

Molekularno modeliranje koordinacijskih spojeva paladija(II)

Kerš, Igor

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:145571>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Igor Kerš

Student 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

**MOLEKULARNO MODELIRANJE
KOORDINACIJSKIH SPOJEVA
PALADIJA(II)**

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ivan Kodrin

Zagreb, 2023.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

14. srpnja 2023.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

22. rujna 2023.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ivan Kodrin

Potpis:

Sadržaj

| | |
|---|--------------|
| § SAŽETAK..... | VII |
| § 1. UVOD..... | 1 |
| 1.1. Koordinacijski spojevi kao citostatici..... | 1 |
| 1.1.1. Kompleksi platine i njegovi derivati | 1 |
| 1.1.2. Kompleksi paladija i njegovi derivati | 2 |
| 1.2. Računalna kemija | 3 |
| 1.2.1. Računalna kemija i ab initio računi..... | 3 |
| § 2. KOMPLEKSI PLATINE I PALADIJA | 4 |
| 2.1. Usporedba djelovanja cisplatina i transplatina na DNA molekulu | 4 |
| 2.1.1. Analiza stupnja inhibicije luciferaznim testom | 4 |
| 2.1.2. Analiza stupnja uređenosti strukture DNA molekule fluorescencijskom mikroskopijom..... | 6 |
| 2.1.3. Konstanta elastičnosti i prigušenja DNA molekule..... | 9 |
| 2.1.4. Analiza stupnja uređenosti strukture DNA molekule pod utjecajem cisplatina i transplatina mikroskopijom atomskih sila..... | 13 |
| 2.1.5. Usporedba utjecaja cisplatina i transplatina na uređenost strukture DNA molekule i ekspresiju gena..... | 15 |
| 2.2. Paladijevi spojevi..... | 17 |
| 2.2.1. Citostatičko djelovanje paladijevih kompleksa | 17 |
| 2.2.2. Pregled novih kompleksa paladija..... | 18 |
| 2.3. Računalne simulacije kompleksa paladija (II) | 22 |
| 2.3.1. Računalne simulacije cis i trans izomera paladijevog spoja | 22 |
| 2.3.2. Računalne simulacije paladijevih spojeva | 26 |
| 2.3.3. Rasprava i zaključak | 30 |
| § 3. LITERATURNI IZVORI..... | XXXII |

§ Sažetak

Cisplatin se upotrebljava u medicinske svrhe za liječenje različitih vrsta malignih tumora. Stereoizomer cisplatina, transplatin, puno je manje biološki aktivan te se zbog toga ne koristi u liječenju. U ovome radu opisana je povezanost različitog utjecaja cisplatina i transplatina na uređenost strukture DNA molekule i jačine citostatičkog djelovanja ovih izomera.

Budući da se paladij pokazao kao dobra zamjena platini u lijekovima protiv raka, novija istraživanja često uključuju pripravu i ispitivanje biološke aktivnosti novih spojeva paladija(II). U ovome radu dan je kratak pregled paladijevih spojeva koji pokazuju citostatička svojstva.

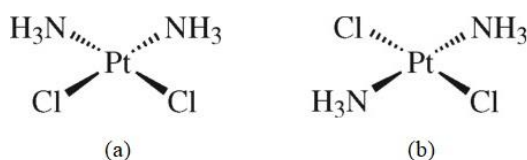
U sintezi i dizajnu novih citostatika često se koristi računalna kemija kako bi se ispitala strukturalna, elektronska, a kasnije modelirala i biološka aktivnost ovih spojeva. U ovom je radu računalnim metodama istražena relativna stabilnost *cis/trans* izomera nekoliko koordinacijskih spojeva paladija(II) koji su pripremljeni i okarakterizirani u grupi doc. dr. sc. Borisa-Marka Kukovca sa Zavoda za fizikalnu kemiju, Odsjeka za kemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Na dobivenim kristalnim strukturama provedena su istraživanja kako bi se usporedila stabilnost konfiguracijskih stereoizomera te odredile ključne interakcije između molekula u kristalnoj strukturi.

§ 1. UVOD

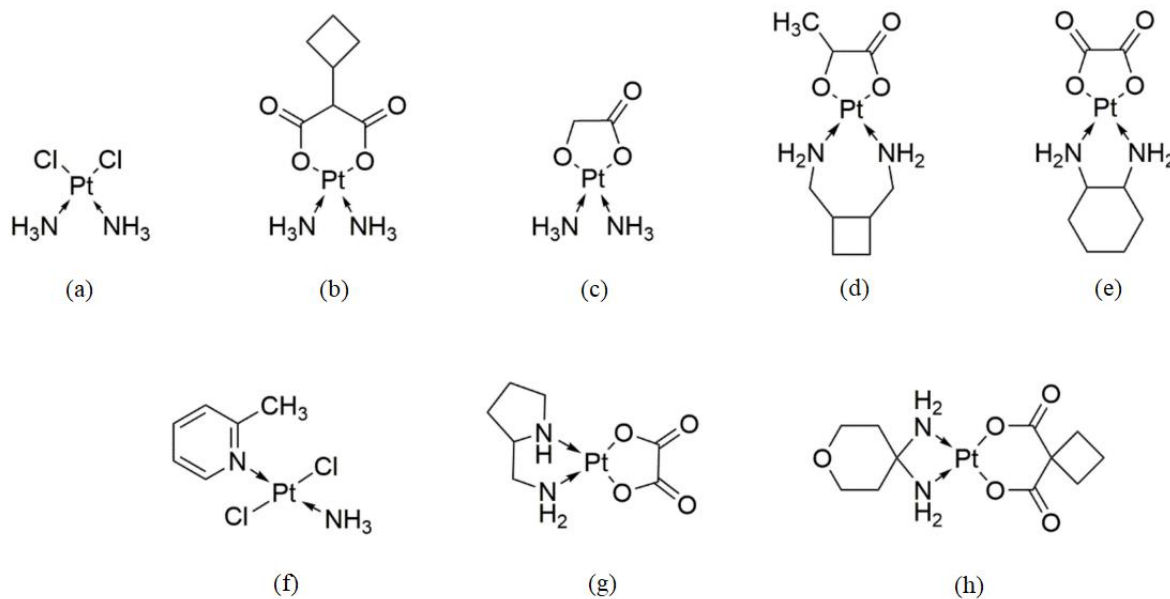
1.1. Koordinacijski spojevi kao citostatici

1.1.1. Kompleksi platine i njegovi derivati

Rak je vodeći uzročnik smrti u svijetu od kojeg je u 2020. godini umrlo gotovo 10 milijuna ljudi.¹ Antitumorsko djelovanje cisplatina otkriveno je slučajno tijekom ispitivanja koje je provodio Barnett Rosenberg 1965. godine. Istraživao je utjecaj električne struje niskog napona na razmnožavanje bakterija *Escherichie coli* u otopini amonijeva klorida. Koristio je platinske elektrode koje su reagirale s amonijevim kloridom tvoreći tako cisplatin (*cis*-diamindikloroplatina(II), slika 1). Zapazio je smanjeno razmnožavanje bakterija što ga je navelo na daljnje istraživanje.² Započeo je eksperimentalno ispitivanje djelotvornosti navedenog spoja na miševima oboljelih od leukemije i sarkoma.³ Cisplatin je bio učinkovit u suzbijanju raka u miševa zbog čega se počeo ispitivati za liječenje ljudi. Službeni početak korištenja cisplatina u suzbijanju raka u ljudi, točnije protiv raka jajnika i testisa, bio je 1971. godine.⁴ Do danas sintetizirani su mnogi derivati cisplatina (slika 2) koji služe za liječenje različitih vrsta malignih tumora u ljudi.⁵ Stereoizomer transplatin (*trans*-diamindikloroplatina(II), slika 1) i njegovi derivati pokazali su se manje djelotvornima od cisplatina i derivata cisplatina u sprječavanju širenja tumorskih stanica te nemaju praktičnu primjenu u medicini.⁶ Jedan mogući razlog manje efektivnosti jest da je transplatin lakše neutraliziran antioksidansima koji sadrže sumpor poput glutationa i metalotioneina.^{7,8} S druge strane moguće je da različit način vezanja ova dva stereoizomera za DNA uzrokuje njihovu različitu citostatičnu učinkovitost. Cisplatin i transplatin s DNA tvore kovalentne adukte, međutim, dok cisplatin tvori većinom 1,2-unutarlančane, a rjeđe međulančane adukte,⁹ transplatin tvori najviše monofunkcionalne¹⁰ i međulančane¹¹ adukte.



Slika 1. Strukturni prikaz (a) *cis*-diamindikloroplatine(II) i
(b) *trans*-diamindikloroplatine(II)



Slika 2. Strukturne kemijske formule (a) cisplatina i njegovih derivata: (b) karboplatin, (c) nedaplatin, (d) lobaplatin, (e) oksaliplatin, (f) picoplatin, (g) miboplatin i (h) enloplatin.

1.1.2. Kompleksi paladija i njegovi derivati

Iako su cisplatin i njegovi derivati najčešće lijekovi za tretiranje malignih tumora, pokazalo se da određene vrste malignih tumora razvijaju otpornost na lijekove koji sadrže cisplatin, a također da takvi lijekovi uzrokuju brojne negativne nuspojave.¹² Navedeni razlozi potaknuli su različita nova istraživanja lijekova koji sadržavaju druge prijelazne metale. Kompleksi paladija su se pokazali kao popularna alternativa.

