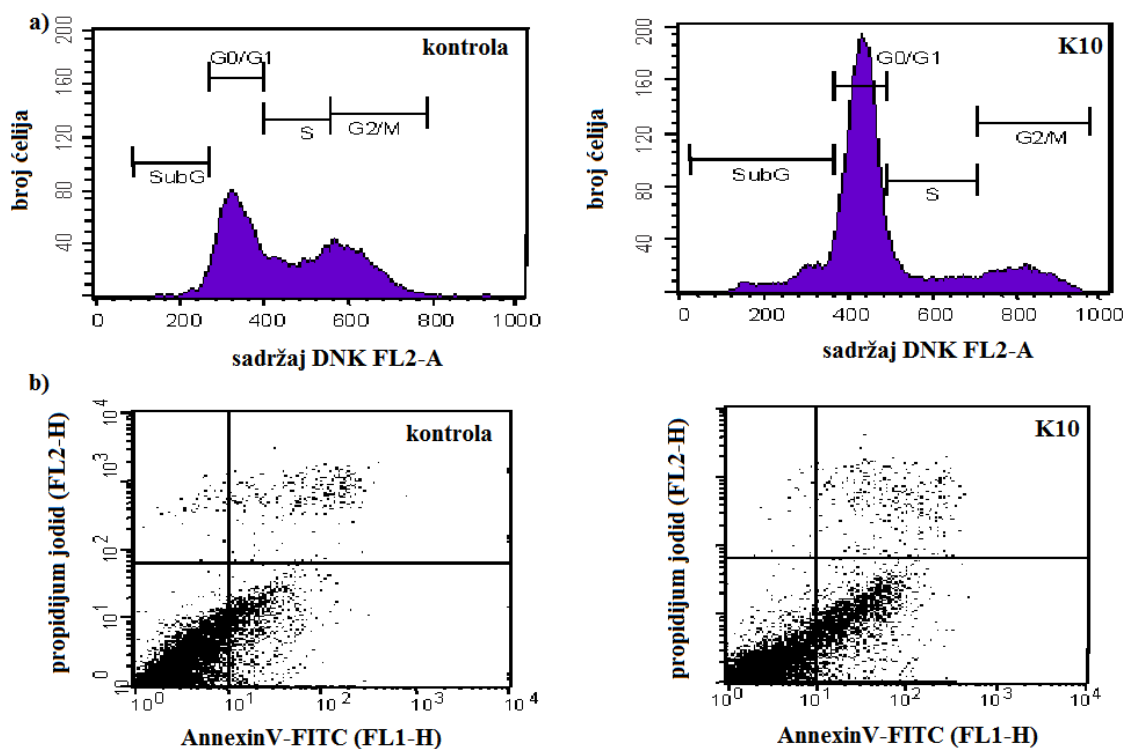
Kompleks	IC ₅₀ [μM]					
	B16	A375	HCT116	A549	MCF7	MRC-5
K10	5,5 $\pm$ 0,9	2,9 $\pm$ 1,1	4,4 $\pm$ 0,4	6,4 $\pm$ 2,5	5,0 $\pm$ 0,1	8,7 $\pm$ 0,4
K11	7,4 $\pm$ 3,2	3,5 $\pm$ 1,6	5,5 $\pm$ 0,9	8,0 $\pm$ 0,3	7,8 $\pm$ 0,6	12,0 $\pm$ 3,4

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ SD (IC₅₀, 24 sata; CV), izračunata iz dva nezavisna eksperimenta.

Ćelijska linija humanih fibroblasta (MRC-5) je upadljivo najmanje osetljiva na dejstvo ovih kompleksa, što dokazuje selektivan potencijal kompleksa **K10** i **K11** prema malignim ćelijama. Važno je istaći da su ćelije humanog kolorektalnog karcinoma (HCT116), koje su inače otporne na *cisplatin* ($IC_{50} > 120 \mu M$) visoko osetljive prema ovim kompleksima, tako da je mehanizam ćelijske smrti ispitan na ovoj ćelijskoj liniji nakon tretmana sa **K10**, s obzirom na to, da su dobijene IC_{50} vrednosti nešto niže za **K10** u odnosu na **K11**.

4.4.10. Utvrđivanje tipa ćelijske smrti u tretmanu HCT116 ćelija kompleksom rutenijuma **K10**

Cisplatin rezistentne ćelije humanog kolorektalnog karcinoma (HCT116) su tretirane kompleksom **K10** u koncentraciji koja je odgovarala IC_{50} vrednosti i distribucija ćelija po fazama ćelijskog ciklusa je analizirana nakon 24 sata (**Slika 24a**). Značajna akumulacija ćelija u G_0/G_1 fazi, udružena sa povećanim procentom ćelija sa fragmentisanom jedarnom DNK u sub- G_0 fazi ćelijskog ciklusa, zapažena je nakon 24 sata tretmana. U cilju ispitivanja mogućnosti da kompleks **K10** izaziva apoptotsku ćelijsku smrt, HCT116 ćelije su bile tretirane kompleksom **K10** i nakon 24 sata dvostruko obojene sa AnnexineV-FITC i PI. Na **Slici 24b**, uočava se da ispitivan kompleks izaziva akumulaciju ćelija u ranoj (Ann^+PI^-) i kasnoj (Ann^+PI^+) apoptozi, koje se prikazuju u donjem i gornjem desnom kvadrantu distribucije intenziteta fluorescence. Ovi rezultati ukazuju da kompleks **K10** najverovatnije svoje citotoksično dejstvo ostvaruje pokretanjem apoptoze ćelija tumora, izazivajući zastoj u ćelijskom ciklusu, fragmentaciju jedarne DNK i eksternalizaciju fosfatidil-serina u spoljašnji sloj lipidnog dvosloja ćelijske membrane.



Slika 24. Analiza ćelijskog ciklusa na protočnom citometru nakon bojenja HCT116 ćelija propidijum jodidom (PI) i AnnexineV-PI. a) Reprezentativni histogrami kontrolnih i tretiranih (24 sata) ćelija. b) Reprezentativni tačkasti dijagram kontrolnih i tretiranih (24 sata) ćelija.

5. ZAKLJUČAK

U ovoj doktorskoj disertaciji opisani su sinteza i karakterizacija novih liganada propandiamindipropanoato tipa i njima odgovarajući jodido Pt(II) kompleksi, kao i sinteza i karakterizacija organorutenijumovih kompleksa sa ligandima etandiamindipropanoato tipa. Ligandi su potpuno okarakterisani: elementalnom analizom, infracrvenom, ^1H i ^{13}C nuklearno-magnetno-rezonancionom spektroskopijom i masenom spektrometrijom, dok su kompleksi pored pomenutih metoda, okarakterisani i elektronskom apsorpcionom spektroskopijom, rendgenskom strukturnom analizom za kompleks $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{eddchxp}\}]\text{PF}_6$ i ^{195}Pt NMR spektroskopijom za kompleks $[\text{PtI}_2\{(S,S)\text{-}i\text{Bu}_2\text{pddchxp}\}]$.

Na osnovu ovih analiza potvrđeno je sledeće:

1. Rezultati elementarnih analiza potvrđuju pretpostavljenu stehiometriju liganada i kompleksa.
2. Elektronski spektri pokazuju apsorpcione maksimume koji odgovaraju $d\text{-}d$ prelazima.
3. Infracrveni spektri potvrđuju da je ligand dobijen u obliku hidrohlorida i da su svi ligandi koordinovani za metal preko azotovih atoma.
4. Karakteristična pomeranja u ^1H i ^{13}C NMR spektrima potvrđuju pretpostavljenu strukturu za sve sintetisane ligande i komplekse. Na osnovu HSQC spektara, određena je nedvosmislena korelacija između ugljenika i protona. Svi signali u ^1H i ^{13}C NMR spektrima sintetisanih jedinjenja, nalaze se na očekivanim hemijskim pomeranjima. Postojanje dva signala u ^{195}Pt NMR spektru uslovljeno je stereogenim ligatorskim atomima azota.
5. U masenim spektrima kompleksa detektovani su molekulski joni, što jasno potvrđuje pretpostavljenu strukturu.
6. Rendgenskom-strukturnom analizom je potvrđena pseudo-oktaedarska geometrija za sintetisane organorutenijumove komplekse, sa koordinacijom

liganda preko azotovih atoma. Takođe, je dokazana *S,S* konfiguracija oba hiralna ugljenika iz liganda.

7. Određivanjem stabilnosti sintetisanih kompleksa u različitim rastvaračima, pokazano je da su kompleksi rutenijuma **K10** i **K11** izuzetno stabilni u metanolu i dimetil-sulfoksidu, dok je Pt(II) kompleks **K3** u izvesnoj meri stabilan u acetonu.
8. Ispitivanjem interakcija kompleksa **K3**, **K10** i **K11** sa lizozimom, pomoću ESI-MS, dobijeni su različiti adukti kompleksa sa ovim proteinom, koji su u saglasnosti sa dosadašnjim literaturnim podacima za komplekse ovog tipa.

In vitro antitumorska aktivnost liganada i kompleksa ispitana je na brojnim ćelijskim linijama.

Rezultati analize citotoksičnog efekta sintetisanih jedinjenja na paleti tumorskih ćelijskih linija rezultovali su sledećim zaključcima:

1. Zapažena je direktna zavisnost citotoksičnog potencijala i dužine estarskog alkil lanca, kod jedinjenja **L2-L5**. *n*-Butil ester (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)propanske kiseline (**L5**) je ispoljio najveći citotoksični efekat na svim ispitivanim tumorskim ćelijskim linijama, a posebno na U251 ćelijama humanog glioma u kojima dovodi do fragmentacije jedarne DNK, što sugerise apoptotski tip ćelijske smrti.
2. Liganadi **L6-L8** su ispoljili približno dva do četiri puta manju citotoksičnu aktivnost, u odnosu na odgovarajuće komplekse **K3-K5**.
3. Jodido platina(II) kompleksi **K3-K5** ispoljili su dobru antitumorsku aktivnost na analiziranim ćelijskim kulturama, sa značajno nižim IC₅₀ vrednostima u odnosu na *cisplatin*, na ćelijskoj liniji humanog kolorektalnog adenokarcinoma (LS-174). Najosetljivija ćelijska linija na dejstvo ovih kompleksa bila je humana HeLa linija karcinoma grlića materice. Ove ćelije pod uticajem **K3**

- eksternalizuju fosfatidil-serin, dok im se jedarna DNK fragmentiše što upućuje na apoptotski tip ćelijske smrti
4. Pomoću ICP-MS pokazano je da kompleksi **K3-K5** deluju kao DNK vezujući agensi, pri čemu je zapaženo da je intenzitet vezivanja za jedarnu DNK HeLa ćelija bio **K5 > K4 > K3 > cisplatin**, što je u skladu sa liposolubilnošću samih liganada i intenzitetom ulaska u HeLa ćelije.
 5. Organorutenijum(II) kompleksi **K6-K9** pokazali su dobar citotoksični potencijal posebno na ćelijama humane promijelocitne leukemije. Kompleks **K9** je bio najpotentniji i ispoljio je veliku selektivnost prema mononuklearnim ćelijama periferne krvi (MNPK) pacijenata sa leukemijom, u odnosu na iste ćelije izolovane iz uzoraka krvi zdravih dobrovoljaca. **K9** je u MNPK leukemijskih pacijenata uzrokovao fragmentaciju jedarne DNK sugerišući apoptotski tip ćelijske smrti.
 6. Organorutenijum(II) kompleksi **K10 i K11** deluju citotoksično i na *cisplatin* rezistentne ćelije humanog kolorektalnog karcinoma (HCT116), u kojima uzrokuju fragmentaciju jedarne DNK i eksternalizaciju fosfatidil-serina što upućuje na apoptotski tip ćelijske smrti.

6. LITERATURA

1. S. Filipović, *Osnovi kliničke onkologije*, Naša knjiga, Beograd 2009. ISBN 8680599735.
2. <http://www.who.int/cancer/en/index.html>
3. L.Fass, *Mol. Oncol.*, **2** (2008) 115.
4. N. Azordegan, V. Fraser, K. Le, L. M. Hillyer, D. V. L. Ma, G. Fischer, M. H. Moghadasian, *Mol. Cell. Biochem.*, **374** (2013) 223.
5. L. Jia, S. Ma, X. Hou, X. Wang, A. B. L. Qased, X. Sun, N. Liang, H. Li, H. Yi, D. Kong, *Oncol. Lett.*, **5** (2013) 1439.
6. N. Wu, S. Z. Jin, X. N. Pan, S. Z. Liu, *Int. J. Radiat. Biol.*, **84** (2008) 201.
7. G. Blackledge, *Brit. J. Cancer*, **77** (1998) 29.
8. H. Furue, *Cancer Chemoth. Pharm.*, **30** (2003) 1404.
9. K. Sredzinska, A. Gajko, W. Galasinski, A. Gindzienski, *Acta Pol. Pharm.*, **56** (1999) 29.
10. E. G. Talman, W. Brüning, J. Reedijk, A. L. Spek, N. Veldman, *Inorg. Chem.*, **36** (1997) 854.
11. R. E. Champlin, *Blood*, **122** (2013) 3856.
12. R. J. Mayer, *J. Clin. Oncol.*, **30** (2012) 3325.
13. I. Kostova, *Recent. Pat. Anti-Canc.*, **1** (2006) 1.
14. H. P. Varbanov, M. A. Jakupc, A. Roller, F. Jensen, M. Galanski, B. K. Keppler, *J. Med. Chem.*, **56** (2013) 330.
15. G. Sava, G. Jaouen, E. A. Hillard, A. Bergamo, *Dalton Trans.*, **41** (2012) 8226.
16. D. Lebwohl, R. Canetta, *Eur. J. Cancer*, **33** (1998) 1522.
17. T. Hambley, *Coord. Chem. Rev.*, **166** (1997) 181.
18. E. R. Jamieson, S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, **99** (1999) 2467.
19. P. Jordan, M. Carmo-Fonseca, *Cell. Mol. Life Sci.*, **57** (2000) 1299.
20. L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer*, **7** (2007) 573.
21. F. H. Lodish, (1999). *Molecular cell biology*. New York: Scientific American Books. ISBN 0-7167-3136-3.
22. V. Brabec, *Prog. Nucleic. Acid Res. Mol. Biol.*, **71** (2002) 1.
23. E. R. Jamieson, S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, **99** (1999) 2467.

24. N. J. Wheate, S. Walker, G. E. Craig, R. Oun, *Dalton Trans.*, **39** (2010) 8097.
25. M. E. Anderson, A. Naganuma, A. Meister, *FASEB J.*, **4** (1990) 3251.
26. V. Calderone, A. Casini, S. Mangani, L. Messori, P. L. Orioli, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45** (2006) 1267.
27. A. Casini, G. Mastrobuoni, C. Temperini, C. Gabbiani, S. Francese, G. Moneti, C. T. Supuran, A. Scozzafava, L. Messori, *Chem. Commun.*, (2007) 156.
28. A. Casini, C. Gabbiani, E. Michelucci, G. Pieraccini, G. Moneti, P. J. Dyson, L. Messori, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **14** (2009) 761.
29. A. Casini, *J. Inorg. Biochem.*, **109** (2012) 97.
30. S. Neidle, I. M. Ismail, P. J. Sadler, *J. Inorg. Biochem.*, **13** (1980) 205.
31. U. Frey, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.*, **32** (1993) 1333.
32. S. A. Laurie, L. L. Siu, E. Winquist, A. Maksymiuk, E. L. Harnett, W. Walsh, D. Tu, W. R. Parkulekar, *Cancer*, **116** (2010) 362.
33. T. Boulikas, M. Vougiouka, *Oncol. Rep.*, **10** (2003) 1663.
34. J. Kasparkova, M. Vojtiskova, G. Natile, V. Brabec, *Chem.-Eur. J.*, **14** (2008) 1330.
35. A. Kuwahara, M. Yamamori, K. Nishiguchi, T. Okuno, N. Chayahara, I. Miki, T. Tamura, T. Inokuma, Y. Takemoto, T. Nakamura, K. Kataoka, T. Sakaeda, *Int. J. Med. Sci.*, **6** (2009) 305.
36. E. M. Alberto, M. F. A. Lucas, M. Pavelka, N. Russo, *J. Phys. Chem. B.*, **113** (2009) 14473.
37. Y. Kawai, S. Taniuchi, S. Okahara, M. Nakamura, M. Gemba, *Biol. Pharm. Bull.*, **28** (2005) 1385.
38. D. K. Kim, G. Kim, J. Gam, Y. B. Cho, H. T. Kim, J. H. Tai, K. H. Kim, W. S. Hong, J. G. Park, *J. Med. Chem.*, **37** (1994) 1471.
39. D. K. Kim, H. T. Kim, J. H. Tai, Y. B. Cho, T. S. Kim, K. H. Kim, J. G. Park, W. S. Hong, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **37** (1995) 1.
40. D. K. Kim, H. T. Kim, Y. B. Cho, J. H. Tai, J. S. Ahn, T. S. Kim, K. H. Kim, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **35** (1995) 441.
41. J. W. Lee, J. K. Park, S. H. Lee, S. Y. Kim, Y. B. Cho, H. J. Kuh, *Anti-Cancer Drugs*, **17** (2006) 377.

42. N. K. Kim, T. Y. Kim, S. G. Shin, Y. I. Park, J. A. Lee, Y. B. Cho, K. H. Kim, D. K. Kim, D. S. Heo, Y. J. Bang, *Cancer*, **91** (2001) 1549.
43. J. Reedijk, *Eur. J. Inorg. Chem.*, (2009) 1303.
44. J. Reedijk, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **100** (2003) 3611.
45. R. C. Todd, S. J. Lippard, *Metallomics*, **1** (2009) 280.
46. K. M. Comess, C.E. Costello, S.J. Lippard, *Biochemistry*, **29** (1990) 2102.
47. M. Leng, D. Locker, M. J. Giraud-Panis, A. Schwartz, F. P. Intini, G. Natile, C. Pisano, A. Boccarelli, D. Giordano, M. Coluccia, *Mol. Pharmacol.* **58** (2000) 1525.
48. U. Kalinowska-Lis, J. Ochocki, K. Matlawska-Wasowska, *Coord. Chem. Rev.*, **252** (2008) 1328.
49. M. Coluccia, G. Natile, *Anticancer Agents Med. Chem.*, **7** (2007) 111.
50. A. G. Quiroga, *J. Inorg. Biochem.*, **114** (2012) 106.
51. F. Basolo, H. B. Gray, R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.*, **82** (1960) 4200.
52. E. G. Talman, W. Bruning, J. Reedijk, A. L. Spek, N. Veldman, *Inorg. Chem.*, **36** (1997) 854.
53. I. Berger, A. A. Nazarov, C. G. Hartinger, M. Groessl, S. M. Valiahdi, M. A. Jakupc, B. K. Keppler, *ChemMedChem.*, **2** (2007) 505.
54. M. J. Cleare, J. D. Hoeschele, *Bioinorg. Chem.*, **2** (1973) 187.
55. N. A. Kratochwil, A. I. Ivanov, M. Patriarca, J. A. Parkinson, A. M. Gouldsworthy, P. D. Murdoch, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.*, **121** (1999) 8193.
56. L. Messori, A. Casini, C. Gabbiani, E. Michelucci, L. Cubo, C. Rios-Luci, J. M. Padron, C. Navarro-Ranninger, A. G. Quiroga, *ACS Med. Chem. Lett.*, **1** (2010) 381.
57. T. Parro, M. A. Medrano, L. Cubo, S. Munoz-Galvan, A. Carnero, C. Navarro-Ranninger, A. G. Quiroga, *J. Inorg. Biochem.*, **127** (2013) 182.
58. L. Messori, T. Marzo, C. Gabbiani, A. A. Valdes, A. G. Quiroga, A. Merlino, *Inorg. Chem.*, **52** (2013) 13827.
59. L. Messori, L. Cubo, C. Gabbiani, A. Álvarez-Valdés, E. Michelucci, G. Pieraccini, C. Ríos-Luci, L.G. León, J.M. Pardón, C. Navarro-Ranninger, A. Casini, A. G. Quiroga, *Inorg. Chem.*, **51** (2012) 1717.

60. J. Z. Zhang, E. Wexselblatt, T. W. Hambley, D. Gibson, *Chem. Commun.*, **48** (2012) 847.
61. M. R. Reithofer, A. K. Bytze, S. M. Valiahdi, C. R. Kowol, M. Groessl, C. G. Hartinger, M. A. Jakupc, M. Galanski, B. K. Keppler, *J. Inorg. Biochem.*, **105** (2011) 46.
62. D. Gibson, *Dalton Trans.*, (2009) 10681.
63. N. Graf, S. J. Lippard, *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, **64** (2012) 993.
64. E. Wexselblatt, D. Gibson, *J. Inorg. Biochem.*, **117** (2012) 220.
65. M. D. Hall, T. W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.*, **232** (2002) 49.
66. P. J. O'Dwyer, J. P. Stevenson, S. W. Johnson, *In Platinum-Based Drugs in Cancer Therapy*; L. R. Kelland, N. P. Farrell, Ed.; *Cancer Drug Discovery and Development*; Humana Press: New Jersey, USA, 2000, 231.
67. M. Groessl, C. G. Hartinger, *Anal. Bioanal. Chem.*, **405** (2013) 1791.
68. F. Giannini, J. Furrer, G. Süss-Fink, C. M. Clavel, P. J. Dyson, *J. Organomet. Chem.*, **734** (2013) 45.
69. F. Bottomley, *Can. J. Chem.*, **55** (1977) 2788.
70. D. Frasca, J. Ciampa, J. Emerson, R. S. Umans, M. J. Clarke, *Met.-Based Drugs*, **3** (1996) 197.
71. M. J. Clarke, *Coord. Chem. Rev.*, **236** (2003) 209.
72. M. J. Clarke, *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj.*, **627** (1980) 332.
73. W. L. Ying, J. Emerson, M. J. Clarke, D. R. Sanadi, *Biochemistry*, **30** (1991) 4949.
74. R. Dierichs, *Histochem.*, **64** (1979) 171.
75. T. Gianferrara, I. Bratsos, E. Alessio, *Dalton Trans.*, (2009) 7588.
76. E. Alessio, G. Mestroni, A. Bergamo, G. Sava, *Curr. Top. Med. Chem.*, **4** (2004) 1525.
77. M. Brindell, D. Piotrowska, A. A. Shoukry, G. Stochel, R. Van Eldik, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **12** (2007) 809.
78. B. Cebrian-Losantos, E. Reisner, C. R. Kowol, A. Roller, S. Shova, V. B. Arion, B. K. Keppler, *Inorg. Chem.*, **47** (2008) 6513.
79. A. R. Timerbaev, C. G. Hartinger, S. S. Aleksenko, B. K. Keppler Mazuryk, *Chem. Rev.*, **106** (2006) 2224.

80. P. Schluga, C. G. Hartinger, A. Egger, E. Reisner, M. Galanski, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Dalton Trans.*, (2006) 1796.
81. C. G. Hartinger, M. A. Jakupec, S. Zorbas-Seifried, M. Groessler, A. Egger, W. Berger, H. Zorbas, P. J. Dyson, B. K. Keppler, *Chem. Biodivers.*, **2** (2008) 2140.
82. B. Fischer, P. Heffeter, K. Kryeziu, L. Gille, S. M. Meier, W. Berger, C. R. Kowol, B. K. Keppler, *Dalton Trans.*, **43** (2014) 1096.
83. W. Kandioller, *Dissertation*, 2009.
84. E. Alessio, G. Mestroni, G. Nardin, W. M. Attia, M. Calligaris, G. Sava, S. Zorzet, *Inorg. Chem.*, **27** (1988) 4099.
85. L. Salassa, *Eur. J. Inorg. Chem.*, (2011) 4931.
86. G. B. Jiang, Y. Y. Xie, G. J. Lin, H. L. Huang, Z. H. Liang, Y. J. Liu, *J. Photoch. Photobio. B*, **129** (2013) 48.
87. A. Mihailovic, I. Vladescu, M. McCauley, M. C. Williams, E. M. Spain, M. E. Nunez, *Langmuir*, **22** (2006) 4699.
88. P. Kumar, R. K. Gupta, D. S. Pandey, *Chem. Soc. Rev.*, **43** (2014) 707.
89. G. S. Smith, B. Therrien, *Dalton Trans.*, **40** (2011) 10793.
90. S. Mirtschin, A. Slabon-Turski, R. Scopelliti, A. H. Velderes, K. Severin, *J. Am. Chem. Soc.*, **132** (2010) 14004.
91. W. Zheng, Q. Luo, Y. Lin, Y. Zhao, X. Wang, Z. Du, X. Hao, Y. Yu, S. Lü, L. Ji, X. Li, L. Yang, F. Wang, *Chem. Comm.*, **49** (2013) 10224.
92. G. Süss -Fink, *Dalton Trans.*, **39** (2010) 1673.
93. A. M. Pizzaro, A. Habtemariam, P. J. Sadler, *Organomet. Chem.*, **32** (2010) 21.
94. S. Grgurić Šipka, I. Ivanović, G. Rakić, N. Todorović, N. Gligorijević, S. Radulović, V. B. Arion, B. K. Keppler, Ž. Lj. Tešić, *Eur. J. Med. Chem.*, **45** (2010) 1051.
95. 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.
96. W. Kandioller, A. Kurzwernhart, M. Hanif, S. M. Meier, H. Henke, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *J. Organomet. Chem.*, **696** (2011) 999.
97. J. H. Kasser, W. Kandioller, C. G. Hartinger, A. A. Nazarov, V. B Arion, P. J. Dyson, B. K. Keppler, *J. Organomet. Chem.*, **695** (2010) 875.

98. F.A. Khan, B. Therrien, G. Süss-Fink, O. Zava, P. J. Dyson, *J. Organomet. Chem.*, **730** (2013) 49.
99. J. Kljun, A. K. Bytcek, W. Kandiolle, C. Bartel, M. A. Jakupec, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, I. Turel, *Organometallics*, **30** (2011) 2506.
100. M. A. Jakupec, M. Galanski, V.B. Arion, C.G. Hartinger, B.K. Keppler, *Dalton Trans.*, (2008) 183.
101. P.J. Dyson, G. Sava, *Dalton Trans.*, (2006) 1929.
102. Y. N. V. Gopal, D. Jayaraju, A. K. Kondapi, *Biochemistry*, **38** (1999) 4382.
103. C. Scolaro, A. Bergamo, L. Brescacin, R. Delfino, M. Cocchietto, G. Laurenczy, T. J. Geldbach, G. Sava, P. J. Dyson, *J. Med. Chem.*, **48** (2005) 4161.
104. P. Schluga, C. G. Hartinger, A. Egger, E. Reisner, M. Galanski, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Dalton Trans.*, (2006) 1796.
105. K. J. Kilpin, S. M. Cammack, C. M. Clavel, P. J. Dyson, *Dalton Trans.*, **42** (2013) 2008.
106. A. Casini, P. J. Dyson, L. Messori, *ChemMedChem.*, **2** (2007) 631.
107. W. H. Ang, E. Daldini, C. Scolaro, R. Scopelliti, L. Juillerat-Jeannerat, P. J. Dyson, *Inorg. Chem.*, **45** (2006) 9006.
108. R. E. Morris, R. E. Aird, P. del S. Murdoch, H. Chen, J. Cummings, N. C. Hughes, S. Parsons, A. Parkin, G. Boyd, D. I. Jodrell, P. J. Sadler, *J. Med. Chem.*, **44** (2001) 3616.
109. H. Chen, J. A. Parkinson, S. Parsons, R. A. Coxall, R. O. Gould, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.*, **124** (2002) 3064.
110. H. Chen, J. A. Parkinson, R. E. Morris, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.*, **125** (2003) 173.
111. A. F. Peacock, M. Melchart, R. J. Deeth, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.*, **13** (2007) 2601.
112. F. Wang, A. Habtemariam, E. P. L. van der Geer, R. Fernández, M. Melchart, R. J. Deeth, R. Aird, S. Guichard, F. P. A. Fabbiani, P. Lozano-Casal, I. D. H. Oswald, D. I. Jodrell, S. Parsons, P. J. Sadler, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **112** (2005) 18269.

113. A. R. Tmerbaev, C. G. Hartinger, S. S. Aleksenko, B. K. Keppler, *Chem. Rev.*, **106** (2006) 2224.
114. H. Liu, J. A. Parkinson, J. Bella, F. Wang, P. J. Sadler, *Chem. Sci.*, **1** (2010) 258.
115. I. Turel, J. Kljun, F. Perdih, E. Morozova, V. Bakulev, N. Kasyanenko, Jo. A. W. Byl, N. Osheroff, *Inorg. Chem.*, **49** (2010) 10750.
116. R. Lang, K. Polborn, T. Severin, K. Severin, *Inorg. Chem. Acta*, **294** (1999) 62.
117. O. Novakova, A. A. Nazarov, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, V. Brabec, *Biochem. Pharmacol.*, **77** (2009) 364.
118. R. Fernandez, M. Melchart, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* **10** (2004) 5173.
119. D. J. Radanović, *Coord. Chem. Rev.*, **54** (1984) 159.
120. J. I. Legg, D. W. Cooke, B. E. Douglas, *Inorg. Chem.*, **6** (1967) 700.
121. T. J. Sabo, S. R. Grgurić, D. M. Minić, S. R. Trifunović, *J. Coord. Chem.*, **44** (1998) 669.
122. T. J. Sabo, S. R. Trifunović, *J. Serb. Chem. Soc.*, **65** (2000) 537.
123. T. J. Sabo, S. R. Trifunović, *J. Serb. Chem. Soc.*, **61** (1996) 1179.
124. L. M. Volstein, *Koord. Khim.*, **1** (1975) 595.
125. G. N. Kaluđerović, T. J. Sabo, *Polyhedron*, **21** (2002) 2277.
126. S. R. Grgurić, T. J. Sabo, *Synth. React. Inorg. Met-Org. Chem.*, **29** (1999) 1567.
127. A. Syamal, B. K. Gupta, *Trans. Met. Chem.*, **8** (1983) 36.
128. R. M. Hartshorn, W. T. Robinson, S. G. Telfer, *Acta Cryst.*, **C53** (1997) 1757.
129. H. A. Weakliem, J. L. Hoard, *J. Am. Chem. Soc.*, **81** (1959) 549.
130. T. J. Sabo, S. R. Grgurić, S. R. Trifunović, *Synth. React. Inorg. Met-Org. Chem.*, **32** (2002) 1661.
131. N. Petranović, D. Minić, T. J. Sabo, D. Đoković, *J. Therm. Anal. Cal.*, **59** (2000) 807.
132. M. Mullaney, S. C. Chang, R. E. Norman, *Inorg. Chim. Acta*, **265** (1997) 275.
133. S. P. Tanner, F. Basolo, R. G. Pearson, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 1089.
134. F. C. Bersworth, *British Patent*, **723** (1955) 316.
135. D. B. Haydock, T. P. C. Mulholland, *J. Chem. Soc.*, **C** (1971) 2389.

136. J. M. Lazić, Lj. Vučićević, S. Grgurić-Šipka, K. Janjetović, G. N. Kaludjerović, M. Misirkić, M. Gruden-Pavlović, D. Popadić, R. Paschke, V. Trajković, T. J. Sabo, *ChemMedChem.*, **5** (2010) 881.
137. A. Savić, S. Misirlić-Denčić, M. Dulović, Ljiljana E. Mihajlović, M. Jovanović, S. Grgurić-Šipka, I. Marković, T. J. Sabo, *Bioorg. Chem.*, **54** (2014) 73.
138. C. F. Liu, *Inorg. Chem.*, **3** (1964) 680.
139. E. Ambach, W. Beck, *Z. Naturforsch.*, **B 40** (1985) 288.
140. D. Steinborn, O. Gravenhorst, H. Junicke, F. W. Heinemann, *Z. Naturforsch.*, **B 53** (1998) 581.
141. G. N. KaluderoVIC, G. A. Bogdanovic, T. J. Sabo, *J. Coord. Chem.*, **55** (2002) 817.
142. V. M. J. Dinovic, G. A. Bogdanovic, S. Novakovic, T. J. Sabo, *J. Coord. Chem.*, **57** (2004) 535.
143. N. N. Zheligovskaya, C. R. Shchelokova, L. V. Popov, V. I. Spitsyn, *Koord. Khim.*, **10** (1984) 107.
144. J. N. Jolley, A. I. Yanovsky, L. R. Kelland, K. B. Nolan, *J. Inorg. Biochem.*, **83** (2001) 91.
145. B. Krajčinović, G. N. Kaluđerović, D. Steinborn, H. Schmidt, C. Wagner, Ž. Žižak, Z. D. Juranić, S. R. Trifunović, T. J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.*, **102** (2008) 892.
146. G. N. Kaluđerović, V. M. Đinović, Z. D. Juranić, T. P. Stanojković, T. J. Sabo, *J. Inorg. Biochem.*, **99** (2005) 488.
147. J. M. Vujić, G. N. Kaluđerović, M. Milovanović, B. B. Zmejkovski, V. Volarević, D. Živić, P. M. Đurđević, N. Arsenijević, S. R. Trifunović, *Eur. J. Med. Chem.*, **46** (2011) 4559.
148. J. M. Vujić, *Doktorska disertacija*, 2012.
149. G. N. Kaluđerović, *Doktorska disertacija*, 2005.
150. K. Akdi, R. A. Vilaplana, S. Kamah, J. A. R. Navaro, J. M. Salas, F. González-Vilchez, *J. Inorg. Biochem.*, **90** (2002) 51.
151. M. J. Clarke, F. Zhu, D. R. Frasca, *Chem. Rev.*, **99** (1999) 2511.

152. R. Vilaplana-Serrano, M. G. Basallote, C. Ruiz, E. Gutierrez-Puebla, F. González-Vilchez, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, (1991) 100.
153. R. Vilaplana, M. A. Romero, M. Quirós, J. M. Salas, F. González-Vilchez, *Metal Based Drugs*, **1** (1995) 211.
154. F. González-Vilchez, R. Vilaplana, G. Blasco, L. Messori, *J. Inorg. Biochem.*, **71** (1998) 45.
155. F. González-Vilchez, R. Vilaplana, *Trends in Cancer Research*, E. Barbara (ed.) Viczaya UPV, (1986) 194.
156. N. A. Ezerskaya, T. P. Solovykh, O. N. Evstaf'eva, L. K. Shubochkin, N. K. Bel'Skii, *Zh. Neorg. Khim.*, **20** (1975) 1036.
157. S. R. Grgurić-Šipka, R. A. Vilaplana, J. M. Perez, M. A. Fuertes, C. Alonso, Y. Alvarez, T. J. Sabo, F. González-Vilchez, *J. Inorg. Biochem.*, **97** (2003) 215.
158. S. R. Grgurić-Šipka, *Doktorska disertacija*, 2003.
159. 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) 1884.
160. 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.
161. R.N. Keller, T. Moeller, *Inorg. Synth.*, **7** (1963) 247.
162. S. B. Jensen, S. J. Rodger, M. D. Spicer, *J. Organomet. Chem.*, **556** (1998) 151.
163. *SAINT-Plus*, version 7.06a and APEX2; Bruker-Nonius AXS Inc.: Madison, WI, 2004.
164. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr.*, **A64** (2008) 112.
165. M. N. Burnett, G. K. Johnson, ORTEPIII. Report ORNL-6895. OAK Ridge National Laboratory; Tennessee, USA, 1996.
166. T. T. Yang, P. Sinai, S. R. Kain, *Anal. Biochem.*, **241** (1996) 103.
167. N. Raičević, A. Mladenović, M. Perović, L. Harhaji, D. Miljković, V. Trajković, *Neuropharmacology*, **48** (2005) 720.
168. N. K. Banada, W. C. Satterfield, A. Dunlap, K. S. Steimer, R. Kurrie, T. H. Finkel, *Apoptosis*, **1** (1996) 49.

169. A. Savić, L. Filipović, S. Arandžević, B. Dojčinović, S. Radulović, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, 10.1016/j.ejmech.2014.05.060.
170. C. A. Vock, P. J. Dyson, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **663** (2007) 640.
171. H. Arslan, D. van. Derveer, I. Özdemir, N. Gürbüz, Y. Gök, B. Cetinkaya, *Acta Cryst.*, **E65** (2009) 111.
172. G. N. Kaludjerović, D. Miljković, M. Momčilović, V. M. Djinović, M. Mostarica Stojković, T. J. Sabo, V. Trajković, *Int. J. Cancer*, **116** (2005) 479.
173. X. Huang, H. D. Halicka, F. Traganos, T. Tanaka, A. Kurose, Z. Darzynkiewicz, *Cell Prolif.*, **38** (2005) 223.
174. J. M. Vujic, M. Cvijovic, G. N. Kaluderovic, M. Milovanovic, B. B. Zmekovski, V. Volarevic, N. Arsenijevic, T. J. Sabo, S. R. Trifunovic, *Eur. J. Med. Chem.*, **45** (2010) 3601.
175. W. C. Earnshaw, L. M. Martins, S. H. Kaufmann, *Annu. Rev. Biochem.*, **68** (1999) 383.

