

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Gordana M. Rakić

**Sinteza, karakterizacija i antitumorska  
aktivnost *trans*-kompleksa Pt(II) i Pt(IV)  
sa piridinskim derivatima kao ligandima**

doktorska disertacija

Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Gordana M. Rakić

**Synthesis, characterization and  
antitumour activity of *trans*-complexes  
Pt(II) and Pt(IV) with pyridine derivatives  
as ligands**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017

# **DOKTORSKA DISERTACIJA HEMIJSKIH NAUKA**

Mentori:                    dr Sanja Grgurić Šipka  
                                  Redovni profesor  
                                  Hemijski fakultet  
                                  Univerzitet u Beogradu

                                  dr Živoslav Tešić  
                                  Redovni profesor  
                                  Hemijski fakultet  
                                  Univerzitet u Beogradu

Član komisije:            dr sci. med. Siniša Radulović  
                                  Naučni savetnik  
                                  Institut za onkologiju i radiologiju Srbije

Datum odbrane doktorske disertacije: \_\_\_\_\_

## ZAHVALNICA

*Ova doktorska disertacija rađena je pri Katedrama za Analitičku i Opštu i neorgansku hemiju, Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.*

*Temu za izradu doktorske disertacije predložili su dr Sanja Grgurić-Šipka, redovni profesor i dr Živoslav Tešić, redovni profesor Hemijskog fakulteta u Beogradu, koji su i rukovodili ovim radom.*

*Želim i ovom prilikom da se najiskrenije zahvalim profesorima dr Živoslavu Tešiću i dr Sanji Grgurić-Šipka na savesnom i profesionalnom pristupu čime su doprineli izradi ovog rada, kao i na ukazanom poverenju, razumevanju i korisnim sugestijama prilikom izrade i pisanja ove disertacije. Takođe se zahvaljujem profesorima dr Živoslavu Tešiću, dr Sanji Grgurić-Šipka, dr Dušanki Milojković-Opsenica i dr Radi Baošić jer mi nisu dozvolili da posustanem.*

*Srdačno se zahvaljujem dr sci. med. Siniši Raduloviću, naučnom savetniku Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije na velikoj pomoći koju mi je pružio tokom izrade i pisanja ovog rada kao i kolegincama dr Sandri Arandžević i dr Lani Filipović sa pomenutog Instituta koje su doprinele svojim angažovanjem u istraživanju biološke aktivnosti sintetisanih kompleksa.*

*Dugujem i neizmernu zahvalnost dr Goranu Kaluđerović, Institute für Chemie, MLU-Halle Wittemberg, Germany, koji je svojim angažovanjem oko snimanja i tumačenja rendgeno strukturne analize i DFT proračunima značajno unapredio ovaj rad.*

*Zahvaljujem se svim mojim kolegama, prijateljima i rođacima koji su bili uz mene tokom proteklih godina, koji su mi bili podrška i podsticaj da započeto završim.*

*Ogromnu zahvalnost dugujem mojim roditeljima koji veruju u mene i koji su svoj život podredili mojim uspesima. Veliko hvala porodicama Rakić i Ršumović za neizmernu podršku i razumevanje.*

*I posebno, Dušanu na ljubavi, podršci i strpljenju, kao i našim devojkicama Jani i Nađi uz koje ovaj rezultat ima još veći značaj.*

*Jani, Nadji i Dušanu*

## Sinteza, karakterizacija i antitumorska aktivnost *trans*-kompleksa Pt(II) i Pt(IV) sa piridinskim derivatima kao ligandima

### IZVOD

U ovoj doktorskoj disertaciji opisana je sinteza, karakterizacija i antitumorska aktivnost šest kompleksa *trans*-platine(II) i pet kompleksa *trans*-platine(IV) sa piridinskim derivatima kao ligandima. Sintetisani kompleksi dobijeni su reakcijom polaznih kompleksa platine,  $K_2[PtCl_4]$  odnosno  $K_2[PtCl_6]$ , sa odgovarajućim ligandima u molskom odnosu 1 : 2 u vodi, uz blago zagrevanje. Za sintezu kompleksa korišćeni su komercijalno dostupni ligandi koji predstavljaju piridinske derivate sa acetil supstituentima (3- i 4-acetilpiridin) i sa dve karboksilne grupe (2,3-, 2,4-, 2,5- i 2,6-piridindikarboksilna kiselina). Novosintetisani kompleksi okarakterisani su standardnim metodama karakterizacije: infracrvenom spektroskopijom,  $^1H$  NMR i  $^{13}C$  NMR spektroskopijom, dok su pretpostavljene molekulske formule potvrđene elementalnom analizom. Strukture kompleksa platine(II) i platine(IV) sa 4-acetilpiridinom, kao i kompleksa platine(IV) sa 2,5-piridindikarboksilnom kiselinom potvrđene su rendgenskom strukturnom analizom, koja je pokazala da su svi kompleksi *trans*-geometrije. Kod svih kompleksa hloridni anjoni su *trans*-orijentacije u odnosu na platinski metalni centar. DFT proračuni su u saglasnosti sa rezultatima ovih metoda i potvrdili su pretpostavljene najstabilnije *trans*-geometrije izomera kvadratno-planarnih platina(II) i oktaedarskih platina(IV) kompleksa. Antiproliferativna aktivnost je ispitivana na ukupno trinaest ćelijskih linija. Proučavanje biološke aktivnosti ukazalo je da kompleksi platine sa acetil supstituentima na piridinskom prstenu pokazuju višu *in vitro* antiproliferativnu aktivnost nego kompleksi sa karboksilato supstituentima na piridinu. *Trans*-platina(II) i *trans*-platina(IV) kompleksi sa 3- i 4-acetilpiridinom kao ligandima pokazuju antiproliferativnu aktivnost na svim ispitivanim tumorskim ćelijskim linijama. Dobijena je značajna antiproliferativna aktivnost *trans*-dihloridobis(4-acetilpiridin)platina(II) kompleksa (**2**) na cisplatina rezistentnoj subliniji humanog osteosarkoma U2OScisR, bolja nego za cisplatinu. Svi *trans*-acetilpiridinski kompleksi platine (**1-4**) nakon 48 h izlaganja na transformisanoj humanoj endotelijalnoj liniji EA.hy 926 pokazali su značajno bolju antiproliferativnu

aktivnost od cisplatine. Dobijene  $IC_{50}$  vrednosti za komplekse iznose  $3,1 \pm 1,4 \mu\text{M}$  (**1**),  $2,6 \pm 1,3 \mu\text{M}$  (**2**),  $13,8 \pm 5,8 \mu\text{M}$  (**3**),  $23,4 \pm 3,3 \mu\text{M}$  (**4**), u poređenju sa cisplatinom (CDDP) čija je  $IC_{50}$  vrednost  $27,7 \pm 1,3 \mu\text{M}$ . Kompleksi **3** i **4** ispoljavaju i manju toksičnost na zdravoj ćelijskoj liniji fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5) u poređenju sa tumorskim ćelijama.

**Ključne reči:** *trans*-platina(II) kompleksi, *trans*-platina(IV) kompleksi, acetilpiridinski derivati, piridindikarboksilne kiseline, rendgenska strukturna analiza, antiproliferativna aktivnost.

**Naučna oblast:** Hemija

**Uža naučna oblast:** Opšta i neorganska hemija

**UDK:** 546.96

## Synthesis, characterization and antitumour activity of *trans*-complexes Pt(II) and Pt(IV) with pyridine derivatives as ligands

### ABSTRACT

In this doctoral dissertation, synthesis, characterization and antitumour activity of six *trans*-platinum(II) and five *trans*-platinum(IV) complexes with pyridine derivatives as ligands were described. The complexes were synthesized in the reaction of starting compounds of platinum  $K_2[PtCl_4]$  and  $K_2[PtCl_6]$ , with the corresponding ligand in a 1 : 2 molar ratio in water, with mild heating. Commercially available ligands used for preparation of complexes could be considered as pyridine derivatives with acetyl substituted (3- and 4-acetylpyridine) and with two carboxylic groups (2,3-, 2,4-, 2,5- i 2,6-pyridinedicarboxylic acid). Novel synthesized complexes were characterized by elemental analysis, IR,  $^1H$  NMR and  $^{13}C$  NMR spectroscopies. The structures of platinum(II) and platinum(IV) complexes with 4-acetylpyridine as ligand, and platinum(IV) complex with 2,5-pyridinedicarboxylic acid were determined by X-ray crystallography, which revealed the *trans* geometry of all complexes. The *trans* orientation of chloride anions around platinum center in all complexes were revealed. DFT calculations were in agreement with all spectroscopic methods and were used for determination of the most stable *trans*-geometric isomers for square-planar platinum(II) and octahedral platinum(IV) complexes. The antiproliferative activity was investigated in thirteen tumor cell lines. Biological studies indicated that platinum complexes with acetyl-substituted pyridine ligands exhibit significantly higher *in vitro* antiproliferative activity than the complexes with carboxylato-substituted pyridines. *Trans*-platinum(II) and *trans*-platinum(IV) complexes with 3- and 4- acetylpyridine as ligand showed antiproliferative activity in all tested tumor cell lines. The most promising compound *trans*-dichloridobis(4-acetylpyridine)platinum(II) (**2**) overcomes cisplatin resistance of U2OScisR (human osteosarcoma cisplatin resistant cell line). All *trans*-acetylpyridine complexes of platinum (**1-4**) after 48 h of drug exposure in transformed human endothelial cells EA.hy 926 showed the highest antiproliferative potential more active than cisplatin. Obtained significance  $IC_{50}$  values for complexes  $3.1 \pm 1.4 \mu M$  (**1**),  $2.6 \pm 1.3 \mu M$  (**2**),  $13.8 \pm 5.8 \mu M$  (**3**),  $23.4 \pm 3.3 \mu M$  (**4**), compared with cisplatin (CDDP)



wich IC<sub>50</sub> value was 27.7±1.3 μM. Complexes **3** i **4** exhibited lower toxicity against the non-tumor human fetal lung fibroblast cell line (MRC-5) compared to tumor cells.

**Keywords:** *trans*-platinum(II) complexes, *trans*-platinum(IV) complexes, acetylpyridine derivatives, pyridinedicarboxylic acids, X-ray structural analysis, antiproliferative activity.

**Academic expertise:** Chemistry

**Narrow academic expertise:** General and Inorganic Chemistry

**UDK:** 546.96

## Spisak skraćenica

A	adenin
A2780	humana ćelijska linija karcinoma ovarijuma senzitivna na cisplatinu
A2780R (A2780 <sup>cisR</sup> )	humana ćelijska linija karcinoma ovarijuma rezistentna na cisplatinu
A498	ćelije adenokarcinoma pluća
A549	ćelije adenokarcinoma pluća
3-acpy	3-acetilpiridin
4-acpy	4-acetilpiridin
Am	amino
ATP7A/ATP7B	adenozin trifosfatni transporteri bakra
B16	ćelije mišjeg melanoma
bpy	4,4'-bipiridin
bztz	benzotiazol
C	citozin
CBDC	ciklobutandikarboksilat
CBDCA	karboplatina, diammin[1,1-ciklobutandikarboksilato(2)]-O,O'-platina(II), [Pt(cbdc)(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]
CDDP ( <i>cis</i> -DDP)	cisplatina, <i>cis</i> -diammindihloridoplatina(II), <i>cis</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]
CTR1	membranski transporter bakra
δ	hemijsko pomeranje
DACH (dach)	diamincikloheksan
DMA (dma)	dimetilamino
DMEM	vrsta hranljive podloge (Dulbecco's Modified Eagles Medium)
dmp	2,9-dimetil-1,10-fenantrolin
dmpda	2,2'-dimetil-1,3-propandiamin
DMSO	dimetil-sulfoksid
D <sub>2</sub> O	deuterisana voda
G	guanin
Gly	glicin
GSH	glutation (γ-glutamilcisteinilglicin)
EA.hy 926	transformisane endotelijalne ćelije pupčane vene humanog porekla
en	etilendiamin
Et	etil
EVSA-T	ćelije karcinoma dojke
FCS	fetalni goveđi serum (Fetal Calf Serum)
FemX	ćelije humanog melanoma
H226	ćelije humanog karcinoma bubrega
HeLa	ćelije humanog karcinoma grlića materice
HEPES	4-(2-hidroksietil)-1-piperazin-etansulfonska kiselina
HL-60	ćelijska linija nezrelih granulocita leukemije
IC	infracrvena spektroskopija
IGROV	ćelije karcinoma ovarijuma

ipa	izopropilamin
iquin	izohinolin
isonic	izonikotinat (izonikotinska kiselina)
L1210	ćelijska linija leukemije kod miševa
LOHP	oksaliplatina, [Pt(ox)(DACH)], ( <i>cis</i> -L-diammencikloheksan)oksalatoplatina(II)
LS-174	ćelije humanog karcinoma debelog creva (kolorektalnog karcinoma)
M19	ćelije melanoma
MA	metilamino
MCF-7	ćelije humanog karcinoma dojke
MDA-453	ćelije humanog karcinoma dojke
MDA-361	ćelije humanog karcinoma dojke
Me	metil
MS1	transformisane endotelijalne ćelije mišjeg porekla
MRC-5	normalna zdrava ćelijska linija fetalnih humanih fibroblasta pluća
MRP2	multirezistentni protein
NCS	izotiocijanat
nic	nikotinat (nikotinska kiselina)
N-MeIm	N-metilimidazol
NMR	nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija
NPA	<i>n</i> -propilamino
NSCLC	nemikrocelularni karcinom pluća (Non-Small Cell Lung Cancer)
OCN	cijanat
ox	oksalat
RPMI	vrsta hranljive podloge (Roswell Park Memorial Institute)
2-pic	2-pikolin (2-metilpiridin)
3-pic	3-pikolin (3-metilpiridin)
4-pic	4-pikolin (4-metilpiridin)
pip-pip	4-piperidinopiperidin
PPh <sub>3</sub>	trifenilfosfin
Py (py)	piridin
PyCA (pic)	pikolinat (pikolinska kiselina)
2,3-pydc (H <sub>2</sub> L <sup>3</sup> )	2,3-piridindikarboksilna kiselina
2,4-pydc (H <sub>2</sub> L <sup>4</sup> )	2,4-piridindikarboksilna kiselina (lutidinska kiselina)
2,5-pydc (H <sub>2</sub> L <sup>5</sup> )	2,5-piridindikarboksilna kiselina
2,6-pydc (H <sub>2</sub> L <sup>6</sup> )	2,6-piridindikarboksilna kiselina
pz	piperazin
quin	hinolin
sba	<i>sec</i> -butil grupa
SCLS	mikrocelularni karcinom pluća (Small Cell Lung Cancer)
SDS	natrijum-dodecil-sulfat
T	timin
TCA	trihlorsirćetna kiselina
TMS	tetrametilsilan
Tz (tz)	tiazol

U2OS	ćelije humanog osteosarkoma
U2OScisR	izvedena cisplatina-rezistentna sublinija ćelija humanog osteosarkoma
WIDR	ćelije karcinoma kolona

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. OPŠTI DEO .....	4
2.1. Kompleksi Pt(II) u kliničkim ispitivanjima .....	5
2.2. Kompleksi Pt(IV) u kliničkim ispitivanjima .....	13
2.3. Tipovi ćelijske smrti .....	15
2.4. <i>Trans</i> -kompleksi Pt(II) i Pt(IV) .....	16
2.5. Piridinski ligandi i kompleksi prelaznih metala .....	26
2.5.1. Monoacetilpiridinski ligandi i kompleksi prelaznih metala sa njima ...	27
2.5.2. Piridindikarboksilne kiseline kao ligandi .....	32
2.5.3. Kompleksi prelaznih metala sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama..	33
3. EKSPERIMENTALNI DEO .....	44
3.1. Sinteze kompleksa .....	45
3.1.1. Sinteza polaznog kalijum-heksahloridoplatinat(IV) kompleksa .....	45
3.1.2. Sinteza polaznog kalijum-tetrahlidoplatinat(II) kompleksa ....	45
3.1.3. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> (3-acpy) <sub>2</sub> ] (1) .....	47
3.1.4. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> (4-acpy) <sub>2</sub> ] (2) .....	48
3.1.5. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(L <sup>1</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> ] (3) .....	49
3.1.6. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(L <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> ] (4) .....	50
3.1.7. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(HL <sup>3</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (5) .....	51
3.1.8. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(HL <sup>4</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (6) .....	52
3.1.9. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(HL <sup>5</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (7) .....	53
3.1.10. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(HL <sup>3</sup> ) <sub>2</sub> ] (8) .....	54
3.1.11. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(HL <sup>4</sup> ) <sub>2</sub> ]xH <sub>2</sub> O (9) .....	55
3.1.12. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(HL <sup>5</sup> ) <sub>2</sub> ] (10) .....	56
3.1.13. Sinteza kompleksa <i>trans</i> -[Pt(HL <sup>6</sup> ) <sub>2</sub> ]x2H <sub>2</sub> O (11) .....	57
3.2. Metode određivanja sastava i strukture kompleksa .....	58
3.2.1. Hemikalije, reagensi .....	58
3.2.2. Elementalna analiza .....	58
3.2.3. Infracrvena spektroskopija .....	58
3.2.4. NMR spektroskopija ( <sup>1</sup> H i <sup>13</sup> C NMR) .....	58
3.2.5. Rendgenska strukturalna analiza .....	59
3.2.6. DFT proračuni .....	62
3.2.7. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti .....	63
3.2.7.1. Kulture ćelija .....	63
3.2.7.2. Postupci ispitivanja .....	64
3.2.7.2.1. SRB kolorimetrijski test .....	65
3.2.7.2.2. MTT kolorimetrijski test .....	68
4. REZULTATI I DISKUSIJA .....	70
4.1. Sinteze polaznih kompleksa platine .....	71
4.2. Sinteze kompleksa <i>trans</i> -Pt(II) i <i>trans</i> -Pt(IV) .....	71
4.3. Infracrvena spektroskopija .....	74
4.4. NMR spektroskopija .....	79
4.5. Rendgenska strukturalna analiza .....	86
4.6. DFT proračuni .....	89

4.7. Biološka aktivnost kompleksa .....	92
5. ZAKLJUČAK .....	99
6. LITERATURA .....	104
7. PRILOG .....	114

## ***1. UVOD***

## 1. Uvod

Kompleksi prelaznih metala imaju važnu primenu u lečenju velikog broja teških oboljenja. Istraživanja o sintezi i primeni kompleksnih jedinjenja smatraju se veoma važnim aspektom koordinacione i bioneorganske hemije. Značajna uloga kompleksa metala u medicini potiče još od 16. veka kada su jedinjenja sa metalima i sami metali korišćeni za lečenja kancera [1].

Antikancerogeni lekovi bazirani na platini [2,3], cisplatina, karboplatina, oksaliplatina, nedaplatina, lobaplatina i heptaplatina, imaju veliku primenu u lečenju različitih humanih kancera. Njihova terapijska primena je ograničena zbog sistemske toksičnosti i rezistentnosti nekih tumora prema njihovom dejstvu. Da bi se dobili analozi cisplatine sa boljim antikancerogenim osobinama još od Rosenbergovog otkrića 1965. god. [4] radi se na dizajniranju i pronalaženju što efikasnijih hemioterapeutika. Prioritet je dostići veću selektivnost za tumorske ćelije sa što manje negativnih efekata [5]. Ispostavilo se da relativno male modifikacije u hemijskoj strukturi značajno menjaju mehanizam dejstva sintetisanih kompleksa kao i njihovu aktivnost, toksičnost, rezistentnost.

Pojedini metalni kompleksi su relativno inertni, drugi podležu supstituciji liganada i/ili redoks reakcijama pre nego što dopru do mesta delovanja, dok se kod nekih javljaju samo specifična biološka dejstva. Neki kompleksi platine su još uvek u fazi ispitivanja, uključujući i one koji bi imali oralnu primenu [6-8]. Pored kompleksa platine(II), brojni kompleksi platine(IV) proučavani su kao potencijalni antitumorski agensi i u odnosu na komplekse platine(II) imaju izvesne prednosti. Kompleksi platine(IV) inertniji su od kompleksa platine(II) i mogu se koristiti oralno, za razliku od prethodnih kompleksa koji su primenjivani isključivo intravenski. Treba napomenuti da je najpre bilo zastupljeno mišljenje da su *trans*-oblici manje aktivni ili čak neaktivni [9]. Međutim, ranih devedesetih godina Farrell *et al.* [10,11] su prvi pokazali da neki *trans*-kompleksi imaju značajno višu citotoksičnu aktivnost u poređenju sa njihovim odgovarajućim *cis*-analogima, da bi se kasnije pojavljivao sve veći broj biološki aktivnih *trans*-oblika [10-13].



Piridinski derivati kao liganadi interesantni su zbog različitih mogućnosti koordinacije za jone metala. Neki kompleksi platine(II) i platine(IV) sa *N* monodentatima kao i *NO* bidentatima, pokazali su značajnu antitumorsku aktivnost [13-16].

Monoacetilpiridinski derivati imaju potencijalno jedno (piridinski azot), dok dikarboksilne kiseline piridina poseduju dva, odnosno tri, (piridinski azot i karboksilatni kiseonikovi atomi) donorska mesta. S obzirom na to što u literaturi nisu nađeni kompleksi platine(II) i platine(IV) sa ovakvim ligandnim sistemima bilo je značajno ispitati mogućnost dobijanja novih jedinjenja, utvrditi njihovu geometrijsku izomeriju i ispitati *in vitro* antitumorsku aktivnost.

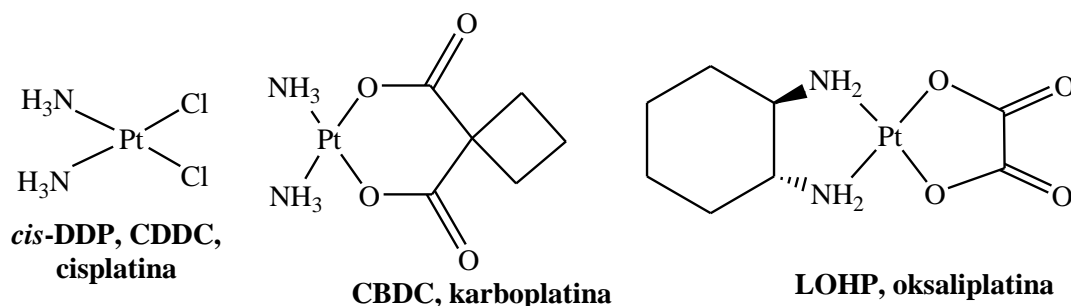
## **2. OPŠTI DEO**

## 2. Opšti deo

### 2.1. Kompleksi Pt(II) u kliničkim ispitivanjima

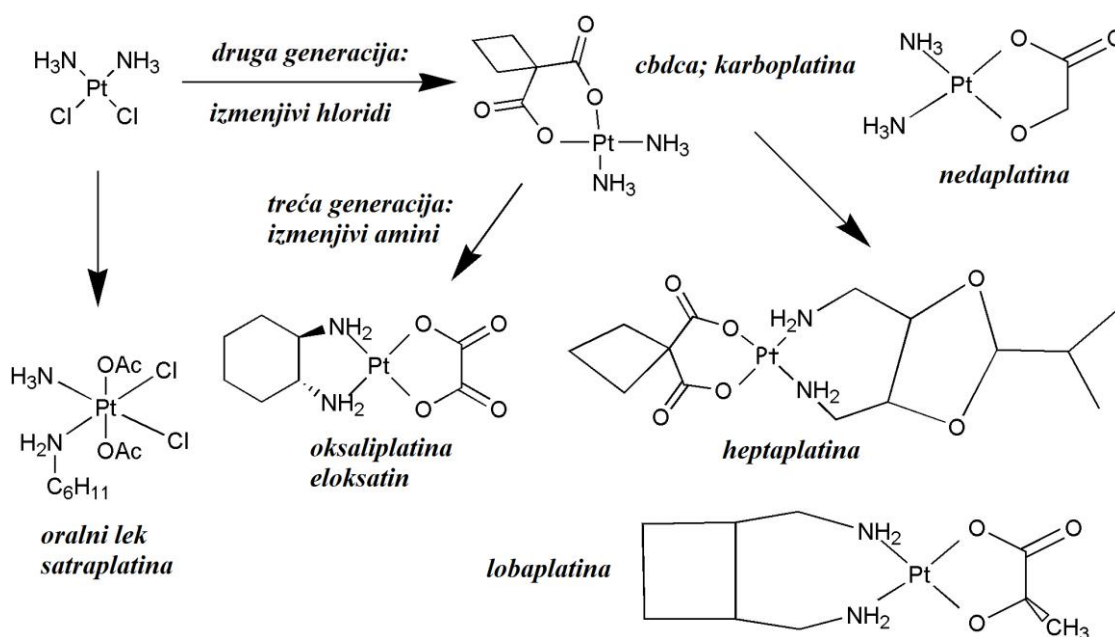
Cisplatina (*cis*-diammindihloridoplatina(II), *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], *cis*-DDP, CDDP) je prvi put pomenuta u radu Michele Peyrone 1844. godine, pod prvobitnim nazivom Pejronov hlorid (Peyrone, 1844), dok je 1893. godine Alfred Werner izveo strukturu cisplatine [6,17]. Rosenberg *et al.* su 1965. godine ispitivajući uticaj električnog polja na deobu i rast bakterije *Escherichia coli* slučajno došli do otkrića leka cisplatine, kao i njenog Pt(IV) analoga, *cis*-diammintetrahlroridoplatine(IV) [9,18,19]. Najpre su primetili da je deoba bakterija zaustavljena, a rast se odvijao normalno, da bi kasnije zaključili da do zaustavljanja deobe bakterija dolazi pod dejstvom cisplatine, a ne pod uticajem električnog polja. Naime, Rosenberg *et al.* su otkrili da se elektrolizom u prisustvu hranljivog medijuma sa amonijačnim puferom na platinskim elektrodama stvara cisplatina. Kasnije je uspešno testirano nekoliko platinskih kompleksa na tumorskim ćelijama miša (Sarcoma-180 tumor) [19,20] i utvrđeno da cisplatina kompletno inhibira razvoj ovog tumora, a analog Pt(IV), kao i etilendiaminski kompleksi Pt(II) i Pt(IV) takođe u određenoj meri redukuju aktivnost pomenutog tumora. Ovo su inače bila prva četiri kompleksa platine kojima je ispitivana antitumorska aktivnost [20].

Nakon toga sintetisano je nekoliko hiljada kompleksa platine i testirano na različite ćelijske linije kancera, sve u cilju pronalaženja što efikasnijeg leka. Samo mali broj jedinjenja podvrgnut je kliničkim ispitivanjima, a više od polovine njih je odmah odbačeno. Danas, nekoliko kompleksa platine ima kliničku primenu, sa napomenom da je njihova terapijska primena drastično sužena zbog systemske toksičnosti i rezistentnosti tumora [21-23]. U globalnoj upotrebi su cisplatina (od 1978. god., lek Platinol®, Bristol-Myers Squibb Company) [2,3,24-29], karboplatina [2,3,24] i oksaliplatina [3,25-29], **Slika 2.1.**, dok nedaplatina [3,30,31], lobaplatina i heptaplatina [32] imaju primenu samo regionalno (Japan, Kina, Južna Koreja), **Slika 2.2.** [23]. Neki kompleksi platine su još uvek u fazi ispitivanja, uključujući i one koji bi imali oralnu primenu, tj. Pt(IV) kompleksi [6].



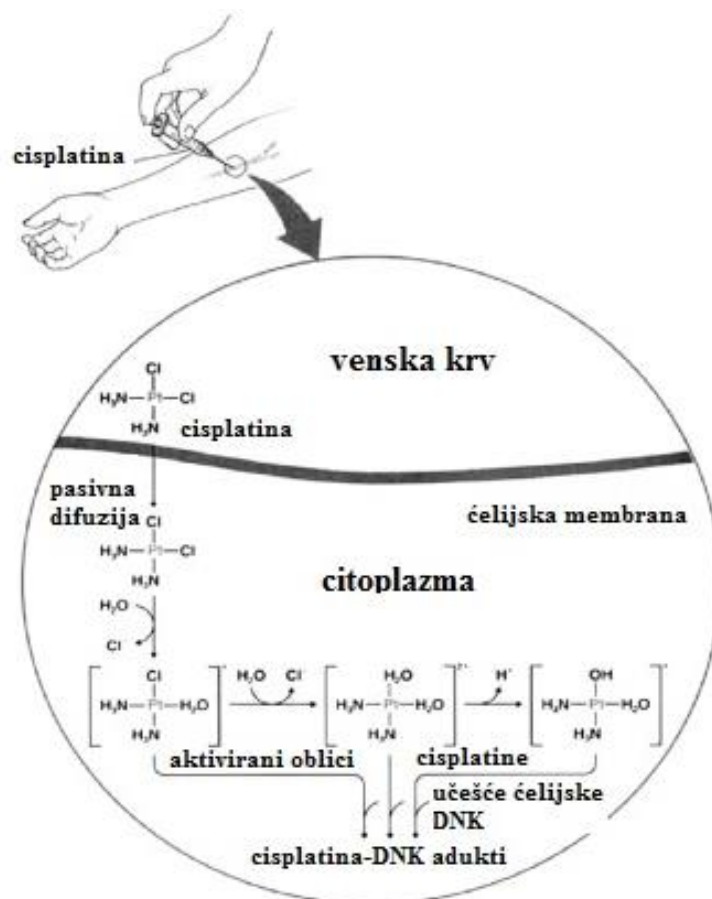
**Slika 2.1.** Antikancerogeni lekovi bazirani na platini

Prvom generacijom platinskih lekova označena je cisplatina. Nakon nje usledile su sinteze kompleksa koji su dobijani izmenom hloridnih liganada cisplatine, što je rezultovalo stvaranjem Pt-aminskih kompleksa druge generacije. Takva je karboplatina sa dikarboksilatnom kao odlazećom grupom (jedna izmenjiva odlazeća grupa). I najzad, pojavljuje se treća generacija platinskih lekova (sa dve potencijalno izmenjive odlazeće grupe, aminskom i drugom prisutnom odlazećom grupom) u koju spadaju drugačiji aminski kompleksi kao što je oksaliplatina (oksalat kao odlazeća grupa) i Pt(IV) derivati koji se mogu unositi oralno, kao što je *cis,trans,cis*-[PtCl<sub>2</sub>(RCOO)<sub>2</sub>(amin)<sub>2</sub>] (R = alkil). Na **Slici 2.2.** prikazani su odabrani lekovi koji se koriste kao hemioterapeutici sa jasnim prikazom njihove generičke povezanosti [23]. Cisplatina (*cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]) je neutralni kvadratno-planarni kompleks Pt(II). U Pt(II) okruženju nalaze se koordinovana dva molekula amonijaka i dva hloridna anjona u *cis* položaju. U odnosu na *trans*-analog njena citotoksičnost je znatno viša [33], što pokazuje da izomeri sa istim setom donorskih atoma imaju različitu biološku aktivnost. Cisplatina je lek izbora za mnoge tipove kancera, prvenstveno u lečenju genitourinarnih kancera (testisi, ovarijumi i bešika), ali i nekih malignih bolesti krvi, nemikrocelularnog karcinoma pluća (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) i karcinoma glave i vrata. Primenjuje se intravenski, zbog ograničene rastvorljivosti u vodi. Aktivira se hidrolizom nakon otpuštanja jednog, odnosno dva hloridna jona. Koncentracija hlorida van ćelije je dovoljno visoka da spreči ili ometa hidrolizu. U ćeliji, gde je znatno manja koncentracija hloridnih jona, izmenjuju se relativno labili hloridni ligandi sa hidroksid/akva ligandima, pri čemu nastaju delimično hidrolizovane vrste (mono- i diakva- vrste).



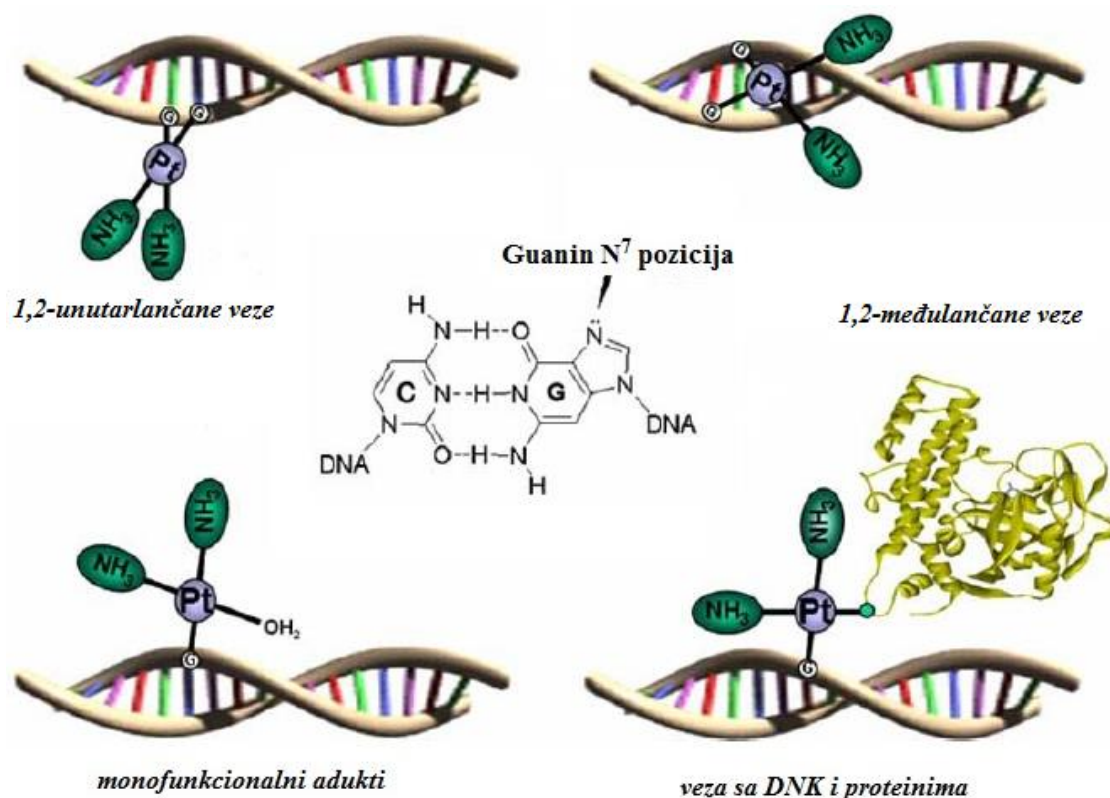
**Slika 2.2.** Šematski prikaz povezanosti struktura tri platinska antikancerogena leka (*cis*-, karbo- i oksaliplatina), globalno primenjivana, sa još tri regionalno primenjivana leka (Japan, Južna Koreja i Kina) i oralno primenjivana satraplatina (još uvek nije u rutinskoj upotrebi) [23]

Pomenute mono- i diakva- vrste cisplatine, kao pozitivno naelektrisani elektrofilni, veoma su reaktivne prema različitim nukleofilnim centrima bioloških makromolekula, zato što je voda mnogo bolja odlazeća grupa nego hloridni joni. Da bi se ispoljila citotoksična aktivnost formiranih hidrolizovanih vrsta, cisplatin mora nepromenjena difuzijom da dopre do ćelijskog nukleusa. Kako je nukleusna DNK primarna ćelijska meta, nakon završene hidrolize cisplatine, ostvaruje se kontakt sa DNK (**Slika 2.3.**) [34-36].



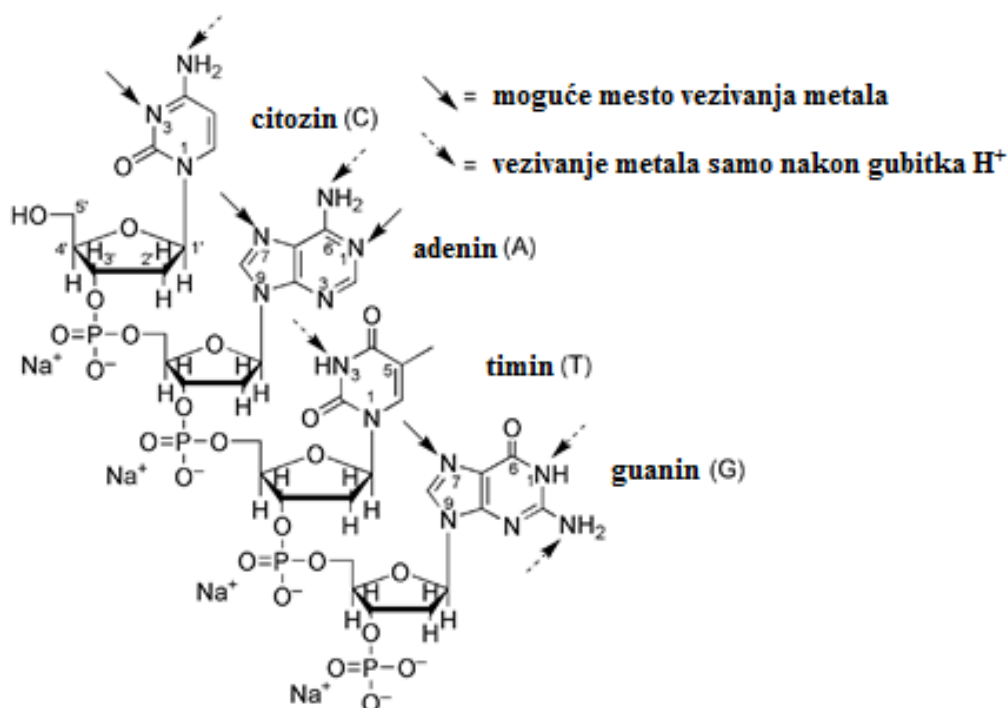
Slika 2.3. Put i aktiviranje cisplatine nakon intravenozne primene [35]

Jedinjenja platine se kovalentno vezuju za susedne purinske baze (guanin (G), rede adenin (A)) na poziciji  $\text{N}^7$  gradeći primarno 1,2- ili 1,3-unutarlančane veze i rede međulančane unakrsne veze, monofunkcionalne adukte ili veze između DNK i proteina (Slika 2.4.) [21,22,37,38]. Moguća vezujuća mesta u jednostrukom tetranukleotidu prikazana su na Slici 2.5., gde se vidi da je uz najčešći način interakcije cisplatine sa guaninom na  $\text{N}^7$  poziciji (takvi 1,2-unutarlančani adukti (1,2-d(GpG)) čine 70% nastalih lezija), moguće i interagovanje leka sa adeninom na istom položaju (takvi 1,2-unutarlančani adukti (1,2-d(ApG)) čine 20% nastalih lezija) [23].



**Slika 2.4.** Mesta dejstva cisplatine na molekulu DNK i formiranje cisplatinskih adukata [38]

Takođe, potencijalno dostupna mesta za vezivanje sa lekom su i N<sup>1</sup> pozicija purinskih baza (G, A), kao i N<sup>3</sup> pozicija pirimidinskih baza (C, T), kao što je prikazano na **Slici 2.5**. Pozicija N<sup>3</sup> na purinskim bazama (G, A) je sterno ometena i na tom položaju nije moguće vezivanje leka. Najčešći tip DNK oštećenja izazvan ovim agensima jesu unutarlančane unakrsne veze (crosslinkers). Preostale međulančane veze čine oko 5% lezija. Svi pomenuti nagrađeni adukti leka sa DNK uzrokuju savijanje i odmotavanje DNK heliksa, kao i prekidanje DNK lanca, što ćelija prepoznaje pomoću izvesnih ćelijskih proteina, koji mogu kao odgovor pokrenuti reparaciju DNK (sečenjem i uklanjanjem Pt-adukata i ponovnim sintetisanjem dela koji nedostaje) [21,38]. Ukoliko izostane reparacija, narušena struktura DNK ne može da se popravi postojećim enzimskim mehanizmima reparacije, što rezultuje programiranom ćelijskom smrću tj. apoptozom [23].



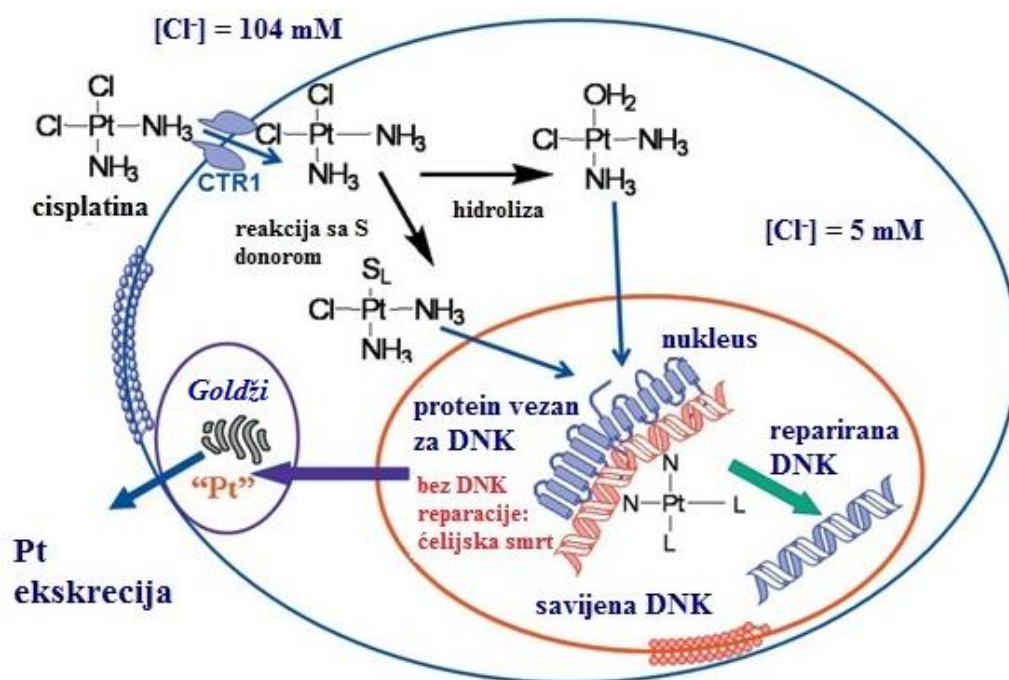
**Slika 2.5.** Moguća vezujuća mesta u jednostrukom tetranukleotidu [23]

Ukoliko se desi prevremena hidroliza u ekstracelularnom prostoru tj. krvnoj plazmi formiraju se adukti platine sa proteinima, npr. sa albuminom, koji sadrži tiolne grupe i tako se deaktivira značajna količina cisplatine [35,39]. Treba naglasiti da pomenuti neželjeni procesi deaktiviraju 98% intravenozno unete cisplatine, uprkos većoj koncentraciji hloridnih jona u ekstracelularnom prostoru ( $[Cl^-]_{extracel} \approx 100 \text{ mM}$ ) u odnosu na koncentraciju u ćeliji ( $[Cl^-]_{intracel} \approx 2\text{-}30 \text{ mM}$ ) [23,38,40,41]. Intracelularno, u citoplazmi deaktivacija cisplatine nastaje kada se veže za S-donorske molekule (tiole), npr. za tripeptid glutation (GSH) [40,41]. Glutation kao i drugi tioli vezuju platinu brzo i ireverzibilno što za posledicu ima onemogućavanje cisplatine da stigne do nukleusne DNK. Povećanje koncentracije GSH u ćeliji predstavlja odbrambeni mehanizam ćelije protiv platinskih hemioterapeutika [23].

I pored nesumnjivih prednosti cisplatina pokazuje ozbiljne neželjene efekte, nefrotoksičnost, neurotoksičnost, ototoksičnost, emetogenezu i indukuje inherentnu



(primarnu) i stečenu (sekundarnu) rezistentnost nakon lečenja [42,43]. Brojnim ispitivanjima dokumentovano je da cisplatina dospeva u ćeliju aktivnim transportom, **Slika 2.6.**, što uključuje membranski transporter bakra CTR1 [21,38,44,45]. Sa druge strane, dolazi i do ekskrecije cisplatine (*cellular efflux*) iz ćelije, takođe aktivnim transportom koji uključuje adenozin trifosfatne transportere bakra, ATP7B i ATP7A, kao i multirezistentni protein, MRP2 preko Goldži kompleksa [21,38]. ATP7B transporter dovodi se u vezu sa rezistentnošću cisplatine *in vitro* kod različitih kancera [23]. Veruje se da je toksičnost izvedena iz interakcije platinskih lekova sa zdravim tkivima tokom transmisije i distribucije lekova u telu, a rezistentnost može biti u asocijaciji sa nedovoljnim ćelijskim uptake-om lekova [23]. Glavni ciljevi u daljem razvoju lekova baziranih na platini morali bi biti usmereni ka smanjenju toksičnosti i poboljšavanju efikasnosti hemioterapeutika. Neki metalni kompleksi su relativno inertni, dok drugi pokazuju određenu biološku aktivnost, podležu supstituciji liganada i/ili redoks reakcijama pre nego što dođu do mesta delovanja [23].



**Slika 2.6.** Ulazak cisplatine u ćeliju, hidroliza i moguće reakcije sa DNK i biomolekulima i ekskrecija preko Goldži kompleksa [23]

Rezistentnost tumora prema cisplatinu usled smanjenog preuzimanja leka (*cellular uptake*) posledica je smanjenog unošenja leka u ćeliju ili povećanog izbacivanja iz ćelije [21,38,44]. Efikasan antikancerogeni agens mora da dopre do svih živih ćelija kancera, da se određeno vreme zadrži u dovoljnoj koncentraciji kako bi inhibirao svoju ćelijsku metu i izazvao smrt ćelija.

Drugoj generaciji antikancerogenih lekova pripada karboplatina. Karboplatina (CBDCA,  $[\text{Pt}(\text{cbdc})(\text{NH}_3)_2]$ , (diammin[1,1-ciklobutandikarboksilato(2)]-*O,O'*-platina(II)), **Slika 2.1.**, sadrži bidentatni ciklobutandikarboksilatni ligand na mestu dva  $\text{Cl}^-$  liganda cisplatine. Posедуje manju citotoksičnost od cisplatine zbog manje brzine rastvaranja. Zbog manje toksičnosti koristi se u većim koncentracijama od cisplatine. Interesantno je podvući da je mehanizam delovanja cisplatine i karboplatine sličan, ali je ustanovljena unakrsna rezistencija, odnosno kanceri rezistentni na cisplatinu, rezistentni su i na karboplatinu [46]. Zbog smanjene reaktivnosti ima sporiju kinetiku vezivanja za DNK, sporije se izlučuje i duže zadržava u organizmu. Koristi se u tretmanima uznapredovalih karcinoma jajnika, mikrocelularnog karcinoma pluća i epitelioma glave i vrata. Od neželjenih efekata izražena je mielosupresija (smanjenje aktivnosti koštane srži što uzrokuje smanjenje produkcije krvnih ćelija ili medicinski nazvano leukopenija, neutropenija i trombocitopenija), manje je neurotoksična i nefrotoksična od cisplatine [47].

Trećoj generaciji platinskih lekova pripada oksaliplatina (LOHP,  $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{DACH})]$ , (*cis*-L-diammincikloheksan)oksalatoplatina(II)), **Slika 2.1.** Bidentatno vezan ligand 1,2-diamincikloheksan nalazi se umesto dva aminska liganda karboplatine, a prisutan je i oksalat kao odlazeća grupa. Oksaliplatina je veoma efikasna prema tumorima rezistentnim na cisplatinu, indikovana je za lečenje kolorektalnih kancera [48,49] i koristi se u kombinaciji sa 5-fluorouracilom [50,51]. Ona pokazuje neurotoksičnost kao najizraženiju nuspojavu, što se manifestuje kumulativnim oštećenjima senzora perifernih nerava (neuropatijom).

Nedaplatina, koja se koristi samo u Japanu, strukturno je slična karboplatini sa istim spektrom antitumorskog dejstva. Heptaplatina, u kliničkoj upotrebi u Južnoj

Koreji, koristi se za tretmane gastričnih kancera. Lobaplatina, odobrena samo u Kini, koristi se za lečenje kancera dojke i u tretmanima nemikrocelularnog karcinoma pluća (NSCLS), **Slika 2.2**. Ograničena upotreba ovih terapeutika rezultat je izražene mijelosupresije, a poslednja dva terapeutika uzrokuju i blagu hepatotoksičnost [52,53].

## 2.2. Kompleksi Pt(IV) u kliničkim ispitivanjima

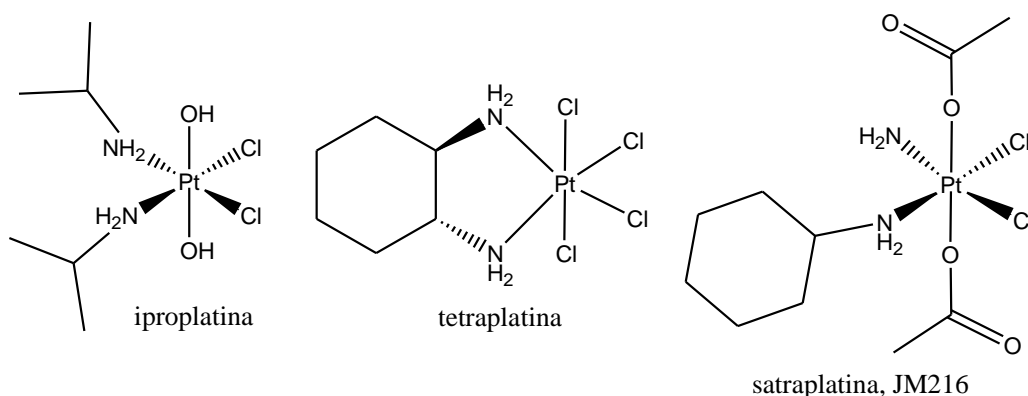
Još od otkrića cisplatine poznata je i antikancerogena aktivnost kompleksa Pt(IV) kao što je *cis*-[PtCl<sub>4</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] [4,19]. Ranije je znatno manje kompleksa Pt(IV) bilo podvrgavano ispitivanjima biološke aktivnosti, zato što je preovladavalo mišljenje da su manje ili čak neaktivni u poređenju sa *cis*-analogima. Međutim, pojedini kompleksi pokazali su dovoljno potencijala da se nadju u kliničkom ispitivanju. Među prvim kompleksima Pt(IV) treba izdvojiti iproplatinu, tetraplatinu i naravno satraplatinu koja još uvek nije ušla u rutinsku upotrebu, ali ima izvanrednu aktivnost na kancer grlića materice, jajnika, prostate, kolona i mikrocelularnog karcinoma pluća (SCLS) [54-57].

Iproplatina, (JM9, *cis,trans,cis*-[PtCl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(ipa)<sub>2</sub>], *cis*-dihlorido-*trans*-dihidroksio-*cis*-bis(izopropilamin)platina(IV)) kompleks Pt(IV) koji je na početku ispitivanja pokazao dovoljno dobru aktivnost u fazama II i III kliničkog ispitivanja, ali je kasnije utvrđeno da je ipak manje aktivan nego cisplatina i shodno rezultatima nije ušao u široko rasprostranjenu kliničku upotrebu, **Slika 2.7**. [54-57].

Tetraplatina (ormaplatina, [PtCl<sub>4</sub>(*D,L*-cikloheksan-1,2-diamin)]) pokazivala je obećavajuću aktivnost u prekliničkim istraživanjima, ali je nažalost pokazala i visok nivo neurotoksičnosti kod tretiranih pacijenata, pa su ispitivanja prekinuta u fazi I, **Slika 2.7**.

Satraplatina, (JM216, *bis*(acetato)ammindihlorido(cikloheksilamin)platina(IV)), pokazala je izvanrednu aktivnost na ćelije kancera prostate, jajnika, grlića materice i debelog creva, uporedivu sa cisplatinom. To je potencijalni lek, oralni terapeutik, koji je

dospeo do III faze kliničkog istraživanja, ali su ispitivanja prekinuta zbog smanjenog preuzimanja leka (*cellular uptake*), **Slika 2.7.** [7,8,54-58].



**Slika 2.7.** Potencijalni Pt(IV) antikancerogeni lekovi

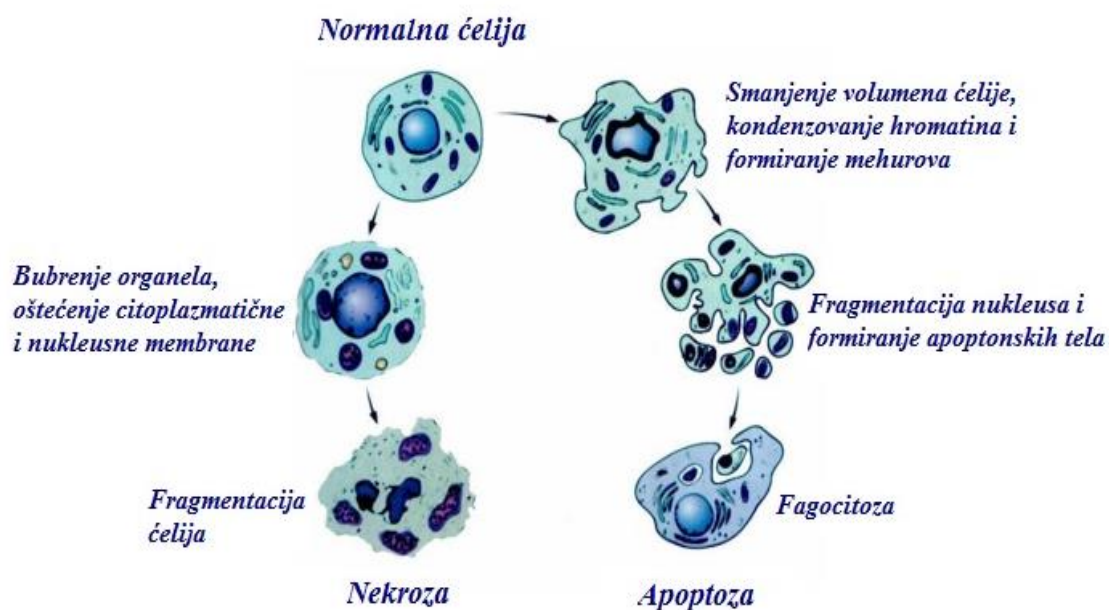
Dve aksijalne acetatne grupe satraplatine čine kompleks lipofilnim što omogućava oralnu primenu. U krvi se metaboliše uz gubitak acetatnih grupa, što je praćeno redukcijom do Pt(II) oblika, pri čemu se obrazuje metabolit JM118, odnosno *cis*-ammindihlorido(cikloheksilamin)platina(II), strukturno sličan cisplatinu. Poredeći strukture JM118 i cisplatine uočava se razlika samo u jednoj amino grupi, koja je kod JM118 izmenjena sa cikloheksaminskim ligandom [7,59,60]. Dalje se na sličan način kao i cisplatina vezuje za DNK, grade se unutar- i međulančani adukti između susednih purinskih baza. Ti adukti zakrivljuju DNK heliks inhibirajući tako DNK replikaciju i transkripciju, što vodi u apoptozu [7,61,62]. Tokom ovih reakcija sa DNK, dve hloridne grupe se izmenjuju (odlazeće grupe), dok aminske (ili njihove varijacije) ostaju netaknute. Aminske ligande satraplatine i sličnih kompleksa nazivamo stabilnim ligandima. Satraplatina je jedinstvena jer su njeni stabilni ligandi asimetrični (amin i cikloheksamin) u poređenju sa dva aminska liganda cisplatine i karboplatine ili simetrične diamincikloheksamin grupe oksaliplatine, što doprinosi njenim jedinstvenim osobinama [7].

### 2.3. Tipovi ćelijske smrti

Ćelijski putevi koji su aktivirani kao odgovor ćelije na cisplatinu mogli bi se predstaviti sledećim redosledom: regulisanje prihvatanja leka, signalizacija oštećenja DNK, kontrola ćelijskog ciklusa, zaustavljanje ćelijskog ciklusa, reparacija DNK i ćelijska smrt (apoptoza i nekroza), **Slika 2.8.**

Apoptoza je poželjna jer predstavlja “programiranu ćelijsku smrt”, prati je niz događaja gde dolazi do eliminacije ćelija bez ispuštanja štetnih jedinjenja u okolna tkiva, samim tim nema ni inflamatornog (zapaljenskog) odgovora. Apoptoza je aktivan, uređen i genetski regulisan proces. Pri apoptozi ćelija prolazi kroz prepoznatljiv sled morfoloških promena koje uključuju kondenzaciju hromatina u ćelijskom jedru i smanjenje volumena čitave ćelije, kompakciju organela bez vidljivih morfoloških promena, promene na nivou plazma membrane kada se na membrani javljaju izbočenja, nestaju mikrovili i ćelija gubi kontakt sa okolnim ćelijama i na kraju fragmentacija ćelije i formiranje apoptonskih tela koja okolne ćelije i makrofagi (krupne, pokretne ćelije ameboidnog oblika koje vrše fagocitozu stranih čestica ili dotrajalih ćelija) brzo resorbuju fagocitozom. Na kraju procesa apoptoze nema inflamatorne reakcije [63,64].

Nekroza je nepoželjna, jer je to pasivan tip ćelijske smrti, tzv. “ubistvo ćelije” pri čemu dolazi do oštećenja ćelijske membrane i isticanja ćelijskog sadržaja u okolno tkivo. Nekroza otpočinje bubrenjem organela i čitave ćelije, plazma i nukleusna membrana se dezintegrišu, a citoplazmatski sadržaj se zajedno sa lizozomskim enzimima oslobađa u vanćelijku tečnost. Oslobodeni sadržaj privlači inflamatorne ćelije što rezultuje destrukcijom tkiva i zapaljenskim reakcijama. Nekroza se ispoljava u nefiziološkim uslovima, odnosno kada su ćelije izložene ekstremnim varijacijama fizioloških uslova [63,64].