Paladijevi kompleksi su uzeti kao zamjena za cisplatin i njegove derivate u *in vitro* ispitivanjima zbog velike podudarnosti platine i paladija u fizikalnim i kemijskim svojstvima.¹³ Unatoč velikoj podudarnosti svojstava ovih dvaju elemenata, kompleksi paladija su reaktivniji od kompleksa platine. Veća reaktivnost koordiniranih paladijevih spojeva zahtijeva korištenje specifičnih liganada kako bi se pripravila korisna aktivna tvar za lijek.¹⁴ Kompleksi paladija djeluju na maligne tumorske stanice na sličan način kao i kompleksi platine. Vezanjem za DNA, navedeni kompleksi sprječavaju replikaciju stanice te uzrokuju apoptozu. Osim na prethodno izrečeni način, kompleksi paladija koriste i druge mehanizme kojima djeluju na stanice raka. Jedan način je intrinzičnim putem, odnosno oštećenjem mitohondrija. Postoji i ekstrinzični put odnosno povećanjem receptora s domenom smrti.^{15,16}

1.2. Računalna kemija

1.2.1. Računalna kemija i ab initio računi

Računalna kemija je grana teorijske kemije koja koristi računalnu simulaciju kako bi se dobile određene informacije o kemijskom sustavu. Pomoću računalnih simulacija moguće je odrediti različita geometrijska i elektronska svojstva molekula. Teorijski su egzaktno rješivi sustavi koji se sastoje od samo dvije čestice, dok se sustavi s većim brojem čestica moraju rješavati numeričkim metodama. Zbog toga se koriste računalni programi koji se pomoću raznovrsnih algoritama svakim iterativnim korakom sve više približavaju egzaktnom rješenju. *Ab initio* Hartree-Fock (HF) metoda i metode temeljene na teoriji funkcionala gustoće (engl. *Density Functional Theory*, DFT) su načini rješavanja Schrödingerove jednadžbe kako bi se dobile informacije o sustavu pri čemu se ne koriste eksperimentalno dobiveni podaci. DFT metode temelje se na činjenici da je osnovno stanje energije elektrona u potpunosti opisano elektronskom gustoćom koju su dokazali Hohenberg i Kohn. DFT metoda je uvelike slična HF metodi rješavanja Schrödingerove jednadžbe, no HF metode opisuju elektrone koji se nalaze u prosječnom polju ostalih elektrona te se tako zanemaruje elektronska korelacija, dok DFT metoda uključuju elektronsku te tako daju puno bolje rezultate. DFT svoju praktičnu primjenu dobiva uvođenjem Kohn-Shamovih orbitala čime je puno bolje prikazana elektronska korelacija, no njihovim uvođenjem se povećava broj varijabla sa ukupno tri kojima je opisana elektronska gustoća na tri prostorne koordinate za svaku česticu u sustavu. U Kohn-Shamovoj metodi potrebno je odrediti matematički izraz za izmjensko-korelacijski funkcional. Izmjensko-korelacijski funkcional često je parametriziran zbog čega je nemoguće sustavno poboljšati DFT metode kao što je to u slučaju s HF metodama koje je sustavno moguće unaprijediti.¹⁷

§ 2. KOMPLEKSI PLATINE I PALADIJA

2.1. Usporedba djelovanja cisplatina i transplatina na DNA molekulu

Kompleksi platine(II), odnosno cisplatin i transplatin, vežući se na DNA molekulu stanice raka sprječavaju njenu diobu te tako pokreću njihovu programiranu smrt, odnosno apoptozu. Primijećeno je da cisplatin i transplatin tvore različite adukte s DNA molekulom te da pokreću apoptozu stanice različitom učinkovitosti.^{9,10,11}

U ovom poglavlju uspoređen je utjecaj cisplatina i transplatina na uređenost strukture DNA koji je posljedica različitog mehanizma djelovanja na DNA molekulu. Različit stupanj inhibicije ekspresije gena cisplatina i transplatina određuje se luciferaznim testom. Fluorescenskom mikroskopijom i mikroskopijom atomskih sila promatraju se promjene u uređenosti strukture DNA molekule uzrokovane kovalentnim vezanjem cisplatina i transplatina. Iz promjena stupnja uređenosti DNA molekule moguće je odrediti konstante elastičnosti i konstante prigušenja DNA molekule. Na temelju dobivenih rezultata može se opisati i usporediti odnos između citotoksičnosti cisplatina i transplatina i promjene strukture DNA molekule i njenih fizikalnih svojstava.

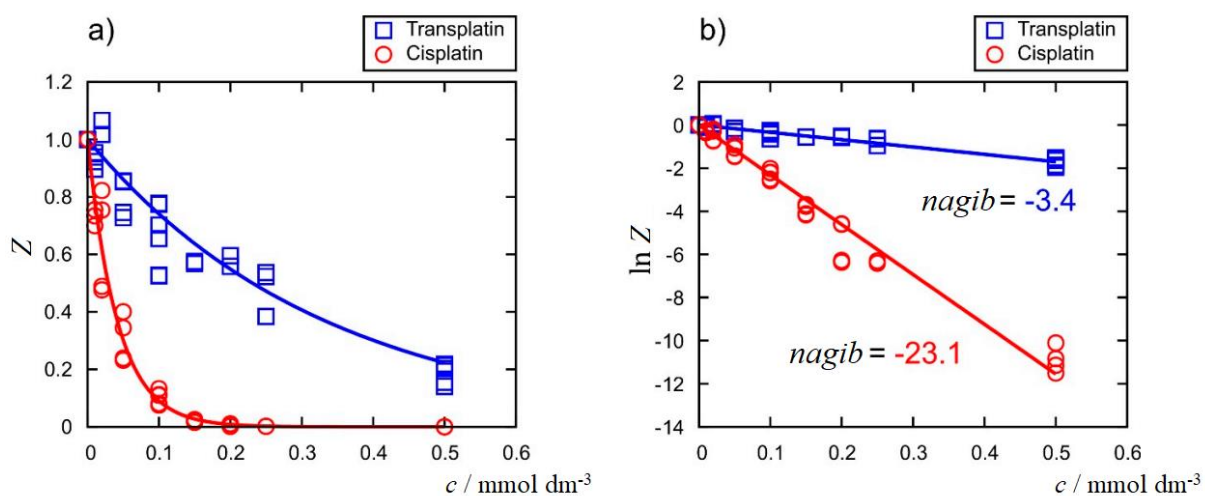
2.1.1. Analiza stupnja inhibicije luciferaznim testom

Luciferaznim testom moguće je ispitati svojstvo inhibicije ekspresije gena cisplatina i transplatina. Ekspresijom luciferazinih gena nastaje protein luciferaza na koji se veže određeni supstrat luciferina čijim vezanjem dolazi do emisije svjetlosti, odnosno događa se luminiscencija. Relativni intenzitet luminiscencije koji nastaje vezanjem luciferaze i luciferina je proporcionalan koncentraciji luciferaze dobivene ekspresijom gena.¹⁸ Ovim je testom zato moguće ispitati kako određene tvari djeluju na ekspresiju gena.

Kishimoto i sur. primijenili su luciferazni test izvan stanice uz dodatak cisplatina i transplatina.¹⁹ Ispitivanje je vršeno na plazmidnoj DNA molekuli bakteriofaga T7 (4331 bp) koja sadrži gen za ekspresiju luciferaze. Konačna korištena koncentracija DNA molekule u ispitivanju iznosila je $1.5 \mu\text{mol dm}^{-3}$ u nukleotidnim jedinicama. Dodane su određene koncentracije cisplatina i transplatina, potom promotor te je nakon ekspresije gena dodan luciferin. Vezanjem luciferina i luciferaze izmjerena je emisija elektromagnetskog zračenja valne duljine na oko 565 nm luminometrom.

Dobivena ovisnost relativnog intenziteta luminiscencije luciferaze (Z) o koncentraciji cisplatina i transplatina (c) prikazana je na slici 3. Relativni intenzitet luminiscencije određen je iz intenziteta luminiscencije s određenom koncentracijom cisplatina ili transplatina u odnosu na luminiscenciju bez dodanog cisplatina ili transplatina.

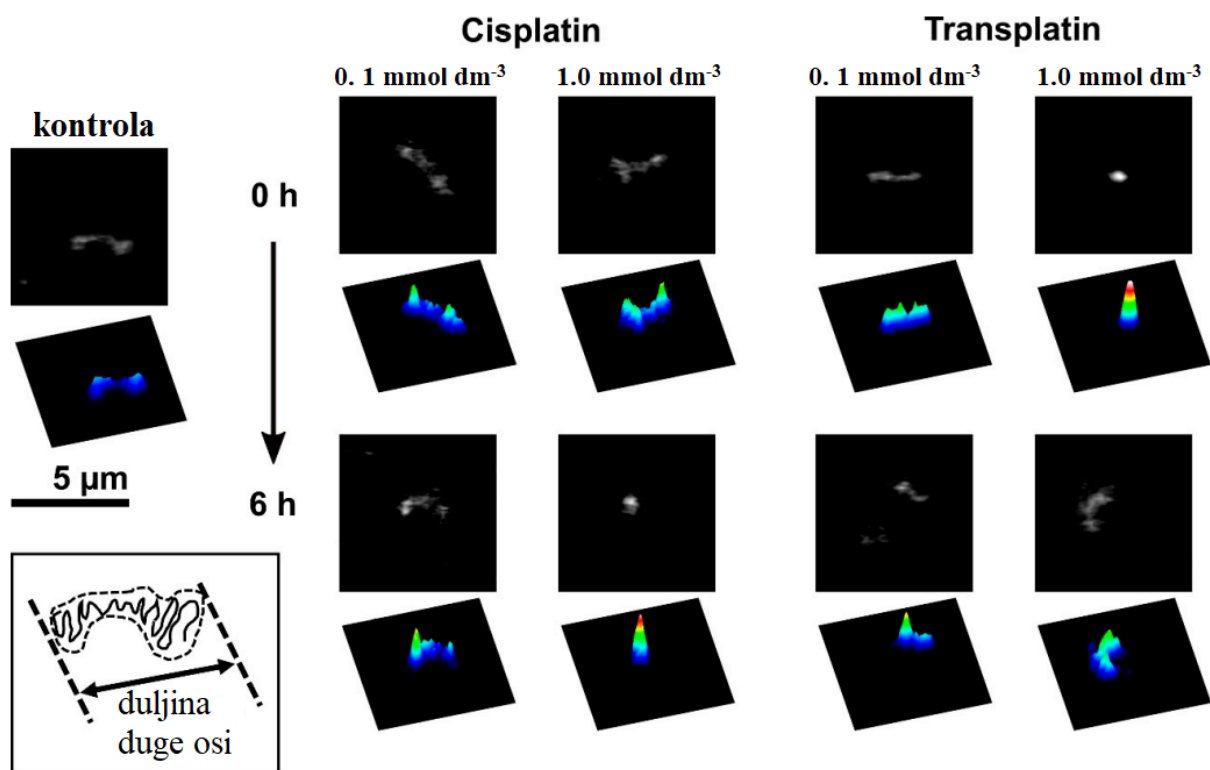
Primjećuje se da se povišenjem koncentracije cisplatina i transplatina smanjuje relativni intenzitet luminiscencije luciferaze. Ta je ovisnosti potom linearizirana (b, slika 3.) i dobiven je nagib za prirodni logaritam relativne luminiscencije u ovisnosti o koncentraciji cisplatina te iznosi -23.1 , a za prirodni logaritam relativne luminiscencije u ovisnosti o koncentraciji transplatina nagib iznosi -3.4 . Relativna luminiscencija se smanjuje povećanjem koncentracije kompleksa platine jer i cisplatin i transplatin inhibiraju ekspresiju luciferaze koja je izvor luminiscencije. Iz nagiba linearizirane ovisnosti (b, slika 3.) može se zaključiti da cisplatin inhibira ekspresiju gena gotovo 7 puta učinkovitije od transplatina.