7. PRILOG

Slika P1. Infracrveni spektar liganda **L1**

Slika P2. Infracrveni spektar liganda **L2**

Slika P3. Infracrveni spektar liganda **L3**

Slika P4. Infracrveni spektar liganda **L4**

Slika P5. Infracrveni spektar liganda **L5**

Slika P6. Infracrveni spektar liganda **L6**

Slika P7. Infracrveni spektar liganda **L7**

Slika P8. Infracrveni spektar liganda **L8**

Slika P9. Infracrveni spektar kompleksa **K1**

Slika P10. Infracrveni spektar kompleksa **K2**

Slika P11. Infracrveni spektar kompleksa **K3**

Slika P12. Infracrveni spektar kompleksa **K4**

Slika P13. Infracrveni spektar kompleksa **K5**

Slika P14. Infracrveni spektar kompleksa **K6**

Slika P15. Infracrveni spektar kompleksa **K7**

Slika P16. Infracrveni spektar kompleksa **K8**

Slika P17. Infracrveni spektar kompleksa **K9**

Slika P18. Infracrveni spektar kompleksa **K10**

Slika P19. Infracrveni spektar kompleksa **K11**

Slika P20. ^1H NMR spektar liganda **L1**, sniman u TFA

Slika P21. ^1H NMR spektar liganda **L1**, sniman u DMSO

Slika P22. ^1H NMR spektar liganda **L2**, sniman u TFA

Slika P23. ^1H NMR spektar liganda **L2**, sniman u DMSO

Slika P24. ^1H NMR spektar liganda **L3**, sniman u TFA

Slika P25. ^1H NMR spektar liganda **L3**, sniman u DMSO

Slika P26. ^1H NMR spektar liganda **L4**, sniman u TFA

Slika P27. ^1H NMR spektar liganda **L5**, sniman u TFA

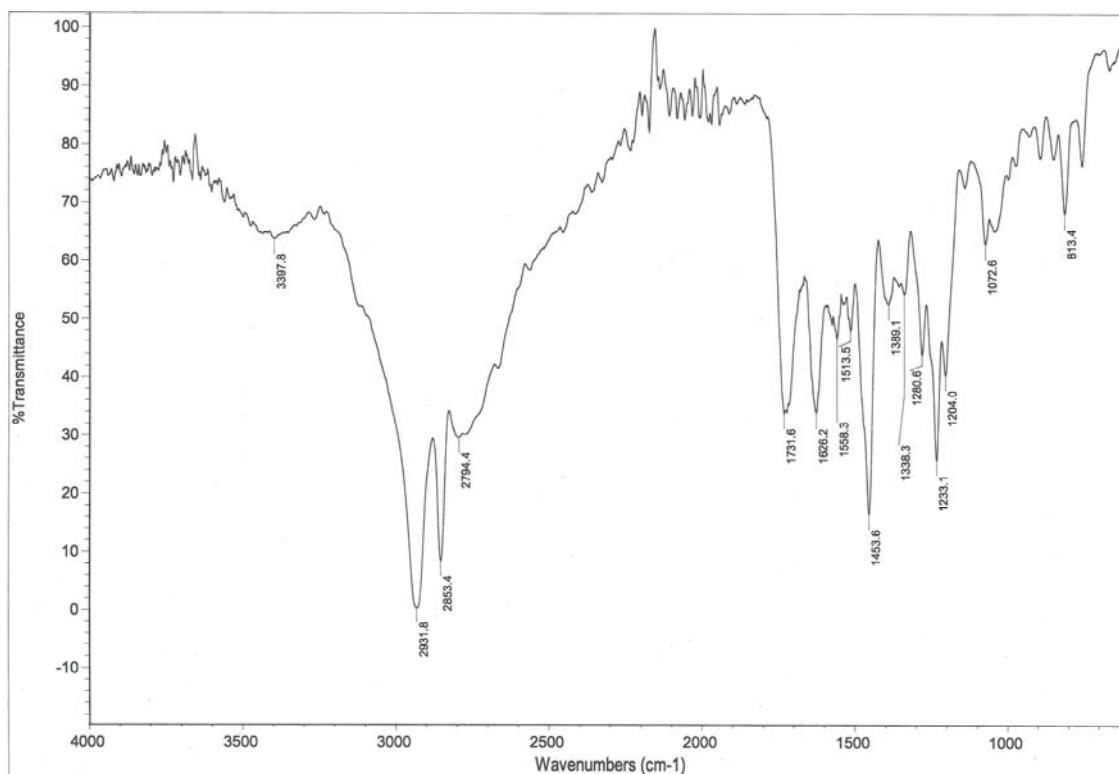
Slika P28. ^1H NMR spektar liganda **L6**, sniman u TFA

Slika P29. ^1H NMR spektar liganda **L7**, sniman u TFA

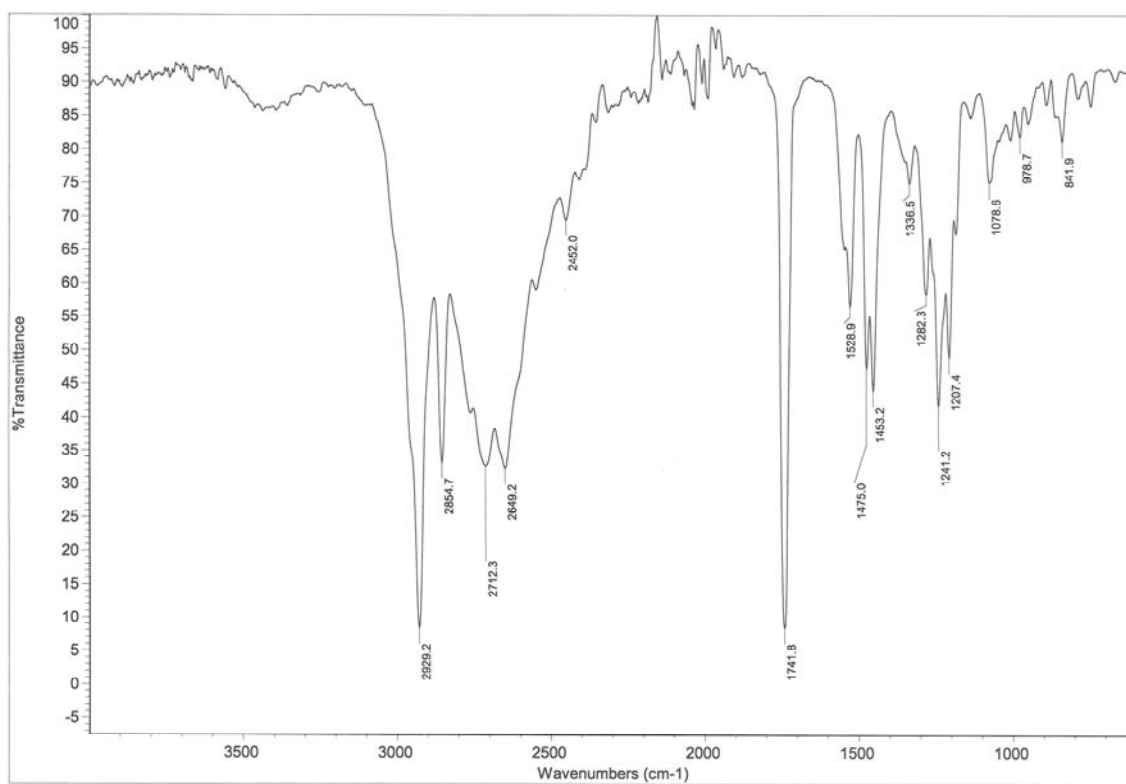
Slika P30. ^1H NMR spektar liganda **L8**, sniman u TFA

Slika P31. ^1H NMR spektar kompleksa **K1**, sniman u CDCl_3
Slika P32. ^1H NMR spektar kompleksa **K2**, sniman u CDCl_3
Slika P33. ^1H NMR spektar kompleksa **K3**, sniman u CDCl_3
Slika P34. ^1H NMR spektar kompleksa **K4**, sniman u CDCl_3
Slika P35. ^1H NMR spektar kompleksa **K5**, sniman u CDCl_3
Slika P36. ^1H NMR spektar kompleksa **K6**, sniman u DMSO
Slika P37. ^1H NMR spektar kompleksa **K7**, sniman u DMSO
Slika P38. ^1H NMR spektar kompleksa **K8**, sniman u DMSO
Slika P39. ^1H NMR spektar kompleksa **K9**, sniman u DMSO
Slika P40. ^1H NMR spektar kompleksa **K10**, sniman u DMSO
Slika P41. ^1H NMR spektar kompleksa **K11**, sniman u DMSO
Slika P42. ^{13}C NMR spektar liganda **L1**, sniman u TFA
Slika P43. ^{13}C NMR spektar liganda **L2**, sniman u TFA
Slika P44. ^{13}C NMR spektar liganda **L3**, sniman u TFA
Slika P45. ^{13}C NMR spektar liganda **L4**, sniman u TFA
Slika P46. ^{13}C NMR spektar liganda **L5**, sniman u TFA
Slika P47. ^{13}C NMR spektar liganda **L6**, sniman u TFA
Slika P48. ^{13}C NMR spektar liganda **L7**, sniman u TFA
Slika P49. ^{13}C NMR spektar liganda **L8**, sniman u TFA
Slika P50. ^{13}C NMR spektar liganda **K1**, sniman u CDCl_3
Slika P51. ^{13}C NMR spektar liganda **K2**, sniman u CDCl_3
Slika P52. ^{13}C NMR spektar liganda **K3**, sniman u CDCl_3
Slika P53. ^{13}C NMR spektar liganda **K4**, sniman u CDCl_3
Slika P54. ^{13}C NMR spektar liganda **K5**, sniman u CDCl_3
Slika P55. ^{13}C NMR spektar liganda **K6**, sniman u DMSO
Slika P56. ^{13}C NMR spektar liganda **K7**, sniman u DMSO
Slika P57. ^{13}C NMR spektar liganda **K8**, sniman u DMSO
Slika P58. ^{13}C NMR spektar liganda **K9**, sniman u DMSO
Slika P59. ^{13}C NMR spektar liganda **K10**, sniman u DMSO
Slika P60. ^{13}C NMR spektar liganda **K11**, sniman u DMSO
Slika P61. HSQC spektar liganda **L1**, sniman u TFA
Slika P62. HSQC spektar liganda **L2**, sniman u TFA

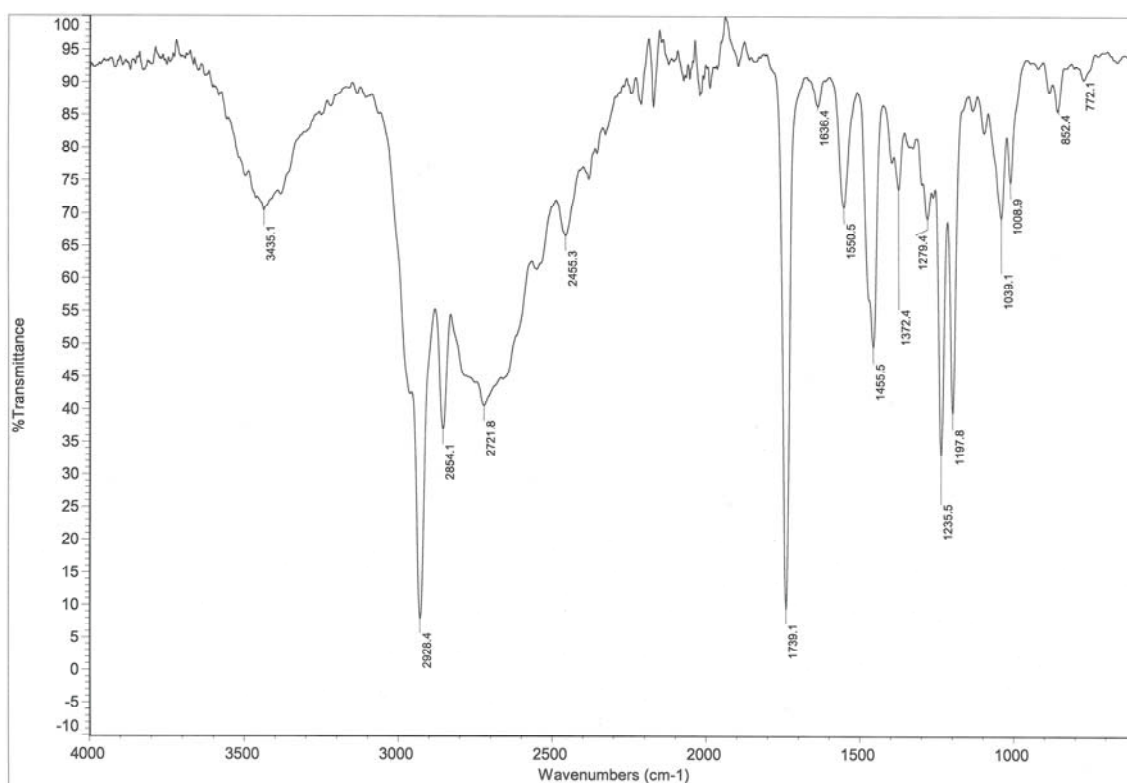
- Slika P63.** HSQC spektar liganda **L4**, sniman u TFA
- Slika P64.** HSQC spektar liganda **L5**, sniman u TFA
- Slika P65.** HSQC spektar liganda **L6**, sniman u TFA
- Slika P66.** HSQC spektar liganda **L7**, sniman u TFA
- Slika P67.** HSQC spektar liganda **L8**, sniman u TFA
- Slika P68.** HSQC spektar kompleksa **K3**, sniman u CDCl_3
- Slika P69.** HSQC spektar kompleksa **K4**, sniman u CDCl_3
- Slika P70.** NOESY spektar kompleksa **K4**, sniman u CDCl_3
- Slika P71.** Maseni spektar liganda **L1**
- Slika P72.** Maseni spektar liganda **L2**
- Slika P73.** Maseni spektar liganda **L3**
- Slika P74.** Maseni spektar liganda **L4**
- Slika P75.** Maseni spektar liganda **L5**
- Slika P76.** Maseni spektar liganda **L6**
- Slika P77.** Maseni spektar liganda **L7**
- Slika P78.** Maseni spektar liganda **L8**
- Slika P79.** Maseni spektar kompleksa **K1**
- Slika P80.** Maseni spektar kompleksa **K2**
- Slika P81.** Maseni spektar kompleksa **K3**
- Slika P82.** Maseni spektar kompleksa **K4**
- Slika P83.** Maseni spektar kompleksa **K5**
- Slika P84.** Maseni spektar kompleksa **K6**
- Slika P85.** Maseni spektar kompleksa **K7**
- Slika P86.** Maseni spektar kompleksa **K8**
- Slika P87.** Maseni spektar kompleksa **K9**
- Slika P88.** Maseni spektar kompleksa **K10**
- Slika P89.** Maseni spektar kompleksa **K11**
- Slika P90.** Maseni spektar lizozima tretiranog kompleksom **K10**



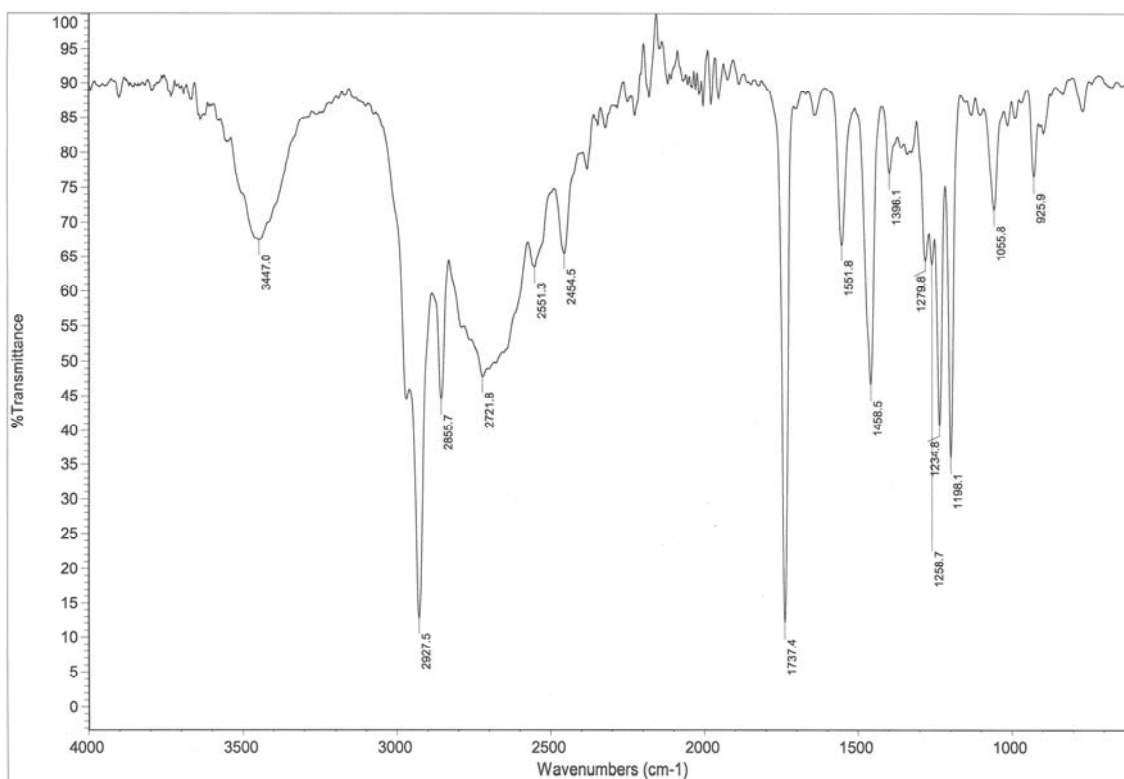
Slika P1. Infracrveni spektar liganda L1.



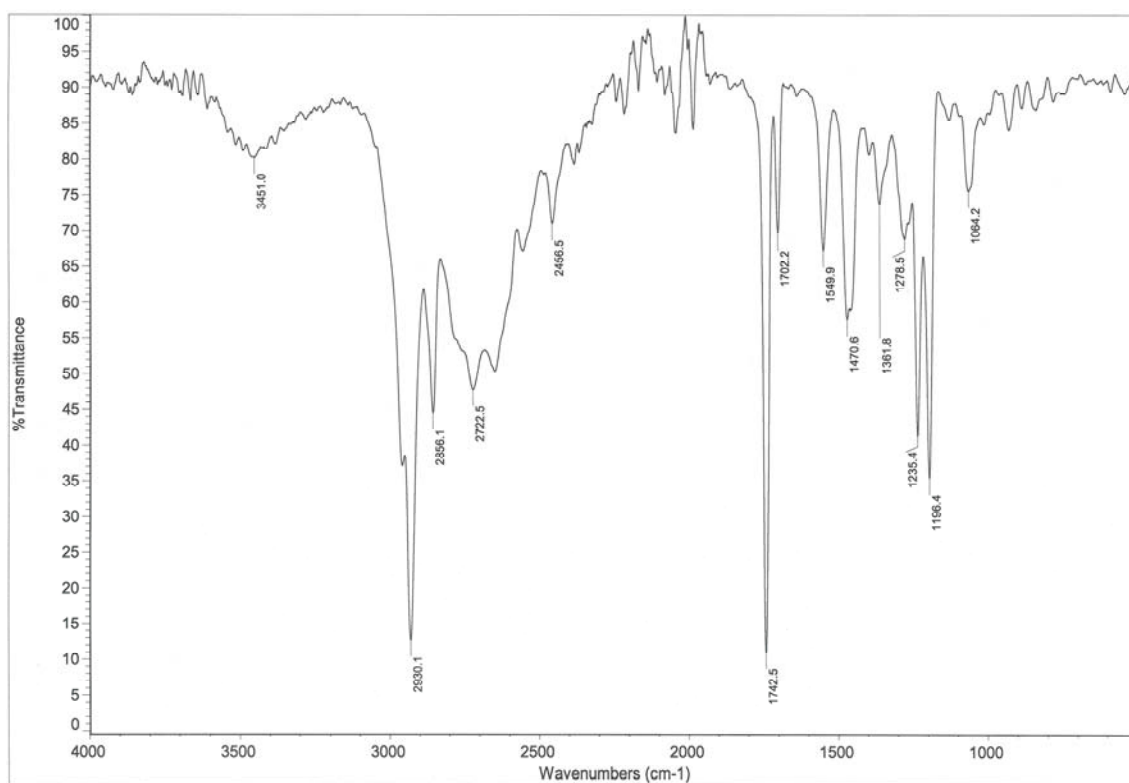
Slika P2. Infracrveni spektar liganda L2.



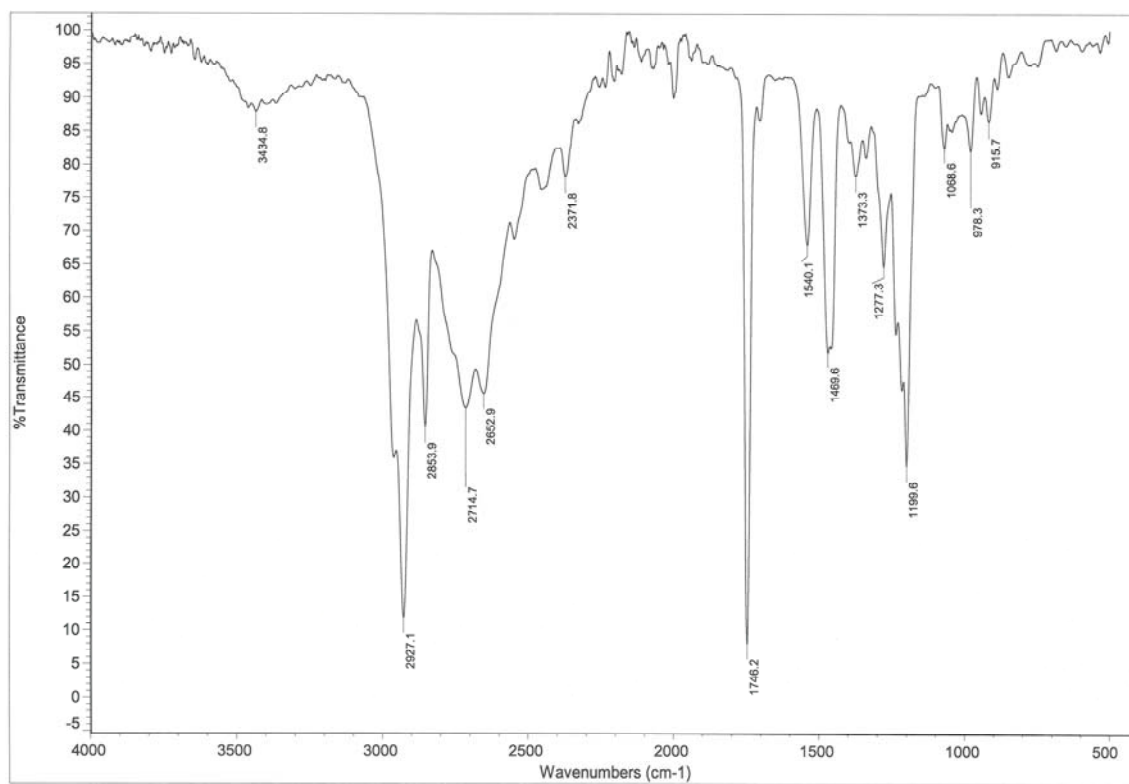
Slika P3. Infracrveni spektar liganda L3.



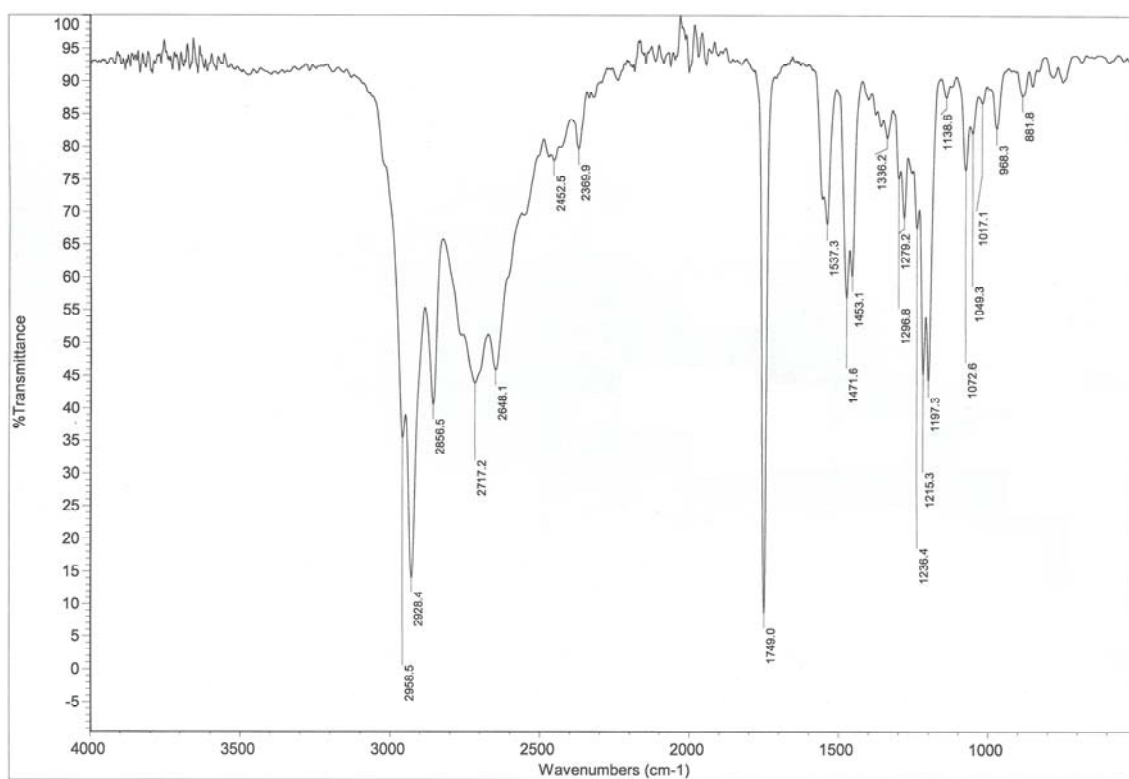
Slika P4. Infracrveni spektar liganda L4.



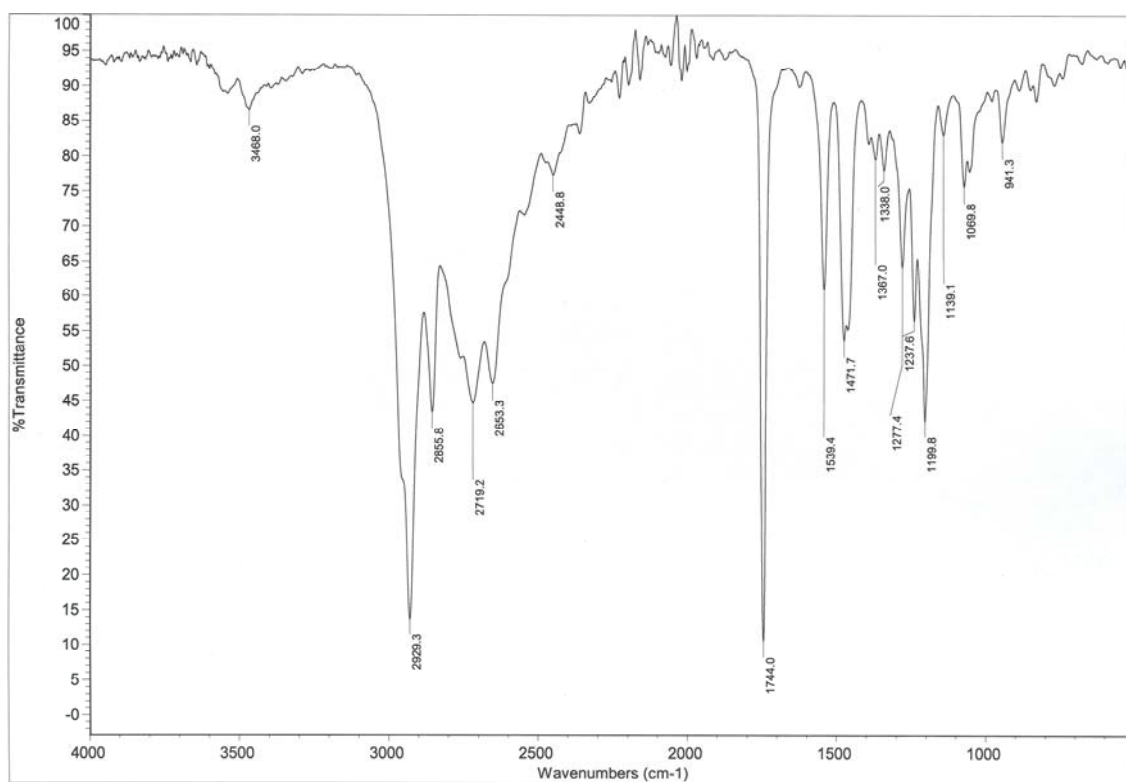
Slika P5. Infracrveni spektar liganda L5.



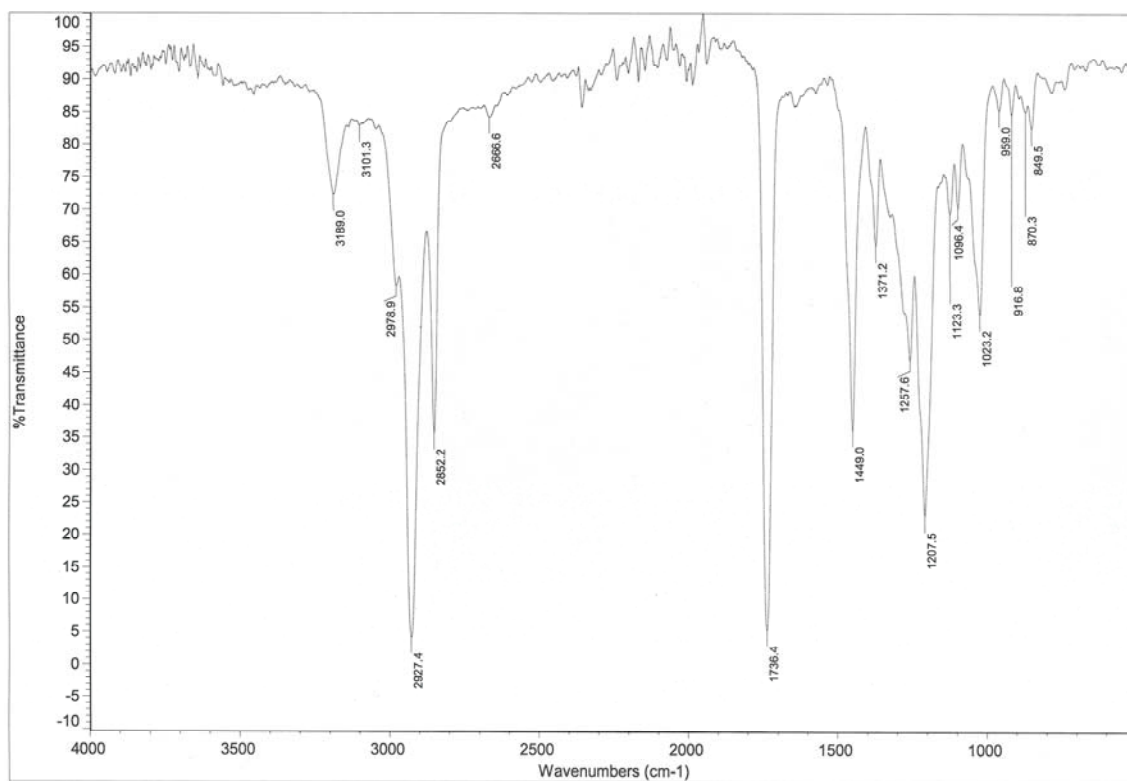
Slika P6. Infracrveni spektar liganda L6.



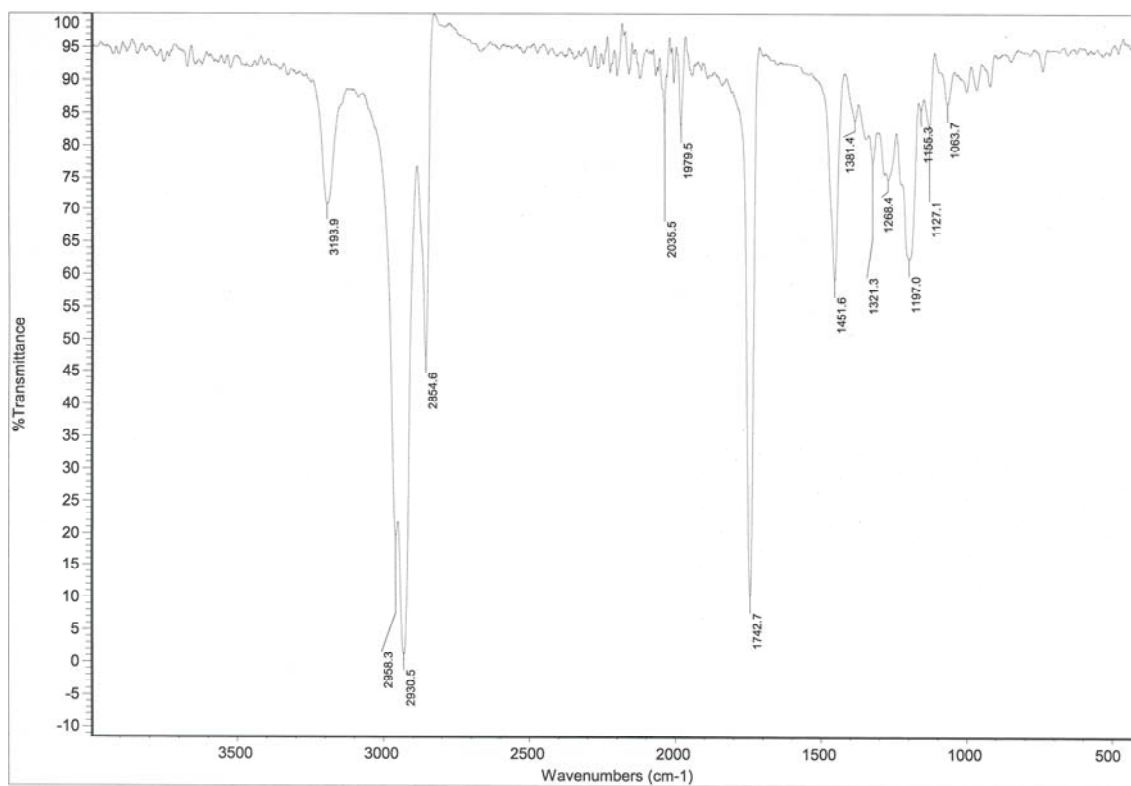
Slika P7. Infracrveni spektar L7.



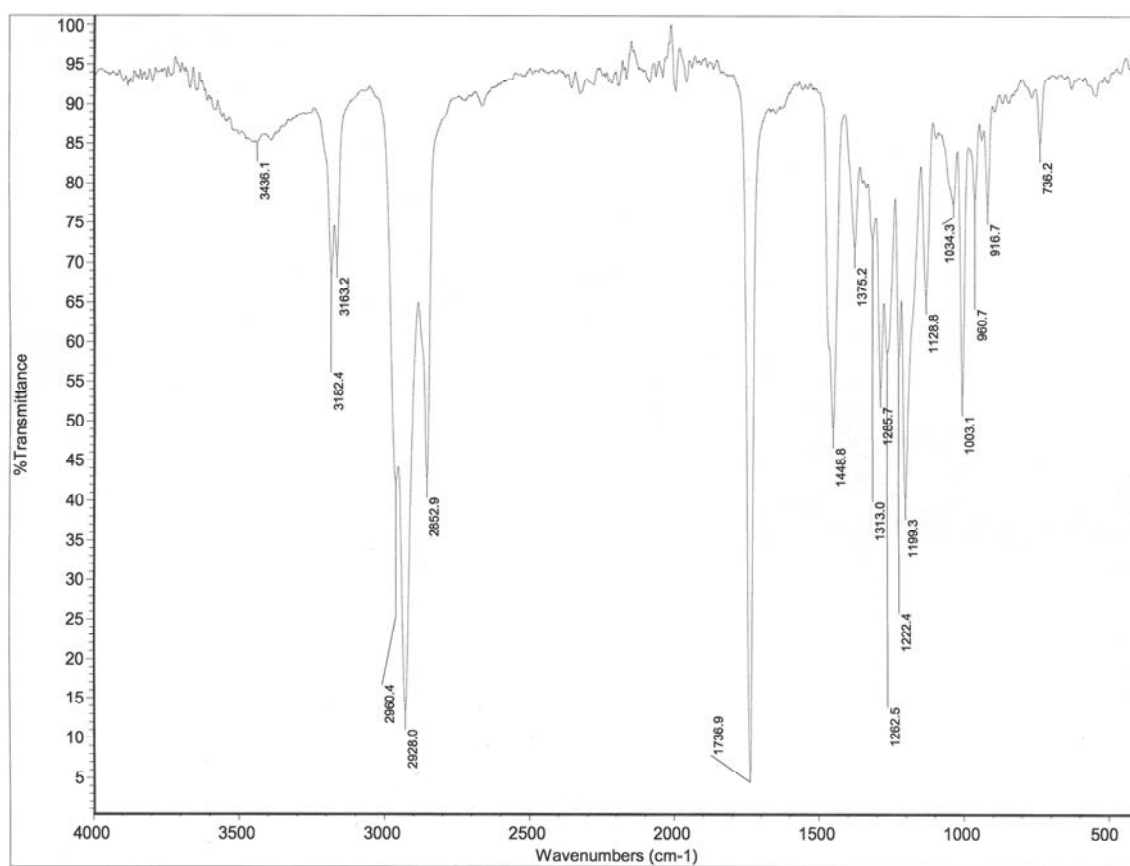
Slika P8. Infracrveni spektar liganda L8.



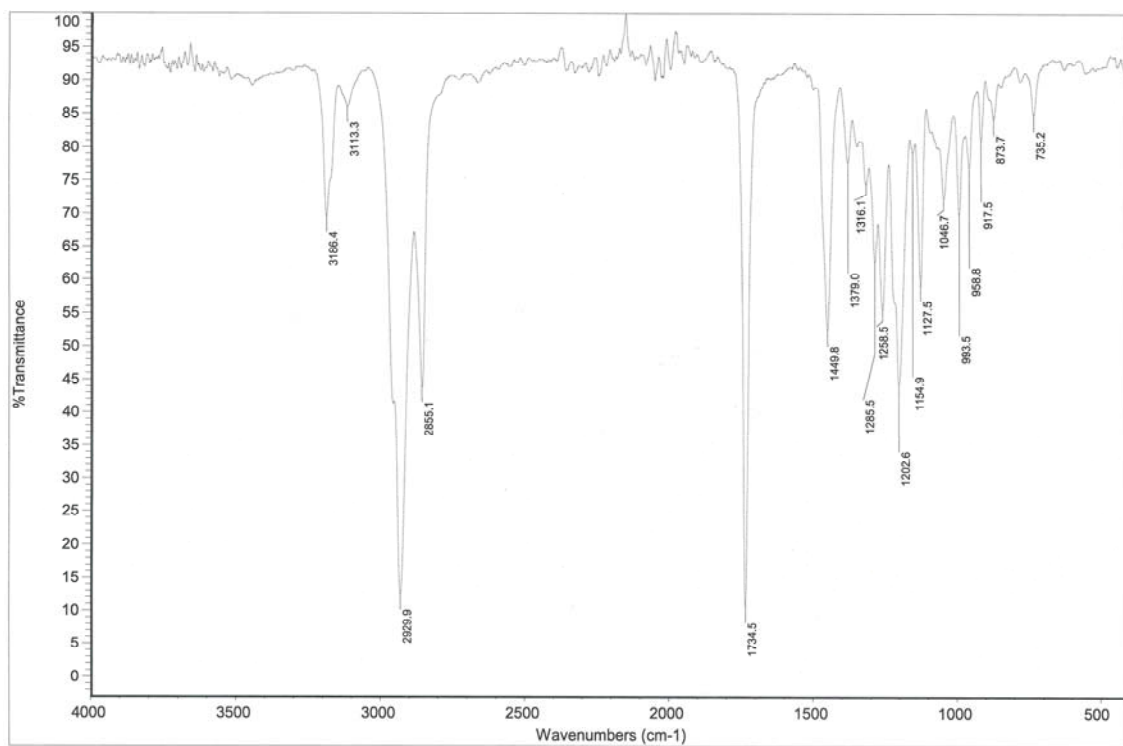
Slika P9. Infracrveni spektar kompleksa K1.