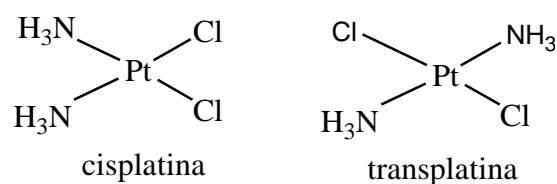
**Slika 2.8.** Morfološke razlike između apoptoze i nekroze [64]

## 2.4. *Trans*-kompleksi Pt(II) i Pt(IV)

Značajna uloga platinskih analoga koji su ušli u kliničku upotrebu zasnovana je na činjenici da se skoro svaka kombinovana hemioterapija bazira na cisplatini ili nekom drugom platinskom leku. Odnosno, sve česte vrste kancera, kao i sve veći broj manje čestih maligniteta, leče se lekovima na bazi platine u kombinaciji sa drugim hemioterapeuticima. Platinski lekovi koriste se za lečenje oko 50–70% pacijenata [65]. Međutim, ograničenja koja se javljaju pri hemioterapeutskoj primeni cisplatine i njenih analoga, takođe i mogućnost da se strukturnim izmenama kompleksa platine utiče na profil antitumorske aktivnosti, podstakli su dalja istraživanja i proširili potragu za efikasnim antitumorskim agensom na široko polje kompleksa metala. Ogroman je broj jedinjenja prelaznih metala koji se nalaze u nekoj fazi ispitivanja biološke aktivnosti [66-69]. Takođe, sintetisani su i brojni kompleksi drugih metala. Direktni analozi kompleksa poput cisplatine, kompleksi nikla i paladijuma, suviše su kinetički reaktivni da bi imali primenu kao hemioterapeutici, dok su aminijski kompleksi iridijuma i

osmijuma suviše inertni. Pretpostavlja se da su kompleksi rutenijuma i rodijuma najpogodniji za terapijsku primenu pa se sve više naučnika bavi sintezama i istraživanjima takvih jedinjenja. Interesantna su i organometalna jedinjenja među kojima su i naši kompleksi Ru [70-74]. Međutim i dalje se trend porasta novosintetisanih platinskih kompleksa i njihova evaluacija kao antitumorskih agenasa nastavlja, a među njima sve brojniji su kompleksi *trans*-platine.

Dugo se smatralo da *trans*-kompleksi platine nisu aktivni kao njihovi *cis*-analozi, i izvodio se preuranjen zaključak na osnovu ponašanja kompleksa *trans*-diammindihloridoplatine(II), *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], **Slika 2.9.**, koja je neaktivna na biološki relevantnim koncentracijama. Smatralo se da neaktivnost *trans*-izomera može biti delimično posledica njihove smanjene citotoksičnosti [10].



**Slika 2.9.** Strukture *cis/trans*-Pt(II) kompleksa

Danas se zna da je razlika u biološkoj aktivnosti ova dva izomera, cisplatine i transplatine, posledica stvaranja razlučitih DNK-adukata [75-77]. Vezivanje oba izomera odvija se u dva koraka, najpre se formira veza sa N<sup>7</sup> položajem guanina, a potom sa susednom bazom na istom ili naspramnom lancu DNK kao što je detaljno opisano u Poglavlju 2.1. Nasuprot cisplatini, transplatina nema mogućnost obrazovanja 1,2-unutarlančanih adukata zbog drugačije geometrije kompleksa i sternih smetnji koje se pojavljuju tokom procesa vezivanja. Ovde nastaju u najvećem procentu 1,3-unutarlančani adukti između komplementarnih baza guanina i citozina. Transplatina uglavnom formira monodentatne adukate, koji se sporo prevode u bidentatne usled sternih smetnji. Kao posledica različitog vezivanja *cis/trans*-kompleksa za lanac DNK, dolazi i do različitih konformacija DNK heliksa, pa tako 1,2-unutarlančano stvoreni adukt nastao delovanjem cisplatine, vodi zakrivljenju dvostrukog heliksa čime se

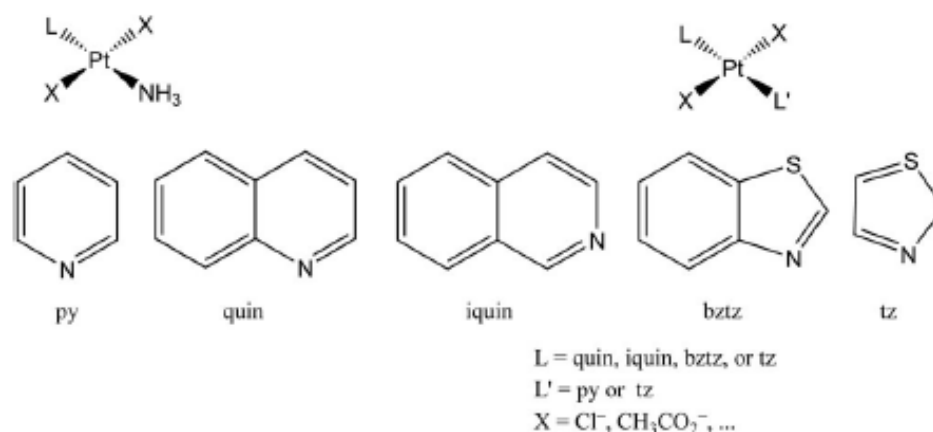
narušava interakcija ostalih baza u heliksu kao i komplementarno vezivanje dva lanca unutar DNK heliksa. Transplatina indukuje slabije zakrivljenje heliksa jer se uglavnom obrazuju monodentatni adukti. Sve ovo pokazuje da se dobijeni adukti strukturno razlikuju, pa dolazi do različitog prepoznavanja i reparacije nastalih lezija, što na kraju rezultuje razlikom u biološkoj aktivnosti između *cis-* i *trans*-kompleksa [75-77].

Empirijski odnosi struktura-aktivnost (Structure-Activity Relationships), često isticani u literaturi, formulisani su tako da je *cis*-geometrija smatrana neophodnom za antitumorsku aktivnost [23,78,79].

Farell *et al.* [10,80] su krajem osamdesetih godina sintetisali *trans*-platinske komplekse sa *in vitro* potencijalom inhibicije rasta i *in vivo* antitumorskim karakteristikama. Kasnije su se nizali sve brojniji *trans*-Pt(II), kao i *trans*-Pt(IV) kompleksi sa povećanom aktivnošću posebno na onim ćelijskim linijama koje su rezistentne na cisplatinu [81-84]. Do danas sintetisani *trans*-platinski kompleksi, koji pokazuju primetan antitumorski potencijal, mogu se svrstati u nekoliko grupa. Grupisanje je izvedeno prema prirodi liganada i u zavisnosti od struktura sintetisanih kompleksa [56,85].

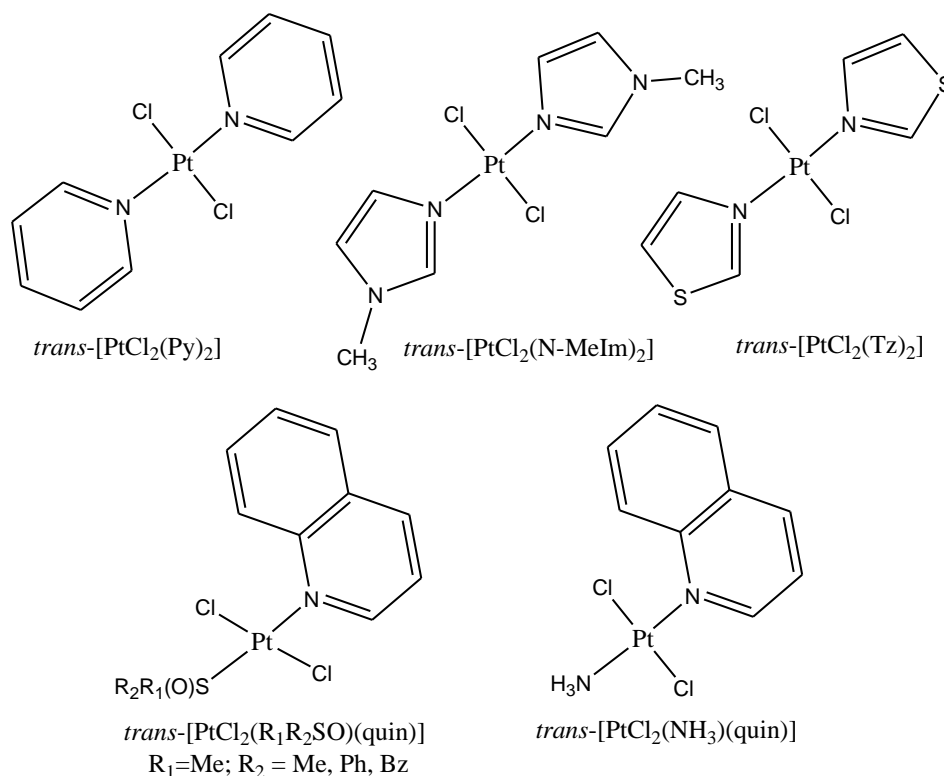
U literaturi su prisutni *trans*-platina(II) kompleksi sa planarnim amino ligandima [78,79,82,86] i *trans*-platina(II) kompleksi sa heterocikličnim amino ligandima [78,79,86], prikazani na **Slici 2.10.**, koji se dobijaju sintezama iz cisplatine, dok su njihovi *cis*-analozi sintetisani polazeći od kalijum-trihloridoaminplatinata(II),  $K[PtCl_3NH_3]$  [78,79]. Dobijene su kristale strukture *trans*-Pt(II) kompleksa sa hinolin, izohinolin, tiazol i benzotiazol ligandima u *trans*-položaju u odnosu na amino ligand, dok su preostala dva koordinaciona mesta zauzeli hloridni ili karboksilatni anjoni. Primećeno je da se uvođenjem glomaznijih planarnihaminskih liganada povećava aktivnost *trans*-kompleksa [78,79].





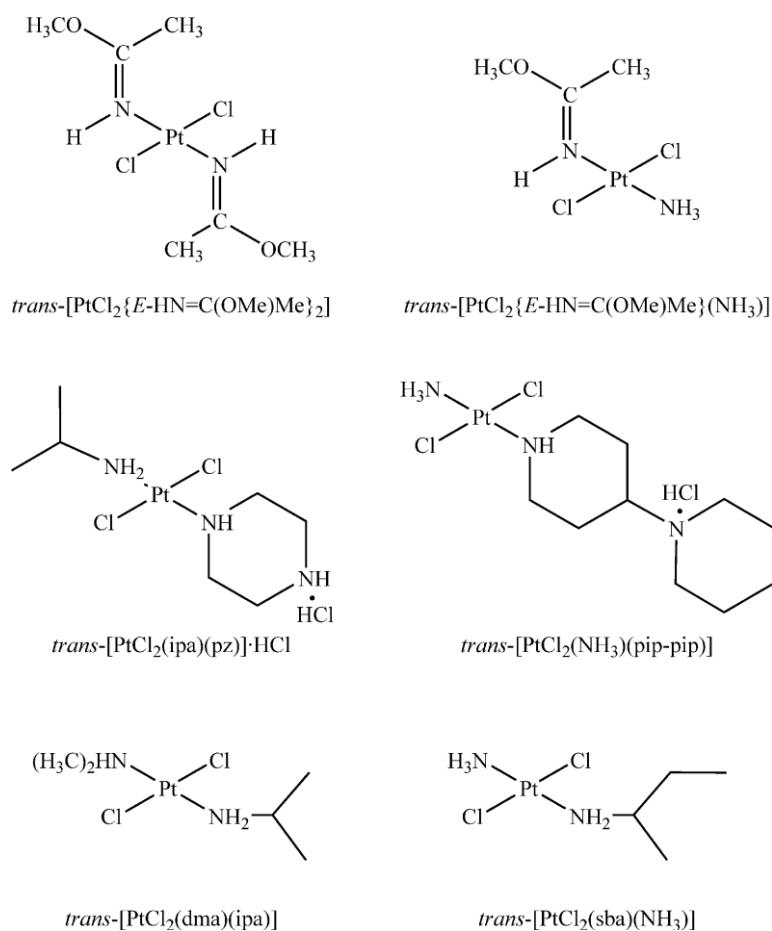
**Slika 2.10.** Strukture planarnih amino liganada (py-piridin, quin-hinolin, iquin-izohinolin, bztz-benzotiazol, tz-tiazol) koji u kombinaciji sa hloridnim, karboksilatnim i sličnim ligandima grade veliki spektar *trans*-Pt(II) kompleksa [78,79]

Kada je amino ligand zamenjen planarnimaminskim ligandom poput piridina dobijen je *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(Py)<sub>2</sub>] kompleks. Uočeno je da se dramatično povećala citotoksičnost ovog *trans*-proizvoda u poređenju sa cisplatinom i neaktivnim *cis*-izomerom, *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(Py)<sub>2</sub>] koja je ispitivana na leukemija L1210 ćelijskoj liniji [10]. Ovaj efekat *trans*-geometrije i aktivnosti *trans*-platinskih kompleksa proučavan je na seriji kompleksa koji se mogu prikazati opštom formulom *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(L)(L')], gde je L = L' = piridin (Py); N-metilimidazol (N-MeIm) i tiazol (Tz), zatim L = hinolin (quin), a L' = supstituisani sulfoksid R'R''SO (R' = Me, R'' = Me, CH<sub>2</sub>Ph, Ph) i L = hinolin (quin), a L' = NH<sub>3</sub> [78], čije se strukture mogu videti na **Slici 2.11**. Kod svih ovih kompleksa ispitivana je citotoksičnost na L1210 ćelijskoj liniji leukemije kod miševa, kako rezistentnoj tako i onoj sa stečenom rezistentnošću na cisplatinu, a dobijeni rezultati značajne citotoksičnosti doprineli su da se dalje prošire ispitivanja na ostale već sintetisane i buduće *trans*-platinske komplekse.



**Slika 2.11.** Strukture *trans*-Pt(II) kompleksa sa piridinom i derivatima piridina [78]

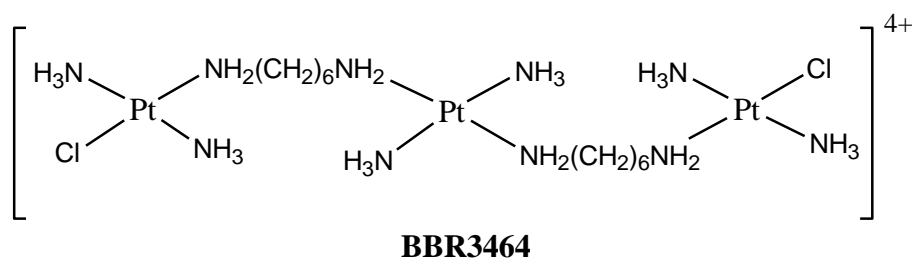
Dalje, u literaturi su prisutni *trans*-platina(II) kompleksi sa iminoetarskim ili asimetričnim alifatičnim aminima kao ligandima [86,87], koji se zbirno mogu predstaviti opštom formulom  $trans\text{-[PtCl}_2\text{(Am/MA/DMA/NPA)(iminoetarski ligand/pz/pip-pip)]}$ , gde je Am = amino, MA = metilamino, DMA = dimetilamino ili NPA = *n*-propilamino ligand, uz kombinaciju liganada poput pz = piperazin, pip-pip = 4-piperidinopiperidin ili asimetričnih alifatičnih amina [87]. Takođe, pomenutim kompleksima pripadaju i  $trans\text{-[PtCl}_2\text{(iminoetar)}_2\text{]}$ ,  $trans\text{-[PtCl}_2\text{(dma)(ipa)}\text{]}$  i  $trans\text{-[PtCl}_2\text{(sba)(NH}_3\text{)]}$ , gde je dma = dimetilamin, ipa = izopropilamin, sba = *sec*-butil grupa [86]. Strukture ove velike grupe *trans*-platina(II) kompleksa prikazane su na **Slici 2.12**.



**Slika 2.12.** Strukture *trans*-Pt(II) kompleksa sa iminoetarskim i asimetričnim alifatičnim aminima (pz = piperazin, pip-pip = 4-piperidinopiperidin, ipa = izopropilamin, sba = *sec*-butil grupa) [86]

Još treba pomenuti bifunkcionalne dinuklearne, trinuklearne i polinuklearne *trans*-Pt(II) komplekse i njihove najznačajnije predstavnike poput *bis*-platinskog kompleksa [*trans*-PtCl(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> koji pokazuje rezistentni faktor (definiše se kao odnos IC<sub>50</sub>rezistentne linije/IC<sub>50</sub>senzitivne linije) 140 puta niže vrednosti nego izračunat za cisplatinu na L1210 ćelijskoj liniji leukemije na koju je inače cisplatina senzitivna i rezistentna [88]. Zatim polinuklearni kompleks Pt(II), BBR3464 prikazan na **Slici 2.13.** u kome su dve kompleksne jedinice *trans*-[PtCl(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] povezane sa dimernim tetraaminskim kompleksom *trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>{NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>NH<sub>2</sub>}]<sub>2</sub><sup>2+</sup> što je

rezultovalo stvaranjem pomenutog polinuklearnog proizvoda koji pokazuje potpun gubitak unakrsne-rezistentnosti sa cisplatinom [89-92].



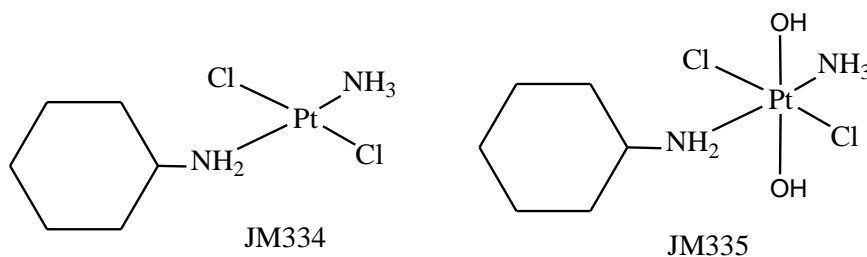
**Slika 2.13.** Struktura trinuklearnog kompleksa

Takođe treba pomenuti i *trans*-platina(IV) komplekse opšte formule, *trans*-ammin(amin)dihloridodihidroksoplatina(IV) koji obuhvataju istraživanja antikancerogenih lekova baziranih na platini, a aktivni su prema kancerima posebno koji su rezistentni na cisplatinu [93,94]. Jedan od takvih je i JM335, **Slika 2.14**.

Među brojnim sintetisanim i testiranim kompleksima ističu se dva *trans*-platinska kompleksa sa značajnim antitumorskim potencijalom uporedivim sa cisplatinom i karboplatinom. Kompleks *trans*-ammin(cikloheksilamin)dihloridoplatina(II), JM334, pokazao je citotoksičnost uporedivu sa cisplatinom, kao i kompleks Pt(IV), *trans*-ammin(cikloheksilamin)dihloridodihidroksoplatina(IV), JM335, **Slika 2.14**. Oba pomenuta kompleksa pokazala su aktivnost na cisplatina-rezistentnim linijama, dok odgovarajući *cis*-izomeri nisu bili aktivni na istim ćelijskim linijama [84,94-96]. JM335 je prvi *trans*-kompleks koji je pokazao značajnu antitumorsku aktivnost u *in vivo* istraživanjima, međutim izostala je njegova klinička studija jer se deaktivirao pri ulasku u ćeliju, tj. bio je manje aktivan od cisplatine [97].

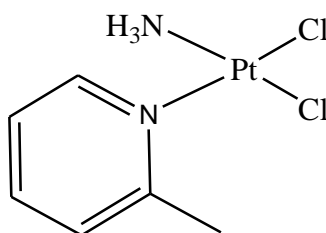
Prednost Pt(IV) kompleksa u poređenju sa platina(II) kompleksima objašnjava se oktaedarskom geometrijom koju odlikuju dva aksijalna liganda, takođe i kinetička inertnost takvih molekula koja vodi smanjenju reaktivnosti pa je omogućeno aktiviranje ekvatorijalnih grupa kao potencijalnih ligatora za lanac DNK. Često se dešava da *trans*-izomeri pokazuju višu antitumorsku aktivnost ne samo na cisplatina-senzitivnim, već i na cisplatina-rezistentnim ćelijskim linijama. To navodi i na zaključak da je

mehanizam delovanja drugačiji od mehanizma cisplatine. Kompleksi Pt(IV) imaju ogroman potencijal kao antitumorski agensi u smislu visoke aktivnosti i niske toksičnosti [98,99].



**Slika 2.14.** Strukture *trans*-ammin(cikloheksilamin)dihloridoplatina(II), JM334 i *trans*-ammin(cikloheksilamin)dihloridodihidroksoplatina(IV), JM335 kompleksa

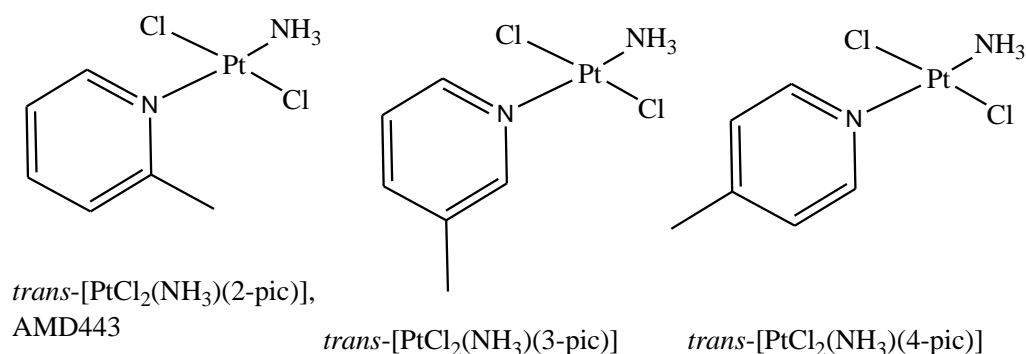
Primećeno je da zamena amino grupe planarnim piridinom kao ligandom često rezultuje povećanjem citotoksičnosti *cis/trans*-kompleksa [15,100-103]. Jedan od kompleksa sa značajnim terapijskim potencijalom je pikoplatina (*cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(2-pic)] ili ZD0473, AMD473, JM473) (**Slika 2.15.**) [15,102,104] koja je poznata od 1997. god. kada je prvi put primenjena na pacijentu. Pokazala je širok spektar aktivnosti, posebno na ćelijskim linijama rezistentnim na cisplatinu i oksaliplatinu. Posebno treba istaći njenu veliku efikasnost na karcinom jajnika i mikrocelularni karcinom pluća. Došla je do druge faze kliničkog ispitivanja.



pikoplatina (*cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(2-pic)], ZD0473, AMD473, JM473)

**Slika 2.15.** Struktura pikoplatine

Uz pomenutu pikoplatinu nužno je pomenuti njene *trans*-izomere odnosno *trans*-komplekse Pt(II) sa pikolinskim tj. metilpiridinskim ligandima (2-pic, 3-pic i 4-pic) [15] koji su okarakterisani rendgeno strukturnom analizom. Kompleksi su sintetisani polazeći od *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(2-pic)<sub>2</sub>] [14] uz dodatak NH<sub>4</sub>OH, zagrevanjem uz refluks, što je dovelo do nastajanja intermedijarnog kompleksa *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(2-pic)<sub>2</sub>]. Nakon toga je dodata 12M HCl i nastavljen refluks još 5 dana da bi na kraju nastao žut proizvod *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(2-pic)], AMD443, **Slika 2.16**. Preostala dva *trans*-kompleksa, *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(3-pic)] i *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(4-pic)], **Slika 2.16**., sintetisana su iz cisplatine dodatkom 3-pikolina odnosno 4-pikolina uz dodatak konc. HCl na dobijen rasvor i naknadnim refluksovanjem i standardnom obradom dobijenih proizvoda [15].

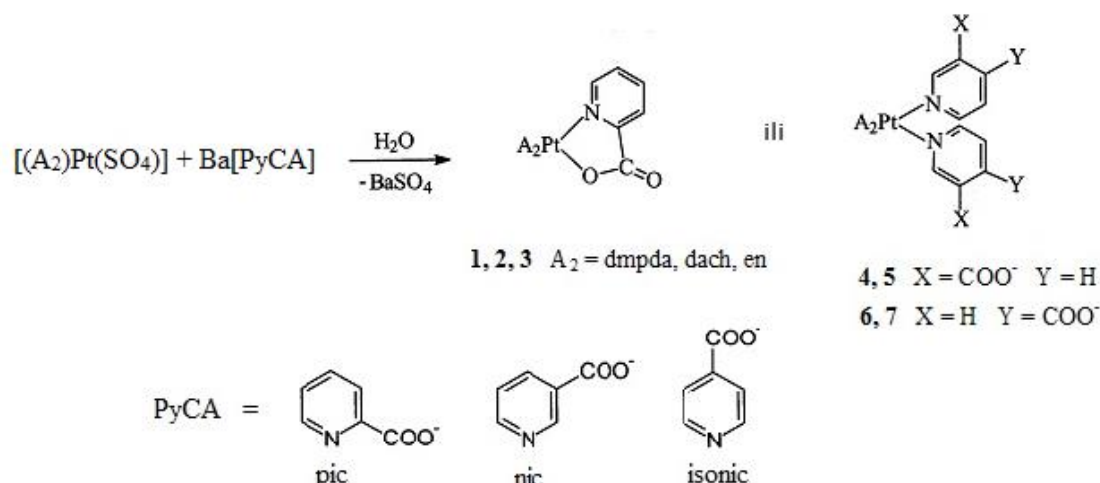


**Slika 2.16.** Strukture *trans*-kompleksa Pt(II) sa pikolinskim (metilpiridinskim) ligandima

Kompleksi formule *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(2-pic)] i *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(4-pic)] pokazali su značajnu antikancerogenu aktivnost. Posebno se izdvaja *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(2-pic)] koji je pokazao *in vitro* citotoksičnost čak višu od cisplatine na panelu humanih tumorskih ćelijskih linija (prosečno IC<sub>50</sub> = 3,5 za kompleks i 33,7 μM za cisplatinu) [15,105], dok je *trans*-kompleks sa 4-pikolinom pokazao nižu aktivnost (prosečno IC<sub>50</sub> = 80,3 μM) [15,106]. Smatra se da ova dva kompleksa imaju različite mehanizme dejstva. Kompleks sa 2-pikolinskim ligandom pokazuje značajnu aktivnost na testirane cisplatina rezistentne ćelijske linije, dok je 4-pikolinski izomer unakrsno rezistentan. Citotoksičnost kompleksa sa 3-pikolinom još nije ispitana.

Kasnih 70-ih Thompson je sintetisao seriju kompleksa opšte formule  $trans\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{L})_2]$  ( $\text{L} = \text{py}$ , 2-, 3- i 4-pikolin) [107], a desetak godina kasnije Farrell *et al.* su ispitivali njihova citotoksičnost i uporedo aktivnost odgovarajućih *cis*-analoga na L1210 ćelijskoj liniji leukemije kod miševa [10]. Nađena je neuobičajena biološka aktivnost *trans*-kompleksa.  $\text{IC}_{50}$  vrednost  $trans\text{-}[\text{PtCl}_2(4\text{-pic})_2]$  kompleksa na L1210 iznosi 2,3  $\mu\text{M}$ , dok je za *cis*-analog dobijena vrednost od 13,5  $\mu\text{M}$ , što je pokazalo da je značajno više citotoksičan *trans*-kompleks. U istom radu su slični rezultati dobijeni i za  $trans\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{py})_2]$  kompleks koji je pokazao pet puta višu inhibiciju rasta L1210 ćelija nego *cis*-analog [10].

Interesantni su i piridinkarboksilatni kompleksi Pt(II). Još 80-tih godina sintetisani su organometalni kompleksi Pt(II),  $[\text{PtCl}_2(\text{N-pic})(\text{C}_2\text{H}_4)]$  u kome je monodentatno koordinovana pikolinska kiselina, i  $[\text{PtCl}(\text{N},\text{O-pic})(\text{C}_2\text{H}_4)]$  sa bidentatno koordinovanom pikolinskom kiselinom [108]. Song *et al.* su sintetisali (diammin)platina(II) komplekse sa piridinkarboksilatnim izomerima, pikolinskom (pic), nikotinskom (nic) i izonikotinskom kiselinom (isonic), **Slika 2.17.** [16]. Kompleksi opšte formule  $[\text{A}_2\text{Pt}(\text{PyCA})_x](\text{PyCA})_{2-x}$ , u kojima je  $\text{A}_2 = 2,2'$ -dimetil-1,3-propandiamin (dmpda), *trans*-(±)-1,2-diaminocikloheksan (dach) i etilendiamin (en); PyCA = pikolinat (pic), nikotinat (nic) i izonikotinat (isonic);  $x = 1$  ili 2, sintetisani su polazeći od vodenih rastvora  $[(\text{diamin})\text{Pt}(\text{SO}_4)]$  i  $\text{Ba}[\text{PyCA}]_2$ . Svi proizvodi su dobijeni kao kristali. Različiti načini koordinacije dobijeni su zavisno od položaja karboksilatne grupe na piridinskom prstenu. Pikolinat sa karboksilatnom grupom u *orto*-položaju helira Pt(II) jon preko *N,O* donorskog seta što je rezultovalo građenjem katjonskih kompleksa. Međutim, nikotinat i izonikotinat sa karboksilatnom grupom u *meta*- i *para*-položaju, respektivno, ne grade helatne prstenove sa Pt(II) jonom već se koordinuju monodentatno preko piridinskog azota gradeći zwiter-jon komplekse. Ispitivana je i njihova antitumorska aktivnost (L1210 ćelije leukemije kod miševa) i nađeno da je za komplekse **1** i **3** sa pikolinskom kiselinom (**Slika 2.17.**) uporediva sa karboplatinom. Heliranjem pikolinatnog liganda za jon platine obrazovan je stabilan petočlani helatni prsten, što je rezultovalo istežanjem kvadratno-planarne geometrije, a to može biti povezano sa citotoksičnošću ovih kompleksa [16].



**Slika 2.17.** Reakcije sinteze piridinkarboksilatnih Pt(II) kompleksa

Nedavno su sintetisani Ru(II)-arenski kompleksi sa nikotinskom, izonikotinskom [70], pikolinskom kiselinom [71] i metil i halogenim derivatima pikolinske kiseline [74] u kojima su pomenuti ligandi monodentatno koordinovani preko N za Ru(II) jon osim što je u kompleksu sa pikolinskom bidentatno (N,O) koordinovan pomenuti ligand. Svi kompleksi su karakteristične „three-leg piano-stool” geometrije. Ispitivana je citotoksična aktivnost ovih kompleksa i nađene su značajne vrednosti za Ru(II)-arenski kompleks sa pikolinskom kiselinom,  $[(\eta^6-p\text{-cimen})RuCl(pic)] \cdot H_2O$ .  $IC_{50}$  vrednosti na dve humane tumorske ćelijske linije HeLa (grlić materice) i FemX (melanom) iznose 82,0 odnosno 36,2  $\mu M$  [71,72].

## 2.5. Piridinski ligandi i kompleksi prelaznih metala

U literaturi se može pratiti kako su brojni naučnici na mesto amino- ili hlorido-liganada polaznih platinskih kompleksa sistematično uveli najpre jednostavne alifatične ligande, zatim nešto složenije planarne alifatične ligande, pa veliki spektar aromatičnih liganada, među kojima su za nas bili posebno interesantni piridinski derivati. Ranije su pomenuti brojni kompleksi sintetisani sa planarnim N ligandima gde je kao ligand poslužio tiazol, benzotiazol, hinolin, izohinolin, piridin i različiti derivati

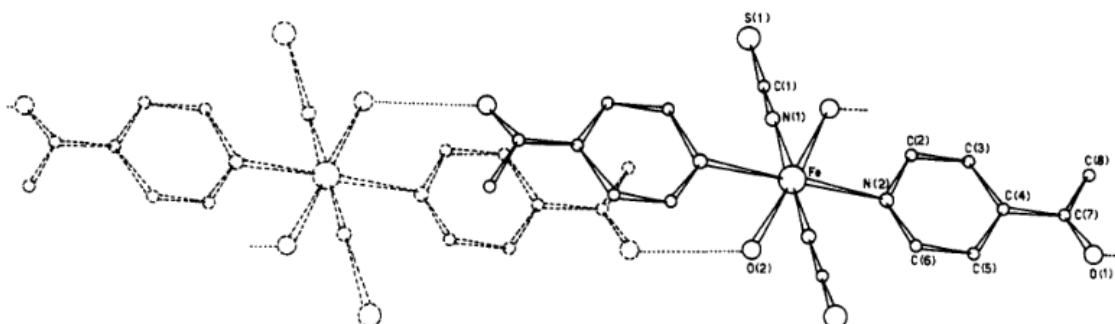


piridina, **Slika 2.10.** i **Slika 2.11.** [78,79]. Polazni kompleksi platine variraju,  $K[PtCl_3(NH_3)]$ ,  $K_2[PtCl_4]$ ,  $K_2[PtCl_6]$ , mada je najčešće prisutna cisplatina,  $cis-[PtCl_2(NH_3)_2]$ .

### 2.5.1. Monoacetilpiridinski ligandi i kompleksi prelaznih metala sa njima

Svi kompleksi prelaznih metala sa monoacetilpiridinskim ligandima koji se mogu naći u literaturi su sa koordinacijom ovakvih liganada isključivo preko piridinskog azota. Sintetisano je više ovakvih kompleksa sa samim acetilpiridinskim ligandima ili u kombinaciji sa još nekim ligandom poput izotiocijanata, cijanata, glicina i sličnih liganada [109-112]. Za nas su interesantni kompleksi sa 3-acetilpiridinom i 4-acetilpiridinom.

Long *et al.* su sintetisali kompleks Fe(II) sa 4-acpy uz koji su za metalni jon koordinovana i dva izotiocijanata (NCS) kao i dva molekula vode što se može videti na **Slici 2.18.** Pomenuti molekuli vode doprinose stabilizaciji strukture pomoću vodoničnih veza koje se ostvaruju sa karbonilnim kiseonikom acetil grupe [109].

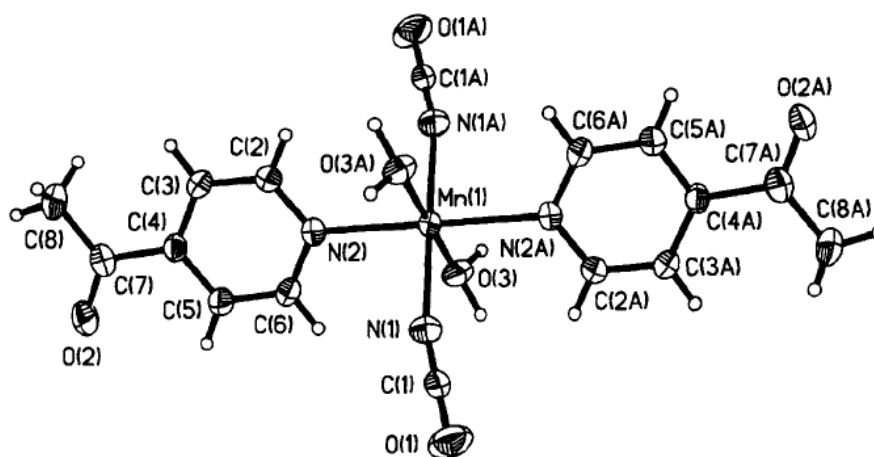


**Slika 2.18.** ORTEP prezentacija kompleksa  $[Fe(NCS)_2(4-acpy)_2(H_2O)_2]$  i njegove vodonične veze sa susednim kompleksom [109]

Cabral *et al.* su sintetisali seriju kompleksa Co(II) i Ni(II), deset opšte formule  $[MX_2L_n]$  (M = Co ili Ni; X = Cl, Br, I ili NCS; L = 3-acetilpiridin; n = 2 ili 4) i pet kompleksa koji se mogu prikazati formulom  $[CoX_2L_2]$  (X = Cl, Br, I ili NCS;

L = 4-acetilpiridin) [110]. Dobijeni su monomerni i polimerni kompleksi. Pojedini od ovih kompleksa imaju u svojoj strukturi koordinovanu vodu. Kobalt(II) jon može imati koordinacioni broj četiri i šest, pa shodno njemu monomerni kompleksi  $[\text{CoI}_2(\text{L})_2]$ , gde je L = 3-acpy i 4-acpy, su pseudo-tetraedarski, dok su preostali monomerni i polimerni kompleksi oba metala koordinacionog broja šest pseudo-oktaedarske geometrije. U svim kompleksima acetilpiridinski ligandi dejstvuju kao monodentati vezujući se preko piridinskog azota za metalne jone. U kompleksima sa izotiocijanatnim ligandom (NCS) koordinacija se ostvaruje preko azota, dok je u slučaju polimernog kompleksa  $[\{\text{Co}(\text{NCS})_2(4\text{-acpy})_2\}_n]$  izotiocijanat poslužio kao mostni ligand [110].

Polazeći od vodenog rastvora  $\text{MnCl}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , monoacetilpiridinskih liganada (3-acpy i 4-acpy) i natrijum-cijanata (NaOCN) u stehiometrijskom odnosu 1 : 2 : 2, sintetisani su oktaedarski kompleksi Mn(II) sa 3-acpy i 4-acpy uz koji su za metalni jon koordinovana i dva cijanatna (OCN) liganda preko azotovih atoma, kao i dva molekula vode [111], što se može videti na **Slici 2.19**.

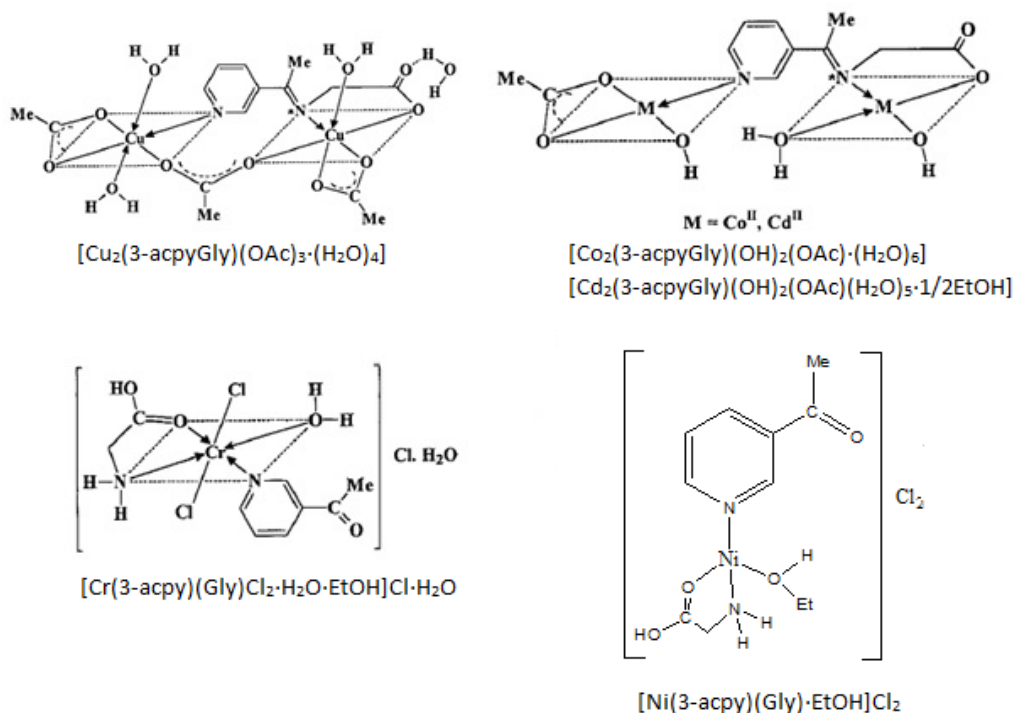


**Slika 2.19.** ORTEP prezentacija kompleksa  $[\text{Mn}(4\text{-acpy})_2(\text{OCN})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  [111]

Struktura je stabilizovana sa po dve vodonične veze između dva kompleksna molekula, jedne koje se ostvaruju između kiseonika iz vode (O3) i karbonilnog

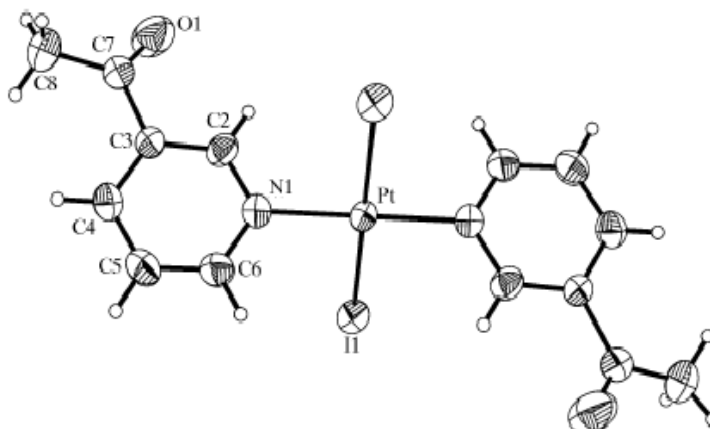
kiseonika acetil grupe (O2) tj. O(3)—H(8)···O(2), dok se druga vodonična veza formira između O3 vode i kiseonika cijanate grupe (O1) tj. O(3)—H(9)···O(1) [111].

Sintetisana su dva tipa kompleksa sa 3-acpy za koji je kondenzovan glicin (Gly). Kompleksi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) i Cd(II) sintetisani su sa ligandom koji je kondenzacioni derivat 3-acpy i Gly, a drugi tip kompleksa čine mono- i/ili binuklearni kompleksi Co(II), Ni(II), Fe(III) i Cr(III) koji sadrže samostalno koordinovane nekondenzovane ligande 3-acpy i glicin [112]. Na **Slici 2.20.** prikazane su strukture odabranih kompleksa, gde se može uočiti da su sintetisani kompleksi monomerne ili dimerne vrste, sa oktaedarskom ili tetraedarskom geometrijom. U dimernim kompleksima kondenzovan ligand (kondenzacija se ostvaruje između N amino grupe Gly i karbonilnog O 3-acetilpiridina) je istovremeno i mostni ligand, dok su u monomernim kompleksima Cr(III) i Ni(II) ligandi pojedinačno koordinovani, i to 3-acpy preko piridinskog N, a glicin preko N amino i O karboksilne grupe ove aminokiseline [112].



**Slika 2.20.** Strukture kompleksa nekih prelaznih metala sa 3-acpy i Gly, kondenzovanim u jedan ligand i nekondenzovanim i koordinovanim pojedinačno [112]

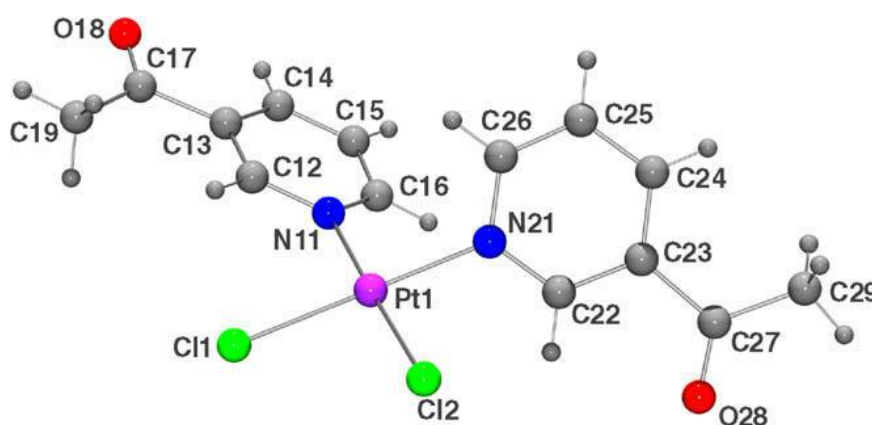
Tessier i Rochon [113] su sintetisali monokristalni kvadratno-planarni kompleks  $trans$ -[Pt(3-acpy)<sub>2</sub>I<sub>2</sub>], **Slika 2.21.**, koji je zapravo prvi acetilpiridinski kompleks platine koji je strukturno okarakterisan. Monokristalni proizvod je dobijen rekristalizacijom iz dihlormetana. Dobijen kompleks je  $trans$ -izomer, sa *anti* rasporedom 3-acpy liganada i Pt atomom koji leži na kristalografskom inverzionom centru. Glavni strukturni parametri su poređeni sa kompleksom Pt(II) sa 3-metilpiridinom u ranije publikovanom radu istih autora [14], kao i sa sličnim kompleksima drugih autora i nađeno je da se podaci uklapaju u očekivane okvire. Pomenuti kristalni kompleks  $trans$ -[Pt(3-acpy)<sub>2</sub>I<sub>2</sub>] poslužio je kao polazni za sintezu  $trans$ -[Pt(3-acpy)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] kompleksa sa AgNO<sub>3</sub> u acetonu [113]. Isti autori su ranije sintetisali seriju *cis*- i  $trans$ -[Pt(Ypy)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] kompleksa, gde je Ypy = piridin ili metilpiridinski odnosno dimetilpiridinski derivati (2-pikolin, 3-pikolin, 4-pikolin, odnosno 2,4-lutidin i 3,5-lutidin) [114].



**Slika 2.21.** ORTEP prezentacija  $trans$ -[Pt(3-acpy)<sub>2</sub>I<sub>2</sub>] kompleksa [113]

Tian *et al.* sintetisali su  $cis$ -[Pt(3-acpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] kompleks, **Slika 2.22.** [115], koji je publikovan pola godine kasnije nego naš  $trans$ -[Pt(3-acpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] kompleks [116]. Polazni kompleks je bio K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], ligand 3-acpy je dodat u molskom odnosu 1 : 3. Autori ističu da su varirali količinske odnose M : ligand i utvrdili da su samo pri pomenutom stehiometrijskom odnosu uspešno izolovali *cis*-kompleks, pri ostalim su uvek dobijali smešu *cis*-/*trans*-izomera. Strukturni raspored liganada je veoma neobičan i ovo je prvi primer da je 3-acpy ligand u *cis*-položaju u odnosu na drugi takav. Ispitivana je citotoksičnost na A2780 i A2780R (humana ćelijska linija kancera

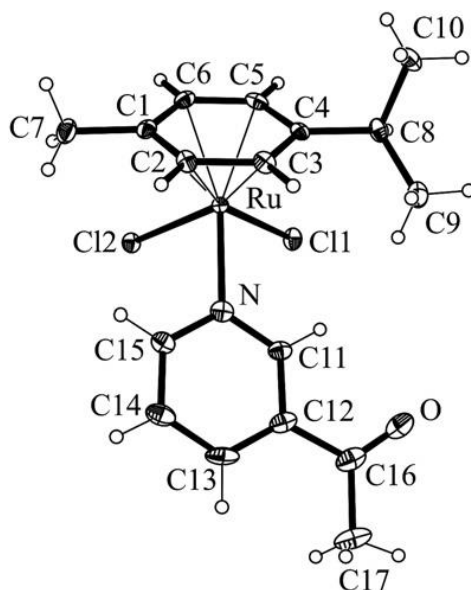
ovarijuma senzitivna i rezistentna na cisplatinu), L1210/0 i L1210/2 (ćelijska linija leukemije kod miševa, senzitivna i rezistentna na cisplatinu), zatim na sedam kancerogenih humanih ćelijskih linija, A498 (karcinom pluća), EVSA-T, MCF-7 (karcinomi dojke), H226 (karcinom bubrega), IGROV (karcinom ovarijuma), M19 (melanom) i WIDR (karcinom kolona). Nađeno je da nema *in vitro* aktivnosti za L1210/0 i L1210/2 ćelijske linije. Međutim, kompleks je pokazao na A2780R sličnu aktivnost kao cisplatinu (26  $\mu\text{M}$  odnosno 17  $\mu\text{M}$ , respektivno), dok su za ostale ćelijske linije rezultati pokazali relativno nisku citotoksičnost [115]. Ispitivana je i antimikrobna aktivnost na Gram-negativne bakterije *Escherichia coli* i Gram-pozitivne bakterije *Streptomyces coelicolor* i nađeno da kompleks ubija *E.coli*, dok je kod *S. coelicolor* primećeno da kompleks inhibira rast, ali ne dolazi do umiranja ćelija, tako da je ovaj *cis*-kompleks bakteriostatik na Gram-pozitivne bakterije. Poređenja radi cisplatinu je pokazala značajno višu aktivnost na Gram-negativne *E. coli*, bakterije, dok efekta na rast Gram-pozitivnih bakterija nije bilo [115].



**Slika 2.22.** ORTEP prezentacija *cis*-[Pt(3-acpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] kompleksa [115]

Sa 3- i 4-acetilpiridinom ( $L^{1,2}$ ) sintetisana su dva Ru(II)-arenska kompleksa, opšte formule  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}_2(L^{1,2})]$  [70]. Sintetisana jedinjenja su dobijena reakcijom polaznog dimernog kompleksa  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})_2\text{RuCl}_2]_2$  suspendovanog u izopropanolu sa odgovarajućom količinom liganda takođe rastvorenog u izopropanolu u stehiometrijskom odnosu 1 : 2. Aromatični prsten ( $\eta^6$   $\pi$ -vezan) *p*-cimena zauzima sedište, dok su preostala tri mesta u slučaju ovih kompleksa zauzeta monodentatnim

ligandom koordinovanim preko piridinskog atoma, zajedno sa dva hloridna jona. Jedinjenja imaju karakterističnu „three-leg piano–stool” geometriju koja se javlja kod velikog broja rutenijum(II) arenских kompleksa. Dobijen je monokristalni proizvod sa 3-acpy kao ligandom, **Slika 2.23**. Kompleksi pokazuju nisku antiproliferativnu aktivnost na šest ispitivanih ćelijskih linija [70].



**Slika 2.23.** ORTEP prezentacija kompleksa  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}_2(\text{L}^{1,2})]$ ,  
 $\text{L}^{1,2} = 3\text{-acpy}, 4\text{-acpy}$  [70]

### 2.5.2. Piridindikarboksilne kiseline kao ligandi

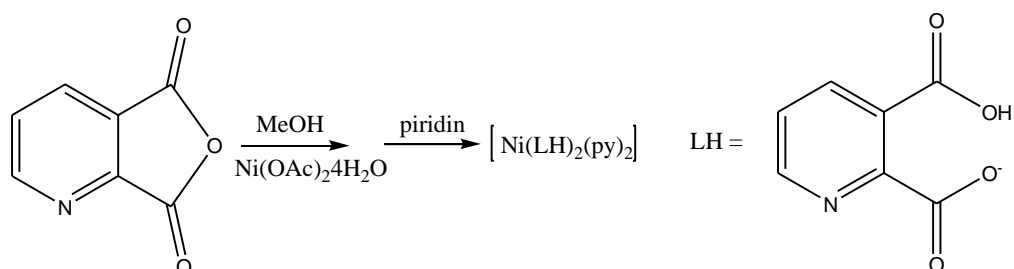
Postoji više piridinskih derivata koji pokazuju različite farmakološke aktivnosti. Lutidinska kiselina ili 2,4-piridindikarboksilna kiselina (2,4-pydc) pokazuje imuno-supresivne i fibro-supresivne osobine [117], utiče na rast određenih vrsta biljaka [118] i sposobna je da zaštiti izvesne enzime iz ćelija *Bacillus subtilis* od inaktivacije toplotom [119,120]. Slično se ponašaju i njeni izomeri 2,5- i 2,6-pydc koji takođe aktiviraju ili inhibiraju neke metaloenzime [121,122]. Gvožđe(III)-2,6-piridindikarboksilat učestvuje u prenosu elektrona u izvesnim

modelima bioloških sistema [123,124]. Koordinovanje piridindikarboksilnih kiselina za jone biološki važnih metala, može da posluži kao strukturni model u biološkim sistemima, s obzirom na njihovu ulogu u raznim biološkim procesima koja još uvek nije dobro razjašnjena [125-128]. 2,n-Piridindikarboksilne kiseline ili 2,n-dipikolinske kiseline ( $n = 3, 4, 5, 6$ ) u reakciji sa metalima grade kompleksna jedinjenja različite stehiometrije (1 : 1 ili 1 : 2) i različite geometrije. Kao ligandi u literaturi se pojavljuju kao helatni, bidentatni N,O donori, pri čemu se jedna COOH grupa deprotonuje i koordinuje preko karboksilatnog kiseonika [123-128], a druga ostaje slobodna ili tridentatno ukoliko je u pitanju 2,6-pydc [123,124], kada uz piridinski azot učesće u koordinaciji za centralne metalne jone uzimaju oba karboksilatna kiseonika. Nije retko i da se karboksilna grupa koja ne učestvuje direktno u koordinaciji za centralni metalni jon aktivira svojim deprotonovanjem i dalje doprinosi građenju dimernih ili polimernih kompleksa ili stabilizaciji kristalnih struktura [125,127,128]. 2,3-Pydc može da se ponaša slično kao pikolinska kiselina, tj. koordinuje se za centralne metalne jone preko piridinskog azota i karboksilatnog kiseonika iz *orto*- položaja, dok karboksilna grupa iz *meta*- položaja ostaje nekoordinovana [126]. Pri solvotermalnim sintezama može doći do dekarboksilacije karboksilne grupe u *orto*- položaju, što rezultuje obrazovanjem nikotinske kiseline [129,130]. Struktura 2,5-piridindikarboksilne kiseline čini je ligandom pogodnim za sinteze tzv. kavez-materijala zbog prisustva dve karboksilatne grupe u 2- i 5-položajima koje se mogu lako koordinovati za različite metalne centre pri čemu se mogu formirati uz monomerne i supramolekulske strukture različitih karakteristika [131].

### 2.5.3. Kompleksi prelaznih metala sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama

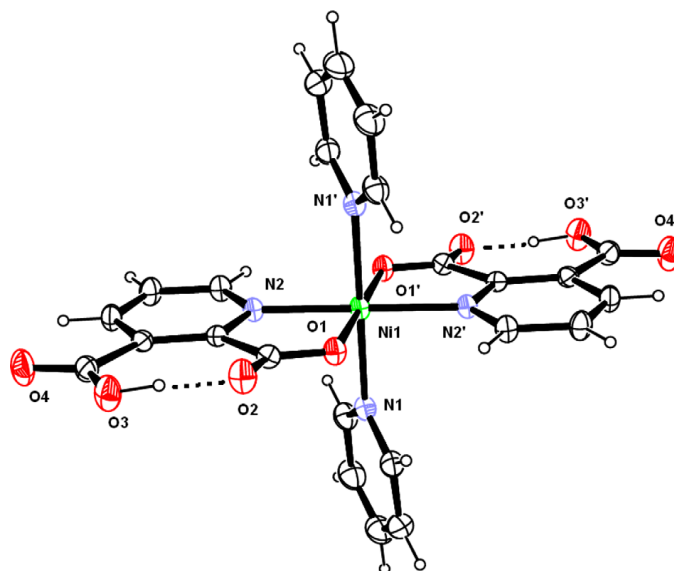
Reakcijom acetata prve serije prelaznih metala, Co(II), Ni(II) i Zn(II), sa 2,3-piridindikarboksilnom kiselinom (2,3-pydc) u metanolnom rastvoru dobijeni su kompleksi sa po dva bidentatno koordinovana monoanjonska liganda (piridinski azot i karboksilatni kiseonik) [125]. Značajno je pomenuti da se dobijaju čisti kompleksi i da nije otkriveno prisustvo metil estra 2,3-pydc. Međutim, ako u reakcionoj smeši nije prisutna so metala, kao glavni proizvod dobija se upravo pomenuti metil estar. Takođe

je primećeno da proizvod reakcije zavisi od prirode metala. Pri sintezi kompleksa Ni(II), najpre se pomoću metanola otvara prsten anhidrida 2,3-piridindikarboksilne kiseline, pri čemu se dobija 2,3-pydc, a zatim nikal(II)-acetat tetrahidrat daje centralni metalni jon koji biva koordinovan preko N,O donorskog seta liganda. U sintezi je naknadno dodavan piridin (py) koji je poslužio kao monodentatni ligand i tako upotpunio preostala dva mesta za koordinaciju. Reakcija nikal(II)-acetata sa anhidridom 2,3-pydc u metanolu, zatim tretiranje proizvoda piridinom, predstavljeno je na **Slici 2.24**.



**Slika 2.24.** Reakcija sinteze kompleksa  $[\text{Ni}(\text{2,3-pydc})_2(\text{py})_2]$  [125]

Kristalna struktura sintetisanog kompleksa predstavljena je na **Slici 2.25**.

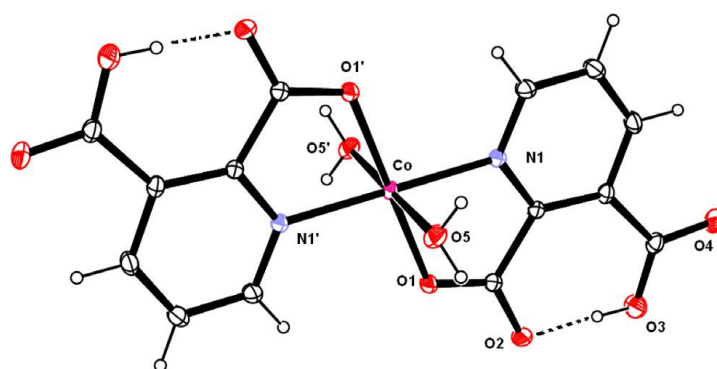


**Slika 2.25.** Kristalna struktura kompleksa  $[\text{Ni}(\text{2,3-pydc})_2(\text{py})_2]$  [125]



Dva monoanjonska liganda 2,3-pydc koordinuju se bidentatno, dok dva molekula piridina zauzimaju *trans*-položaje u iskrivljenoj oktaedarskoj geometriji. Preko vodonika slobodne karboksilne grupe obrazuje se vodonična veza za karbonilnim kiseonikom koordinovane karboksilne grupe, što sve doprinosi stabilizaciji nagrađene strukture [125].

