

З А Х Т Е В

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији за кандидата на докторским студијама

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

КАНДИДАТ : **ЉИЉАНА (ЕМИЛИЈА) МИХАЈЛОВИЋ-ЛАЛИЋ**

студент докторских студија на студијском програму **ХЕМИЈА**

пријавио је докторску дисертацију под називом: **Синтеза, карактеризација и редокс понашање Pt(II) и Pt(IV) комплекса са N,N и N,S лигандима**

из научне области **ХЕМИЈА - ОПШТА И НЕОРГАНСКА ХЕМИЈА**

Универзитет је дана **29. 05. 2014.** својим актом под бр. **61206-2420/2-14** дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

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

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној **10. 04. 2014.** године одлуком факултета под бр. **408/2**, у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослена
1.	др Тибор Сабо	редовни професор	Хемија - Општа и неорганска хемија	Хемијски факултет
2.	др Сања Гргурић Шипка	ванредни професор	Хемија - Општа и неорганска хемија	Хемијски факултет
3.	др Драган Манојловић	ванредни професор	Хемија - Аналитичка хемија	Хемијски факултет
4.	др Ивана Стојковић Симатовић	доцент	Физичка хемија - Електрохемија	Факултет за физичку хемију

Датум стављања извештаја Комисије и докторске дисертације на увид јавности: **07. 10. 2014.** године.
Наставно-научно веће Хемијског факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној дана **13. 11. 2014.** године.

ДЕКАН ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА

проф. др Бранимир Јованчићевић

- Прилог: 1. Одлука наставно-научног већа о усвајању извештаја комисије ✓
2. Извештај комисије о оцени докторске дисертације ✓
3. Примедбе дате у току стављања извештаја и доикторске дисертације на увид јавности, уколико је таквих примедби било и мишљење комисије о примедбама
4. Електронска верзија ✓

На основу члана 43. Статута Хемијског факултета чланови Наставно-научног већа Хемијског факултета су дана **13. 11. 2014.** године донели следећу

О Д Л У К У

408/7

Члан 1.

Прихвата се Извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације **Љиљане (Емилија) Михајловић-Лалић**, мастера физикохемичара, под насловом:

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

Члан 2.

Састав комисије за оцену и одбрану: **др Тибор Сабо**, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду, ментор, **др Сања Гргурић-Шипка**, ванредни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду, ментор, **др Драган Манојловић**, ванредни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду и **др Ивана Стојковић Симатовић**, доцент Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду.

Члан 3.

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на седници одржаној дана **29.05.2014.** године дало сагласност на предлог теме докторске дисертације.

Члан 4.

Рад објављен у врхунском часопису међународног значаја (M21)

1. Lj. E. Mihajlović, A. Savić, J. Poljarević, I. Vučković, M. Mojić, M. Bulatović, D. Maksimović-Ivanić, S. Mijatović, S. Stošić-Grujičić, Đ. Miljković, S. Grgurić-Šipka, T. J. Sabo: Novel methylene modified cyclohexyl ethylenediamine-*N,N'*-diacetate ligands and their platinum(IV) complexes. Influence on biological activity, *J. Inorg. Biochem.* 109 (2012) 40-48. IF(2012) = 3,197; 10/44; Chemistry, Inorganic & Nuclear, ISSN 0162-0134.

Рад објављен у истакнутом часопису међународног значаја (M22)

1. Lj. E. Mihajlović, D. Stanković, J. Poljarević, D. Manojlović, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: Electrochemistry and Bioactivity Relationship of Pt(IV) Complexes with Cyclohexyl-Functionalized Ethylene diamine-*N,N'*-Diacetate-Type Ligands, *Int. J. Electrochem. Sci.* 8 (2013) 8433-8441. IF(2011) = 3,729; 9/27; Electrochemistry, ISSN 1452-3981.

Радови објављен у истакнутом часопису међународног значаја (M23)

1. Lj. E. Mihajlović-Lalić, A. Savić, G. Brađan, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: Novel methylene bridged ethylenediamine-type ligands: synthesis and spectral characterization, *J. Serb. Chem. Soc.* doi:10.2298/JSC140212042M, IF(2013) = 0,884; 99/148; Chemistry, ISSN 0352-5

Члан 5.

Одлуку, Извештај комисије и Захтев доставити надлежном органу Универзитета у Београду. Одлуку доставити члановима Комисије, докторанту и Архиви Факултета.