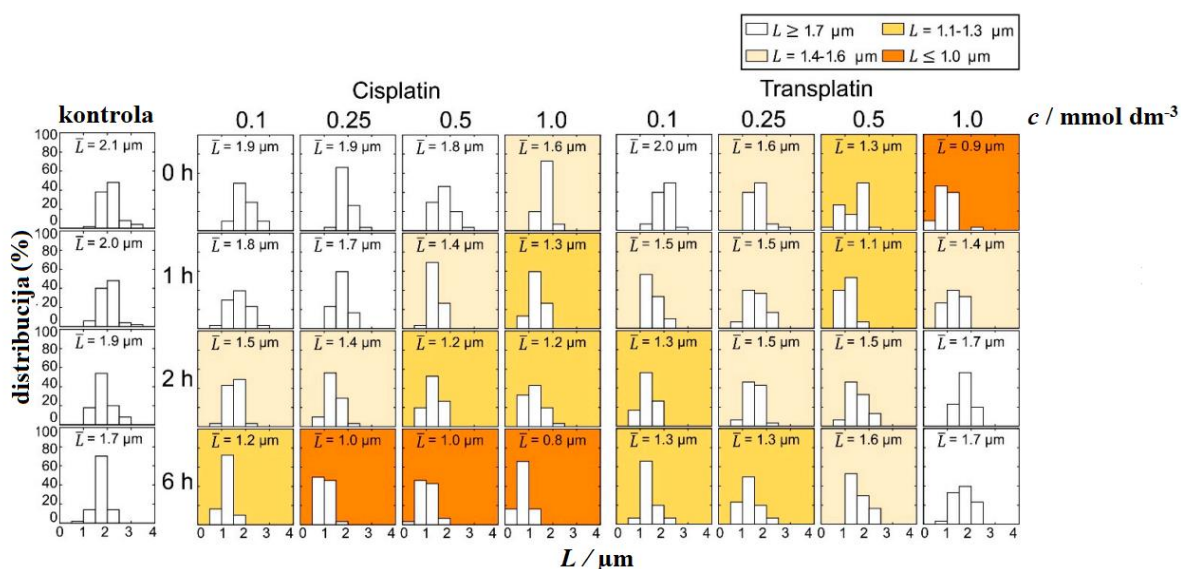
Slika 3. (a) Ovisnost relativne luminiscencije luciferaze (Z) o koncentracijama cisplatina i transplatina (c). (b) Ovisnost prirodnog logaritma relativne luminiscencije luciferaze ($\ln Z$) u ovisnosti o koncentracijama cisplatina i transplatina dobivena linearizacijom ovisnosti (a). Relativni intenzitet luminiscencije određen je iz intenziteta luminiscencije luciferaze s određenom koncentracijom cisplatina ili transplatina u odnosu na luminiscenciju luciferaze bez dodanog cisplatina ili transplatina. (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

2.1.2. Analiza stupnja uređenosti strukture DNA molekule fluorescencijskom mikroskopijom

Kishimoto i sur. fluorescencijskom mikroskopijom promatrali su promjene stupnja uređenosti DNA molekule uzrokovane interakcijom DNA molekule s cisplatinom i transplatinom.^x U analizi je korištena DNA molekula bakteriofaga T4 (166 kbp) čija je koncentracija iznosila $1.5 \mu\text{mol dm}^{-3}$ u nukleotidnim jedinicama. Korištene su koncentracije 0.1, 0.25, 0.5 i 1.0 mmol dm^{-3} cisplatina i transplatina u otopini DNA te je proučavana promjena duljine duge osi pojedinačnih DNA molekula tijekom 6 sati bez dodanih kompleksa platine i za svaku pojedinu koncentraciju cisplatina ili transplatina. Mjerena je promjena duljine duge osi za 50 različitih DNA molekula za svaki različiti uvjet koncentracije cisplatina ili transplatina. Slike fluorescencijske mikroskopije i prema njima napravljeni pseudotrodimenzijski profili za koncentracije 0.1 i 1.0 mmol dm^{-3} cisplatina i transplatina na početku i na kraju analize prikazuje slika 4. Na temelju izmjerenih duljina duge osi (L) za 50 proučavanih DNA molekula pri različitim koncentracijama cisplatina i transplatina tijekom 6 sati napravljeni su histogrami koji su prikazani na slici 5.

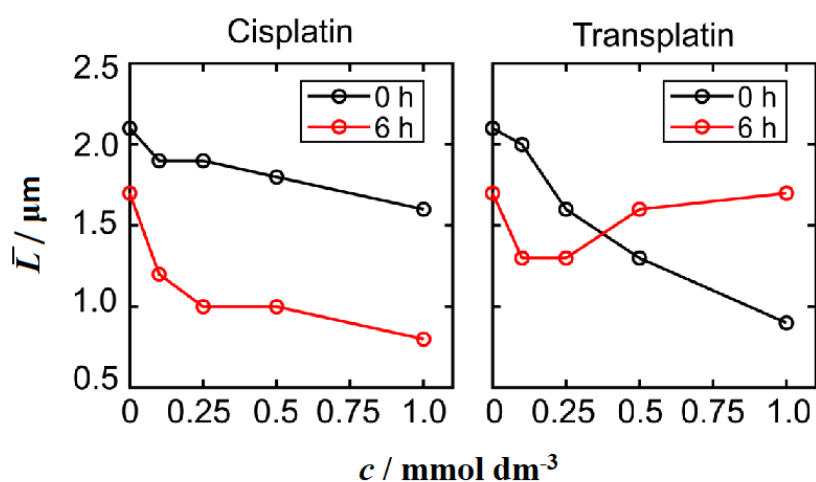


Slika 4. Snimke dobivene fluorescencijskom mikroskopijom i prema njima napravljeni pseudotrodimenzijski prikazi zasebnih DNA molekule bakteriofaga T4 (166 kbp) za koncentracije 0.1 i 1.0 mmol dm⁻³ cisplatina i transplatina na početku i na kraju analize. Koncentracija DNA molekula iznosila je 1.5 μmol dm⁻³ u nukleotidnim jedinicama, a kontrolna DNA molekula analizirana je bez dodatka kompleksa platine. (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹



Slika 5. Histogrami duljine duge osi (L) DNA molekula za različite koncentracije cisplatina i transplatina i različito vrijeme trajanja analize. Histogrami su napravljeni prema podacima dobivenima fluorescencijskom mikroskopijom 50 DNA molekula bakteriofaga T4 (166 kbp) za svaki uvjet, a konačna koncentracija DNA molekula iznosila je $1.5 \mu\text{mol dm}^{-3}$ u nukleotidnim jedinicama. Kontrolne DNA molekule proučavane su bez dodatka kompleksa platine. (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