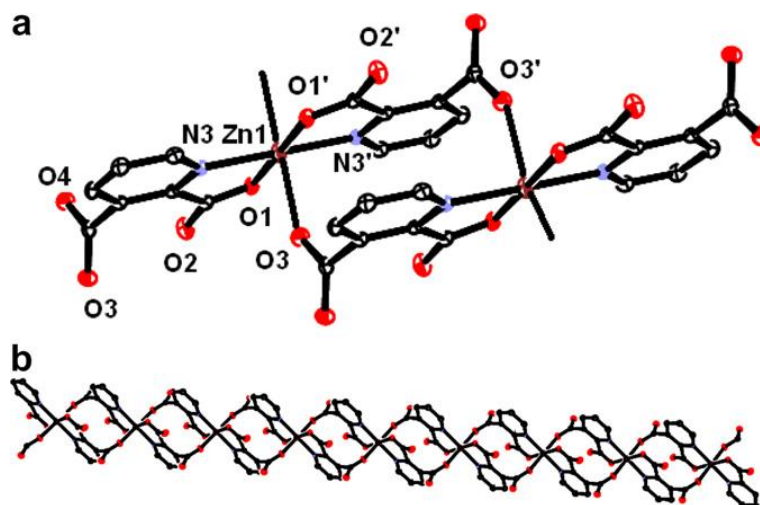
Slično, reakcijom kobalt(II)-acetat tetrahidrata i anhidrida 2,3-pydc formira se helatni kompleks opšte formule  $[\text{Co}(\text{LH})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  (LH - monoanjonski ligand 2,3-pydc). Jedina razlika je u tome što pri ovoj sintezi nije dodavan piridin pa su kod ovog kompleksa molekuli vode zauzeli preostala dva koordinaciona mesta i pozicionirali se u *trans*-položaju što je posledica relativno ekvatorijalno postavljene ravni koju obrazuju helatni prstenovi oko centralnog metalnog jona. Kristalografski podaci su ukazali da je sintetisan kompleks Co(II) takođe oktaedarske geometrije kao što je prikazano na **Slici 2.26**.



**Slika 2.26.** Kristalna struktura kompleksa  $[\text{Co}(2,3\text{-pydc})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  [125]

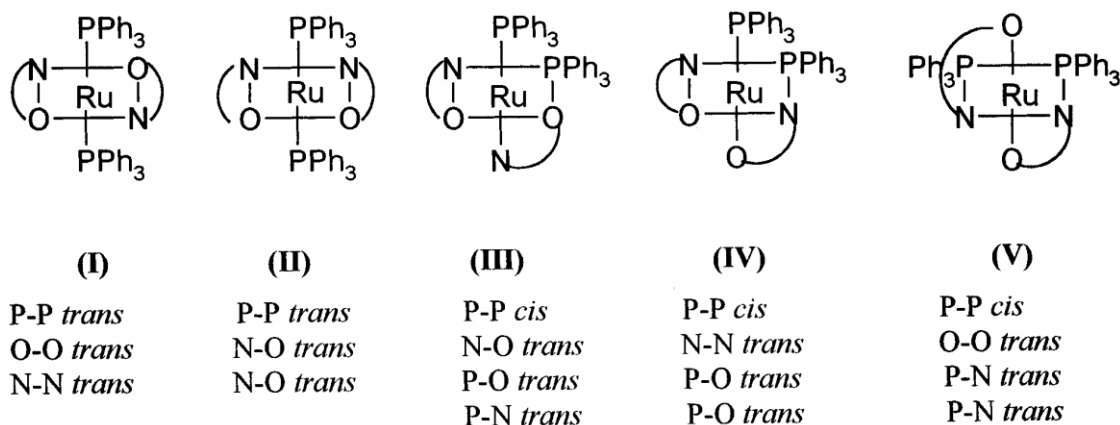
U istom radu sintetisan je i koordinacioni polimer,  $[\{\text{Zn}_2(\text{L})_3\}\text{bpyH}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]_n$  (bpy = 4,4'-bipiridin, L - dianjonski ligand 2,3-pydc), koji u svojoj strukturi sadrži dimerne jedinice oktaedarskog kompleksa Zn(II) sa bidentatno koordinovanim dianjonskim ligandom, **Slika 2.27**. Sinteza je slična sintezi kompleksa Ni(II), polazi se od metanolnog rastvora Zn(II)-acetat dihidrata koji se dodaje metanolnom rastvoru anhidrida 2,3-pydc, uz kasnije dodavanje 4,4'-bipiridina. Obe karboksilne grupe 2,3-pydc liganda su deprotonovane, i obe učestvuju u koordinaciji za Zn(II) jon i tako

grade dimerne jedinice. U strukturi polimera kao mostni ligand poslužio je 4,4'-bipiridin [125].



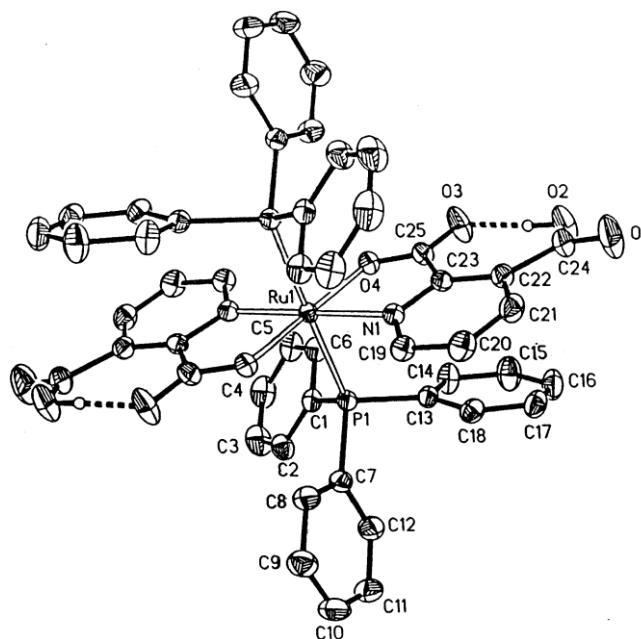
**Slika 2.27.** (a) Deo dimerne jedinice polimera  $[\{Zn_2(L)_3\}bpyH_2 \cdot 3H_2O]_n$  (bpy = 4,4'-bipiridin, L - dianjonski ligand 2,3-pydc), (b) jednodimenzionalni lanac u koordinacionom polimeru [125]

Sengupta *et al.* [126] su reakcijom srebro-2,n-piridindikarboksilata ( $n = 3, 4, 5, 6$ ) sa  $Ru(PPh_3)_3Cl_2$  ( $PPh_3$  = trifenilfosfin) u metanolu sintetisali četiri helatna oktaedarska kompleksa Ru(II) opšte formule  $trans-Ru(PPh_3)_2(LH)_2$  ( $LH_2 = 2,n$ -piridindikarboksilna kiselina). Najpre su sintetisane soli srebra sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama uz dodatak  $NaHCO_3$  da bi obezbedili deprotonovanje liganada ( $pH \approx 5$ ). Tokom sinteza svih kompleksa došlo je do zamene hloridnih liganada sa bidentatno koordinovanim 2,n-pydc ligandima. Samo sa 2,3-pydc ligandom dobijen je monokristalni proizvod, pa su autori na osnovu njegove kristalne strukture potvrdili pretpostavljenu koordinaciju liganada i strukturu izomera **I**, prikazanu na **Slici 2.28**. Inače, teoretski je moguće obrazovanje pet geometrijskih izomera, **Slika 2.28**. Koji geometrijski izomer nastaje najviše zavisi od sternih smetnji, pa bi shodno tome najstabilniji bili izomeri **I** i **II**. Moguće je da neki od preostala tri kompleksa imaju bilo koju od ove dve strukture.



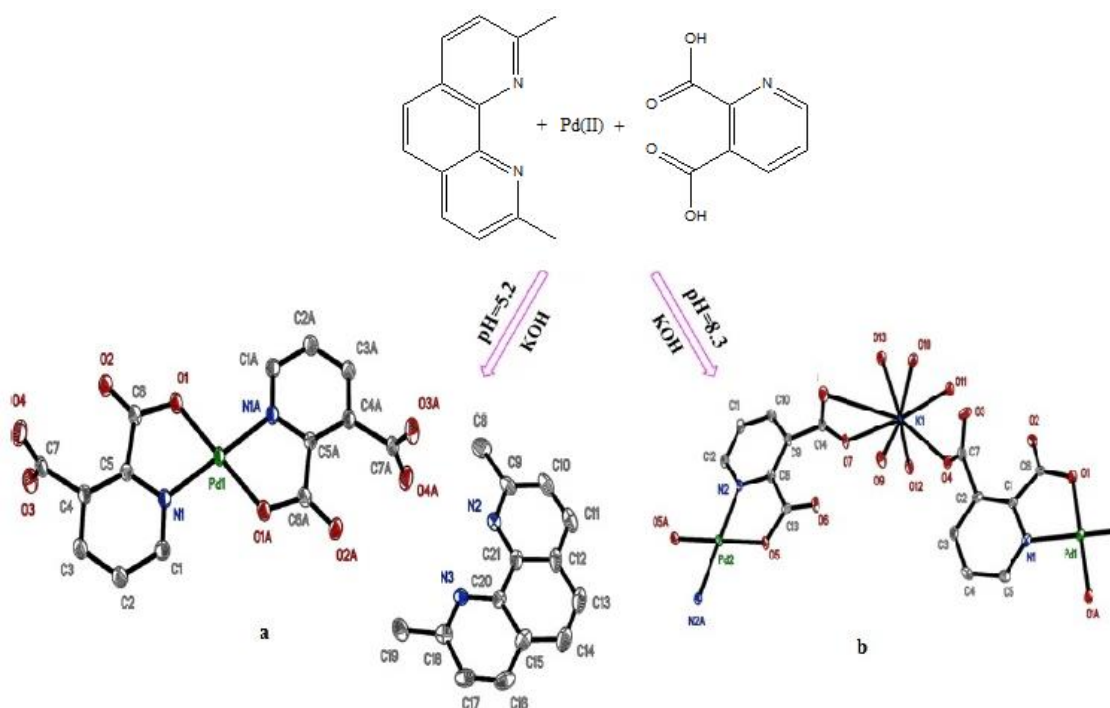
**Slika 2.28.** Mogući geometrijski izomeri kompleksa opšte formule  $\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{LH})_2$  ( $\text{LH}_2 = 2, n$ -piridindikarboksilna kiselina) [126]

Piridindikarboksilni ligandi dejstvuju kao bidentatni N,O donori koji obrazuju helatne komplekse Ru(II). U ekvatorijalnoj ravni su smeštena dva monoanjonska liganda koordinovana preko piridinskog azota i karboksilatnog kiseonika, dok druga karboksilna grupa liganada ostaje u protonovanom obliku. Dve  $\text{PPh}_3$  grupe zauzimaju aksijalne položaje. H atom slobodne karboksilne grupe vodonično se vezuje za karbonilni kiseonik susedne  $-\text{COOH}$  grupe [126]. Kristalna struktura kompleksa sa 2,3-pydc ligandom prikazana je na **Slici 2.29**. Vršeno je ispitivanje inhibicije rasta bakterija *Escherichia coli* pod dejstvom ovih kompleksa i dobijeni su rezultati za MIC (minimalnu koncentraciju inhibitora) od  $20 \mu\text{g ml}^{-1}$  za kompleks sa 2,3-pydc što ukazuje na njegovu značajnu antibakterijsku aktivnost,  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  za kompleks sa 2,4-pydc što je zadovoljavajuću aktivnost, dok su vrednosti za preostala dva kompleksa znatno niže ( $200$ - $250 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) [126].



**Slika 2.29.** Kristalna struktura kompleksa *trans*-[Ru(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(2,3-pydc)<sub>2</sub>] [126]

Gao *et al.* [127] sintetisali su dva kompleksa Pd(II), monomerni [Pd(pdc)<sub>2</sub>](dmp)·6H<sub>2</sub>O i heteronuklearni polimer [Pd(pdc)<sub>2</sub>K(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>·3H<sub>2</sub>O]<sub>n</sub> (H<sub>2</sub>pdc = 2,3-pydc, dmp = 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) polazeći od vodenog rastvora 2,3-pydc liganda i vodenog rastvora K<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>] uz dodatak bmp u etanolu (molski odnos 1 : 1,5 : 1). Pri sintezi prvog kompleksa pomoću rastvora KOH podešena je pH vrednost na 5,2, a kod druge sinteze na 8,3, što je rezultovalo obrazovanjem različitih kompleksnih vrsta, **Slika 2.30**. Monomerni kompleks, [Pd(pdc)<sub>2</sub>](dmp)·6H<sub>2</sub>O, sastoji se od neutralnog kompleksnog molekula u kome su dva dianjonska 2,3-pydc liganda koordinovana kao bidentati preko N,O donorskog seta, šest nekoordinovanih molekula vode i jednog nekoordinovanog dmp liganda i sve tri molekulske vrste doprinose obrazovanju kristalne strukture monomera, **Slika 2.30 (a)**. Donorski atomi (N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hromofora) oko Pd(II) jona ekvatorijalno su postavljeni, a nagrađen monomerni kompleks je očekivane približno kvadratno-planarne geometrije. Asimetrična monomerna jedinica heteronuklearnog polimera sastoji se od kalijumovog centra, dva paladijumska centra, dva pdc dianjona koordinovana preko N,O seta za Pd(II) jon, pet koordinovanih molekula vode i tri nekoordinovana molekula vode, **Slika 2.30 (b)**.

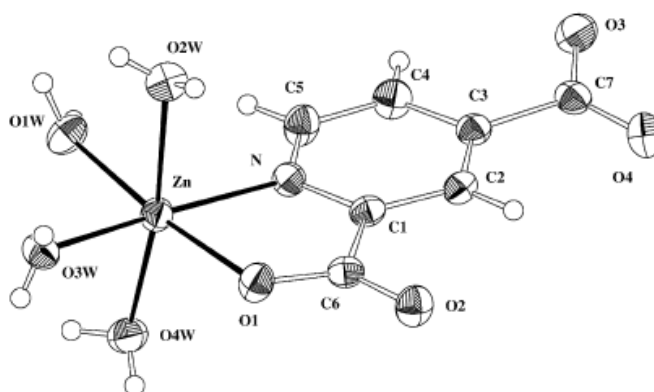


**Slika 2.30.** Sinteze kompleksa Pd(II) sa 2,3-pydc ligandom na različitim pH vrednostima. Obrazovani kompleksi: monomerni kompleks (a) i monomerna jedinica heteronuklearnog polimera (b) [127]

Jon kalijuma povezan je sa osam O atoma (dodekaedarska geometrija) od kojih tri O atoma potiču od karboksilnih grupa dva različita dianjonska liganada (2,3-pydc), a preostalih pet atoma O su od molekula vode. Preko ovako formiranog K-mosta povezuju se Pd(II) neutralni kvadratno-planarni kompleksi i kao takvi učestvuju u građenju polimernih lanaca veoma komplikovane strukture [127].

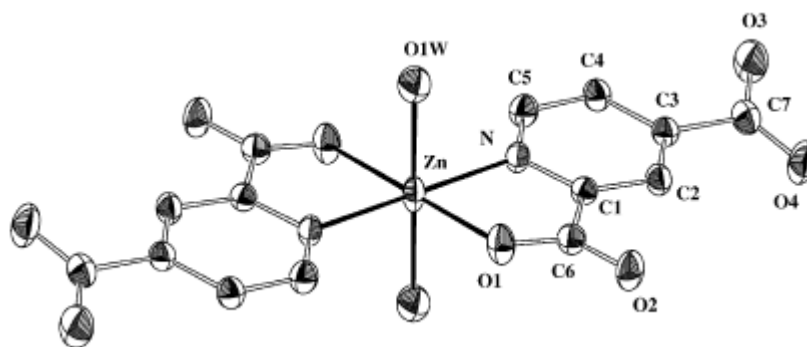
Ispitivana je citotoksična aktivnost sintetisanih kompleksa Pd(II) i dobijeni su zadovoljavajući rezultati na sedam ćelijskih linija, posebno na HL-60 (ćelijska linija nezrelih granulocita leukemije). Nakon 24 h dobijene su  $IC_{50}$  vrednosti  $13,4 \pm 2,9 \mu\text{M}$  (monomer) i  $10,7 \pm 1,9 \mu\text{M}$  (polimer), u poređenju sa cisplatinom čija je  $IC_{50}$  vrednost na HL-60 ćelijskoj liniji  $14,5 \pm 2,3 \mu\text{M}$ , dok su na A2780<sup>cisR</sup> (humana ćelijska linija karcinoma ovarijuma, rezistentna na cisplatinu) dobijene  $IC_{50}$  vrednosti  $14,6 \pm 2,4 \mu\text{M}$  (monomer) i  $12,3 \pm 1,9 \mu\text{M}$  (polimer), a referentna cisplatina pokazala je  $17,2 \pm 3,3 \mu\text{M}$ . Slično je i nakon 72 h, na obe ćelijske linije dobijeni su jako dobri rezultati [127].

Sileo *et al.* [128] sintetisali su dva kompleksa Zn(II) i jedan kompleks Ni(II) sa 2,4-piridindikarboksilnom kiselinom (lutidinska kiselina, 2,4-pydc) kao monohidratnim ligandom ( $2,4\text{-pydc}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ). U reakciji 2,4-pydc sa  $\text{ZnSO}_4$  u molskom odnosu 1 : 1 u baznoj sredini (rastvor NaOH) nastaje monokristalni proizvod formule  $[\text{Zn}(2,4\text{-pydc})(\text{H}_2\text{O})_4]\cdot\text{H}_2\text{O}$ . Kristalna struktura kompleksa prikazana je na **Slika 2.31**. Cink je ekvatorijalno koordinovan sa monoanjonskim lutidinskom jonom, koji djeluje kao bidentatni ligand preko piridinskog azota i kiseonika karboksilatne grupe i sa još dva molekula  $\text{H}_2\text{O}$ . Aksijalne položaje zauzimaju dva molekula vode. Jon cinka je neznatno pomeren van ekvatorijalne ravni liganda prema najbližem aksijalnom ligandu ( $\text{H}_2\text{O}$ ; O(4W)).



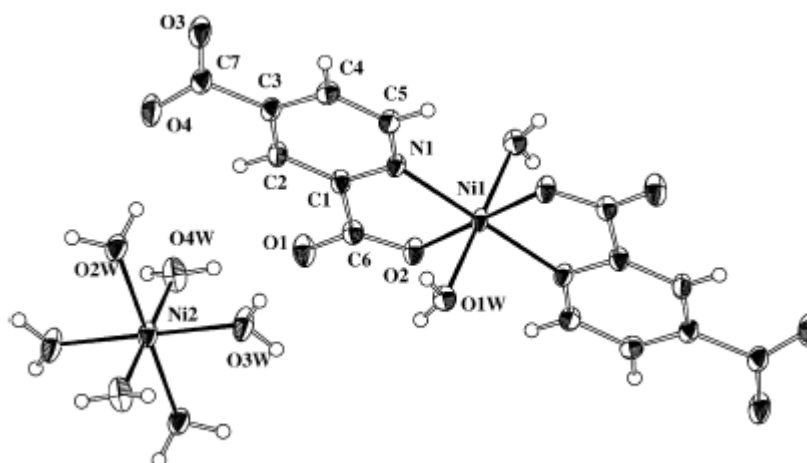
**Slika 2.31.** Struktura kompleksa  $[\text{Zn}(2,4\text{-pydc})(\text{H}_2\text{O})_4]$  [128]

Pri sintezi u molskom odnosu 2 : 2 : 1, kada se pomešaju NaOH, 2,4-pydc i  $\text{ZnSO}_4$  kao proizvod reakcije nastaje kompleks  $\text{Na}_2[\text{Zn}(2,4\text{-pydc})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$  koji je prikazan na **Slici 2.32**. Centralni metalni jon je ekvatorijalno koordinovan sa dva monoaniona lutidinske kiseline koji se vezuju bidentatno, preko azota i kiseonika  $\alpha$ -karboksilne grupe [128], a dva molekula vode se nalaze u aksijalnim položajima iskrivljenog oktaedra.



**Slika 2.32.** Kristalna struktura kompleksa  $[\text{Zn}(2,4\text{-pydc})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  [128]

Ako u reakciji učestvuju  $\text{NiSO}_4$  i 2,4-piridindikarboksilna kiselina u baznoj sredini ( $\text{NaOH}$ ) u molaskom odnosu 1 : 1 nastaje prozirno zelen proizvod koji se može prikazati formulom  $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Ni}(2,4\text{-pydc})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ . Kristalna struktura kompleksa prikazana je na **Slici 2.33**. Sintetisan proizvod se sastoji od dva kompleksna jona koji su mostno vezani vodoničnim vezama. Kristalna struktura je drugačija u odnosu na druge piridindikarboksilatne komplekse. Svaka jedinična ćelija sadrži dva  $\text{Ni}(\text{II})$  jona koji leže na različitim kristalografskim inverzionim centrima.  $\text{Ni}(1)$  je heksakoordinovan sa dva molekula vode i dve lutidinske kiseline u monoanjonskom obliku pa ima naelektrisanje  $2^-$ .  $\text{Ni}(2)$  je koordinovan sa šest molekula vode i stoga ima naelektrisanje  $2^+$ . Oba metalna centra su međusobno povezana jedan sa drugim vodoničnim vezama između  $\text{O}(2\text{W})$  i  $\text{O}(4)$ , i između  $\text{O}(4\text{W})$  i  $\text{O}(1)$ . Ispostavilo se da su ove veze neobično jake [128].

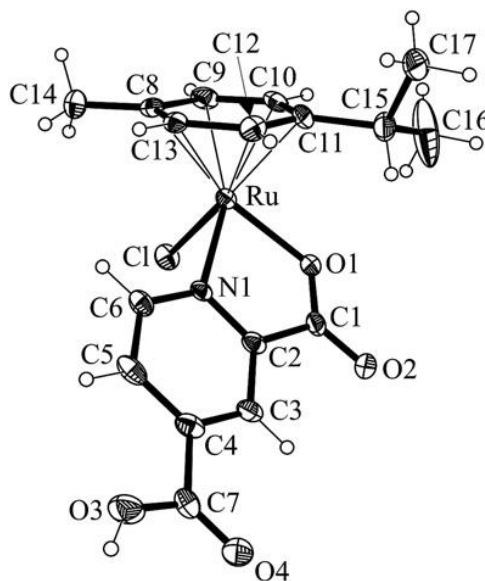


**Slika 2.33.** Kristalna struktura kompleksa  $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Ni}(\text{2,4-pydc})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$   
[128]

Sa 2,n-piridindiikarboksilnim kiselinama sintetisana je serija Ru(II)-arenskih kompleksa, opšte formule  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}(\text{HL}^{6-9})]$ , gde je  $\text{H}_2\text{L}$  ligand redom 2,3-, 2,4-, 2,5- i 2,6-piridindikarboksilna kiselina ( $\text{HL}^{6-9}$ ) [70]. Sintetisana jedinjenja su dobijena reakcijom polaznog dimernog kompleksa  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})_2\text{RuCl}_2]_2$  suspendovanog u izopropanolu sa odgovarajućom količinom liganda takođe rastvorenog u izopropanolu u stehiometrijskom odnosu 1 : 2. Ligandi su bidentatno koordinovani preko piridinskog azota i kiseonika jedne karboksilatne grupe obrazujući petočlani helatni prsten, dok je treće mesto zauzeto hloridnim jonom. Rezultati rendgenske strukturne analize jedinjenja sa 2,4-pydc ligandom potvrđuju pseudo-oktaedarsku, tzv. „three-leg piano–stool” geometriju karakterističnu za ovaj tip jedinjenja, sa *p*-cimenskim jezgrom u ravni iznad rutenijumovog jona i sa preostala tri mesta za vezivanje liganada, **Slika 2.34**. Kompleksi pokazuju nisku antiproliferativnu aktivnost na šest ispitivanih ćelijskih linija. Ispitivana je hidroliza  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{Cl}(\text{2,3-pydc})]$  kompleksa na pH 7,4, u  $\text{D}_2\text{O}$ , na 310 K, uz gradijentni dodatak NaCl (100 mM - 0 mM NaCl) što je praćeno snimanjem  $^1\text{H}$  NMR spektara tokom 24 h. Zaključeno je da je kompleks potpuno hidrolizovan u čistoj  $\text{D}_2\text{O}$  i da je hidroliza suzbijena sa povećanjem koncentracije hloridnih jona. Reakcija kompleksa sa



9-metiladeninom je pokazala da dolazi do interakcije pri čemu se formira kompleks-adenin adukt [70].



**Slika 2.34.** ORTEP prezentacija kompleksa  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})\text{RuCl}(2,4\text{-pydc})]$  [70]

### **3. EKSPERIMENTALNI DEO**

### 3. Eksperimentalni deo

#### 3.1. Sinteze kompleksa

##### 3.1.1. Sinteza polaznog kalijum-heksahloridoplatinat(IV) kompleksa

Redukovana platina je isprana vodom i osušena preko noći. U visokoj čaši rastvoren je 1,00 g (5,13 mmol) osušene platine u 25 ml vruće *carske vode* (3 dela *konc.* HCl i 1 deo *konc.* HNO<sub>3</sub>) na vodenom kupatilu, pri čemu je platina prevedena u H<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub>. Tokom rastvaranja platine, čaša sa reakcionom smešom je blago i pažljivo zagrevana i kada je reakcija počela, što se zapaža po izdvajanju para azot(II)-oksida žute boje, uklonjena je sa rešoa. Reakcija je veoma burna pa se mora voditi računa da ne dođe do penušanja rastvora. Azotna kiselina se uklanja iz reakcione smeše petostrukim uparavanjem i dodavanjem 5 ml *konc.* HCl. Zatim je rastvor uparavan skoro do suva, nakon čega se dodaje 10,0 ml dest. H<sub>2</sub>O i uz mešanje još 15 ml vodenog rastvora KCl (0,76 g, 10,25 mmol) pri čemu se izdvaja žuti prah kalijum-heksahloridoplatinata(IV), K<sub>2</sub>[PtCl<sub>6</sub>] [129]. Rastvor se potom uparava do male zapremine i ostavlja na sobnoj temperaturi da se ohladi. Nakon toga rastvor je proceden, a talog žute boje ispran sa nekoliko porcija etanola i malo ledene smeše EtOH-voda (1 : 1) i dobro osušen pod vakuumom. Dobijen žut proizvod K<sub>2</sub>[PtCl<sub>6</sub>] ostavljen je u otvorenoj teglici u mraku, da ispari eventualno zaostao EtOH.

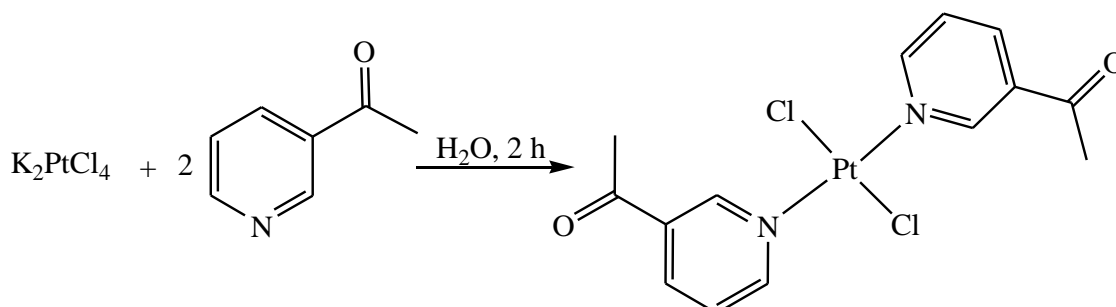
##### 3.1.2. Sinteza polaznog kalijum-tetrahlidoplatinat(II) kompleksa

U čašu od 250 ml odmereno je 10 g (0,02 mol) kalijum-heksahloridoplatinata(IV), K<sub>2</sub>[PtCl<sub>6</sub>] i dodato 100 ml vode. Reakciona smeša je zagrevana na magnetnoj mešalici 2 h na 50 °C i tokom tog perioda dodavan je u malim porcijama 1 g hidrazin-dihidrohlorid, N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·2HCl rastvoren u vodi. Između dodavanja pravljene su pauze od oko 5 min, da ne bi došlo do potpune redukcije platine i

izdvajanja elementarne platine u obliku taloga. Reakciona smeša je penušala pri dodavanju svake kapi hidrazin-dihidrohlorida. U čaši se obrazuje kalijum-tetrahloridoplatinat(II),  $K_2[PtCl_4]$ , pri čemu rastvor dobija krv-crvenu boju. Pri tome je takođe formirana i crna elementarna platina po zidovima čaše. Nakon 2 h zagrevanja reakcione smeše, temperatura je postupno povećavana na  $100\text{ }^\circ\text{C}$  i smeša zagrevana još oko 1 h. Pošto je u talogu zaostajao i neizreagovan kalijum-heksahloridoplatinat(IV) žute boje, dodavano je još malo hidrazin-dihidrohlorida, nakon čega je prekinuto zagrevanje, a prohladen rastvor ostavljen u frižider do sutradan. Talog je proceden na Buchner-ovom levku pod vakuumom, a zatim ispran ledenom vodom. Zaostao filtrat crvene boje uparavan je na oko  $150\text{ }^\circ\text{C}$  uz mešanje. Zatim je rastvor ponovo ostavljen u frižider da se dobro ohladi, proceden, uparen na polovinu zapremine u rotacionom uparivaču i ostavljen jos jednom preko noći u frižider. Tada je sintetisan kompleks počeo da kristališe. Sutradan je igličast kristalni proizvod crvene boje  $K_2[PtCl_4]$  proceden i ostavljen na suvo i mračno mesto da se suši, a preostali vodeni deo rastvora uparen na polovinu zapremine, još jednom ostavljen u frižider da prenoći, nakon čega je iskristalisala još jedna frakcija kompleksa [130,131].

### 3.1.3. Sinteza kompleksa *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(3-acpy)<sub>2</sub>] (1)

Vodenom rastvoru (5 ml) kalijum-tetrahloridoplatinata(II) (0,19 g, 0,45 mmol) dodavan je rastvor 3-acetilpiridina (0,10 ml, 0,91 mmol) u vodi (3 ml) u kapima. Reakciona smeša je refluktovana uz mešanje tokom 2 sata. Žut praškast proizvod je proceden, ispran etanolom i etrom i osušen pod vakuumom. Prinos: 0,20 g, 87%, t.t. 254 °C.



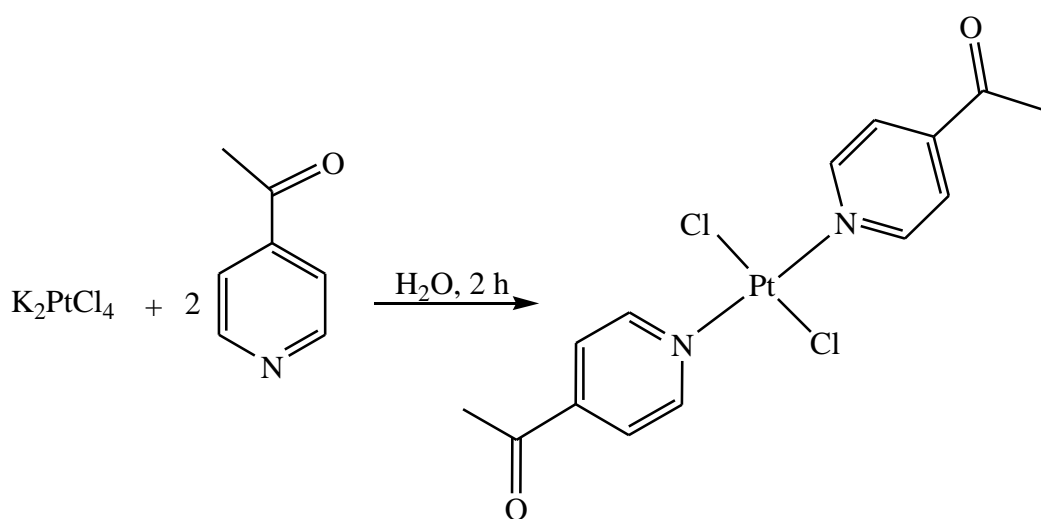
#### Elementalna analiza kompleksa (1)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Pt	Izračunato:	33,08	2,78	5,51
M <sub>r</sub> = 508,25	Nađeno:	32,55	3,04	5,44

IC (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1696 (s, C=O), 1575 (m, C=N), 1429, 1361, 1325 (piridinski prsten). <sup>1</sup>H NMR (199,97 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub> ppm): 9,39 (d, 1H, *H*<sub>2</sub>), 9,04 (d, 1H, *H*<sub>6</sub>), 8,46 (d, 1H, *H*<sub>4</sub>), 7,65 (t, 1H, *H*<sub>5</sub>), 2,63 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (50,28 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub> ppm): 195,60 (*C*<sub>7</sub>), 156,67 (*C*<sub>6</sub>), 153,23 (*C*<sub>2</sub>), 138,59 (*C*<sub>4</sub>), 134,42 (*C*<sub>3</sub>), 126,81 (*C*<sub>5</sub>), 27,28 (*C*<sub>9</sub>).

### 3.1.4. Sinteza kompleksa *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(4-acpy)<sub>2</sub>] (2)

Vodenom rastvoru (5 ml) kalijum-tetrahloridoplatinata(II) (0,19 g, 0,45 mmol) dodavan je rastvor 4-acetilpiridina (0,10 ml, 0,91 mmol) u vodi (3 ml) u kapima. Reakciona smeša je refluktovana uz mešanje tokom 2 sata. Žut praškast proizvod je proceden, ispran etanolom i etrom i osušen pod vakuumom. Prinos: 0,20 g, 87%, t.t. 274 °C. Kristali pogodni za rendgensku strukturnu analizu dobijeni su sporim isparavanjem dimetilsulfoksidnog rastvora kompleksa.



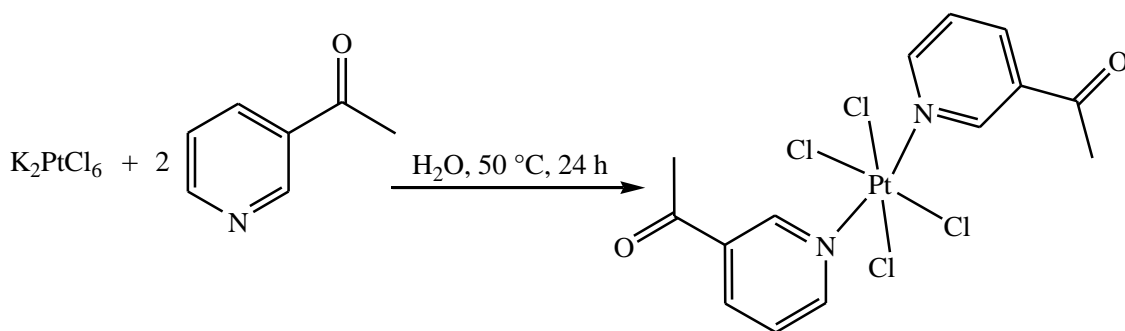
#### Elementalna analiza kompleksa (2)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Pt	Izračunato:	33,08	2,78	5,51
M <sub>r</sub> = 508,25	Nađeno:	32,86	2,93	5,50

IC (KBr, cm<sup>-1</sup>): 1697 (s, C=O), 1555 (m, C=N), 1422, 1362, 1264 (piridinski prsten). <sup>1</sup>H NMR (199,97 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub> ppm): 9,05 (d, 2H, *H*<sub>2</sub>, *H*<sub>6</sub>), 7,86 (dd, 2H, *H*<sub>3</sub>, *H*<sub>5</sub>), 2,51 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (50,28 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub> ppm): 196,89 (C7), 154,39 (C2, C6), 144,21 (C4), 124,35 (C3, C5), 27,21 (C9).

### 3.1.5. Sinteza kompleksa *trans*-[Pt(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] (3)

Kalijum-heksahloridoplatinatu(IV) (0,22 g, 0,45 mmol) rastvorenom u vodi (15 ml) uz zagrevanje na 80 °C dodavan je rastvor 3-acetilpiridina (L<sup>1</sup>) (0,10 ml, 0,91 mmol) u vodi (3 ml) u kapima. Reakciona smeša je zagrevana tokom 24 sata na 50 °C uz mešanje na magnetnoj mešalici. Žut proizvod je proceden, ispran sa nekoliko porcija vode, etanola i dietiletra i osušen pod vakuumom. Prinos: 0,14 g, 53,24%.



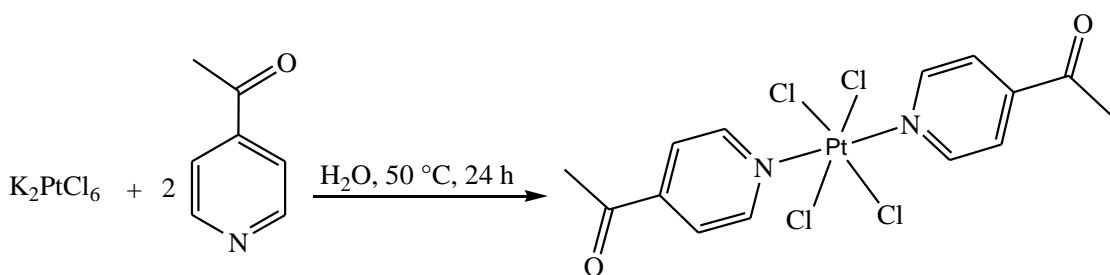
#### Elementalna analiza kompleksa (3)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> Pt	Izračunato:	29,03	2,44	4,84
M <sub>r</sub> = 579,16	Nađeno:	29,15	2,56	4,89

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3111 (w), 3060 (w), 1696 (s, C=O), 1604 (m, C=N), 1430, 1361, 1270 (piridinski prsten). <sup>1</sup>H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub> ppm): 9,23 (d, 1H, *H*<sub>2</sub>), 8,84 (t, 1H, *H*<sub>6</sub>), 8,84 (t, 1H, *H*<sub>4</sub>), 7,88 (t, 1H, *H*<sub>5</sub>), 2,65 (s, 3H, *CH*<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub> ppm): 194,97 (*C*<sub>7</sub>), 153,74 (*C*<sub>6</sub>), 150,43 (*C*<sub>2</sub>), 142,48 (*C*<sub>4</sub>), 134,65 (*C*<sub>3</sub>), 127,68 (*C*<sub>5</sub>), 27,06 (*C*<sub>9</sub>).

### 3.1.6. Sinteza kompleksa $\text{trans-[Pt(L}^2\text{)}_2\text{Cl}_4\text{]}$ (4)

Kalijum-heksahloridoplatinatu(IV) (0,22 g, 0,45 mmol) rastvorenom u vodi (15 ml) uz zagrevanje na 80 °C, dodavan je rastvor 4-acetilpiridina ( $\text{L}^2$ ) (0,10 ml, 0,91 mmol) u vodi (3 ml) u kapima. Reakciona smeša je zagrevana tokom 24 sata na 50 °C uz mešanje na magnetnoj mešalici. Žut proizvod je proceden, ispran sa nekoliko porcija vode, etanola i dietiletra i osušen pod vakuumom. Prinos: 0,15 g, 57,57%. Kristali pogodni za rendgensku strukturnu analizu dobijeni su sporim isparavanjem dimetilsulfoksidnog rastvora kompleksa.



#### Elementalna analiza kompleksa (4)

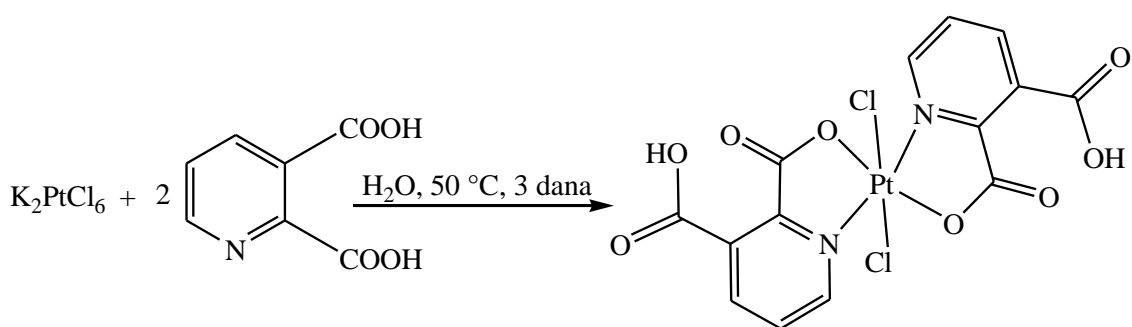
Molekulska formula:	%	C	H	N
$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}_4\text{Pt}$	Izračunato:	29,03	2,44	4,84
$M_r = 579,16$	Nađeno:	29,10	2,43	4,88

IC (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3111 (w), 3062 (w), 1704 (s, C=O), 1617 (m, C=N), 1422, 1355, 1263 (piridinski prsten).  $^1\text{H}$  NMR (500,26 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta_{\text{H}}$  ppm): 8,94 (d, 1H,  $H_2$ ), 8,94 (d, 1H,  $H_6$ ), 8,11 (d, 1H,  $H_3$ ), 8,11 (d, 1H,  $H_5$ ), 2,68 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125,79 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta_{\text{C}}$  ppm): 196,13 ( $C_7$ ), 152,52 ( $C_6$ ), 152,52 ( $C_2$ ), 146,65 ( $C_4$ ), 124,91 ( $C_3$ ), 124,91 ( $C_5$ ), 27,08 ( $C_9$ ).



### 3.1.7. Sinteza kompleksa *trans*-[Pt(HL<sup>3</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (5)

Kalijum-heksahloridoplatinatu(IV) (0,100 g, 0,206 mmol) rastvorenom u vodi (8 ml) uz zagrevanje na 80 °C, dodavan je u malim porcijama rastvor 2,3-piridindikarboksilne kiseline (H<sub>2</sub>L<sup>3</sup>) (0,070 g, 0,410 mmol) u vodi (5 ml) zagrejan na 70 °C. Reakciona smeša je zagrevana tokom 3 dana na 50 °C uz mešanje na magnetnoj mešalici. Svetlo-žut proizvod je proceđen, ispran sa nekoliko porcija vode, etanola i dietiletra i osušen pod vakuumom. Prinos: 0,09 g, 73,12%.



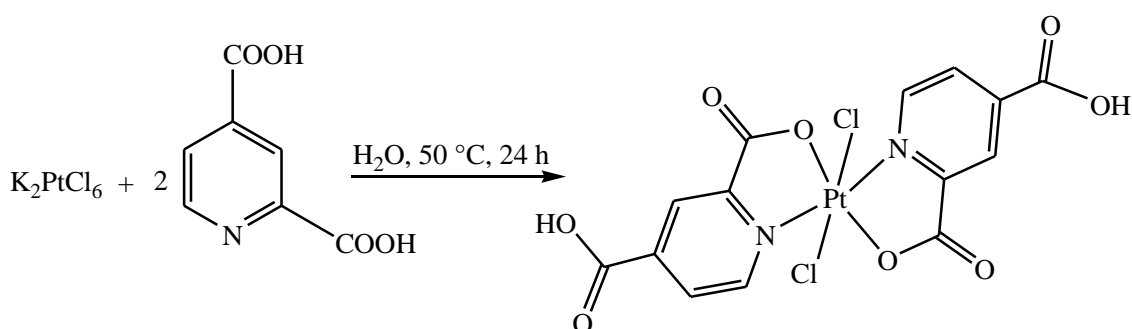
#### Elementalna analiza kompleksa (5)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> Pt	Izračunato:	28,11	1,35	4,68
M <sub>r</sub> = 598,21	Nađeno:	27,84	1,44	4,61

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3221 (m), 1742 (s, C=O), 1698 (s, C=O<sup>-</sup>), 1602 (m, C=N), 1395, 1320, 1274 (piridinski prsten). <sup>1</sup>H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub> ppm): 9,19 (dd, 1H, *H*<sub>6</sub>), 8,72 (dd, 1H, *H*<sub>4</sub>), 8,25 (dd, 1H, *H*<sub>5</sub>), <sup>13</sup>C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub> ppm): 167,88 (*C*<sub>9</sub>), 164,38 (*C*<sub>7</sub>), 149,12 (*C*<sub>6</sub>), 142,69 (*C*<sub>2</sub>), 141,78 (*C*<sub>4</sub>), 137,64 (*C*<sub>5</sub>), 132,93 (*C*<sub>3</sub>).

### 3.1.8. Sinteza kompleksa trans-[Pt(HL<sup>4</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (6)

Kalijum-heksahloridoplatinatu(IV) (0,100 g, 0,206 mmol) rastvorenom u vodi (8 ml) uz zagrevanje na 80 °C, dodavan je u malim porcijama rastvor 2,4-piridindikarboksilne kiseline (H<sub>2</sub>L<sup>4</sup>) (0,076 g, 0,410 mmol) u vodi (12 ml) zagrejan na 70 °C. Reakciona smeša je zagrevana tokom 24 sata na 50 °C uz mešanje na magnetnoj mešalici. Praškasto žut proizvod je proceden, ispran sa nekoliko porcija vode, etanola i dietiletra i osušen pod vakuumom. Prinos: 0,08 g, 64,99%.



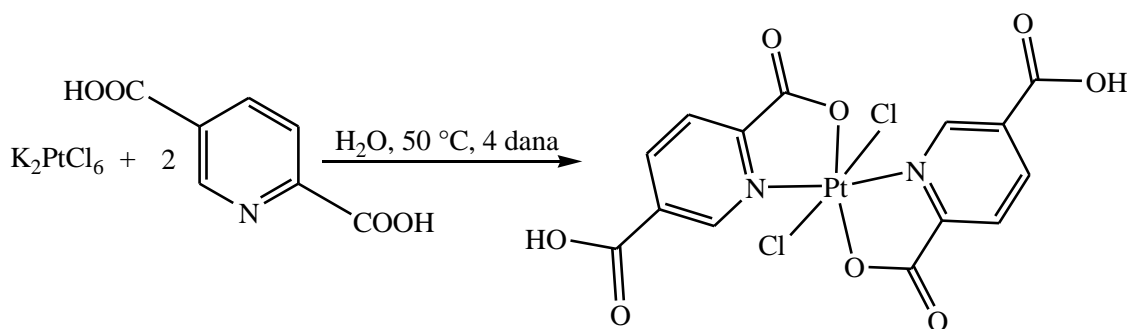
#### Elementalna analiza kompleksa (6)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> Pt	Izračunato:	28,11	1,35	4,68
M <sub>r</sub> = 598,21	Nađeno:	28,15	1,48	4,58

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3442 (w), 1710 (s, C=O), 1626 (s, C=O<sup>-</sup>), 1416 (m, C=N), 1285, 1251, 1158 (piridinski prsten). <sup>1</sup>H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub> ppm): 9,30 (d, 1H, H<sub>6</sub>), 8,57 (dd, 1H, H<sub>5</sub>), 8,39 (d, 1H, H<sub>3</sub>), <sup>13</sup>C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub> ppm): 168,79 (C<sub>9</sub>), 163,14 (C<sub>7</sub>), 149,72 (C<sub>6</sub>), 147,25 (C<sub>2</sub>), 146,03 (C<sub>4</sub>), 131,66 (C<sub>3</sub>), 128,34 (C<sub>5</sub>).

### 3.1.9. Sinteza kompleksa *trans*-[Pt(HL<sup>5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (7)

Kalijum-heksahloridoplatinatu(IV) (0,100 g, 0,206 mmol) rastvorenom u vodi (8 ml) uz zagrevanje na 80 °C, dodavan je u malim porcijama rastvor 2,5-piridindikarboksilne kiseline (H<sub>2</sub>L<sup>5</sup>) (0,070 g, 0,410 mmol) u vodi (15 ml) zagrejan na 70 °C. Reakciona smeša je zagrevana tokom 4 dana na 50 °C uz mešanje na magnetnoj mešalici. Žut proizvod je proceden, ispran sa nekoliko porcija vode, etanola i dietiletra i osušen pod vakuumom. Prinos: 0,07 g, 56,87%. Kristali pogodni za rendgensku strukturnu analizu dobijeni su sporim isparavanjem dimetilsulfoksidnog rastvora kompleksa, na hladno.



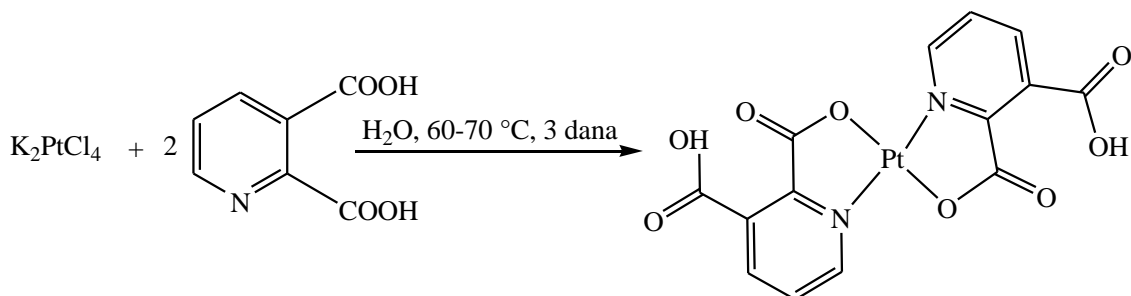
#### Elementalna analiza kompleksa (7)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> Pt	Izračunato:	28,11	1,35	4,68
M <sub>r</sub> = 598,21	Nađeno:	28,61	1,92	4,84

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3443 (w), 1717 (s, C=O), 1694 (s, C=O), 1494 (m, C=N), 1397, 1318, 1273 (pyridine ring). <sup>1</sup>H NMR (500,26 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub> ppm): 9,20 (d, 1H, *H*<sub>6</sub>), 8,99 (dd, 1H, *H*<sub>4</sub>), 8,41 (dd, 1H, *H*<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125,79 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub> ppm): 171,09 (*C*<sub>9</sub>), 163,46 (*C*<sub>7</sub>), 150,26 (*C*<sub>6</sub>), 146,07 (*C*<sub>2</sub>), 138,75 (*C*<sub>4</sub>), 129,86 (*C*<sub>3</sub>), 129,26 (*C*<sub>5</sub>).

### 3.1.10. Sinteza kompleksa *trans*-[Pt(HL<sup>3</sup>)<sub>2</sub>] (8)

Kalijum-tetrahloridoplatinatu(II) (0,10 g, 0,24 mmol) rastvorenom u vodi (5 ml), uz mešanje i zagrevanje na 60-70 °C dodavan je u malim porcijama vodeni rastvor 2,3-piridindikarboksilne kiseline (H<sub>2</sub>L<sup>3</sup>) (0,08 g, 0,48 mmol) prethodno rastvorene u 10 ml vode uz zagrevanje na 50 °C tokom 30 min. Reakciona smeša je počela da se muti i menja boju iz crvenkaste u bledo-žutu nakon 30 min. Sinteza je prekinuta nakon tri dana, a dobijen proizvod žute boje je proceden, ispran vodom i etil-etrom i osušen pod vakuumom. Prinos 0,1 g, 78,74%.



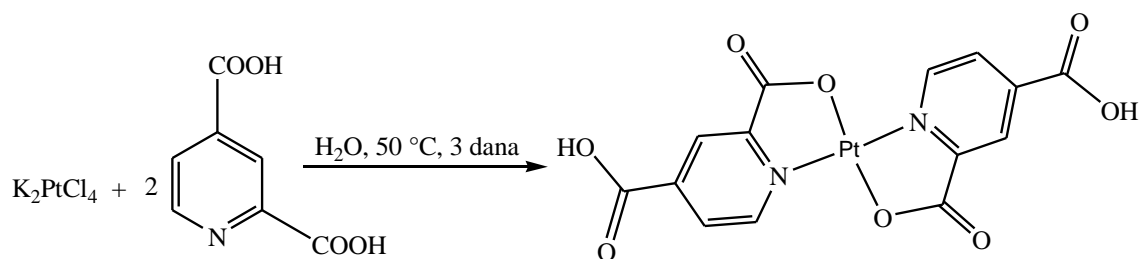
#### Elementalna analiza kompleksa (8)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> Pt	Izračunato:	31,89	1,53	5,31
M <sub>r</sub> = 527,32	Nađeno:	32,04	1,56	5,38

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3119 (m), 1725 (s, C=O), 1667 (s, C=O<sup>-</sup>), 1473 (m, C=N), 1441, 1315, 1266 (piridinski prsten). <sup>1</sup>H NMR (199,97 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub> ppm): 8,71 (d, 1H, *H*6), 8,44 (d, 1H, *H*4), 7,95 (dd, 1H, *H*5), <sup>13</sup>C NMR (50,28 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub> ppm): 172,49 (*C*9), 166,12 (*C*7), 149,13 (*C*6), 144,38 (*C*2), 139,68 (*C*4), 135,84 (*C*5), 130,32 (*C*3).

### 3.1.11. Sinteza kompleksa *trans*-[Pt(HL<sup>4</sup>)<sub>2</sub>]<sub>x</sub>H<sub>2</sub>O (9)

Kalijum-tetrahloridoplatinatu(II) (0,05 g, 0,13 mmol) rastvorenom u vodi (2,5 ml), uz mešanje i zagrevanje na 50 °C dodavan je u malim porcijama vodeni rastvor 2,4-piridindikarboksilne kiseline monohidrata (H<sub>2</sub>L<sup>4</sup>·H<sub>2</sub>O) (0,05 g, 0,26 mmol) prethodno rastvorene u 10 ml vode uz zagrevanje na 50 °C tokom 30 min. Reakciona smeša je počela polako da se muti i menja boju iz crvenkaste u bledo-žutu, nakon čega je sinteza trajala tri dana, a dobijen proizvod bledo-žute boje je proceden, ispran vodom i etil-etrom i osušen pod vakuumom. Prinos 0,04 g, 60,89%.



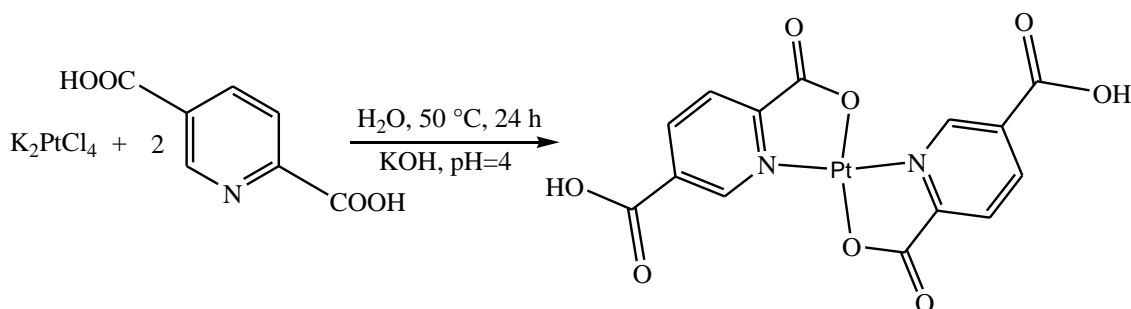
#### Elementalna analiza kompleksa (9)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub> Pt	Izračunato:	30,83	1,85	5,14
M <sub>r</sub> = 545,34	Nađeno:	30,68	1,84	5,08

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3086 (w), 1743 (s, C=O), 1655 (s, C=O<sup>-</sup>), 1474 (m, C=N), 1432, 1369, 1293 (piridinski prsten). <sup>1</sup>H NMR (199,97 MHz, D<sub>2</sub>O uz NaOD (pH ≈ 6), δ<sub>H</sub> ppm): 8,31 (d, 1H, H<sub>6</sub>), 7,92 (d, 1H, H<sub>5</sub>), 7,84 (dd, 1H, H<sub>3</sub>), <sup>13</sup>C NMR (50,28 MHz, D<sub>2</sub>O uz NaOD (pH ≈ 6), δ<sub>C</sub> ppm): 178,94 (C<sub>9</sub>), 171,80 (C<sub>7</sub>), 151,95 (C<sub>6</sub>), 151,44 (C<sub>2</sub>), 150,84 (C<sub>4</sub>), 131,94 (C<sub>3</sub>), 129,41 (C<sub>5</sub>).

### 3.1.12. Sinteza kompleksa *trans*-[Pt(HL<sup>5</sup>)<sub>2</sub>] (10)

Kalijum-tetrahloridoplatinatu(II) (0,1 g, 0,24 mmol) rastvorenom u vodi (5 ml), uz mešanje i zagrevanje na 50 °C dodavan je u malim porcijama vodeni rastvor 2,5-piridindikarboksilne kiseline (H<sub>2</sub>L<sup>5</sup>) (0,082 g, 0,480 mmol) prethodno rastvorene u 20 ml vode uz zagrevanje na 50 °C i uz dodatak par kapi vodenog rastvora KOH, (pH = 4), radi deprotonovanja jedne karboksilne grupe. Reakciona smeša je refluktovana uz zagrevanje na 50 °C i mešanje. Boja u sistemu se menja iz crvenkaste u žutu. Sinteza je prekinuta nakon 24 sata, a dobijen proizvod žute boje je proceden, ispran vodom i etil-etrom i osušen pod vakuumom. Prinos 0,08 g, 62,99%.



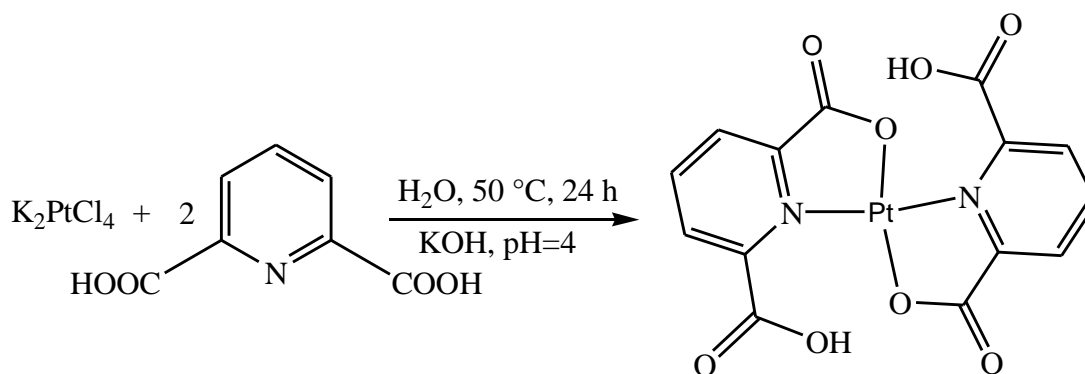
#### Elementalna analiza kompleksa (10)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> Pt	Izračunato:	31,89	1,53	5,31
M <sub>r</sub> = 527,32	Nađeno:	31,83	1,71	5,37

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3057 (w), 1739 (s, C=O), 1627 (s, C=O<sup>-</sup>), 1488 (m, C=N), 1391, 1339, 1285 (pyridine ring). <sup>1</sup>H NMR (199,97 MHz, D<sub>2</sub>O uz NaOD (pH ≈ 6), δ<sub>H</sub> ppm): 8,93 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 8,55 (d, 1H, H<sub>4</sub>), 7,86 (dd, 1H, H<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (50,28 MHz, D<sub>2</sub>O uz NaOD (pH ≈ 6), δ<sub>C</sub> ppm): 167,03 (C<sub>9</sub>), 167,03 (C<sub>7</sub>), 150,20 (C<sub>6</sub>), 148,86 (C<sub>2</sub>), 145,30 (C<sub>4</sub>), 128,86 (C<sub>3</sub>), 139,26 (C<sub>5</sub>).