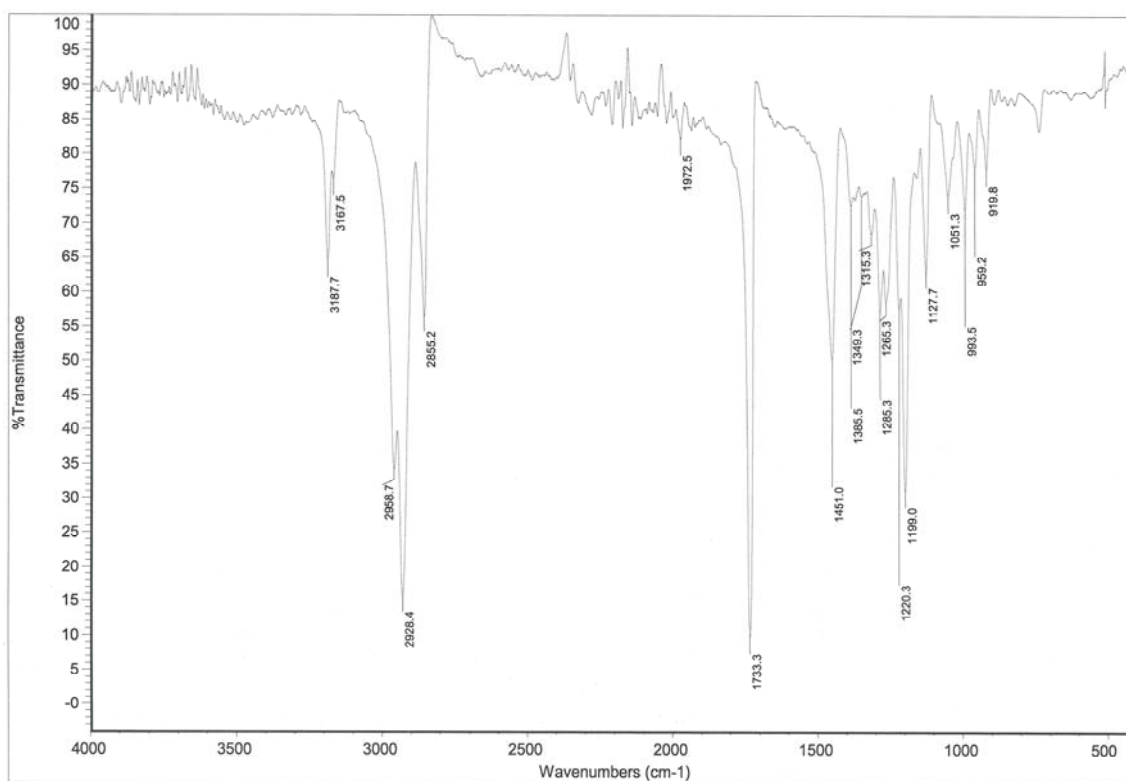
Slika P10. Infracrveni spektar kompleksa K2.



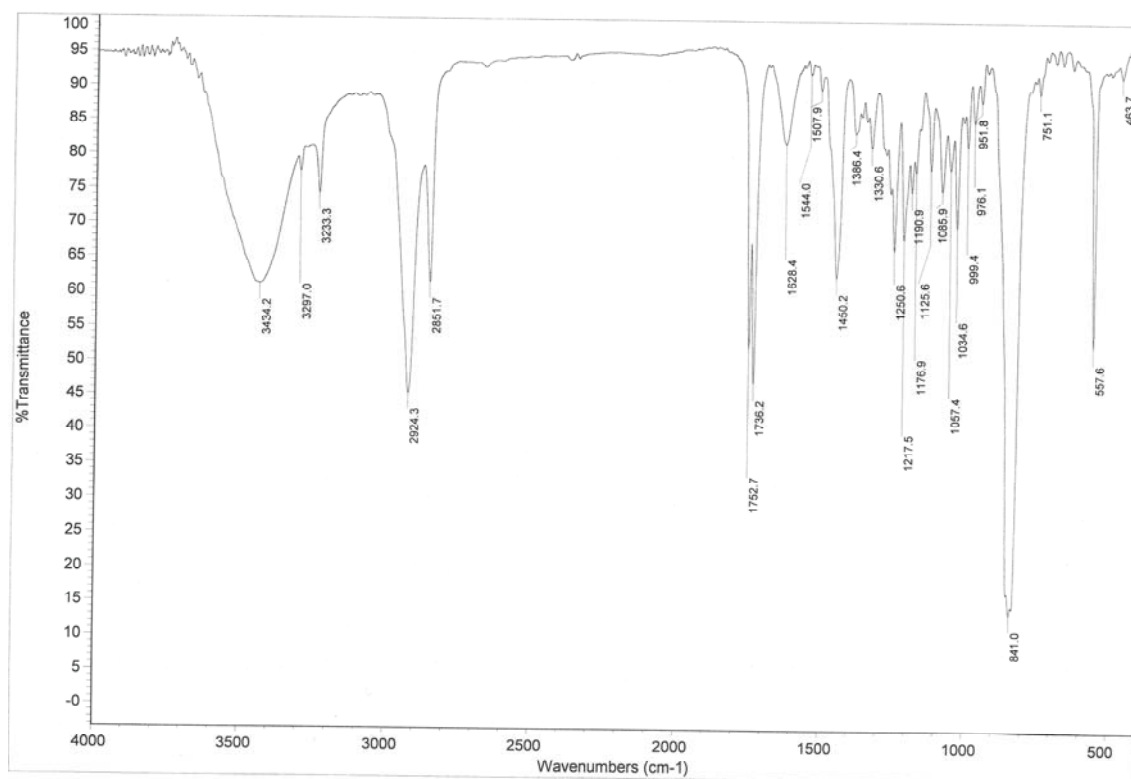
Slika P11. Infracrveni spektar kompleksa K3.



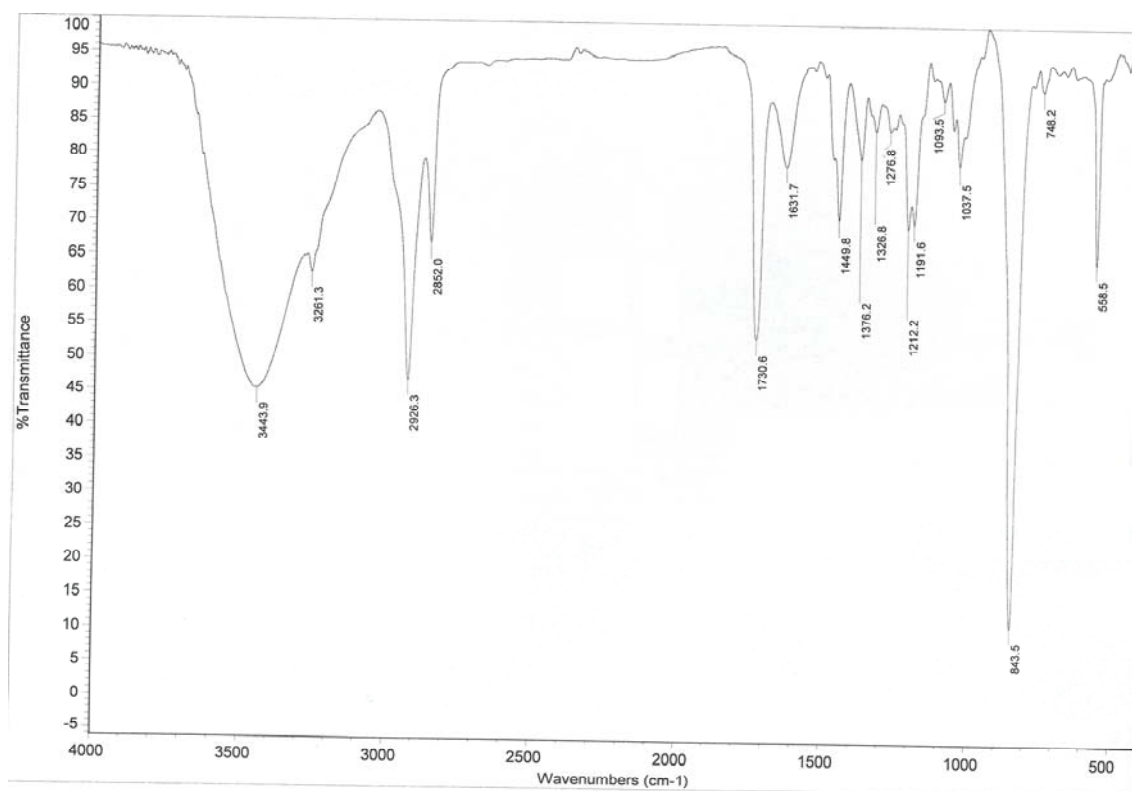
Slika P12. Infracrveni spektar kompleksa K4.



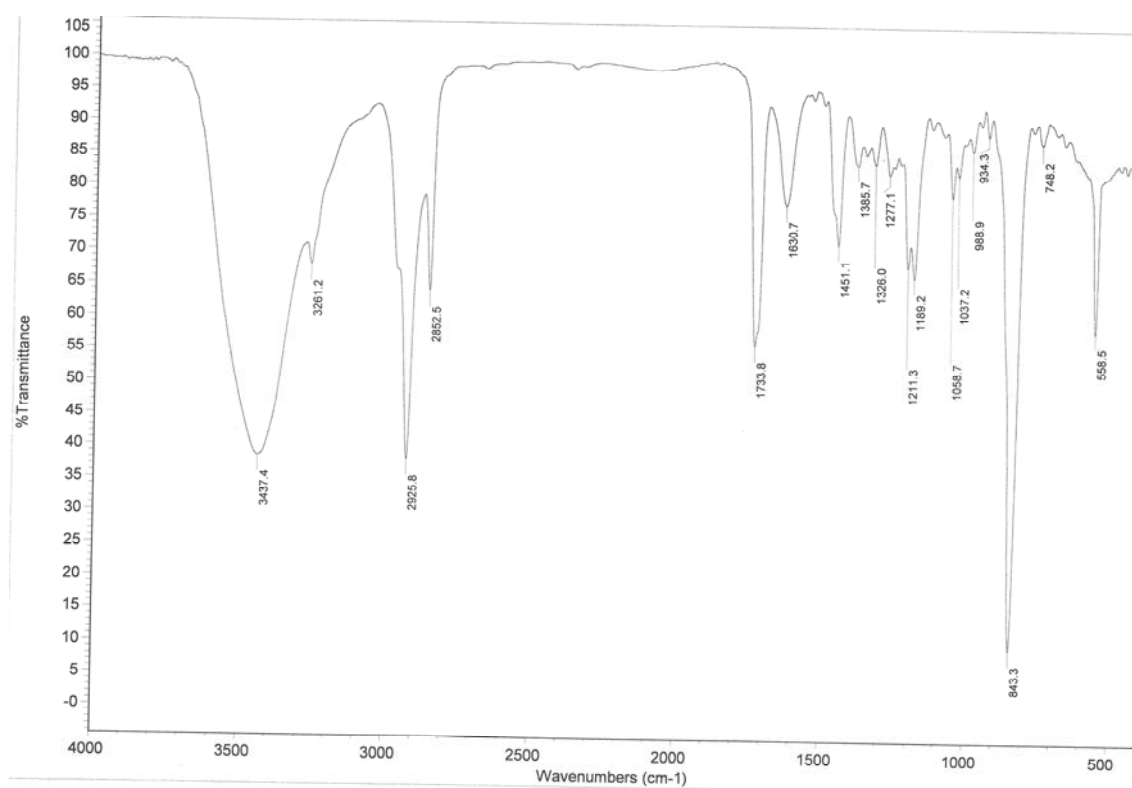
Slika P13. Infracrveni spektar kompleksa K5.



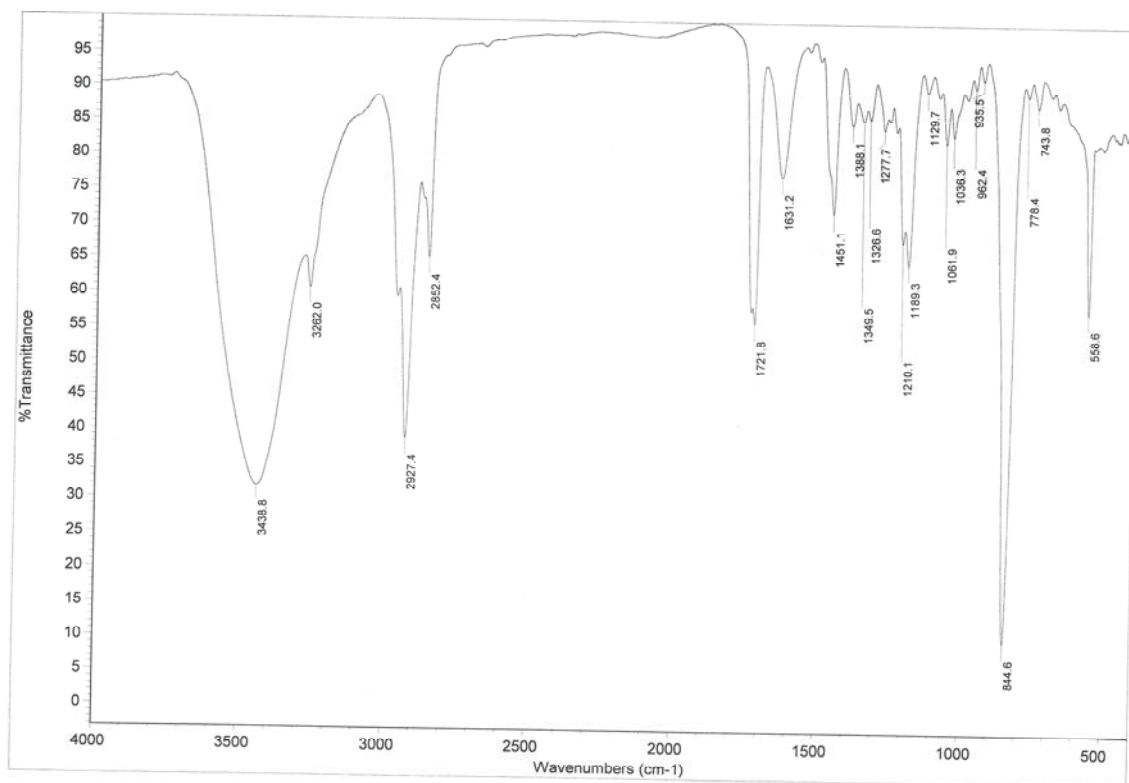
Slika P14. Infracrveni spektar kompleksa K6.



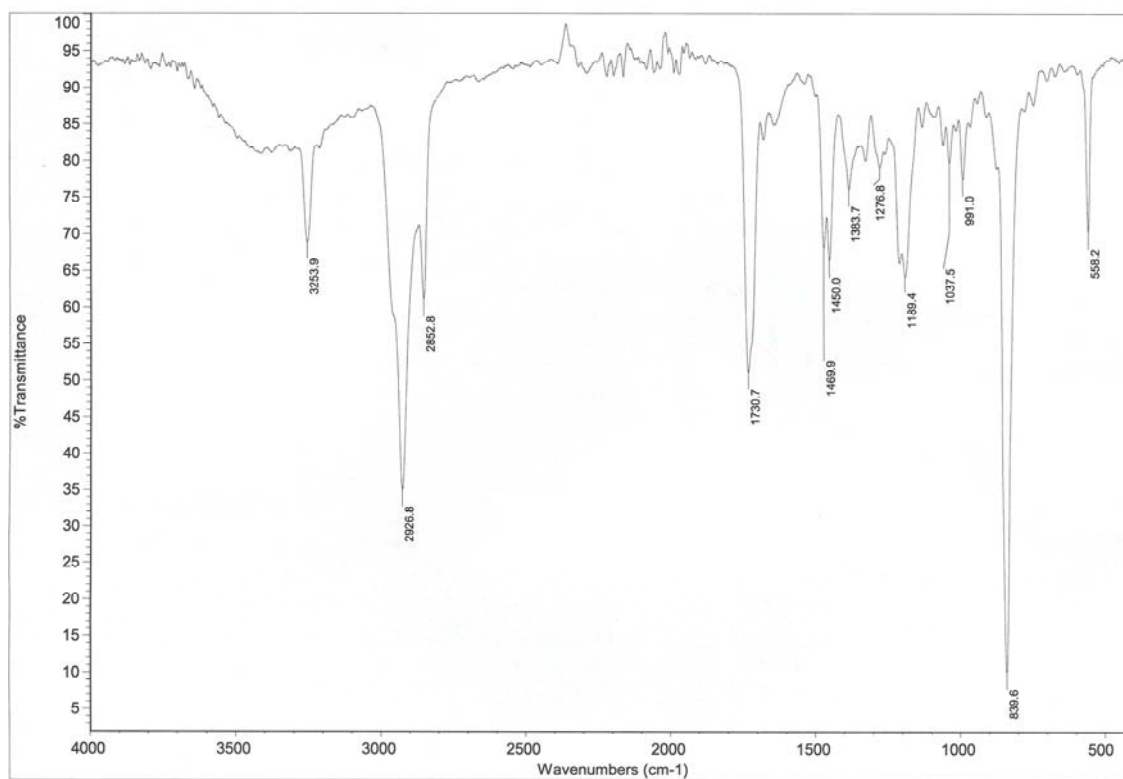
Slika P15. Infracrveni spektar kompleksa K7.



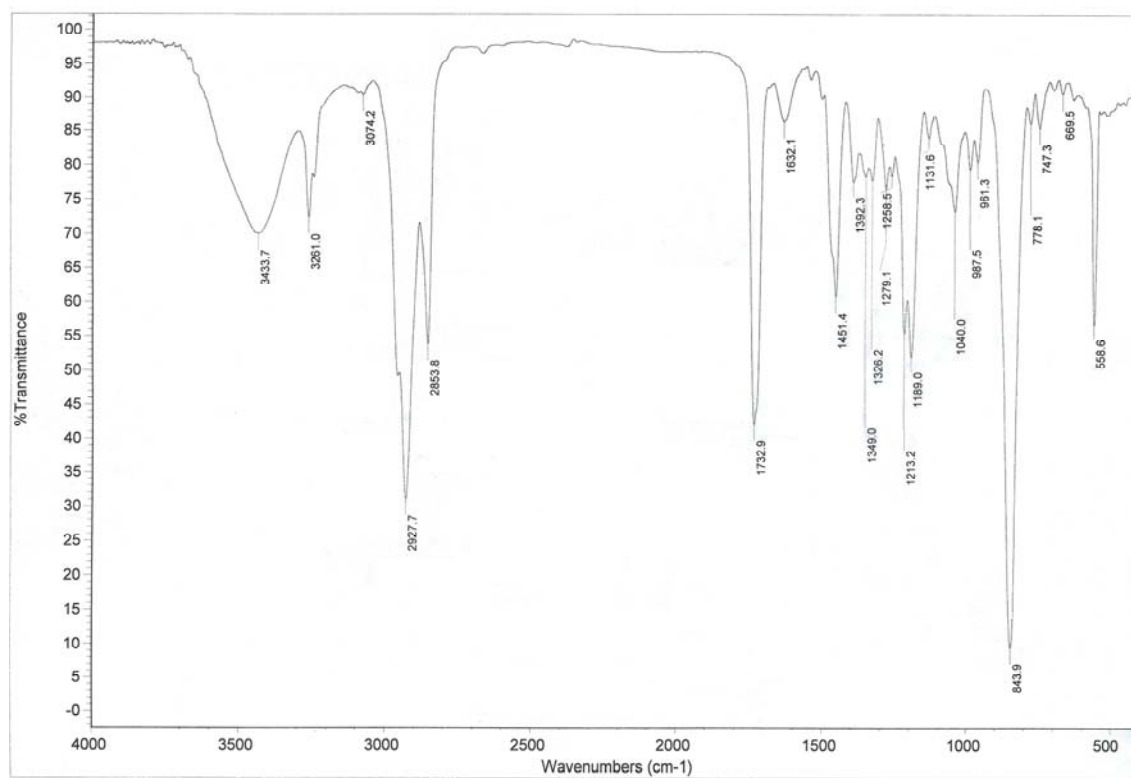
Slika P16. Infracrveni spektar kompleksa K8.



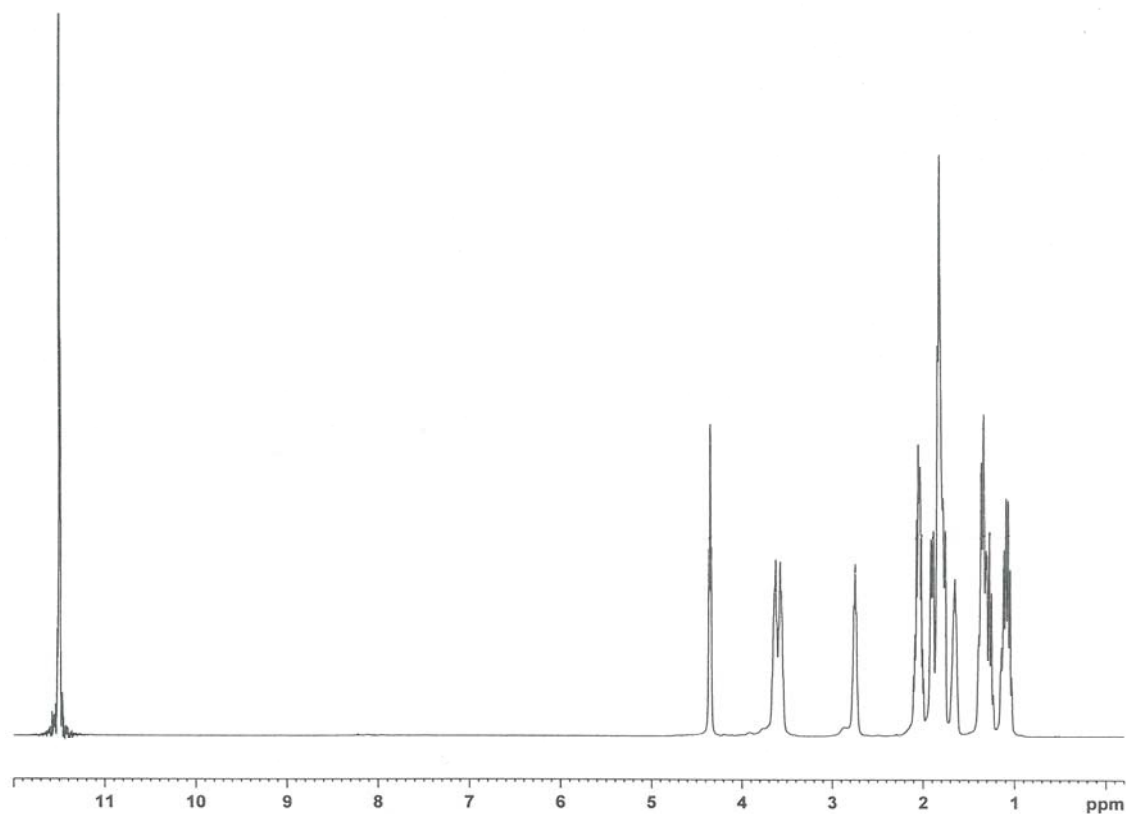
Slika P17. Infracrveni spektar kompleksa K9.



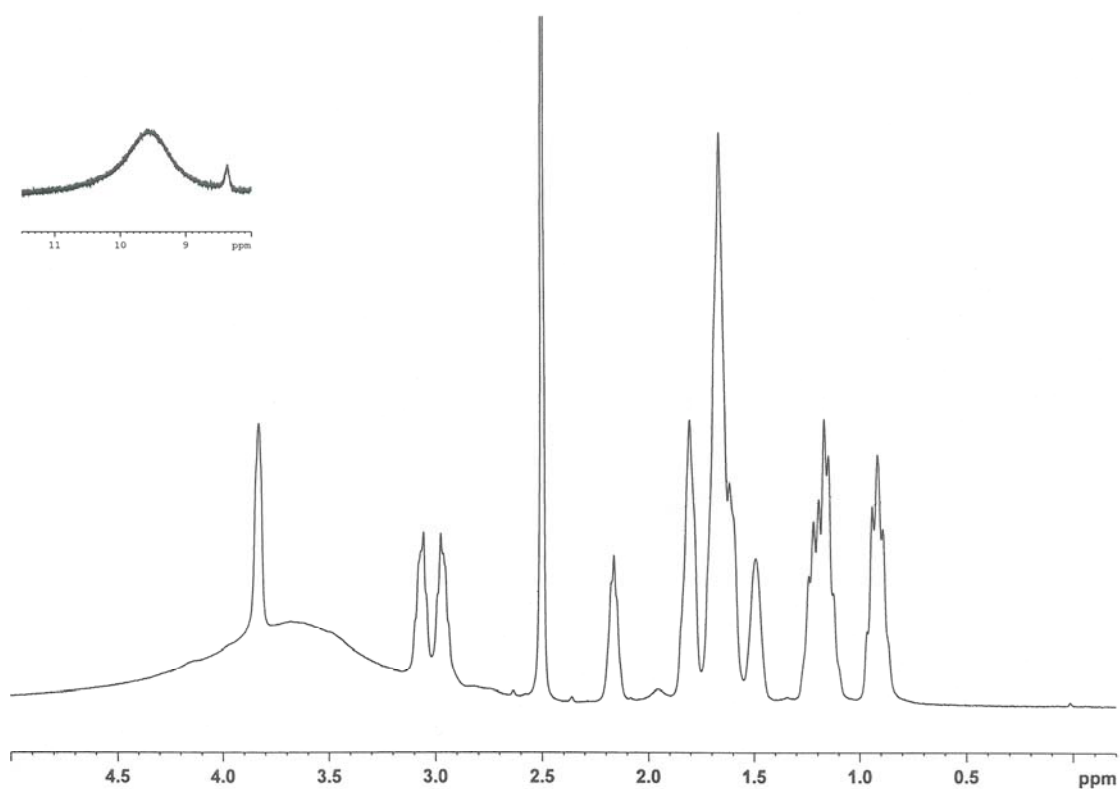
Slika P18. Infracrveni spektar kompleksa K10.



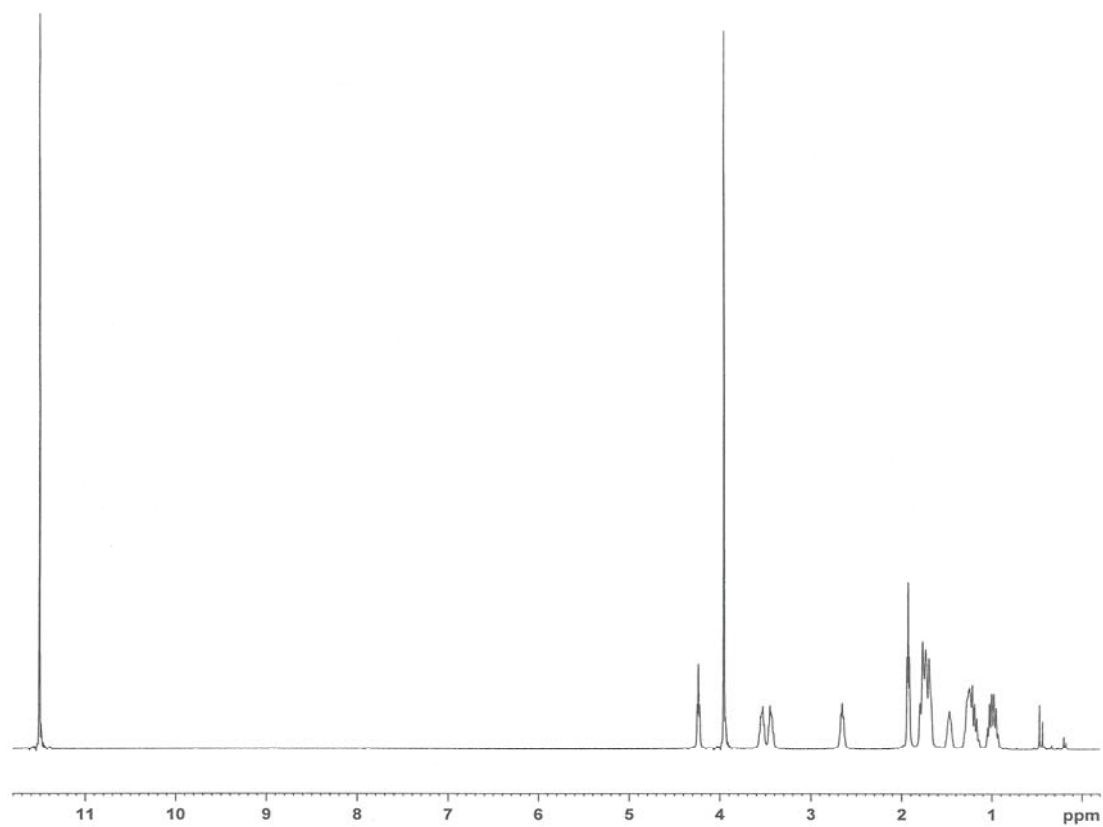
Slika P19. Infracrveni spektar kompleksa K11.



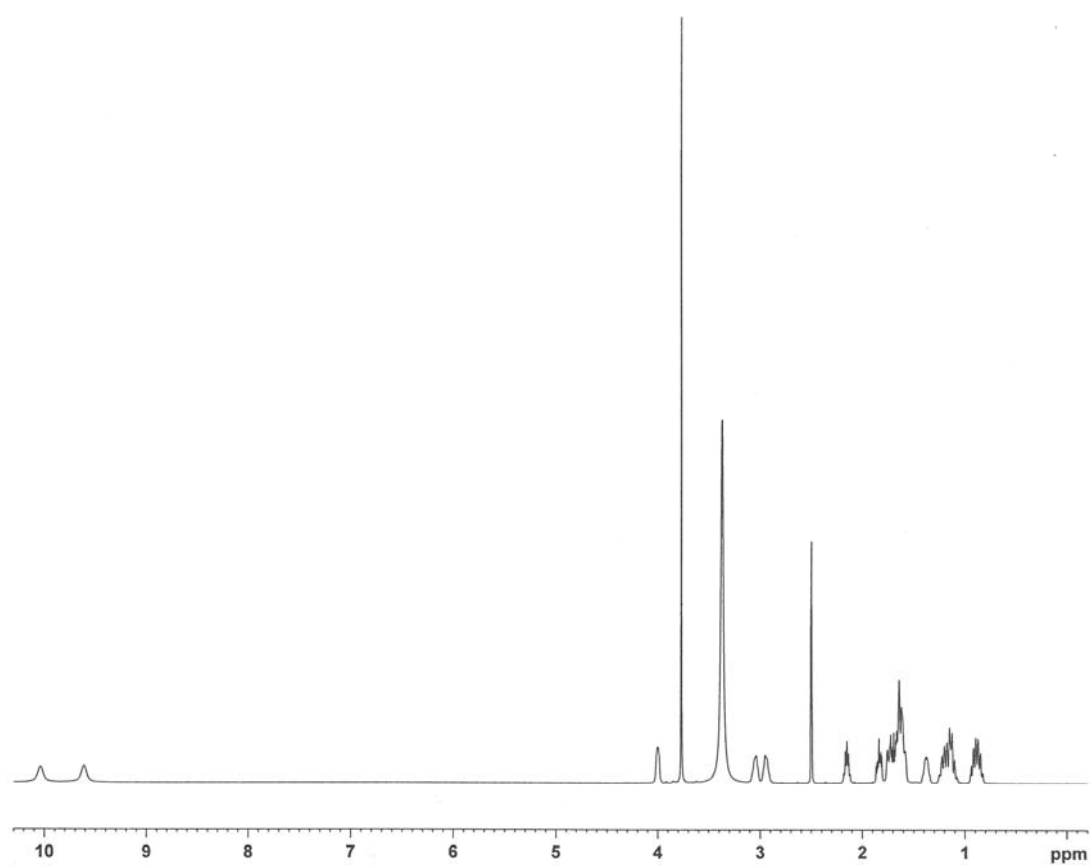
Slika P20. ¹H NMR spektar liganda L1, sniman u TFA.



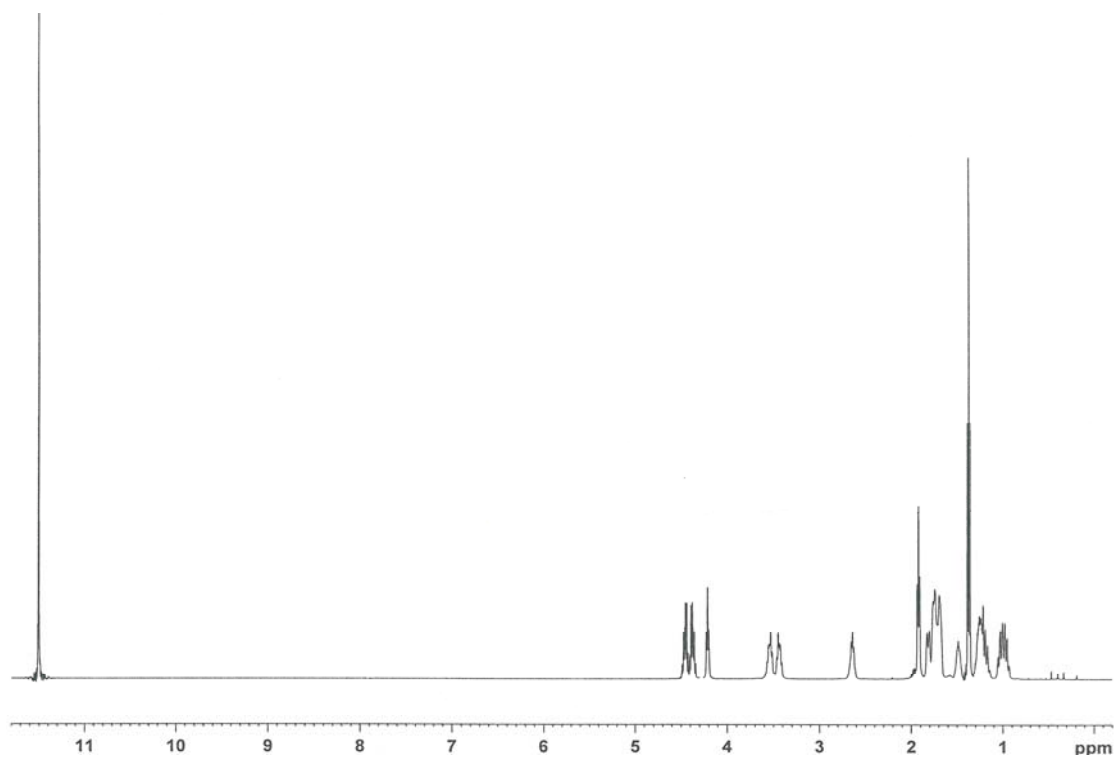
Slika P21. ^1H NMR spektar liganda **L1**, sniman u DMSO.



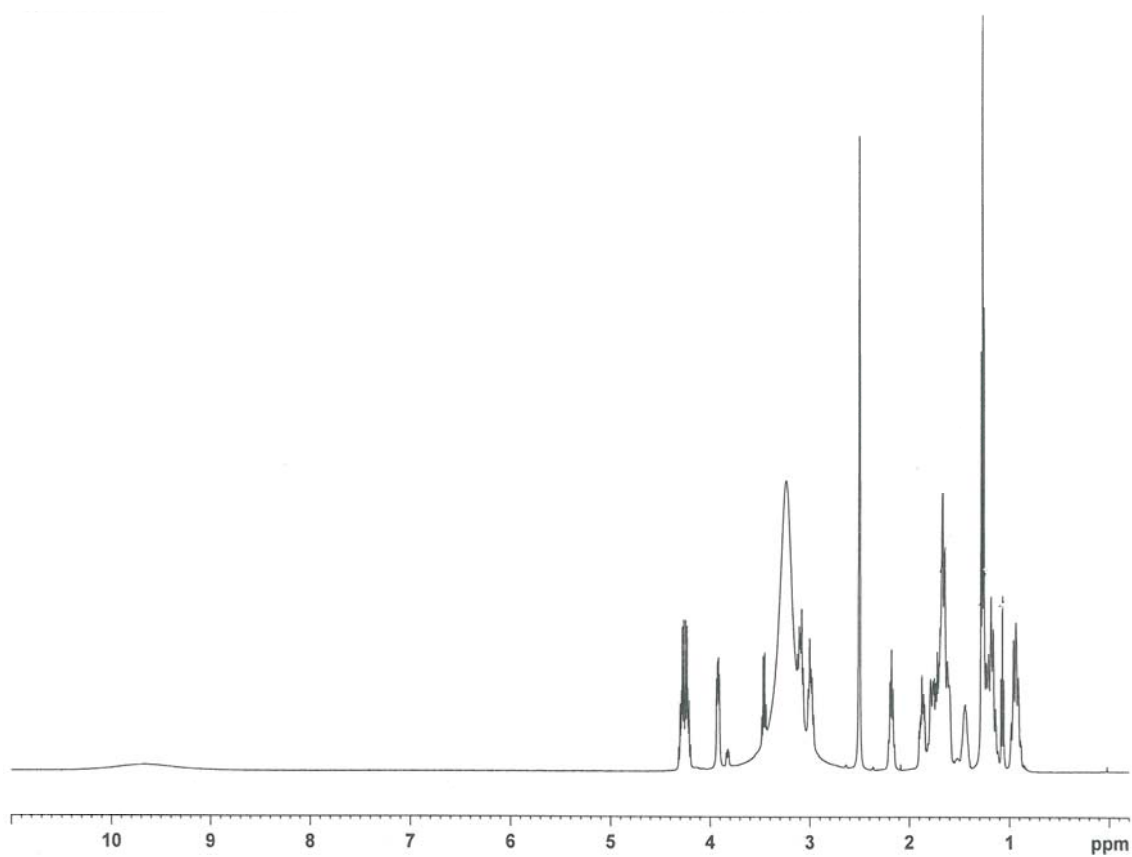
Slika P22. ^1H NMR spektar liganda **L2**, sniman u TFA.



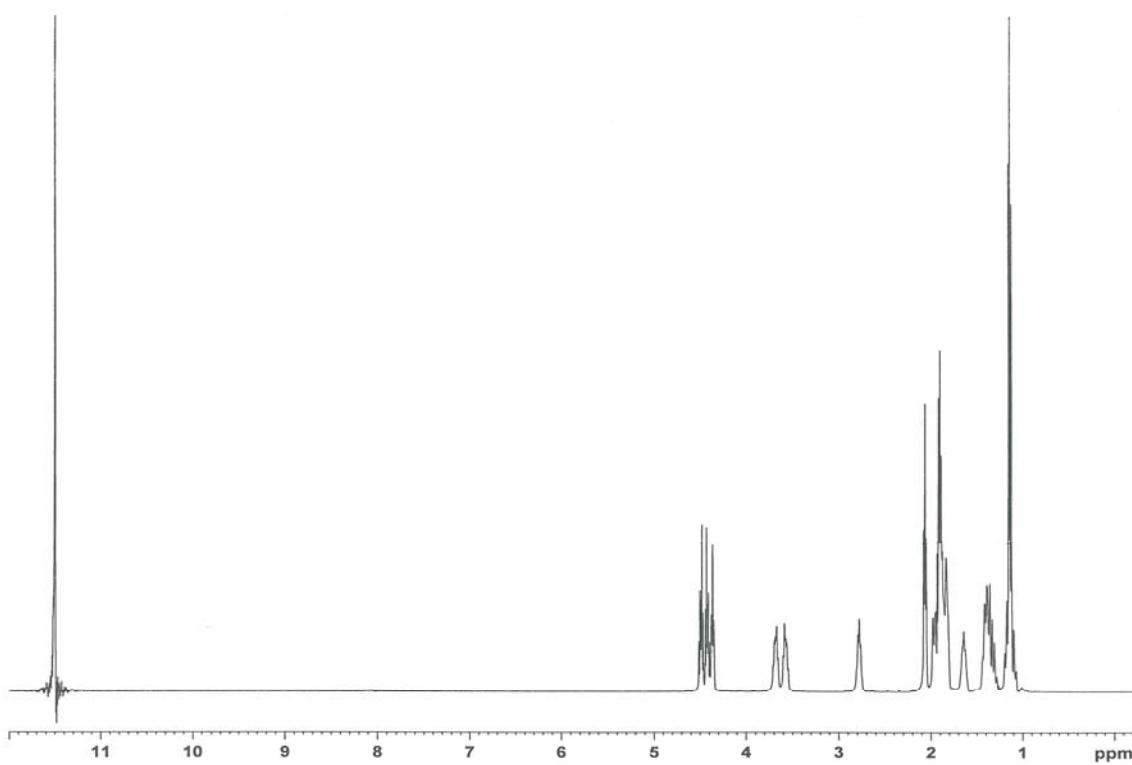
Slika P23. ^1H NMR spektar liganda **L2**, sniman u DMSO.