ДЕКАН ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА

проф. др Бранимир Јованчићевић

Универзитет у Београд - Хемијски факултет
Наставно - научном већу Хемијског факултета

Предмет: Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Љиљане Е. Михајловић-Лалић, истраживача-сарадника Иновационог центра Хемијског факултета, Универзитета у Београду.

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 15. маја 2014. године смо одређени за чланове комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Љиљане Е. Михајловић-Лалић, истраживача-сарадника Иновационог центра Хемијског факултета, Универзитета у Београду, под насловом:

**„Синтеза, карактеризација и редокс понашање Pt(II) и Pt(IV)
комплекса са N,N и N,S лигандима“**

Након што смо поднели дисертацију прегледали, подносимо Већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација Љиљане Е. Михајловић-Лалић под наведеним насловом написана је на 111 страна А4 формата (проред 1,5), садржи 97 слика (од тога 65 у Прилогу), 13 табела и 11 шема. Рад обухвата следећа поглавља: 1. Увод (1 страна), 2. Општи део (24 страна), 3. Експериментални део (16 страна), 4. Резултати и дискусија (21 страна), 5. Закључак (2 стране), 6. Литература (7 страна, 129 цитата) и 7. Прилог (35 страна). Поред наведеног, докторска дисертација садржи: Захвалницу (1 страна), Садржај (3 стране), Извод на српском и енглеском језику (по две стране), Листу скраћеница (2 стране) и Биографију кандидата са листом радова и саопштења.

У **Уводу** је у кратким цртама описан значај комплексних једињења платине у различитим областима истраживања. С обзиром на то да велики број платинских комплекса испољава снажно антитуморско дејство, јасно је да се њихов највећи допринос огледа на пољу бионеорганске и медицинске хемије. Савремени синтетички трендови диктирају разноврсност структура како у одабиру металног центра тако и у примени погодног лигандног система. Поред тога од значаја је и испитивање оксидо-редукционих својстава синтетисаних комплекса. С тим у вези, циљ ове дисертације је синтеза и карактеризација нових комплекса платине са N,N и N,S донорским лигандима и детаљно описивање њиховог редокс понашања.

У Општем делу су описана хемијска својства платине и њене карактеристике као централног металног јона у комплексним једињењима. Посебно је наглашена непроцењива улога платинских комплекса у антитуморској терапији. У том смислу, поменути су хемиотерапеутици у модерној клиничкој пракси (цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин) с освртом на њихове предности и недостатке. Имајући у виду огроман број синтетисаних комплекса платине, значајан сегмент Општег дела обухвата и класификацију основних синтетичких процедура у неорганској хемији. Све процедуре су приказане шематски уз одговарајућа објашњења. У наставку текста је истакнут значај избора лиганда, његова улога и утицај на хемијска и биолошка својства потенцијално активних комплекса платине. Детаљно је описан значај лиганда етилендиаминског типа који, због свог снажног антитуморског дејства, подржавају идеју о синергизму између метала и лиганда. Такође је описан и допринос полидентатних лиганда овој области истраживања, у првом реду једињења са *N,S* и *N,O* донорским сетом атома. Посебно значајан део овог поглавља обухвата детаљан опис редокс понашања биолошки активних једињења платине који се темељи на концепту *активација путем редукције*. Многобројна истраживања су показале да је за активацију и деловање комплекса платине(IV) неопходна редукција металног центра до нижег оксидационог стања (конкретно платине(II) јона). Стога је у наставку текста дат преглед најзначајнијих студија, које су указале на неопходност испитивања оксидо-редукционих својстава синтетисаних једињења. С обзиром на то да директно утичу на успостављању везе структура-активност, указано је на њихов велики допринос при одабиру погодних кандидата за даља биолошка истраживања. У наставку текста су додатно објашњене технике које се користе за мерење електродног потенцијала (циклична волтаметрија и диференцијална пулсна волтаметрија).

Поглавље **Експериментални део** јасно и прегледно описује синтезу нових диаминских лиганда (укупно 6) и одговарајућих платина(IV) хлоридо комплекса (укупно 4), као и синтезу платина(II) комплекса (укупно 2) са раније синтетисаним тиофенолат-оксазолинским лигандом. Подаци у вези са карактеризацијом синтетисаних једињења (тачка топљења, елементална анализа, ИЦ, НМР, и УЉ/Вид спектроскопија и масена спектрометрија) су такође прегледно наведени. У наставку овог дела су додатно наведене све хемикалије и реагенси коришћени за синтезу и карактеризацију новосинтетисаних једињења као и за одређивање електродног потенцијала. Такође су наведене ћелијске линије, поступци и методе коришћене за испитивање биолошке активности.