### 3.1.13. Sinteza kompleksa *trans*-[Pt(HL<sup>6</sup>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O (11)

Kalijum-tetrahloridoplatinatu(II) (0,1 g, 0,24 mmol) rastvorenom u vodi (5 ml), uz mešanje i zagrevanje na 50 °C dodavan je u malim porcijama vodeni rastvor 2,6-piridindikarboksilne kiseline (H<sub>2</sub>L<sup>6</sup>) (0,081 g, 0,480 mmol) prethodno rastvorene u 10 ml vode uz zagrevanje na 50 °C i uz dodatak par kapi vodenog rastvora KOH, (pH = 4), radi deprotonovanja jedne karboksilne grupe. Reakciona smeša je refluktovana uz zagrevanje na 50 °C i mešanje. Boja u sistemu se menja iz crvenkaste u žutu. Sinteza je prekinuta nakon 24 sata, a dobijen proizvod bledo-žute boje je proceden, ispran vodom i etil-etrom i osušen pod vakuumom. Prinos 0,07 g, 55,12%.



#### Elementalna analiza kompleksa (11)

Molekulska formula:	%	C	H	N
C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>10</sub> Pt	Izračunato:	29,85	2,15	4,97
M <sub>r</sub> = 563,33	Nađeno:	29,98	2,16	5,00

IC (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3092 (w), 1703 (s, C=O), 1649 (s, C=O<sup>-</sup>), 1569 (m, C=N), 1431, 1344, 1303 (pyridine ring). <sup>1</sup>H NMR (199,97 MHz, D<sub>2</sub>O uz NaOD (pH ≈ 6), δ<sub>H</sub> ppm): 8,34 (t, 1H, H<sub>4</sub>), 7,92 (d, 1H, H<sub>5</sub>), 7,73 (d, 1H, H<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (50,28 MHz, D<sub>2</sub>O uz NaOD (pH ≈ 6), δ<sub>C</sub> ppm): 173,33 (C<sub>9</sub>), 173,33 (C<sub>7</sub>), 161,06 (C<sub>6</sub>), 151,02 (C<sub>2</sub>), 145,25 (C<sub>4</sub>), 129,32 (C<sub>3</sub>), 130,41 (C<sub>5</sub>).

## **3.2. Metode određivanja sastava i strukture kompleksa**

### **3.2.1. Hemikalije, reagensi**

Polazni platinski kompleksi,  $K_2[PtCl_4]$  i  $K_2[PtCl_6]$ , dobijeni su standardnim procedurama polazeći od elementarne platine [129-131]. Ostale supstance korišćene u sintezama dobijene su od različitih proizvođača i upotrebljene bez dodatnog prečišćavanja.

### **3.2.2. Elementalna analiza**

Rezultati elementalnih analiza (C, H i N) dobijeni su korišćenjem uređaja Elemental Vario EL III microanalyser.

### **3.2.3. Infracrvena spektroskopija**

Infracrveni spektri uzoraka snimljeni su pomoću Perkin-Elmer FTIR 31725X spektrometra, koristeći KBr tehniku (**1,2**) i Nicolet 6700 FT-IR spektrometra na kome su uzorci snimani ATR tehnikom ( $4000-400\text{ cm}^{-1}$ ) (**3-11**).

### **3.2.4. NMR spektroskopija ( $^1\text{H}$ i $^{13}\text{C}$ NMR)**

NMR spektri snimani su pomoću Varian Gemini 200 (199,97 MHz za  $^1\text{H}$  NMR i 50,28 MHz za  $^{13}\text{C}$  NMR), i Bruker Avance III 500 spektrometra (500,26 MHz za  $^1\text{H}$  NMR i 125,79 MHz za  $^{13}\text{C}$  NMR). Uzorci su snimani u deuterisanom dimetilsulfoksidu,  $\text{DMSO-}d^6$  (**1-8**) i u deuterisanoj vodi,  $\text{D}_2\text{O}$  (**9-11**) uz NaOD ( $\text{pH} \approx 6$ ) u prisustvu TMS kao internog standarda. Položaji signala su izraženi u  $\delta$ -jedinicama (ppm).



### 3.2.5. Rendgenska strukturna analiza

Kristalografski podaci za kompleks *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(4-acpy)<sub>2</sub>] (**2**) sakupljeni su na CCD Oxford Xcalibur S difraktometru koji je služio za određivanje parametara jedinične ćelije i prikupljanje intenziteta difrakcionih maksimuma. Korišćeno je MoK $\alpha$  ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) zračenje monohromatizovano grafitnim monohromatorom. Detaljni podaci dati su u **Tabeli 1**.

**Tabela 1.** Kristalografski podaci *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(4-acpy)<sub>2</sub>] kompleksa (**2**)

Kompleks	<b>2</b>
Empirijska formula	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Pt
Mr	508,25
Kristalni sistem	Monokliničan
Prostorna grupa	P2 <sub>1</sub> /n
<i>a</i> /Å	3,9021(2)
<i>b</i> /Å	24,368(1)
<i>c</i> /Å	8,0791(3)
$\alpha = \gamma$ /°	90
$\beta$ /°	102,408(4)
<i>V</i> /Å <sup>3</sup>	750,26(7)
<i>Z</i>	2
$\lambda$ /Å	0,71073
<i>D</i> <sub>izračunato</sub> /gcm <sup>-3</sup>	2,250
$\mu$ (Mo-K $\alpha$ )/mm <sup>-1</sup>	9,711
<i>F</i> (000)	480
$\theta$ Opseg/°	2,57-32,42
Izmerene refleksije	21403
Opažene refleksije [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	2303
Nezavisne refleksije	1645
Podaci/br.refleksija/br.parametara	1303/0/98
Faktor slaganja na <i>F</i> <sup>2</sup>	1,14
<i>R</i> 1, <i>wR</i> 2 [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	0,0578, 0,0977
<i>R</i> 1, <i>wR</i> 2 (all data)	0,0824, 0,1032
Najveći i najmanji pik u $\Delta F$ mapi/e Å <sup>-3</sup>	3,08/-3,22

$${}^a R1 = \Sigma ||F_o| - |F_c|| / \Sigma |F_o|$$

$${}^b wR2 = \{ \Sigma [w(F_o2 - F_c2)^2] / \Sigma [w(F_o2)^2] \}^{1/2}$$

<sup>c</sup>GOF = { $\Sigma [w(F_o2 - F_c2)^2] / (n - p)$ }<sup>1/2</sup>, gde je *n* broj refleksija, a *p* ukupan broj parametara

Semi-empirijske korekcije apsorpcije su obavljene sa SCALE3 ABSPACK [132]. Kristalna struktura kompleksa **2**, rešena je korišćenjem SHELXS-97 [133], a koordinate određenih atoma su utačnjene kristalografskim programom SHELX-97 [134] do krajnjeg  $R_1 = 0,0578$  za 2303 opaženih refleksija ( $I > 2\sigma(I)$ ) za 98 parametara.

Kristalografski podaci za kompleks *trans*-[Pt(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] (**4**) sakupljeni su na Stoe-IPDS 2T difraktometru, a za kompleks *trans*-[Pt(HL<sup>5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**7**) na Stoe-IPDS difraktometru na 200 K korišćenjem MoK $\alpha$  ( $\lambda = 0,7103 \text{ \AA}$ ), zračenje monohromatizovano grafitnim monohromatorom. Apsorpcione korekcije obavljene su sa X-RED32 [135] (Tmin/Tmax 0,14/0,62, **4**) i empirijski direktnom metodom korišćenjem programskog paketa PLATON [136] (Tmin/Tmax 0,26/0,31, **7**).

Strukture su rešene direktnim metodama korišćenjem SHELXS-97 [137] i određene tehnikom cele matrice najmanjih kvadrata korišćenjem SHELXL-97 [134] do krajnjeg  $R_1 = 0,0199$  za 4097 opaženih refleksija sa 252 parametra za kompleks **4**, odnosno  $R_1 = 0,0162$  za 1714 opaženih refleksija sa 162 parametra za kompleks **7**. Atomi različiti od vodonika određeni su parametrima anizotropnog premeštanja. H atomi su postavljeni na izračunatim pozicijama i određeni kao pokretni atomi u naknadnim modelima najmanjih kvadrata. Detaljni podaci dati su u **Tabeli 2.** i **Tabeli 3.** U kristalnim strukturama kompleksa **4** i **7** uočava se uz svaki neutralni kompleksni molekul po jedan, odnosno dva mola rastvarača DMSO-a.

**Tabela 2.** Kristalografski podaci *trans*-[Pt(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] kompleksa (4)

Kompleks	4·DMSO
Empirijska formula	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Pt·C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS
Mr	657,29
Kristalni sistem	Trikliničan
Prostorna grupa	<i>P</i> -1
<i>a</i> /Å	7,0042(4)
<i>b</i> /Å	12,2842(8)
<i>c</i> /Å	12,6827(8)
$\alpha$ /°	102,613(5)
$\beta$ /°	190,774(5)
$\gamma$ /°	95,825(5)
<i>V</i> /Å <sup>3</sup>	1058,7(1)
<i>Z</i>	2
$\lambda$ /Å	0,7103
<i>D</i> <sub>izračunato</sub> /gcm <sup>-3</sup>	2,062
$\mu$ (Mo-K $\alpha$ )/mm <sup>-1</sup>	7,250
<i>F</i> (000)	632
$\theta$ Opseg/°	2,9-28,0
Izmerene refleksije	18319
Opažene refleksije [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	4097
Nezavisne refleksije	5116 ( <i>R</i> <sub>int</sub> = 0,042)
Podaci/br.refleksija/br.parametara	5116/0/252
Faktor slaganja na <i>F</i> <sup>2</sup>	0,94
<i>R</i> 1, <i>wR</i> 2 [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	0,0199, 0,0484
<i>R</i> 1, <i>wR</i> 2 (all data)	0,0274, 0,0498
Najveći i najmanji pik u $\Delta F$ mapi/e Å <sup>-3</sup>	1,35/-0,75

$${}^a R1 = \Sigma ||F_o| - |F_c|| / \Sigma |F_o|$$

$${}^b wR2 = \{ \Sigma [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \Sigma [w(F_o^2)^2] \}^{1/2}$$

<sup>c</sup>GOF = { $\Sigma [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)$ }<sup>1/2</sup>, gde je *n* broj refleksija, a *p* ukupan broj parametara

**Tabela 3.** Kristalografski podaci *trans*-[Pt(HL<sup>5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] kompleksa (7)

Kompleks	7·2DMSO
Empirijska formula	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> Pt·2(C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS)
Mr	754,47
Kristalni sistem	Monokliničan
Prostorna grupa	P2 <sub>1</sub> /c
<i>a</i> /Å	12,4400(9)
<i>b</i> /Å	9,3683(8)
<i>c</i> /Å	10,8625(9)
$\alpha$ /°	90
$\beta$ /°	93,93(1)
$\gamma$ /°	90
<i>V</i> /Å <sup>3</sup>	3129,1(4)
<i>Z</i>	2
$\lambda$ /Å	0,7103
<i>D</i> <sub>izračunato</sub> /gcm <sup>-3</sup>	1,984
$\mu$ (Mo-K $\alpha$ )/mm <sup>-1</sup>	5,987
<i>F</i> (000)	732
$\theta$ Opseg/°	2,7-25,0
Izmerene refleksije	8772
Opažene refleksije [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	1714
Nezavisne refleksije	2170 ( <i>R</i> <sub>int</sub> = 0,039)
Podaci/br.refleksija/br.parametara	2170/0/162
Faktor slaganja na <i>F</i> <sup>2</sup>	0,97
<i>R</i> 1, <i>wR</i> 2 [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	0,0162, 0,0334
<i>R</i> 1, <i>wR</i> 2 (all data)	0,0251, 0,0347
Najveći i najmanji pik u $\Delta F$ mapi/e Å <sup>-3</sup>	0,73/-0,47

$${}^a R1 = \Sigma ||F_o| - |F_c|| / \Sigma |F_o|$$

$${}^b wR2 = \{ \Sigma [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \Sigma [w(F_o^2)^2] \}^{1/2}$$

<sup>c</sup>GOF = { $\Sigma [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)$ }<sup>1/2</sup>, gde je *n* broj refleksija, a *p* ukupan broj parametara

### 3.2.6. DFT proračuni

Geometrije svih struktura potpuno su optimizovane DFT metodom, pri čemu se elektronska energija optimizuje u odnosu na elektronsku gustinu. Izračunavanja su izvedena korišćenjem Gaussian 03 softvera [138]. Sve strukture su optimizovane koristeći B3LYP funkcija [139-142] za Pt(II) komplekse (1,2), odnosno MPW1PW91

funkcija [143] za Pt(IV) komplekse. SDD osnovni set za sve atome upotrebljen je u proračunima [144,145]. Svi sistemi su optimizovani bez simetrijskih ograničenja. Određene geometrije okarakterisane su kao ravnotežne strukture analizom konstanti sila normalnih vibracija. Polarizable Continuum Model (PCM) implementiran je u program Gaussian 03 i korišćen je za predikciju uticaja rastvarača (vode) na komplekse [138,146].

### **3.2.7. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti**

#### **3.2.7.1. Kulture ćelija**

U toku *in vitro* ispitivanja biološke aktivnosti sintetisanih acetilpiridinskih Pt(II) kompleksa (*trans*-[PtCl<sub>2</sub>(3-acpy)<sub>2</sub>] (**1**) i *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(4-acpy)<sub>2</sub>] (**2**)) korišćeno je trinaest tumorskih ćelijskih linija: ćelije humanog karcinoma grlića materice (HeLa), humanog osteosarkoma (U2OS), izvedena cisplatina-rezistentna sublinija ćelija humanog osteosarkoma (U2OScisR) dobijena od dr Paola Perego (Istituto nazionale del Tumori, Milano, Italija), mišjeg melanoma (B16), tri linije ćelija humanog karcinoma dojke (MDA-453, MDA-361 i MCF-7), humanog karcinoma debelog creva (LS-174) i humanog melanoma (FemX) tokom 48 h i 72 h, kao i na ćelije adenokarcinoma pluća (A549), dve transformisane endotelijalne linije humanog (EA.hy 926) i mišjeg (MS1) porekla i jedna normalna zdrava ćelijska linija fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5) tokom 48 h. Ostale navedene kulture ćelija su iz kolekcije ćelijskih linija Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, Odsek za eksperimentalna istraživanja u onkologiji gde su i obavljena ispitivanja. Ćelije su gajene u hranljivom medijumu, koji su čuvani u frižideru, a pre upotrebe bili zagrejani do temperature od 37 °C.

*Trans*-kompleksi Pt(IV) **3-7** ispitivani su na devet ćelijskih linija: ćelijama humanog karcinoma grlića materice (HeLa), mišjeg melanoma (B16), karcinoma dojke (MDA-MB-453), kolorektalnog karcinoma (LS-174), humanog melanoma (FemX),

adenokarcinoma pluća (A549), dve transformisane endotelijalne linije humanog (EA.hy 926) i mišjeg (MS1) porekla i jedna normalna zdrava ćelijska linija fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5). Navedene kulture ćelija su iz kolekcije ćelijskih linija Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, odsek za eksperimentalna istraživanja u onkologiji, osim EA.hy 926 i MS1 ćelijskih linija, koje su poklon Instituta za medicinska istraživanja, Beograd, Srbija. Ćelije su gajene u hranljivim medijumima, koji su čuvani u frižideru, a pre upotrebe bili zagrejani do temperature od 37 °C.

Kompleksi Pt(II) sa dikarboksilnim derivatima piridina kao ligandima, **8-11**, ispitivani su na prethodno pomenutih ćelijskim linijama korišćenim za ispitivanje *trans*-kompleksa Pt(IV), osim ćelijske linije adenokarcinoma pluća A549, a uz dodatak ćelijske linije humanog karcinoma dojke MDA-361 korišćene u panelu za prva dva kompleksa.

### **3.2.7.2. Postupci ispitivanja**

Efekti *trans*-kompleksa Pt(II) i Pt(IV) na inhiniciju rasta malignih ćelija procenjeni su korišćenjem SRB i MTT kolorimetrijskih testova.

Osnovni sadržaj RPMI 1640 podloge je fosfatno puferisani fiziološki rastvor (eng. Phosphate Buffer Saline, PBS), u koji se dodaju aminokiseline i vitamini. Medijum je pripremljen rastvaranjem praškaste RPMI 1640 podloge u sterilnoj dejonizovanoj vodi uz mešanje na temperaturi 15-20 °C. U podlogu je dodato 10% fetalnog goveđeg seruma (Fetal Calf Serum, FCS) termički inaktivisanog na 56 °C, 30 minuta (Sigma-Aldrich, Kat. Br. F4135). Takođe medijum je obogaćen penicilinom (100 IU/ml) i streptomycinom (100 µg/ml). Ćelijske linije korišćene za ispitivanje citotoksičnosti kompleksa Pt(II) uzgajane su kao monoslojevi u hranljivoj podlozi RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), a pH 7 je podešen bikarbonatnim rastvorom (Sigma-Aldrich, Kat. Br. R7755). Ćelije su gajene u inkubatoru na 37 °C u

atmosfera vazduha koja sadrži 5% CO<sub>2</sub>, zasićenog vodenom parom (skraćenica IU/ml - internacionalna jedinica/ml).

Sve ćelijske linije su zasejane u RPMI 1640 podlozi na 96 mesta (bunarčića sa ravnim dnom) u mikropločama, po 2500 ćelija/bunarčiću, i gajene tokom 24 h u inkubatoru pre nego što su dodati kompleksi **1** i **2** (*trans*-[PtCl<sub>2</sub>(3-acpy)<sub>2</sub>] (**1**) i *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(4-acpy)<sub>2</sub>] (**2**)). Priprema test rastvora ispitivanih kompleksa izvedena je neposredno pred eksperiment inicijalno rastvaranjem u dimetil sulfoksidu (DMSO) do osnovnog štok rastvora koncentracije od 30 mmol/l, a potom razblaživana hranljivim medijumom do odgovarajućih koncentracija. Konačne koncentracije ostvarene u tretiranim bunarčićima za komplekse **1** i **2** su 1, 3, 10, 30, i 100 μmol/l, sa maksimalno 0,33% DMSO dostignutog u bunarčićima sa koncentracijom od 100 μmol/l kompleksa **1** i **2**. Rastvori sa različitim koncentracijama ispitivanih kompleksa dodavani su mestima sa zasejanim ćelijama, izuzev kontrolnih mesta (slepa proba) gde je dodavana samo hranljiva podloga. Svaka koncentracija je testirana u triplikatu za svaku ćelijsku liniju, i za oba inkubaciona perioda (48 h i 72 h) tj. na tri bunarčića zasejanih ćelija ostavljena su tri bunarčića u koje je dodavana samo hranljiva podloga.

#### **3.2.7.2.1. SRB kolorimetrijski test**

Citotoksičnost ispitivanih kompleksa **1** i **2** određena je korišćenjem SRB kolorimetrijskog testa (SRB, Sigma-Aldrich, Kat. Br. S 1402-5G) [147]. Sulforodamin B (SRB) spada u grupu proteinskih boja, odnosno vezuje se za pozitivno naelektrisane proteinske ostatke ćelija. Izvodjenje ovog testa zasniva se na osobini ćelija da se na samom početku procesa apoptoze (programiranog umiranja) odlepljuju od podloge posude i ostaju u suspenziji iznad monosloja koji formiraju vitalne ćelije.

Nakon procesa sađenja i tretiranja ćelija u pločama sa 96 bunarčića, vrše se procesi fiksacije, bojenja, rastvaranja i očitavanje apsorbanci. Da bi se izvršila selekcija između zdravih ćelija i ćelija u apoptozi pre nanošenja boje SRB, izvodi se fiksacija

trihlorsirćetnom kiselinom (TCA) do finalne koncentracija 10% u bunarčiću. Svrha procesa fiksacije jeste trajno „lepljenje“ ćelija iz monosloja za podlogu bunarčića, dok se ćelije u suspenziji (apoptoza) tokom postupka ispiranja odstranjuju. Zatim se ploča inkubira na +4 °C sat vremena, ispira vodom pri čemu se odstranjuje TCA i ćelije u procesu apoptoze. Ploča se zatim suši na sobnoj temperaturi. Bojenja se vrši rastvaranjem sivomaslinastog praha sulforodamina-B (SRB) u 1% sirćetnoj kiselini i kao 4% rastvor nanosi se na prethodno fiksirane ćelije, nakon čega se ponovo vrši inkubacija sa bojom najmanje 30 min na sobnoj temperaturi, pa ispiranje 1% sirćetnom kiselinom i na kraju sušenje na sobnoj temperaturi. Kao rastvarač koristi se 10 mM vodeni rastvor Tris baze (pH > 10). Intenzitet boje (apsorbanca) očitavana je nakon 24 h na ELISA čitaču (Thermo Labsystems Multiskan EX 200-240V, Ascent Software Version 2.6), pri talasnoj dužini od 570 nm.

S obzirom na to da se SRB test zasniva na tome da je očitana apsorbanca SRB bojenih ćelija na kraju testa srazmerna sadržaju proteina, tj. ukupnom broju ćelija (i živih i apoptičnih) u uzorcima, procenat rasta (G%, Growth) određuje se kao:

$$\% \text{ rasta} = (A - A_o) / (A_k - A_o) \times 100$$

gde je A apsorbanca uzorka sa ćelijama raslim u prisustvu različitih koncentracija kompleksa platine, A<sub>o</sub> je apsorbanca uzorka ćelija u trenutku dodavanja kompleksa, a A<sub>k</sub> predstavlja apsorbanu uzorka ćelija koje su rasle samo u hranljivoj podlozi. Podrazumeva se da pri dobijanju A, A<sub>o</sub> i A<sub>k</sub>, apsorbanca slepe probe se uvek oduzima od apsorbance odgovarajućeg uzorka sa ciljnim ćelijama.

Na osnovu dobijenih apsorbaneci kontruiše se kriva preživljavanja (krive izražavaju odnos između primenjene koncentracije kompleksa i citotoksičnosti) za svako od ispitivanih jedinjenja i iz navedene krive dobijen je podatak o koncentraciji ispitivanog kompleksa. Koncentracija kompleksa sposobna za zaustavljanje ćelijskog rasta na 50% (IC<sub>50</sub> ± SD) u odnosu na kontrolni uzorak, određena je iz tačaka semi-logaritamskih dijagrama u funkciji doza-odgovor.



Za ispitivanje biološke aktivnosti kompleksa Pt(IV) **3-11**, korišćene su dve vrste medijuma RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) i DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium). Čelijske linije HeLa, MDA-MB-453, LS-174, B16, MRC-5, A549 i FemX održavane su kao monoslojevi u hranljivoj podlozi RPMI 1640, pH 7,2 koja sadrži 10% fetalnog goveđeg seruma (Fetal Calf Serum, FCS), termički inaktivisanog na 56 °C, 30 minuta. RPMI 1640 podloga je obogaćena penicilinom (100 IU/ml), streptomycinom (100 µg/ml) i puferovana 4-(2-hidroksietil)-1-piperazin-etansulfonskom kiselinom (HEPES) (25 mM). Dve transformisane endotelijalne linije EA.hy 926 i MS1 održavaju se kao monoslojevi u hranljivoj podlozi DMEM, pH 6,9, koja takođe sadrži 10% fetalnog goveđeg seruma, termički inaktivisanog na 56 °C, 30 minuta, sa dodatkom penicilina (100 IU/ml), streptomicina (100 µg/ml), puferovana 4-(2-hidroksietil)-1-piperazin-etansulfonskom kiselinom (HEPES) (25 mM) i obogaćena D-glukozom (4,5 g/l). Čelije su gajene u inkubatoru na 37 °C u atmosferi vazduha koja sadrži 5% CO<sub>2</sub>, zasićenog vodenom parom.

Čelijske linije su zasejane u hranljivoj podlozi na 96 mesta (bunarčića) u mikropločama (Thermo Scientific Nunc<sup>TM</sup>) sa gustinama od 2000 ćelija/bunarčiću (HeLa), 3000 ćelija/bunarčiću (B16 i MDA-MB-453), 5000 ćelija/bunarčiću (EA.hy 926 i MRC-5) i 7000 ćelija/bunarčiću (MS1 i LS-174) i gajene tokom 24 h u inkubatoru pre nego što su dodati kompleksi **3-11** (*trans*-[Pt(L<sup>1</sup>)Cl<sub>4</sub>] (**3**), *trans*-[Pt(L<sup>2</sup>)Cl<sub>4</sub>] (**4**), *trans*-[Pt(HL<sup>3</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**5**), *trans*-[Pt(HL<sup>4</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**6**), *trans*-[Pt(HL<sup>5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**7**), *trans*-[Pt(HL<sup>3</sup>)<sub>2</sub>] (**8**), *trans*-[Pt(HL<sup>4</sup>)<sub>2</sub>] (**9**), *trans*-[Pt(HL<sup>5</sup>)<sub>2</sub>] (**10**) i *trans*-[Pt(HL<sup>6</sup>)<sub>2</sub>] (**11**). Početni rastvori ispitivanih kompleksa pripremljeni su neposredno pred eksperiment inicijalno rastvaranjem u dimetil sulfoksidu (DMSO) do osnovnog štok rastvora koncentracije od 10 mmol/l, a potom razblaživani hranljivim medijumom do odgovarajućih koncentracija.

### **3.2.7.2.2. MTT kolorimetrijski test**

Zaustavljanje ćelijskog rasta pod dejstvom ispitivanih *trans*-kompleksa Pt(II) i Pt(IV) **3-11** određeno je korišćenjem MTT kolorimetrijskog testa [148]. MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid) (Sigma-Aldrich) je žuta boja koja se vezuje za mitohondrije i vezivanje ove boje služi za procenu njihove aktivnosti, a time indirektno kao mera vijabilneta. Princip ove metode je da se u mitohondrijama živih ćelija MTT redukuje u tamno crvene kristale formazana, pod dejstvom mitohondrijalnih dehidrogenaza [149].

Antiproliferativni efekat kompleksa određen je u opsegu koncentracija do 300  $\mu\text{M}$  tokom kontinuiranog izlaganja dejstvu kompleksa u trajanju od 48 h. Nakon tretmana, dodato je u svaki bunarčić po 20  $\mu\text{l}$  MTT rastvora (5 mg/ml) u fosfatnom puferom (PBS), pH 7,2. Uzorci su inkubirani 4 h na 37 °C u atmosferi vazduha sa 5% CO<sub>2</sub>, zasićenog vodenom parom. Kristali formazana rastvoreni su sa po 100  $\mu\text{l}$  10% natrijum-dodecil-sulfata (SDS) u 0,01 M HCl. Intenzitet dobijene tamno crvene boje koja potiče od formazana direktno je proporcionalan aktivnosti mitohondrija, a to je proporcionalno broju vijabilnih (živih) ćelija. Nastali formazan apsorbuje u vidljivom delu spektra sa maksimumom apsorpcije oko 570 nm. Apsorbance su očitavane nakon 24 h na ELISA čitaču (Thermo Labsystems Multiscan EX 200-240 V, Ascent Software Version 2.6), na talasnoj dužini od 570 nm. Nakon obrade podataka izračunate su IC<sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) koncentracije koje se mogu naći u Poglavlju 4, Rezultati i diskusija.

S obzirom na to da se MTT test zasniva na tome da je apsorbance MTT bojnih ćelija na kraju testa srazmerna broju metabolički aktivnih, živih ćelija u uzorcima, da bi se dobila procentualna vrednost u preživljavanju ćelija (S%, Survival), vrednost apsorbanca MTT bojnih uzoraka sa ćelijama raslim u prisustvu različitih koncentracija kompleksa platine (A) podeljena je sa apsorbancom kontrolnog uzorka  $A_{\text{kont}}$ , ( $A_{\text{kont}}$  predstavlja apsorbanca uzorka ćelija koje su rasle samo u hranljivoj podlozi). Podrazumeva se da su pri dobijanju A i  $A_{\text{kont}}$  apsorbanca slepe probe uvek se oduzima od apsorbanca odgovarajućeg uzorka sa ciljnim ćelijama.

$$\% \text{ preživelih ćelija} = A/A_{\text{kont}} \times 100$$

Koncentracija IC<sub>50</sub> (μM) definisana je kao koncentracija agensa koja smanjuje preživljavanje ispitivanih ćelijskih kultura na 50%, u odnosu na kontrolni uzorak, a određene su na osnovu dijagrama preživljavanja ćelija. Dobijene vrednosti predstavljaju srednju vrednost dva do tri nezavisna eksperimenta, pri čemu je svaki eksperiment rađen u triplikatu.

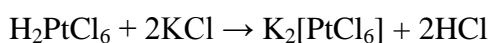
## ***4. REZULTATI I DISKUSIJA***

## 4. Rezultati i diskusija

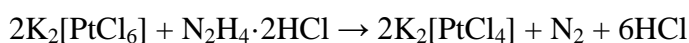
### 4.1. Sinteze polaznih kompleksa platine

Kalijum-heksahloridoplatinat(IV) i kalijum-tetrahloridoplatinat(II) sintetisani su po standardnim procedurama G.B. Kauffman *et al.*, 1963. god. [129-131]. Polazeći od elementarne platine najpre je sintetisana kiselina  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ , koja je zatim uz kalijum-hlorid prevedena u  $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$ . Za redukciju  $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$  do  $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$  korišćen je hidrazin-dihlorid.

Sinteza polaznog kalijum-heksahloridoplatinata(IV),  $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$  može se prikazati sledećom jednačinom hemijske reakcije:



Sinteza kalijum-tetrahloridoplatinata(II),  $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$  može se predstaviti sledećom jednačinom hemijske reakcije:

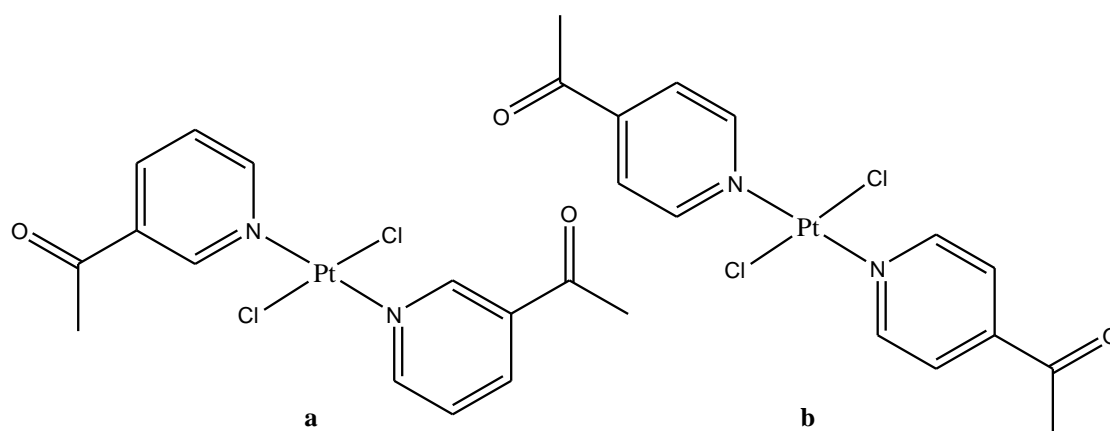


### 4.2. Sinteze kompleksa *trans*-Pt(II) i *trans*-Pt(IV)

Svi kompleksi *trans*-Pt(II) i *trans*-Pt(IV) dobijeni su direktnom sintezom polazeći od vodenog rastvora kalijumtetrahloridoplatinata(II), odnosno kalijumheksahloridoplatinata(IV) i odgovarajućeg piridinskog liganda u molskom odnosu 1 : 2. Sa 3- i 4-acetilpiridinom sintetisani su kompleksi i u molskom odnosu 1 : 1, pri čemu su dobijani isti proizvodi, ali u znatno manjem prinosu.

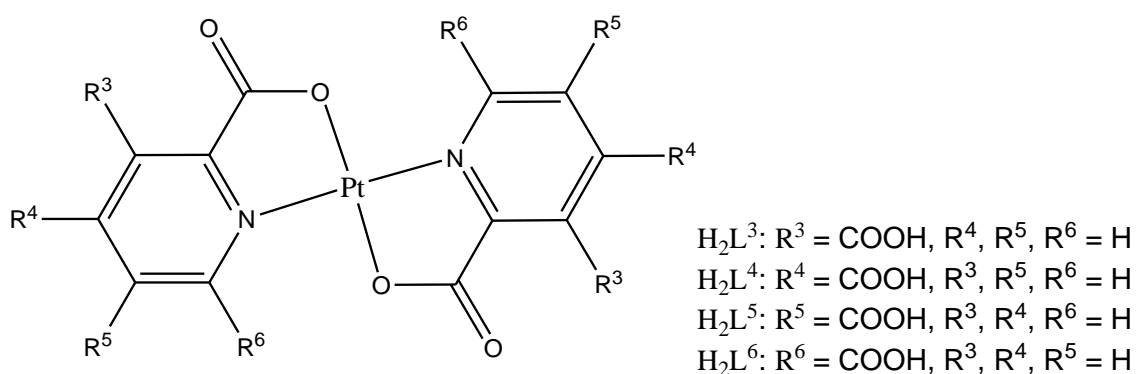
Pri građenju kompleksa Pt(II) (**1**, **2**) acetilpiridinski ligandi (3- i 4-acpy) se monodentatno koordinuju za centralni metalni jon preko piridinskog azota, dok su preostala dva koordinaciona mesta zauzeta hloridnim jonima kao ligandima (**Slika 4.1**). Sintetisani neutralni kvadratno-planarni kompleksi su *trans*-geometrije, što su potvrdili

DFT proračuni i rendgenska strukturalna analiza kompleksa **2**. Kompleksi su takođe okarakterisani elementalnom analizom, IC,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom.



**Slika 4.1.** Strukturne formule kompleksa Pt(II), (a)  $\text{trans-}[\text{PtCl}_2(3\text{-acpy})_2]$  (**1**) i (b)  $\text{trans-}[\text{PtCl}_2(4\text{-acpy})_2]$  (**2**)

Sintetisani su i neutralni kvadratno-planarni kompleksi Pt(II) sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama ( $n = 3, 4, 5, 6$ ), koji se mogu predstaviti opštom formulom  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{HL}^{3-6})_2]$  (**8-11**). Za centralni metalni jon Pt(II) bidentatno su koordinovana dva monoanjonska liganda sa piridinskim azotom i karboksilatnim kiseonikom kao donorima (**Slika 4.2.**).

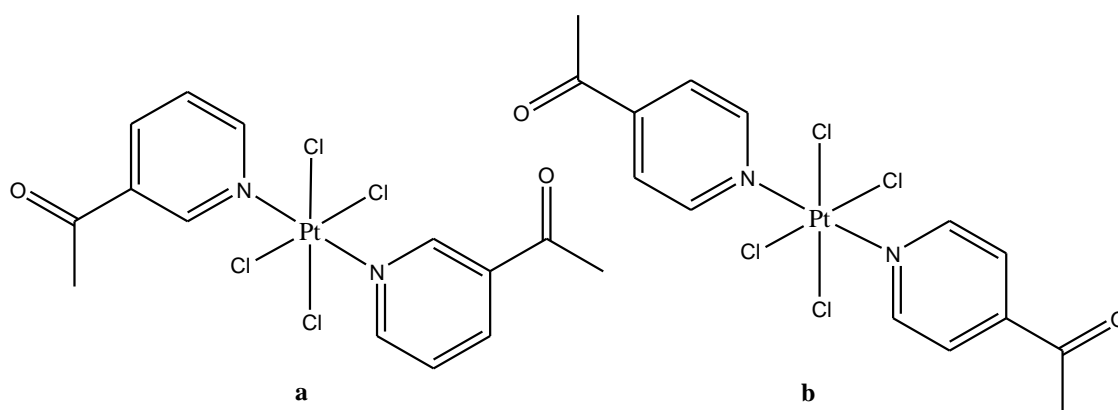


**Slika 4.2.** Strukturne formule kompleksa Pt(II),  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{HL}^3)_2]$  (**8**),  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{HL}^4)_2]$  (**9**),  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{HL}^5)_2]$  (**10**) i  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{HL}^6)_2]$  (**11**)

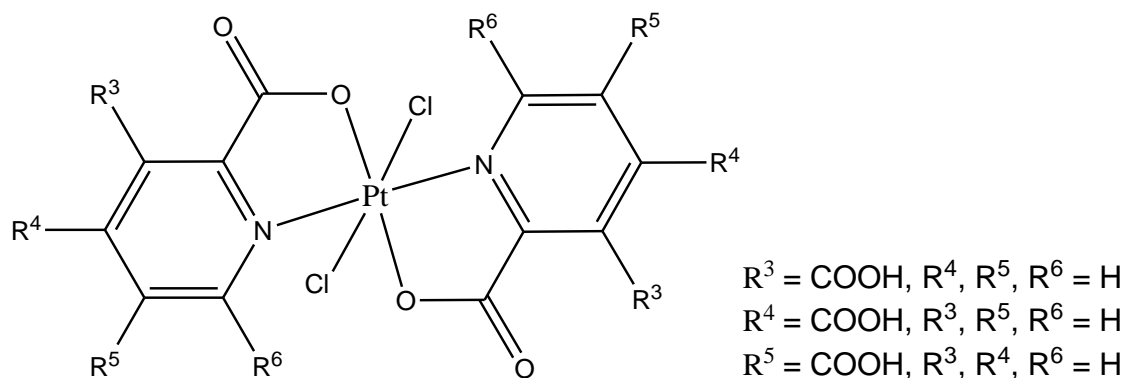
Ovi kompleksi su okarakterisani elementalnom analizom, IC,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom.

Pri građenju kompleksa Pt(IV) (**3**, **4**) acetilpiridinski ligandi (3- i 4-acpy) koordinuju se takođe monodentatno za centralni metalni jon preko piridinskog azota, dok su preostala četiri koordinaciona mesta zauzeta hloridnim jonima (**Slika 4.3**). Kompleksi su oktaedarske geometrije, što je potvrđeno DFT proračunima i rendgenskom strukturnom analizom kompleksa **4**. Kompleksi su takođe okarakterisani elementalnom analizom, IC,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom.

U slučaju kompleksa Pt(IV) sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama ( $n = 3, 4, 5$ ) (**5-7**) jedanput deprotonovani ligandi se koordinuju bidentatno preko piridinskog azota i karboksilatnog kiseonika, a dva hloridna jona okupiraju preostala koordinaciona mesta (**Slika 4.4**). Svi oktaedarski kompleksi Pt(IV) su *trans*-geometrije što je takođe potvrđeno DFT proračunima i rendgenskom strukturnom analizom kompleksa **4** i **7**.



**Slika 4.3.** Strukturne formule kompleksa Pt(IV), (a) *trans*-[Pt(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] (**3**) i (b) *trans*-[Pt(L<sup>2</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] (**4**)



**Slika 4.4.** Strukturne formule kompleksa Pt(IV), *trans*-[Pt(HL<sup>3</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**5**), *trans*-[Pt(HL<sup>4</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**6**) i *trans*-[Pt(HL<sup>5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**7**)

Sintetisani kompleksi okarakterisana su standardnim spektroskopskim metodama: infracrvenom spektroskopijom, NMR spektroskopijom i rendgensko strukturnom analizom dobijenih kristalnih proizvoda, kao i elementalnom analizom. Urađeni su DFT proračuni radi potvrđivanja najstabilnijih geometrijskih izomera kvadratno-planarnih Pt(II) i oktaedarskih Pt(IV) kompleksa. Ispitivana je i njihova *in vitro* antiproliferativna aktivnost.

### 4.3. Infracrvena spektroskopija

Infracrvena spektroskopija je metoda kojom se potvrđuje prisustvo određenih funkcionalnih grupa kod molekula. Infracrveni spektri slobodnih liganada i odgovarajućih kompleksa platine(II) i platine(IV) upoređivani su kako bi se dobili polazni podaci o načinu vezivanja liganada za centralne metalne jone. U IC spektrima liganada (3-acpy i 4-acpy) i njihovih odgovarajućih kompleksa **1** i **2**, primećeno je da su  $\nu(\text{C}=\text{N})$  valencione vibracije piridinskog prstena pomereni sa  $1583 \text{ cm}^{-1}$  na  $1575 \text{ cm}^{-1}$  u kompleksu **1** i sa  $1594 \text{ cm}^{-1}$  na  $1555 \text{ cm}^{-1}$  u kompleksu **2** kao posledica koordinacije piridinskog azota za Pt(II) jon. Istežuće vibracije karbonilne grupe liganada (C=O) na  $1689 \text{ cm}^{-1}$  (3-acetilpiridin) i  $1697 \text{ cm}^{-1}$  (4-acetilpiridin) ostaju skoro nepromenjene u kompleksima **1** i **2** ( $1696 \text{ cm}^{-1}$  (**1**) i  $1697 \text{ cm}^{-1}$  (**2**)) što ukazuje da ove grupe nisu uključene u koordinaciju. Slično je i kod kompleksa **3** i **4**, valencione vibracije



piridinskog prsten  $\nu(\text{C}=\text{N})$  pomeřene su sa  $1585\text{ cm}^{-1}$  na  $1604\text{ cm}^{-1}$  u kompleksu **3** i sa  $1593\text{ cm}^{-1}$  na  $1617\text{ cm}^{-1}$  u kompleksu **4** usled koordinacije piridinskog azota za Pt(IV) jon. IC spektri kompleksa **3** i **4** pokazuju istežuće vibracije na  $1696\text{ cm}^{-1}$  i  $1704\text{ cm}^{-1}$  koje potiču od nekoordinovane karbonilne grupe. U oblasti od oko  $3100$  do  $3000\text{ cm}^{-1}$  uočavaju se više vrpci, često neznatnog intenziteta koje pripadaju  $\nu_{\text{ar}}(\text{C}-\text{H})$  valencionim vibracijama aromatičnog jezgra.

U **Tabeli 4.** date su frekvencije najvažnijih traka u IC spektrima liganada (snimanih KBr i ATR tehnikom) i sintetisanih kompleksa **1** i **2** (snimanih KBr tehnikom) i kompleksa **3** i **4** (snimanih ATR tehnikom). Ostale frekvencije traka u IC spektrima liganada (3-acpy ( $\text{L}^1$ ) i 4-acpy ( $\text{L}^2$ )) i sintetisanih kompleksa **1-4** date su u nastavku **Tabele 4.**, a sami spektri dati su u Prilogu (**Slika P1, P2, P7, P8, P28, P31, P34** i **P37**). Frekvence traka u IC spektrima sintetisanih kompleksa upoređive su sa podacima iz literature [150]. Potvrdu ovakvog načina vezivanja dale su kristalne strukture kompleksa **2** i **4**.

**Tabela 4.** Frekvencije apsorpcionih vibracija ( $\text{cm}^{-1}$ ) u IC spektrima liganada (3-acpy ( $\text{L}^1$ ) i 4-acpy ( $\text{L}^2$ )) snimanih KBr i ATR tehnikom, *trans*-Pt(II) i *trans*-Pt(IV) kompleksa (**1-4**).

Ligandi	$\nu_{\text{ar}}(\text{C}-\text{H})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C}=\text{O})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{ar}}(\text{C}=\text{N})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{ar}}(\text{C}=\text{C})/\text{cm}^{-1}$
3-acpy, $\text{L}^1$ (KBr)	3048,0	1689,0	1583,0	1421,0 1364,0 1274,0
(ATR)	3046,4	1694,2	1584,9	1421,9 1364,2 1275,8
4-acpy, $\text{L}^2$ (KBr)	3040,0	1697,0	1594,0	1410,0 1363,0 1265,0
(ATR)	3036,8	1696,2	1592,7	1408,4 1361,3 1263,7
Pt(II) kompleksi	$\nu_{\text{ar}}(\text{C}-\text{H})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C}=\text{O})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{ar}}(\text{C}=\text{N})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{ar}}(\text{C}=\text{C})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(3-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>1</b>	3081,0	1696,0	1575,0	1429,0 1361,0 1325,0

[Pt(4-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>2</b>	3089,0 3014,0	1697,0	1555,0	1422,0 1362,0 1264,0
Pt(IV) kompleksi	$\nu_{\text{ar}}(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=O})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=N})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{ar}}(\text{C=C})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(3-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> ] <b>3</b>	3111,4 3059,9	1696,1	1604,3	1430,4 1360,6 1270,3
[Pt(4-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> ] <b>4</b>	3111,4 3062,0	1704,1	1617,1	1422,0 1355,4 1262,6

**Tabela 4 (nastavak).** Frekvencije apsorpcionih vibracija ( $\text{cm}^{-1}$ ) u IC spektrima liganada (3-acpy ( $\text{L}^1$ ) i 4-acpy ( $\text{L}^2$ )) snimanih KBr i ATR tehnikom, Pt(II) i Pt(IV) kompleksa (**1-4**).

Ligandi	$\delta(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$ u ravni	$\gamma(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$ van ravni
3-acpy, $\text{L}^1$ (KBr)	1197,0 1122,0 1093,0 1025,0 960,0	812,0 753,0 705,0 628,0
(ATR)	1196,1 1120,9 1023,6 959,2	813,3 705,9 593,4
4-acpy, $\text{L}^2$ (KBr)	1220,0 1088,0 1062,0 1022,0 998,0	963,0 880,0 820,0 740,0
(ATR)	1061,3 990,6 961,6	817,2 592,3
Pt(II) kompleksi	$\delta(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$	$\gamma(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(3-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>1</b>	1271,0 1199,0 1121,0 1063,0 1027,0	966,0 811,0 692,0 600,0
[Pt(4-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>2</b>	1102,0 1058,0 969,0	888,0 845,0 601,0
Pt(IV) kompleksi	$\delta(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$	$\gamma(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(3-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> ] <b>3</b>	1198,8 1118,4 1062,6 966,0	823,1 803,6 684,3 598,4
[Pt(4-acpy) <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> ] <b>4</b>	1056,3 1019,2 969,4	826,1 597,0

Kod kompleksa koji uz piridinski azot imaju koordinovanu karboksilatnu grupu takođe se često koristi IC spektroskopija kao tehnika za polaznu karakterizaciju kompleksa. Za karakterizaciju kompleksa Pt(IV) sa 2,n-dikarboksilnim kiselinama kao ligandima ( $n = 2, 3, 4$ ) **5-7**, uočavaju se asimetrične istežuće vibracije  $\nu_{\text{as}}(-\text{COO})$  u opsegu oko  $1600 \text{ cm}^{-1}$  i oko  $1720 \text{ cm}^{-1}$ , što ukazuje na prisustvo koordinovane karboksilatne grupe kao i jedne nekoordinovane takve grupe. IC spektri kompleksa **5-7** pokazuju istežuće vibracije na  $1697,6 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1625,7 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1694,5 \text{ cm}^{-1}$ , respektivno, koje potiču od koordinovane deprotonovane karboksilne grupe, kao i analoge vibracije slobodne karboksilne grupe u opsegu od  $1742 \text{ cm}^{-1}$  do  $1710 \text{ cm}^{-1}$  ( $1742,1 \text{ cm}^{-1}$ ,

1710,4  $\text{cm}^{-1}$ , 1717,1  $\text{cm}^{-1}$ ) što ukazuje da se samo jedna karboksilna grupa iz piridindikarboksilnih kiselina koordinuje za jon platine(IV). U **Tabeli 5.** i nastavku **Table 5.** date su frekvencije najvažnijih traka u IC spektrima liganada i sintetisanih kompleksa **5-11**, a sami spektri dati su u Prilogu (**Slika P13, P16, P21, P25, P40, P43, P46, P49, P52, P55 i P57**). IC spektri kompleksa **8-11** pokazuju istežuće vibracije oko 1670 - 1630  $\text{cm}^{-1}$  (1667,4  $\text{cm}^{-1}$ , 1655,2  $\text{cm}^{-1}$ , 1627,5  $\text{cm}^{-1}$ , 1648,7  $\text{cm}^{-1}$ ) koje potiču od koordinovane deprotonovane karboksilne grupe, kao i analoge vibracije slobodne karboksilne grupe u opsegu od 1743  $\text{cm}^{-1}$  do 1703  $\text{cm}^{-1}$  (1725,5  $\text{cm}^{-1}$ , 1743,3  $\text{cm}^{-1}$ , 1738,7  $\text{cm}^{-1}$ , 1703,3  $\text{cm}^{-1}$ ) što ukazuje da se samo jedna karboksilna grupa iz piridindikarboksilnih kiselina koordinuje za jon platine(II). Široka traka slabog intenziteta u oblasti od oko 3550 do 3500  $\text{cm}^{-1}$  potiče od istežućih valencionih vibracija slobodne -COOH grupe. Takođe široke trake, često više vrpce, uočavaju se u oblasti od oko 3300 do 2500  $\text{cm}^{-1}$  koje potiču od istežućih valencionih vibracija asociirane -COOH grupe.

Spektri svih kompleksa imaju trake u oblasti između 1440–1230  $\text{cm}^{-1}$  karakteristične za  $\nu_{\text{ar}}(\text{C}=\text{C})$  valencione vibracije, u oblasti 1260–970  $\text{cm}^{-1}$   $\delta_{\text{ar}}(\text{C}-\text{H})$  deformacione vibracije u ravni, i u oblasti 930–5670  $\text{cm}^{-1}$   $\gamma(\text{C}-\text{H})$  deformacione vibracije van ravni. Frekvence traka u IC spektrima sintetisanih kompleksa uporedive su i u dobroj su saglasnosti sa podacima iz literature [125,126]. Potvrdu bidentatnog načina vezivanja liganada dala je kristalna struktura kompleksa **7**. Koristeći infracrvene spektre kompleksa, uz DFT proračune, NMR spektre i kristalne strukture (**2, 4 i 7**), može se pretpostaviti da je *trans*-izomer svakog od ovih kompleksa najstabilniji.

**Tabela 5.** Frekvencije apsorpcionih vibracija ( $\text{cm}^{-1}$ ) u IC spektrima liganada ( $\text{H}_2\text{L}^{3-6}$ ), *trans*-Pt(II) i *trans*-Pt(IV) kompleksa (**5-11**).

Ligandi	$\nu_{\text{ar}}(\text{COO-H})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{as}}(-\text{COOH})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=N})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{ar}}(\text{C=C})/\text{cm}^{-1}$
2,3-pydc, <b>H<sub>2</sub>L<sup>3</sup></b>	3102,5	1675,2	1599,3 1577,2	1467,6 1359,6 1305,9 1231,2
2,4-pydc, <b>H<sub>2</sub>L<sup>4</sup></b>	3514,1 3101,2 3070,9	1698,5	1605,7	1455,8 1383,9 1288,0 1240,3
2,5-pydc, <b>H<sub>2</sub>L<sup>5</sup></b>	3092,7	1710,9	1627,4 1592,2	1535,7 1381,7 1324,6 1251,2
2,6-pydc, <b>H<sub>2</sub>L<sup>6</sup></b>	3068,2	1690,9	1572,2	1456,7 1412,4 1297,1 1257,4
Pt(IV) kompleksi	$\nu_{\text{ar}}(\text{COO-H})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{as}}(-\text{COOH})/\text{cm}^{-1}$ slob $\nu_{\text{as}}(-\text{COO})/\text{cm}^{-1}$ asoc	$\nu(\text{C=N})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{ar}}(\text{C=C})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(HL <sup>3</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], <b>5</b>	3436,8 3221,0 3076,2	1742,1	1697,6 1602,2	1477,5 1394,7 1320,0 1274,4
[Pt(HL <sup>4</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], <b>6</b>	3442,4 3076,7 2888,5 2614,6	1710,4	1625,7	1416,1 1285,2 1251,0 1157,6
[Pt(HL <sup>5</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], <b>7</b>	3443,2 3124,6 2923,5 2853,6	1717,1	1694,5 1622,5	1494,4 1396,8 1318,0 1273,5
Pt(II) kompleksi	$\nu_{\text{ar}}(\text{COO-H})/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{as}}(-\text{COOH})/\text{cm}^{-1}$ slob $\nu_{\text{as}}(-\text{COO})/\text{cm}^{-1}$ asoc	$\nu(\text{C=N})/\text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=C})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(HL <sup>3</sup> ) <sub>2</sub> ], <b>8</b>	3288,8 3119,0 3095,0	1725,5	1667,4 1602,9	1472,8 1441,5 1314,6 1266,3
[Pt(HL <sup>4</sup> ) <sub>2</sub> ], <b>9</b>	3547,0 3086,3 2477,6	1743,3	1655,2	1473,6 1432,3 1369,0 1293,5
[Pt(HL <sup>5</sup> ) <sub>2</sub> ], <b>10</b>	3110,5 3056,7 2901,4	1738,7	1627,5 1608,2	1488,4 1390,6 1339,1 1285,4
[Pt(HL <sup>6</sup> ) <sub>2</sub> ], <b>11</b>	3458,0 3091,6 2527,5	1703,3	1648,7	1569,0 1430,8 1343,7 1302,9

**Tabela 5 (nastavak).** Frekvencije apsorpcionih vibracija ( $\text{cm}^{-1}$ ) u IC spektrima liganada ( $\text{H}_2\text{L}^{3-6}$ ), *trans*-Pt(II) i *trans*-Pt(IV) kompleksa (**5-11**).

Ligandi	$\delta(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$ u ravni	$\gamma(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$ van ravni
2,3-pydc, $\text{H}_2\text{L}^3$	1170,6 1128,4 1035,9 965,8	848,7 754,6 670,1
2,4-pydc, $\text{H}_2\text{L}^4$	1174,3 1085,5 1008,1 972,8	926,5 860,6 760,0 690,8
2,5-pydc, $\text{H}_2\text{L}^5$	1206,8 1113,0 1006,0	927,3 794,5 742,3
2,6-pydc, $\text{H}_2\text{L}^6$	1159,7 1080,1 993,4	905,1 850,3 748,0 696,0
Pt(IV) kompleksi	$\delta(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$	$\gamma(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(2,3-pydc) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], <b>5</b>	1231,9 1159,0 1121,9	833,5 766,6 678,3
[Pt(2,4-pydc) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], <b>6</b>	1251,0 1157,6	880,8 771,5 729,3 680,5
[Pt(2,5-pydc) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ], <b>7</b>	1158,0 1139,4 1052,7	826,5 750,2 670,1
Pt(II) kompleksi	$\delta(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$	$\gamma(\text{C-H})/\text{cm}^{-1}$
[Pt(2,3-pydc) <sub>2</sub> ], <b>8</b>	1188,7 1148,6 1114,1	883,3 826,1 771,2 683,7
[Pt(2,4-pydc) <sub>2</sub> ], <b>9</b>	1261,1 1190,4 1165,8 1104,4	905,7 872,2 768,1 717,2
[Pt(2,5-pydc) <sub>2</sub> ], <b>10</b>	1247,5 1164,0 1120,6 1054,2	872,8 819,1 743,8 702,4
[Pt(2,6-pydc) <sub>2</sub> ], <b>11</b>	1260,8 1171,8 1092,7	915,8 813,5 764,9 709,7

#### 4.4. NMR spektroskopija

Sintetisani kompleksi platine okarakterisani su metodom nuklearno-magnetne rezonancione spektroskopije. U **Tabelama 6. i 7.** data su hemijska pomeranja u  $^1\text{H}$  NMR spektrima liganada,  $\text{L}^{1-2}$  i  $\text{H}_2\text{L}^{3-6}$ , (500,26 MHz) i kompleksa, **1-11**, (199,97 MHz (Pt(II) kompleksi), 500,26 MHz (Pt(IV) kompleksi)) snimljenih u DMSO- $d_6$  (deuterisani dimetilsulfoksid) uz TMS (tetrametilsilan) kao standard, a spektri liganada, i kompleksa dati su u Prilogu (**Slika P3-P6, P9-12, P14, P15, P17-P20, P22-P27, P29, P30, P32, P33, P35, P36, P38, P39, P41, P42, P44, P45, P47, P48, P50, P51, P53, P54, P56, P58 i P59**). U **Tabelama 8., 9. i 10.** data su hemijska

pomeranja u  $^{13}\text{C}$  NMR spektrima liganada (125,79 MHz) i kompleksa (50,28 MHz (Pt(II) kompleksi), 125,79 MHz (Pt(IV) kompleksi)) snimani u istom rastvaraču i uz isti standard kao  $^1\text{H}$  NMR. Na **Slici 4.5.** prikazane su strukturne formule monodentatno koordinovanih kompleksa **1-4** sa numeracijom koja odgovara numeraciji H- i C-atoma. Na **Slici 4.6.** prikazane su strukturne formule bidentatno koordinovanih kompleksa **5-11** sa numeracijom koja odgovara numeraciji H- i C-atoma.