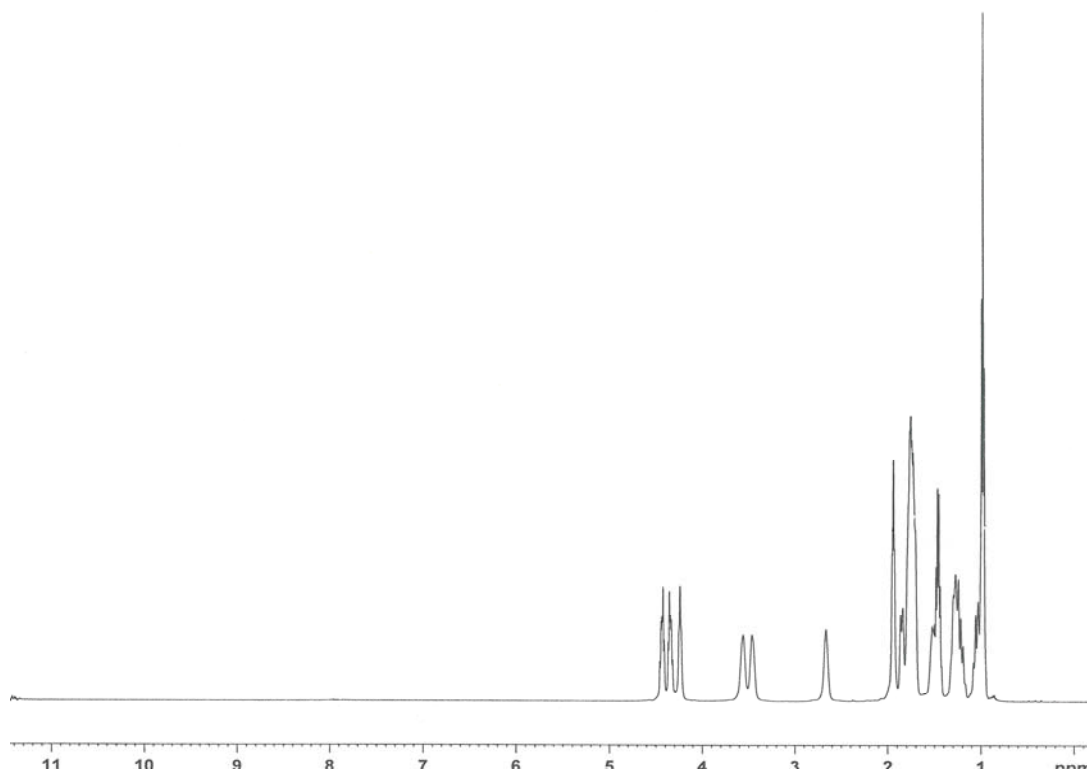
Slika P24. ^1H NMR spektar liganda **L3**, sniman u TFA.



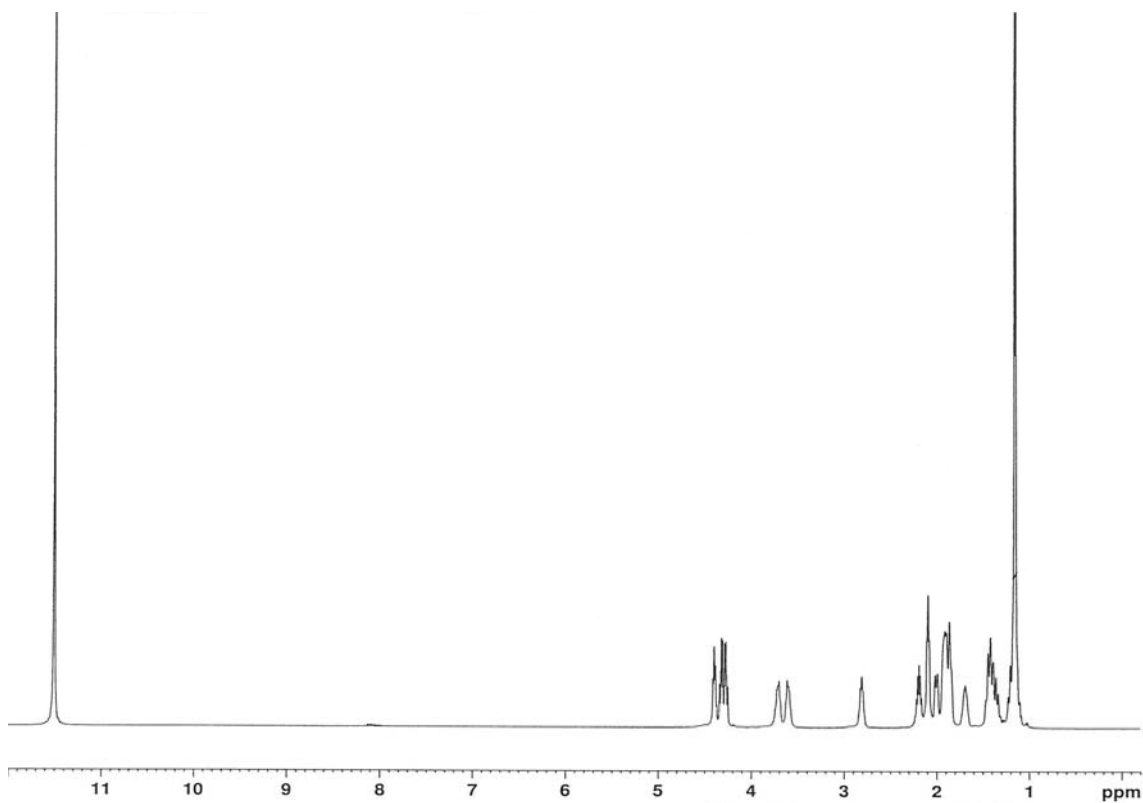
Slika P25. ^1H NMR spektar liganda **L3**, sniman u DMSO.



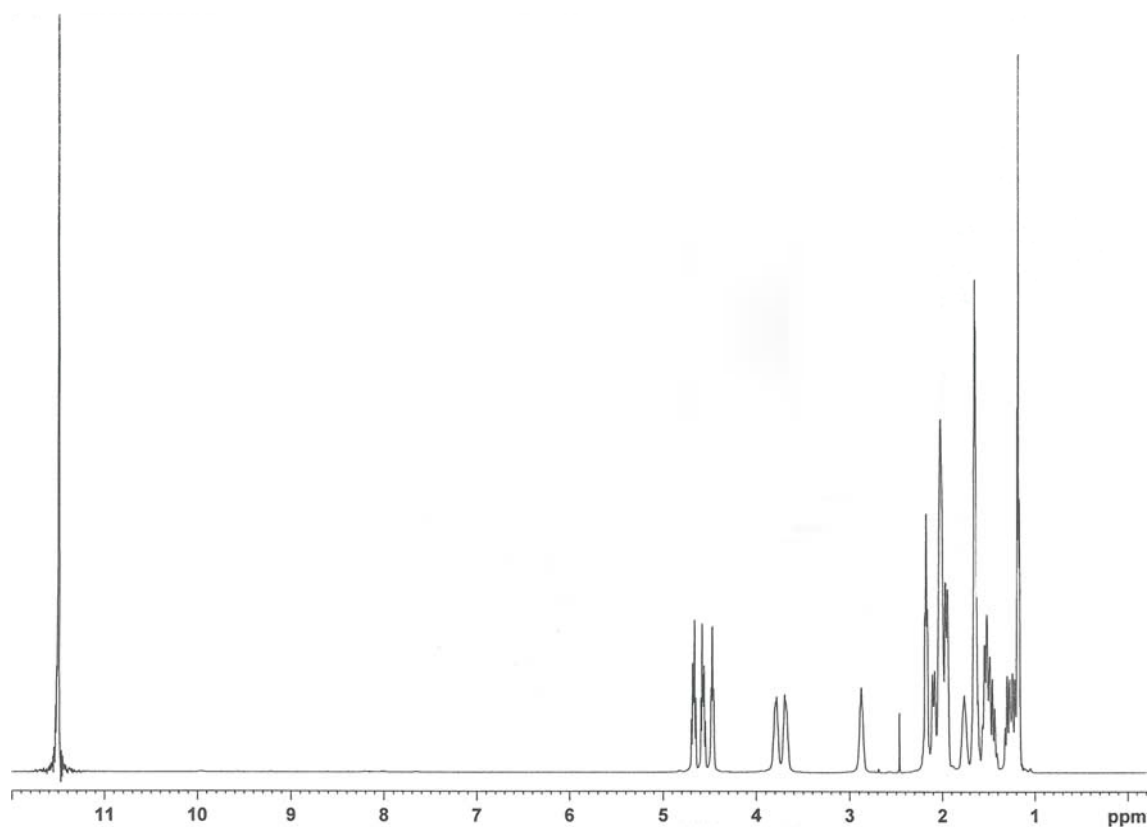
Slika P26. ^1H NMR spektar liganda **L4**, sniman u TFA.



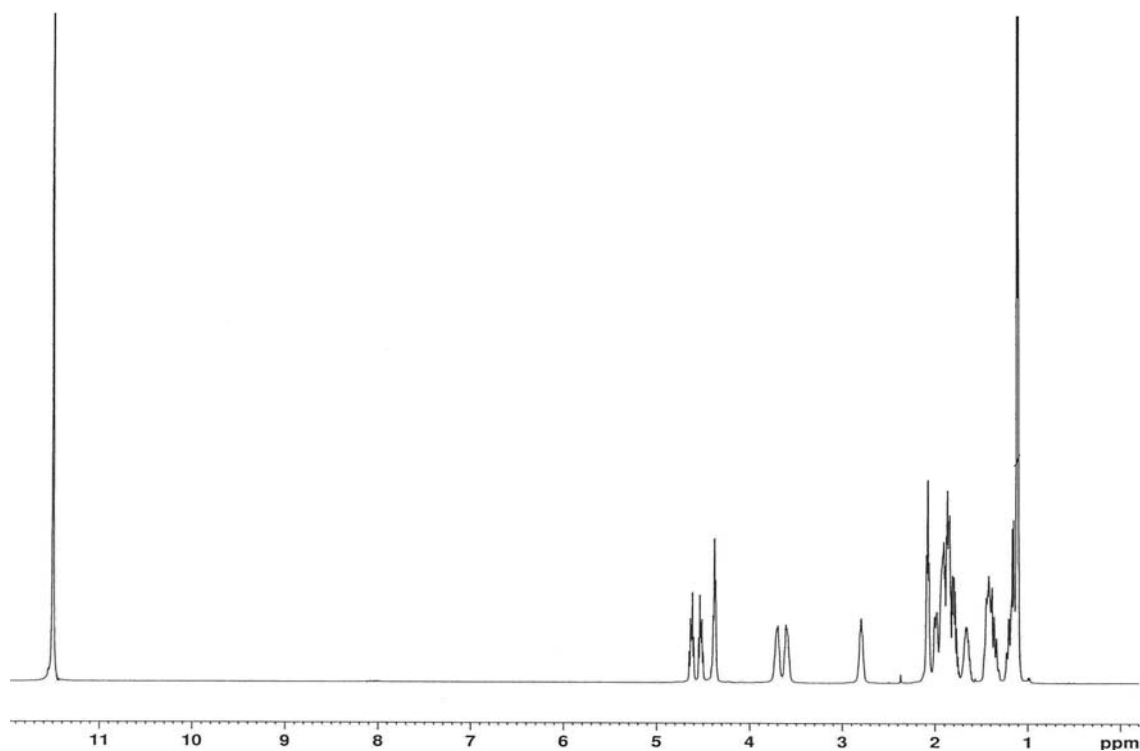
Slika P27. ^1H NMR spektar liganda L5, sniman u TFA.



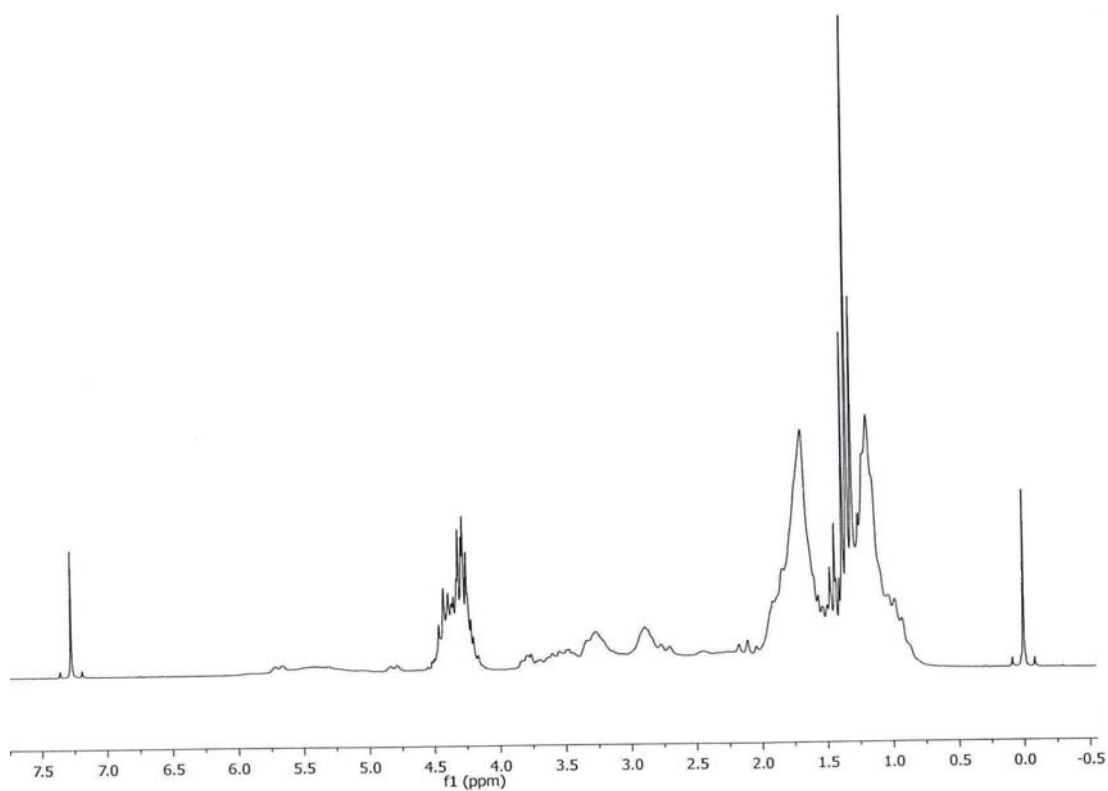
Slika P28. ^1H NMR spektar liganda L6, sniman u TFA.



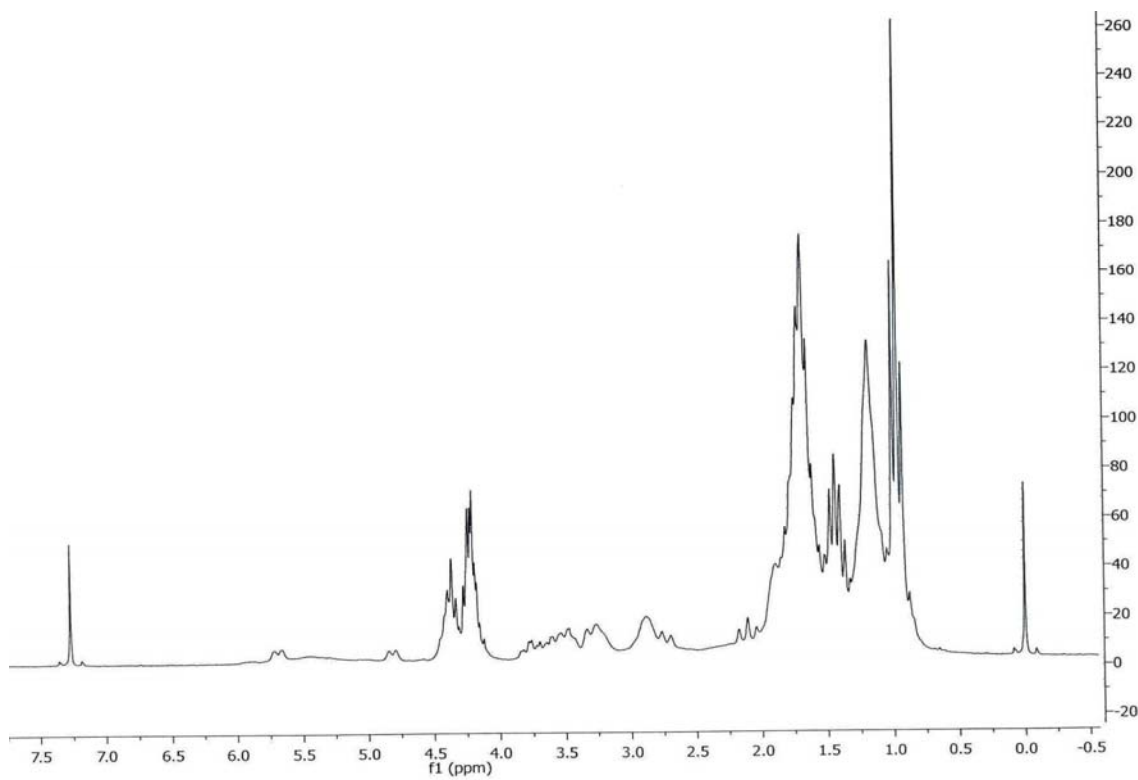
Slika P29. ^1H NMR spektar liganda **L7**, sniman u TFA.



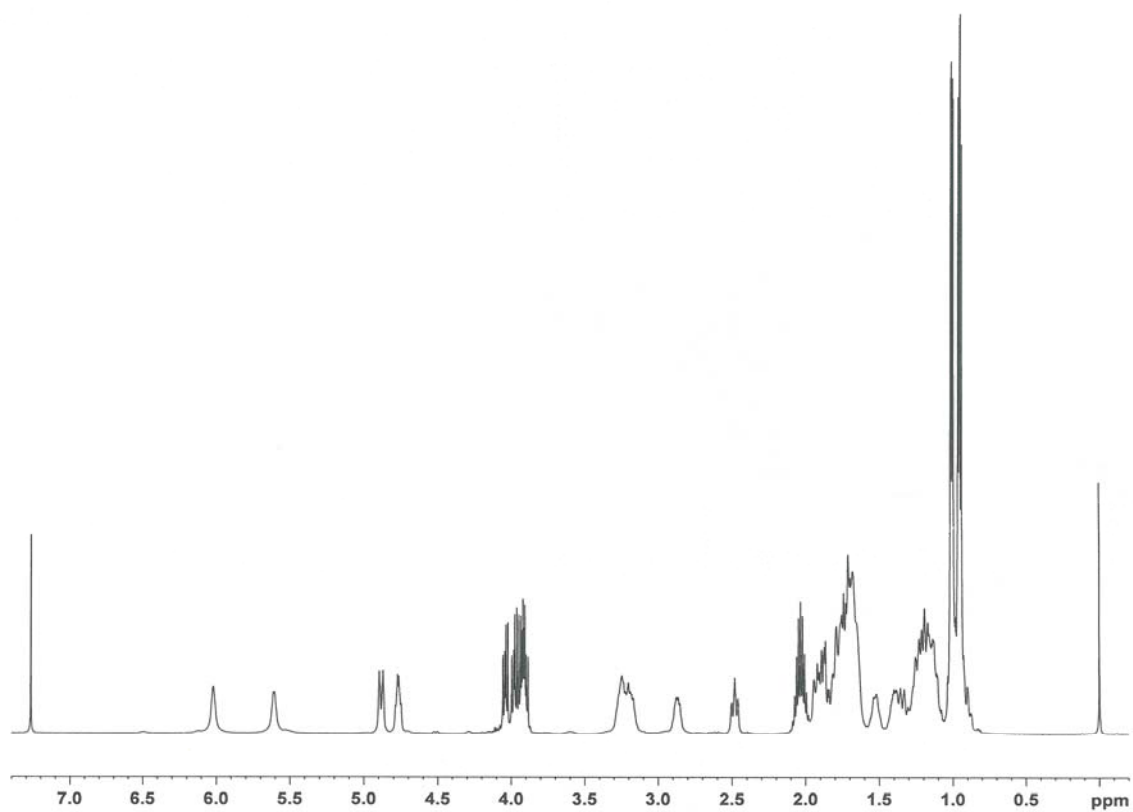
Slika P30. ^1H NMR spektar liganda **L8**, sniman u TFA.



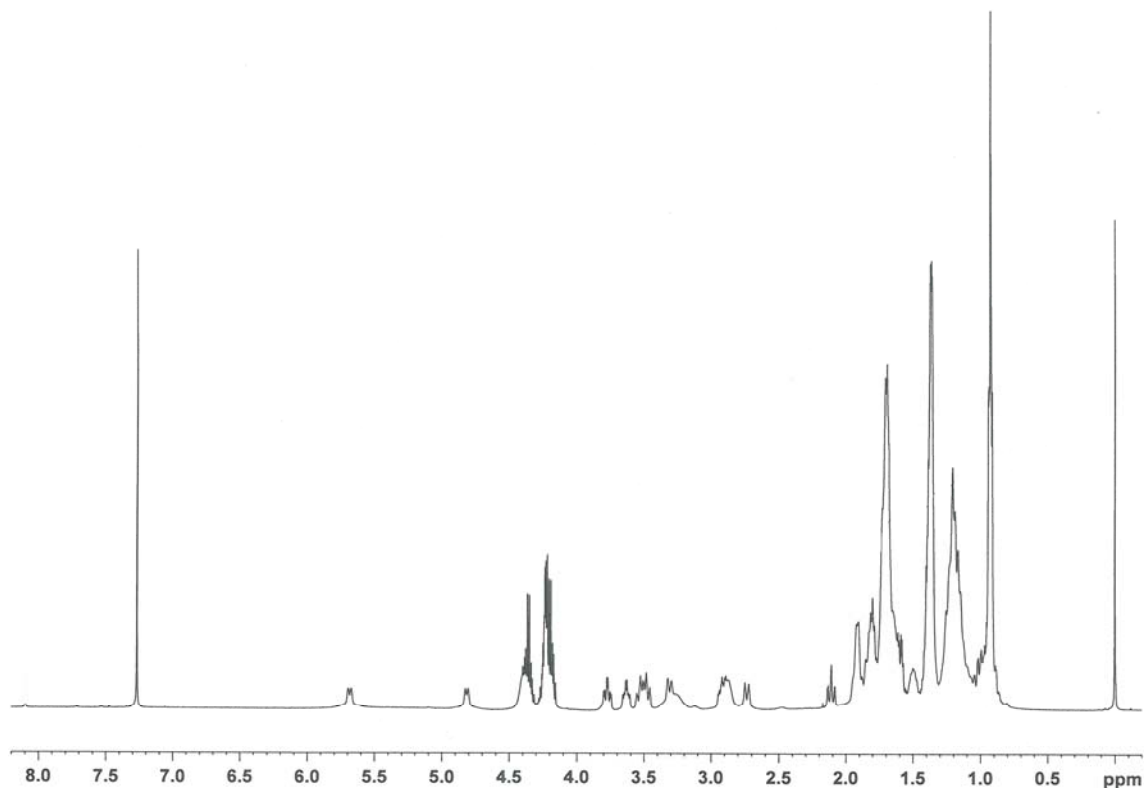
Slika P31. ^1H NMR spektar kompleksa **K1**, sniman u CDCl_3 .



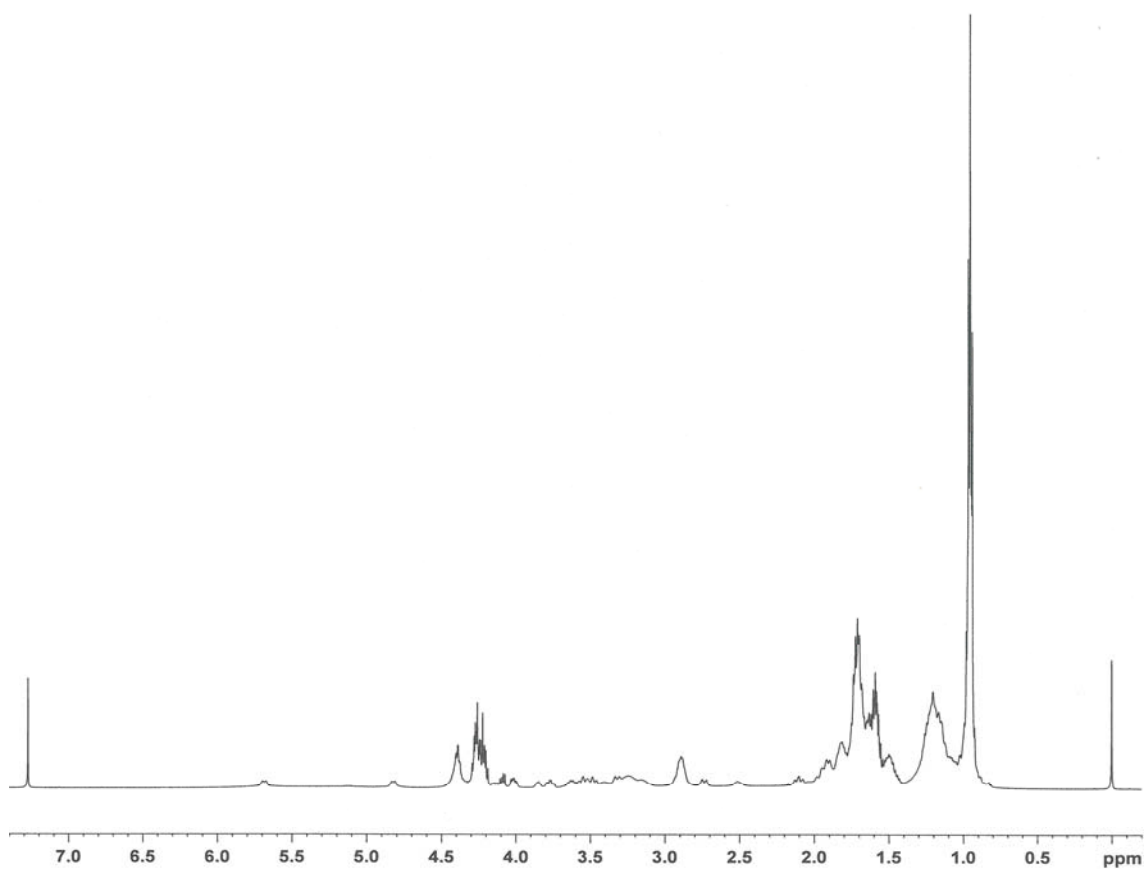
Slika P32. ^1H NMR spektar kompleksa **K2**, sniman u CDCl_3 .



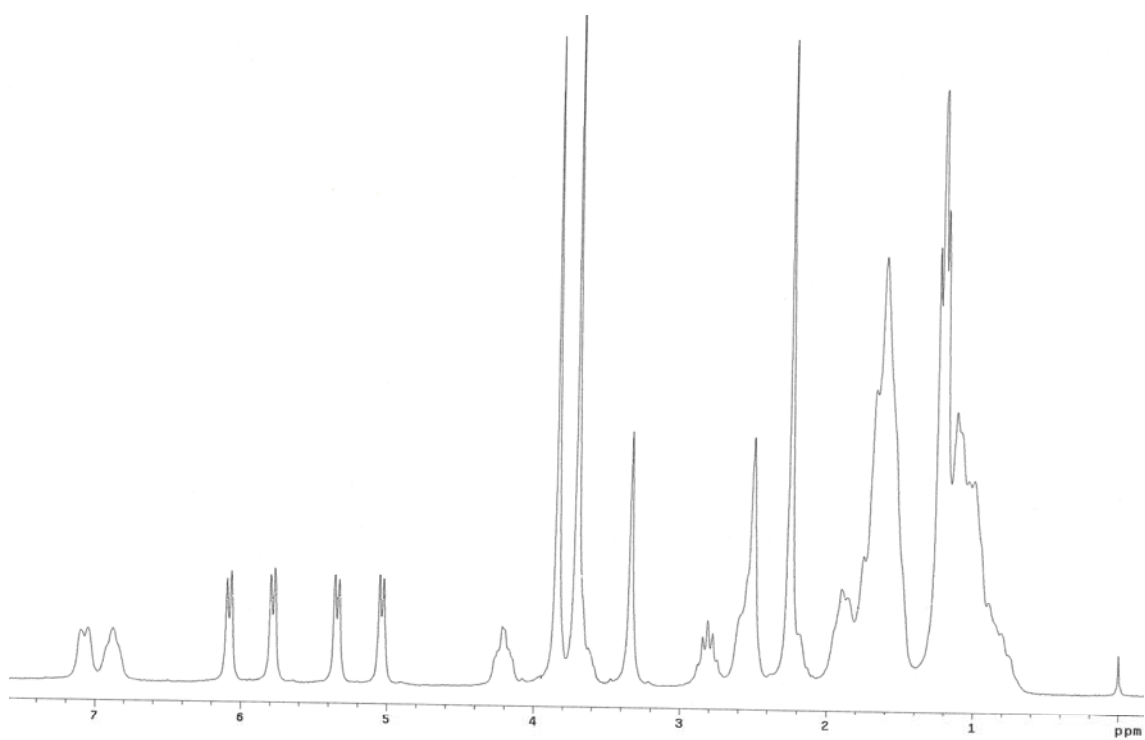
Slika P33. ^1H NMR spektar kompleksa **K3**, sniman u CDCl_3 .



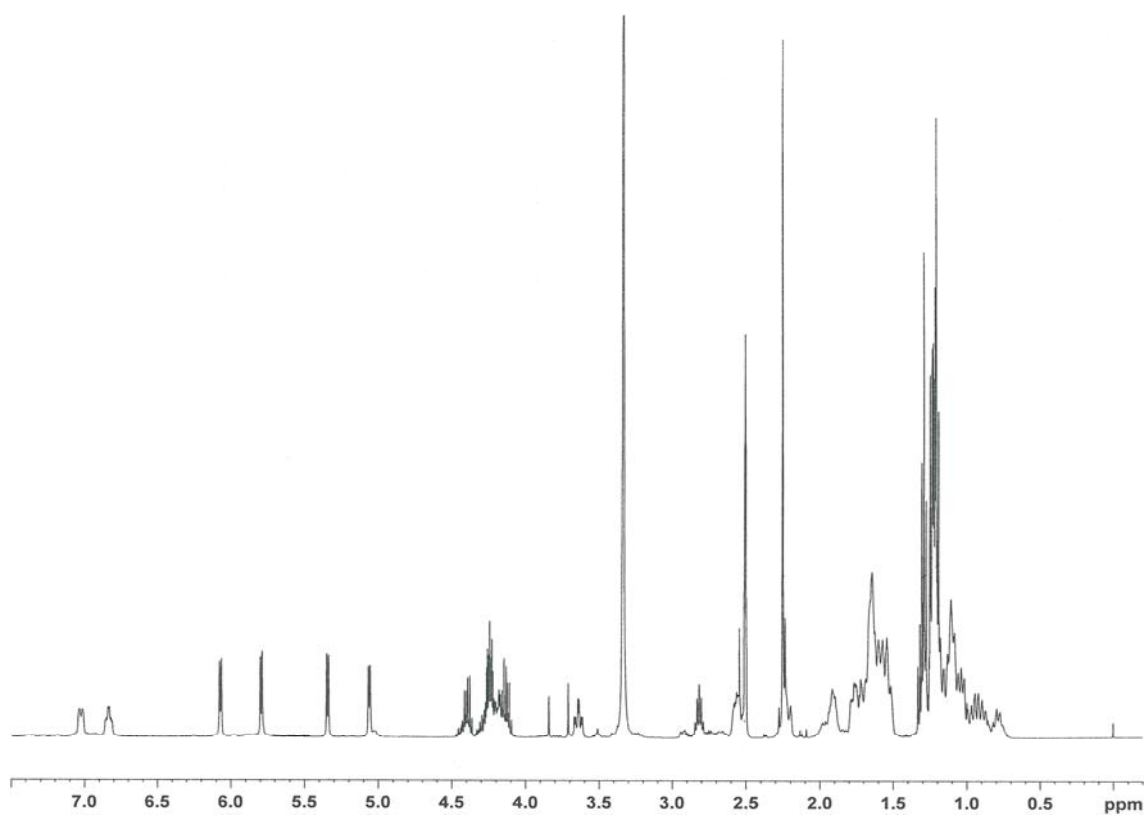
Slika P34. ^1H NMR spektar kompleksa **K4**, sniman u CDCl_3 .



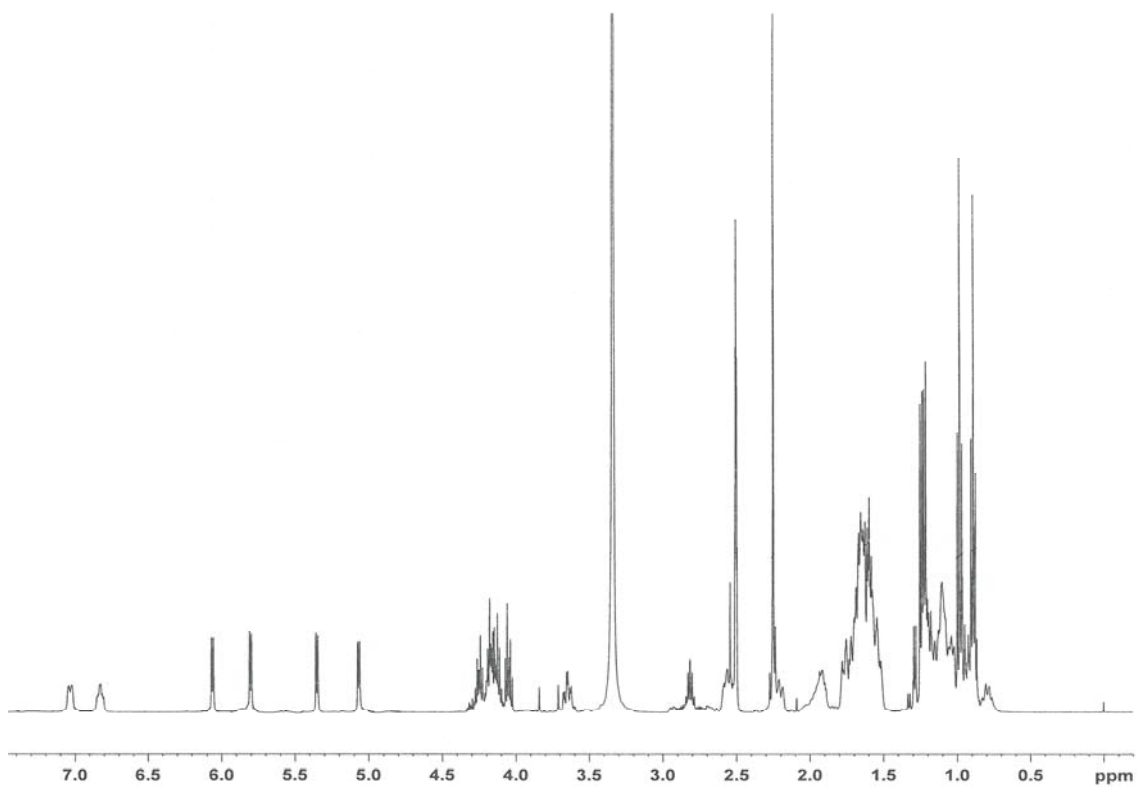
Slika P35. ^1H NMR spektar kompleksa **K5**, sniman u CDCl_3 .



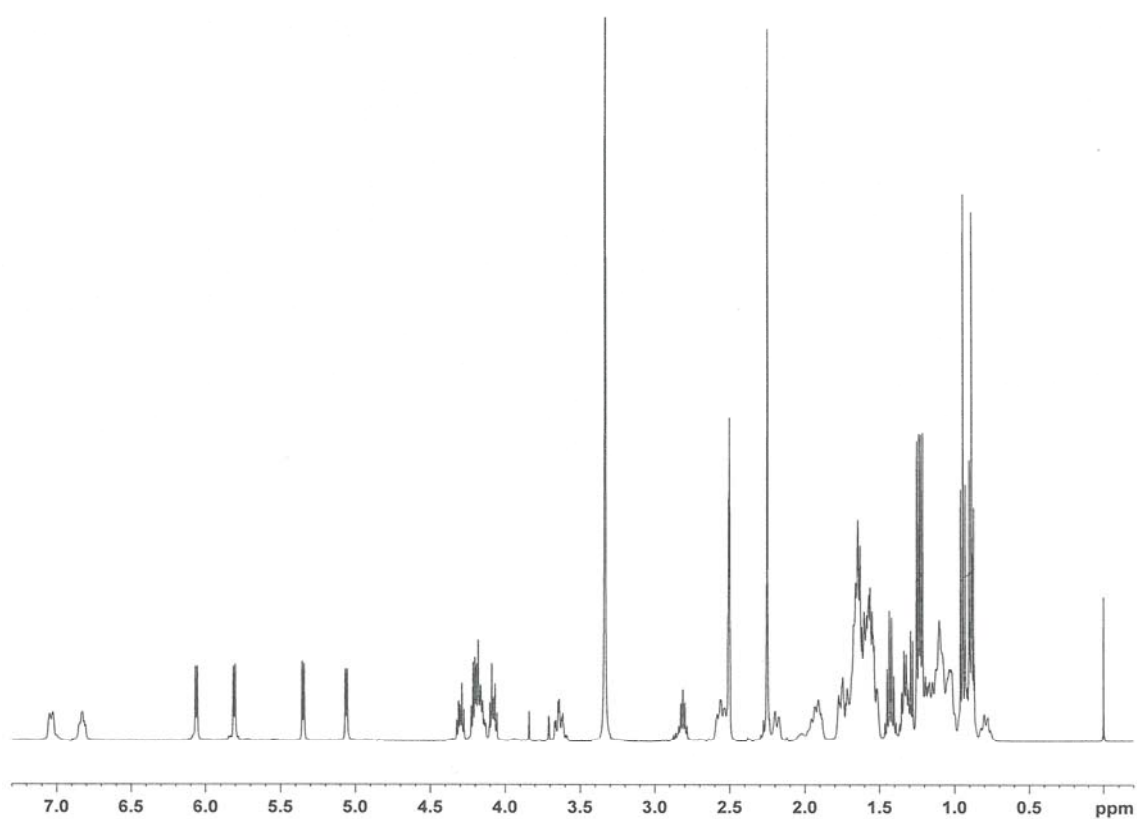
Slika P36. ^1H NMR spektar kompleksa **K6**, sniman u DMSO .