Поглавље **Резултати и дискусија** садржи преглед резултата истраживачког рада кандидата. У складу с тим су презентовани сви синтетисани платина(II) и платина(IV) комплекси. Свака метода карактеризације је појединачно продискутована на основу добијених спектроскопских података. Поред стандардних метода карактеризације (ИЦ спектроскопије, ЕСИ-МС спектрометрије, (¹H, ¹³C) НМР

спектроскопије), кандидат је додатно користио и савремене дводимензионалне НМР методе (NOESY, (^1H , ^{13}C)HSQC) за поједина једињења као и ^{195}Pt НМР спектроскопију. За карактеризацију два комплексна једињења платине(II), добијена у монокристалном облику је примењена рендгенска структурна анализа. На овај начин је кандидат недвосмислено потврдио претпостављену структуру и састав синтетисаних једињења. У наставку поглавља представљени су резултати који се односе на испитивање цитотоксичности синтетисаних једињења на палети туморских ћелијских линија. Израчунате су IC_{50} вредности за комплексе платине(IV) и продискутоване су у складу с литературним подацима, који се односе на структурно слична једињења. Сем тога, наведени су и резултати добијени на основу испитивања механизма ћелијске смрти и истакнута је предност ове класе једињења у односу на одговарајуће аналоге. Други део поглавља обухвата резултате испитивања оксидо-редукционих својстава платинских комплекса. У њему су представљени цикловолтамограми значајни за детаљно описивање електрохемијског понашања комплексних једињења. Добијене вредности електродних потенцијала су међусобно упоређене и продискутоване у односу на податке из литературе. Додатно су вредности електродних потенцијала и IC_{50} вредности употребљене за успостављање потенцијалне корелације између електрохемијског понашања и биолошке активности синтетисаних једињења у циљу одабира најпогоднијег кандидата за даља испитивања.

У поглављу **Закључак** су прегледно сумирани резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације.

Део **Литература** обухвата радове из области истраживања од интереса за ову докторску дисертацију (укупно 129 цитата).

У **Прилогу** су представљени инфрацрвени, УЛ/Вид, масени и нуклеарно-магнетно резонантни спектри (укупно 62 слике) на основу којих су синтетисана једињења окарактерисана.

Б. Кратак опис постигнутих резултата

У оквиру овог рада су синтетисани нови лиганди етилендиаминског типа, односно диалкил естри N,N' -метилен-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил)пропанске киселине. Поменути естри (метил, етил, пропил, бутил, изобутил и изопентил естар) су добијени у реакцији аналогних диалкил естара (S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил)пропанске киселине са триацетоборхидридом и формалдехидом у одговарајућем стехиометријском односу. У наставку рада су поједини лиганди употребљени за синтезу одговарајућих платина(IV) комплекса. Комплекси платине(IV) су добијени реакцијом полазног комплекса $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$ са лигандом у молском односу 1:1, смеши дихлорметан/вода и на

температури кључања реакционе смеше. Поред платине(IV) комплекса, добијени су и комплекси платине(II) са недавно синтетисаним тиофенолат-оксазолинским типом лиганда. Реакцијом два еквивалента тиофенолат-оксазолинског лиганда са полазним комплексом $K_2[PtCl_4]$, добијен је $[Pt(S-Phoz)_2]$ у смеши диметил-сулфоксид/ацетонитрил на 60 °C. С друге стране, реакција овог лиганда са *цис*- $[PtCl_2(PPh_3)_2]$ у молском односу 2:1 је резултовала настајањем $[Pt(\eta^2S-Phoz)(\eta^1S-Phoz)(PPh_3)]$ комплекса у толуену на собној температури.

За карактеризацију синтетисаних једињења су коришћене стандардне методе: масена спектрометрија, УЛ/Вис, ИЦ и НМР спектроскопија док је њихов састав одређен елементалном анализом. Детаљном анализом спектроскопских података потврђена је октаедарска геометрија комплекса платине(IV) са бидентатно везаним лигандима. Рендгенска структурна анализа комплекса платине(II) је очекивано указала на квадратно-планарну геометрију. Структура комплекса $[Pt(S-Phoz)_2]$ је показала да је метални јон координован преко оба доhorsка атома азота и сумпора док је у комплексу $[Pt(\eta^2S-Phoz)(\eta^1S-Phoz)(PPh_3)]$ била јасна координација и трифенилфосинског дела.