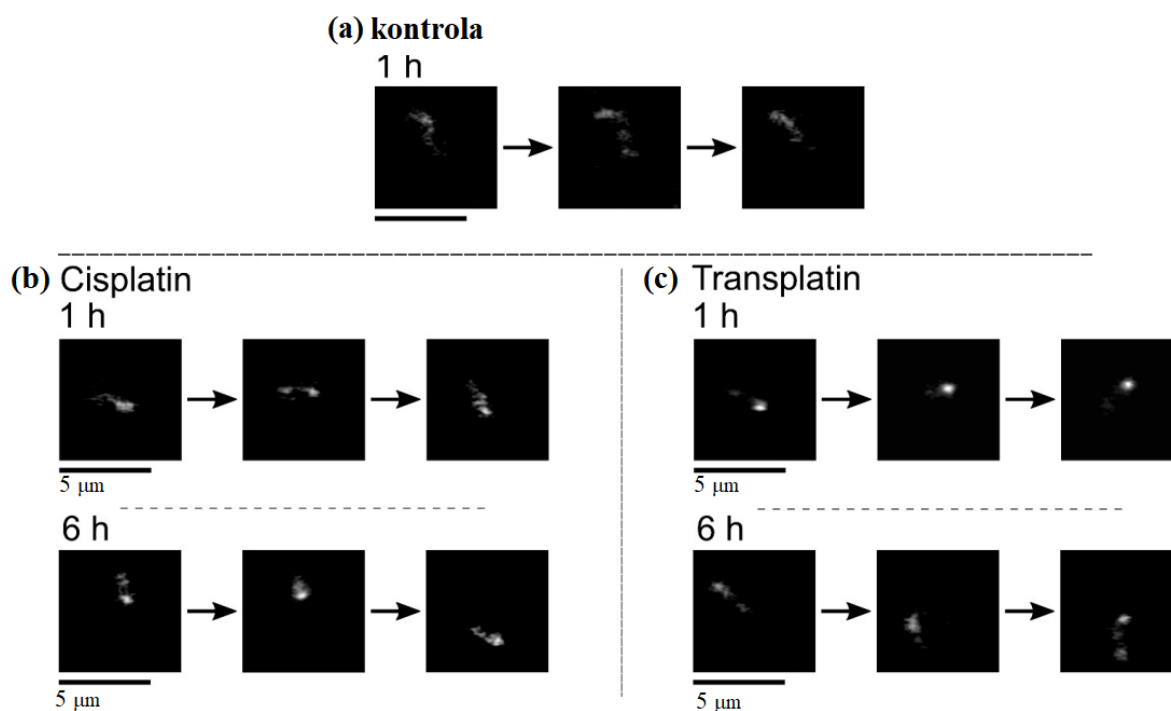
Na početku analize, odnosno u trenutku kada je otopini DNA dodan cisplatin, smanjuje se duga os DNA molekule čija je vrijednost to manja što je koncentracija dodanog cisplatina veća. S vremenom duga os DNA molekule sve je manja, a najveće sažimanje uočeno je nakon 6 sati analize i pri koncentraciji 1.0 mmol dm^{-3} dodanog cisplatina. Dodatkom transplatina također je uočeno smanjenje duge osi DNA molekule. Povećanjem koncentracije transplatina veće je smanjenje duge osi, nego smanjenje dobiveno povećanjem koncentracije cisplatina. Tijekom vremena DNA molekula se dodatno sažima pri koncentracijama 0.1 i $0.25 \text{ mmol dm}^{-3}$ transplatina dok se pri koncentracijama 0.5 i 1.0 mmol dm^{-3} transplatina tijekom vremena duljina duge osi povećava. Promjena prosječne duljine duge osi (\bar{L}) DNA molekule u ovisnosti o dodanoj koncentraciji (c) cisplatina i transplatina na početku i kraju analize prikazana je na slici 6.



Slika 6. Promjena prosječne duljine duge osi (\bar{L}) DNA molekule u ovisnosti o koncentraciji (c) cisplatina i transplatina na početku i nakon 6 sati od početka analize. Graf je napravljen prema podacima sa slike 5. (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

2.1.3. Konstanta elastičnosti i prigušenja DNA molekule

Osim promjene u stupnju uređenosti DNA molekule zbog vezanja cisplatina i transplatina, promatran je utjecaj ovih dvaju kompleksa na Brownovo gibanje DNA molekule. Brownovo gibanje zasebnih DNA molekula bakteriofaga T4 (166 kbp) promatrano je fluorescencijskom mikroskopijom, a dobivene snimke prikazane su na slici 7. Potom su iz oscilacija duge osi DNA molekula bez prisustva kompleksa platine i uz prisustvo 0.5 mmol dm^{-3} cisplatina i transplatina određene autokorelacijske funkcije, pomoću kojih su određene konstante elastičnosti i konstante prigušenja DNA molekula.



Slika 7. Slike analize Brownovog gibanja DNA molekule T4 bakteriofaga (166kbp) dobivene fluorescencijskom mikroskopijom. (a) Bez dodanih kompleksa platine, (b) dodan cisplatin, (c) dodan transplatin. Koncentracija cisplatina i transplatina iznosila je 0.5 mmol dm^{-3} , interval između svake slijedeće snimke u nizu iznosi 0.1 s, a analiza je trajala 6 h. (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

Određene su konstante elastičnosti i prigušenja DNA molekula pod utjecajem cisplatina i transplatina. Za izračun navedenih varijabla korišteni su podaci dobivene fluorescencijskom mikroskopijom.

Prvo je određena autokorelacijska funkcija iz ovisnosti duljine duge osi DNA molekule (L) o vremenu (t):

$$C(t) = \langle L(t) - \bar{L} \rangle \langle L(0) - \bar{L} \rangle \quad (1)$$

gdje je \bar{L} vremenski prosjek od duljine duge osi DNA molekule.

Autokorelacijske funkcije za ovisnosti duljine duge osi DNA molekule o vremenu bez dodanih kompleksa platine i s koncentracijom od 0.5 mmol dm^{-3} cisplatina i transplatina prikazuje slika 8.

Potom je iz teorijskog modela termalnih oscilacija mikroskopskih viskoelastičnih tijela s harmonijskim potencijalom određen izraz za autokorelacijsku funkciju uz dobru aproksimaciju te glasi:

$$C(t) \sim \frac{k_B T}{k} e^{-\gamma t} \cos \omega t \quad (2)$$

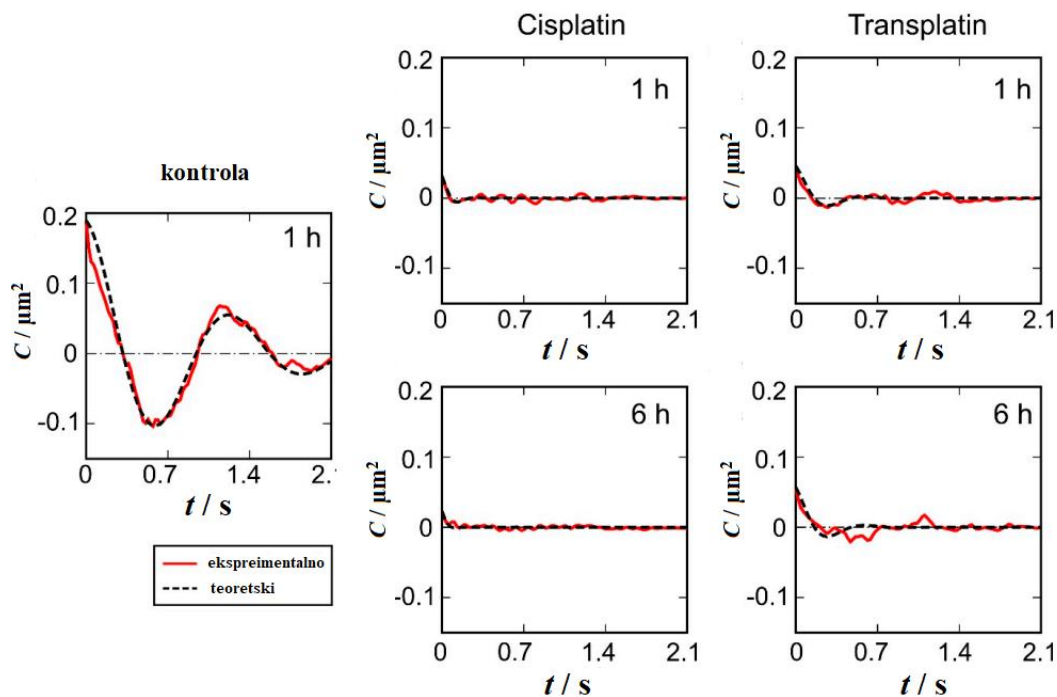
gdje je k_B Boltzmannova konstanta, T temperatura, k konstanta elastičnosti duge osi, γ konstanta prigušenja duge osi i ω kutna frekvencija.

Konstanta elastičnosti duge osi DNA molekule (k) određena je iz ovisnosti (2) za $t = 0$ te je dobiven izraz:

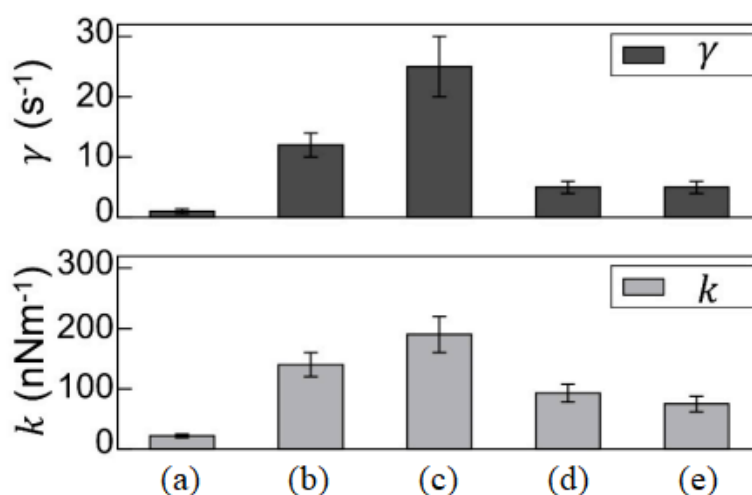
$$k \approx \frac{k_B T}{C(0)} \quad (3)$$

Konstanta prigušenja duge osi DNA molekule (γ) određena iz aproksimacije krivulje.

Prosječne vrijednosti za konstante elastičnosti i prigušenja za dugu os DNA molekule prikazuje slika 9. Konstanta elastičnosti iznosi $2.2 \pm 0.3 \times 10^{-8} \text{ Nm}^{-1}$, a konstanta prigušenja $1 \pm 0.4 \text{ s}^{-1}$ za DNA molekulu bez dodanih kompleksa platine. Vrijednosti navedenih konstanta je 10 puta veća nakon dodatka cisplatina te im vrijednost dodatno raste s vremenom. Dodatkom transplatina vrijednost konstanta povećava se 5 puta, ali za razliku od cisplatina, s vremenom njihove se vrijednosti smanjuju.