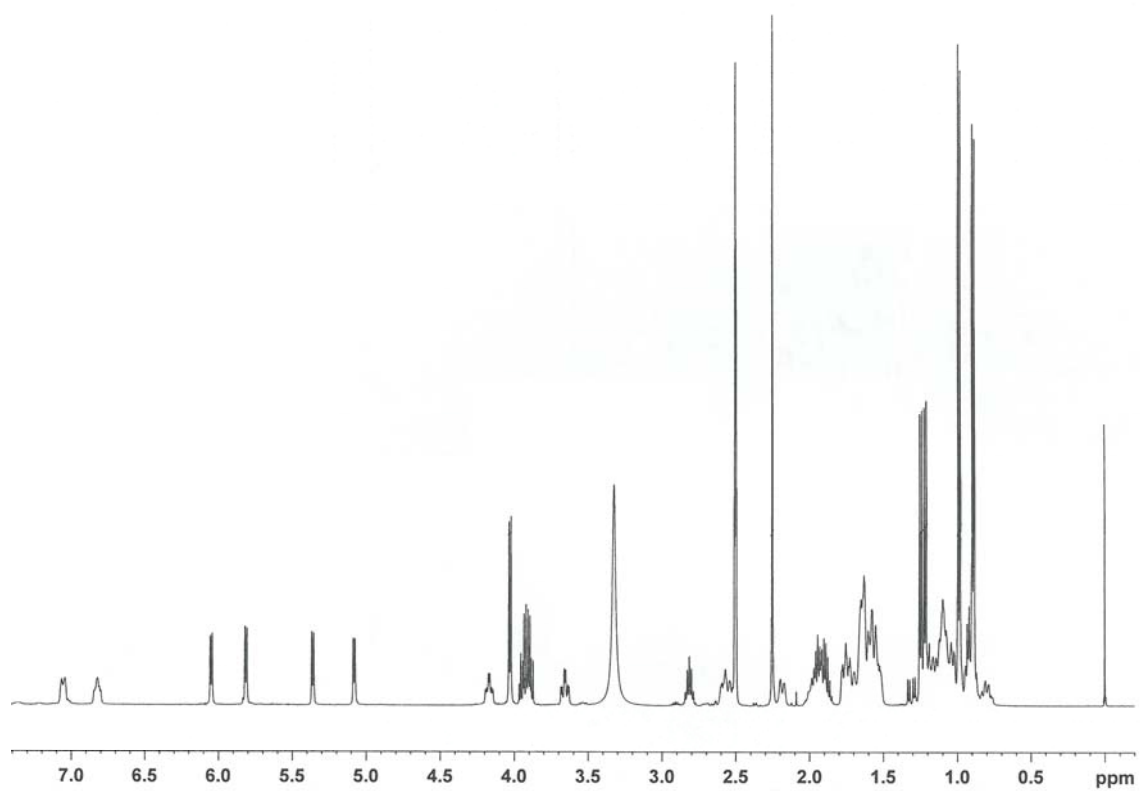
Slika P37. ^1H NMR spektar kompleksa **K7**, sniman u DMSO.



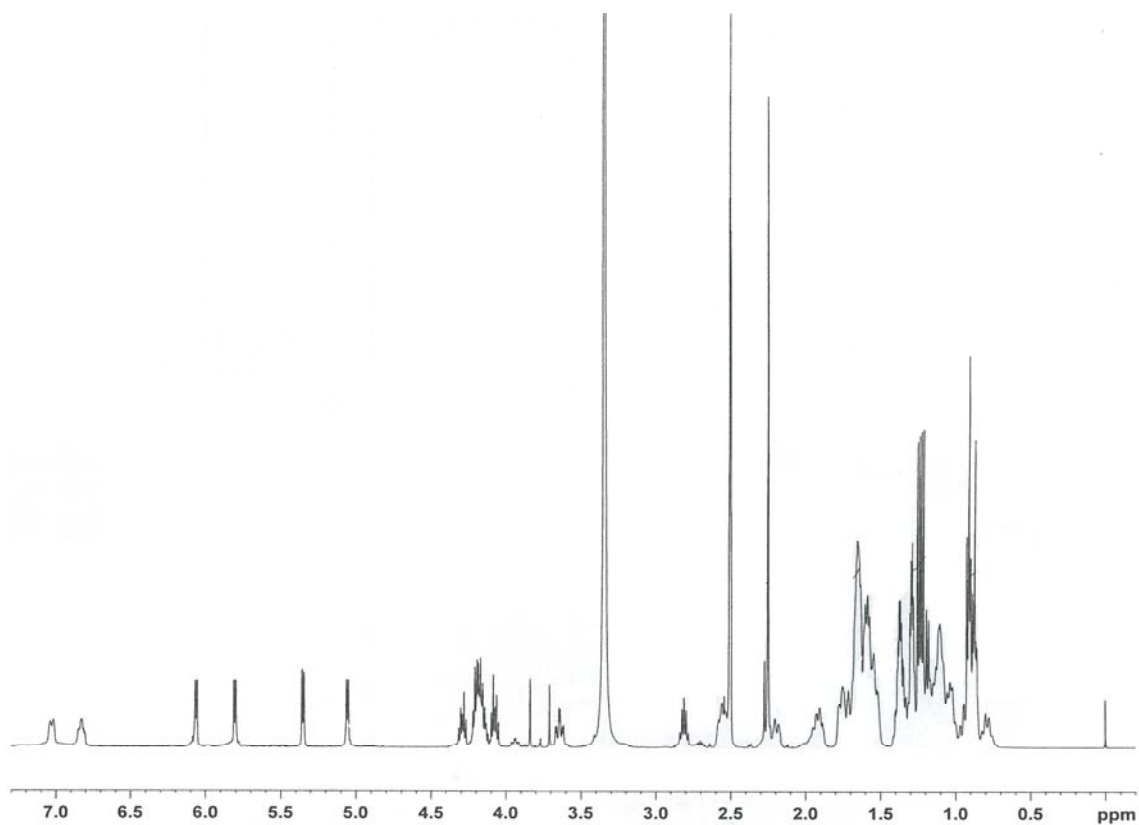
Slika P38. ^1H NMR spektar kompleksa **K8**, sniman u DMSO.



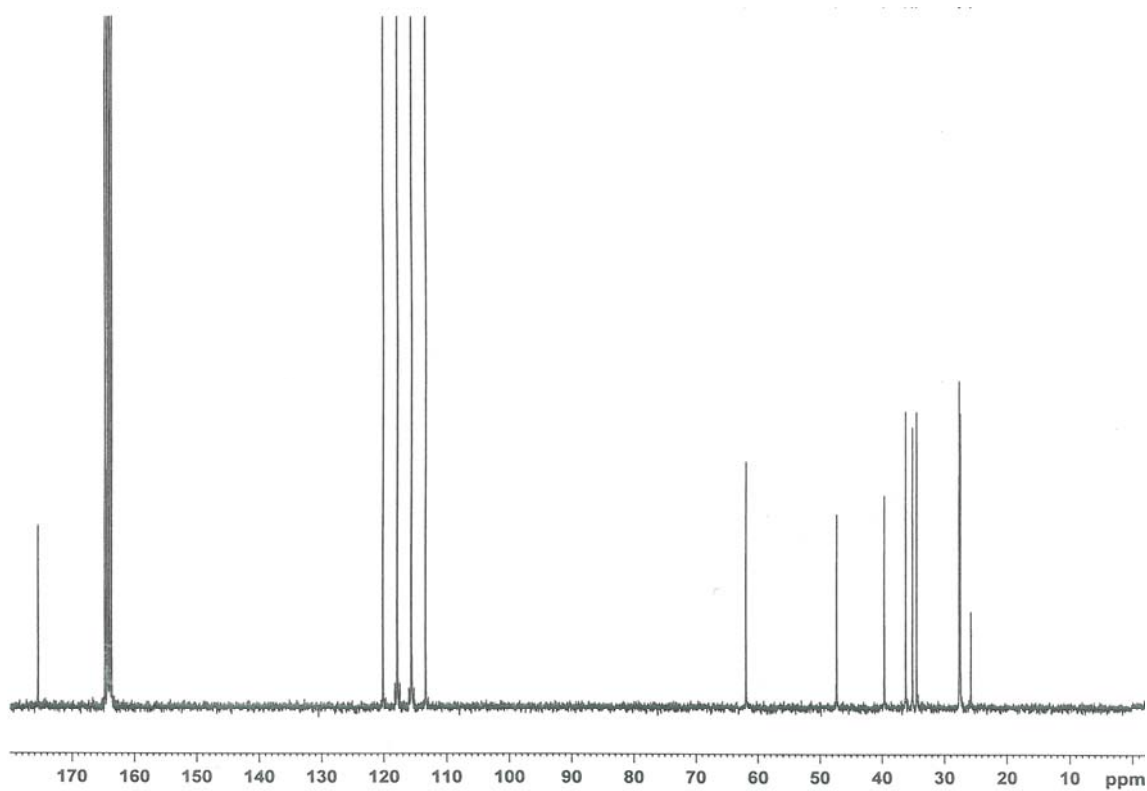
Slika P39. ^1H NMR spektar kompleksa **K9**, sniman u DMSO.



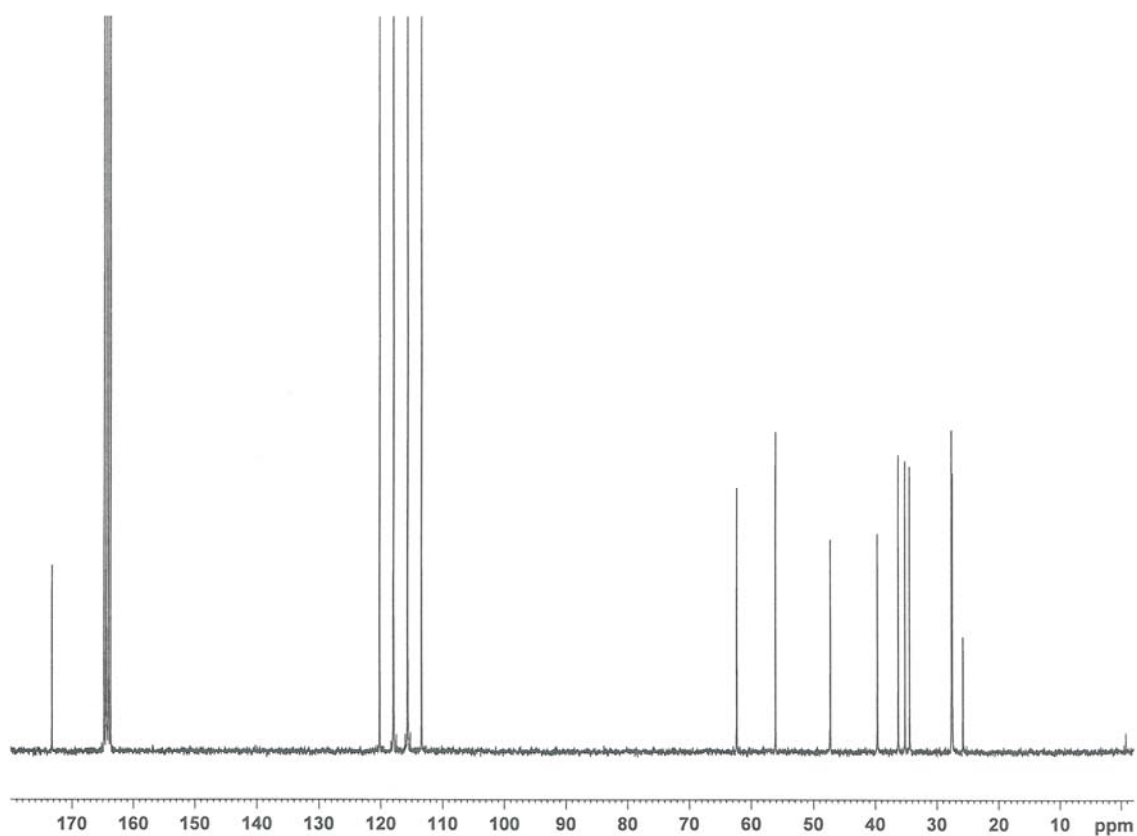
Slika P40. ^1H NMR spektar kompleksa **K10**, sniman u DMSO.



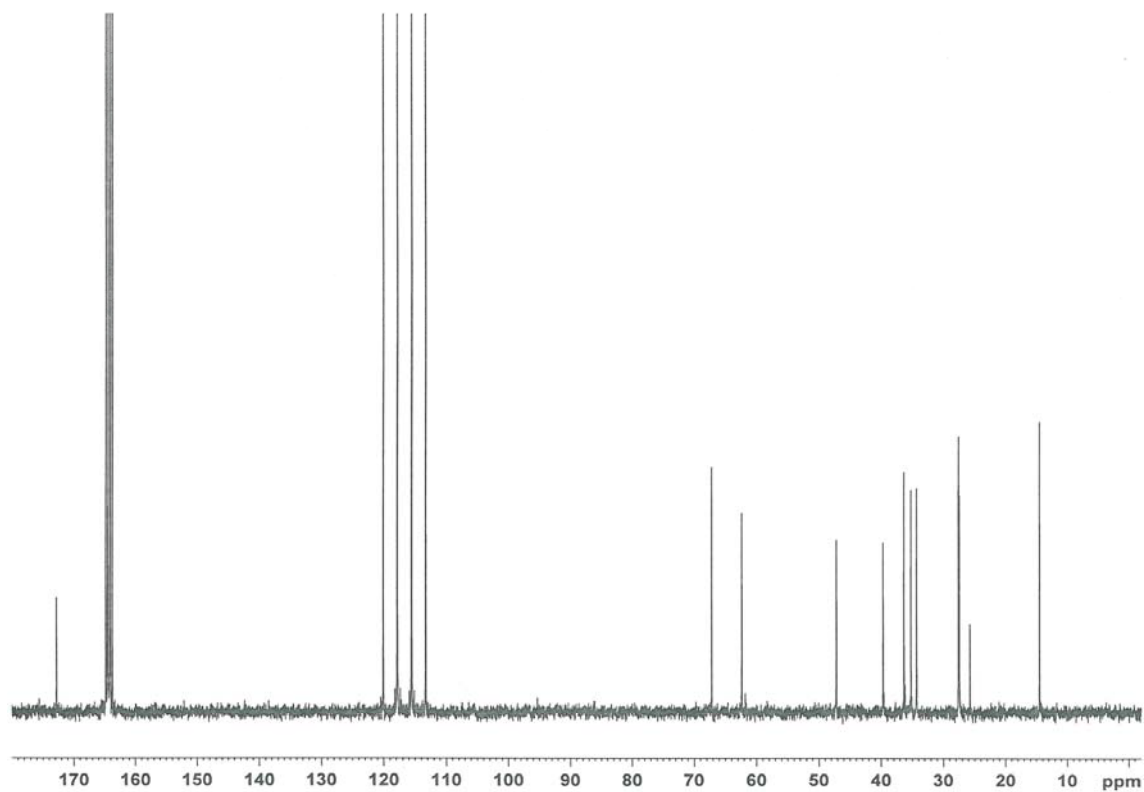
Slika P41. ^1H NMR spektar kompleksa **K11**, sniman u DMSO.



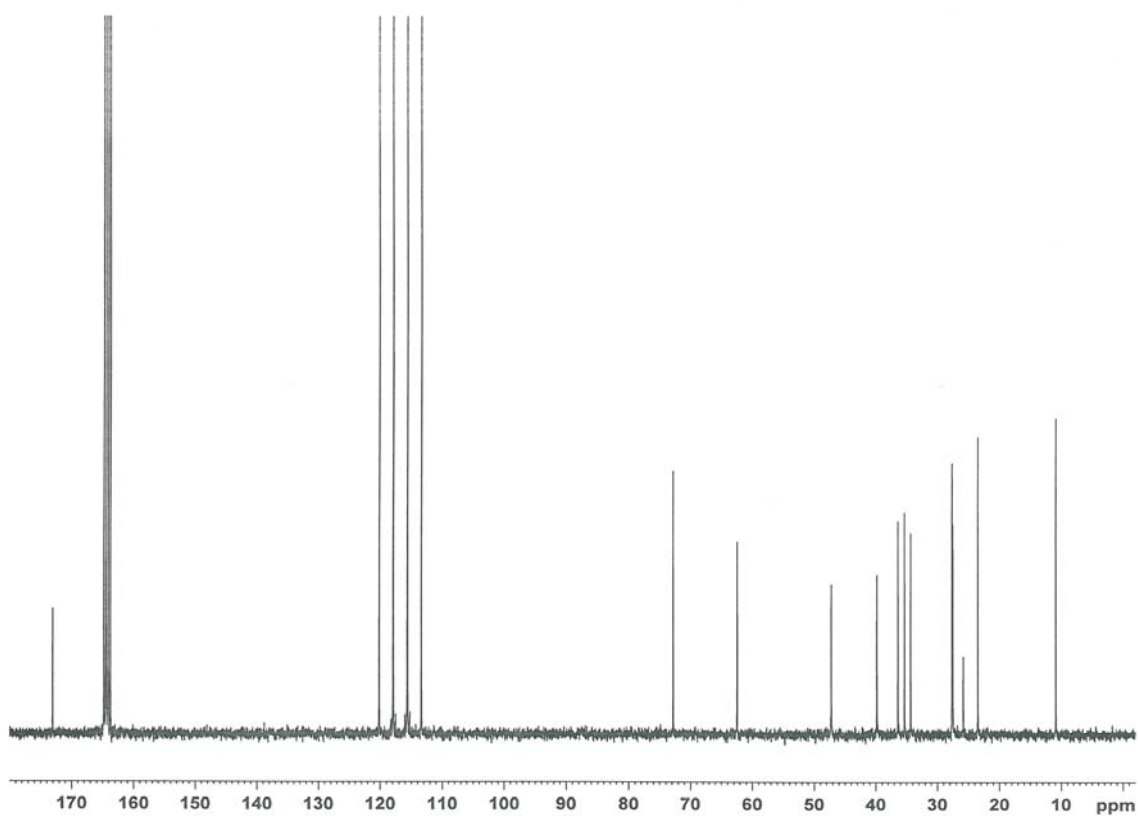
Slika P42. ^{13}C NMR spektar liganda **L1**, sniman u TFA.



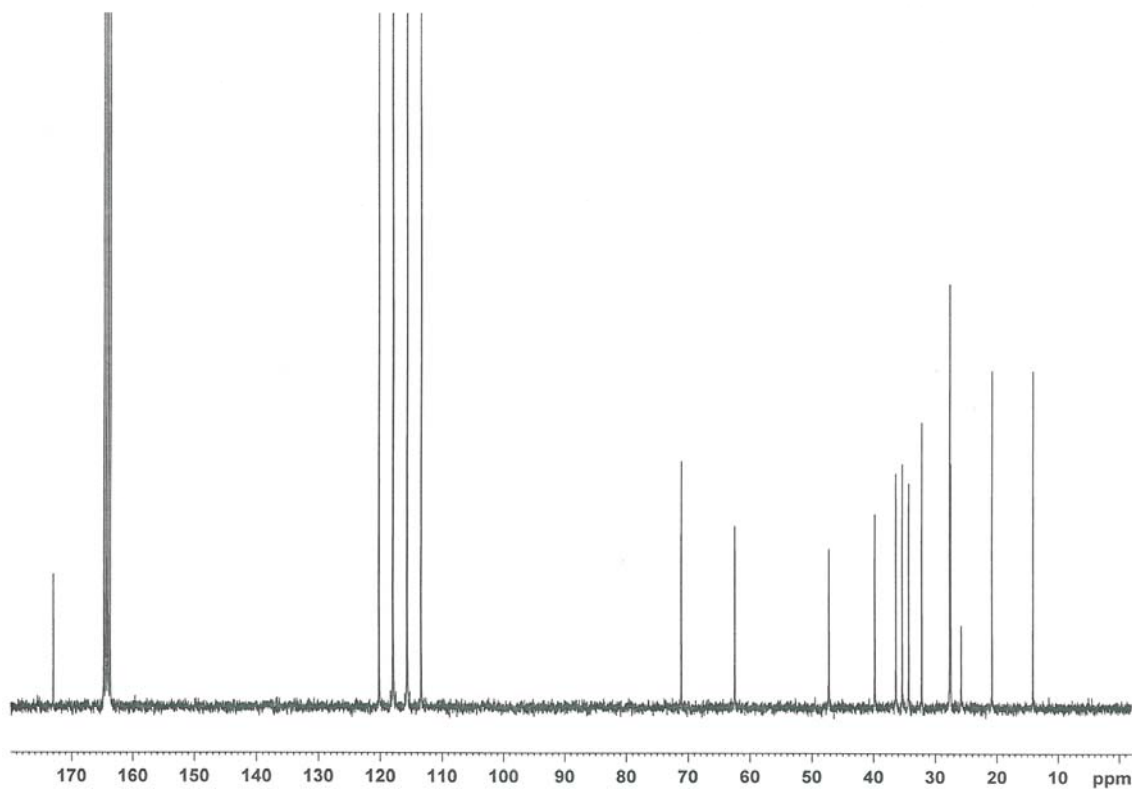
Slika P43. ^{13}C NMR spektar liganda **L2**, sniman u TFA.



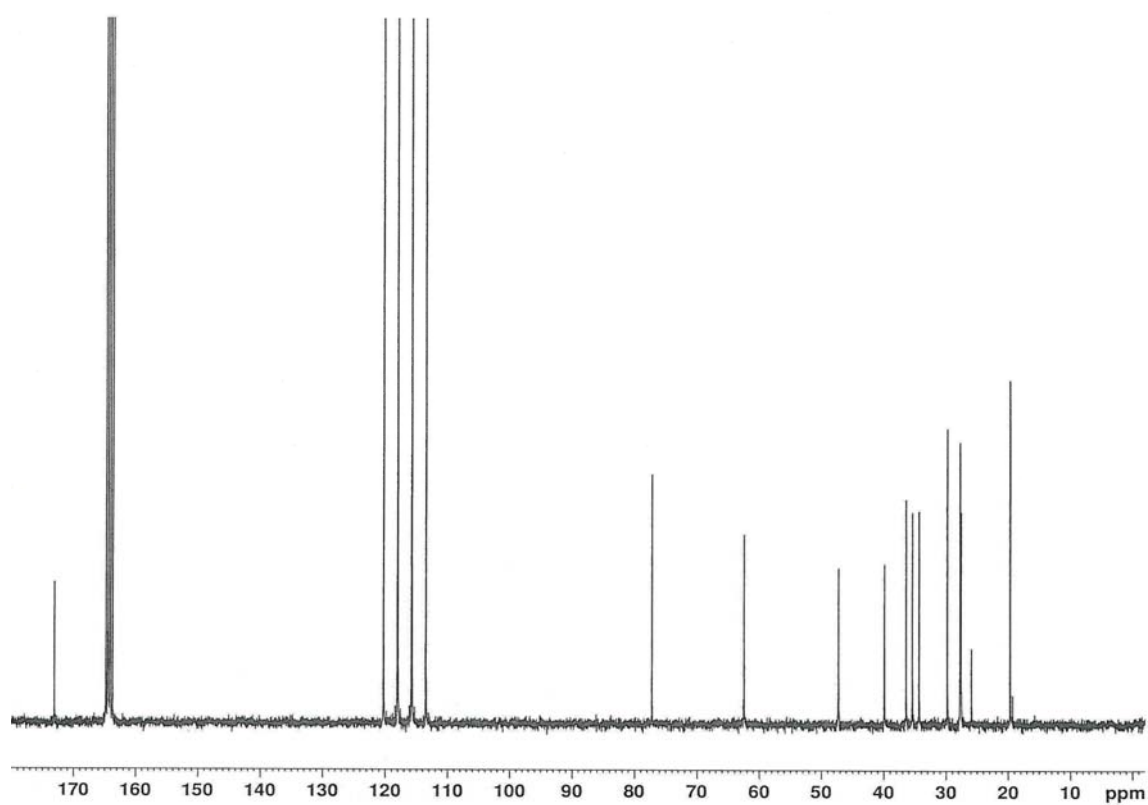
Slika P44. ^{13}C NMR spektar liganda **L3**, sniman u TFA.



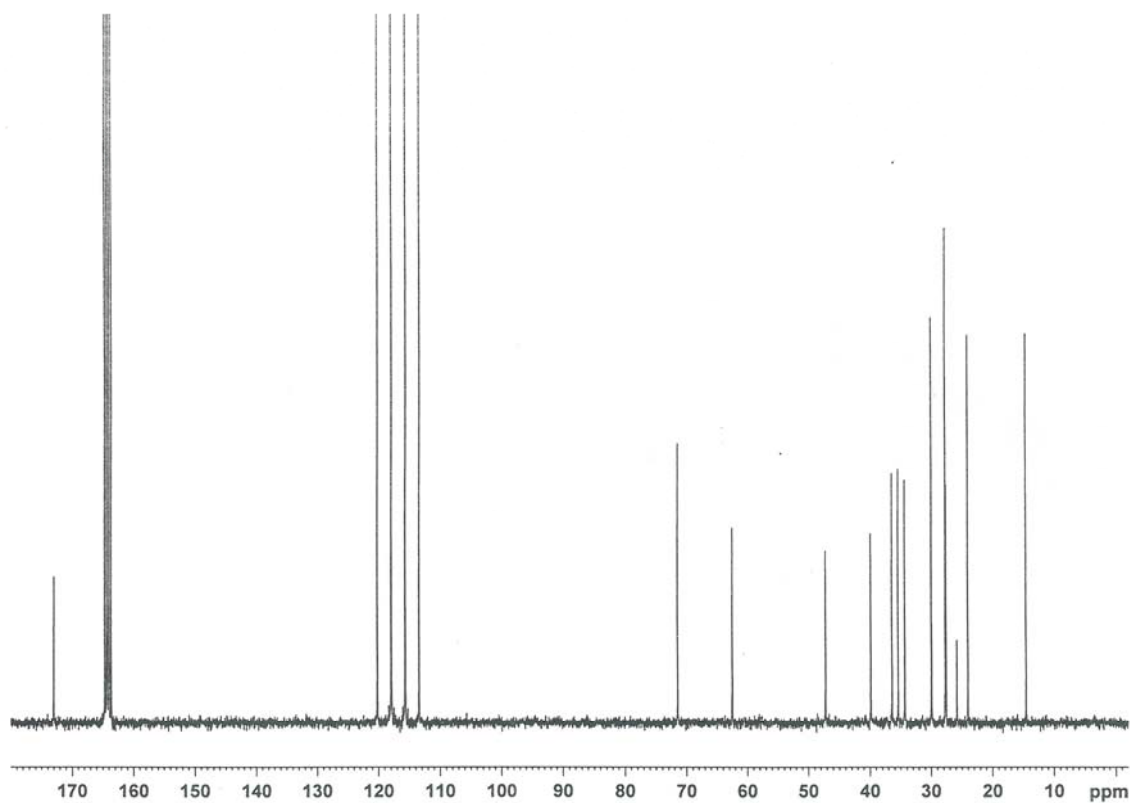
Slika P45. ^{13}C NMR spektar liganda **L4**, sniman u TFA.



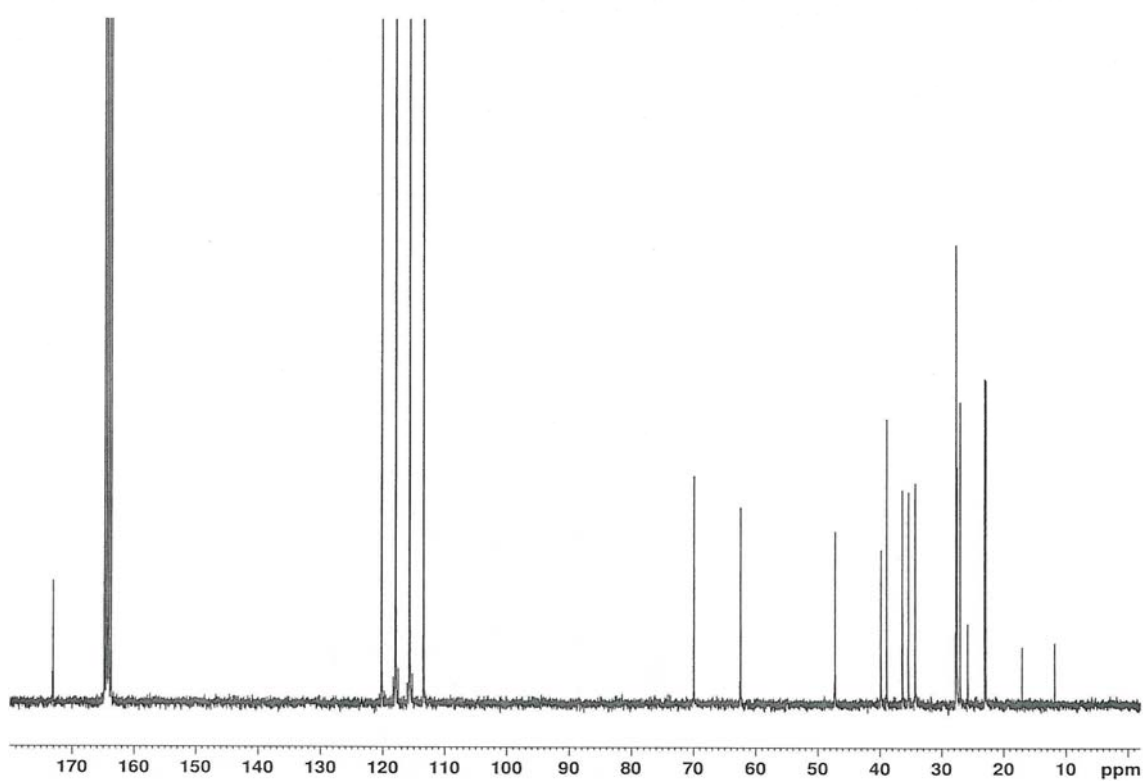
Slika P46. ^{13}C NMR spektar liganda **L5**, sniman u TFA.



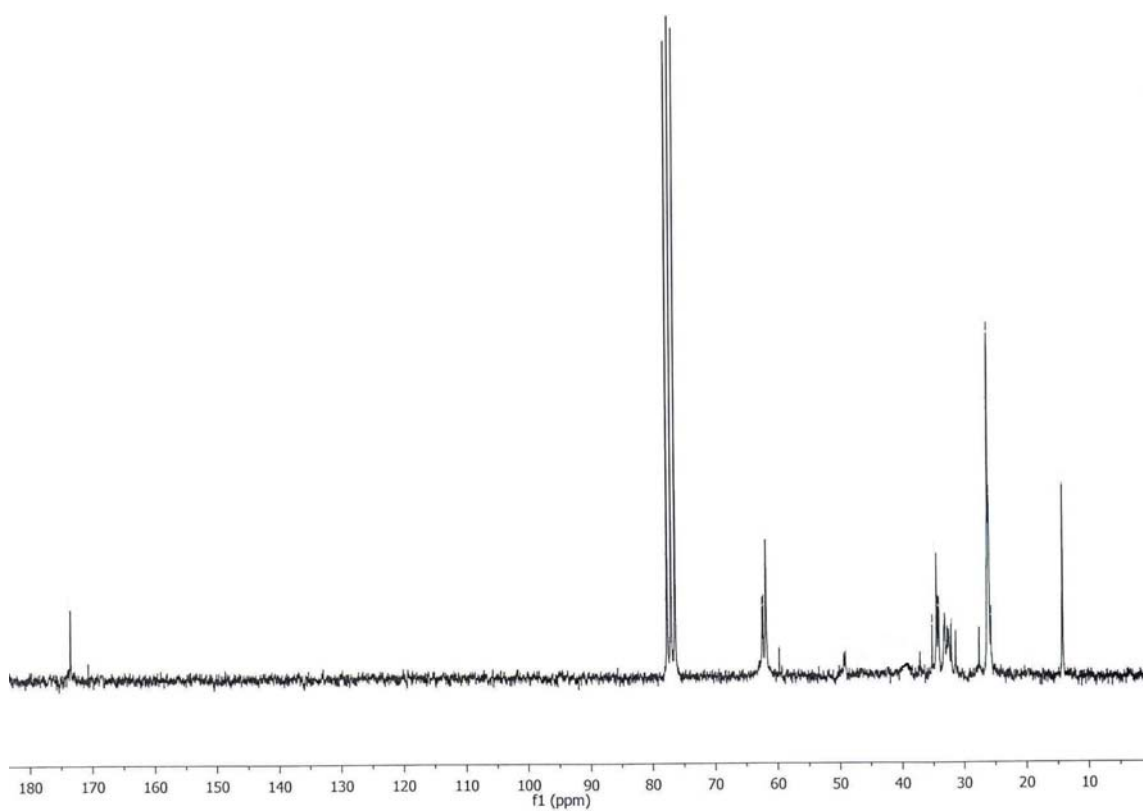
Slika P47. ^{13}C NMR spektar liganda L6, sniman u TFA.



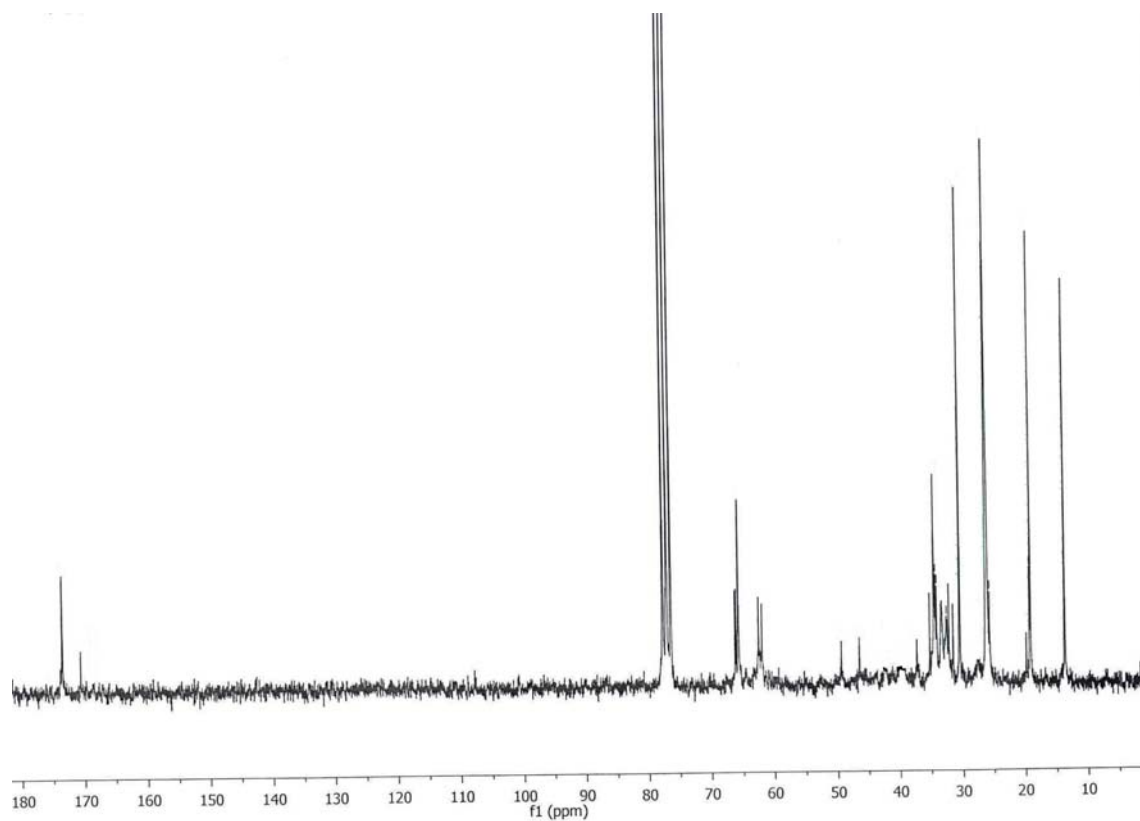
Slika P48. ^{13}C NMR spektar liganda L7, sniman u TFA.



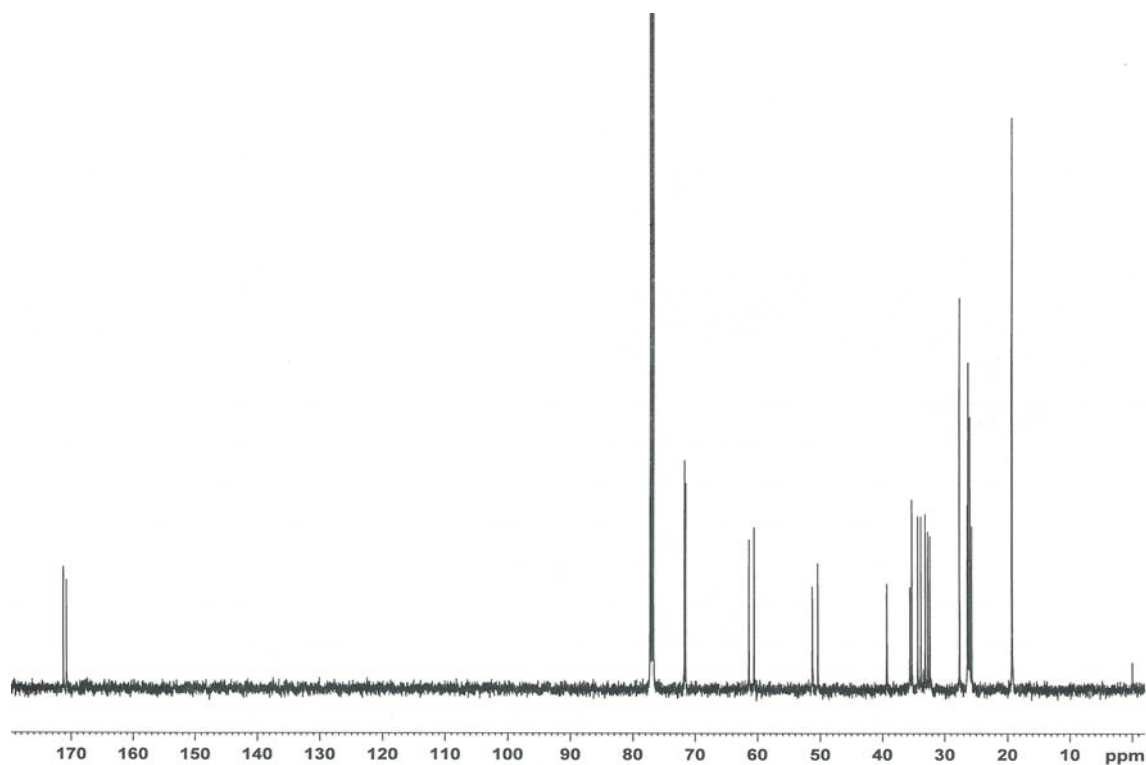
Slika P49. ^{13}C NMR spektar liganda **L8**, sniman u TFA.