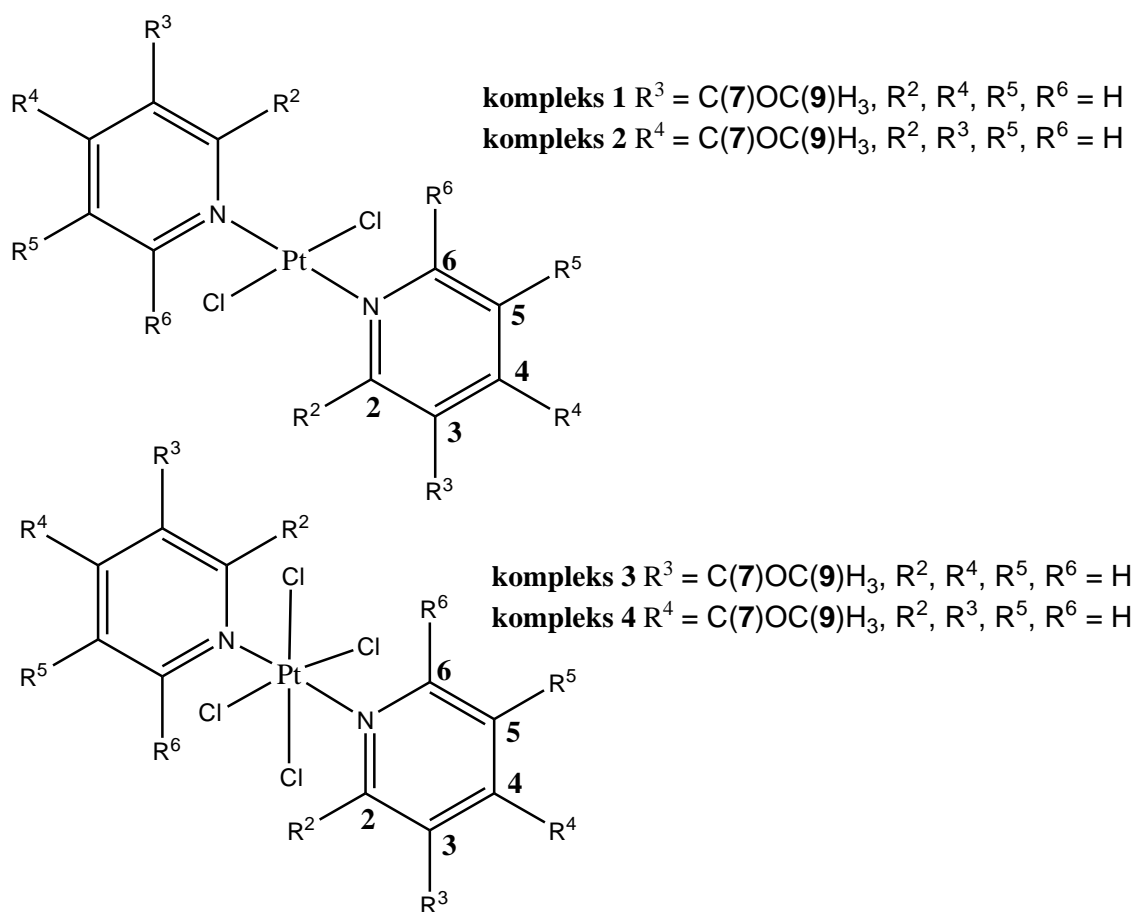
U  $^1\text{H}$  NMR spektrima svih kompleksa uočavaju se signali za protone sa piridinskog prstena u oblasti od 7,65 do 9,59 ppm.  $^1\text{H}$  NMR spektar kompleksa **1** pokazuje signale na 9,39, 9,04, 8,46 i 7,65 ppm koji potiču od protona sa piridinskog prstena, dok se za kompleks **2** ovi signali pojavljuju na 9,05 (d) ppm i 7,86 (d) ppm, integrisani za po dva atoma vodonika zbog simetrije liganda. Dubleti signala koji potiču od vodoničnih atoma, H2 i H6 koji pripadaju piridinskom prstenu i nalaze se uz azot, primetno su pomereni (**1**:  $\Delta\delta = 0,55$  ppm; **2**:  $\Delta\delta = 0,20$ ) ka višim vrednostima u poređenju sa spektrima slobodnih liganada. Hemijska pomeranja za udaljene protone u odnosu na piridinski azot (H4, H5, kompleks **1** i H3, H5, kompleks **2**) su manja u poređenju sa ligandima. Ovo ukazuje na koordinaciju liganada za jon Pt(II) preko piridinskog azota. Singlet metil grupe vezane za karbonilni ugljenikov atom liganada za komplekse **1** i **2** uočava se na 2,63 ppm i na 2,51 ppm, respektivno, dok je isti signal u slobodnim ligandima **L<sup>1</sup>** i **L<sup>2</sup>** na 2,60 ppm i na 2,66 ppm, respektivno.

U  $^1\text{H}$  NMR spektrima kompleksa **3** i **4** signali protona sa piridinskog prstena nađeni su na 9,23, 8,84, 8,48, 7,86 ppm (**3**) i 8,94, 8,94, 8,11, 8,11 ppm (**4**), i integrisani su za četiri protona. Odvojeno od signala protona piridinskog prstena koji se nalaze u aromatičnoj oblasti spektra, nađen je i dodatni singlet koji predstavlja signal koji potiče od acetil supstituenta na 2,65 ppm (**3**) i 2,68 ppm (**4**) i integraljen je za tri protona. U kompleksima **5-7** signali koji pripadaju piridinskom prstenu uočavaju se na oko 9,20 ppm za proton sa C6 atoma, zatim na oko 8,70 ppm za proton na C4 i oko 8,40 ppm za protone sa C3 i C5 atoma piridinskog prstena. Karboksilatni proton, C(9)OOH, pojavljuje se kao širok singlet na oko 9,50 ppm za sva tri kompleksa, dok je u ligandima isti signal uočen na oko 13,60 ppm. Za kompleks **8** signali koji potiču od piridinskog prstena nađeni su na 8,71, 8,44 i 7,95 ppm. S obzirom na nedovoljnu

rastvorljivost kompleksa **9-11** u DMSO i nemogućnost snimanja  $^1\text{H}$  NMR spektara u tom rastvaraču, spektri ova tri kompleksa snimljeni su u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$  uz dodatak NaOD ( $\text{pH} \approx 6$ ), jer je samo tako bilo moguće uspešno rastvaranje kompleksa i njihova NMR karakterizacija. U snimljenim  $^1\text{H}$  NMR spektrima uočavaju su u aromatičnoj oblasti signali protona piridinskog prstena na oko 8,62 (**9,10**), 8,44 (**10,11**), 7,92 (**9,11**) i 7,81 ppm (**9-11**), a dobijene vrednosti hemijskih pomeranja uporedive su sa dobijenim za kompleks **8**, kao i komplekse **5-7**, takođe i sa literaturnim podacima [125,126].

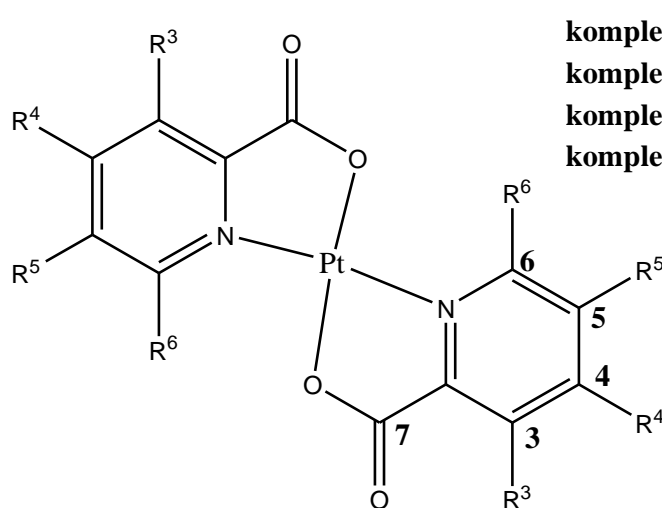
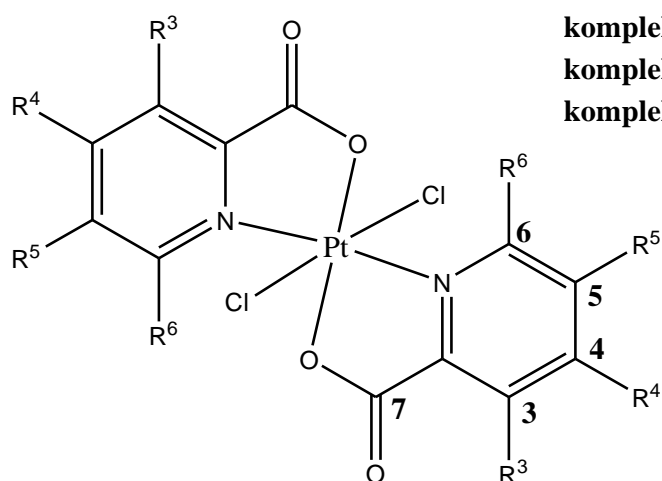
Za komplekse (**1-8**) u  $^{13}\text{C}$  NMR spektrima snimanim u DMSO uočavaju se pomeranja u opsegu od 156,67 do 124,35 ppm, a za komplekse **9-11**, za koje su spektri snimani u  $\text{D}_2\text{O}$  uz NaOD, pomeranja su u oblasti od 161,06 do 128,86 ppm i pripadaju ugljenikovim atomima piridinskog prstena. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru kompleksa **2** aromatične rezonance se registruju na 154,39, 144,21 i 124,35 ppm (C2/C6, C4 i C3/C5, respektivno) i odgovaraju rezonancama *p*-supstituisanog aromatičnog prstena, dok se za kompleks **1** kao što je i za očekivati registruju na 156,67 (C6), 153,23 (C2), 138,59 (C4), 134,42 (C3) i 126,81 ppm (C5). Slično kao i kod protona piridinskog prstena, pomeranja koja se pripisuju ugljenikovim atomima C2 i C6 bliže azotu, pomerena su ka višim vrednostima u poređenju sa slobodnim ligandima, pošto su pomenuti atomi manje zaštićeni usled koordinacije piridinskog azota za jon platine(II). U kompleksima **3** i **4** signali koji se pripisuju ugljenikovim atomima piridinskog prstena nađeni su u oblasti od 154 do 125 ppm. Zbog simetrije kompleksa **1-4** signal karbonilnog ugljenika (C7) nađen je na oko 195 ppm. Ugljenikov atom iz metil grupe (C9) kompleksa **1-4** nalazi se na oko 27 ppm. Karboksilatni ugljenikovi atomi u kompleksima **5-7** nađeni su u oblasti od 171 do 163 ppm. Signal ispod 164 ppm potiče od ugljenika deprotonovane karboksilne grupe, a signal na hemijskom pomeranju višem od 168 ppm pripisuje se slobodnoj karboksilnoj nekoordinovanoj grupi. Signali za preostalih pet piridinskih atoma u kompleksima **5-7** pojavljuju se u oblasti od 150-128 ppm. U kompleksima **8**, **9** i **11** signali C atoma piridinskog prstena nalaze se u oblasti od 161 do 129 ppm. Takođe se uočava u svakom kompleksu signal nekoordinovane karboksilne grupe na oko 175 ppm, kao i signal koordinovane karboksilatne grupe na oko 170 ppm.

Sva ova zapažanja ukazuju na učešće u koordinaciji piridinskog azota u kompleksima **3** i **4** i uz njega i karboksilatnog kiseonika u kompleksima **5-11**. Preostala mesta zauzeta su sa četiri (**3** i **4**) odnosno dva hloridna anjona (**5-7**), dok su u kompleksima **8-11** dva bidentata formirala koordinacionu sferu Pt(II) jona.



**Slika 4.5.** Numeracija u kompleksima **1-4**





Slika 4.6. Numeracija u kompleksima 5-11

**Tabela 6.** Hemijska pomeranja (ppm) u  $^1\text{H}$  NMR spektrima liganada  $\text{L}^{1-2}$  i kompleksa **1–4**.

H atom	Ligandi		Kompleksi			
	$\text{L}^1$	$\text{L}^2$	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
$\text{COC}(\mathbf{9})\text{H}_3$	2,60	2,66	2,63	2,51	2,65	2,68
$\text{C}(\mathbf{2})\text{PyH}$	9,10	8,84	9,39	9,05	9,23	8,94
$\text{C}(\mathbf{3})\text{PyH}$		7,84		7,86		8,11
$\text{C}(\mathbf{4})\text{PyH}$	8,76		8,46		8,84	
$\text{C}(\mathbf{5})\text{PyH}$	7,51	7,84	7,65	7,86	7,88	8,11
$\text{C}(\mathbf{6})\text{PyH}$	8,23	8,84	9,04	9,05	8,84	8,94

**Tabela 7.** Hemijska pomeranja (ppm) u  $^1\text{H}$  NMR spektrima liganada  $\text{H}_2\text{L}^{3-6}$  i kompleksa **5–11**.

H atom	Ligandi				Kompleksi						
	$\text{H}_2\text{L}^3$	$\text{H}_2\text{L}^4$	$\text{H}_2\text{L}^5$	$\text{H}_2\text{L}^6$	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>
$\text{C}(\mathbf{3})\text{PyH}$		8,05	8,15	8,20		8,39	8,41		7,84	7,86	7,73
$\text{C}(\mathbf{4})\text{PyH}$	8,27		8,43	8,30	8,72		8,99	8,44		8,55	8,34
$\text{C}(\mathbf{5})\text{PyH}$	7,64	8,42		8,25	8,25	8,57		7,95	7,92		7,92
$\text{C}(\mathbf{6})\text{PyH}$	8,76	8,93	9,16		9,19	9,30	9,20	8,71	8,31	8,93	
$\text{C}(\mathbf{7})\text{OOH}$	13,50	13,65	13,60	13,40							
$\text{C}(\mathbf{9})\text{OOH}$	13,50	13,65	13,60	13,40	9,40	9,50	9,60				

**Tabela 8.** Hemijska pomeranja (ppm) u  $^{13}\text{C}$  NMR spektrima kompleksa **1–4**.

C atom	Ligandi		Kompleksi			
	$\text{L}^1$	$\text{L}^2$	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
$\text{COC}(\mathbf{9})\text{H}_3$	26,75	26,99	27,28	27,21	27,06	27,08
$\text{C}(\mathbf{2})\text{PyH}$	149,46	151,04	153,23	154,39	150,43	152,52
$\text{C}(\mathbf{3})\text{PyH}$	131,91	121,51	134,42	124,35	134,65	124,91
$\text{C}(\mathbf{4})\text{PyH}$	135,42	142,74	138,59	144,21	142,48	146,65

C(5)PyH	123,72	121,51	126,81	124,35	127,68	124,91
C(6)PyH	153,31	151,04	156,67	154,39	153,74	152,52
C(7)OCH <sub>3</sub>	197,23	198,31	195,60	196,89	194,97	196,13

**Tabela 9.** Hemijska pomeranja (ppm) u <sup>13</sup>C NMR spektrima liganada **H<sub>2</sub>L<sup>3-6</sup>** i kompleksa **5-7**.

C atom	Ligandi				Kompleksi		
	<b>H<sub>2</sub>L<sup>3</sup></b>	<b>H<sub>2</sub>L<sup>4</sup></b>	<b>H<sub>2</sub>L<sup>5</sup></b>	<b>H<sub>2</sub>L<sup>6</sup></b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>C(2)PyH</b>	151,61	149,53	150,03	148,14	142,69	147,25	146,07
<b>C(3)PyH</b>	124,91	123,46	124,56	127,53	132,93	131,66	129,86
<b>C(4)PyH</b>	137,89	139,51	138,40	139,26	141,78	146,03	138,75
<b>C(5)PyH</b>	125,72	125,92	128,99	127,53	137,64	128,34	129,26
<b>C(6)PyH</b>	152,46	150,80	151,40	148,14	149,12	149,72	150,26
<b>C(7)OO-</b>	166,54	165,55	165,59	165,48	164,38	163,14	163,46
<b>C(9)OOH</b>	167,94	165,65	165,64	165,48	167,88	168,79	171,09

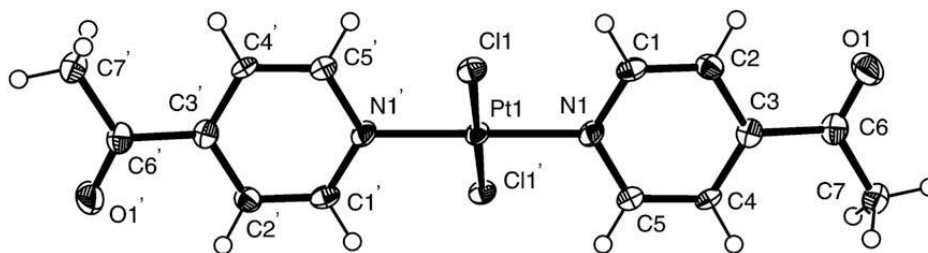
**Tabela 10.** Hemijska pomeranja (ppm) u <sup>13</sup>C NMR spektrima kompleksa **8, 9 i 11**.

C atom	Kompleksi		
	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>11</b>
<b>C(2)PyH</b>	144,38	151,44	151,02
<b>C(3)PyH</b>	130,32	131,94	129,32
<b>C(4)PyH</b>	139,68	150,84	145,25
<b>C(5)PyH</b>	135,84	129,41	130,41
<b>C(6)PyH</b>	149,13	151,95	161,06
<b>C(7)OO-</b>	166,12	171,80	173,33
<b>C(9)OOH</b>	172,49	178,94	173,33

## 4.5. Rendgenska strukturna analiza

Kristali kompleksa **2**, **4** i **7** pogodni za rendgensku strukturnu analizu dobijeni su sporim isparavanjem iz rastvora dimetilsulfoksida. Strukture ovih kompleksa određene su difrakcijom X-zracima. Kompleksi **2** i **7** kristališu u monokliničnom kristalnom sistemu i pripadaju  $P2_1/n$  odnosno  $P2_1/c$  prostornoj grupi, dok kompleks **4** kristališe u trikliničnom kristalnom sistemu i pripada  $P-1$  prostornoj grupi.

Molekulska struktura kompleksa **2** prikazana je na **Slici 4.7.**, a selektovane dužine veza i uglovi dati su u **Tabeli 11**. Kristali kompleksa **2** imaju anti konformaciju sa acetil grupama na suprotnim stranama u odnosu na koordinacionu ravan oko jona Pt(II). Centralni metalni jon je u kristalografskom centru simetrije i pokazuje kvadratno-planarnu geometriju sa Pt-N i Pt-Cl vezama dužina od 2,005(5) i 2,301(2) Å, respektivno. Dužine veza Pt-N i Pt-Cl su u očekivanom opsegu za dihloridodi(piridin)platinat(II) komplekse [14]. Dužine veza i uglovi u piridinskom prstenu u okviru su očekivanih vrednosti. Ugao Cl-Pt-N od 90,1(1) predstavlja vrednost blizu očekivane idealne kvadratno-planarne koordinacije. U kompleksu **2**, 4-acetilpiridinski prstenovi formiraju uglove od 49,7(5) sa koordinacionom ravni. Ovaj diedarski ugao je manji nego nađen u sličnim jedinjenjima (56,2°, *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(py)<sub>2</sub>]; 69,6(2)°/66,2(3)°, *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(3-pikolin)<sub>2</sub>]; 67,4(2)° *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(4-pikolin)<sub>2</sub>]) [14]. Sile kojima se pakovanje drži značajne su jer ligandi nisu sterno ometeni u blizini koordinacione ravni. Kratke atomske razdaljine od 3,675 (7) i 3,709 (8) Å nađene su između C4···Cl1, odnosno između C7···Cl1 atoma. Molekul ovog kompleksa ne sadrži elektronegativne elemente koji bi delovali kao proton donori i učestvovali u vodoničnom vezivanju u kristalu.

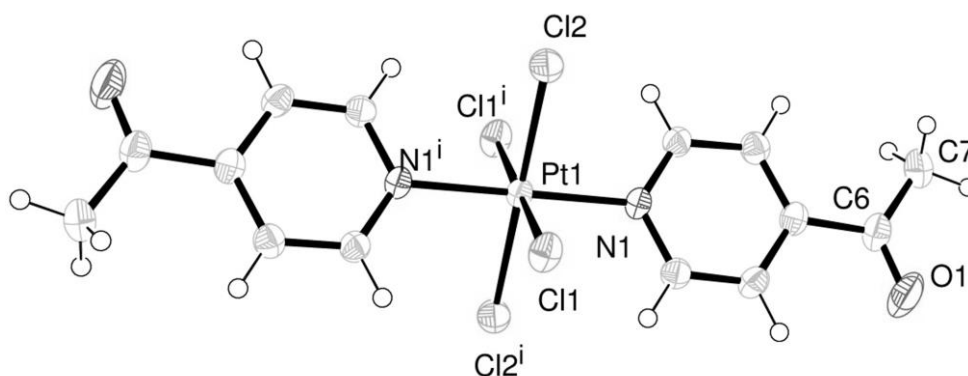
Slika 4.7. ORTEP prezentacija kompleksa  $trans\text{-[PtCl}_2(\text{L}^2)_2]$  (**2**)Tabela 11. Selektovane dužine veza (Å) i uglovi (°) za kompleks **2**.

Dužine veza/Å		Uglovi/°	
Pt1-Cl1	2,301(2)	Cl1-Pt1-N1	90,1(2)
Pt1-N1	2,005(5)	Pt1-N1-C1	121,9(4)
O1-C6	1,21(1)	Pt1-N1-C5	120,1(4)
N1-C1	1,339(9)	N1-C1-C2	123,1(6)
N1-C5	1,364(8)	N1-C5-C4	121,2(6)
C3-C6	1,51(1)	O1-C6-C3	119,6(6)
C4-C5	1,38(1)	O1-C6-C7	121,5(6)

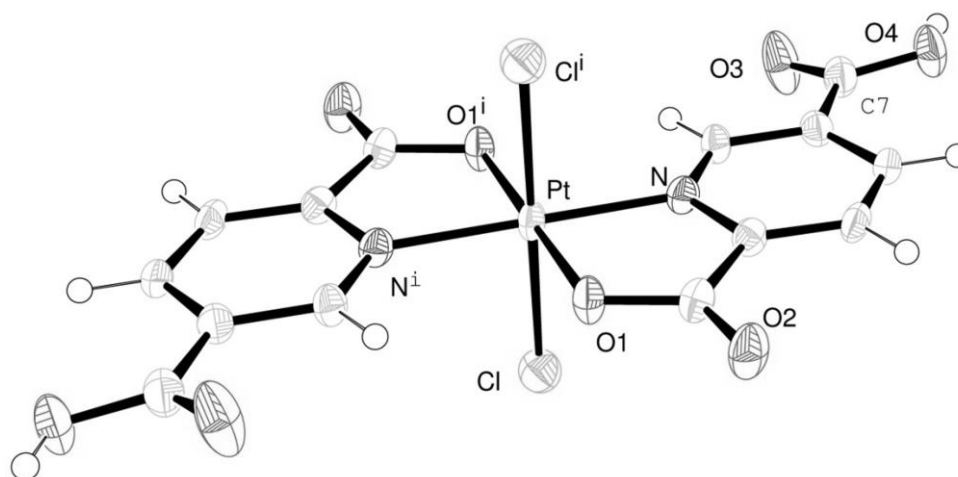
Molekulske strukture kompleksa **4** i **7** prikazane su na **Slici 4.8.** i **Slici 4.9.** Odabrane dužine veza i uglovi dati su u **Tabeli 12.**

Kompleksi **4** i **7** imaju iskrivljenu oktaedarsku geometriju oko jona Pt(IV). U slučaju kompleksa **4** dva monodentatno koordinovana 4-acetilpiridina i četiri hloridna anjona nalaze se u koordinacionoj sferi Pt(IV). Kod kompleksa **7** za centralni metalni jon koordinovano je dva deprotonovana bidentata 2,5-piridindikarboksilne kiseline ( $\kappa N, \kappa O$ ) koja obrazuju dva petočlana helatna prstena, dok su preostala dva koordinaciona mesta upotpunjena hloridnim anjonima. Uglovi oko Pt(IV) jona su blizu  $90^\circ$  (Cl1-Pt-Cl2  $88,31^\circ$ , Cl1-Pt-N1  $89,88^\circ$ , Cl2-Pt-N1  $89,11^\circ$  za kompleks **4**, O1-Pt-Cl1  $88,92^\circ$ , O1-Pt-N  $81,52^\circ$ , N-Pt-Cl1  $91,28^\circ$  za kompleks **7**) sa odstupanjem kod kompleksa **4** od  $1,7^\circ$  i kod kompleksa **7** odstupanje od  $8,5^\circ$ , što ukazuje na

geometriju iskrivljenog oktaedra. Dužine veza Pt–Cl (2,3134(8) - 2,3167(8) Å), Pt–O (2,012(2) Å) kao i Pt–N (2,010(2) - 2,053(3) Å) su u očekivanom opsegu za komplekse platine (IV) sa hlorido, karboksilato i piridinskim ligandima [116,151-153]. Dobijeni kristali sastoje se od po dve hemijske vrste: jednog neutralnog kompleksa  $[\text{Pt}(\text{L}^2)_2\text{Cl}_4]$  (**4**) i  $[\text{Pt}(\text{HL}^5)_2\text{Cl}_2]$  (**7**) i po jednog (**4**) odnosno dva molekula DMSO (**7**).



Slika 4.8. ORTEP prezentacija kompleksa  $[\text{Pt}(\text{L}^2)_2\text{Cl}_4]$  (**4**) ·DMSO



Slika 4.9. ORTEP prezentacija kompleksa  $[\text{Pt}(\text{HL}^5)_2\text{Cl}_2]$  (**7**) ·2DMSO

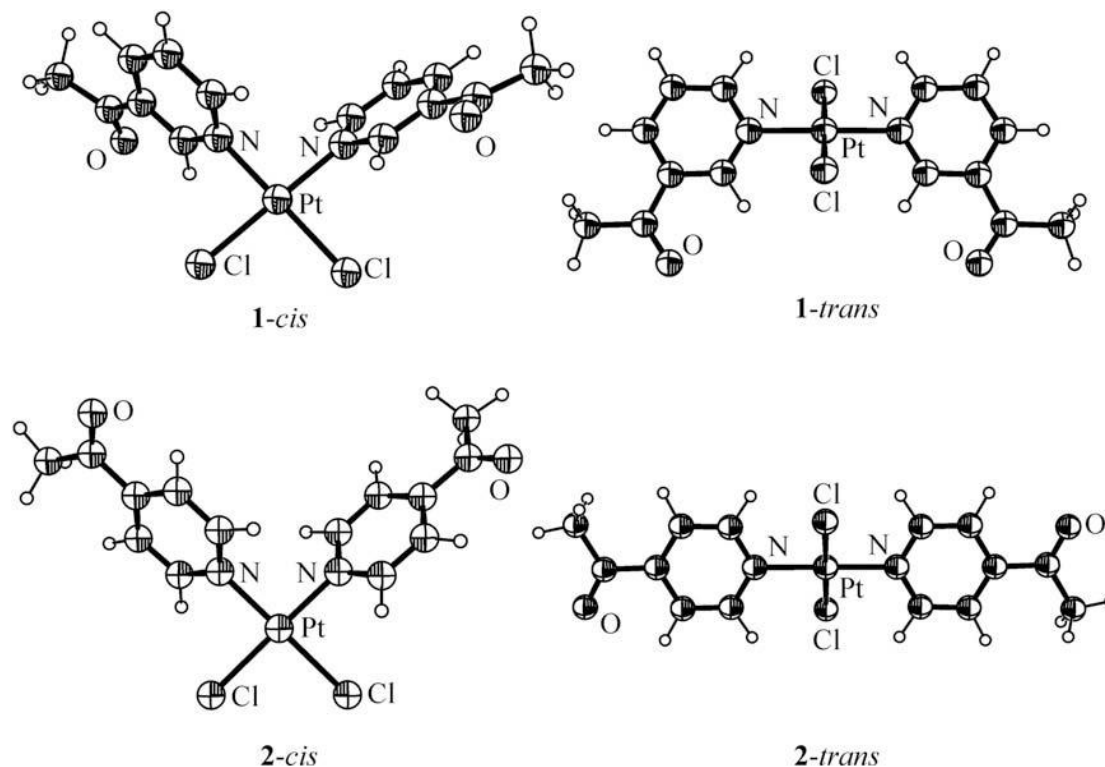
**Tabela 12.** Selektovane dužine veza (Å) i uglovi (°) za komplekse **4** i **7**.

		Dužine veza/Å		Uglovi/°	
Kompleks <b>4</b>	Pt-Cl1	2,3134(8)	Cl1-Pt-Cl2	88,31(3)	
	Pt-Cl2	2,3167(8)	Cl1-Pt-N1	89,88(7)	
	Pt-N1	2,053(3)	Cl2-Pt-N1	89,11(7)	
Kompleks <b>7</b>	Pt-Cl	2,3152(8)	O1-Pt-Cl1	88,92(6)	
	Pt-N	2,010(2)	O1-Pt-N	81,52(9)	
	Pt-O1	2,012(2)	N-Pt-Cl1	91,28(8)	

#### 4.6. DFT proračuni

Da bi se istražila selektivnost građenja isključivo jednog izomera kompleksa rađeni su DFT proračuni. Optimizovane strukture kompleksa Pt(II) i Pt(IV) prikazane su na **Slikama 4.10.** i **4.11.** Moguća su dva geometrijska izomera (*cis*- i *trans*-) kompleksa Pt(II) sa acetilpiridinskim ligandima (**1,2**). Optimizovane su strukture za svaki izomer kao i za šest (za kompleks **1**) i dva (za kompleks **2**) moguća konformera koji se dobijaju rotacijom veze između acetil grupe i piridinskog prstena. Od svih mogućih izomera i njihovih konformera izdvojeni su najstabilniji *cis*- i *trans*-izomeri, a oni sa najnižom energijom i termodinamički najstabilniji oblici, prikazani su na **Slici 4.10.** Izračunati geometrijski parametri izvedeni su pomoću DFT metoda, ukupne energije dobijene su korišćenjem B3LYP funkcije uz pomoću SDD osnovnog seta. Iz DFT proračuna može se videti da ukupne energije dobijene za komplekse **1** i **2** ukazuju na formiranje *trans*-geometrijskih izomera ( $\Delta E_{(cis-trans)} = 12,2$  kcal/mol i 11,5 kcal/mol za komplekse **1** i **2**). Kako su odgovarajući Pt(II) kompleksi dobijeni polazeći od vodenih rastvora, za dalja izračunavanja korišćen je Polarizable Continuum Model (PCM) sa dielektričnom konstantom vode. Kao što je nađeno u gasnoj fazi i ovde takođe, izračunavanja uz uključivanje efekata rastvarača ukazuju da je najstabilniji *trans*-izomer u oba kompleksa. ( $\Delta E_{(cis-trans)} = 2,0$  kcal/mol i 2,1 kcal/mol za komplekse **1** i **2**). Ovi podaci ukazuju na to da ne treba očekivati formiranje *cis*-izomera. Podaci dobijeni rendgeno-strukturnom analizom i DFT proračunima za kompleks **2** međusobno su

veoma saglasni. DFT proračuni za kompleks **1** kao i NMR spektroskopija takođe ukazuju na formiranje jednog *trans*-izomera.



**Slika 4.10.** Najstabilniji *cis*- i *trans*-izomeri izračunatih struktura **1** i **2**

U reakciji  $[\text{PtCl}_6]^{2-}$  jona sa 3- i 4-acetilpiridinom ( $\text{L}^{1-2}$ ) u molskom odnosu 1 : 2 moguće je dobiti dva izomera  $[\text{Pt}(\text{L}^{1-2})_2\text{Cl}_4]$ , *cis*- i *trans*-, kao što je prikazano optimizovanim strukturama na **Slici 4.11**. Da bi ispitali dobijanje najstabilnijeg izomera takođe su korišćeni DFT proračuni. Naime, izračunate su ukupne energije korišćenjem MPW1PW91 funkcije sa SDD osnovnim setom. Iz DFT proračuna može se videti da izračunate ukupne energije dobijene za kompleks **3** i **4** ukazuju na formiranje *trans*-geometrisjkih izomera ( $\Delta E_{(cis-trans)} = 4,95$  i  $10,03$  kcal/mol za komplekse **3** i **4**, respektivno), **Tabela 13**. Rendgeno-strukturni i DFT proračuni za kompleks **4** međusobno su u veoma dobroj saglasnosti.



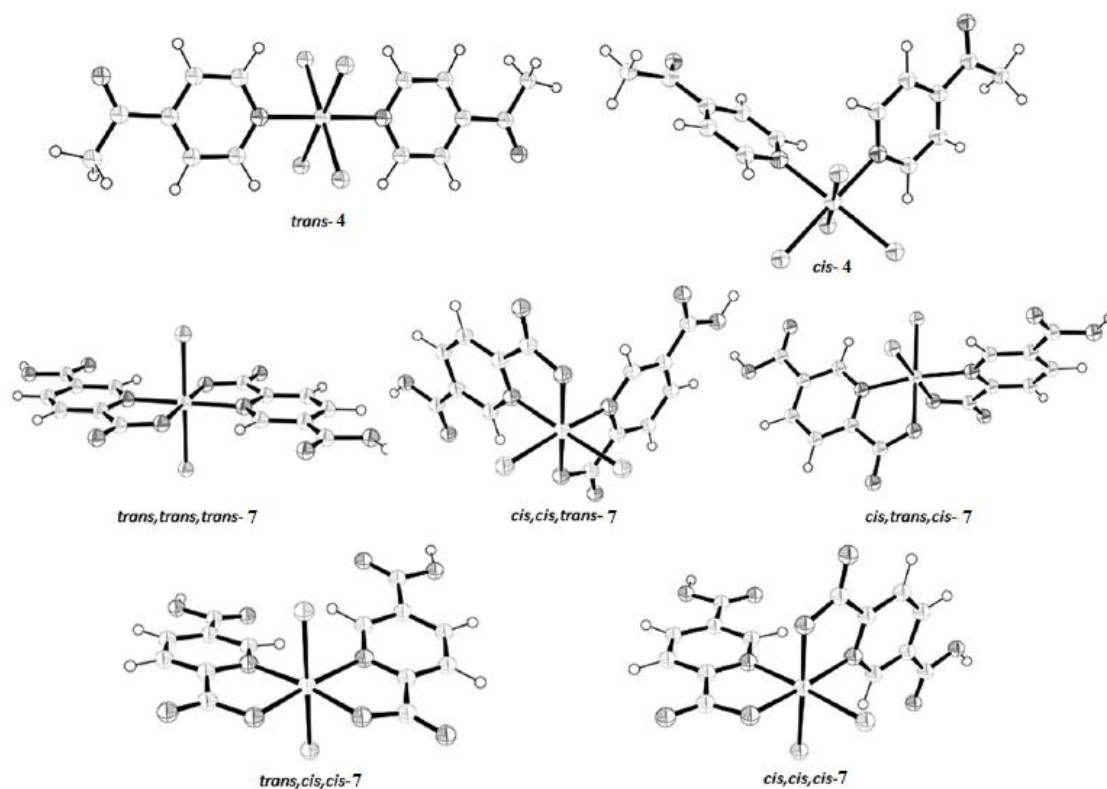
**Tabela 13.** Energije (kcal/mol) za izračunate strukture kompleksa **1-4**, relativne prema najstabilnijem *trans-CIN*-[Pt(L<sup>1-2</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**1,2**) i *trans-CIN*-[Pt(L<sup>1-2</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] (**3,4**) izomeru.

Izomer/ kompleks	<i>trans-CIN</i>	<i>cis-CIN</i>
<b>1</b>	0,00	12,20
<b>2</b>	0,00	11,50
<b>3</b>	0,00	4,95
<b>4</b>	0,00	10,03

Sa druge strane, reakcijom [PtCl<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> jona sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama (n = 3, 4, 5) u molskom odnosu 1 : 2, teorijski je moguće formiranje pet izomera kompleksa [Pt(HL<sup>3-5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**Slika 4.11.**). Energije ostalih izomera su za 2,17 do 19,18 kcal/mol veće od *trans,trans,trans-CINO*-izomera, što navodi na zaključak da je za sve komplekse termodinamički najstabilniji izomer *trans,trans,trans-CINO*-[Pt(HL<sup>3-5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>], **Tabela 14.** Rezultati dobijeni DFT proračunima u saglasnosti su sa NMR spektroskopskim podacima. Osim toga, rendgeno-strukturalna analiza kompleksa **7** potvrdila je rezultate dobijene DFT proračunima.

**Tabela 14.** Energije (kcal/mol) za izračunate strukture kompleksa **5-7**, relativne prema najstabilnijem *trans,trans,trans-CINO*-[Pt(HL<sup>3-5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] izomeru.

Izomer/ kompleks	<i>trans,trans,trans- CINO</i>	<i>cis,cis,cis- CINO</i>	<i>trans,cis,cis- CINO</i>	<i>cis,trans,cis- CINO</i>	<i>cis,cis,trans- CINO</i>
<b>5</b>	0,00	19,18	18,23	8,65	16,86
<b>6</b>	0,00	14,02	18,56	18,56	11,92
<b>7</b>	0,00	11,68	15,25	2,17	11,74



**Slika 4.11.** Ravnotežne strukture  $[\text{Pt}(\text{L}^{1-2})_2\text{Cl}_4]$  i  $[\text{Pt}(\text{HL}^{3-5})_2\text{Cl}_2]$  izomera. Date su strukture kompleksa **4** i **7** kao primeri

#### 4.7. Biološka aktivnost kompleksa

Antiproliferativni potencijal novosintetisanih *trans*-kompleksa platine(II) i platine(IV), **1-11**, kao i referentnog jedinjenja ciplatine, **CDDP**, ispitan je korišćenjem MTT i SRB kolorimetrijskih testova na panelu od ukupno trinaest ćelijski linija - deset tumorskih, dve transformisane endotelijalne linije i jedne normalne, zdrave ćelijske linije.  $\text{IC}_{50}$  vrednosti ispitivanih kompleksa određene su sa grafika koji prikazuje procenat preživljavanja ćelija u funkciji koncentracije ispitivanog kompleksa.  $\text{IC}_{50}$  vrednost se definiše kao ona koncentracija agensa ( $\mu\text{M}$ ) koja smanjuje preživljavanje ispitivane kulture ćelija za 50%. Vrednosti prikazane u tabeli

predstavljaju srednju vrednost tri nezavisna eksperimenta  $\pm$  standardna devijacija, pri čemu je svaki eksperiment rađen u triplikatu.

Rezultati pokazuju da **1-4** *trans*-platinski kompleksi imaju značajnu antiproliferativnu aktivnost na svim korišćenim ćelijskim linijama, tačnije, dobijene IC<sub>50</sub> vrednosti ispitivanih kompleksa variraju u opsegu koncentracija do 100  $\mu$ M. Kod kompleksa sa dikarboksilatnim piridinskim derivatima, **5-11**, dobijene su IC<sub>50</sub> vrednosti iznad 100  $\mu$ M, osim kod kompleksa **5** za LS-174 ćelijsku liniju i kod kompleksa **8** za HeLa, EA.hy 926, MDA-361, FemX i MS1 ćelijske linije gde je pomenuta vrednost u opsegu do 100  $\mu$ M (**Tabela 15, 16, 17**).

Antiproliferativna aktivnost kompleksa **1, 2** i cisplatine (**CDDP**) kao referentnog jedinjenja, ispitivana je na trinaest ćelijskih linija: ćelijama humanog karcinoma grlića materice (HeLa), humanog osteosarkoma (U2OS), izvedenoj cisplatina-rezistentnoj subliniji humanog osteosarkoma (U2OScisR), mišjeg melanoma (B16), tri linije ćelija humanog karcinoma dojke (MDA-453, MDA-361 i MCF-7), humanog karcinoma debelog creva (LS-174) i humanog melanoma (FemX) tokom 48 i 72 h inkubacije, kao i na ćelijama adenokarcinoma pluća (A549), dve transformisane endotelijalne linije humanog (EA.hy 926) i mišjeg (MS1) porekla i jednoj normalnoj zdravoj ćelijskoj liniji fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5) tokom 48 h. Analizirane su doza-zavisne krive (SRB kolorometrijski test), a dobijene IC<sub>50</sub> vrednosti date su u **Tabeli 15**. Rezultati pokazuju da oba kompleksa (**1,2**) imaju značajnu antiproliferativnu aktivnost na većinu ispitivanih ćelijskih linija.

Među ispitivanim ćelijskim linijama nakon 48 h tretmana, naročito za kompleks **2**, pokazala se najsenzitivnijom izvedena cisplatina-rezistentna sublinija ćelija humanog osteosarcoma, U2OScisR. Najrezistentnija na oba kompleksa bila je ćelijska linija humanog karcinoma debelog creva, LS-174, kao što je i za očekivati, mada i ćelijska linija humanog adenokarcinoma pluća, A549. Nakon 72 h na LS-174 liniji IC<sub>50</sub> vrednost nije dostignuta zadovoljavajući opseg koncentracija ni za jedan kompleks (>100  $\mu$ M), iako su značajne aktivnosti dobijene za oba kompleksna jedinjenja (**1,2**) nakon 48 h izlaganja njihovom dejstvu. Na EA.hy 926 ćelijskoj liniji za oba ispitana kompleksa na 48 h dobijene su značajne IC<sub>50</sub> vrednosti, uporedive sa cisplatinom.

Kompleks **2** pokazao je 2-4 puta višu potencijalnu citotoksičnost nego kompleks **1**. Aktivnost kompleksa **1** u poređenju sa kompleksom **2** bila je viša nakon duže inkubacije na većini ćelijskih linija sa izuzetkom na HeLa, FemX i naravno LS-174 liniji, dok je na U2OS liniji aktivnost ostala slična dobijenoj na 48 h. Nasuprot ovim rezultatima, citotoksičnost kompleksa **2** ostaje slična ili neznatno viša nakon 72 h inkubacije na svim ćelijskim linijama, sa izuzetkom LS-174. Najniže IC<sub>50</sub> koncentracione vrednosti dobijene su za kompleks **2** na EA.hy 926 (2,6±1,3 μM), zatim na HeLa, U2OScisR, FemX, B16, MDA-453 i MCF-7 ćelijskim linijama nakon 48 h tretmana. Najniže IC<sub>50</sub> koncentracione vrednosti dobijene za kompleks **2** nakon 72 h tretmana su na U2OScisR (6,4±0,9 μM), U2OS, HeLa, B16 i FemX ćelijskim linijama.

Posmatrajući aktivnost nakon 48 h inkubacije, zapaženo je da kompleks **1** pokazuje 2-9 puta nižu aktivnost u poređenju sa cisplatinom, osim na EA.hy 926 ćelijskoj liniji za koju je dobijena IC<sub>50</sub> = 3,1±1,4 μM, što je značajan rezultat u poređenju sa cisplatinom (27,7±1,3 μM) nakon istog perioda inkubacije. Međutim, nakon 48 h, kompleks **2** pokazuje uporedivu aktivnost sa cisplatinom na nekoliko ćelijskih linija kao što su EA.hy 926, HeLa i U2OScisR i čak veću aktivnost nego cisplatina na ćelijama mišjeg melanoma, B16 (11,6±3,7 μM (48 h) i (9,4±1,1 μM (72 h) za kompleks **2**, dok je za CDDP 22,4±0,4 μM (48 h) i 12±1,1 μM (72 h)). Osim toga, povećanje vremena izlaganja cisplatine na ćelijske linije do 72 h, vodi većoj aktivnosti na HeLa ćelije i uporedivo je sa aktivnošću kompleksa **2** na U2OScisR i B16 ćelijskim linijama gde se uočava isti trend povećanja aktivnosti pri produženom izlaganju. Iz ovih istraživanja zaključujemo da se razlike u aktivnostima između kompleksa **1** i **2** mogu pripisati položaju acetil supstituenta na piridinskom prstenu liganda. Verovatno simetričnost sintetisanog *trans*-kompleksa (**2**) doprinosi povećanju citotoksične aktivnosti. Dakle, može se očekivati bolja aktivnost *trans*-dihloridoplatina(II) kompleksa sa supstituentima na *para*-(C4), pre nego na *meta*-(C3) položaju piridinskog prstena.

Antiproliferativna aktivnost odgovarajućih *trans*-platina(II) kompleksa sa acetilpiridinskim ligandima kao nosačima, otkriva potencijal *trans*-[Pt(4-acpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**2**) kompleksa sa značajnom citotoksičnošću na panelu tumorskih ćelija, sa

IC<sub>50</sub> vrednostima uporedivim sa cisplatinom u opsegu od 7,3±2,0 μM (HeLa) do 37,4±9,8 μM (MDA-361) [152].

**Tabela 15.** Rezultati citotoksičnosti *trans*-platinskih kompleksa **1**, **2** i cisplatine (**CDDP**) predstavljeni u vidu IC<sub>50</sub> vrednosti determinisanih iz dijagrama preživljavanja nakon tretmana u trajanju od 48 h i 72 h. Znak (>) ukazuje da IC<sub>50</sub> vrednost ne dostiže ispitane opsege koncentracija (znak je ispred maksimuma vrednosti koncentracija u ispitivanom opsegu koncentracija).

Ćelijske linije	IC <sub>50</sub> [μM]					
			<b>2</b>		<b>CDDP</b>	
	<b>1</b>		48 h	72 h	48 h	72 h
HeLa	27,8±1,7	38,8±4,2	7,3±2,0	7,5±0,9	6,9±1,7	4±0,5
U2OS	33±4,4	32,7±4,1	17,7±3,2	8,8±0,6	5,2±0,6	4,0±0,8
U2OScisR	25,1±2,5	19,9±3,8	9,2±4,3	6,4±0,9	12,2±2,5	4,9±1,0
B16	43±5,1	14,5±1,6	11,6±3,7	9,4±1,1	22,4±0,4	12±1,1
MDA-453	62,5±10,1	17,7±5,5	13,1±4,8	11,5±1,3	7,6±0,7	5,7±0,9
MDA-361	38,1±4,7	11,5±1,3	37,4±4,8	25,1±2,4	14,7±1,2	25,9±4,3
LS-174	53,9±6,2	>100	36,2±4,2	>100	9,7±1,2	6,5±1,3
MCF-7	27,3±3,7	21,1±4,9	13,3±1,5	14±1,3	3,4±0,2	1,3±0,6
FemX	20,2±2,1	27,4±5,5	9,7±1,3	9,9±1,2	2,1±0,3	3±0,2
A549	69,1±0,8		62,2±0,5		17,2±0,7	
EA.hy 926	3,1±1,4		2,6±1,3		27,7±1,3	
MS1	34,5±7,8		76,3±0,5		18,6±5,4	
MRC-5	40,0±11,1		56,4±5,0		15,4±3,1	

Antiproliferativna aktivnost *trans*-Pt(IV) kompleksa **3-7** ispitivana je na devet ćelijskih linija. Od tumorskih ćelija za ispitivanja su korišćene ćelije humanog karcinoma grlića materice (HeLa), mišjeg melanoma (B16), karcinoma dojke (MDA-MB-453), kolorektalnog karcinoma (LS-174), humanog melanoma (FemX), adenokarcinoma pluća (A549), poslednje dve samo na kompleksima **3** i **4**; dve

transformisane endotelijalne linije humanog (EA.hy 926) i mišjeg (MS1) porekla i jedna normalna zdrava ćelijska linija fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5).

Rezultati *in vitro* inhibitorne aktivnosti Pt(IV) kompleksa **3-7**, i cisplatine (CDDP) kao referentnog jedinjenja, određeni su MTT testom i prikazani u **Tabeli 16**. Dobijeni podaci ukazuju da kompleksi **3** i **4** pokazuju antiproliferativnu aktivnost na svim testiranim ćelijskim linijama, u opsegu koncentracija do 100  $\mu\text{M}$ , i najznačajniju na humanim endotelijalnim ćelijama (EA.hy 926), sa  $\text{IC}_{50}$  vrednostima  $13,8 \pm 5,8 \mu\text{M}$  i  $23,4 \pm 3,3 \mu\text{M}$ , respektivno. Oba kompleksa **3** i **4** pokazala su bolju antiproliferativnu aktivnost na EA.hy 926 ćelije u poređenju sa cisplatinom ( $\text{IC}_{50}$   $27,7 \pm 1,3 \mu\text{M}$ ) i manju toksičnost na normalnoj zdravoj ćelijskoj liniji fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5), nego u većini testiranih tumorskih ćelijskih linija.

Kompleksi Pt(IV) sa piridin-dikarboksilato ligandima (**5-7**) pokazuju umeren antiproliferativni efekat *in vitro*, kada su testirani u opsegu koncentracija do 300  $\mu\text{M}$ , dok se kompletni nedostatak aktivnosti uočava na ćelijama karcinoma dojke, MDA-MB-453. Poređenje strukture i aktivnosti ukazuje na značajno višu antiproliferativnu aktivnost *in vitro* kompleksa sa acetil supstituisanim derivatima piridina kao ligandima (**3,4**), u poređenju sa kompleksima koji imaju dikarboksilato supstituisane piridinske derivate kao ligande (**5-7**). U literaturi je već zapažano da se razlike u reaktivnosti platina(IV) kompleksa dovode u vezu sa njihovom lakom redukcijom do Pt(II) oblika [154-156]. Kompleksi Pt(IV) su kinetički inertniji nego odgovarajući Pt(II) analozi. Smatra se da je antitumorski efekat platina(IV) kompleksa rezultat biološke redukcije do citotoksičnog platina(II) oblika, nakon ulaska u ćeliju [157]. Priroda aksijalnog liganda utiče na redukcionu potencijal kompleksa i može uticati na postizanje optimalnog oslobađanja platina(II) oblika. Kompleksi platine(IV) sa funkcionalizovanim ligandima mogu se koristiti kao komponente lekova pošto su stabilni i mogu se prenositi do odgovarajućih ciljnih mesta gde se mogu prevesti u njihove aktivne citotoksične platina(II) oblike [157].

Međutim, u slučajevima glomaznih dikarboksilatnih liganada (2,n-pydc; n = 2, 3, 4) kod *trans*-Pt(IV) kompleksa (**5-7**) moguće su ometajuće interakcije sa ciljnim mestima kao npr. sa DNK, tako proizvedeći primetan gubitak značajne citotoksičnosti *in vitro*. Dejstvo platina(IV) kompleksa sa acetilpiridinskim ligandima na tumorske

ćelije biće i dalje istraživano, s obzirom na njihov antiproliferativni potencijal *in vitro*, i manju toksičnost na normalnoj zdravoj ćelijskoj liniji fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5) u poređenju sa tumorskim ćelijama. Nakon 48 h inkubacije nisu dostignute IC<sub>50</sub> vrednosti na MDA-MB-453 i MRC-5 za komplekse **5** i **6** (>300 µM), dok za kompleks **7** nisu dostignute na četiri ćelijske linije, HeLa, MDA-MB-453, EA.hy 926 i MS1 (>300 µM). Nije ispitivano dejstvo kompleksi **5-7** na FemX i A549 ćelijskim linijama.

**Tabela 16.** Rezultati citotoksičnosti *trans*-platinskih kompleksa **3-7** i cisplatine (CDDP) izraženi kao IC<sub>50</sub> vrednosti determinisanih iz dijagrama preživljavanja nakon tretmana u trajanju od 48 h. Znak (>) ukazuje da IC<sub>50</sub> vrednosti ne dostižu ispitane opsege koncentracija (znak je ispred maksimuma vrednosti koncentracija u ispitivanom opsegu koncentracija).

Ćelijske linije	IC <sub>50</sub> [µM, 48 h]					
	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>CDDP</b>
HeLa	52,3±6,5	48,5±6,8	207,9±2,7	229,5±12,3	>300	6,9±1,7
B16	25,7±0,5	39,7±3,7	248,8±8,9	275,3±19,2	174,7±4,6	22,4±0,4
MDA-MB-453	34,7±6,6	30,0±7,5	>300	>300	>300	7,6±0,7
LS-174	35,9±9,8	70,8±0,4	91,5±1,5	242,4±1,4	210,9±3,7	9,7±1,2
MRC-5	51,4±0,6	71,4±2,9	>300	>300	181,5±3,6	15,4±3,1
EA.hy 926	13,8±5,8	23,4±3,3	196,6±2,3	273,0±3,0	>300	27,7±1,3
MS1	57,5±5,9	59,4±6,8	295,1±5,2	261,8±8,4	>300	18,6±5,4
FemX	30,6±4,4	23,1±3,2				2,1±0,3
A549	43,7±4,6	30,6±3,0				17,2±0,7

Antiproliferativna aktivnost kompleksa **8-11** ispitivana je na 9 ćelijskih linija i na ciplatinu kao referentno jedinjenje, **Tabela 17.** Zbog slabe rastvorljivosti kompleksa u DMSO, korišćeni su rastvori u D<sub>2</sub>O uz dodatak 0,2 M NaOD, pri čemu je finalna koncentracija uzoraka bila 20 mM, a NaOD je u konačnoj koncentraciji bio 0,07 M. Takođe je proveren uticaj samog NaOD na tumorske ćelije i rezultati su pokazali da

NaOD nije citotoksičan pa ne utiče na rezultate  $IC_{50}$  vrednosti dobijenih za komplekse Pt(II) sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama ( $n = 3, 4, 5, 6$ ).

**Tabela 17.** Rezultati citotoksičnosti *trans*-platinskih kompleksa **8-11** i cisplatine (**CDDP**) izraženi kao  $IC_{50}$  vrednosti determinisanih iz dijagrama preživljavanja nakon tretmana u trajanju od 48 h. Znak (>) ukazuje da  $IC_{50}$  vrednosti ne dostižu ispitane opsege koncentracija (znak je ispred maksimuma vrednosti koncentracija u ispitivanom opsegu koncentracija). Oznaka ND označava da nije bilo determinacije.

Ćelijske linije	$IC_{50}$ [ $\mu$ M, 48 h]				
	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>CDDP</b>
HeLa	81,1 $\pm$ 3,2	>200	>200	>200	6,9 $\pm$ 1,7
B16	166,4 $\pm$ 5,7	>200	>200	>200	22,4 $\pm$ 0,4
MDA-MB-453	>200	>200	>200	>200	7,6 $\pm$ 0,7
LS-174	>200	>200	>200	>200	9,7 $\pm$ 1,2
MRC-5	140,3 $\pm$ 10,4	>200	>200	>200	15,4 $\pm$ 3,1
EA.hy 926	67,8 $\pm$ 1,4	>200	>200	>200	27,7 $\pm$ 1,3
MDA-361	49,7 $\pm$ 6,2	ND	ND	ND	14,7 $\pm$ 1,2
FemX	68,2 $\pm$ 9,1	>200	>200	>200	2,1 $\pm$ 0,3
MS1	84,3 $\pm$ 8,0	>200	186,0 $\pm$ 10,0	>200	18,6 $\pm$ 5,4

Uočeno je da samo kompleks **8** pokazuje umerenu citotoksičnost na ispitivanim ćelijskim linijama, osim na MDA-MB-453 i LS-174, kao i kompleks **10** na MS1 ćelijskoj liniji. Kod ostalih kompleksa iz ove grupe  $IC_{50}$  vrednosti ne dostižu ispitane opsege koncentracija ( $IC_{50} > 200 \mu$ M).



## **5. ZAKLJUČAK**

## 5. Zaključak

U ovoj doktorskoj disertaciji opisana je sinteza i karakterizacija 11 kompleksa platine sa piridinskim derivatima kao ligandima. Od liganada korišćena su dva acetilpiridinska derivata, 3- i 4-acetilpiridin i četiri 2,n-piridindikarboksilne kiseline ( $n = 3, 4, 5$  i  $6$ ). Sintetisano je šest kompleksa Pt(II) (**1**, **2**, **8-11**) i pet kompleksa Pt(IV) (**3-7**), svi *trans*-geometrije. Ispitivana je antiproliferativna aktivnost svih sintetisanih kompleksa i za neke od njih dobijeni su značajni rezultati.

Novosintetisani kompleksi su okarakterisani standardnim metodama karakterizacije: infracrvenom spektroskopijom,  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopijom, a stehiometrijski sastav jedinjenja potvrđen je elementalnom analizom. DFT proračunima pretpostavljena je najstabilnija moguća geometrija kompleksa platine(IV) kao i kompleksa Pt(II) sa acetilpiridinskim derivatima. Struktura kompleksa Pt(II) i Pt(IV) sa 4-acetilpiridinom (**2,4**) kao i kompleksa Pt(IV) sa 2,5-piridindikarboksilnom kiselinom (**7**) određena je rendgenskom strukturnom analizom.

Karakterizacijom sintetisanih jedinjenja utvrđeno je sledeće:

- Sintetisani kompleksi dobijeni su reakcijom polaznih kompleksa platine,  $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$  odnosno  $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$ , sa odgovarajućim ligandima u molskom odnosu 1 : 2 u vodi uz blago zagrevanje.
- Rezultati elementarnih analiza kompleksa odgovaraju pretpostavljenim molekulskim formulama.
- U infracrvenim spektrima kompleksa sa acetilpiridinskim derivatima primećeno je da su  $\nu(\text{C}=\text{N})$  valencione vibracije piridinskog prstena pomerene ka nižim vrednostima kod kompleksa Pt(II), odnosno ka višim pomeranjima kod kompleksa Pt(IV) kao posledica koordinacije piridinskog azota za Pt(II) odnosno Pt(IV) jon. Istežuće vibracije karbonilne grupe liganada ( $\text{C}=\text{O}$ ) na oko  $1700\text{ cm}^{-1}$  ostaju skoro nepromenjene u kompleksima **1-4** što ukazuje da ova grupa nije uključena u koordinaciju. U IC spektrima kompleksa sa

piridindikarboksilnim kiselinama javljaju se dve trake, jedna karakteristična za koordinovanu karboksilatnu grupu i druga za slobodnu karboksilnu grupu na višim pomeranjima, što ukazuje da se ovi ligandi koordinuju za platinu samo preko jedne karboksilatne grupe. U koordinaciji 2,n-piridindikarboksilnih kiselina pored karboksilatnog kiseonika učestvuje i piridinski azot kao donor.

- NMR spektri su u saglasnosti sa strukturama svih kompleksa. U  $^1\text{H}$  NMR spektrima svih kompleksa uočavaju se signali za protone piridinskog prstena u oblasti karakterističnoj za aromatična jedinjenja. Dubleti signala koji potiču od vodoničnih atoma, H2 i H6 (kompleksi **1-4**) koji se nalaze uz piridinski azot, primetno su pomereni ka višim vrednostima u poređenju sa spektrima slobodnih liganada. Hemijska pomeranja za udaljene protone H4/H3 i H5 u odnosu na piridinski azot u kompleksima **1,3** i **2,4** manja su u poređenju sa ligandima, što ukazuje na koordinaciju liganada za jone platine preko piridinskog azota. Uz pomenute signale, prisutan je i singlet za metil grupu vezanu za karbonilni ugljenik (**1-4**). U spektrima kompleksa **5-11** uz pomeranja pripisana protonima piridinskog prstena, prisutan je i širok singlet koji potiče od protonu nekoordinovane karboksilne grupe.
- $^{13}\text{C}$  NMR spektri svih kompleksa imaju karakteristične aromatične rezonance ugljenikovih atoma piridinskog prstena. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektrima kompleksa **2** i **4** uočavaju se preklopljeni signali za ugljenikove atome koji odgovaraju rezonancama *p*-supstituisanog aromatičnog prstena. Pomeranja koja se pripisuju ugljenikovim atomima C2 i C6 bliže azotu, pomerena su ka višim vrednostima u poređenju sa slobodnim ligandima, pošto su pomenuti atomi manje zaštićeni usled koordinacije piridinskog azota za jone platine. Prisutni su i signali za karbonilni ugljenik C7 (~195 ppm) i ugljenik metil grupe C9 (~27 ppm) (**1-4**). U spektrima kompleksa **5-11** prisutna su i pomeranja koja su pripisana karboksilatnom ugljeniku i ugljeniku nekoordinovane karboksilne grupe.
- Rezultati rendgenske strukturne analize kompleksa **2**, **4** i **7** potvrđuju kvadratno-planarnu geometriju kompleksa Pt(II) (**2**) sa po dva monodentatno koordinovana acetilpiridinska liganda, odnosno iskrivljenu oktaedarsku geometriju oba kompleksa Pt(IV) (**4,7**) sa monodentatno i bidentatno

koordinovanim derivatima piridina. Preostalo koordinaciona mesta u strukturama kompleksa zauzeta su hloridnim anjonima. Dobijeni kompleksi su neutralni *trans*-izomeri.