Slika 8. Ovisnost autokorelacijskih funkcija (C) za vremenski ovisnu promjenu duljine duge osi DNA molekule o vremenu (t) određenih prema jednadžbi (1): (a) bez dodanih kompleksa platine, (b) dodan cisplatin, (c) dodan transplatin. Autokorelacijske funkcije su napravljene prema podacima dobivenim fluorescenskom mikroskopijom. Proučavane su DNA molekule bakteriofaga T4 (166 kbp) čija je koncentracija iznosila $1.5 \mu\text{mol dm}^{-3}$ u nukleotidnim jedinicama, a koncentracije cisplatina i transplatina iznosile su 0.5 mmol dm^{-3} . (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

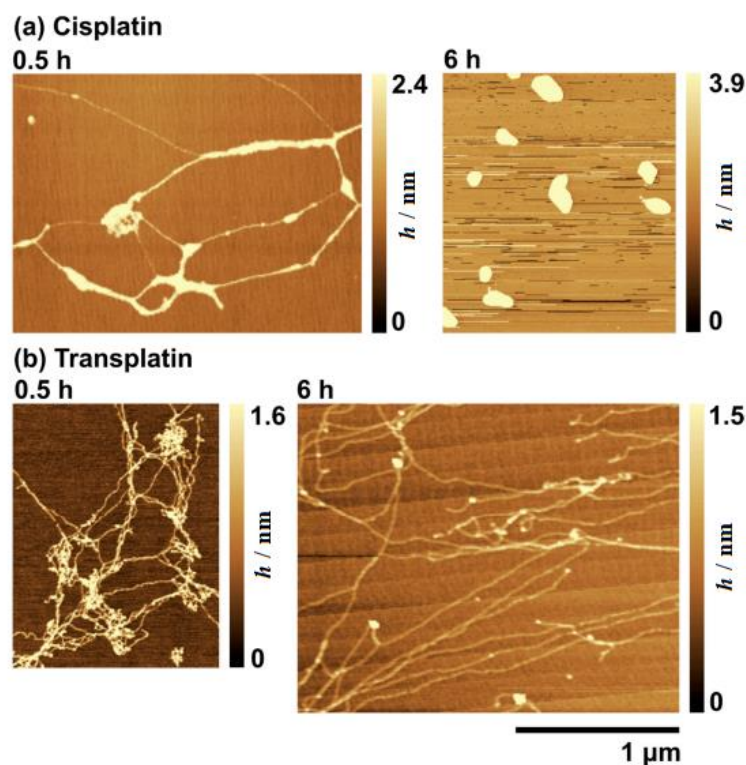


Slika 9. Vrijednosti konstante elastičnosti (k) i konstante prigušenja (γ) za T4 DNA molekule (166kbp) dobivene prema jednadžbama (2) i (3): (a) bez dodanih kompleksa platine, (b) 1h nakon dodavanja cisplatina, (c) 6h nakon dodavanja cisplatina, (d) 1h nakon dodavanja transplatina, (e) 6 h nakon dodavanja transplatina. Koncentracije oba kompleksa platine iznosile su 0.5 mmol dm^{-3} , a koncentracija DNA $1.5 \text{ }\mu\text{mol dm}^{-3}$ u nukleotidnim jedinicama. (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

2.1.4. Analiza stupnja uređenosti strukture DNA molekule pod utjecajem cisplatina i transplatina mikroskopijom atomskih sila

Kishimoto i sur. Su mikroskopijom atomskih sila analizirali promjena stupnja uređenosti DNA molekule pod utjecajem cisplatina i transplatina.¹⁹ Promatrana je DNA molekula bakteriofaga T4 (166 kbp) čija je konačna koncentracija tijekom analize iznosila $1.5 \text{ }\mu\text{mol dm}^{-3}$ u nukleotidnim jedinicama. Slike DNA molekula dobivene mikroskopijom atomskih sila u prisustvu 0.5 mmol dm^{-3} cisplatina i transplatina prikazuje slika 7.

DNA molekula nakon 0.5 h pod utjecajem cisplatina tvori paralelne tvorevine, koje se s vremenom sažimaju te nakon 6 h tvore guste tvorevine (a, slika 10). DNA molekula nakon 0.5 h pod utjecajem transplatina tvori mrežastu strukturu koja se nakon 6h vraća u početno stanje prije dodatka transplatina (b, slika 10).

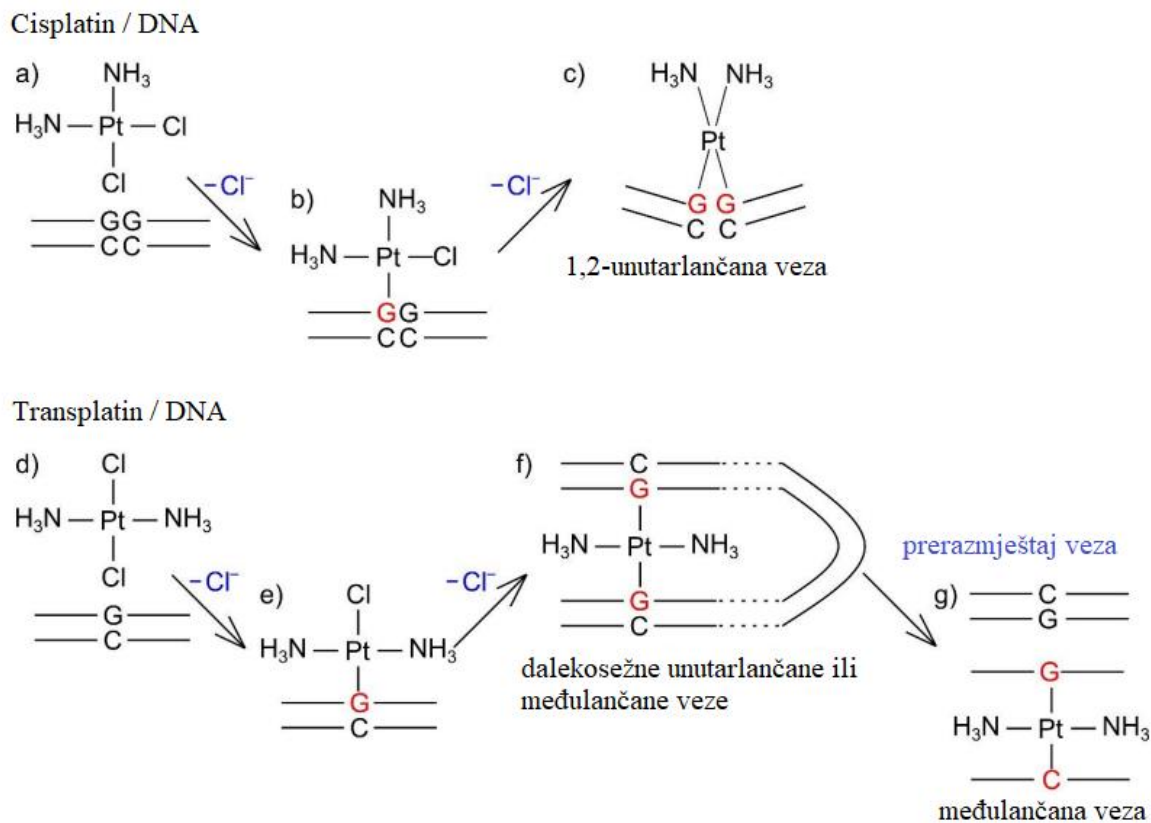


Slika 10. Slike DNA molekula bakteriofaga T4 (166 kbp) dobivene mikroskopijom atomskih sila. (a) DNA pod utjecajem 0.5 mmol dm^{-3} cisplatina. (b) DNA pod utjecajem 0.5 mmol dm^{-3} transplatina. Koncentracija DNA iznosi $1.5 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ u nukleotidnim jedinicama. ($h = \text{visina}$) (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

2.1.5. Usporedba utjecaja cisplatina i transplatina na uređenost strukture DNA molekule i ekspresiju gena

Kompleksi platine, odnosno cisplatin i transplatin, pokazuju citostatička svojstva. Cisplatin se zbog toga koristi u lijekovima protiv raka,⁵ a njegov stereoizomer transplatin, koji pokazuje slabiji citostatički efekt nego cisplatin se ne upotrebljava u praktičnim medicinskim svrhama.⁶ Jedan od načina na koji kompleksi platine postižu citotoksičnost prema stanicama raka je inhibicijom transkripcije.²⁰ Luciferazni test pokazao je da cisplatin inhibira transkripciju DNA molekule 7 puta više nego transplatin. Mikroskopijom atomskih sila i fluorescencijskom mikroskopijom promatrana je promjena uređenosti strukture DNA molekule. Uočeno je da povećanjem koncentracije cisplatina veće je sažimanje DNA molekule koja se dodatno sažme tijekom vremena. Transplatin pri manjim koncentracijama uzrokuje sažimanje poput cisplatina, no pri većim koncentracijama uzrokuje privremeno sažimanje DNA molekule. DNA molekula pod utjecajem cisplatina tijekom vremena tvori kompaktnu strukturu, dok pod utjecajem transplatina tvori privremenu mrežastu strukturu.