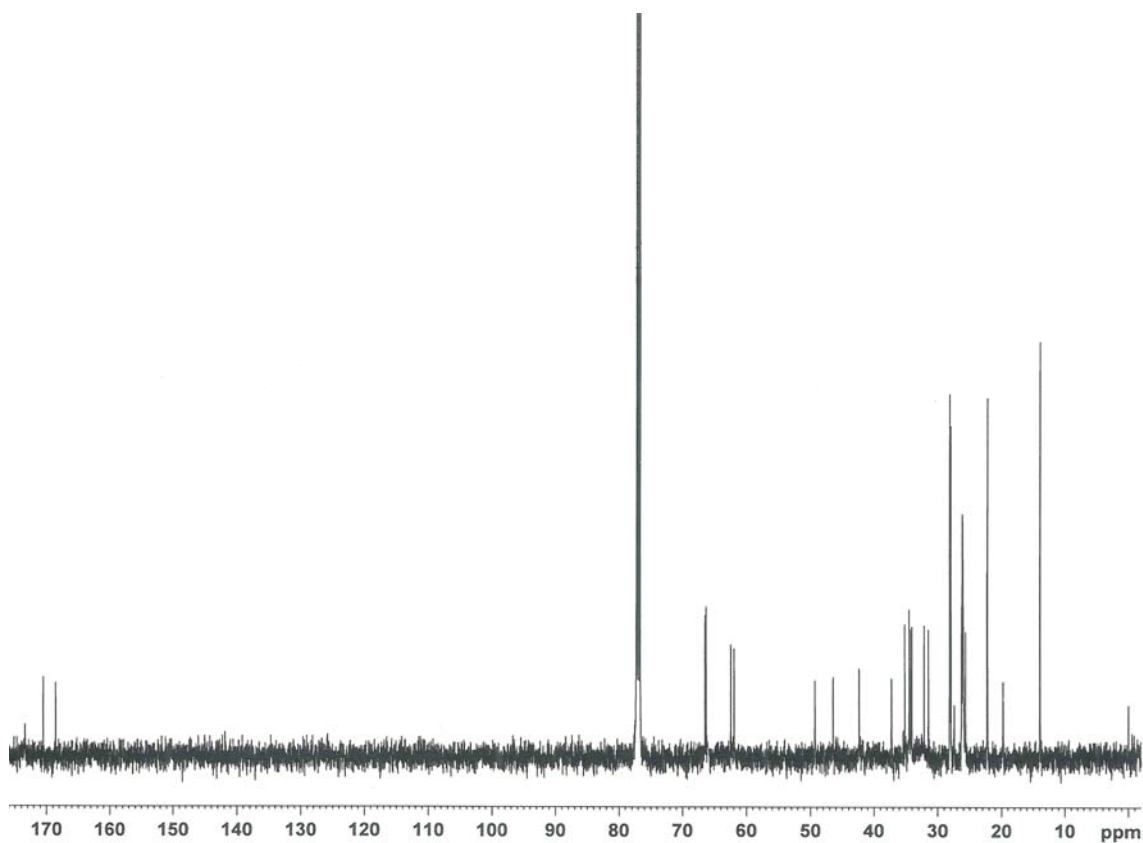
Slika P50. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K1**, sniman u CDCl_3 .



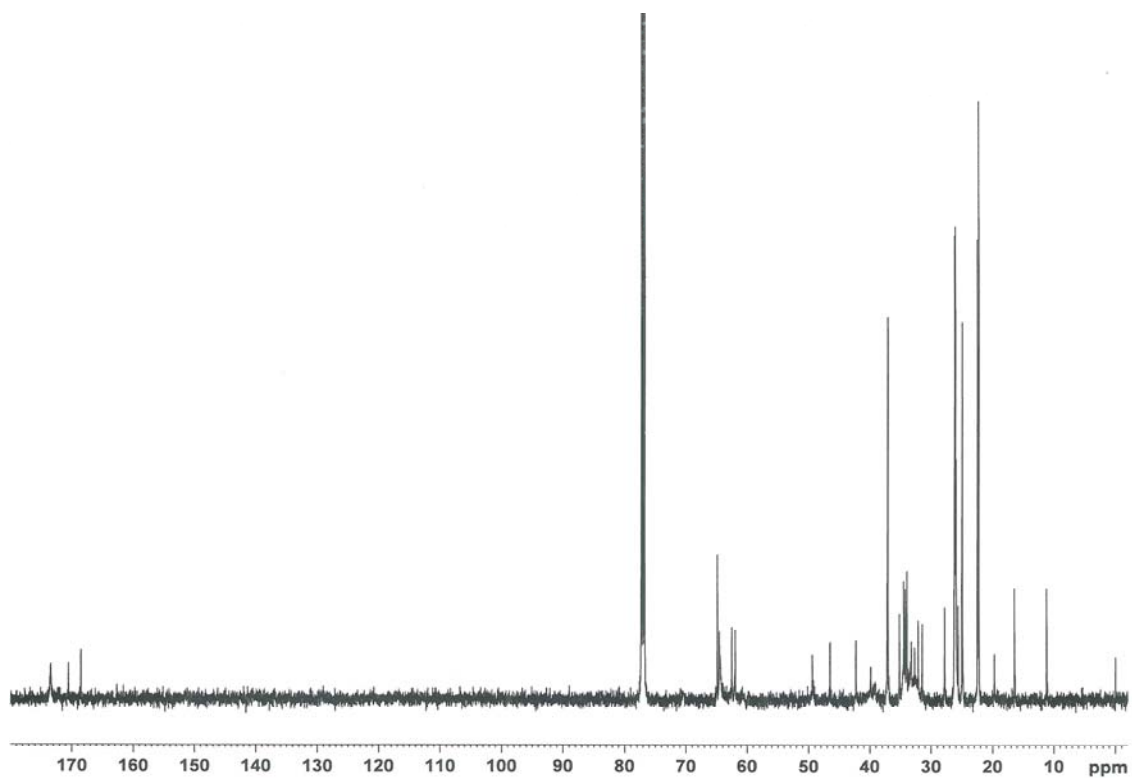
Slika P51. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K2**, sniman u CDCl_3 .



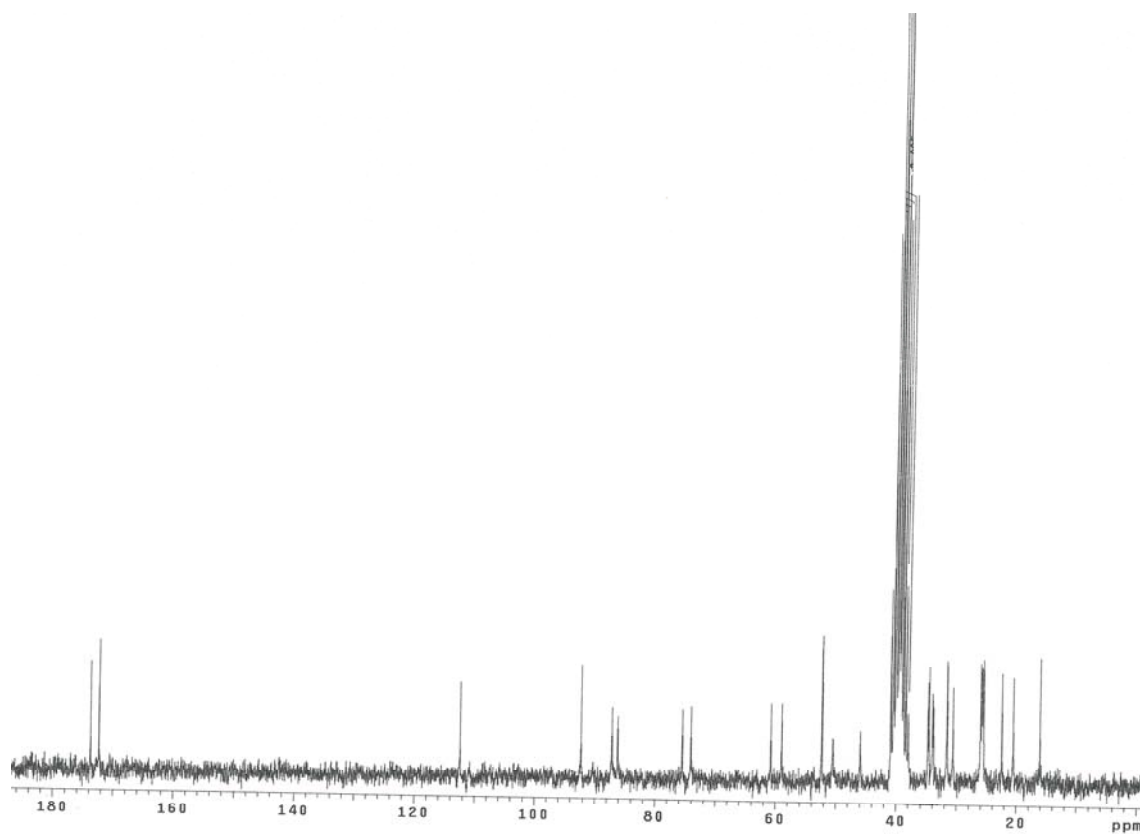
Slika P52. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K3**, sniman u CDCl_3 .



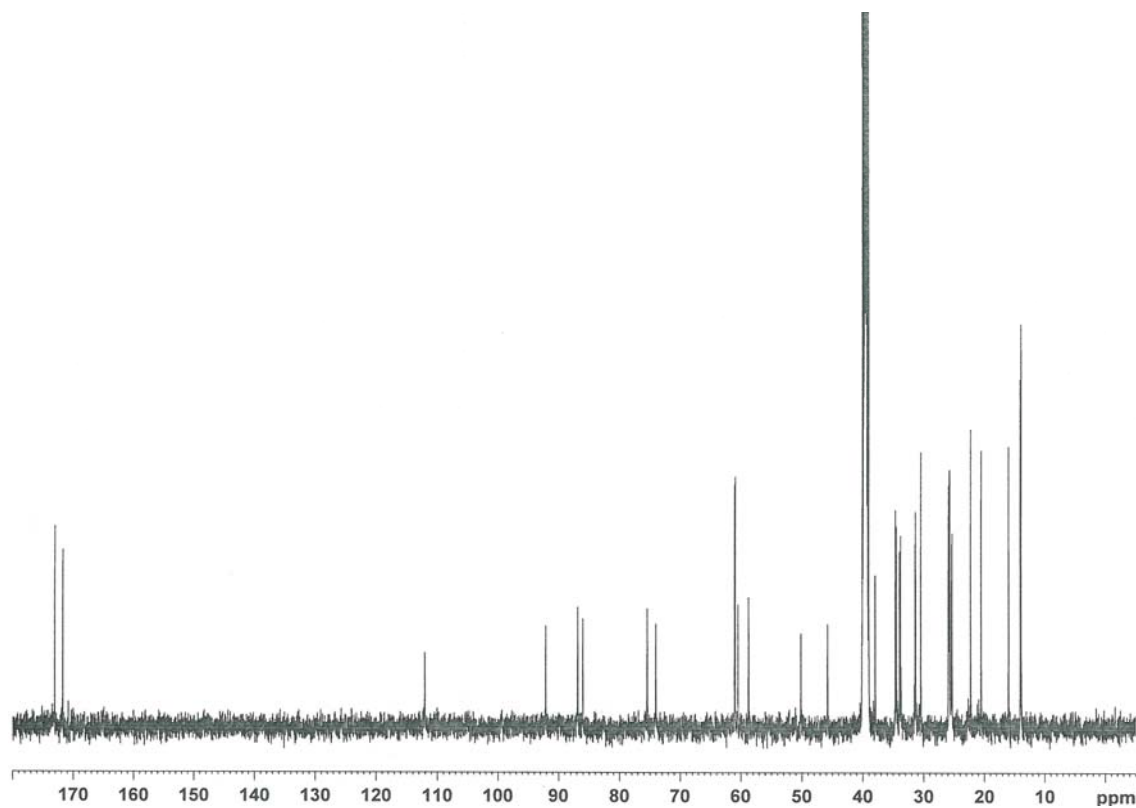
Slika P53. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K4**, sniman u CDCl_3 .



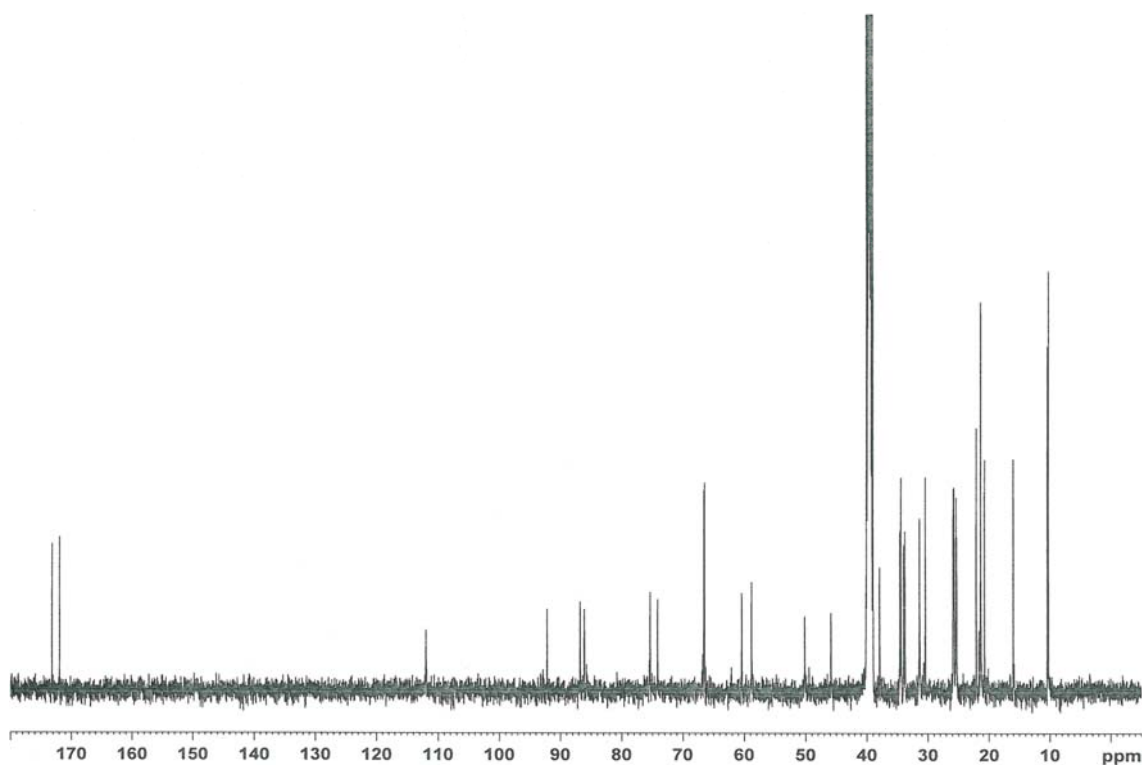
Slika P54. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K5**, sniman u CDCl_3 .



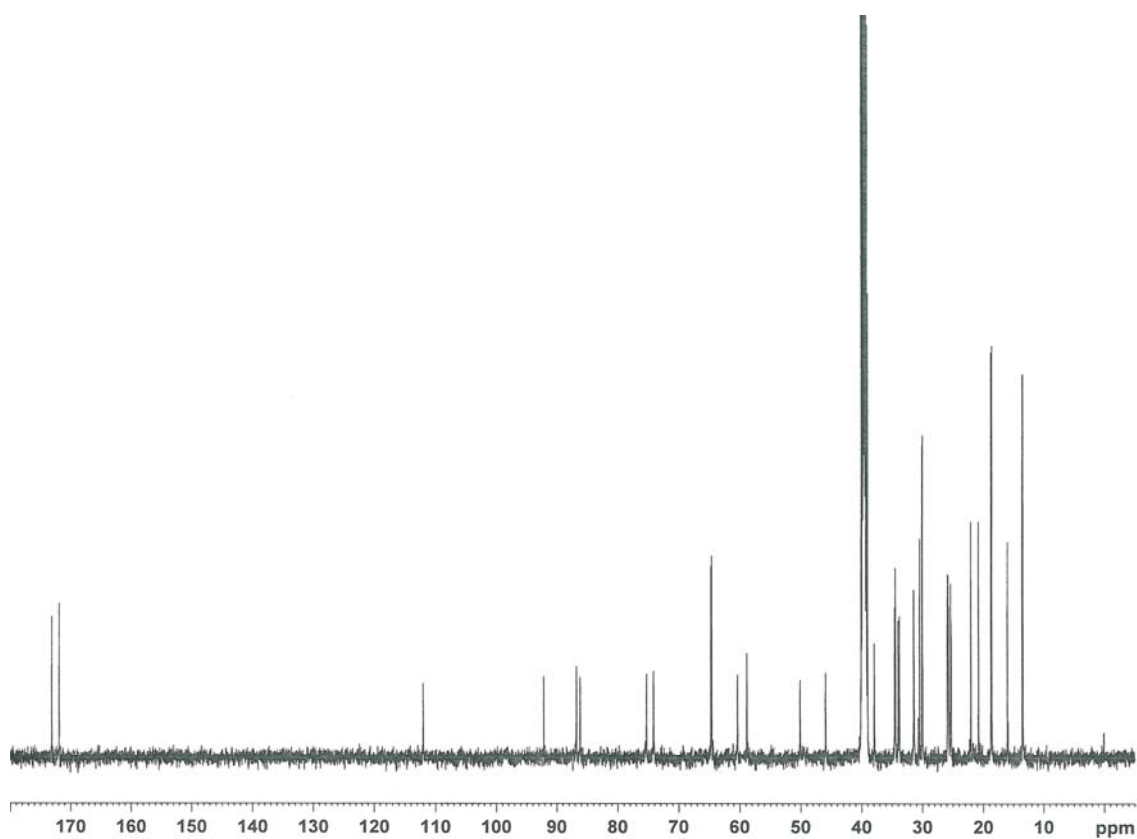
Slika P55. ^{13}C NMR spektar kompleksa K6, sniman u DMSO.



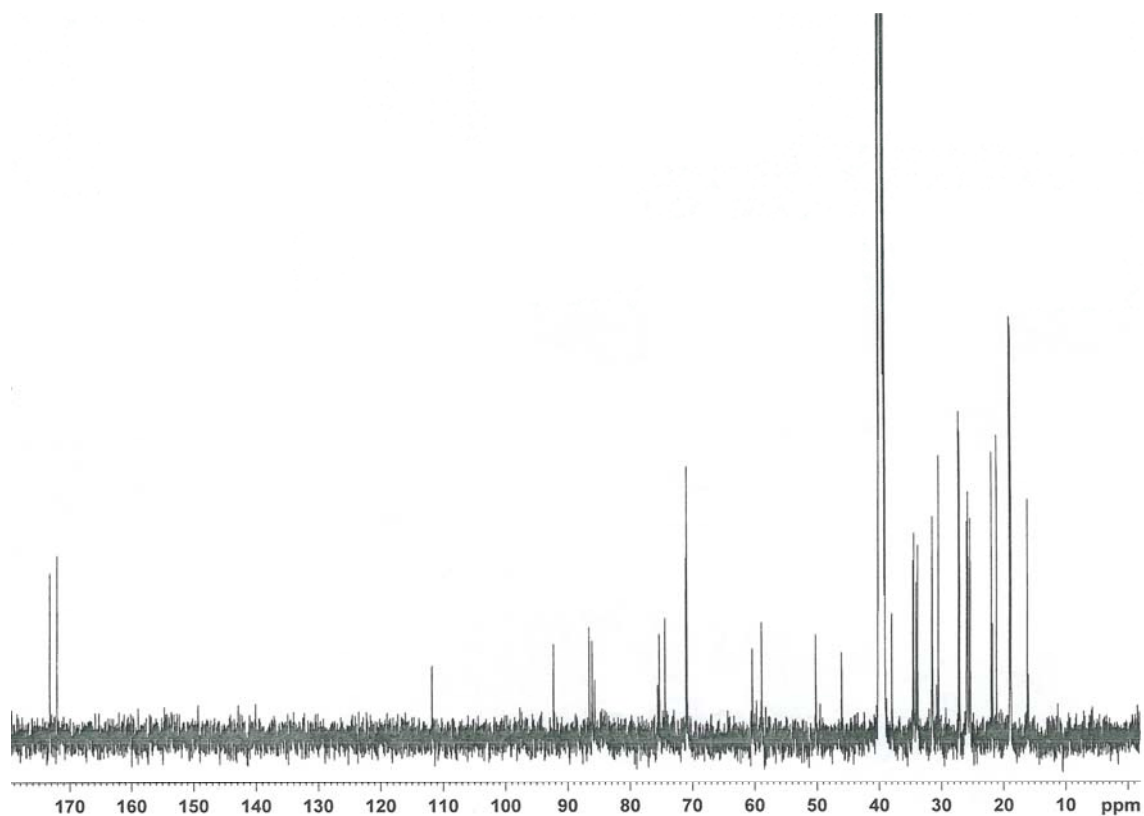
Slika P56. ^{13}C NMR spektar kompleksa K7, sniman u DMSO.



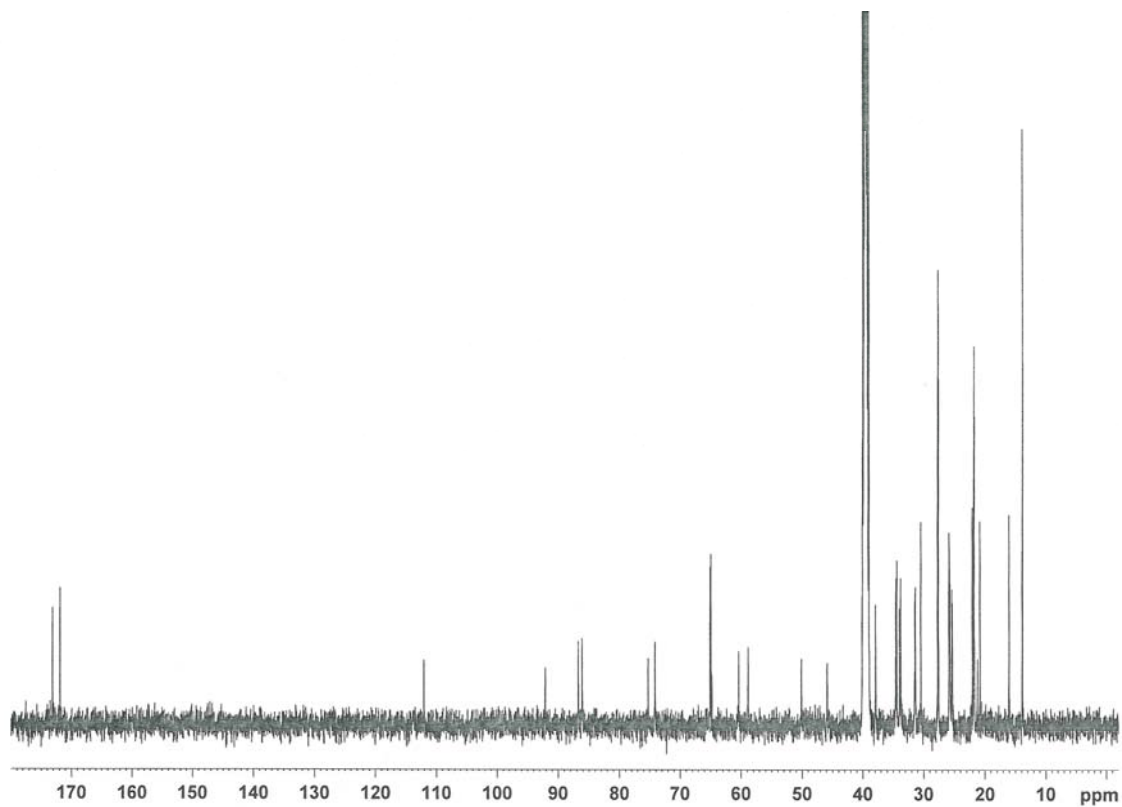
Slika P57. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K8**, sniman u DMSO.



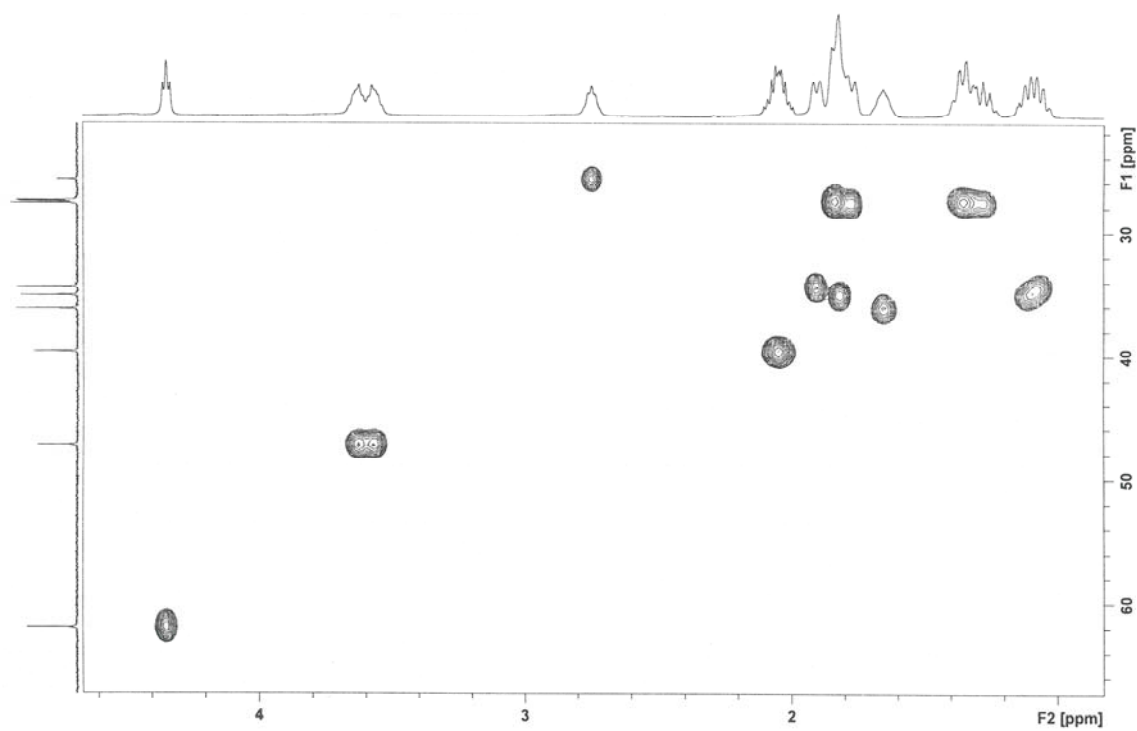
Slika P58. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K9**, sniman u DMSO.



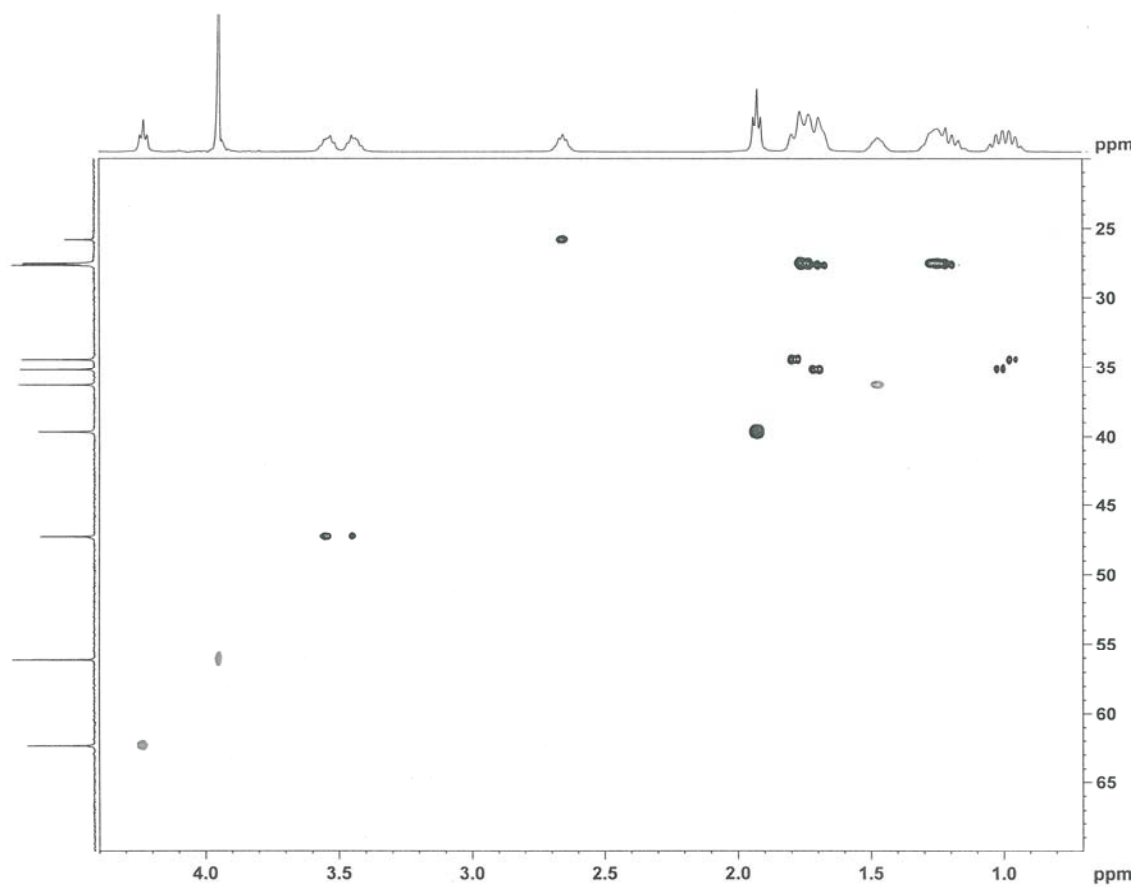
Slika P59. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K10**, sniman u DMSO.



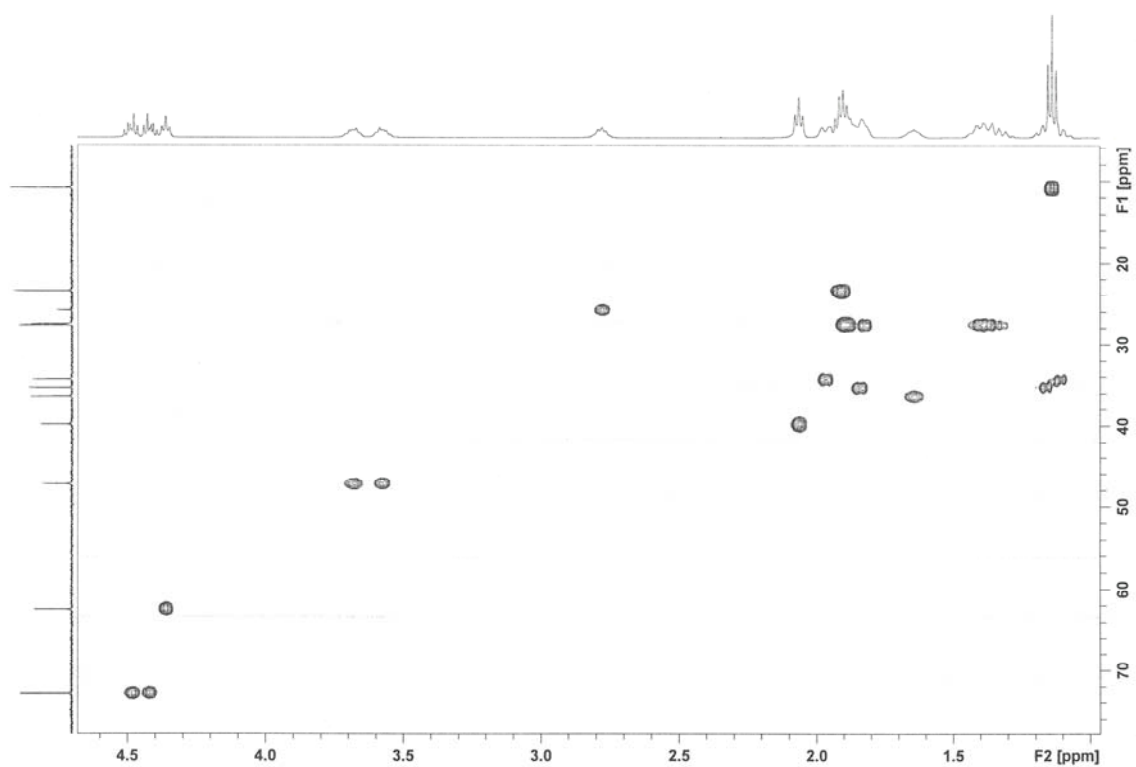
Slika P60. ^{13}C NMR spektar kompleksa **K11**, sniman u DMSO.



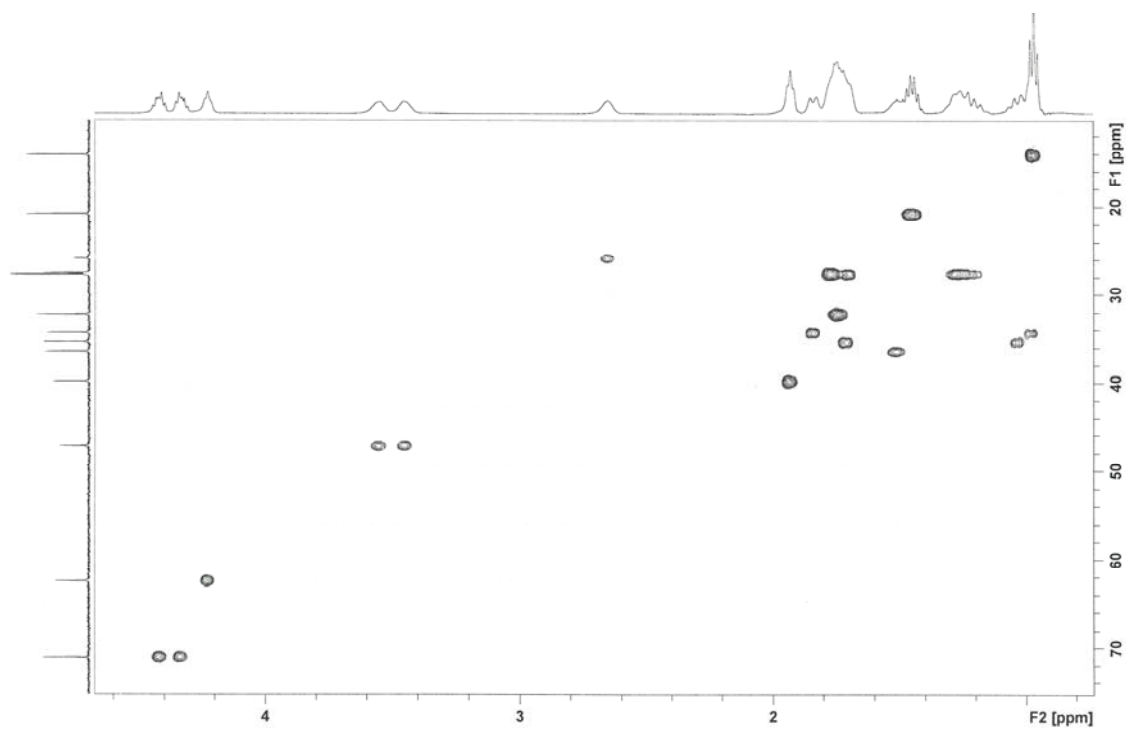
Slika P61. HSQC spektar liganda L1, sniman u TFA.



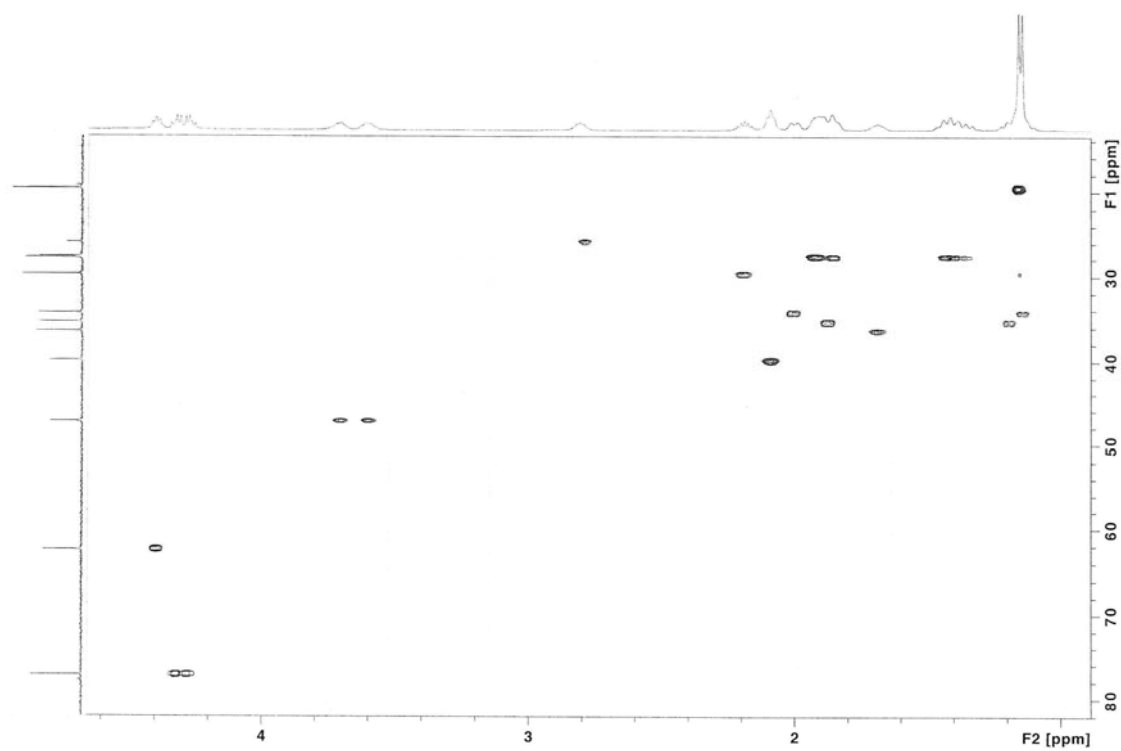
Slika P62. HSQC spektar liganda L2, sniman u TFA.



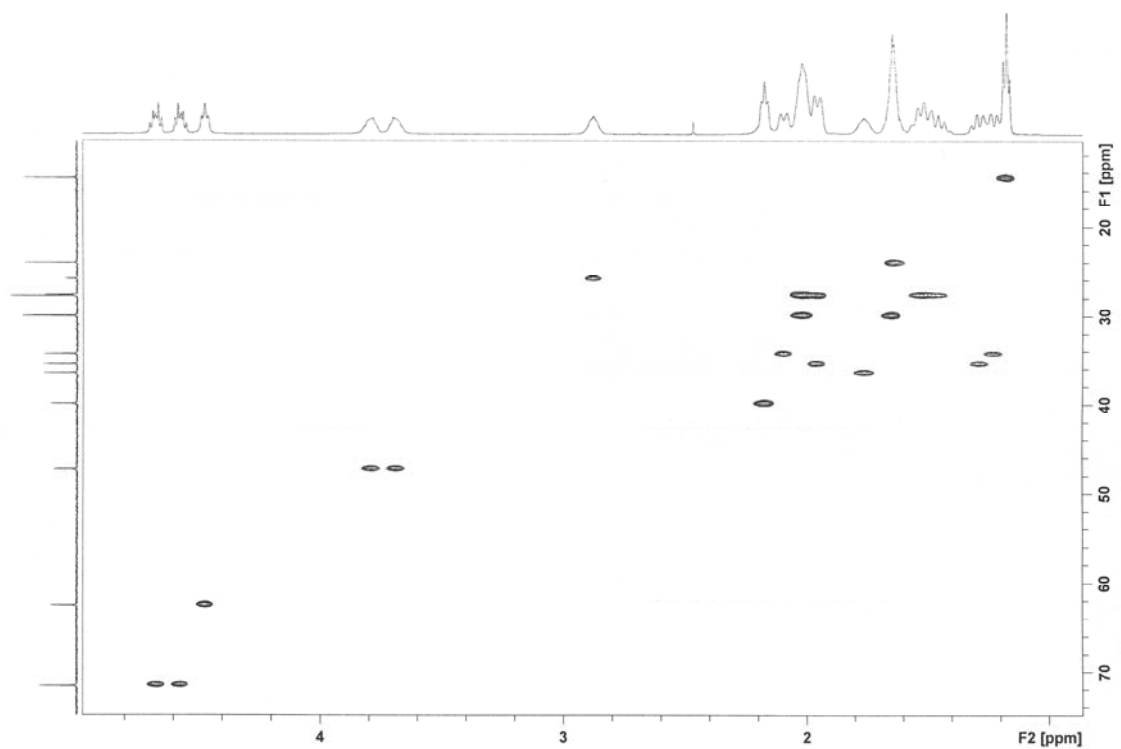
Slika P63. HSQC spektar liganda **L4**, sniman u TFA.