- DFT proračuni su pokazali da su energetske najpovoljniji i termodinamički najstabilniji acetilpiridinski kompleksi *trans*-geometrije, *trans*-[Pt(L<sup>1-2</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] i *trans*-[Pt(L<sup>1-2</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] kao i kompleksi Pt(IV) sa 2,n-piridindikarboksilnim kiselinama kao ligandima, *trans,trans,trans*-ClNO-[Pt(HL<sup>3-5</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>].

Ispitan je antiproliferativni potencijal sintetisanih *trans*-Pt(II) i *trans*-Pt(IV) kompleksa, **1-11**, na panelu od ukupno trinaest ćelijskih linija - deset tumorskih, dve transformisane endotelijalne linije i jedne normalne, zdrave ćelijske linije. Rezultati pokazuju da **1-4** *trans*-platinski kompleksi poseduju značajnu antiproliferativnu aktivnost na svim ispitivanim ćelijskim linijama. Dobijena je značajna antiproliferativna aktivnost *trans*-[Pt(4-acpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**2**) kompleksa na panelu tumorskih ćelija, sa IC<sub>50</sub> vrednostima uporedivim sa cisplatinom (u opsegu od 7,3±2,0 μM (HeLa) do 37,4±4,8 μM (MDA-361)). Kompleks **2** je pokazao 2-4 puta višu antiproliferativnu aktivnost nego kompleks **1**. Za kompleks **2** nakon 48 h pokazala se najsenzitivnijom izvedena cisplatina-rezistentna sublinija ćelija humanog osteosarkoma, U2OScisR (9,2±4,3 μM (**2**); 12,2±2,5 μM (**CDDP**)). Za isti kompleks dobijena je uporediva antiproliferativna aktivnost sa cisplatinom na HeLa (približno jednake vrednosti) i B16 (11,6±3,7 μM (**2** na 48 h) i 9,4±1,1 μM (**2** na 72 h)) ćelijskim linijama.

Takođe na humanoj endotelijalnoj liniji EA.hy 926 za komplekse **1-4** nakon 48 h dobijene su značajne IC<sub>50</sub> vrednosti 3,1±1,4 μM (**1**), 2,6±1,3 μM (**2**), 13,8±5,8 μM (**3**), 23,4±3,3 μM (**4**), u poređenju sa CDDP čija je vrednost 27,7±1,3 μM. Pored toga što su kompleksi **3** i **4** pokazali bolju antiproliferativnu aktivnost od cisplatine na EA.hy 926, oni ispoljavaju i manju toksičnost na zdravoj ćelijskoj liniji fetalnih humanih fibroblasta pluća (MRC-5). Kompleksi **5-11** pokazuju umeren antiproliferativni efekat *in vitro*. Dobijene su IC<sub>50</sub> vrednosti iznad 100 μM, sa izuzetkom kod kompleksa **8**, gde su za pet ćelijskih linija IC<sub>50</sub> vrednosti ispod 100 μM.

Imajući u vidu sve postignute rezultate, može se zaključiti da će sintetisani *trans*-kompleksi platine(II) i platine(IV), posebno sa acetilpiridinskim derivatima, kao i strukturno slični opisanim u ovoj doktorskoj disertaciji, imati veliki značaj i biti predmet daljih istraživanja, kako sa strukturnog aspekta, tako i u pogledu ispitivanja njihovog biološkog potencijala, interagovanja sa ćelijskim metama i proučavanja njihovih mehanizama dejstava, što bi u budućnosti moglo objasniti antitumorski potencijal kompleksa *in vivo*.

## **6. LITERATURA**

## 6. Literatura

- [1] B. Desoize, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 42 (2002) 213–215.
- [2] R.S. Go, A.A. Adjei, *J. Clin. Oncol.*, 17 (1999) 409–422.
- [3] D. Lebowitz, R. Canetta, *Eur. J. Cancer*, 34 (1998) 1522–1534.
- [4] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature*, 205 (1965) 698–699.
- [5] M. Frezza, S. Hindo, D. Chen, A. Davenport, S. Schmitt, D. Tomco, Q.P. Dou, *Curr. Pharm. Des.*, 16 (2010) 1813–1825.
- [6] B. Desoize, C. Madoulet, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 42 (2002) 317–325.
- [7] H. Choy, C. Park, M. Yao, *Clin. Cancer Res.*, 14 (2008) 1633–1638.
- [8] M.D. Hall, H.R. Mellor, R. Callaghan, T.W. Hambley, *J. Med. Chem.*, 50 (2007) 3403–3411.
- [9] B. Rosenberg, L. Van Camp, E.B. Grimley, A.J. Thomson, *J. Biol. Chem.*, 242 (1967) 1347–1352.
- [10] N. Farrell, T.T.B. Ha, J.P. Souchard, F.L. Wimmer, S. Cros, N.P. Johnson, *J. Med. Chem.*, 32 (1989) 2240–2241.
- [11] N. Farrell, L.R. Kelland, J.D. Roberts, M. Van Beusichem, *Cancer Res.*, 52 (1992) 5065–5072.
- [12] S. Radulović, Ž. Tešić, S. Manić, *Curr. Med. Chem.*, 9 (2002) 1611–1618.
- [13] U. Kalinowska-Lis, J. Ochocki, K. Matlawska-Wasowska, *Coord. Chem. Rev.*, 252 (2008) 1328–1345.
- [14] C. Tessier, F.D. Rochon, *Inorg. Chim. Acta* 295 (1999) 25–38.
- [15] G. McGowan, S. Parsons, P.J. Sadler, *Inorg. Chem.*, 44 (2005) 7459–7467.
- [16] R. Song, K.M. Kim, Y.S. Sohn, *Inorg. Chim. Acta*, 292 (1999) 238–243.
- [17] A. Werner, *Zeiter. Anorgan. Chem.*, 3 (1893) 207–330.
- [18] B. Rosenberg, E. Renshaw, L. Van Camp, J. Hartwick, J. Drobnik, *J. Bacteriol.*, 93 (1967) 716–721.
- [19] B. Rosenberg, L. Van Camp, J.E. Trosko, V.H. Mansour, *Nature*, 222 (1969) 385–386.
- [20] B. Rosenberg, *Cancer*, 55 (1985) 2303–2316.

- [21] D. Wang, S.J. Lippard, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 4 (2005) 307-320.
- [22] R. Xing, X. Wang, C. Zhang, Y. Zhang, Q. Wang, Z. Yang, Z. Guo, *J. Inorg. Biochem.*, 103 (2009) 1039-1044.
- [23] J. Reedijk, *Eur. J. Inorg. Chem.*, (2009) 1303-1312.
- [24] J. Lokich, N. Anderson, *Ann. Oncol.* 9 (1998) 13–21 (published erratum appeared in *Ann. Oncol.*, 9(3) (1998) 341).
- [25] E. Cvitkovic, *Br. J. Cancer*, 77 (1998) 8–11.
- [26] P.J. O'Dwyer, J.P. Stevenson, S.W. Johnson, *Drugs*, 59 (2000) 19–27.
- [27] F. Levi, G. Metzger, C. Massari, G. Milano, *Clin. Pharmacokinet*, 38 (2000) 1–21.
- [28] M.A. Graham, G.F. Lockwood, D. Greenslade, S. Brienza, M. Bayssas, E. Gamelin, *Clin. Cancer Res.*, 6 (2000) 1205–1218.
- [29] J.L. Misset, *Br. J. Cancer*, 77 (1998) 4-7.
- [30] Y. Sasaki, T. Tamura, K. Eguchi, T. Shinkai, Y. Fujiwara, M. Fukuda, Y. Ohe, M. Bungo, N. Horichi, S. Niimi, K. Minato, K. Nakagawa, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 23 (1989) 243–246.
- [31] Y. Sasaki, T. Amano, M. Morita, T. Shinkai, K. Eguchi, T. Tamura, Y. Ohe, A. Kojima, N. Saijo, *Cancer Res.*, 51 (1991) 1472–1477.
- [32] N.J. Wheate, S. Walker, G.E. Craig, R. Oun, *Dalton Trans.*, 39 (2010) 8113-8127.
- [33] M.J. Cleare, J.D. Hoeschele, *Platinum Met. Rev.*, 17 (1973) 2-13.
- [34] J. Reedijk, *Met. Rev.* 52 (2008) 2-11.
- [35] F. Arnesano, G. Natile, *Coordin. Chem. Rev.*, 253 (2009) 2070-2081.
- [36] S.J. Lippard, J.M. Berg, *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books, Mill Valley, CA, 1994.
- [37] J. Reedijk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100 (2003) 3611-3616.
- [38] V. Cepeda, M.A. Fuertes, J. Castilla, C. Alonso, C. Quevedo, J.M. Pérez, *Anti-Cancer Agent. Med. Chem.*, 7 (2007) 3-18.
- [39] A.I. Ivanov, J. Christodoulou, J.A. Parkinson, K.J. Barnham, A. Tucker, J. Woodrow, P.J. Sadler, *J. Biol. Chem.*, 273 (1998) 14721–14730.
- [40] R.A. Alderden, M.D. Hall, T.W. Hambley, *J. Chem. Educ.* 83 (2006) 728-734.
- [41] A.F.A. Peacock, P.J. Sadler, *Chem.-Asian J.* 3 (2008) 1890-1899.
- [42] M.S. Highley, A.H. Calvert, *Clinical Experience with Cisplatin and Carboplatin*, L.R. Kelland, N.P. Farrell, Eds., Humana Press: Totowa NJ (2000) 89-113.



- [43] A.M. Florea, D. Büsselberg, *Cancers*, 3 (2011) 1351-1371.
- [44] S. Ishida, J. Lee, D.J. Thiele, I. Herskowitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (2002) 14298-14302.
- [45] S. Dasari, P.B. Tchounwou, *Eur. J. Pharmacol.*, 740 (2014) 364–378.
- [46] D.J. Stewart, *Crit. Rev. Oncol. Hemat.* 63 (2007) 12-31.
- [47] C.A. Rabik, M.E. Dolan, *Cancer Treat. Rev.* 33 (2007) 9-23.
- [48] T. Boulikas, M. Vougiouka, *Oncol. Rep.* 10 (2003) 1663-1682.
- [49] T. Boulikas, A. Pantos, E. Bellis, P. Christofis, *Cancer Therapy* 5 (2007) 537-583.
- [50] J.S. Macdonald, A.B. Astrow, *Semin. Oncol.* 28 (2001) 30-40.
- [51] R.J. Pelley, *Curr. Oncol. Rep.* 3 (2001) 147-155.
- [52] J.C. Dabrowiak, John-Wiley and Sons, Ltd, Chichester, UK, (2009) 73-249.
- [53] N.J. Wheate, S. Walker, G.E. Craig, R. Oun, *Dalton Trans.*, 39 (2010) 8113-8127.
- [54] K.R. Harrap, *Cancer Treat Rev.*, 12 (1985) 21-33.
- [55] H. Anderson, J. Wagstaff, D. Crowther, R. Swindell, M.J. Lind, J. McGregor, M.S. Timms, D. Brown, P. Palmer, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 24 (1988) 1471-1479.
- [56] L.R. Kelland, S.Y. Sharp, C.F. O'Neill, F.I. Raynaud, P.J. Beale, I.R. Judson, *J. Inorg. Biochem.*, 77 (1999) 111–115.
- [57] A.S. Abu-Surrah, M. Kettunen, *Curr. Med. Chem.*, 13 (2006) 1337-1357.
- [58] M.D. Hall, T.W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.*, 232 (2002) 49-67.
- [59] L.R. Kelland, *Exp. Opin. Investig. Drugs* 9 (2000) 1373-1382.
- [60] M.G. Ormerod, R.M. Orr, C.F. O'Neill, T. Chwalinski, J.C. Titley, L.R. Kelland, K.R. Harrap, *Br. J. Cancer* 74 (1996) 1935-1943.
- [61] K.J. Mellish, C.F. Barnard, B.A. Murrer, L.R. Kelland, *Int. J. Cancer* 62 (1995) 717-723.
- [62] J.F. Hartwig, S.J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.*, 114 (1992) 5646-5654.
- [63] U. Thatte, S. Dahanukar, *Drugs*, 54 (1997) 511-32.
- [64] S. Van Cruchten, W. Van Den Broeck, *Anat. Histol. Embryol.*, 31 (2002) 214-23.
- [65] P.J. Dyson, G. Sava, *Dalton Trans.*, 16 (2006) 1929-1933.
- [66] C. Gabbiani, L. Messori, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* 11 (2011) 929-939.
- [67] A. Casini, L. Messori, *Curr. Top. Med. Chem.* 11 (2011) 2647-2660.

- [68] F. Guidi, A. Modesti, I. Landini, S. Nobili, E. Mini, L. Bini, M. Puglia, A. Casini, P.J. Dyson, C. Gabbiani, L. Messori, *J. Inorg. Biochem.* 118 (2013) 94-99.
- [69] S.J. Berners-Price, A. Filipovska, *Metallomics* 3 (2011) 863-873.
- [70] 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) 1051-1058.
- [71] I. Ivanović, S.R. Grgurić-Šipka, N. Gligorijević, S.S. Radulović, A. Roller, Ž.Lj. Tešić, B.K. Keppler, *J. Serb. Chem. Soc.*, 76 (2011) 53-61.
- [72] N. Gligorijević, S. Arandelović, L. Filipović, K. Jakovljević, R. Janković, S. Grgurić-Šipka, I. Ivanović, S. Radulović, Ž.Lj. Tešić, *J. Inorg. Biochem.*, 108 (2012) 53-61.
- [73] I. Ivanović, N. Gligorijević, S. Arandelović, S. Radulović, A. Roller, B.K. Keppler, Ž.Lj. Tešić, S. Grgurić-Šipka, *Polyhedron*, 61 (2013) 112-118.
- [74] I. Ivanović, K.K. Jovanović, N. Gligorijević, S. Radulović, V.B. Arion, K. Salem, A.M. Sheweshein, Ž.Lj. Tešić, *J. Organomet. Chem.*, 749 (2014) 343-349.
- [75] E.B. Double, *Pharmacol. Ther.*, 25 (1984) 297-326.
- [76] A Eastman, N. Schulte, N. Sheibani, C.M. Sorenson, *Developments in Oncology*, 54 (1988) 178-196.
- [77] J.M. Malinge, M.J. Giraud-Panis, M. Leng, *J. Inorg. Biochem.*, 77 (1999) 23-29.
- [78] M. Van Beusichem, N. Farrell, *Inorg. Chem.*, 31 (1992) 634-639.
- [79] U. Bierbach, Y. Qu, T.W. Hambley, J. Peroutka, H.L. Nguyen, M. Doedee, N. Farrell, *Inorg. Chem.*, 38 (1999) 3535-3542.
- [80] N. Farrell, L.R. Kelland, J.D. Roberts, M. Van Beusichem, *Cancer Res.*, 52 (1992) 5065-5072.
- [81] L.S. Hollis, W.I. Sundquist, J.N. Burstyn, W.J. Heiger-Bernays, S.F. Bellon, K.J. Ahmed, A.R. Amundsen, E.W. Stern, S.J. Lippard, *Cancer Res.*, 51 (1991) 1866-1875.
- [82] N. Farrell, Y. Qu, U. Bierbach, M. Valsecchi, E. Menta, *Cisplatin, Chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug*, Wiley-VCH, Weinheim, 1999, 479-496.
- [83] E.I. Montero, S. Díaz, A.M. González-Vadillo, J.M. Pérez, C. Alonso, C. Navarro-Ranninger, *J. Med. Chem.*, 42 (1999) 4264-4268.

- [84] A.P. Silverman, W. Bu, S.M. Cohen, S.J. Lippard, *J. Biol. Chem.*, 277 (2002) 49743-49749.
- [85] Y. Najajreh, J.M. Perez, C. Navarro-Ranninger, D. Gibson, *J. Med. Chem.*, 45 (2002) 5189-5195.
- [86] S.M. Aris, N.P. Farrell, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 1293–1302.
- [87] Y. Najajreh, E. Khazanov, S. Jawbry, J. Ardeli-Tzaraf, M. J.Perez, J. Kasparikova, V. Brabec, Y. Barenholz, D. Gibson, *J. Med. Chem.*, 2006, 49, 4665–4673.
- [88] C.A. Hills, L.R. Kelland, G. Abel, J. Siracky, A.P. Wilson, K.R. Harrap, *Br. J. Cancer*, 59 (1989) 527-534.
- [89] T.W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.*, 166 (1997) 181-223.
- [90] V. Brabec, J. Kasparikova, O.Vrana, O. Novakova, J.W. Cox, Y. Qu, N. Farrell, *Biochemistry*, 38 (1999) 6784-6790.
- [91] N.J. Wheate, J.G. Collins, *Coord. Chem. Rev.*, 241 (2003) 133-145.
- [92] T. Servidei, C. Ferlini, A. Riccardi, D. Meco, G. Scambia, G. Segni, C. Manzotti, R. Riccardi, *Eur. J. Cancer*, 37 (2001) 930-938.
- [93] J.M. Pérez, M.A. Fuertes, C. Alonso, C. Navarro-Ranninger, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 35 (2000) 109-120.
- [94] L.R. Kelland, C.F.J. Barnard, K.J. Mellish, M. Jones, P.M. Goddard, M. Valenti, A. Bryant, B.A. Murrer, K.R. Harrap, *Cancer Res.*, 54 (1994) 5618-5622.
- [95] P.M. Goddard, R.M. Orr, M.R. Valenti, C.F. Barnard, B.A. Murrer, L.R. Kelland, *Anticancer Res.*, 16 (1996) 33-38.
- [96] C.F. O'Neill, M.G. Ormerod, D. Robertson, J.C. Titley, Y. Cumber-Walsweer, L.R. Kelland, *Br. J. Cancer*, 74 (1996) 1037-1045.
- [97] L.R. Kelland, C.F. Barnard, I.G. Evans, B.A. Murrer, B.R. Theobald, S.B. Wyer, P.M. Goddard, M. Jones, M. Valenti, A. Bryant, P.M. Rogers, K.R. Harrap, *J. Med. Chem.*, 38 (1995) 3016-3024.
- [98] M. Coluccia, G. Natile, *Anticancer Agents Med. Chem.*, 7 (2007) 111-123.
- [99] A.G. Quiroga, *J. Inorg. Biochem.*, 114 (2012) 106-112.
- [100] N. Farrell, *Cancer Invest.*, 11 (1993) 578-589.
- [101] Y. Zou, B. Van Houten, N. Farrell, *Biochem.*, 32 (1993) 9632-9638.
- [102] L.R. Kelland, C.D.J. Barnard, *Drugs Fut.*, 23 (1998) 1062-1065.
- [103] S. Manić, Ž. Tešić, Z. Juranić, S. Radulović, *J. BUON* 6 (2001) 279-284.

- [104] J. Holford, P.J. Beale, F.E. Boxall, S.Y. Sharp, L.R. Kelland, *Eur. J. Cancer*, 36 (2000) 1984-1990.
- [105] K. Harrap, ICR Rep, AnorMED Inc., Langley City, Vancouver, 1992
- [106] J. Kasparikova, V. Marini, Y. Najajreh, D. Gibson, V. Brabec, *Biochem.*, 42 (2003) 6321-6332.
- [107] L.K. Thompson, *Inorg. Chim. Acta*, 38 (1980) 117-119.
- [108] I.M. AL-Najjar, M. Green, J.K.K. Sarhan, *Inorg. Chim. Acta*, 44 (1980) L213-L214.
- [109] G.J. Long, G. Galeazzi, U. Russo, G. Valle, S. Calogero, *Inorg. Chem.*, 22 (1983) 507-510.
- [110] M.F. Cabral, J.O. Cabral, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1987) 2595-2598.
- [111] F.A. Mautner, M.A.S. Goher, N.A. Al-Salem, *Polyhedron* 16 (1997) 2877-2883.
- [112] N.A. Nawar, A-H.M. Shallaby, N.M. Hosny, M.M. Mostafa, *Transition Met. Chem.*, 26 (2001) 180-185.
- [113] C. Tessier, F.D. Rochon, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, C62 (2006) m620-m622.
- [114] C. Tessier, F.D. Rochon, *Inorg. Chim. Acta*, 322 (2001) 37-46.
- [115] T. Tian, I. Mutikainen, G.P. van Wezel, N. Aliaga-Alcalde, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.*, 103 (2009) 1221-1227.
- [116] G.M. Rakić, S. Grgurić-Šipka, G.N. Kaluđerović, S. Gómez-Ruiz, S.M. Bjelogrić, S.S. Radulović, Ž.Lj. Tešić, *Eur. J. Med. Chem.*, 44 (2009) 1921-1925.
- [117] C. Dette, H. Waertzig, H. Uhl, *Pharmazie* 48 (1993) 276-280.
- [118] H. Taguchi, M. Maeda, H. Nishitani, K. Okumura, Y. Shimabayashi, K. Iwai, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 56 (1992) 1921-1923
- [119] K. Tochikubo, Y. Hachisuka, T. Murachi, *Jpn. J. Microbiol.*, 12 (1968) 435-440.
- [120] Y. Hachisuka, K. Tochikubo, Y. Yokoi, T. Murachi, *J. Biol. Chem.*, 61 (1967) 659-661.
- [121] D.L. Griggs, P. Heden, K.E. Temple Smith, W. Rademacher, *Phytochemistry* 30 (1991) 2513-2517.
- [122] B.L. Martin, *Arch. Biochem. Biophys.* 345 (1997) 332-338.

- [123] P. Laine, A. Gourdon, J.P. Launay, *Inorg. Chem.* 34 (1995) 5129-5137.
- [124] A.G. Mauk, C.L. Coyle, E. Bordignon, H.B. Gray, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 5054-5056.
- [125] A.M. Baruah, A. Karmakar, J.B. Baruah, *Polyhedron* 26 (2007) 4518-4524.
- [126] P. Sengupta, S. Ghosh, T.C.W. Mak, *Polyhedron*, 20 (2001) 975-980.
- [127] E-J. Gao, M-Ch. Zhu, Y. Huang, L. Liu, H-Y. Liu, F-Ch. Liu, S. Ma, Ch-Y. Shi, *Eur. J. Med. Chem.*, 45 (2010) 1034-1041.
- [128] E.E. Sileo, A.S. de Araujo, G. Rigotti, O.E. Piro, E.E. Castellano, *J. Mol. Struct.*, 644 (2003) 67-76.
- [129] G.B. Kauffman, L.A. Teter, *Inorg. Synth.*, 7 (1963) 232-236.
- [130] G.B. Kauffman, L.A. Teter, *Inorg. Synth.*, 7 (1963) 240-241.
- [131] R.N. Keller, T. Moeller, J.V. Quagliano, *Inorg. Synth.*, 2 (1963) 247-250.
- [132] SCALE3 ABSPACK: Empirical absorption correction, CrysAlis-Software package, Oxford Diffraction Ltd., 2006.
- [133] G.M. Sheldrick, SHELXS-97, Program for Crystal Structure Solution, Göttingen, 1997.
- [134] G.M. Sheldrick, SHELXL-97, Program for the Refinement of Crystal Structures, Göttingen, 1997.
- [135] X-RED32 (version 1.07): Stoe Data Reduction Program; Stoe & Cie GmbH: Darmstadt, 2002.
- [136] (a) MULscanABS, PLATON for Windows Taskbar vol.15, University of Glasgow, 2008, (b) A.L. Spek, *J. Appl. Cryst.*, 36 (2003) 7.
- [137] G.M. Sheldrick, SHELXS-97, Program for Crystal Structure Solution, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1998.
- [138] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery Jr., T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski,

- S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. AlLaham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople, GAUSSIAN 03, Revision C.02, Gaussian, Pople, J.A. Inc., Wallingford CT, 2004.
- [139] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648–5652;
- [140] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Phys. Rev. B* 37 (1988) 785–789;
- [141] S.H. Vosko, L. Wilk, M. Nusair, *Can. J. Phys.* 58 (1980) 1200–1211;
- [142] P.J. Stephens, F.J. Devlin, C.F. Chabalowski, M.J. Frisch, *J. Phys. Chem.* 98 (1994) 11623–11627.
- [143] C. Adamo, V. Barone, *Chem. Phys. Lett.*, 274 (1997) 242-250.
- [144] T.H. Dunning Jr., P.J. Hay, *Modern Theoretical Chemistry*, third ed., vol. 3, Plenum, New York, 1976, 1-28.
- [145] D. Andrae, U. Häußermann, M. Dolg, H. Stoll, H. Preuß, *Theor. Chim. Acc.*, 77 (1990) 123-141.
- [146] M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, V. Barone, *J. Chem. Phys.*, 117 (2002) 43–54.
- [147] P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J.T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, M.R. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* 82 (1990) 1107-1112.
- [148] R. Supino, in: S.O'Hare, C.K. Atterwill (Eds.), *Methods in Molecular Biology, In Vitro Toxicity Testing Protocols*, Humana Press, New Jersey, 1995, pp. 137-149.
- [149] T. Mosmann, *J. Immunol. Methods*, 65 (1983) 55-63.
- [150] D.X. West, T.J. Parsons, R.K. Bunting, *Inorg. Chim. Acta*, 84 (1984) 7–12.
- [151] M.J. Macazaga, J. Rodríguez, A.G. Quiroga, S. Peregina, A. Carnero, C. Navarro-Ranninger, R.M. Medina, *Eur. J. Inorg. Chem.*, (2008) 4762-4769.
- [152] H.O. Davies, D.A. Brown, A.I. Yanovsky, K.B. Nolan, *Inorg. Chim. Acta* 237 (1995) 71-77.
- [153] S. Shamsuddin, C.C. Santillan, J.L. Stark, K.H. Whitmire, Z.H. Siddik, A.R. Khokhar, *J. Inorg. Biochem.* 71 (1998) 29-35.

- [154] L. Cubo, T.W. Hambley, P.J. Sanz Miguel, A. Carnero, C. Navarro-Ranninger, A.G. Quiroga, Dalton Trans., 40 (2011) 344-347.
- [155] J.J. Wilson, S.J. Lippard, Inorg. Chem., 50 (2011) 3103-3115.
- [156] F.I. Raynaud, D.E. Odell, L.R. Kelland, Br. J. Cancer, 74 (1996) 380-386.
- [157] Y. Shi, S.A. Liu, D.J. Kerwood, J. Goodisman, J.C. Dabrowiak, J. Inorg. Biochem., 107 (2012) 6-14.

**7. PRILOG**



## 7. Prilog

**Slika P1.** IC spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (KBr)

**Slika P2.** IC spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (ATR)

**Slika P3.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (200 MHz)

**Slika P4.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (500 MHz)

**Slika P5.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (50 MHz)

**Slika P6.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (126 MHz)

**Slika P7.** IC spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (KBr)

**Slika P8.** IC spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (ATR)

**Slika P9.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (200 MHz)

**Slika P10.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (500 MHz)

**Slika P11.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (50 MHz)

**Slika P12.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (126 MHz)

**Slika P13.** IC spektar liganda 2,3-pydc

**Slika P14.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,3-pydc (500 MHz)

**Slika P15.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,3-pydc (126 MHz)

**Slika P16.** IC spektar liganda 2,4-pydc

**Slika P17.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u DMSO (500 MHz)

**Slika P18.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (200 MHz)

**Slika P19.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u DMSO (126 MHz)

**Slika P20.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (50 MHz)

**Slika P21.** IC spektar liganda 2,5-pydc

**Slika P22.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,5-pydc sniman u DMSO (200 MHz)

**Slika P23.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,5-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (200 MHz)

**Slika P24.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,5-pydc sniman u DMSO (50 MHz)

**Slika P25.** IC spektar liganda 2,6-pydc

**Slika P26.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,6-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (200 MHz)

**Slika P27.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,6-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (50 MHz)

**Slika P28.** IC spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_2]$

**Slika P29.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_2]$  (200 MHz)

**Slika P30.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_2]$  (50 MHz)

**Slika P31.** IC spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{4-apy})_2\text{Cl}_2]$

**Slika P32.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{4-apy})_2\text{Cl}_2]$  (200 MHz)

**Slika P33.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{4-apy})_2\text{Cl}_2]$  (50 MHz)

**Slika P34.** IC spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_4]$

**Slika P35.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_4]$  (500 MHz)

**Slika P36.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_4]$  (126 MHz)

**Slika P37.** IC spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{4-apy})_2\text{Cl}_4]$

**Slika P38.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{4-apy})_2\text{Cl}_4]$  (500 MHz)

**Slika P39.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{4-apy})_2\text{Cl}_4]$  (126 MHz)

**Slika P40.** IC spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{2,3-pydc})_2\text{Cl}_2]$

**Slika P41.**  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{2,3-pydc})_2\text{Cl}_2]$  (500 MHz)

**Slika P42.**  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa *trans*- $[\text{Pt}(\text{2,3-pydc})_2\text{Cl}_2]$  (126 MHz)

**Slika P43.** IC spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,4-pydc)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]

**Slika P44.** <sup>1</sup>H-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,4-pydc)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (500 MHz)

**Slika P45.** <sup>13</sup>C-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,4-pydc)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (126 MHz)

**Slika P46.** IC spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,5-pydc)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]

**Slika P47.** <sup>1</sup>H-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,5-pydc)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (500 MHz)

**Slika P48.** <sup>13</sup>C-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,5-pydc)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (50 MHz)

**Slika P49.** IC spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,3-pydc)<sub>2</sub>]

**Slika P50.** <sup>1</sup>H-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,3-pydc)<sub>2</sub>] sniman u DMSO (200 MHz)

**Slika P51.** <sup>13</sup>C-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,3-pydc)<sub>2</sub>] sniman u DMSO (50 MHz)

**Slika P52.** IC spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,4-pydc)<sub>2</sub>]

**Slika P53.** <sup>1</sup>H-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,4-pydc)<sub>2</sub>] sniman u D<sub>2</sub>O (200 MHz)

**Slika P54.** <sup>13</sup>C-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,4-pydc)<sub>2</sub>] sniman u D<sub>2</sub>O (50 MHz)

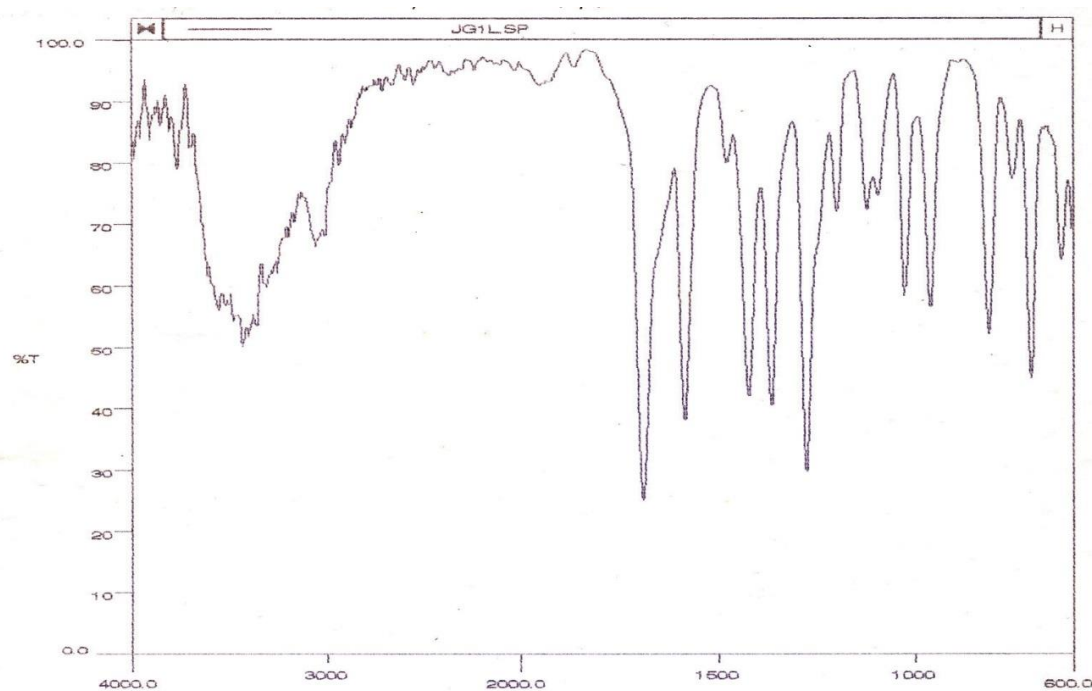
**Slika P55.** IC spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,5-pydc)<sub>2</sub>]

**Slika P56.** <sup>1</sup>H-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,5-pydc)<sub>2</sub>] sniman u D<sub>2</sub>O (200 MHz)

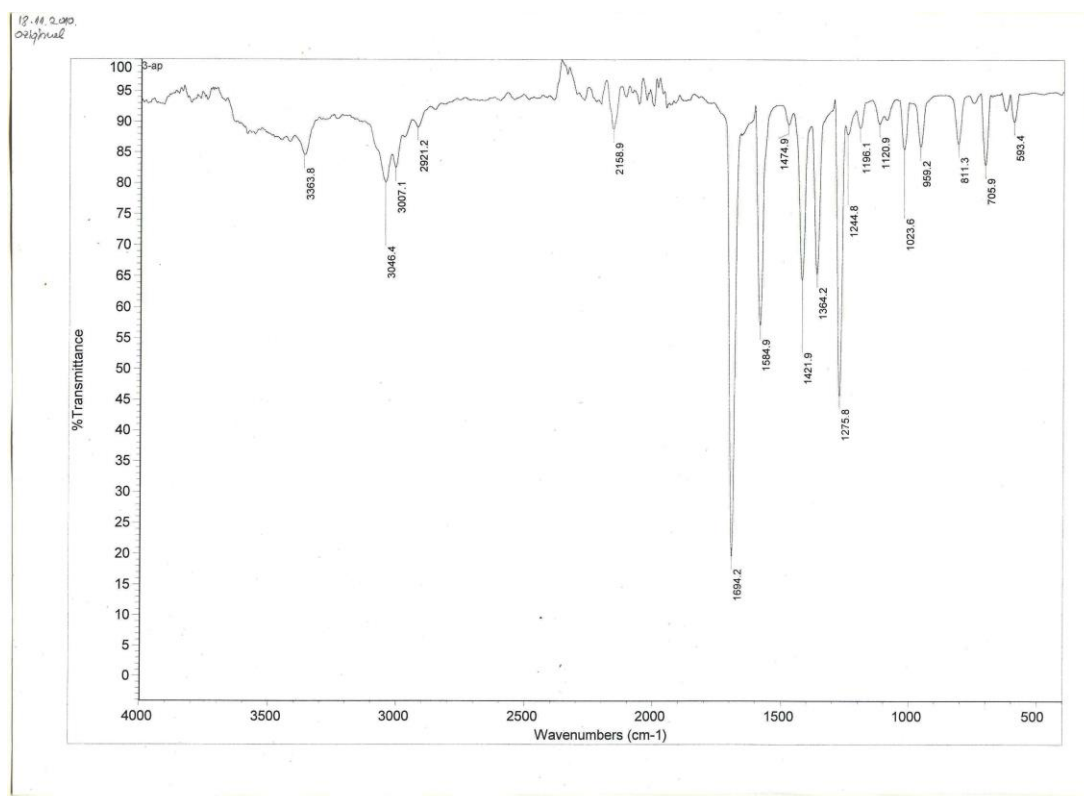
**Slika P57.** IC spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,6-pydc)<sub>2</sub>]

**Slika P58.** <sup>1</sup>H-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,6-pydc)<sub>2</sub>] sniman u D<sub>2</sub>O (200 MHz)

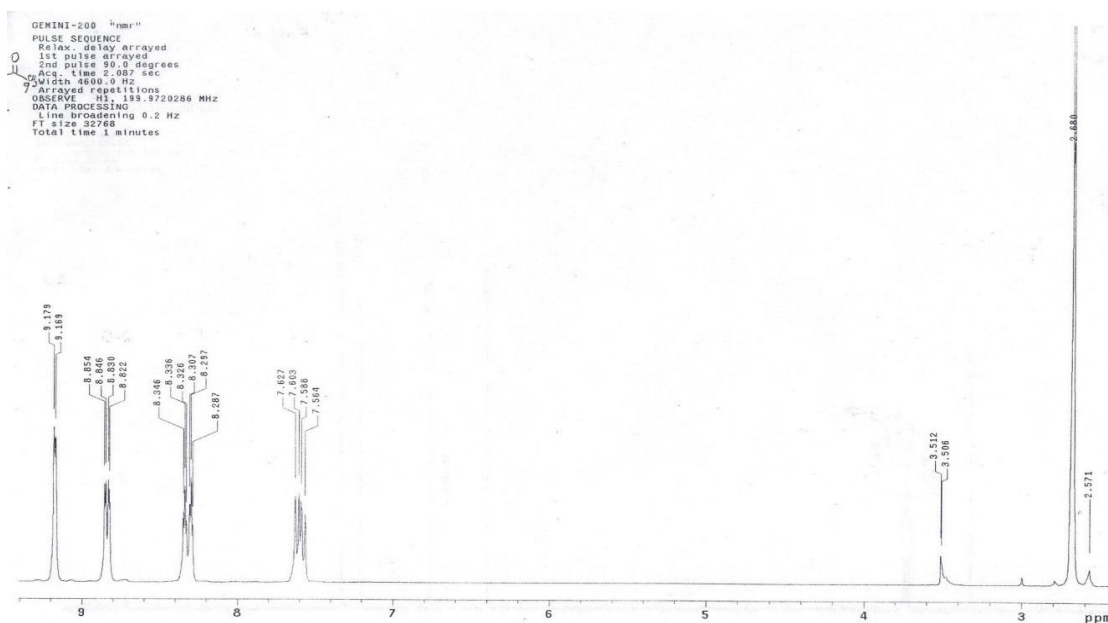
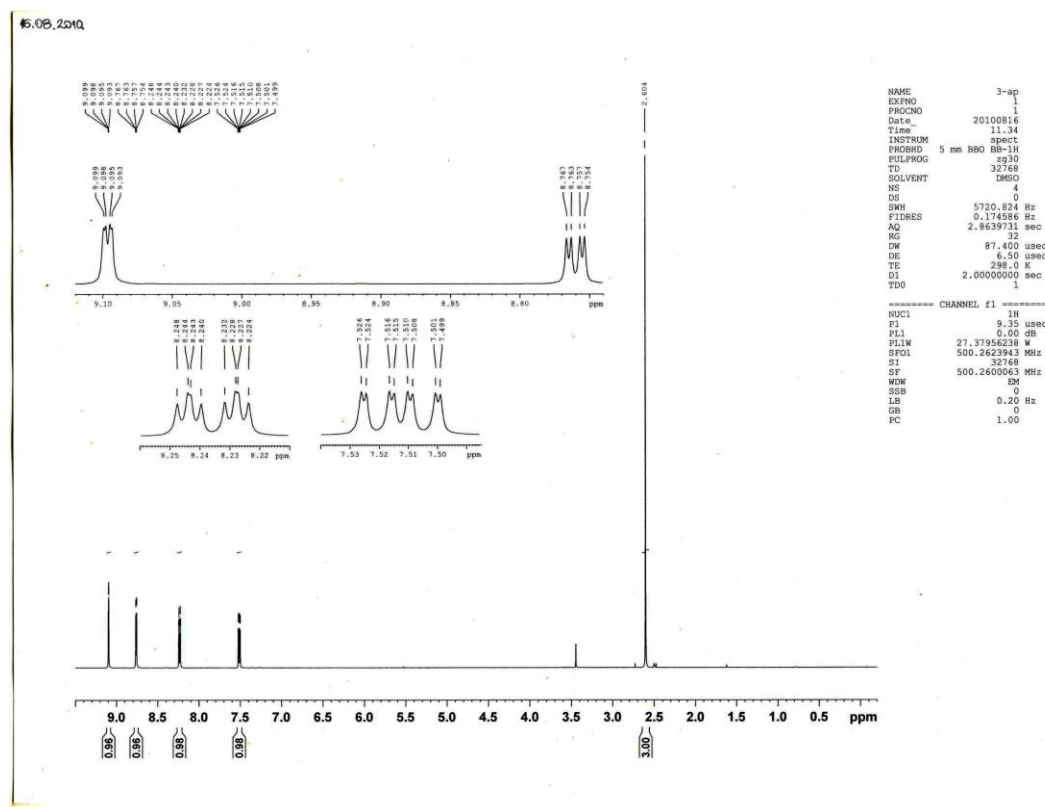
**Slika P59.** <sup>13</sup>C-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,6-pydc)<sub>2</sub>] sniman u D<sub>2</sub>O (50 MHz)

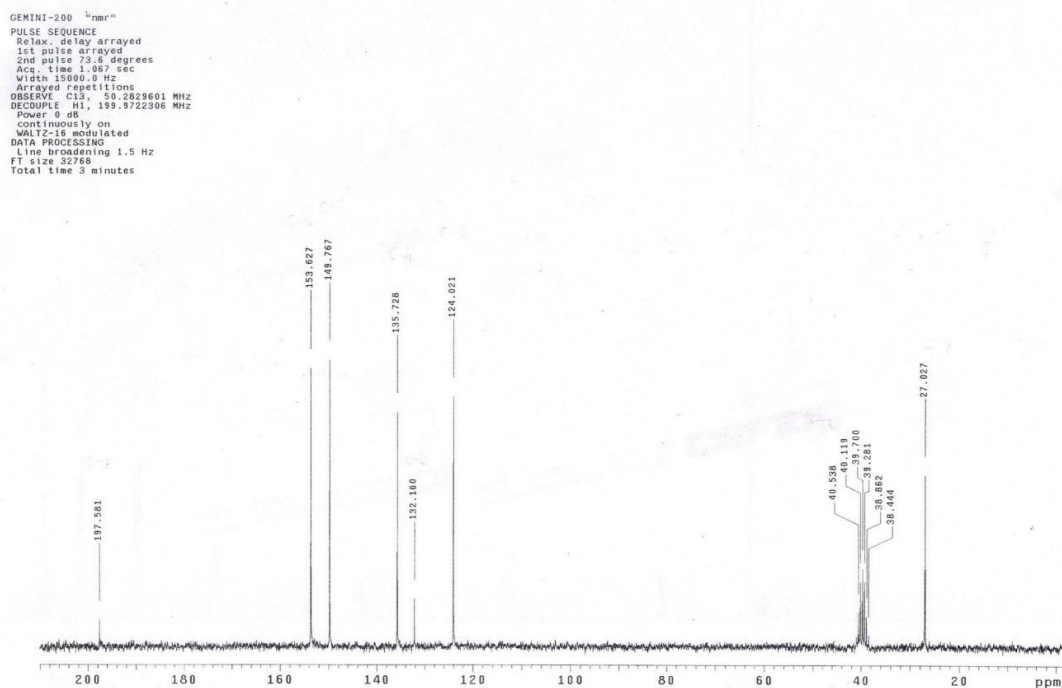


**Slika P1.** IC spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (KBr)

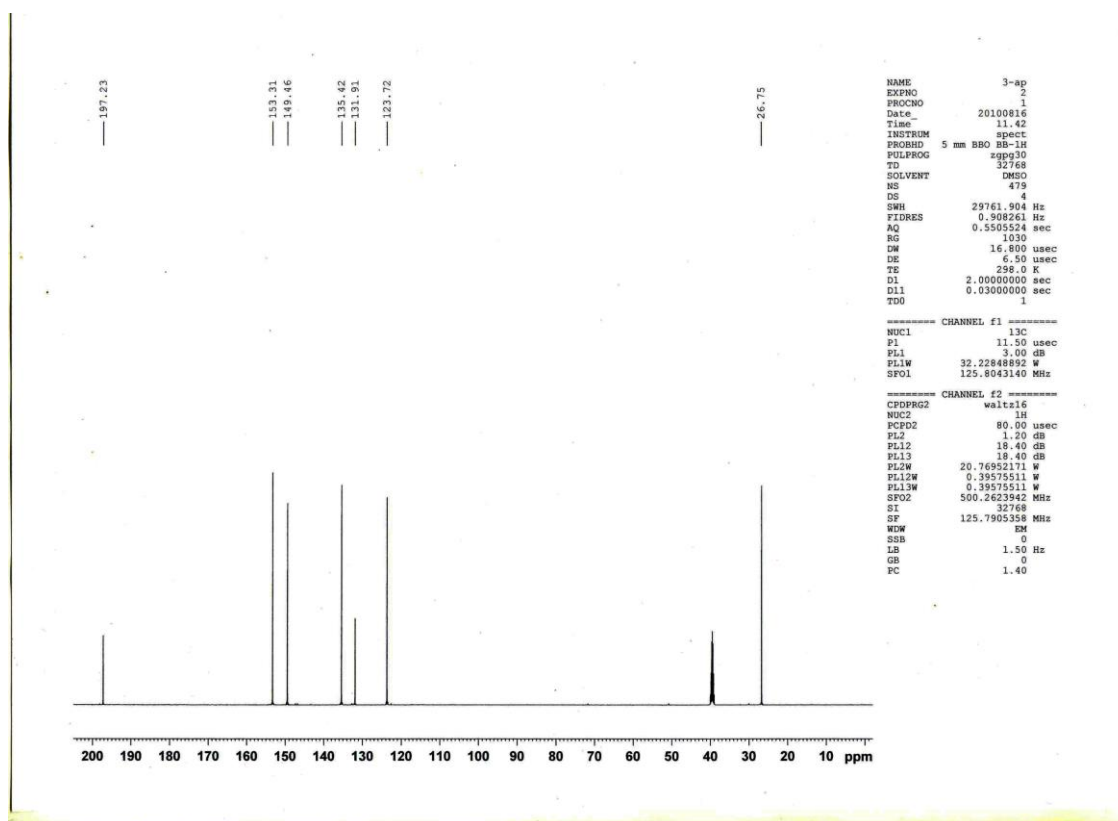


**Slika P2.** IC spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (ATR)

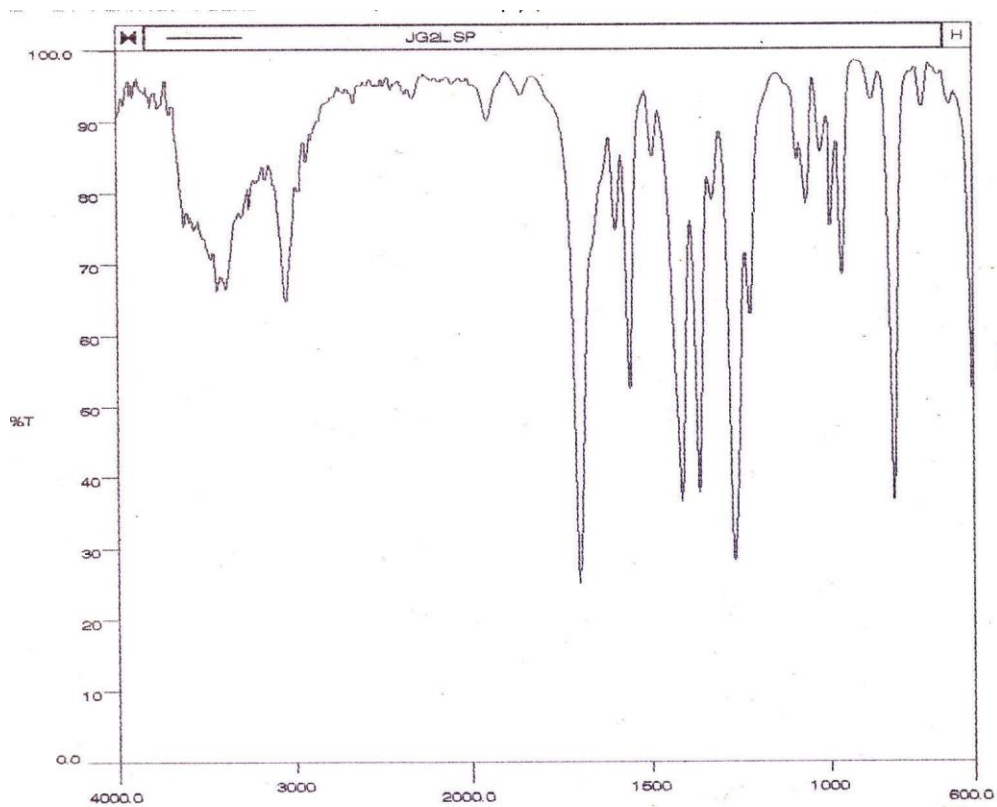
Slika P3. <sup>1</sup>H-NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (200 MHz)Slika P4. <sup>1</sup>H-NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-acpy) (500 MHz)



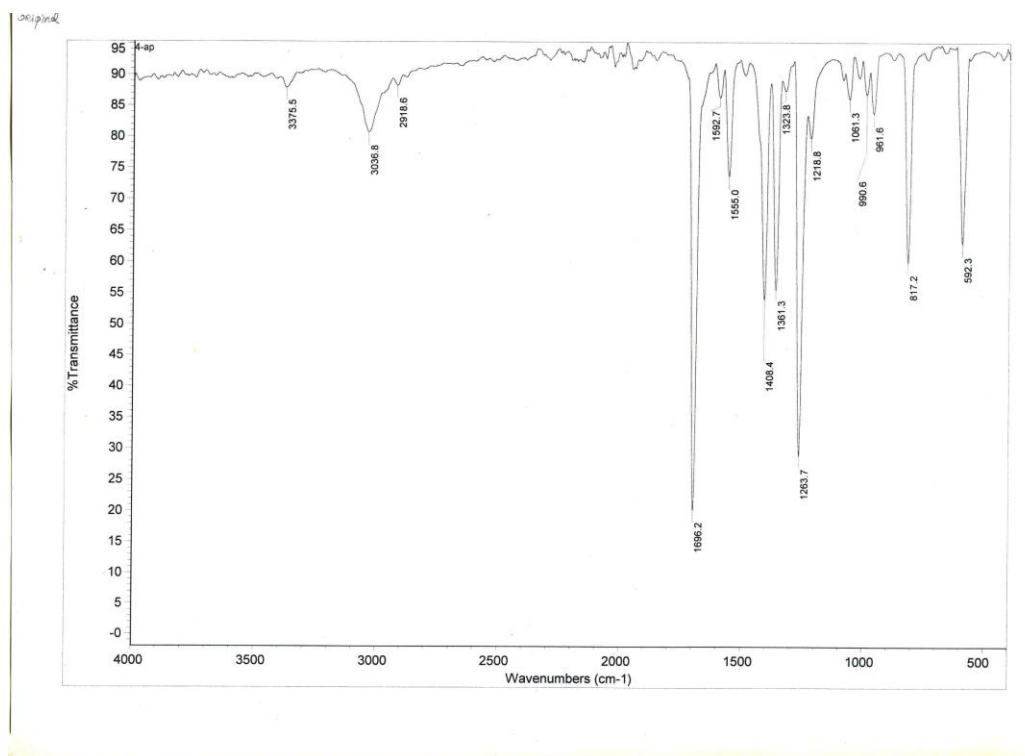
Slika P5. <sup>13</sup>C-NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-apy) (50 MHz)



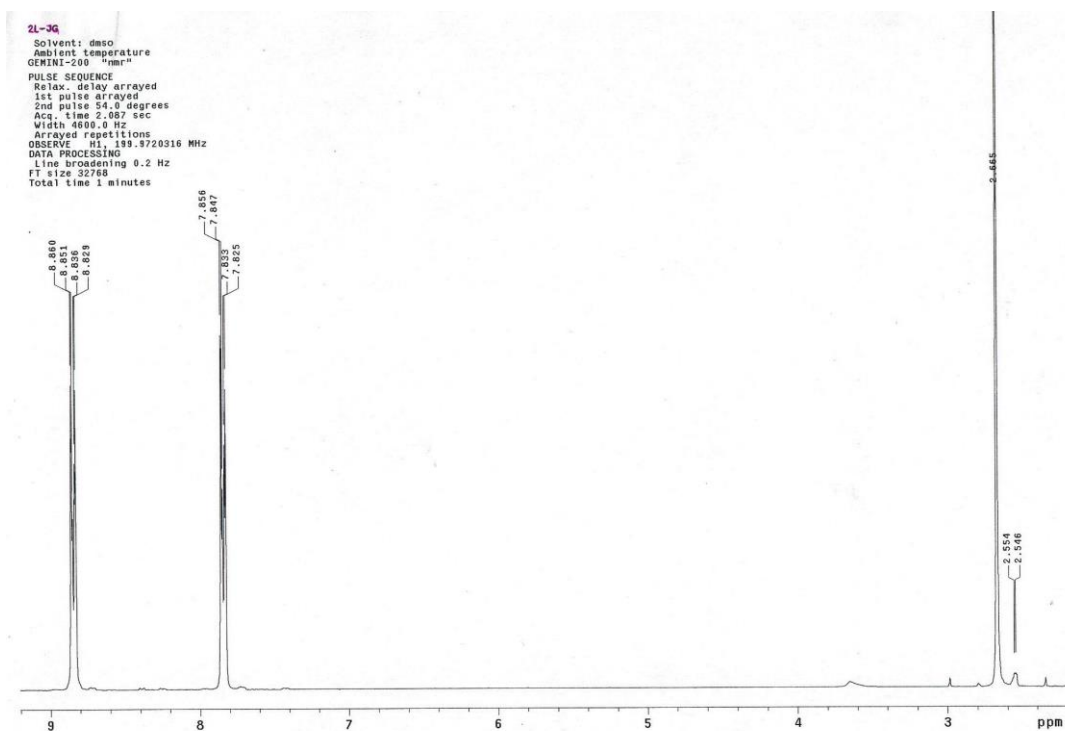
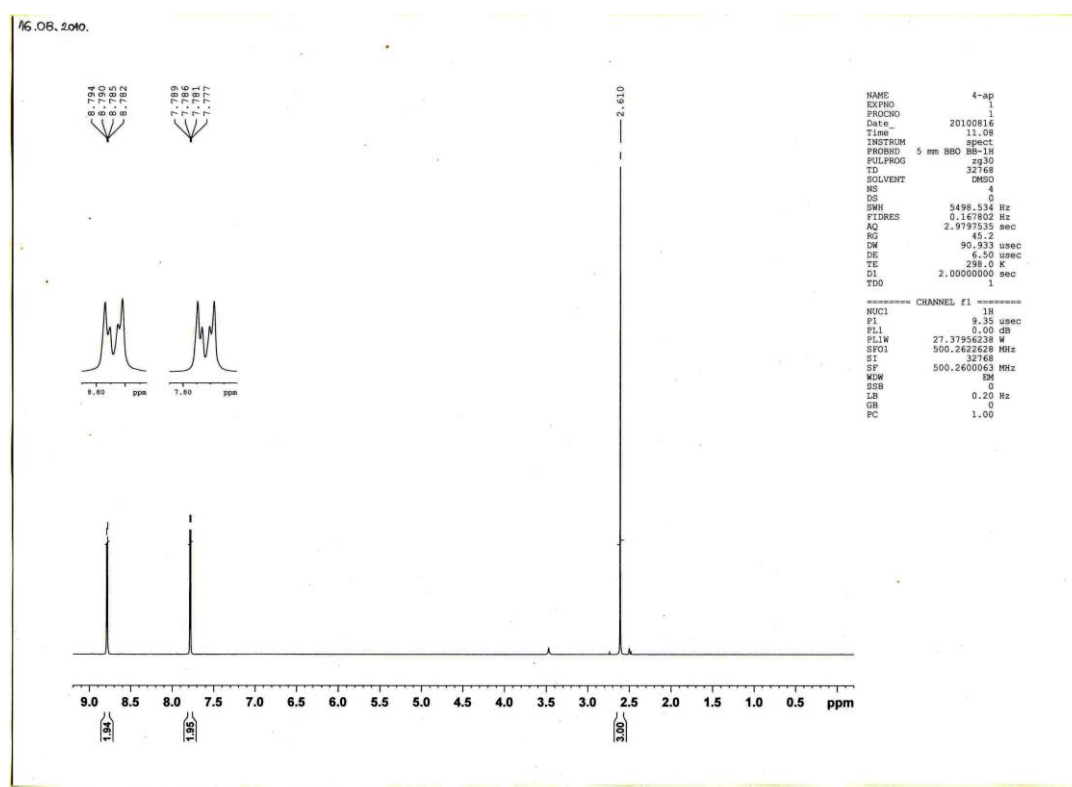
Slika P6. <sup>13</sup>C-NMR spektar liganda 3-acetilpiridina (3-apy) (126 MHz)