Promjenu duge osi DNA molekule prate konstanta elastičnosti i prigušenja, odnosno što je duga os DNA molekule kraća to su konstante elastičnosti i prigušenja veće. Mogući razlog tome je različiti način vezanja cisplatina i transplatina za DNA molekulu. Mehanizam vezanja ovih dvaju stereoizomera prikazuje slika 11. Cisplatin najviše tvori 1,2-unutarlančane adukte koji iskrivljuju lokalnu strukturu DNA molekule, odnosno strukturu dvostrukog heliksa, zbog čega se iskrivljuje struktura DNA molekule te se ona savija i sažima.^{9,21,22} Transplatin s druge strane najviše tvori međulančane adukte¹¹ i monofunkcionalne adukte.¹⁰ Monofunkcionalni adukti transplatina smanjuju negativan naboj okosnice DNA molekule koja se onda savija i sažima. Tako savijena DNA molekula prostorno približava nukleotide koji su inače udaljeni u primarnoj strukturi te omogućuje nastanak dalekosežnih bifunkcionalnih unutarlančanih ili međulančanih adukata. Potom zbog preraspodjele veza bifunkcionalni dalekosežni adukti transplatina postaju bliski međulančani adukti koji su energetski povoljniji te se sažeta struktura DNA molekule širi.¹¹



Slika 11. Mehanizam vezanja kompleksa platine na DNA molekulu. (a) Cisplatin i DNA. (b) Monofunkcionalni adukt cisplatina i DNA. (c) 1,2-međulančani adukt cisplatina i DNA. (d) Transplatin i DNA. (e) Monofunkcionalni adukt transplatina i DNA. (f) Dalekosežni unutarlančani ili međulančani bifunkcionalni adukt transplatina i DNA. (g) Bifunkcionalni bliski međulančani adukt transplatina. (prilagođeno prema: T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.)¹⁹

2.2. Paladijevi spojevi

2.2.1. Citostatičko djelovanje paladijevih kompleksa

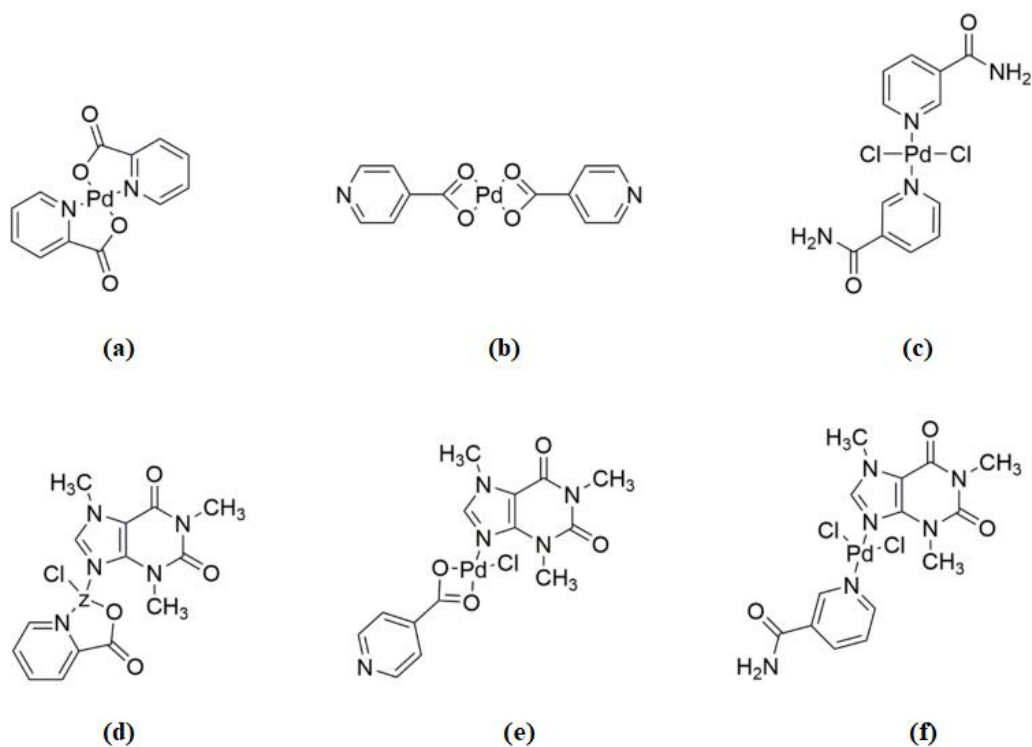
Iako su kompleksi platine(II) najčešće korišteni u lijekovima protiv malignih tumora, oni imaju svoje mane. Slaba topivost u vodi, visoka citotoksičnost prema zdravim stanicama, stečena otpornost kancerogenih stanica na lijekove te različite nuspojave koje uzrokuju u ljudi samo su neka od negativnih svojstava lijekova baziranih na kompleksima platine.^{5,12} Zbog navedenih negativnih svojstava znanstvenici su pokušali zamijeniti platinu u lijekovima temeljenim na kompleksima platine(II) ostalim prijelaznim metalima. Kao najbolja zamjena pokazao se paladij zbog sličnosti s platinom. I platina i paladij pripadaju niklovoj skupini elemenata periodnog sustava te imaju slična kemijska i fizikalna svojstva.¹⁴ Primjer toga je duljina veze između platine ili paladija i klora u spojevima poput $K_2[MCl_4]$ ($M = Pt, Pd$), u kojima duljina veze između platine i klora iznosi 2.316 Å, a između paladija i klora 2.318 Å.¹³ S druge strane spojevi paladija(II) su reaktivniji od spojeva platine(II).¹⁴ Kako bi se smanjila reaktivnost paladijevih spojeva, paladij je potrebno stabilizirati upotrebom točno određenih liganada.¹³

Paladijevi spojevi s citostatičkim svojstvom dijele se u dvije skupine: na skupina spojeva koja sadržava jedan atom paladija(II) u kompleksnom ionu i na skupinu spojeva koji sadržavaju dva atoma paladija(II) u kompleksnom ionu.²³ Paladij je u takvim spojevima najčešće koordiniran ligandima koji pokazuju biološku aktivnost poput piridina, kinolina, njihovih analoga i sličnih spojeva. Svi kompleksi paladija djeluju na sličan način. Jedan način citostatičnog djelovanja kompleksa paladija(II) jest da se vežu za DNA molekulu te poput kompleksa platine inhibiraju njenu replikaciju.²⁴ Osim na taj način, spojevi paladija uzrokuju apoptozu intrinzičnim i ekstrinzičnim načinom. Intrinzični put uključuje interakciju paladijevih kompleksa s proteinima koji reguliraju potencijal mitohondrijske membrane. Nakon smanjenja mitohondrijskog potencijala otpušta se citokrom c koji aktivira enzime kaspaze, odnosno nastaje kaspaza kaskada. Kaspaza kaskada uzrokuje programiranu smrt stanice, odnosno apoptozu. Ekstrinzični put uključuje djelovanje paladijevih spojeva na pretjeranu ekspresiju gena receptora domene smrti, odnosno povećava se ekspresija DR4 i DR5, koji su zaslužni za apoptozu stanice.¹⁵ Uočeno je i nakupljanje štetnih reaktivnih kisikovih vrsta u stanicama u kojima su prisutni paladijevi kompleksi jer oni djeluju na proteine s tiolnom skupinom, poput glutationa, glutation peroksidaze, glutation-s-transferaze i katalaze koji uklanjaju reaktivne kisikove vrste u stanici. Paladij se veže na navedene proteine i onesposobljuje ih.^{15,16}

2.2.2. Pregled novih kompleksa paladija

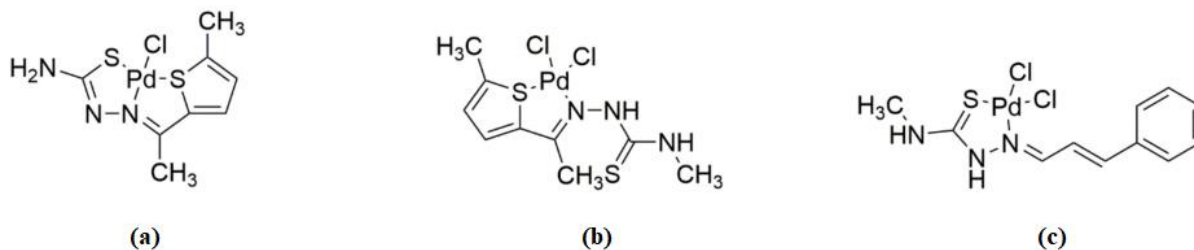
Paladijevi spojevi su se pokazali djelotvornima u suzbijanju stanica raka što je potaklo sintezu velikog broja paladijevih spojeva. Veliki broj paladijevih spojeva pokazuju citostatička svojstva koja se trenutno ispituju u laboratorijskim uvjetima te trenutno nemaju praktičnu primjenu u medicini.¹⁶

Pripravljani su kompleksi paladija(II) koji imaju koordinirana dva jednaka liganda poput nikotinamida, pikolinske i izonikotinske kiseline te kompleksi u kojima je jedan od njih zamijenjen kafeinom (slika 12). Svi spojevi aktivno suzbijaju stanice raka debelog crijeva i raka dojke. Od navedenih spojeva, paladij koji ima koordiniranu samo pikolinsku kiselinu pokazao je najjaču citostatičnu aktivnost prema stanicama raka.²⁵



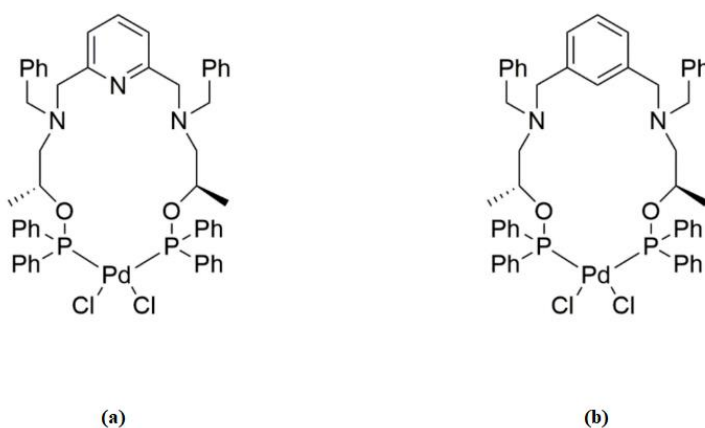
Slika 12. Kompleksi paladija(II) koordinirani sa slijedećim ligandima: (a) pikolinskom kiselinom, (b) izonikotinskom kiselinom, (c) nikotinamidom, (d) pikolinskom kiselinom i kafeinom, (e) izonikotinskom kiselinom i kafeinom, (f) nikotinamidom i kafeinom.