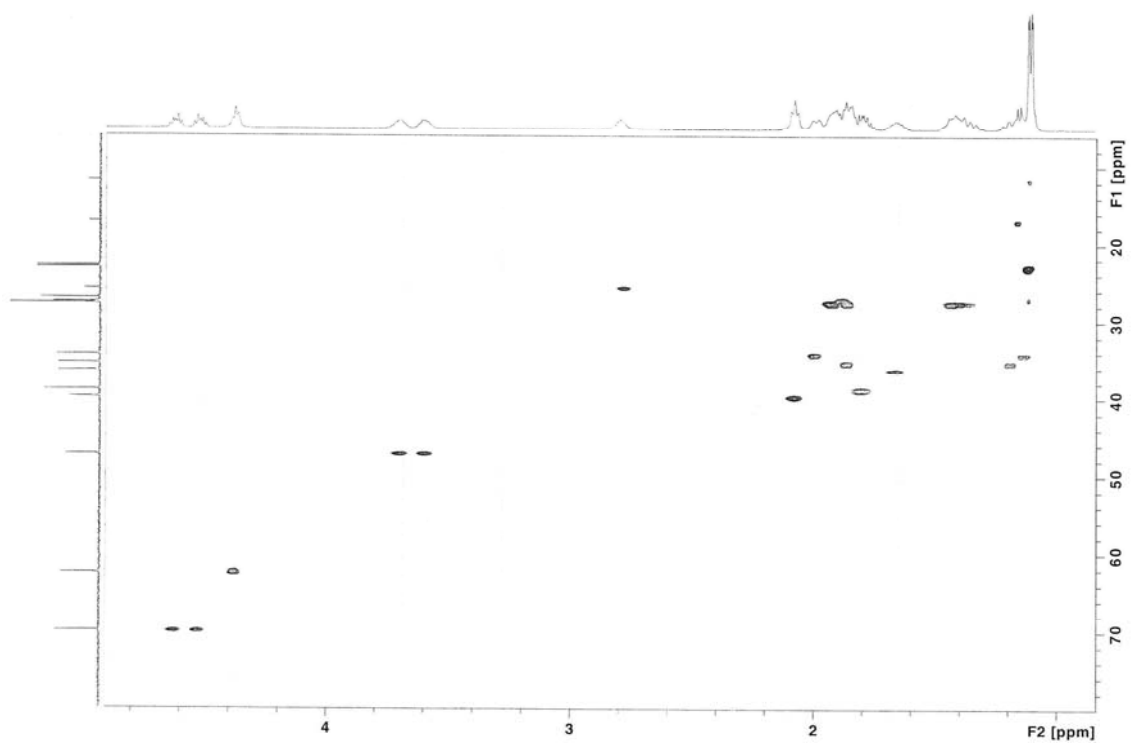
Slika P64. HSQC spektar liganda **L5**, sniman u TFA.



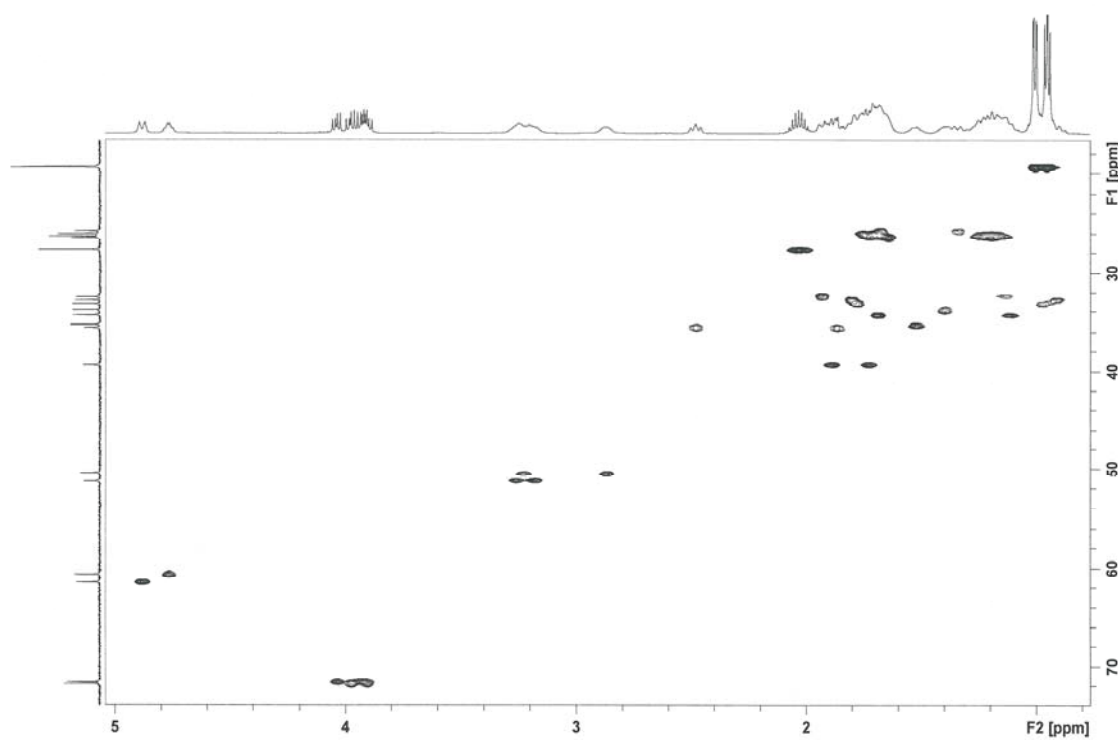
Slika P65. HSQC spektar liganda L6, sniman u TFA.



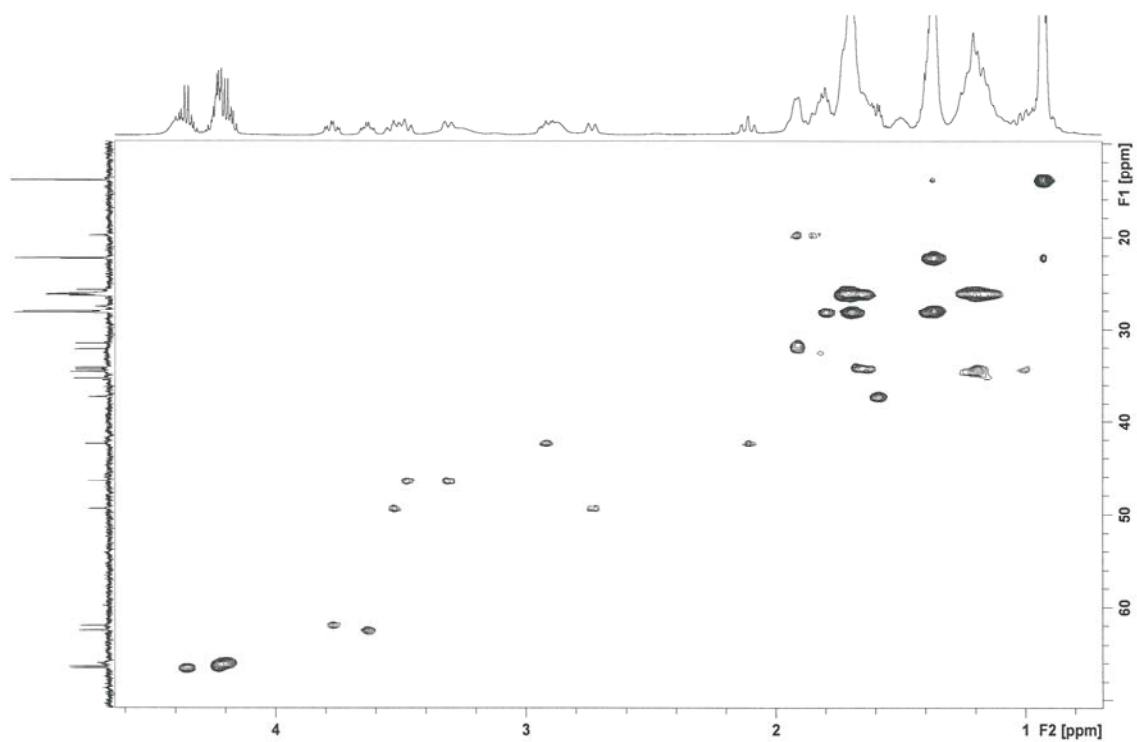
Slika P66. HSQC spektar liganda L7, sniman u TFA.



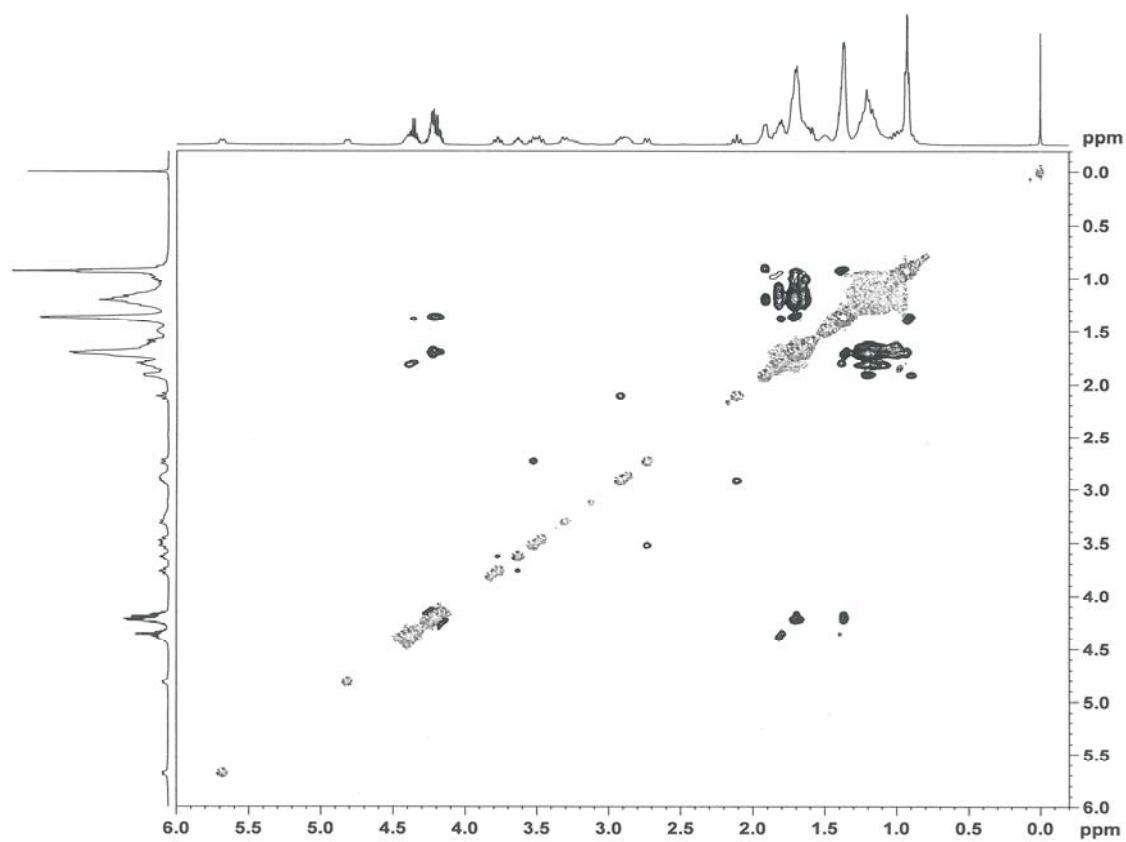
Slika P67. HSQC spektar liganda **L8**, sniman u TFA.



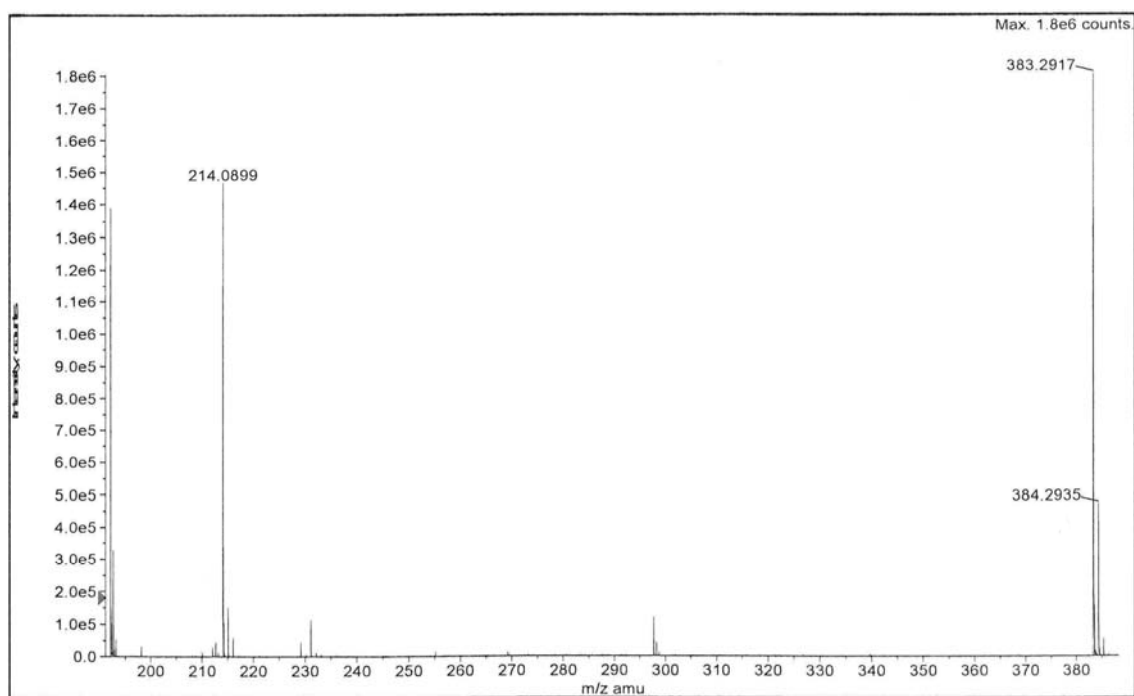
Slika P68. HSQC spektar kompleksa **K3**, sniman u CDCl₃.



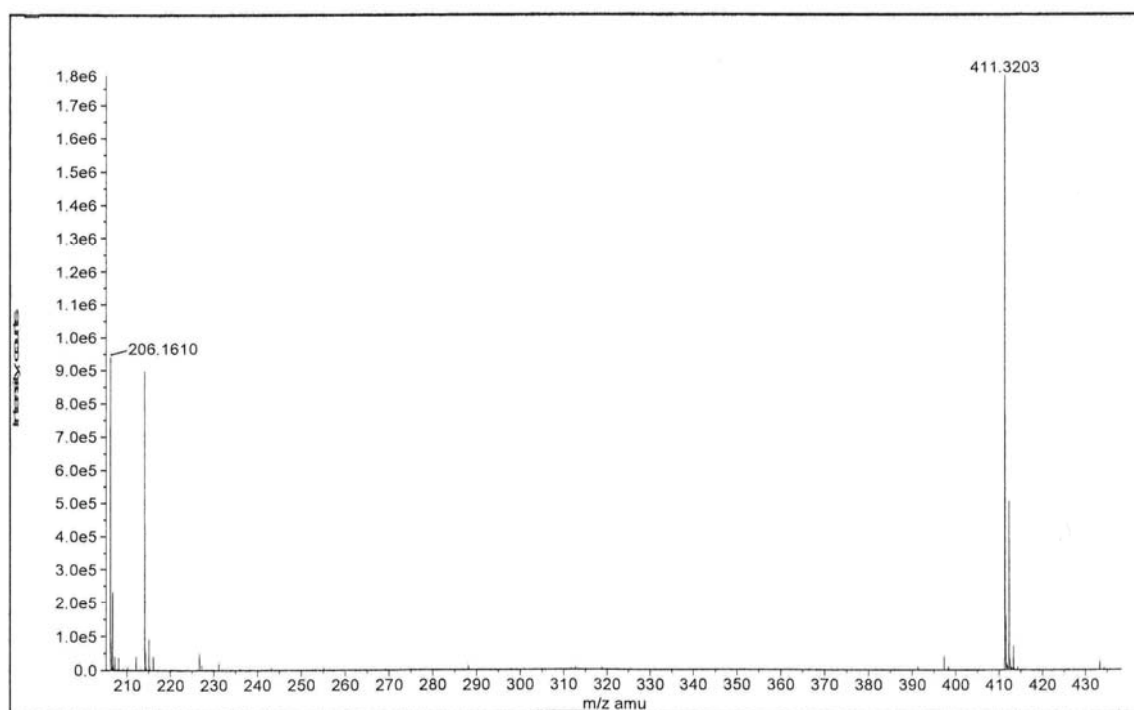
Slika P69. HSQC spektar kompleksa **K4**, sniman u CDCl_3 .



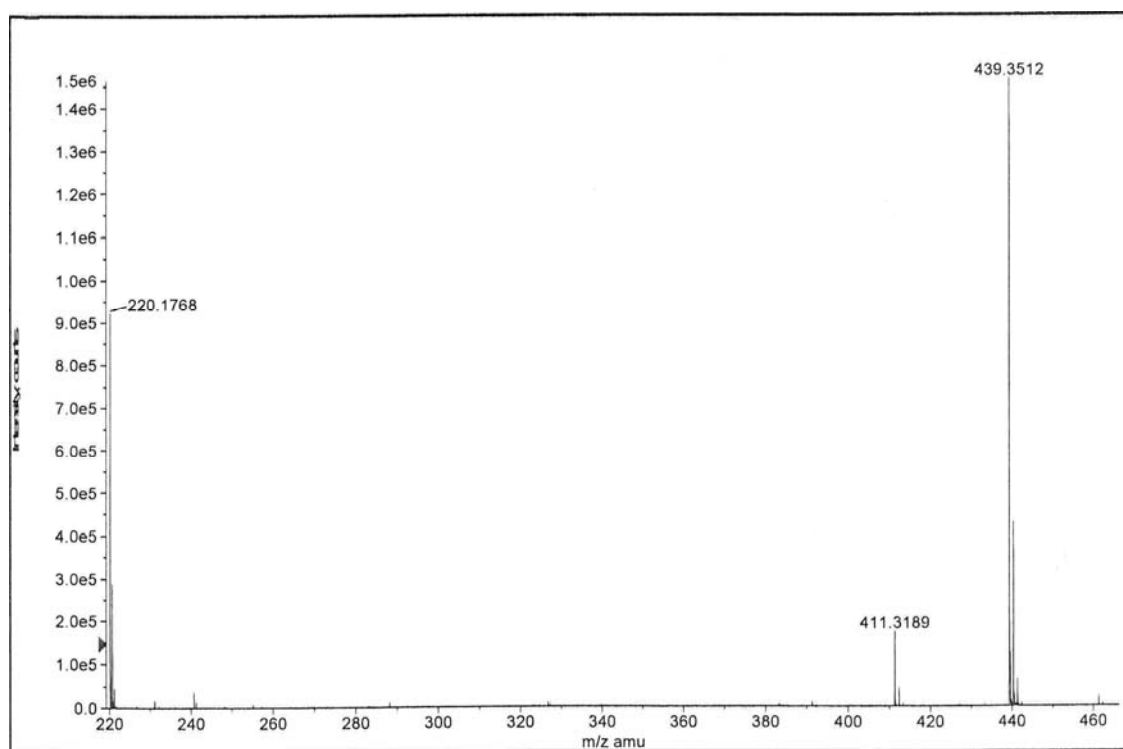
Slika P70. NOESY spektar kompleksa **K4**, sniman u CDCl_3 .



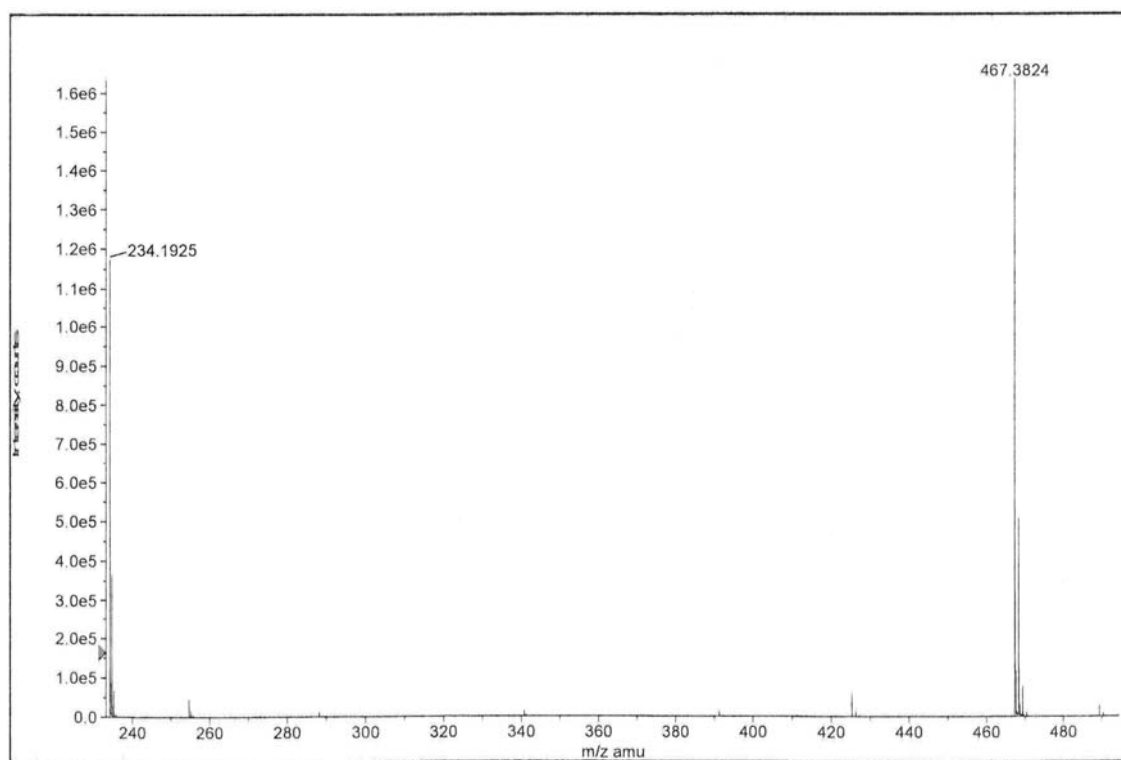
Slika P71. Maseni spektar liganda L1.



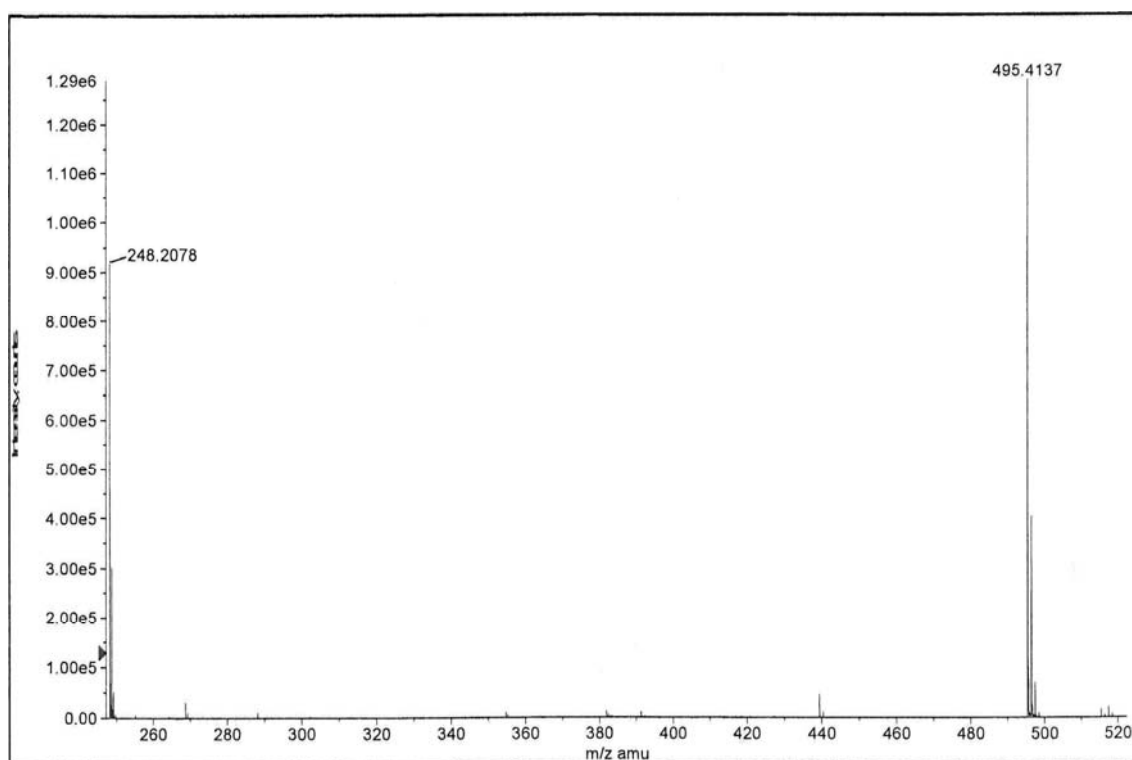
Slika P72. Maseni spektar liganda L2.



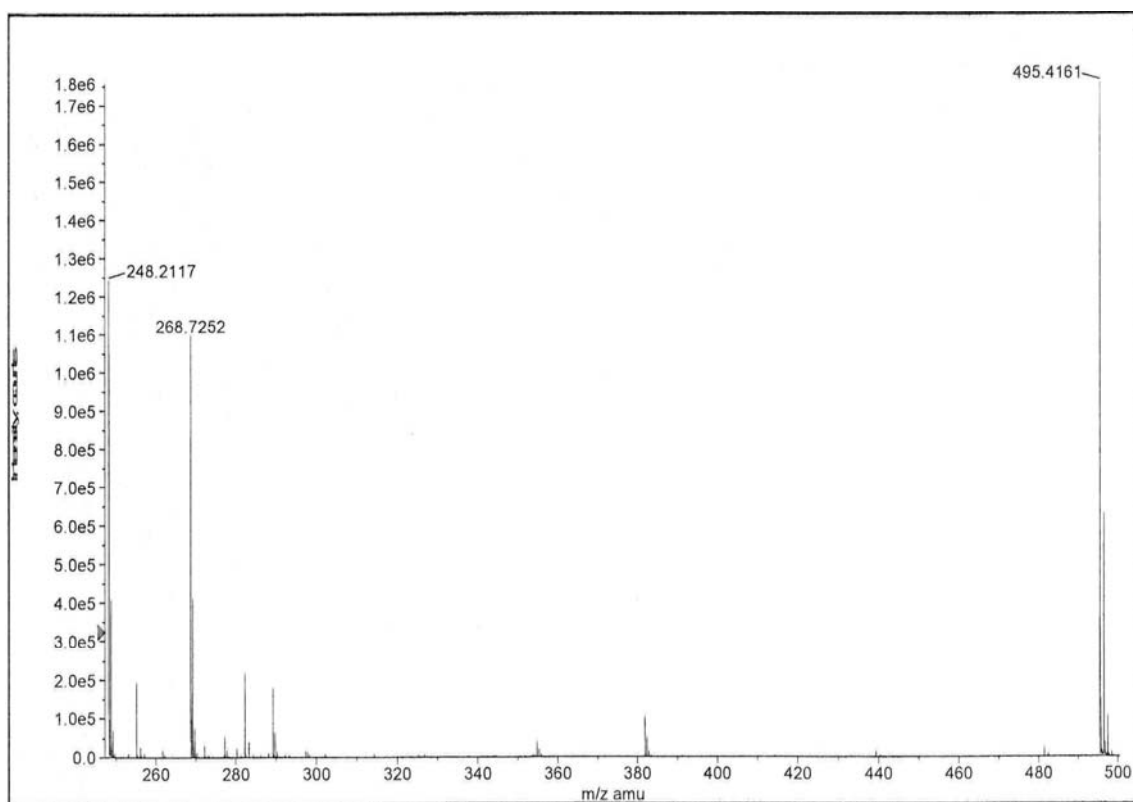
Slika P73. Maseni spektar liganda L3.



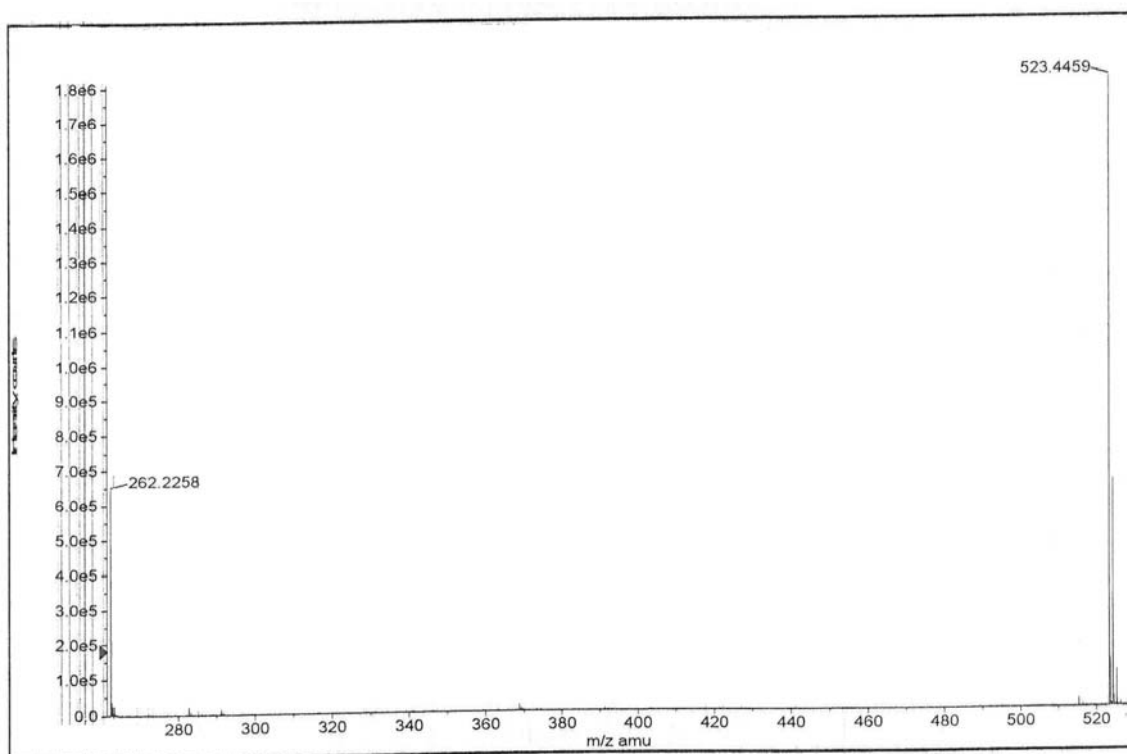
Slika P74. Maseni spektar liganda L4.



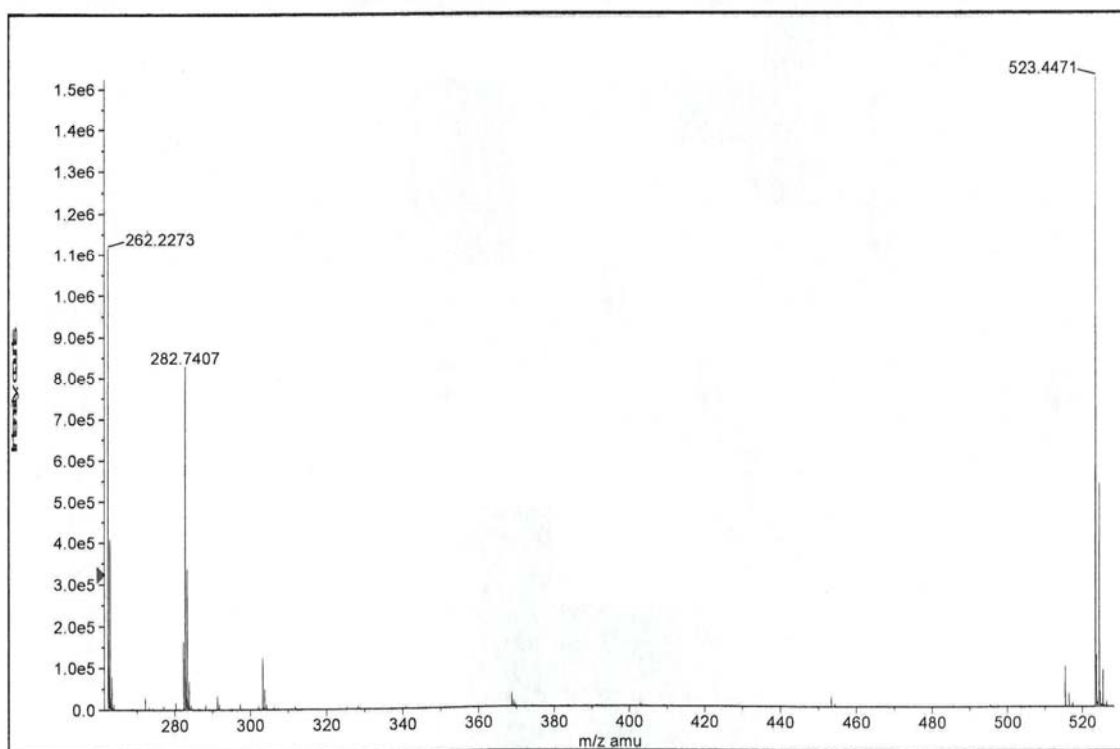
Slika P75. Maseni spektar liganda L5.



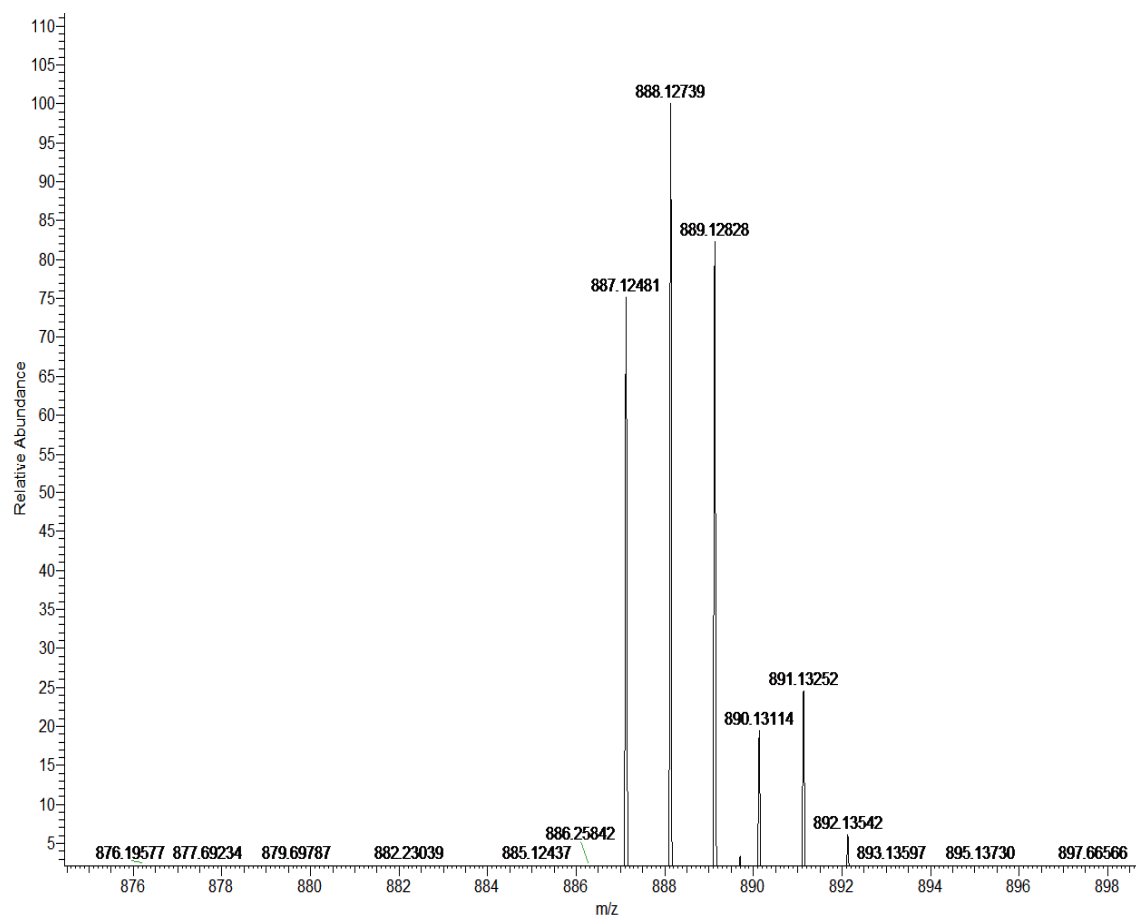
Slika P76. Maseni spektar liganda L6.