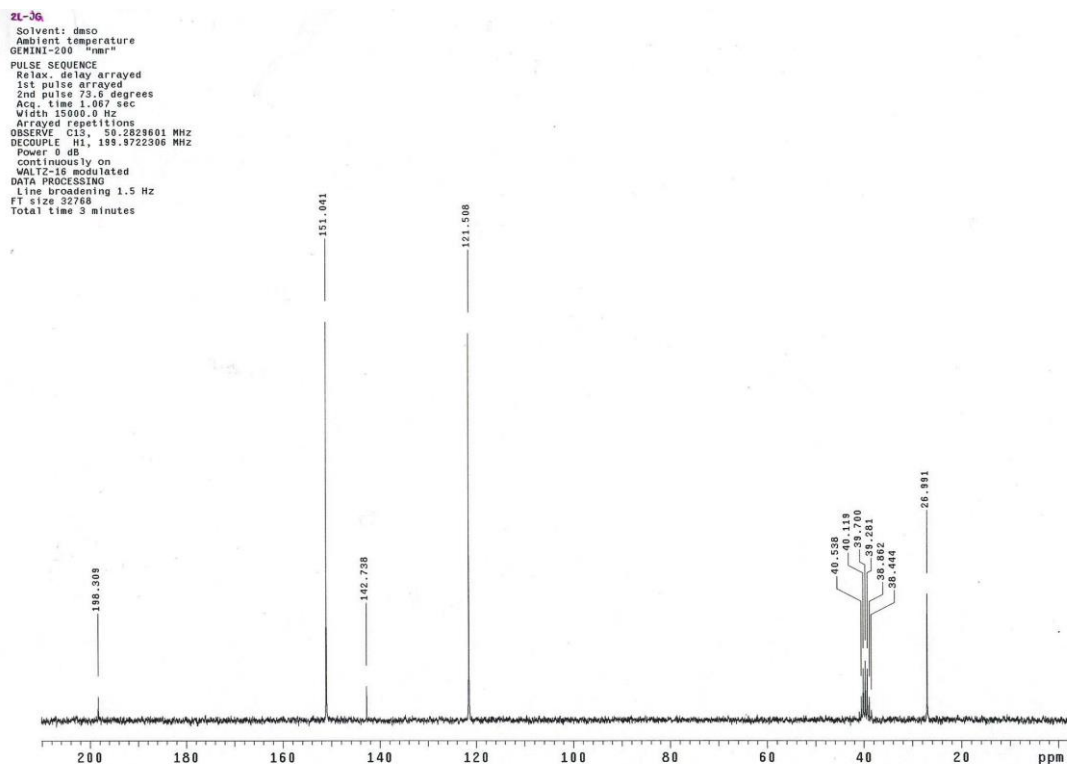
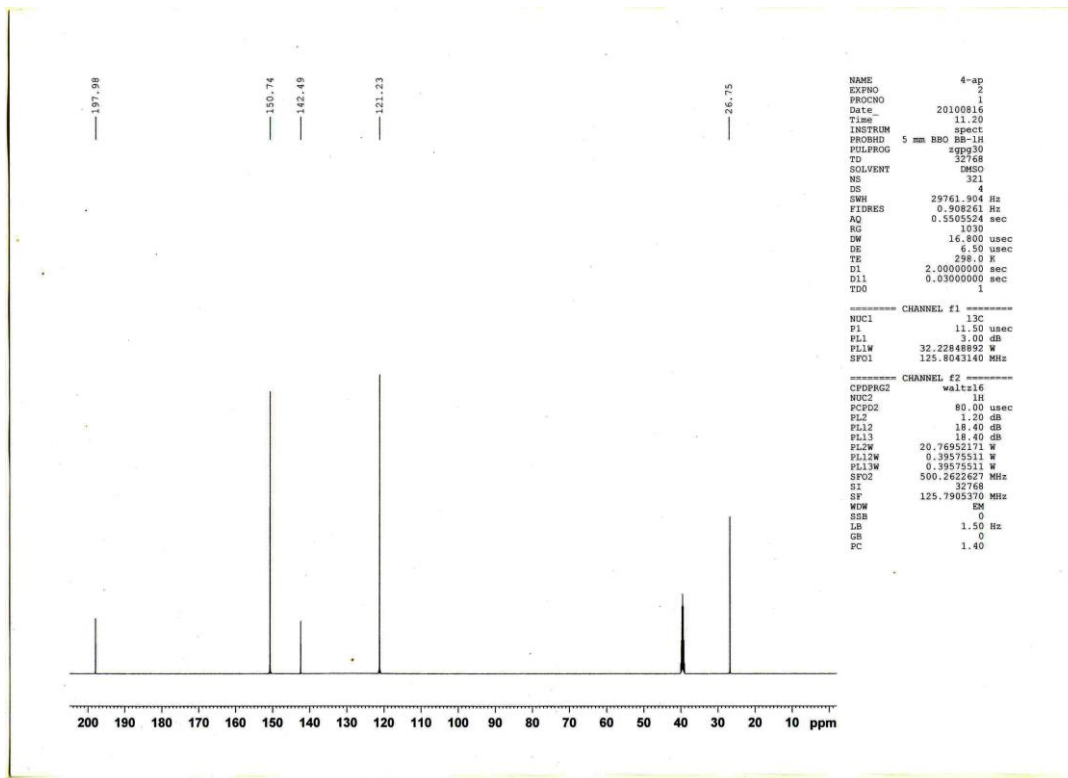
Slika P7. IC spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (KBr)

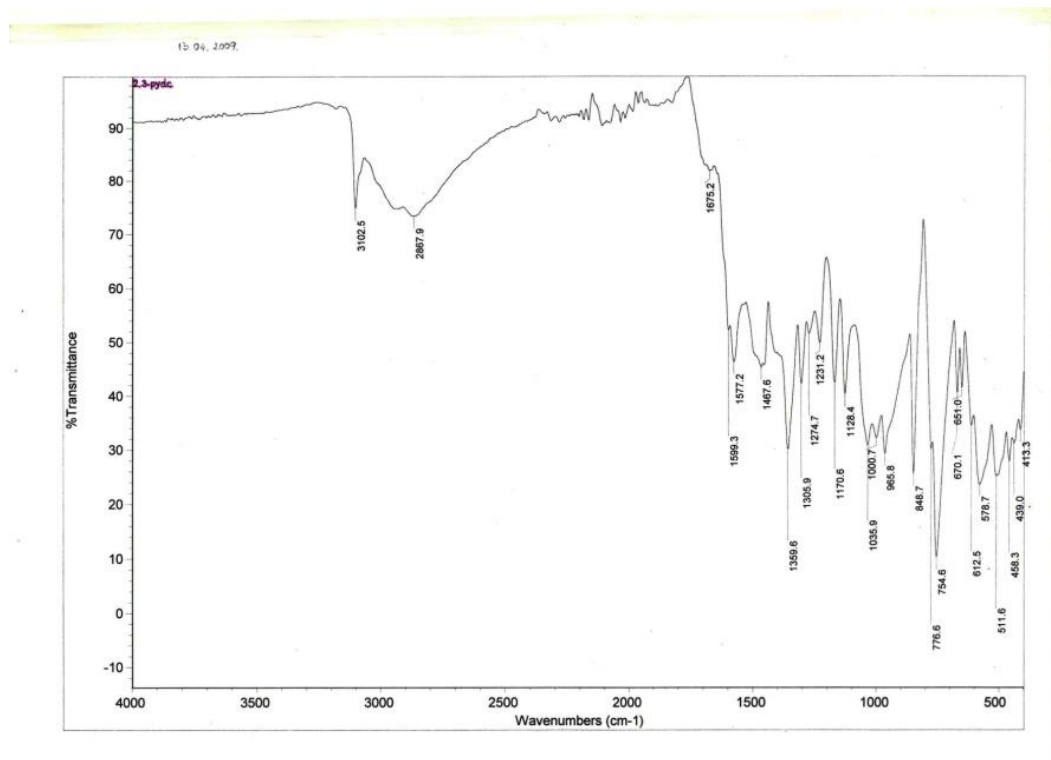


Slika P8. IC spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (ATR)

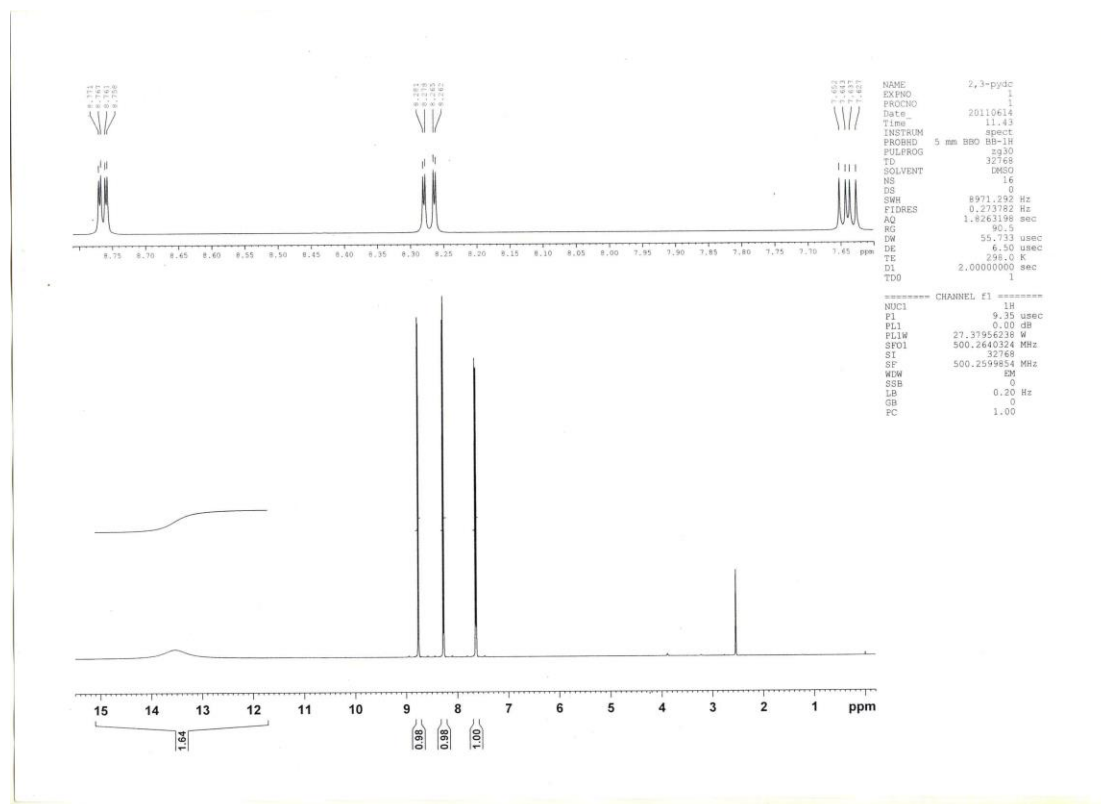
Slika P9.  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (200 MHz)Slika P10.  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (500 MHz)

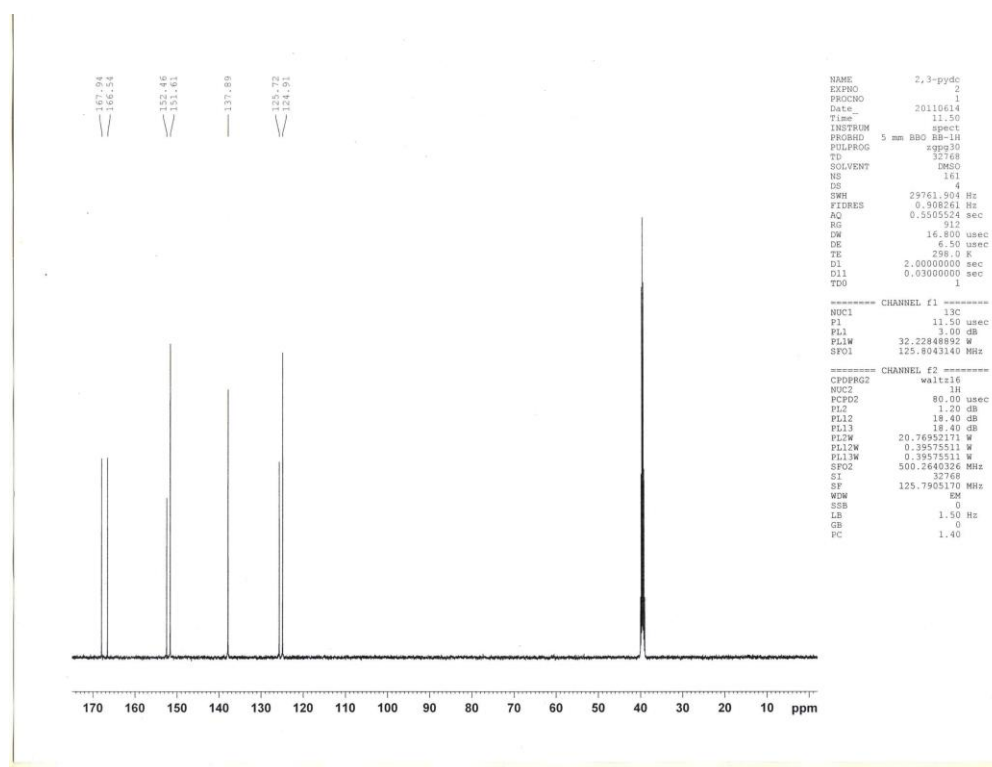
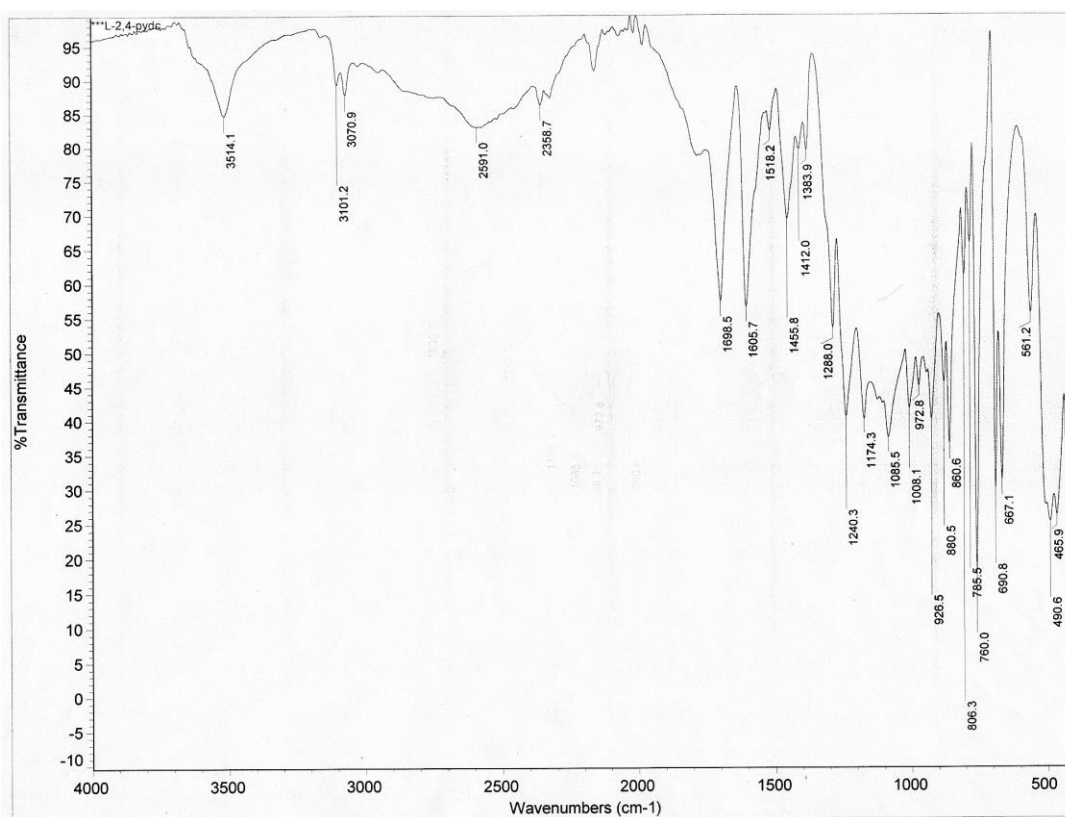


Slika P11.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (50 MHz)Slika P12.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 4-acetilpiridina (4-acpy) (126 MHz)

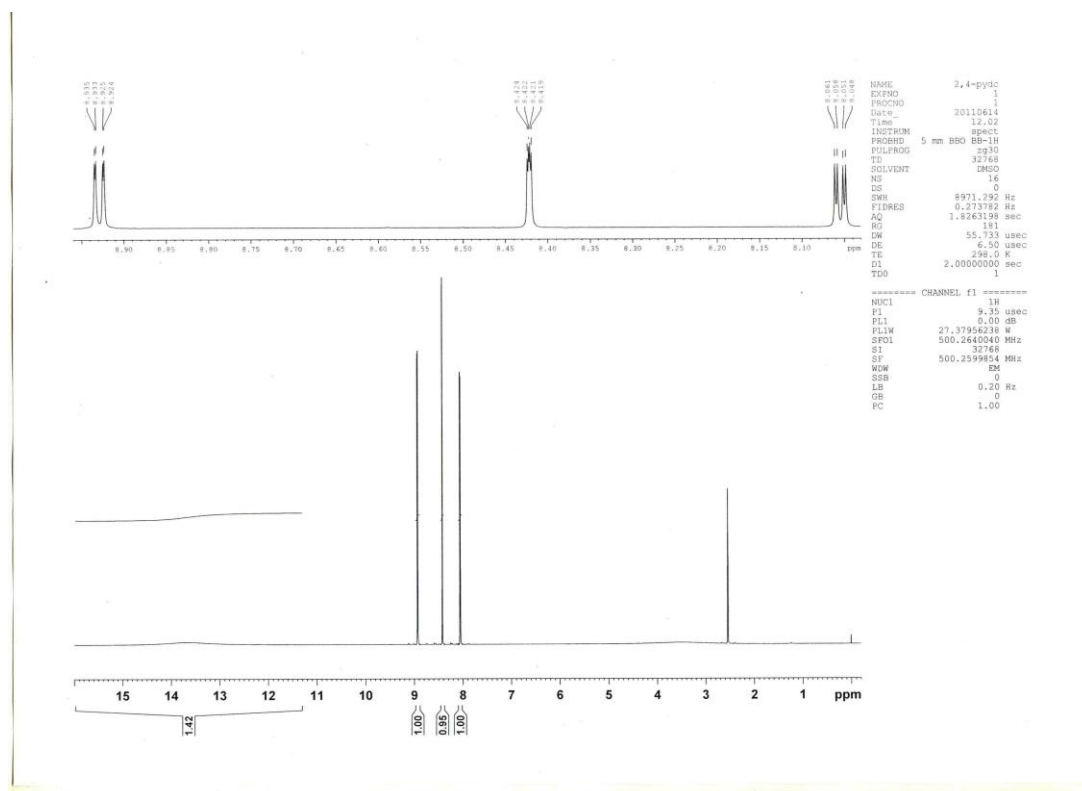


Slika P13. IC spektar liganda 2,3-pydc

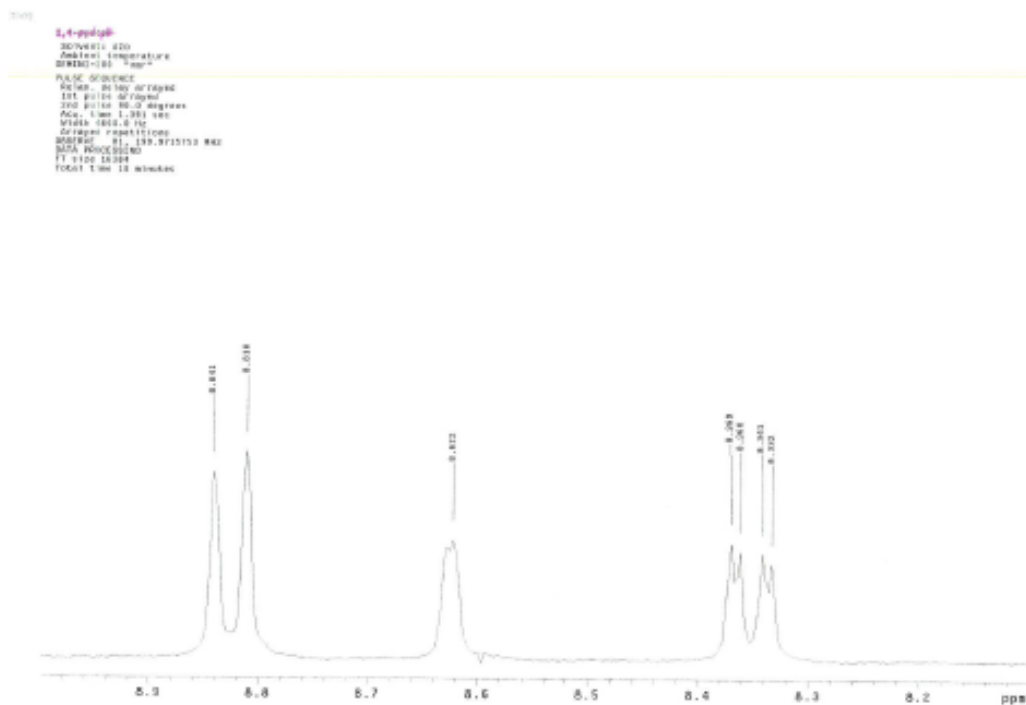
Slika P14.  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,3-pydc (500 MHz)

Slika P15.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,3-pydc (126 MHz)

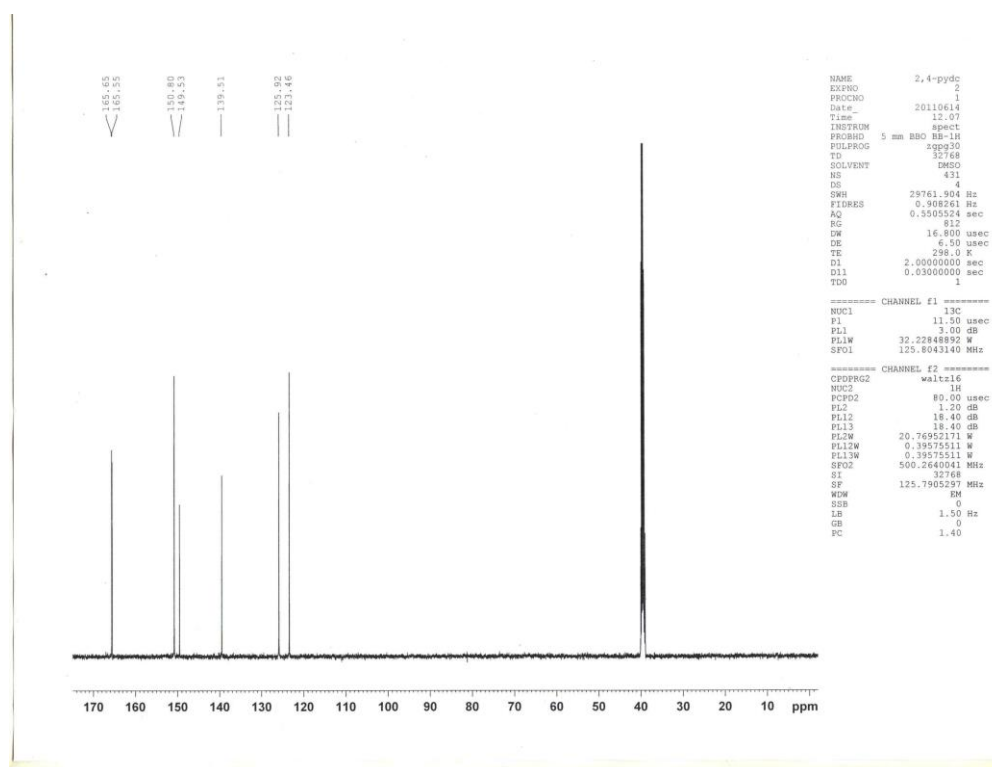
Slika P16. IC spektar liganda 2,4-pydc



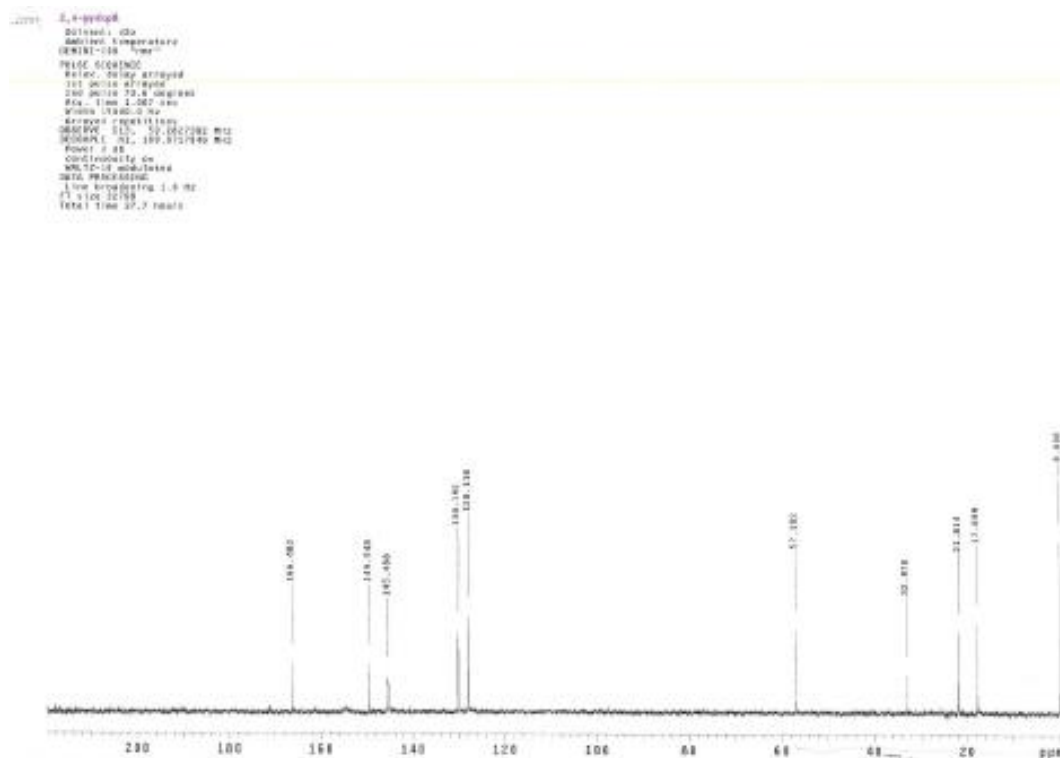
Slika P17.  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u DMSO (500 MHz)



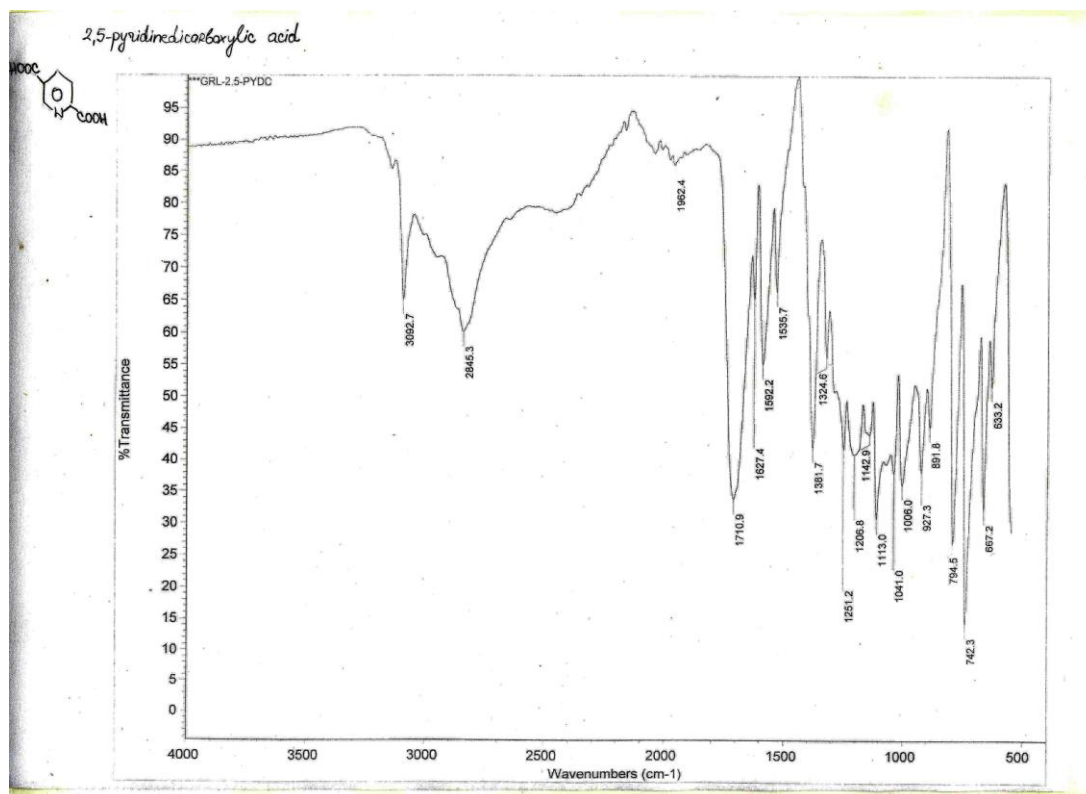
Slika P18.  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (200 MHz)



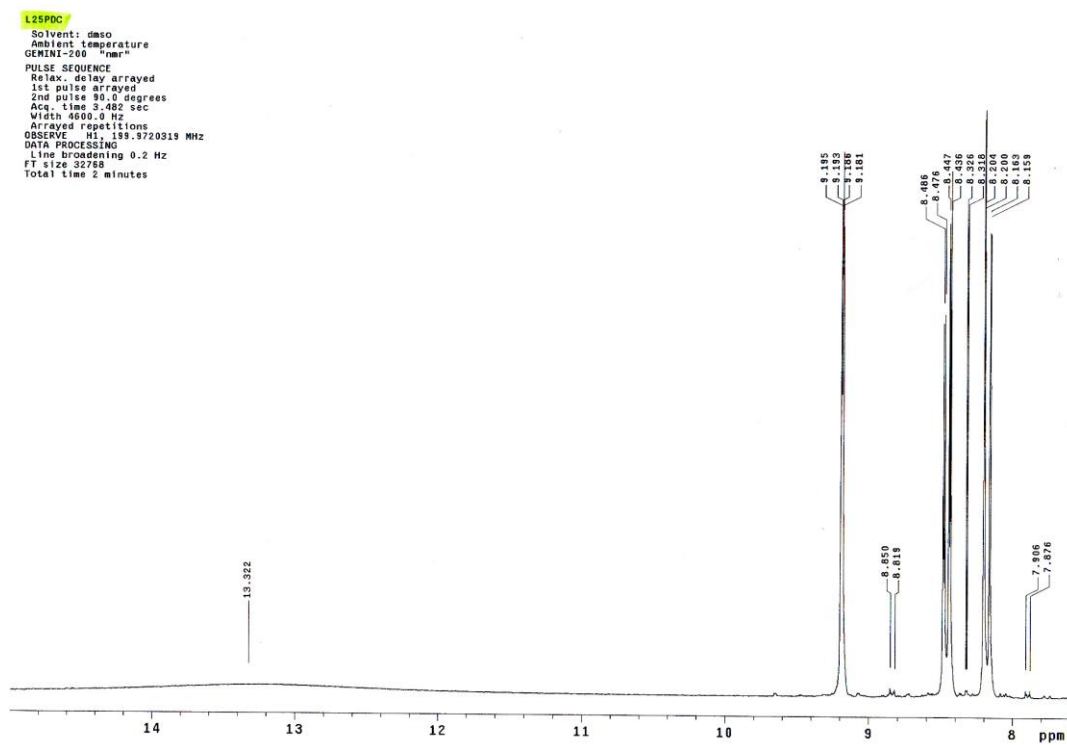
Slika P19.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u DMSO (126 MHz)

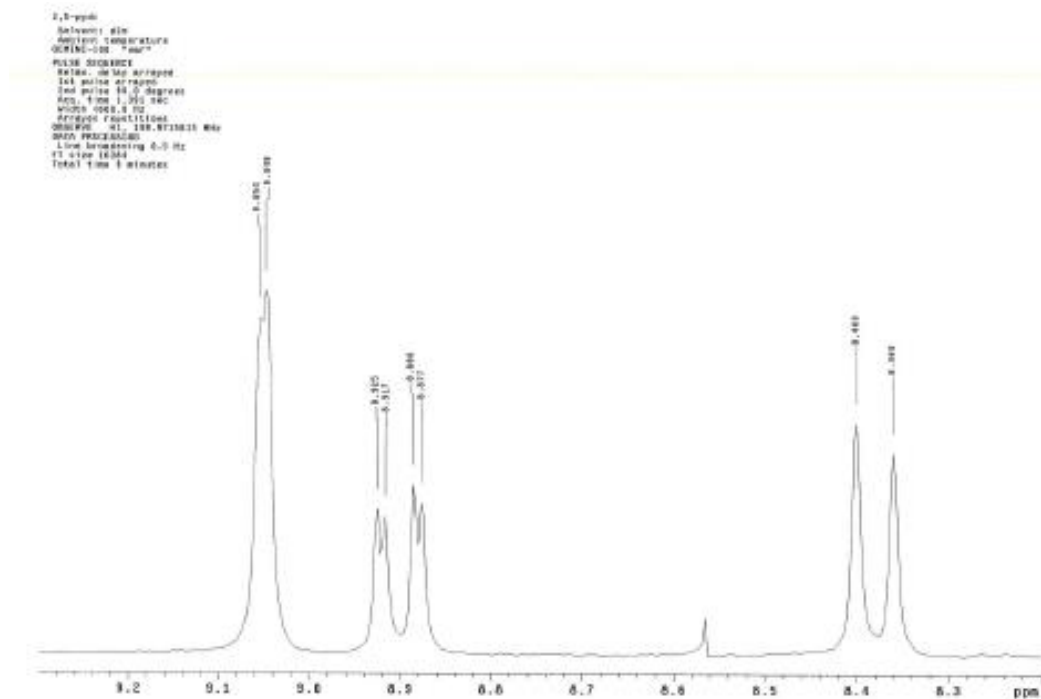


Slika P20.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,4-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (50 MHz)

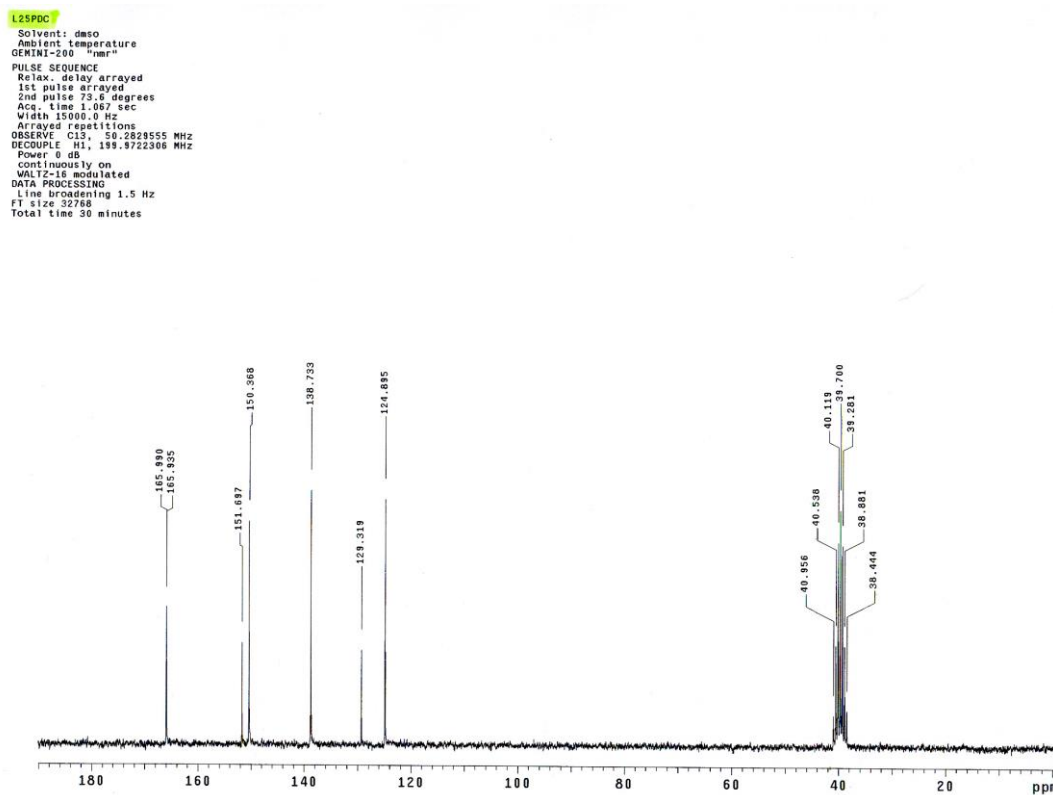


Slika P21. IC spektar liganda 2,5-pydc

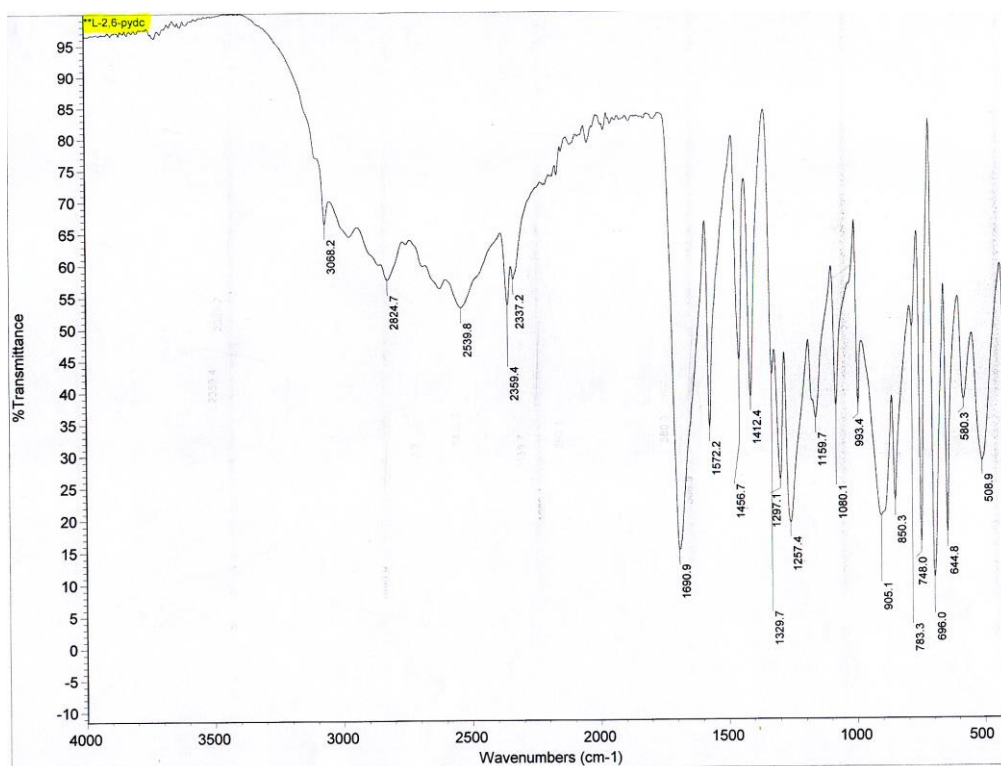
Slika P22. <sup>1</sup>H-NMR spektar liganda 2,5-pydc sniman u DMSO (200 MHz)



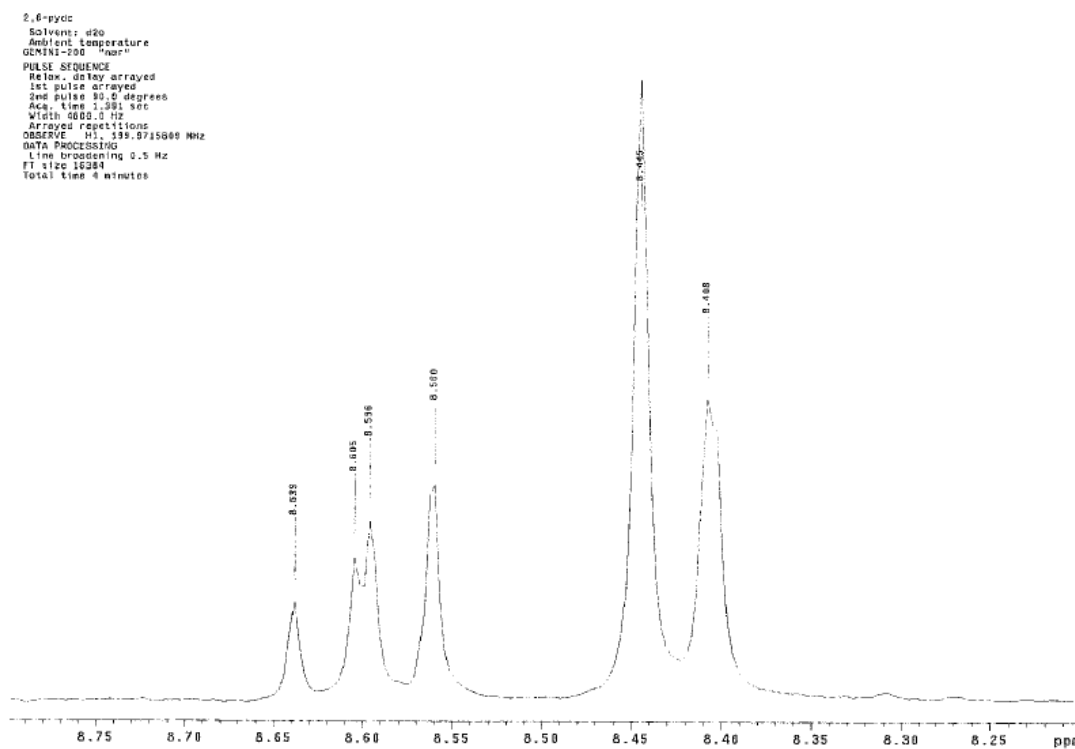
Slika P23.  $^1\text{H}$ -NMR spektar liganda 2,5-pydc sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (200 MHz)



Slika P24.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar liganda 2,5-pydc sniman u DMSO (50 MHz)

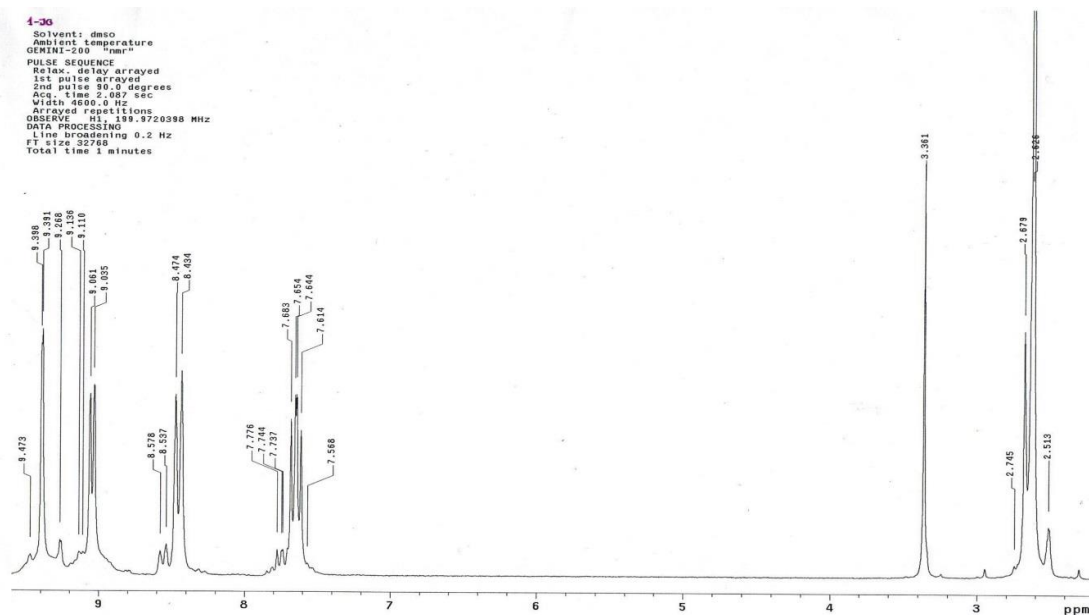


Slika P25. IC spektar liganda 2,6-pydc

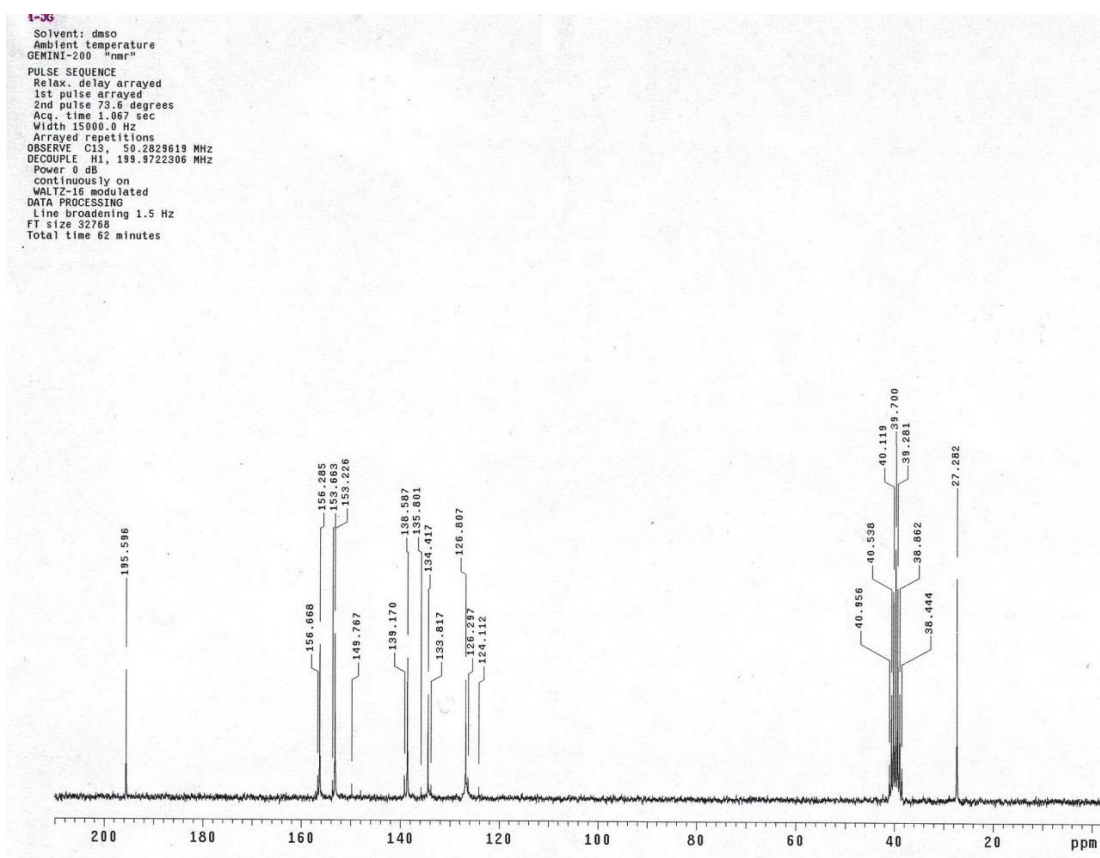
Slika P26. <sup>1</sup>H-NMR spektar liganda 2,6-pydc sniman u D<sub>2</sub>O (200 MHz)



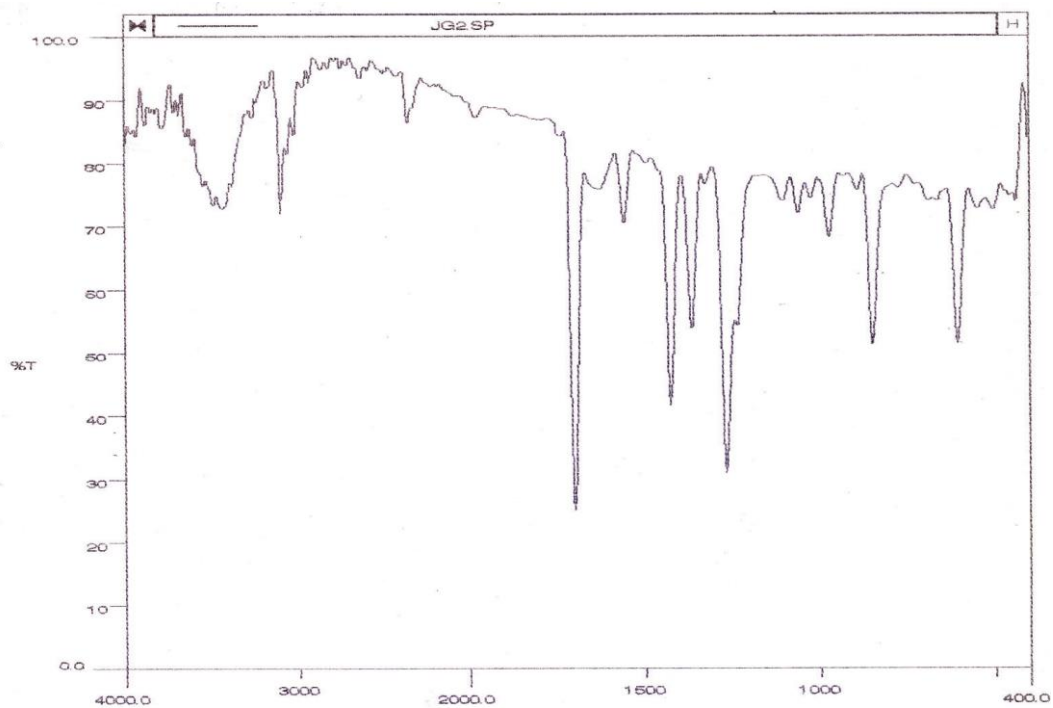
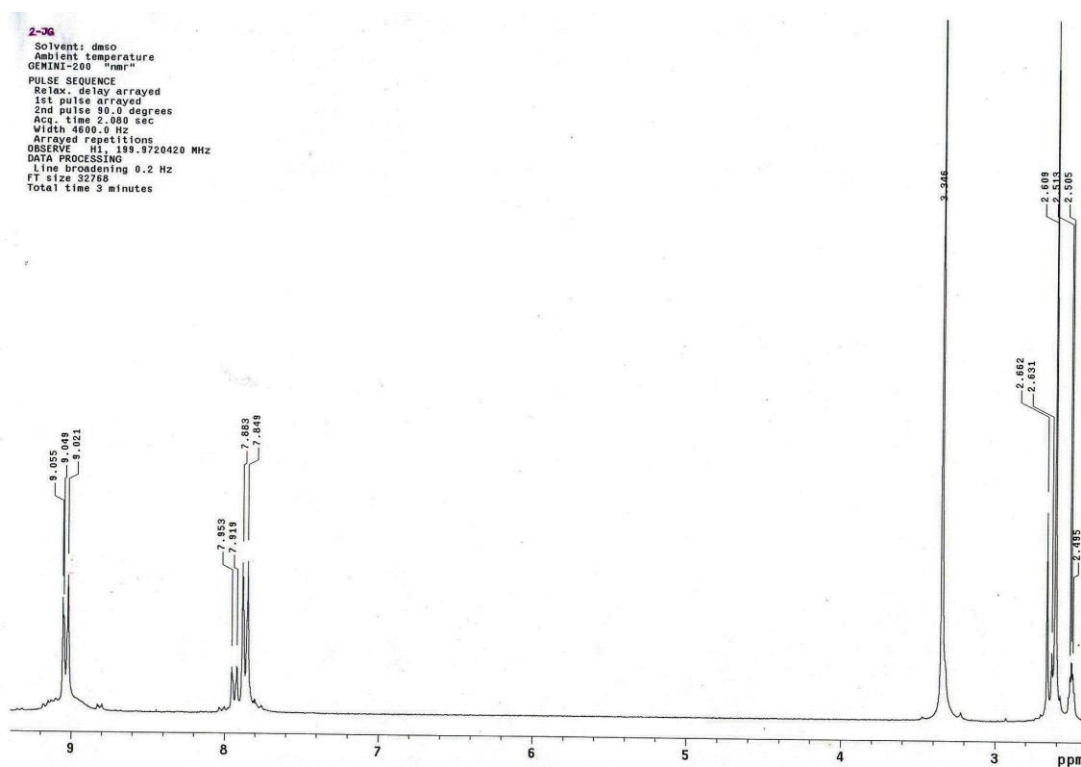


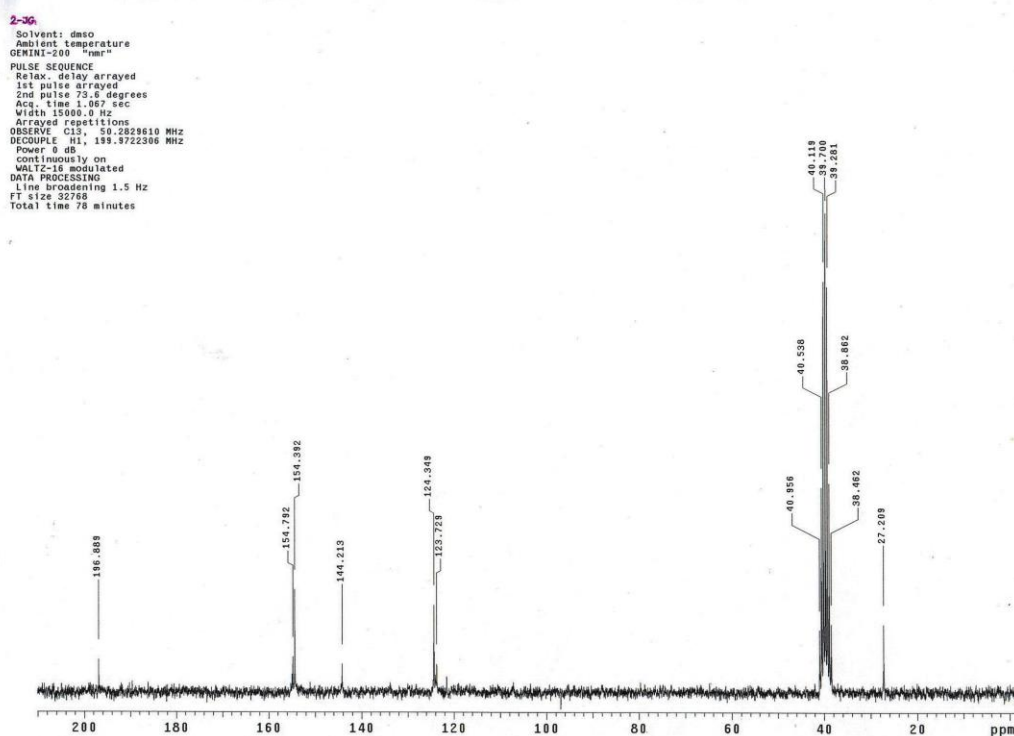


Slika P29.  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_2]$  (200 MHz)

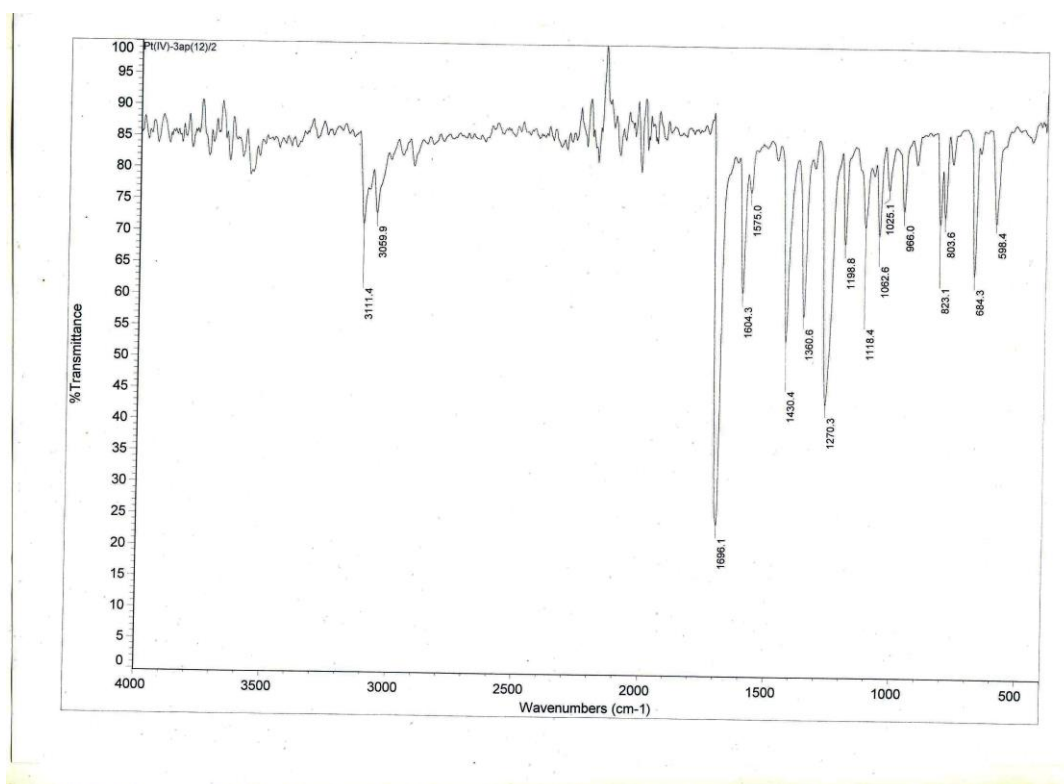


Slika P30.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_2]$  (50 MHz)