Također su sintetizirani kompleksi paladija(II) s ligandima koji sadrže sumpor, točnije derivate 2-acetil-5-metiltiofena (slika 13). Navedeni su spojevi pokazuju citostatička svojstva prema stanicama raka debelog crijeva, vrata maternice, dojke i prostate. Zanimljivo je da su od navedenih spojeva oni koji sadržavaju jedan sumpor neselektivni, dok su spojevi koji sadržavaju dva sumpora u svojoj strukturi selektivni na stanice raka.²⁶



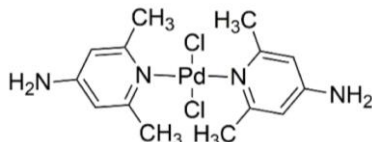
Slika 13. Kompleksi paladija(II) koordinirani s spojevima koji sadrže sumpor.

Zanimljivu skupinu spojeva čine koordinacijski spojevi paladija(II) čiji ligandi sadrže fosfor. Sintetizirana su dva paladijeva spoja s koordiniranim bisfosfinitnim ligandima (slika 14). Navedeni spojevi pokazuju citostatičko svojstvo prema stanicama raka pluća. Oba spoja uzrokuju apoptozu ekstrinzičnim putem, odnosno povećanjem receptora domene smrti pri čemu je spoj b (slika 14) učinkovitiji.²⁷



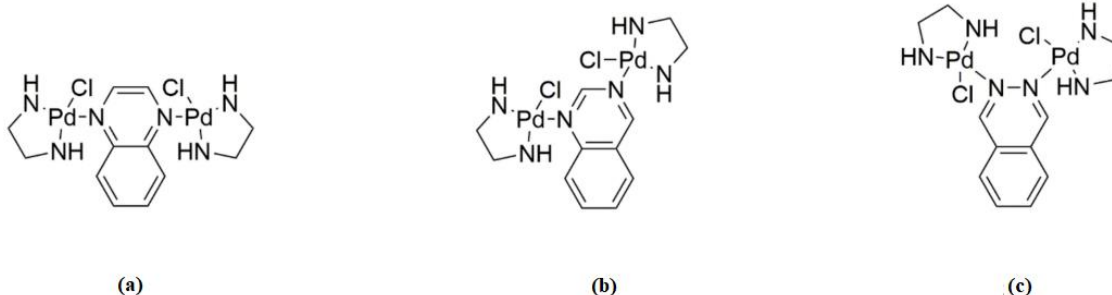
Slika 14. Paladijevi kompleksi koordinirani s bisfosfinitom.

Paladij kompleksiran 2,6-dimetil-4-nitropiridinom (slika 15) pokazao se kao potencijalan lijek u liječenju raka dojke. Ovaj spoj uzrokuje apoptozu u stanicama raka dojke četiri puta više od cisplatina.²⁸



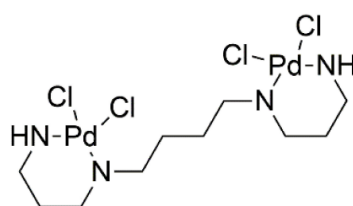
Slika 15. Kompleks paladija(II) u kojem je paladij koordiniran s 2,6-dimetil-4-nitropiridinom.

Osim sinteze mononuklearnih paladijevih spojeva, proteklih par godina sintetizirani su i dinuklearni kompleksi paladija(II) poput $[(\text{Pd}(\text{en})\text{Cl})_2(-\text{L})](\text{NO}_3)_2$, u kojima je L kinoksalin, kinazolin ili ftalazin (slika 16). Navedeni spojevi uzrokuju apoptozu stanica raka pluća i s manjom učinkovitosti apoptozu stanica raka debelog crijeva, a paladij koordiniran s kinazolinom pokazao se kao najučinkovitiji protiv obje vrste raka.²⁹



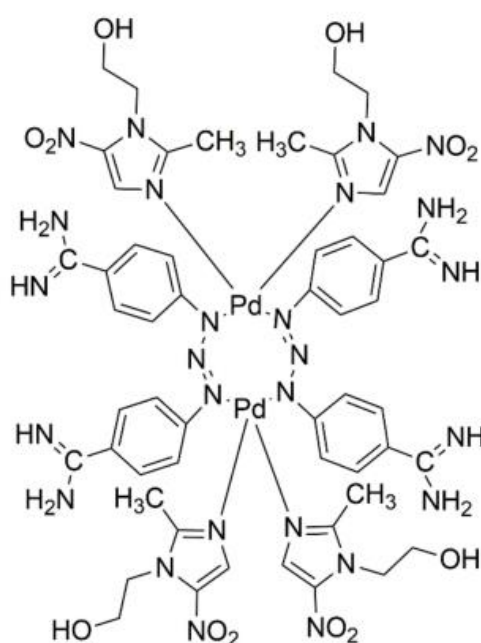
Slika 16. Dinuklearni kompleksi paladija(II) koordinirani s: (a) kinoksalinom, (b) kinazolinom, (c) ftalazinom.

Još jedan primjer dinuklearnog paladijevog (II) kompleksa predstavlja kompleks paladija(II) sa sperminom (slika 17). Ovaj spoj pokazuje citostatička svojstva prema stanicama raka koje su razvile otpornost na lijekove, a u samu stanicu ulazi pasivnom difuzijom. Također je pozitivno svojstvo ovoga spoja što se metabolički brže razgrađuje nego cisplatin.³⁰



Slika 17. Dinuklearni kompleks paladija(II) s ligandom sperminom.

Sintetiziran je paladijev(II) kompleks s ligandom nitroimidazolom (slika 18). Testiran je na stanicama raka dojke te je ustanovljeno da povećava koncentraciju kaspaza, odnosno događa se apoptoza stanice intrinzičnim putem. Ovaj spoj je triput više učinkovit nego cisplatin u uzrokovanju apoptoze u stanicama raka i također je djelotvoran na stanice koje su razvile otpornost na cisplatin i njegove derivate.³¹ Aktivni oblik ovoga spoja dobiva se cijepanjem triazinske veze čime se oslobađa paladij(II) koji je potom transportiran u stanice proteinskim transporterima.^{32,33}



Slika 18. Dinuklearni kompleks paladijeva(II) s ligandom nitroimidazolom.

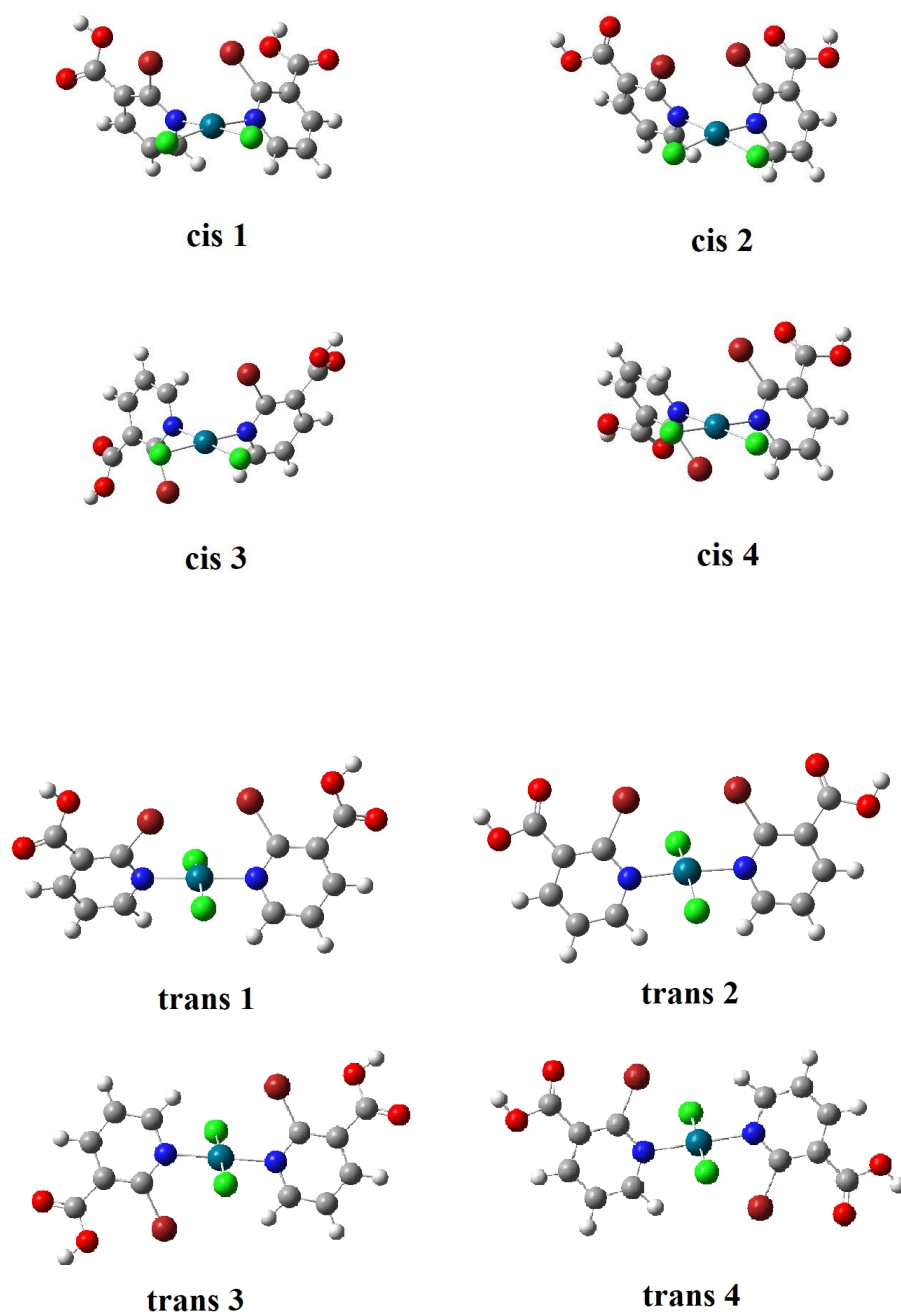
2.3. Računalne simulacije kompleksa paladija (II)

Kompleksi paladija(II) po mnogim su svojstvima slični kompleksima platine(II) zbog čega su se pokazali kao potencijalno izvrsna zamjena platini u lijekovima protiv raka baziranim na kompleksima platine(II).¹³ Najveća im je razlika to što su paladijevi kompleksi više reaktivni, odnosno podložniji hidrolizi. Zbog povećane reaktivnosti navedeni kompleksi ne uspijevaju doći do svojih bioloških meta u fiziološkim uvjetima kako bi terapijski djelovali. Kako bi se smanjila reaktivnost paladija, potrebno je koristiti specifične ligande da bi se postigla stabilizacija kompleksa i samim time povećala djelotvornost lijeka.¹⁴ Metode računalne kemije mogu pomoći u dizajnu novih kompleksnih spojeva paladija(II) te ispitivanjem njihovih svojstava ukazati na potencijalne kandidate za daljnju sintezu i biološka ispitivanja.