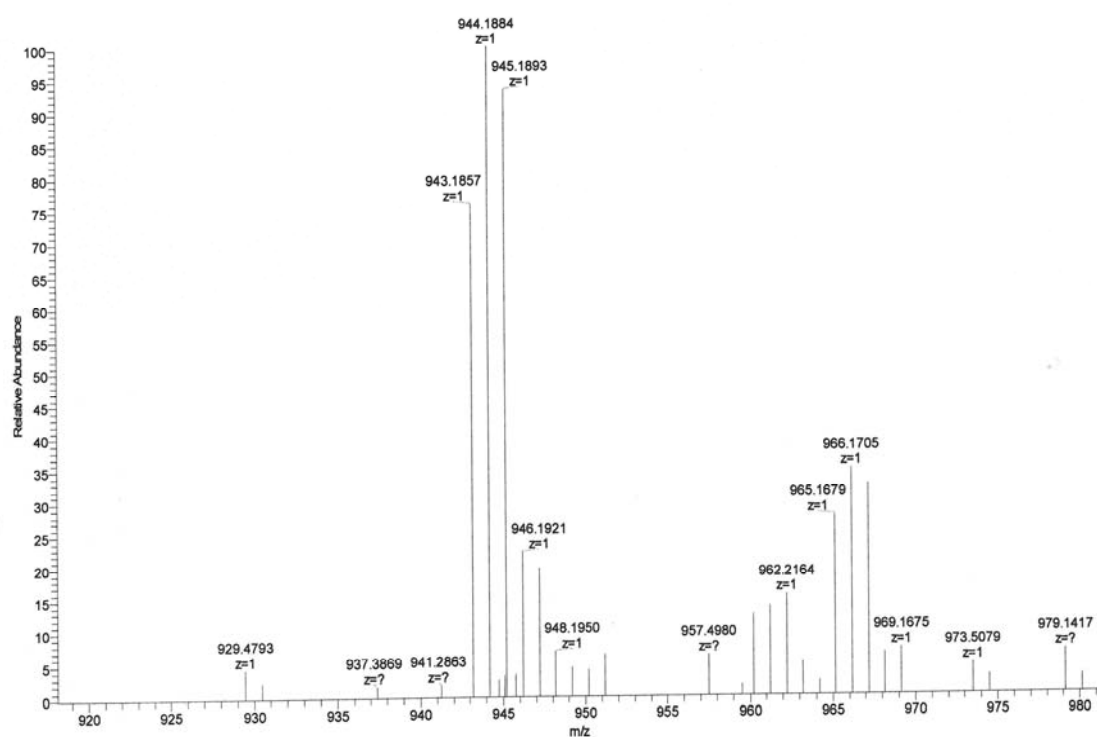
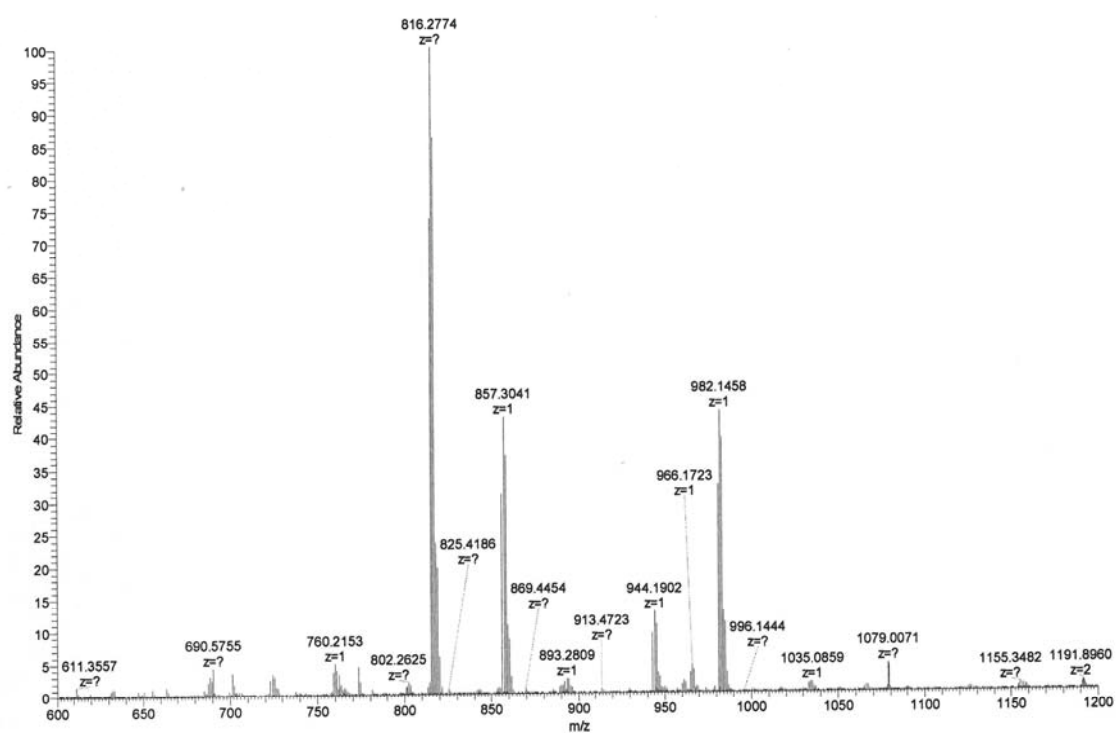
Slika P77. Maseni spektar liganda L7.



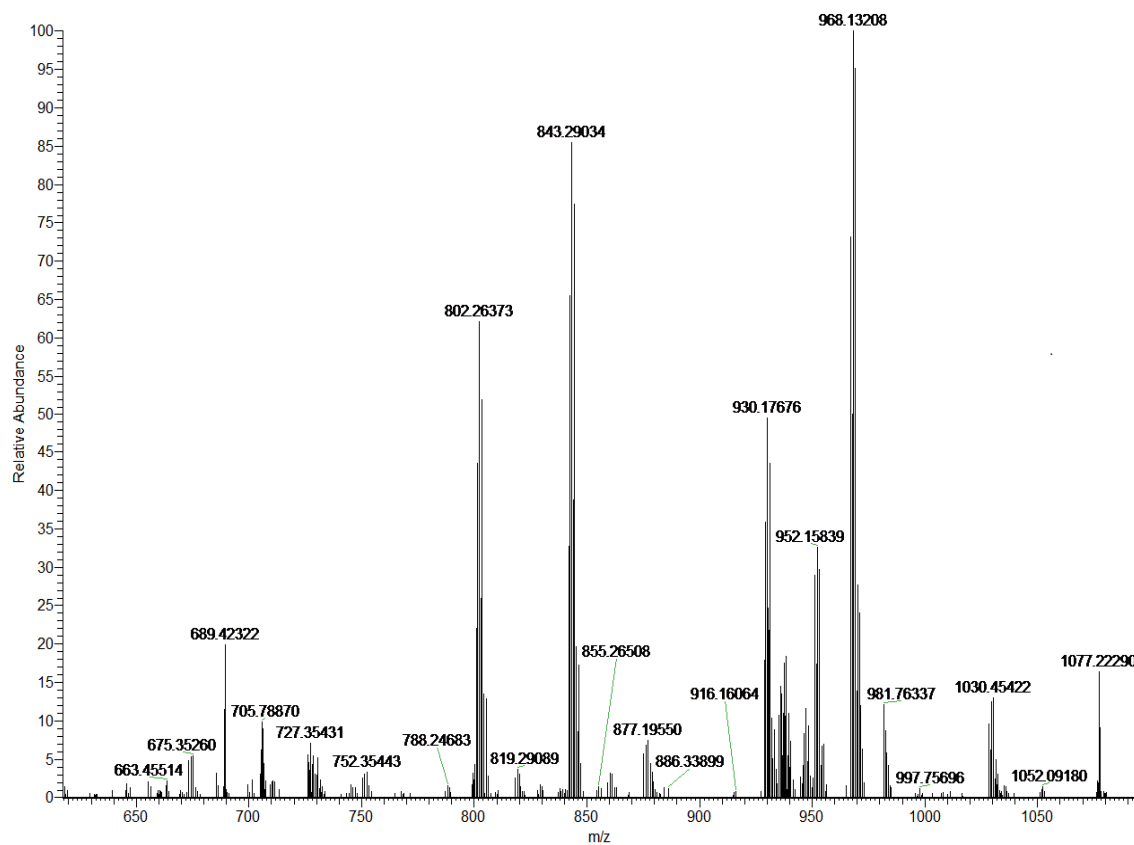
Slika P78. Maseni spektar liganda L8.



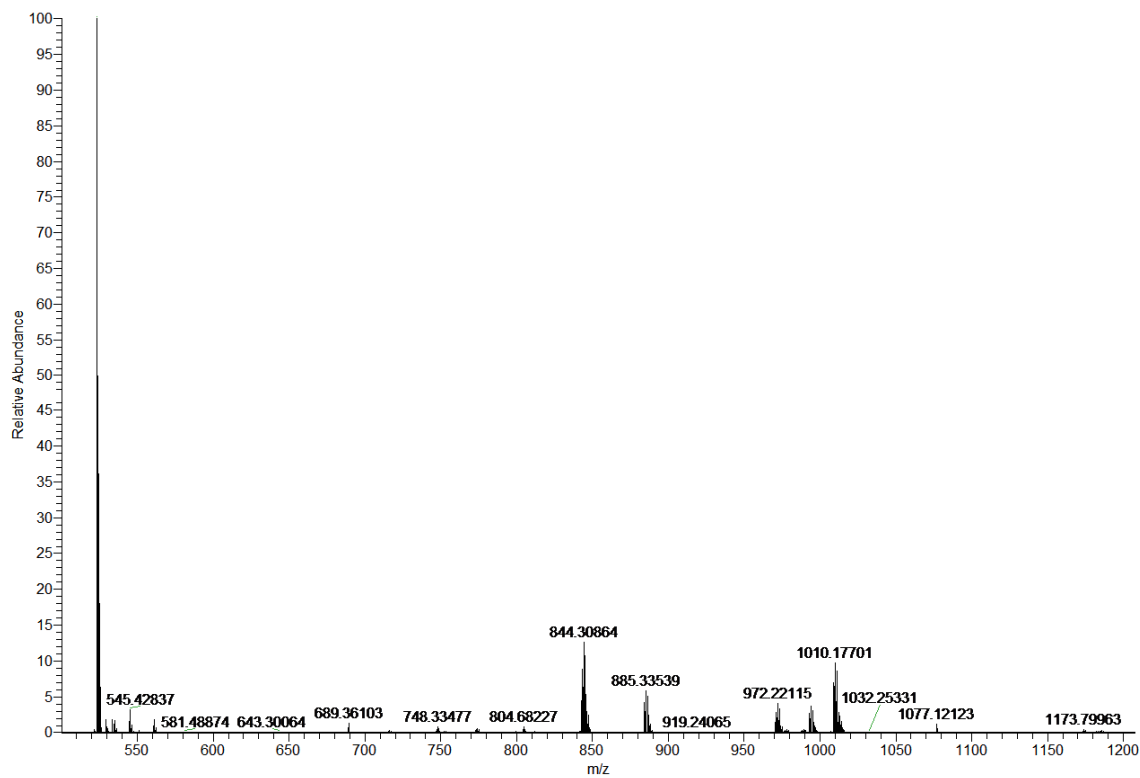
Slika P79. Maseni spektar kompleksa K1.



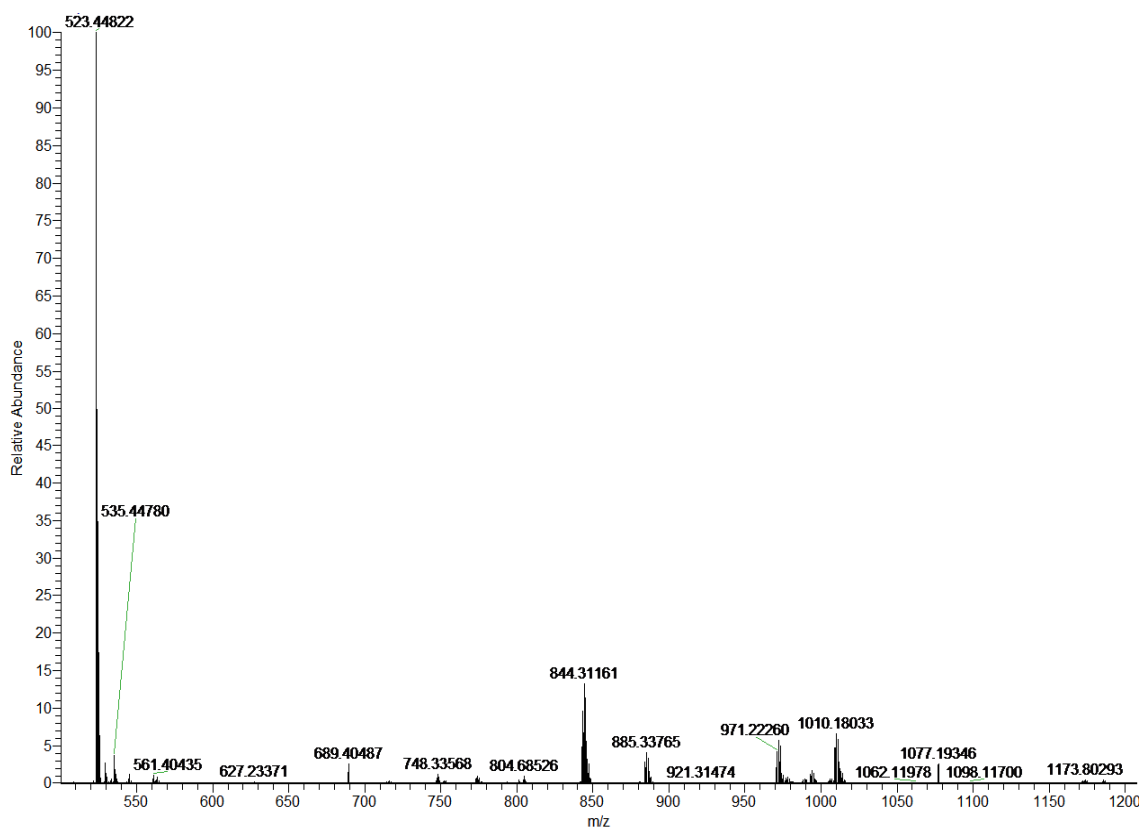
Slika P80. Maseni spektar kompleksa K2.



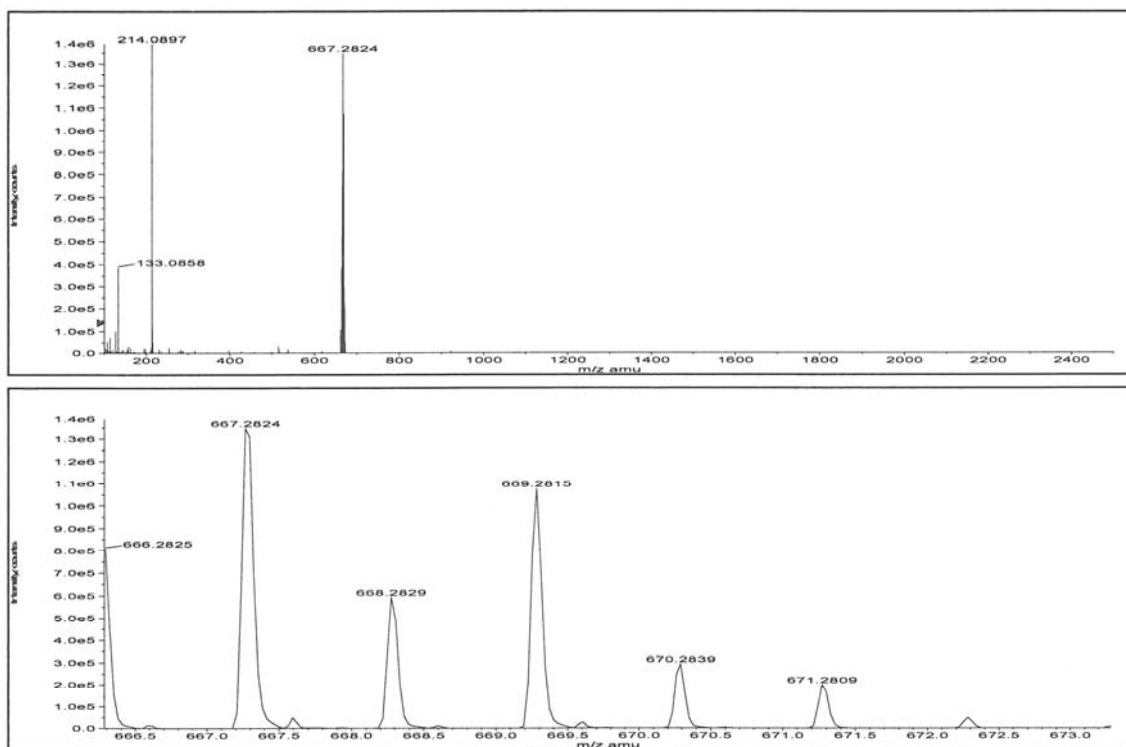
Slika P81. Maseni spektar kompleksa K3.



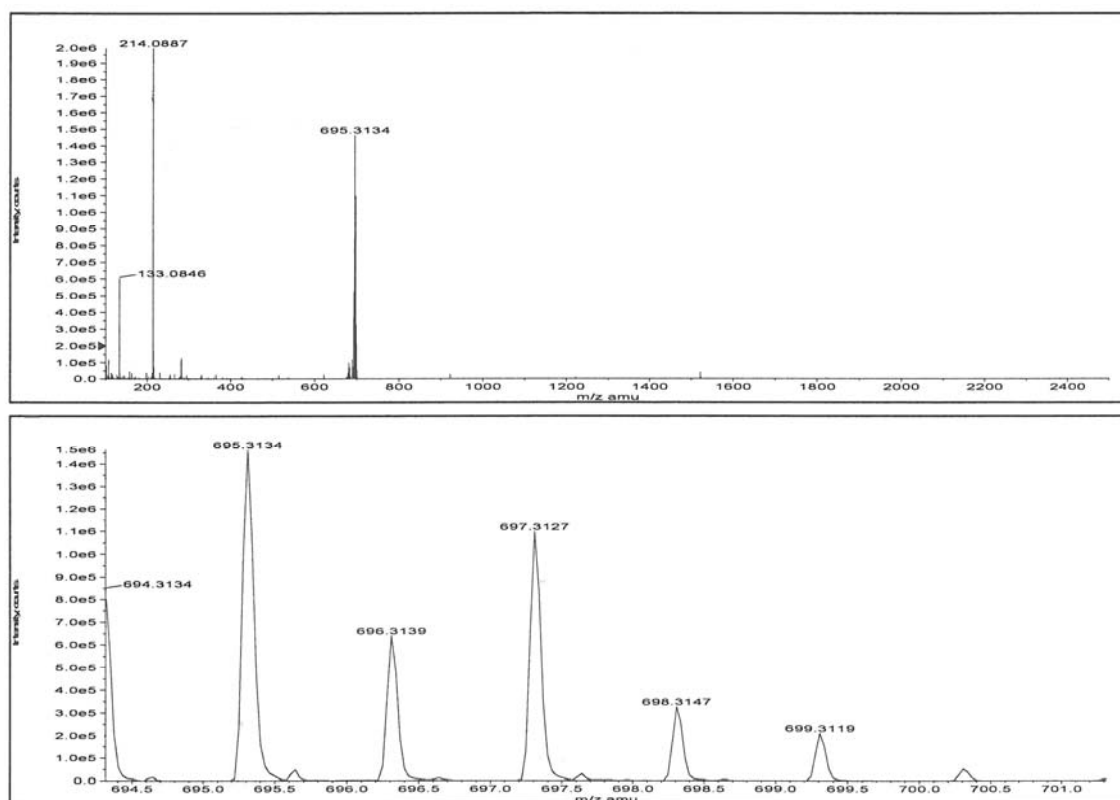
Slika P82. Maseni spektar kompleksa K4.



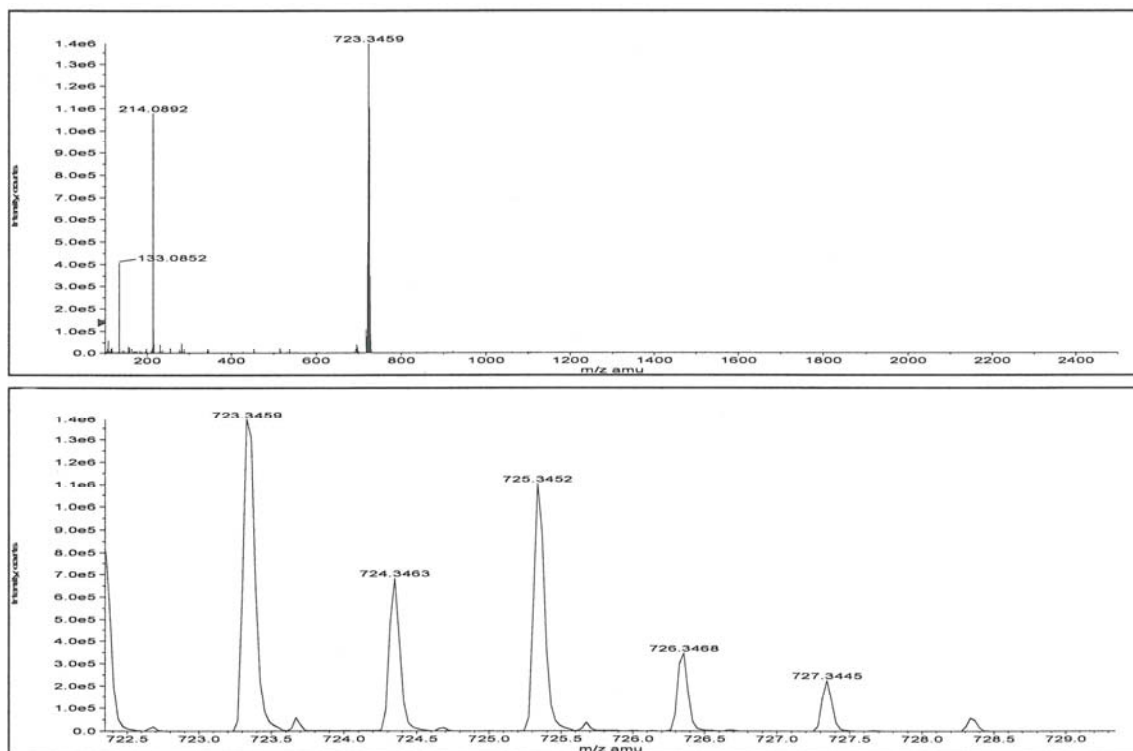
Slika P83. Maseni spektar kompleksa K5.



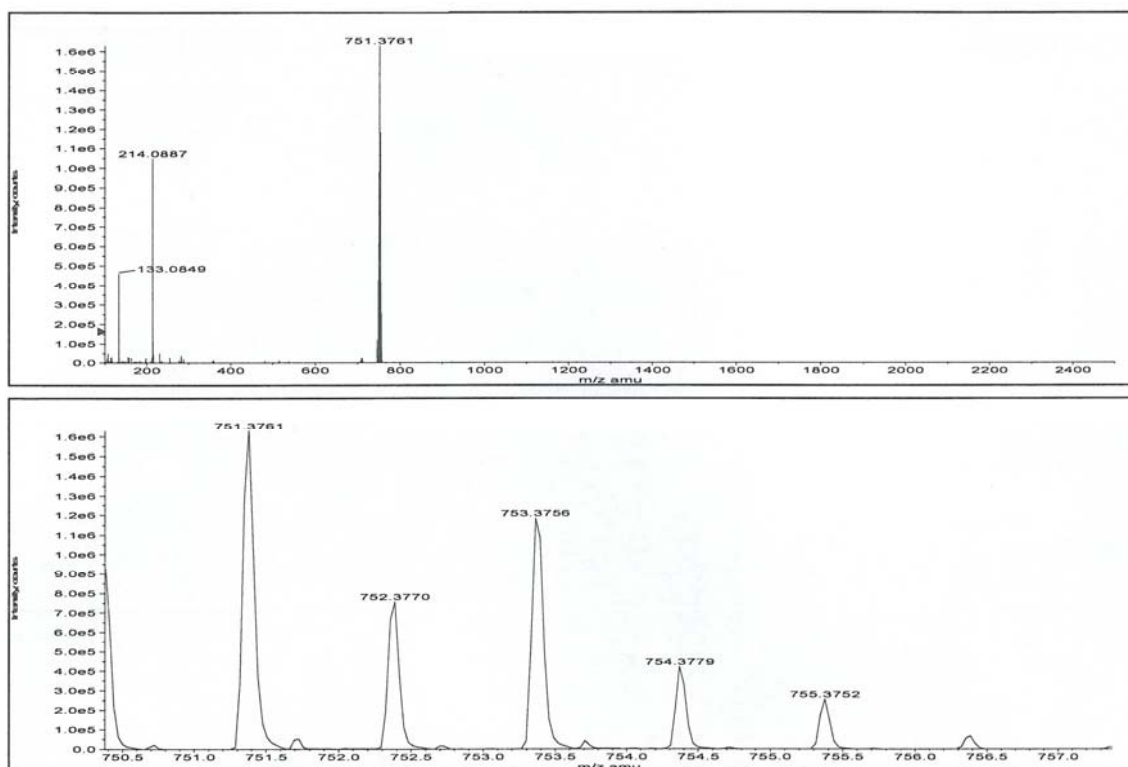
Slika P84. Maseni spektar kompleksa K6.



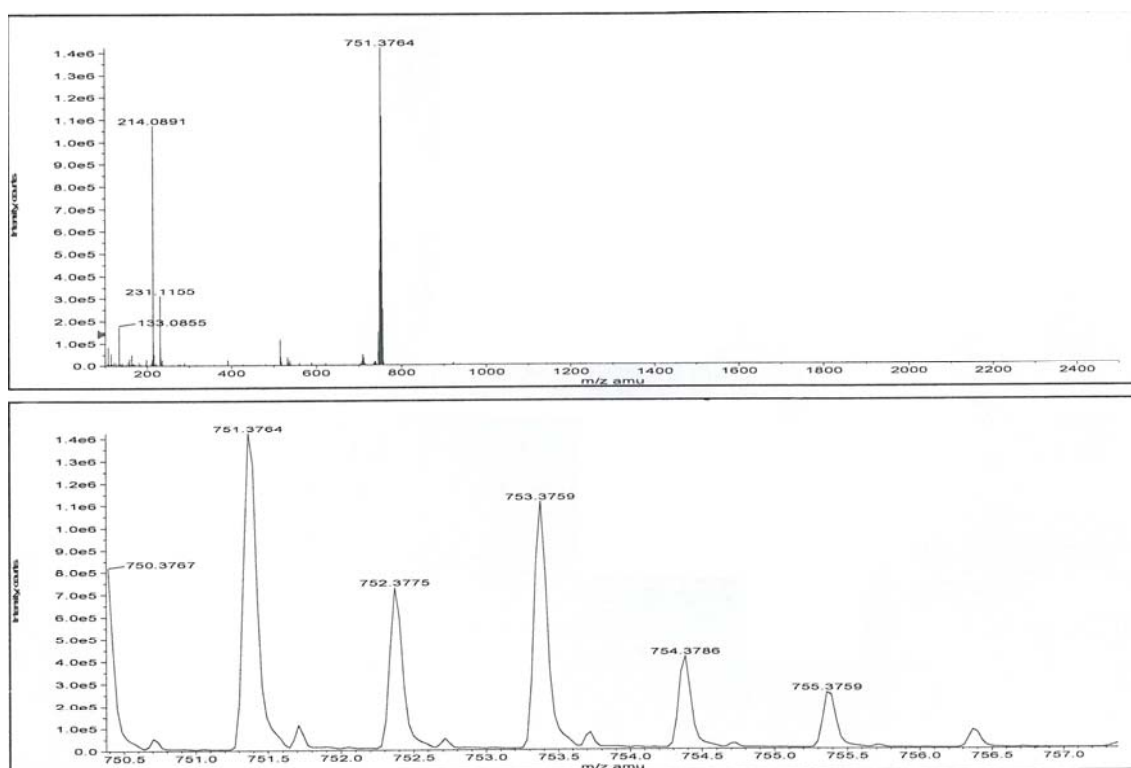
Slika P85. Maseni spektar kompleksa K7.



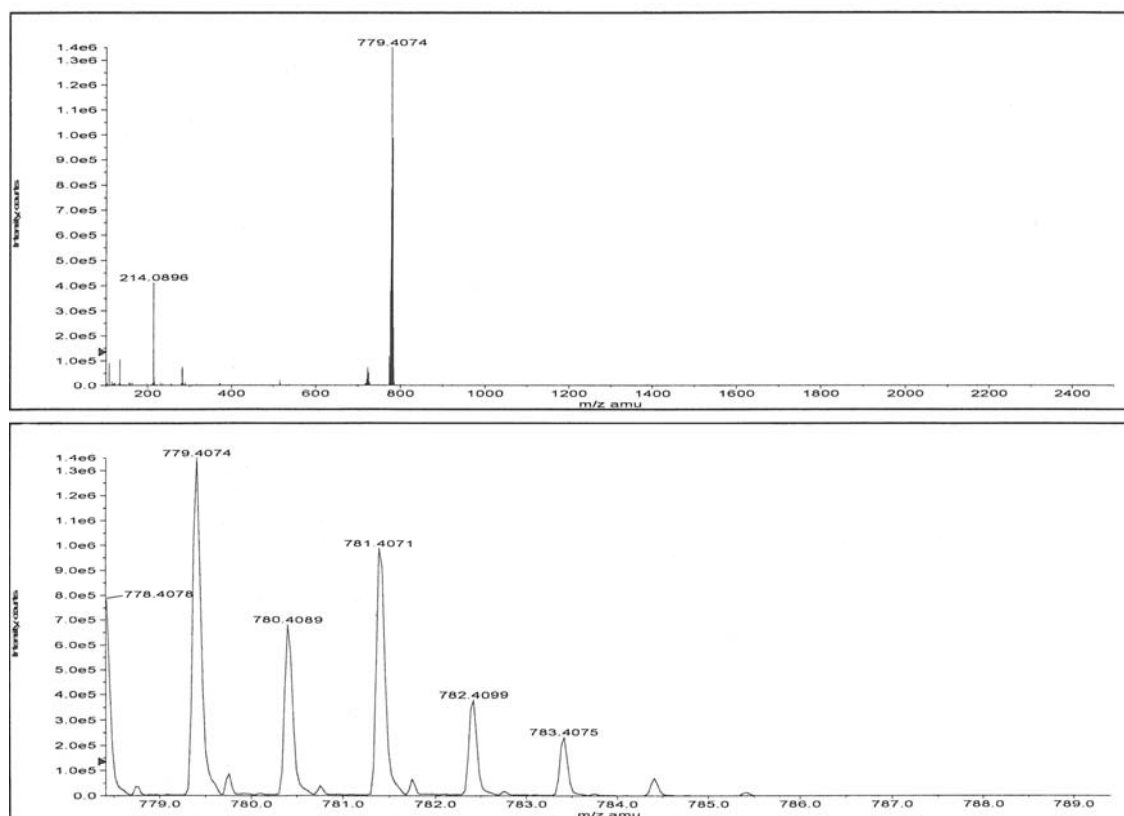
Slika P86. Maseni spektar kompleksa K8.



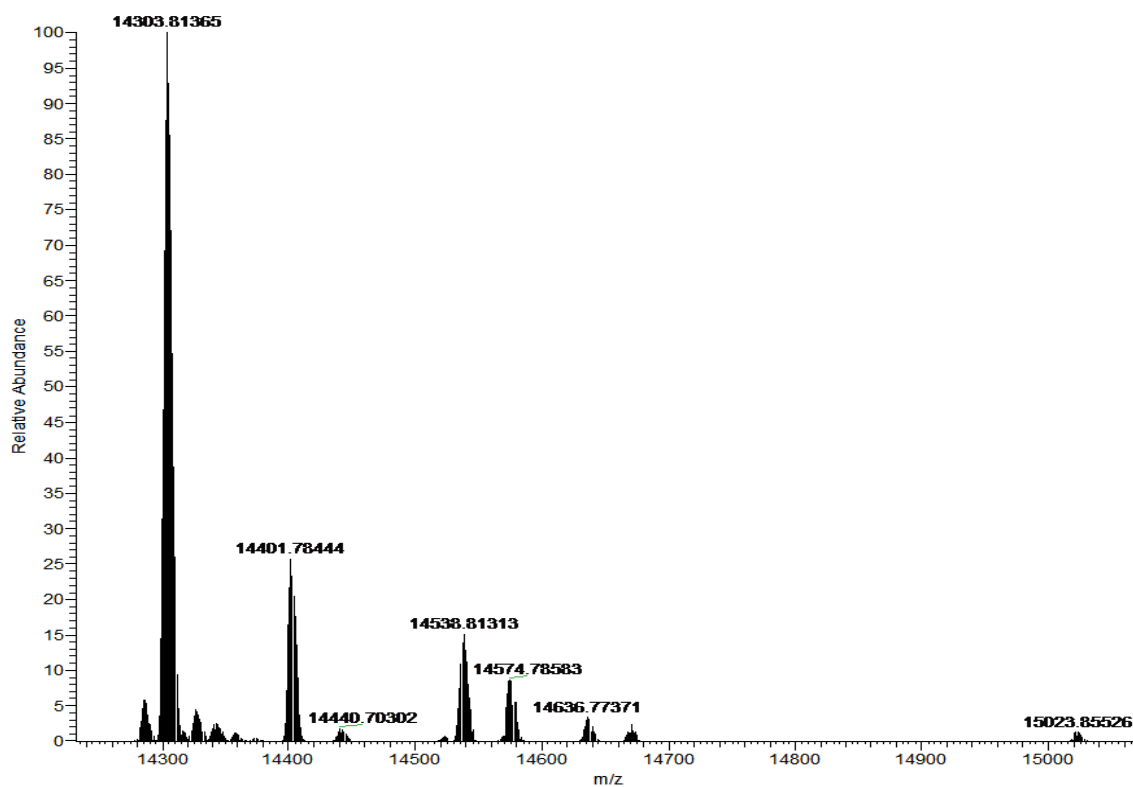
Slika P87. Maseni spektar kompleksa K9.



Slika P88. Maseni spektar kompleksa K10.



Slika P89. Maseni spektar kompleksa K11.



Slika P90. Maseni spektar lizozima tretiranog kompleksom K10.

Biografija autora

Aleksandar Savić rođen je 1983. godine u Tuzli, Bosna i Hercegovina. Osnovnu školu i gimnaziju završio je u Zaječaru. Na Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu, studijska grupa Diplomirani hemičar, upisao se 2002. godine. Diplomski rad pod nazivom: "Sinteza i karakterizacija kompleksa Ru(II) sa dimetil-(*S,S*)-etilendiamin-*N,N'*-di-2-(3-cikloheksil)-propionat dihidrohloridnim ligandom" uradio je pri katedri za Opštu i neorgansku hemiju, pod rukovodstvom dr Sanje Grgurić Šipka, vanrednog profesora Hemijskog fakulteta. Diplomirao je maja 2009. godine sa prosečnom ocenom 9,20. Iste godine je upisao doktorske studije na Hemijskom fakultetu.

Svoj rad na Hemijskom fakultetu u Beogradu započeo je 2009. godine, kao istraživač pripravnik pri Katedri za Opštu i neorgansku hemiju. U maju 2011. godine izabran je za asistenta na Hemijskom fakultetu.

U toku doktorskih studija, kao dobitnik stipendije, učestvovao je u Letnjoj školi medicinske hemije u Urbinu, Italija (jul 2012). Takođe, u okviru COST akcije, boravio je u istraživačkoj grupi profesora Mesorija u Firenci, Italija (januar 2014-mart 2014).

Objavljeni naučni radovi koji su direktno proistekli iz teze:

1. A. Savić, M. Dulović, J. Poljarević, S. Misirlić Denčić, M. Jovanović, A. Bogdanović, V. Trajković, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, I. Marković: Synthesis, and *in vitro* anticancer activity of ruthenium-cymene complexes with cyclohexyl derivatives of ethylenediamine-*N,N'*-diacetate type ligands, *ChemMedChem*, 6, **2011**, 1884-1891. IF(2011) = 3,445, 12/59, *Chemistry, Medicinal*, ISSN 1860-7187.
2. M. Mojić*, A. Savić*, V. B. Arion, J. M. Poljarević, Đ. Miljković, T. J. Sabo, S. Mijatović, D. Maksimović-Ivanić, S. Grgurić-Šipka: Synthesis, X-ray structure and strong *in vitro* cytotoxicity of novel organoruthenium complexes, *Journal of Organometallic Chemistry*, 749, **2014**, 142-149. *equally contributed, IF(2011) = 2,085, 18/44. *Chemistry, Inorganic&Nuclear*, ISSN 0022-328X.
3. A. Savić, S. Misirlić Denčić, M. Dulović, L. 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**, 73-80. IF(2012) = 1,747, 33/57, *Chemistry, Organic*, ISSN 0045-2068.
4. A. Savić, L. Filipović, S. Arandžević, B. Dojčinović, S. Radulović, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: Synthesis, characterization and cytotoxic activity of novel platinum(II) iodido complexes, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2014**, 10.1016/j.ejmech.2014.05.060. IF(2012) = 3,849, 9/59, *Chemistry, Medicinal* ISSN 0223-5234.

Radovi u pripremi

1. A. Savić, T. Marzo, L. Massai, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, L. Messori: Reactions of cytotoxic metallodrugs with proteins explored within nonaqueous solvent.
2. A. Savić, M. Jovanović, S. Misirlić Denčić, M. Dulović, T. J. Sabo, I. Marković, S. Grgurić-Šipka: Anticancer potency of novel platinum(II) iodido with ethyl and *n*-butyl esters of (*S,S*)-1,3-propanediamine-*N,N'*-di-2-(cyclohexyl)propanoic acid.

Saopštenja:

1. M. Dulovic, A. Savić, S. Misirlic-Dencic, V. Bumbasirevic, T. Zivanovic-Radnic, A. Isakovic, M. Jovanovic, Z. Pavlovic, A. Isakovic, S. Grguric-Sipka, I. Markovic: Anti-leukaemic activity of novel Ru(II) complex, *Eighth international conference on Mechanisms of cell death and disease: advances in therapeutic intervention and drug development*, Cascais, Portugal, 14-18 October, 2010, Abstract book poster 16.
2. M. Dulovic, A. Savić, S. Misirlic-Dencic, V. Bumbasirevic, T. Zivanovic-Radnic, J.A. Isakovic, M. Jovanovic, Z. Pavlovic, Z. Stanojevic, M.A. Isakovic, S. Grguric-Sipka, I. Markovic: Anti-tumor activity of novel Ru(II) complex on rat astrocytoma C6 cell line, *International symposium one hundred years of Ivan Djaja's (Jean Giaja)*, Belgrade, Serbia, 10-14 September, 2010, Book of abstracts pp. 126.
3. A. Savić, Lj.E. Mihajlović, M. Dulović, I. Marković, T.J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: New ruthenium(II) complexes with anti-leukaemic activity, *49th Meeting of Serbian Chemical Society*, oral presentation, Kragujevac, Serbia, 13-14 May, 2011.
4. A.R. Savić, Lj.E. Mihajlović, J. Poljarević, M. Dulović, I. Marković, T.J. Sabo, S. Grgurić-Šipka, New ruthenium(II) complexes with anti-leukaemic activity, *European School of Medicinal Chemistry*, Urbino, Italy, 2-7 July, 2012.
5. M. Dulović, S. Misirlić Denčić, A. Savić, M. Jovanović, T.J. Sabo, I. Marković: Mitohondrije i slobodni radikali u biomedicini, *II kongres Srpskog Društva za mitohondrijalnu i slobodnoradikalnu fiziologiju*, 28.09.2013. Niš, Srbija, Knjiga rezimea str. 30.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани Александар Р. Савић

број индекса ДХ19/2009

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Комплекси платине(II) и рутенијума(II) са диаминским лигандима:
синтеза, карактеризација и цитотоксичност

- 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, 30.5.2014.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Александар Р. Савић

Број индекса ДХ19/2009

Студијски програм Доктор хемијских наука

Наслов рада: Комплекси платине(II) и рутенијума(II) са диаминским лигандима: синтеза, карактеризација и цитотоксичност

Ментор др Сања Гргурић Шипка

Потписани Александар Савић

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, 30.5.2014.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

Комплекси платине(II) и рутенијума(II) са диаминским лигандима: синтеза, карактеризација и цитотоксичност

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).

У Београду, 30.5.2014.

Потпис докторанда