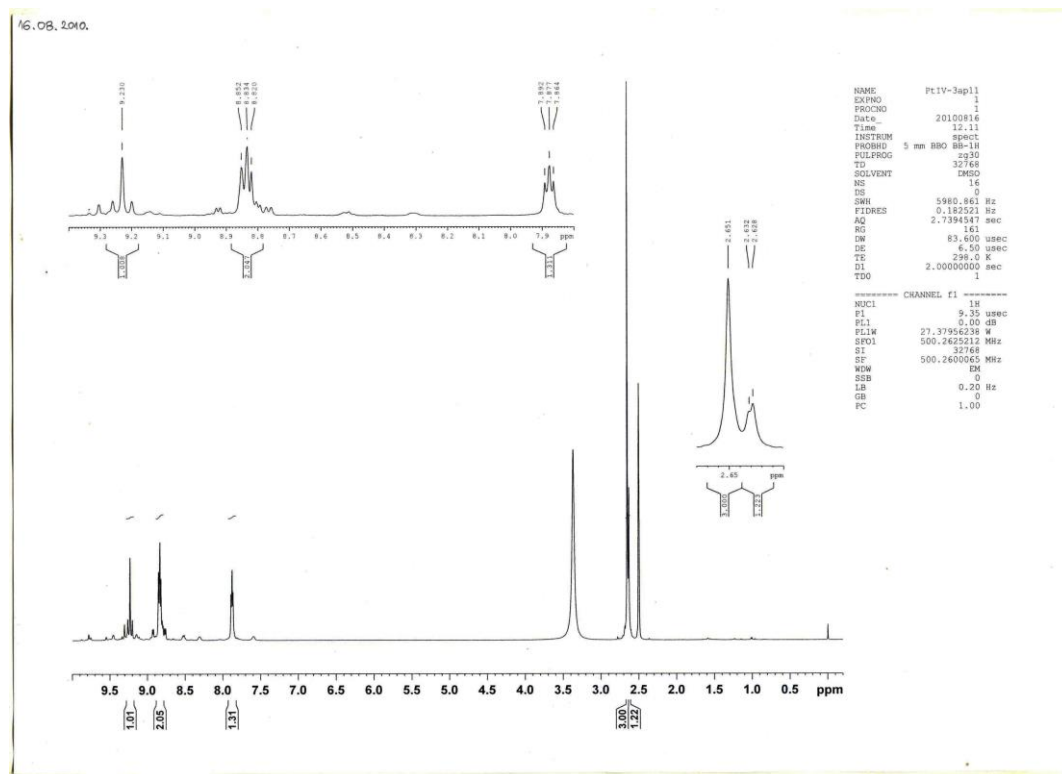
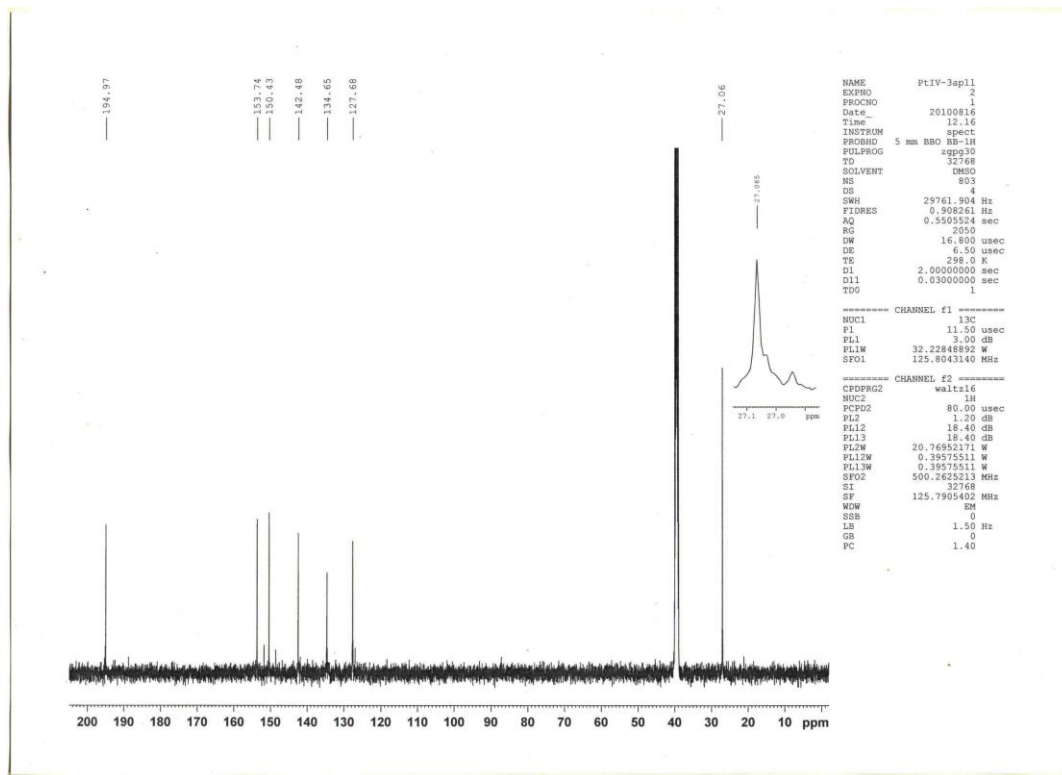
Slika P31. IC spektar kompleksa  $trans$ -[Pt(4-apy) $_2$ Cl $_2$ ]Slika P32.  $^1$ H-NMR spektar kompleksa  $trans$ -[Pt(4-apy) $_2$ Cl $_2$ ] (200 MHz)

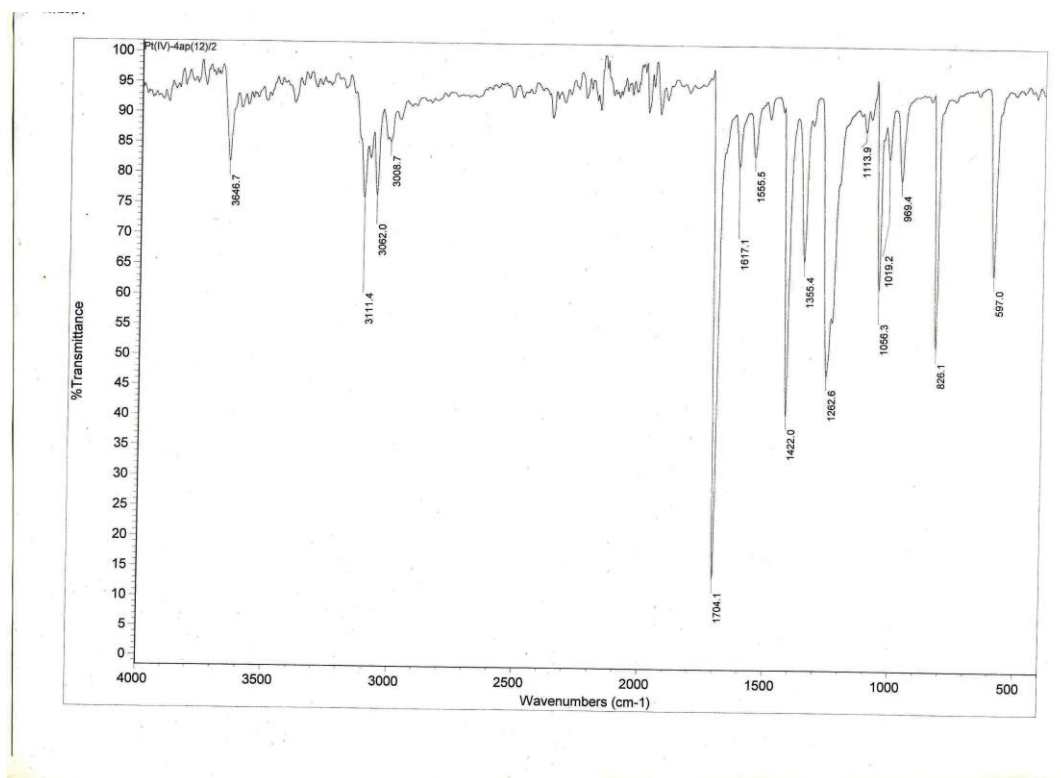
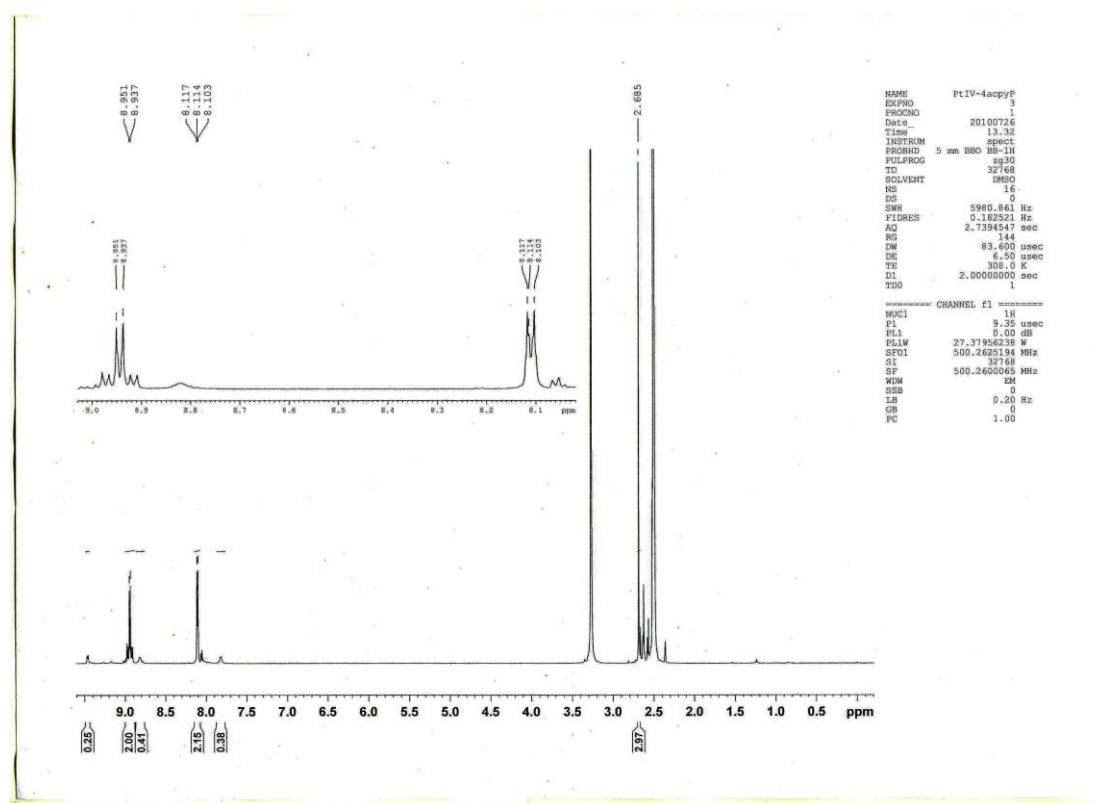


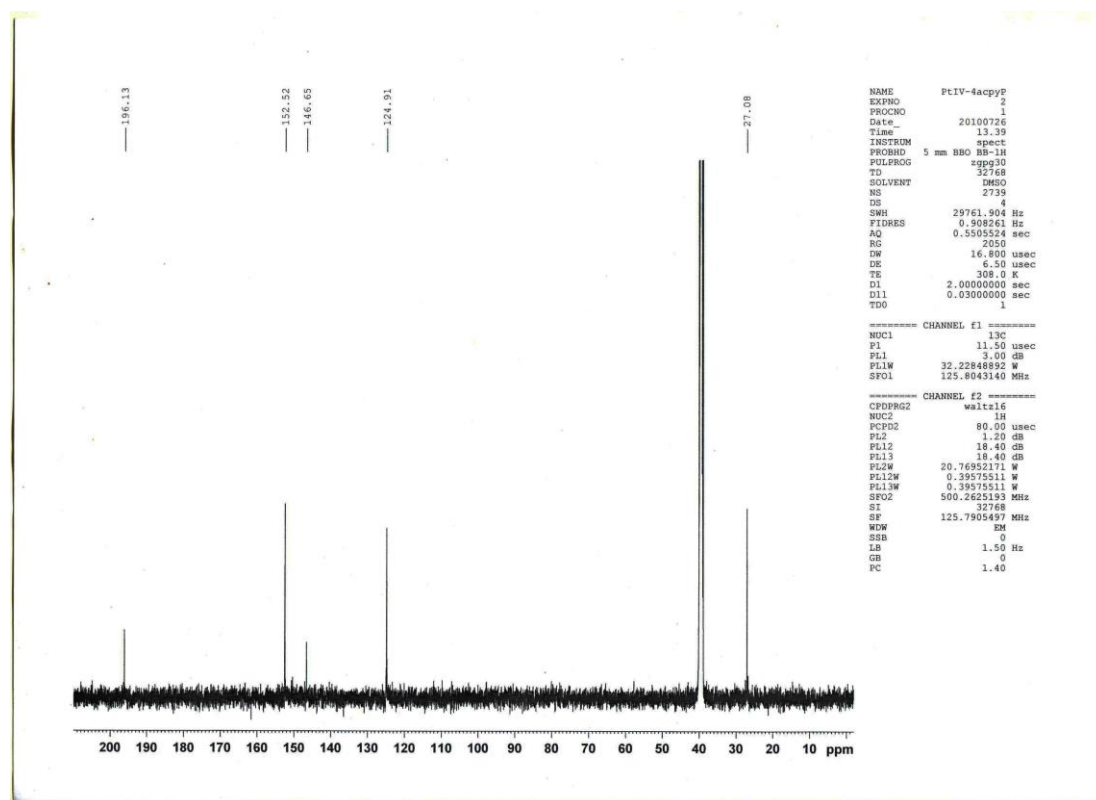
Slika P33.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(4\text{-apy})_2\text{Cl}_2]$  (50 MHz)



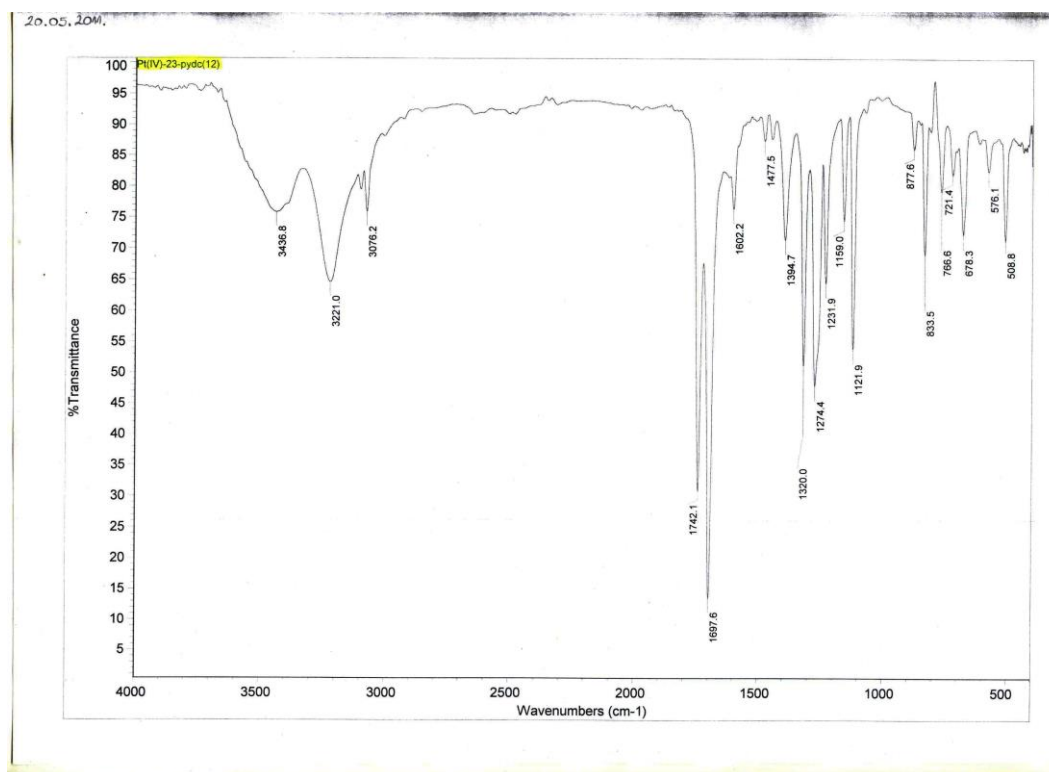
Slika P34. IC spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(3\text{-apy})_2\text{Cl}_4]$

Slika P35.  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_4]$  (500 MHz)Slika P36.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{3-apy})_2\text{Cl}_4]$  (126 MHz)

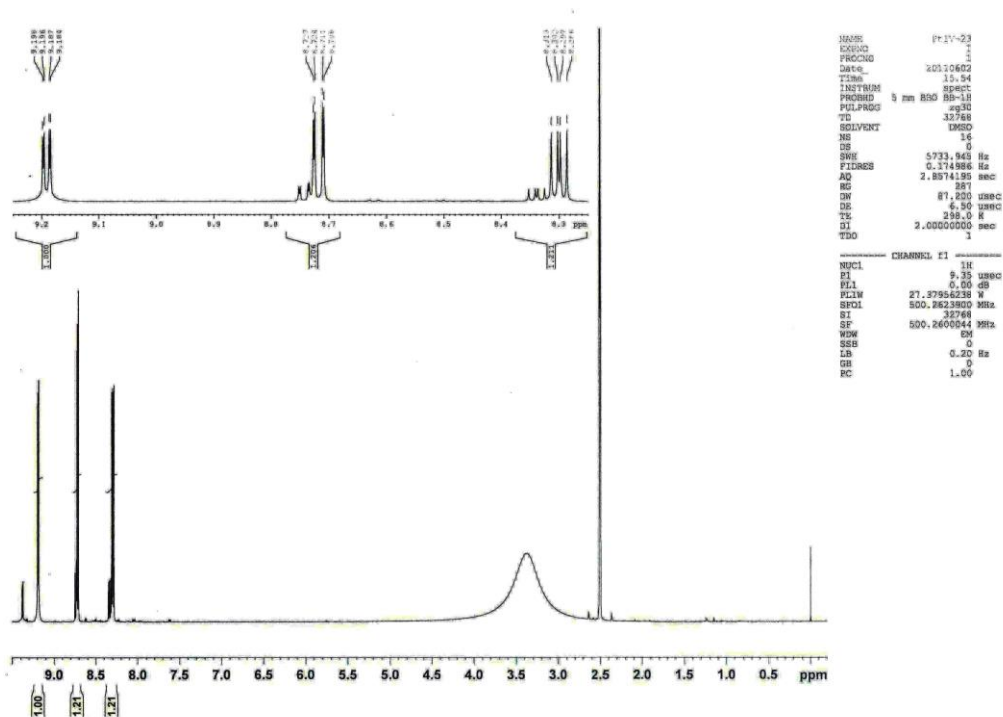
Slika P37. IC spektar kompleksa  $trans\text{-}[\text{Pt}(4\text{-apy})_2\text{Cl}_4]$ Slika P38.  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa  $trans\text{-}[\text{Pt}(4\text{-apy})_2\text{Cl}_4]$  (500 MHz)



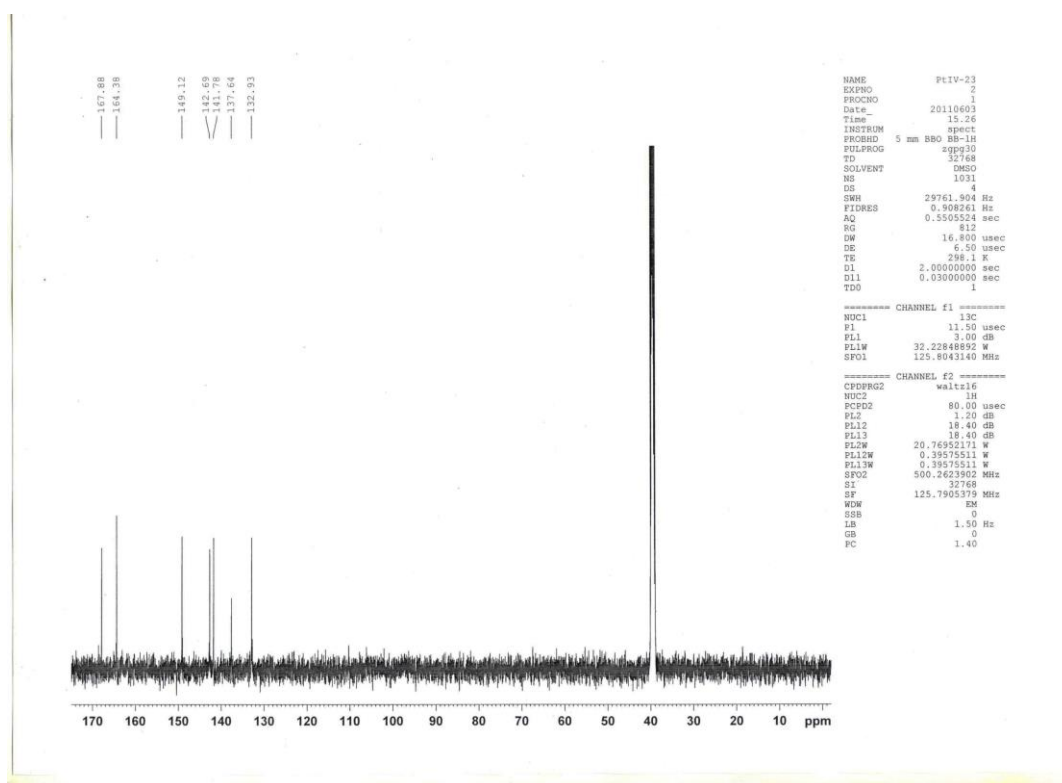
Slika P39.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{4-apy})_2\text{Cl}_4]$  (126 MHz)



Slika P40. IC spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{2,3-pydc})_2\text{Cl}_2]$



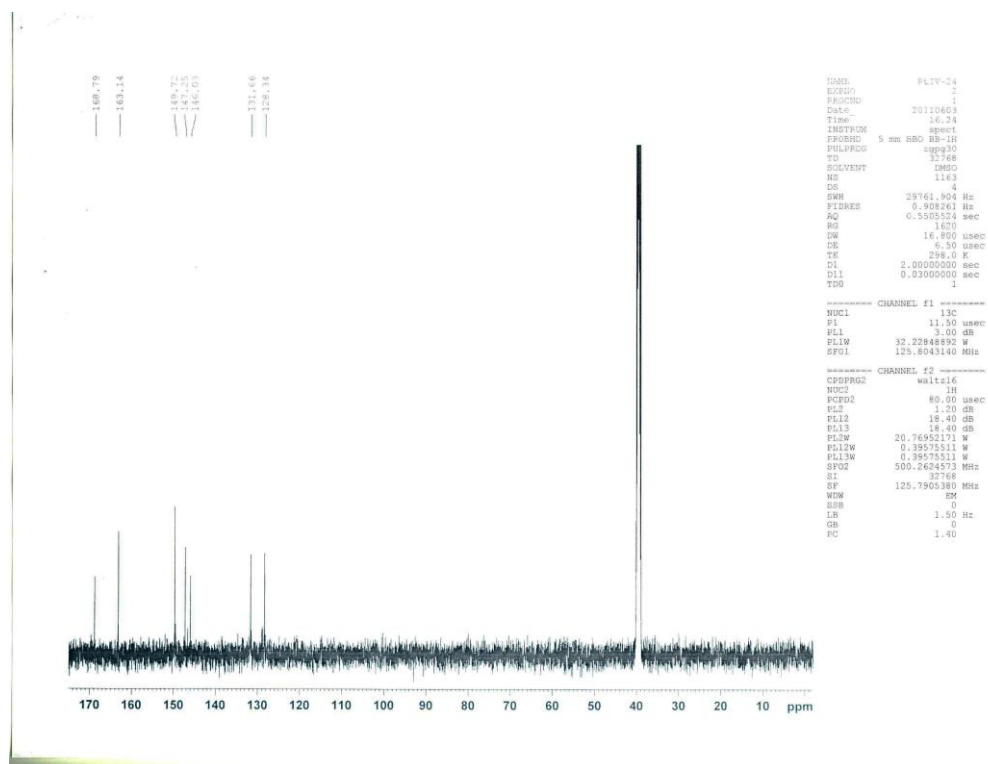
Slika P41.  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,3\text{-pydc})_2\text{Cl}_2]$  (500 MHz)



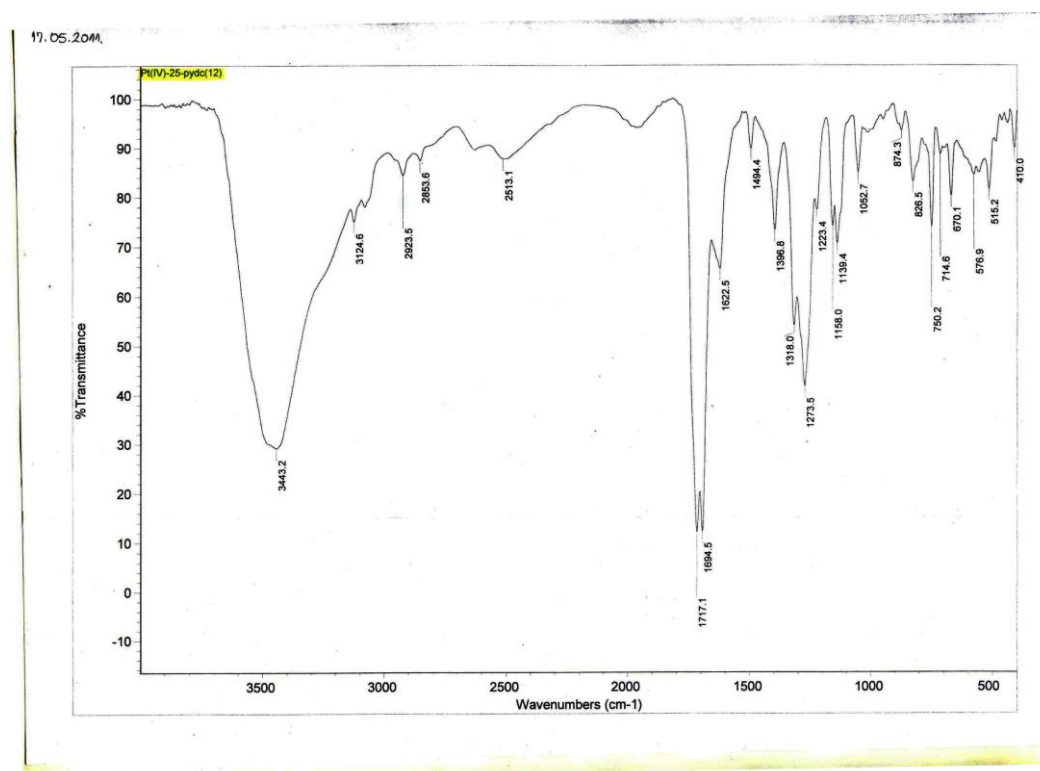
Slika P42.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,3\text{-pydc})_2\text{Cl}_2]$  (126 MHz)



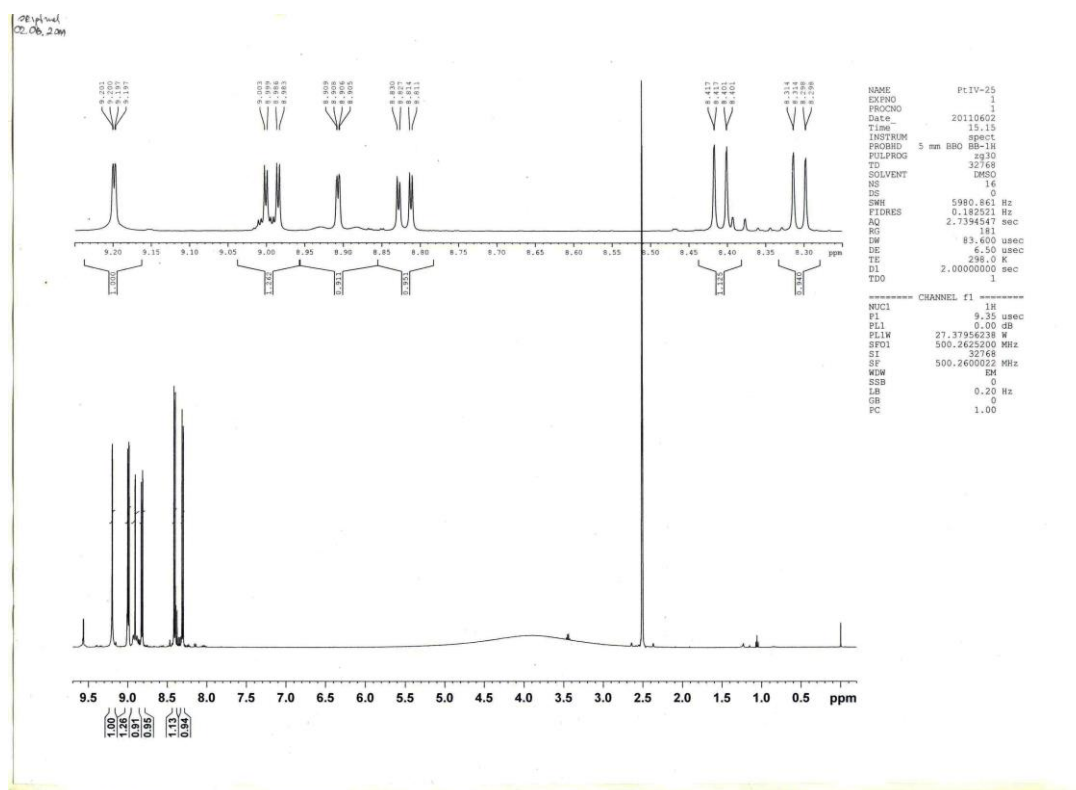
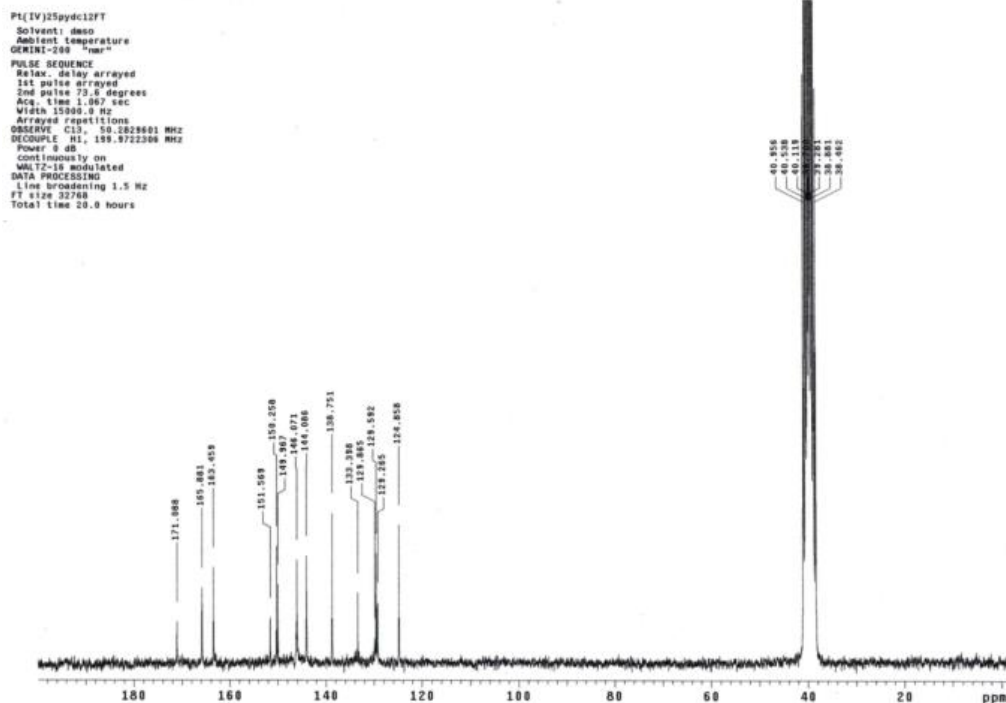


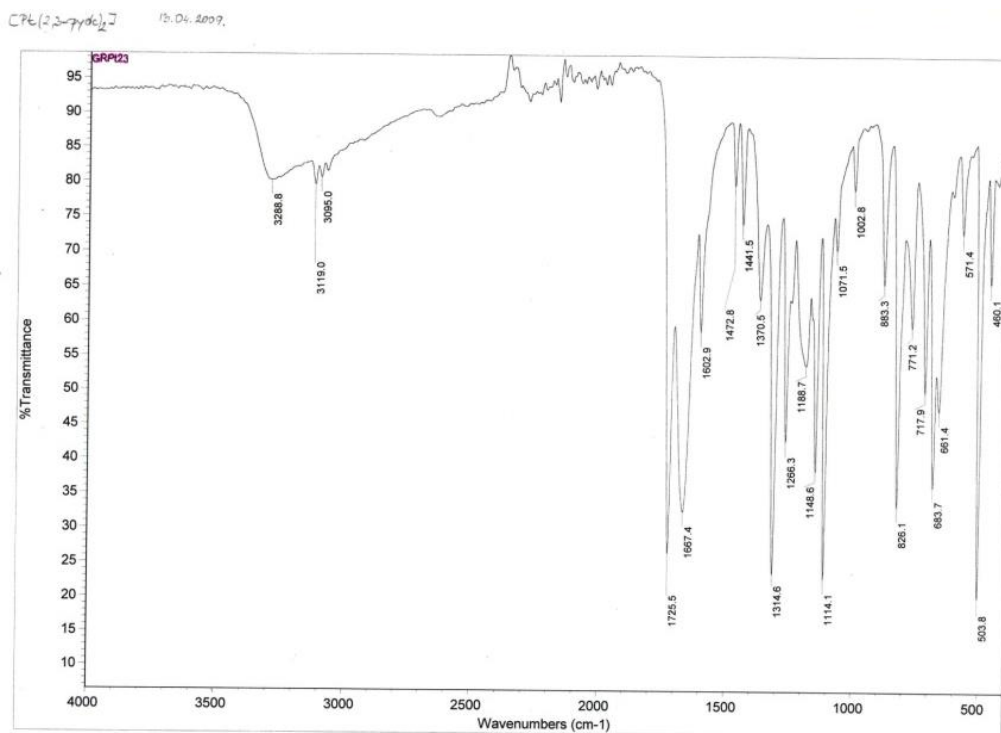
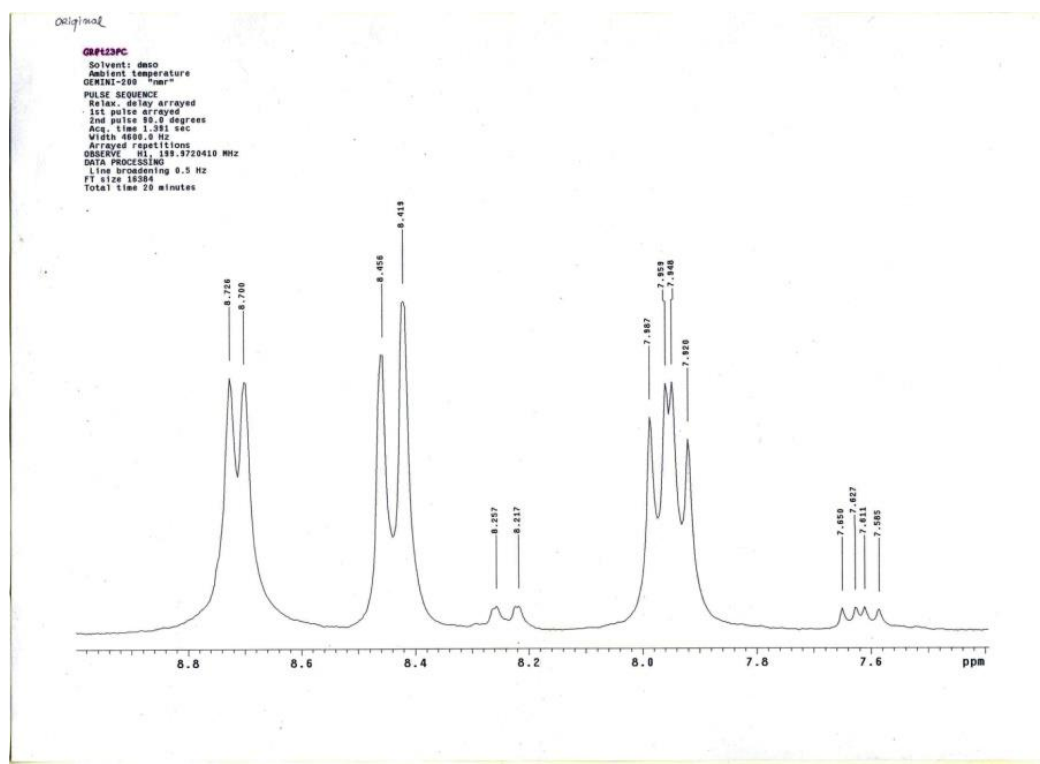


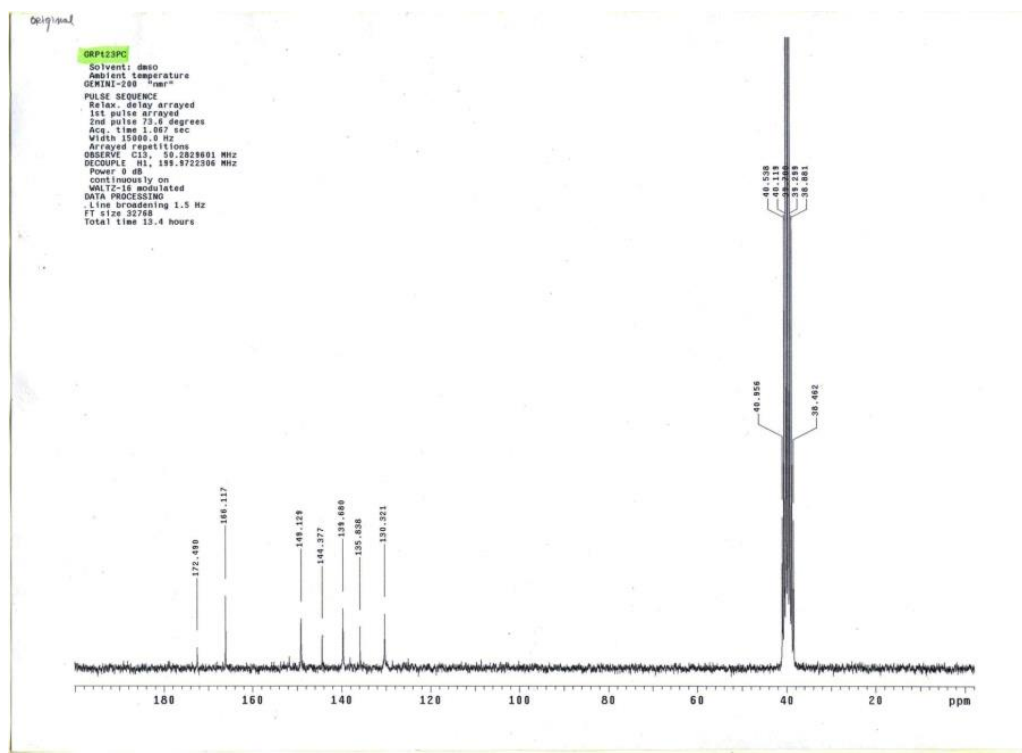
Slika P45.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{2,4-pydc})_2\text{Cl}_2]$  (126 MHz)



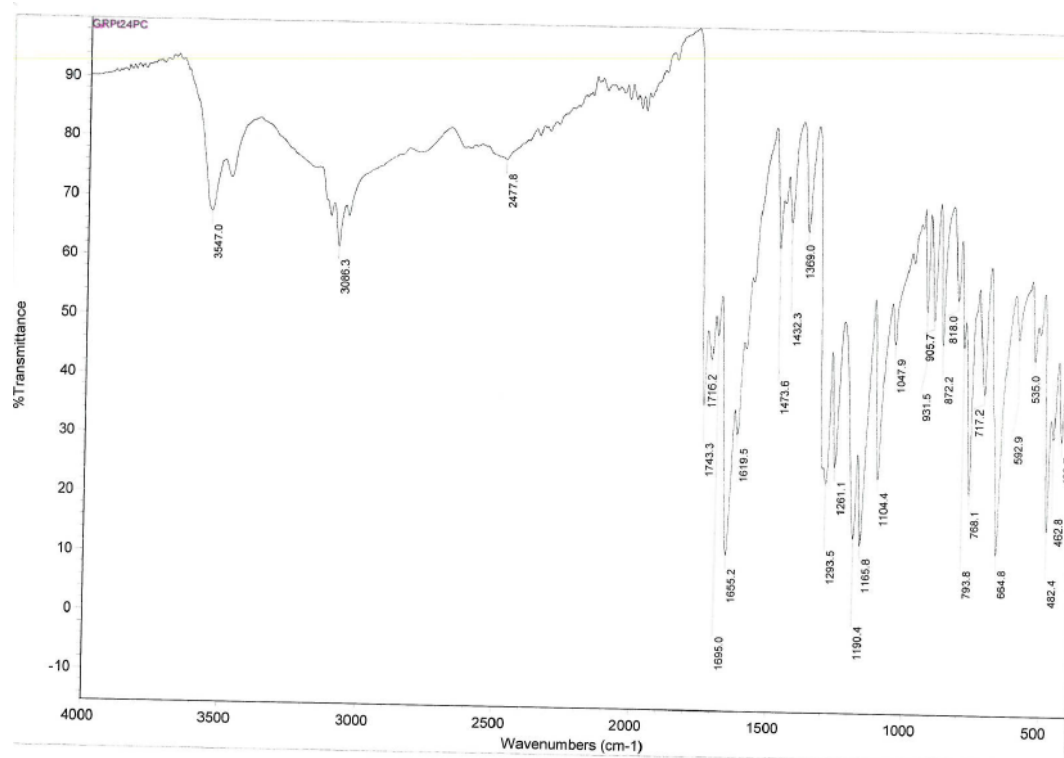
Slika P46. IC spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{2,5-pydc})_2\text{Cl}_2]$

Slika P47.  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,5\text{-pydc})_2\text{Cl}_2]$  (500 MHz)Slika P48.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,5\text{-pydc})_2\text{Cl}_2]$  (50 MHz)

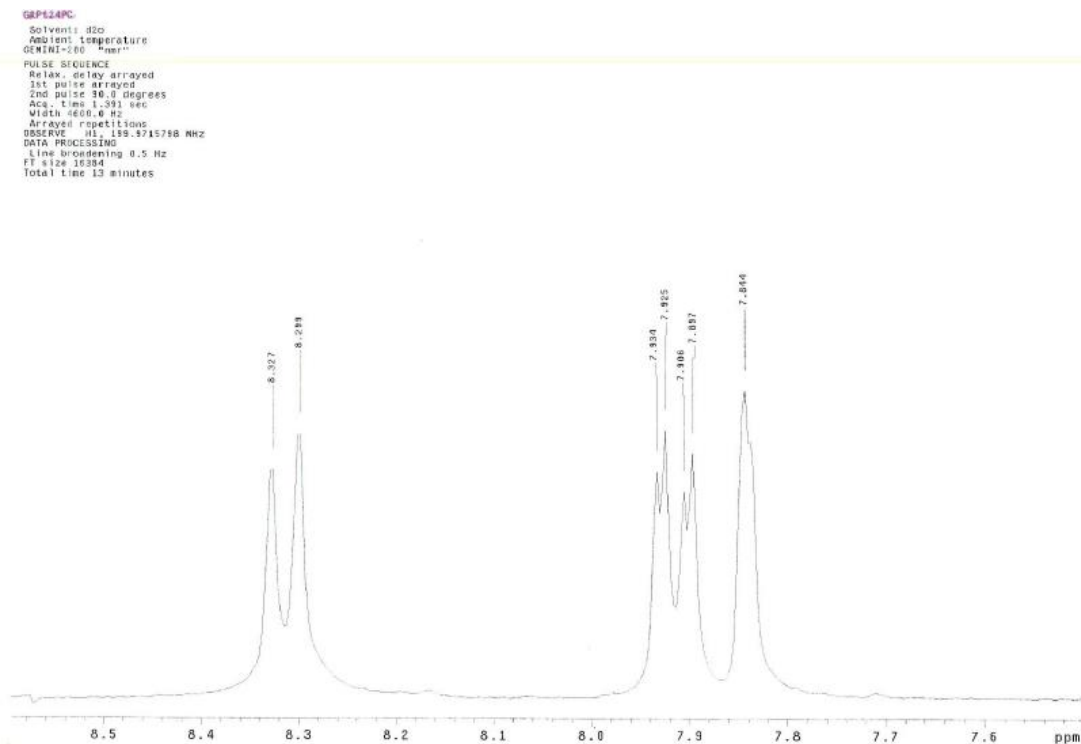
Slika P49. IC spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,3-pydc)<sub>2</sub>]Slika P50. <sup>1</sup>H-NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,3-pydc)<sub>2</sub>] sniman u DMSO (200 MHz)



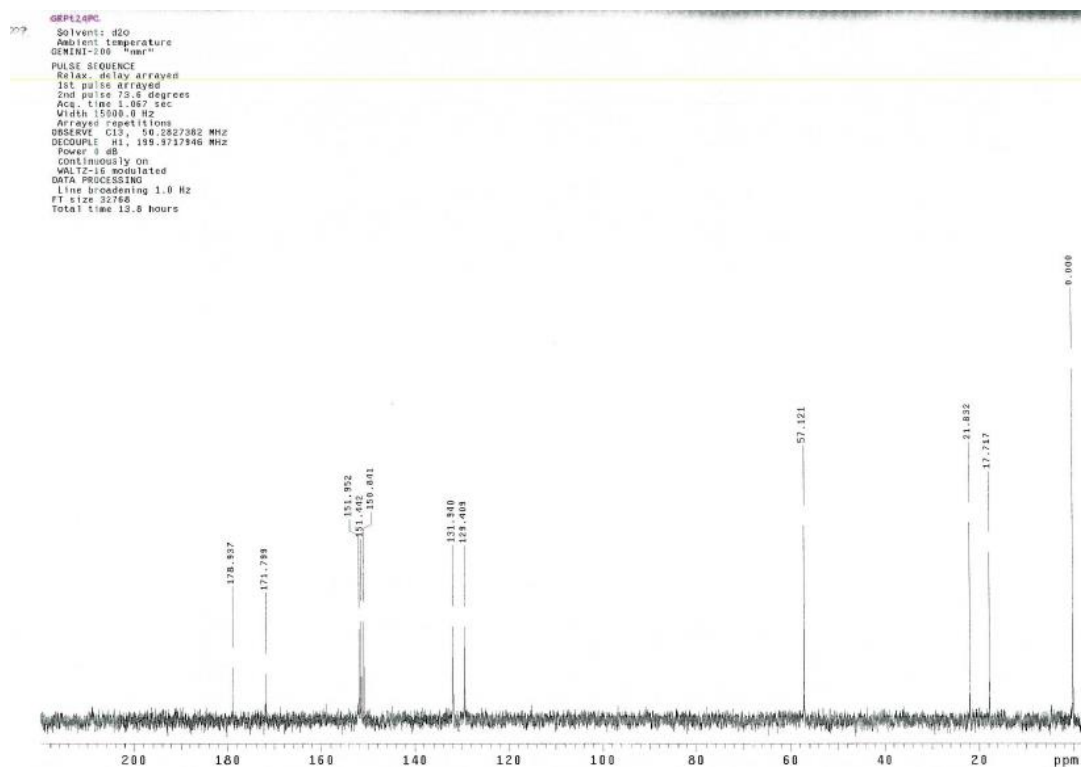
Slika P51.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,3\text{-pydc})_2]$  sniman u DMSO (50 MHz)



Slika P52. IC spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,4\text{-pydc})_2]$



Slika P53.  $^1\text{H}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,4\text{-pydc})_2]$  sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (200 MHz)

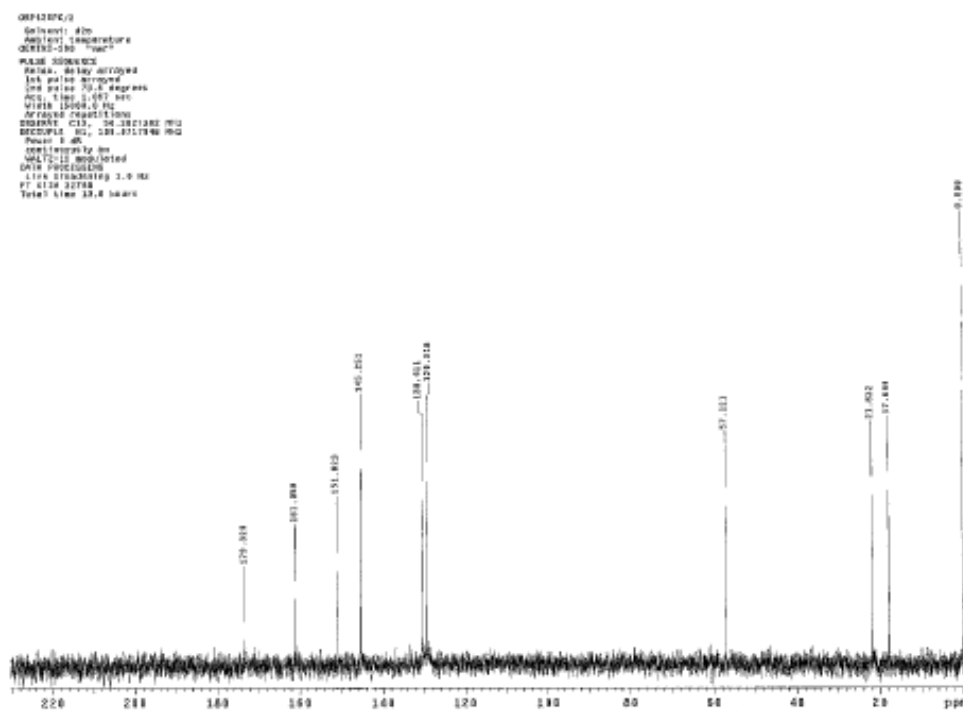


Slika P54.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa  $\text{trans-}[\text{Pt}(2,4\text{-pydc})_2]$  sniman u  $\text{D}_2\text{O}$  (50 MHz)









Slika P59.  $^{13}\text{C}$ -NMR spektar kompleksa *trans*-[Pt(2,6-pydc)<sub>2</sub>] sniman u D<sub>2</sub>O (50 MHz)

## Biografija

Gordana M. Rakić (rođ. Jakovljević) rođena je 11.09.1974. godine u Aranđelovcu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju.

Na Biološki fakultet, Univerziteta u Beogradu, smer profesor biologije i hemije upisana je školske 1993/94 godine, a diplomirala 09.11.1999. godine sa prosečnom ocenom 8,65 u toku studija i ocenom 10 na diplomskom ispitu.

Školske 2000/01. godine upisana na poslediplomske studije na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu na Katedri za Analitičku hemiju. Od januara 2002. godine bila je stipendista Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj, a od februara 2004. godine zaposlena je kao istraživač-pripravnik na Hemijskom fakultetu u Beogradu.

Poslediplomske studije završila u januaru 2005. god. sa prosečnom ocenom položenih ispita 10,00 i odbranom magistarske teze pod nazivom **Sinteza i karakterizacija kompleksa Pt(II), Pd(II) i Zn(II) sa 2'-[1-(2-piridinil)etiliden]oksamohidrazidom (Hapsox) kao ligandom**, pod rukovodstvom mentora dr Živoslava Tešića, redovnog profesora Hemijskog fakulteta u Beogradu, i stekla zvanje magistra hemijskih nauka.

Od juna 2005. god. stekla naučno zvanje istraživač-saradnik. U toku svog istraživačkog rada bila je angažovana na Projektu br. 142062 finansiranom od strane Ministarstva za nauku i zaštitu životne sredine od 2008. do 2010. god. Tokom doktorskih studija honorarno je bila angažovana u izvođenju vežbi na Hemijskom (Kvalitativna hemijska analiza) i Farmaceutskom fakultetu (Analitička hemija 1 i 2).

Od oktobra 2009. god. zaposlena na Inovacionom centru Hemijskog fakulteta, kao istraživač-saradnik. Od januara 2011. god. zaposlena u OŠ „Oslobodioci Beograda“, a od septembra 2012. god. i u OŠ „Vlada Aksentijević“ u Beogradu.

Nastavno-naučno veće Hemijskog fakulteta u Beogradu je 4. juna 2012. god. odobrilo izradu doktorske disertacije mr Gordani M. Rakić.

Gordana M. Rakić je koautor sedam naučnih radova koji su publikovani u međunarodnim časopisima. Koautor je sedam naučnih saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima i na skupovima nacionalnog značaja.

### Spisak naučnih radova i saopštenja

#### Radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja u periodu 2006-2013:

- Gordana Rakić, Sanja Grgurić-Šipka, Goran N. Kaluđerović, Martin Bette, Lana Filipović, Sandra Arandžević, Siniša Radulović, Živoslav Lj. Tešić, The synthesis, spectroscopic, X-ray characterization and *in vitro* cytotoxic testing results of activity of five new *trans*-platinum(IV) complexes with functionalized pyridines, *Eur. J. Med. Chem.*, 55, **2012**, 214-219.
- Gordana M. Rakić, Sanja Grgurić-Šipka, Goran N. Kaluđerović, Santiago Gómez-Ruiz, Snežana K. Bjelogrić, Siniša S. Radulović, Živoslav Lj. Tešić, Novel *trans*-dichloridoplatinum(II) complexes with 3- and 4-acetylpyridine: Synthesis, characterization, DFT calculations and cytotoxicity, *Eur. J. Med. Chem.*, 44, **2009**, 1921-1925.
- Lana Filipović, Sandra Arandžević, Nevenka Gligorijević, Ana Krivokuća, Radmila Janković, Tatjana Srđić-Rajić, Gordana Rakić, Živoslav Tešić, Siniša Radulović, Biological evaluation of *trans*-dichloridoplatinum(II) complexes with 3- and 4-acetylpyridine in comparison to *cis*platin, *Radiol. Oncol.*, **2013**, 1-12.
- Sanja Grgurić-Šipka, Ivanka Ivanović, Gordana Rakić, Nina Todorović, Nevenka Gligorijević, Siniša Radulović, Vladimir B. Arion, Bernhard K. Keppler, Živoslav Lj. Tešić, Ruthenium(II)-arene complexes with functionalized pyridines: Synthesis, characterization and cytotoxic activity, *Eur. J. Med. Chem.*, 45, **2010**, 1051-1058.
- Tomislav Tosti, Gordana Rakić, Maja Natić, Dušanka Milojković-Opsenica, Suren Husinec, Vladimir Savić and Živoslav Tešić, TLC Retention Behavior of Brodifacoum, Bromadiolone and Coumatetralyl and their Impurities on Different Adsorbents, *J. Planar. Chromatogr.–Mod. TLC*, 22, **2009**, 333-343.

#### Radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja u periodu do 2004 (magistarska teza):

- Katarina Anđelković, Gordana Jakovljević, Mario Zlatović, Živoslav Tešić, Dušan Sladić, Jonas Howing and Roland Tellgren, Synthesis and characterization of zinc(II), palladium(II) and platinum(II) complexes with 2'-[1-(2-pyridinyl)ethylidene]oxamohydrazide. The crystal structure of bis{2'-[1-(2-pyridinyl)ethylidene]oxamohydrazido}zinc(II) trihydrate, *J. Serb. Chem. Soc.*, 69, **2004**, 651-660.

- D. Minić, G. Jakovljević, D. Sladić and K. Anđelković, Investigation of thermal stability and kinetic studies of transition metal complexes with the condensation product of 2,6-diacetylpyridine and semioxamazine, *Mater. Sci. Forum*, 453/454, **2004**, 567-572.

#### Saopštenja na skupovima u zemlji i inostranstvu u periodu 2006-2011:

- Lana Filipović, Gordana Rakić, Sandra Arandjelović, Nevenka Gligorijević, Ksenija Jakovljević, Radmila Janković, Biljana Dojčinović, Živoslav Tešić, Siniša Radulović. Cytotoxic and in vitro antimetastatic potential of *trans*-dichloridoplatinum(II) complexes with 3- and 4-acetylpyridine, Abstract book P-5, p. 74, EACR-Anticancer Agents Research Congress, Antalya, Turkey, 13-16 October **2011**
- Lana Filipovic, Gordana Rakic, Sandra Arandjelovic, T. Srdic, S. Bjelogric, N. Gligorijevic, M. Topalovic, Z. Tesic, S. Radulovic, The mechanism of antitumor activity of *trans*-platinum(II) complexes with different pyridine ligands, Proceedings book, page 20, Volume 15, Suppl 1, 8<sup>th</sup> Congress of B.U.ON, Sibiu, Romania 8-11 September **2010**
- Tijana Tomašević, Ivanka Ivanović, Gordana Rakić, Dušanka M. Milojković-Opsenica, Maja M. Natić and Živoslav Lj. Tešić, Hydrophilic Interaction Planar Chromatography Of Ru(II)-Arene Complexes, Book of Abstracts, 209, 6<sup>th</sup> Aegean Analytical Chemistrz Days (AACD), Denizli, Turkey 9-12 October **2008**
- Tomislav Tosti, Gordana Rakić, Dušanka Milojković-Opsenica, Suren Husinec, Vladimir Savić and Živoslav Tešić, Planar Chromatography of Brodifacoum, Bromadiolone, Coumatetralyl and their impurities, SHD, Novi Sad, February **2007**
- Tomislav Tosti, Gordana Rakić, Dušanka Milojković-Opsenica, Suren Husinec, Vladimir Savić and Živoslav Tešić, Planar Chromatography of Brodifacoum, Bromadiolone, Coumatetralyl and their impurities, V Međunarodni Simpozijum o antisepsi, dezinfekciji i sterilizaciji, Beograd, Srbija, Oktobar 03-06, **2006**

#### Saopštenja na skupovima u zemlji i inostranstvu u periodu do 2004 (magistarska teza):

- Bacchi, G. Pelizzi, G. Jakovljević, N. Filipović, M. Rajković and K. Anđelković, Synthesis and crystal structure of tris[(1-pyridin-2-yl-ethylidene)hydrazine]iron(II) perchlorate, XI Conference of the Serbian Crystallographic Society, p. 6-7, Oplenac, SCG, September 25-27, **2003**

- G. M. Jakovljević, M. A. Gruden-Pavlović, Ž. Lj. Tešić, D. M. Sladić and K.K. Anđelković, Synthesis and characterization of Pd(II) and Pt(II) complexes with 2'-[1-(2-pyridinyl)ethylidene]oxamohydrazide (Hapsox), Book of abstracts Volume II, PO 560, p. 337, 3<sup>rd</sup> International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries, Bucharest, Romania, September 22-25, **2002**

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а \_\_\_\_\_ Гордана М. Ракић \_\_\_\_\_

број уписа \_\_\_\_\_ 578 \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, карактеризација и антитуморска активност *транс*-комплекса Pt(II) и Pt(IV) са пиридинским дериватима као лигандима

---

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

Потпис докторанда

У Београду, 07.04.2017. год.

Г. Ракић

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Гордана М. Ракић

број уписа 578

Студијски програм Доктор хемијских наука

Наслов рада Синтеза, карактеризација и антитуморска активност  
транс-комплекса Pt(II) и Pt(IV) са пиридинским дериватима као  
лигандима

Ментори др Сања Гргурић-Шипка и др Живослав Тешић

Потписани Гордана Ракић

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, 07.04.2017. год.

Г. Ракић

Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

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

Синтеза, карактеризација и антитуморска активност *транс*-комплекса Pt(II) и Pt(IV) са пиридинским дериватима као лигандима

која је моје ауторско дело.

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

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, 07.04.2017. год.

Ј. Ракић