За комплексна једињења платине(IV) је испитан антитуморски ефекат на различитим ћелијским линијама. У ове сврхе су коришћени стандардни тестова вијабилитета (МТТ и кристал-виолет) након истека 24 сата третмана. Затим су израчунате IC_{50} вредности односно концентрације испитиваних једињења које доводе до смањења броја живих ћелија тј. вијабилитета за 50% у односу на нетретирани, контролне, ћелије чији је вијабилитет арбитарно 100%. На овај начин је утврђено да повећање дужине алкил низа естарског дела молекула има позитиван утицај на цитотоксични ефекат те су једињења са пропил и бутил групама показале снажнији антитуморски ефекат у односу на цисплатин узет као стандард. Поред тога, новосинтетисани комплекси платине(IV) су коришћени за испитивање механизма ћелијске смрти на ћелијским линијама СТ26CL25 и НСТ116, резистентним на класичну терапију цисплатином. Утврђено је да комплекси индукују апоптозу праћену активацијом каспазе. С обзиром на то да је апоптоза у модерној литератури дефинисана као бољи начин ћелијске смрти, указано је и на велику предност ове класе једињења у односу на структурно сличне молекуле.

Оксидо-редукциона својства новосинтетисаних једињења су испитана методама цикличне и дифенцијално пулсне волтаметрије. Цикловолтамограми лиганда етилендиаминског типа су указале на дифузионо контролисан процес реверзибилног карактера. Утврђено је и да положај оксидационог односно редукционог пика зависе од волуминозности лиганда. Наиме продужавање алкил низа довело је до приметног померања оксидационог пика ка позитивнијим вредностима електродног потенцијала док се редукциони пик померао ка негативнијим вредностима електродног потенцијала. Испитивањем електрохемијског

понашања комплексних једињења платине(IV) недвосмислено је потврђен двоелектронски процес који је најпре обухватио редукцију металног центра до платине(III), а затим до редукцију до платине(II). На основу резултата добијених из ДП волтамограма, одређене су вредности електродног потенцијала које су се налазиле у интервалу $-924 < E < -816 \text{ mV (vs. Ag/ AgCl)}$. Ниске вредности електродног потенцијала указале су на тешку редукцију ових једињења. Испитивањем електрохемијског понашања комплекса платине(II) указано је на иреверзибилну електрохемијску реакцију која искључује трансфер електрона са металног центра. И у овом случају су добијене ниске вредности електродног потенцијала ($-900 < E < -1120 \text{ mV (vs. Ag/ AgCl)}$). Додатно је испитана потенцијална веза између добијених вредности електродних потенцијала и IC_{50} вредности. Иако јасна корелација није добијена, она је у сагласности са подацима из литературе везане за платинске комплексе са аминским типом лиганата.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Комплексна једињења платине привлаче велику пажњу научника широм света који су инспирисани њиховим разноврсним применама. Ипак највећи напори се улажу у осмишљавању структуре са изванредним антитуморским својствима. Обично се потенцијални лекови ослањају на структуру већ постојећих (најчешће цисплатине) и стога се могу посматрати као њихови деривати. Међутим од великог значаја је и увођење нових лигандних система који могу позитивно утицати на давно уочене недостатке лекова у употреби.

У раду су детаљно описане синтезе шест нових диаминских лиганата, деривата етилендиаминдиацетата и четири хлоридо платина(IV) комплекса са поменутих лигандима. Сем тога описане су и синтезе два платина(II) комплекса са већ познатим лигандом тиофенолат-оксазолинског типа. Новосинтетисана једињења су потпуно окарактерисана стандардним методама карактеризације. Поједини комплекси платине(IV) су показали бољу цитотоксичност за од саме цисплатине одабране ћелијске линије. Електрохемијско понашање новосинтетисаних једињења је испитано цикличном и диференцијално пулсном волтаметријом. Добијени електрохемијски подаци су искоришћени за испитивање потенцијалне везе између биолошке активности и оксидо-редукционих својстава. Иако јасна корелација између вредности електродних потенцијала и IC_{50} вредности није постигнута, ова метода је издвојила комплекс платине(IV) са пропил групом као најперспективнији за даља истраживања.

Г. Објављени и саопштени радови који чине део дисертације

Рад објављени у врхунском часопису међународног значаја (M21)

1. Lj. E. Mihajlović, A. Savić, J. Poljarević, I. Vučković, M. Mojić, M. Bulatović, D. Maksimović-Ivanić, S. Mijatović, S. Stošić-Grujičić, Đ. Miljković, S. Grgurić-Šipka, T. J. Sabo: Novel methylene modified cyclohexyl ethylenediamine-*N,N'*-diacetate ligands and their platinum(IV) complexes. Influence on biological activity, J. Inorg. Biochem. 109 (2012) 40-48. IF(2012) = 3,197; 10/44; Chemistry, Inorganic & Nuclear, ISSN 0162-0134.

Рад објављен у истакнутом часопису међународног значаја (M22)

1. Lj. E. Mihajlović, D. Stanković, J. Poljarević, D. Manojlović, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: Electrochemistry and Bioactivity Relationship of Pt(IV) Complexes with Cyclohexyl-Functionalized Ethylenediamine-*N,N'*-Diacetate-Type Ligands, Int. J. Electrochem. Sci. 8 (2013) 8433-8441. IF(2011) = 3,729; 9/27; Electrochemistry, ISSN 1452-3981.

Радови објављен у истакнутом часопису међународног значаја (M23)

1. Lj. E. Mihajlović-Lalić, A. Savić, G. Brađan, T. J. Sabo, S. Grgurić-Šipka: Novel methylene bridged ethylenediamine-type ligands: synthesis and spectral characterization, J. Serb. Chem. Soc. doi:10.2298/JSC140212042M, IF(2013) = 0,884; 99/148; Chemistry, ISSN 0352-5139.

Послат рад који је део дисертације:

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

Радови саопштени на научним скуповима међународног значаја

1. S. Grgurić-Šipka, Lj. E. Mihajlović, A. R. Savić, J. Poljarević, M. Mojić, M. Bulatović, T. J. Sabo poster presentation, Antitumor activity of new *N,N'*-methylene modified cyclohexyl ethylenediamine-*N,N'*-diacetate (EDDA)-type ligands and their Pt(IV) complexes, P-87, September 12-16, 2012, Eurobic 11, Granada, Spain.

Радови саопштени на скуповима националног значаја

1. J. Poljarević, Lj. E. Mihajlović, D. Stanković, A. R. Savić: Electrochemical behavior of biologically active Pt(IV) complexes with edda type ligands, First international conference of young chemists of Serbia, HA P22, October 19-20, 2012, Belgrade, Serbia.
2. Lj. E. Mihajlović, A. R. Savić, J. Poljarević, M. Mojić, M. Bulatović, S. Grgurić-Šipka, T. J. Sabo poster presentation: Antitumor activity of platinum(IV) complexes with modified edda type of ligands, NH-P5, June 14-15, 2012, 50th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia.

Д. Закључак

У приложеној докторској дисертацији под насловом „Синтеза, карактеризација и редокс понашање Pt(II) и Pt(IV) комплекса са *N,N* и *N,S* лигандима” Љиљана Е. Михајловић-Лалић, дипл. физикохемичар-мастер, успешно је одговорила на све постављене задатке који се односе на синтезу и карактеризацију нових диаминских лиганата (укупно шест) и одговарајућих платина(IV) комплекса (укупно четири). Синтетисана су и два комплекса платине(II) са *N,S* донорским лигандом за које је урађена рендгенска структурна анализа. Део ове дисертације је обухватио детаљан опис електрохемијског понашања новосинтетисаних једињења. Посебна пажња посвећена је испитивању потенцијалне корелације између израженог цитотоксичног ефекта комплекса платине(IV) и њихових оксидо-редукционих својстава.

Научно-истраживачки рад кандидата је публикован у оквиру 3 научна рада, која су директно проистекла из докторске дисертације (по један рад категорије M21, M22 и M23) док је рецензија једног рада у току. Додатно су резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације саопштени на једном научном скупу од међународног значаја и два научна скупа од националног значаја. Комисија је мишљења да резултати објављени у поднетој докторској дисертацији представљају значајан допринос у области платинских комплексних једињења. Поред тога, Комисија сматра да се истраживања у спроведена у оквиру ове дисертације уклапају у савремене трендове опште и неорганске, односно бионеорганске и координационе хемије.

У складу с тим предлажемо Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да поднету докторску дисертацију Љиљане Е. Михајловић-Лалић прихвати и одобри њену одбрану.

Комисија

др Тибор Сабо,
редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду

др Сања Гргурић-Шипка,
ванредни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду

др Драган Манојловић,
ванредни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду

др Ивана Стојковић Симатовић,
доцент Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду

У Београду, 07.10.2014.