U sljedećem poglavlju bit će modelirano nekoliko novih kompleksa paladija(II) s ciljem ispitivanja njihovih strukturnih svojstava. Nedavno su difrakcijom rendgenskih zraka na jediničnom kristalu određene kristalne strukture četiri nova spoja u suradnji s doc. dr. sc. Boris-Markom Kukovcem sa Zavoda za fizikalnu kemiju, Odsjeka za kemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Dobivene geometrije spojeva su optimizirane i preliminarno izračunate energije interakcija kako bi se odredila jačina interakcija između molekula u kristalnoj strukturi. Također su uspoređene energije *cis* i *trans* konfiguracijskih stereoizomera kompleksa paladija(II).

2.3.1. Računalne simulacije *cis* i *trans* izomera paladijevog spoja

Prvo je uspoređivana stabilnost *cis* i *trans* izomera dvaju kompleksa paladija(II) s potencijalnim citostatičkim svojstvom. Navedeni kompleksi su $[\text{PdCl}_2(2\text{-BrnicH})_2]$ i $[\text{PdCl}_2(2\text{-ClnicH})_2]$ u kojima 2-ClnicH predstavlja 2-klornikotinsku kiselinu, a 2-BrnicH 2-bromnikotinsku kiselinu. Pomoću programa CRYSTAL17³⁴ najprije je optimizirana geometrija *trans* izomera kao što je pronađena u kristalnoj strukturi, a zatim su modifikacijama generirane nove geometrije *cis* i *trans* izomera koje su dodatno optimizirane kako bi se istražio konformacijski prostor. Energija je računata DFT metodom uz PBE³⁵ funkcional uz uključene Grimmeove D3³⁶ korekcije za disperzne interakcije. Korišten je pob-TZVP-rev2³⁷ osnovni skup preuzet sa stranice CRYSTAL17. Dobivene energije optimizacije *cis* i *trans* izomera kompleksa $[\text{PdCl}_2(2\text{-BrnicH})_2]$ i $[\text{PdCl}_2(2\text{-ClnicH})_2]$ prikazuju tablice 1 i 2, a geometrije slike 19 i 20. Strukture su vizualizirane programom GaussView 6.0.³⁸



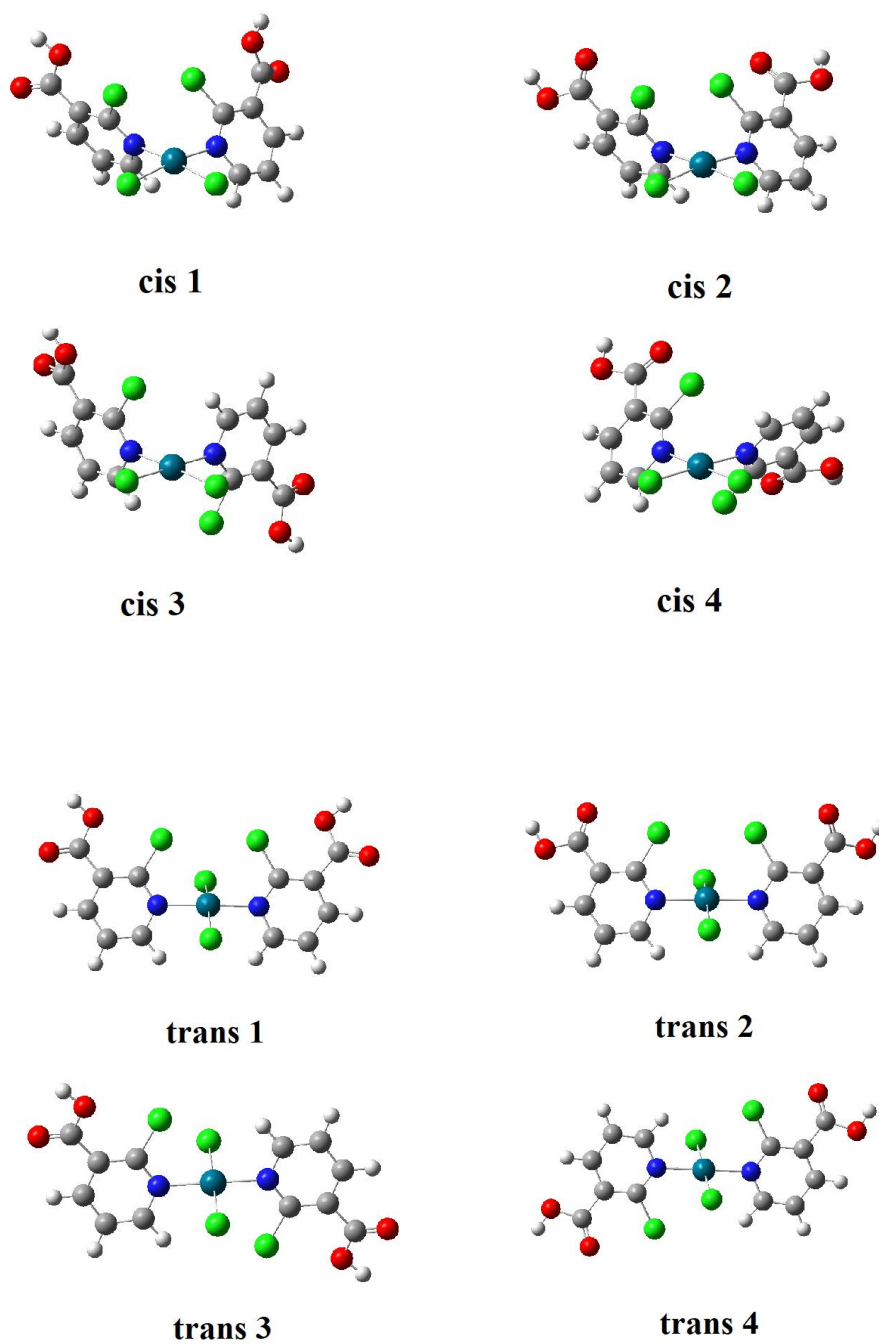
Slika 19. Optimizirane geometrije *trans* i *cis* izomera $[\text{PdCl}_2(2\text{-BrnichH})_2]$.

Tablica 1. Energije konfiguracijskih izomera [PdCl₂(2-BrnicH-N)₂]. ΔE je relativna energija izračunata relativno prema najstabilnijem *trans* izomeru.

| <i>cis</i> | $\Delta E / \text{kJ mol}^{-1}$ | <i>trans</i> | $\Delta E / \text{kJ mol}^{-1}$ |
|------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|
| 4 | 14,96 | 1 | 0,00 |
| 2 | 32,30 | 2 | 1,81 |
| 3 | 32,95 | 4 | 3,53 |
| 1 | 34,68 | 3 | 4,45 |

Tablica 1. Energije konfiguracijskih izomera [PdCl₂(2-ClnicH)₂]. ΔE je relativna energija izračunata relativno prema najstabilnijem *trans* izomeru.

| <i>cis</i> | $\Delta E / \text{kJ mol}^{-1}$ | <i>trans</i> | $\Delta E / \text{kJ mol}^{-1}$ |
|------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|
| 4 | 13,58 | 1 | 0,00 |
| 1 | 30,68 | 2 | 2,43 |
| 2 | 31,18 | 3 | 3,05 |
| 3 | 32,46 | 4 | 4,38 |



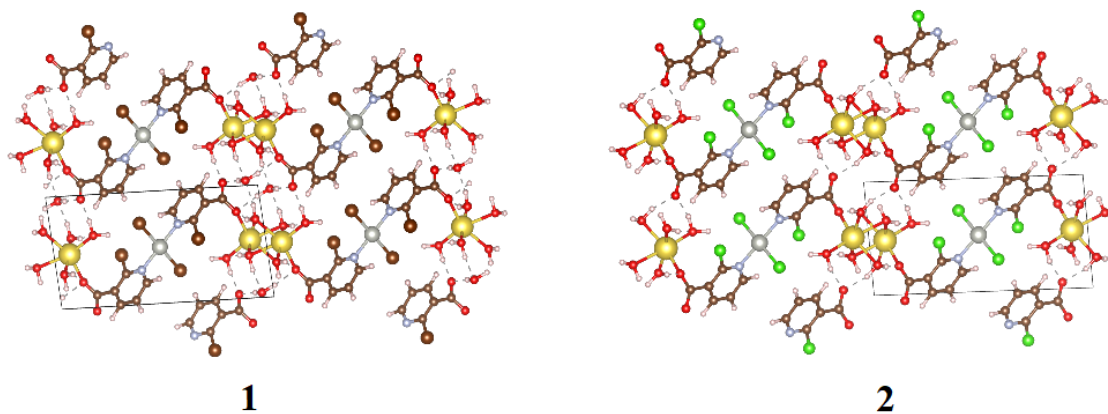
Slika 20. Optimizirane geometrije *trans* i *cis* izomera $[\text{PdCl}_2(2\text{-ClnicH})_2]$.

2.3.2. Računalne simulacije paladijevih spojeva

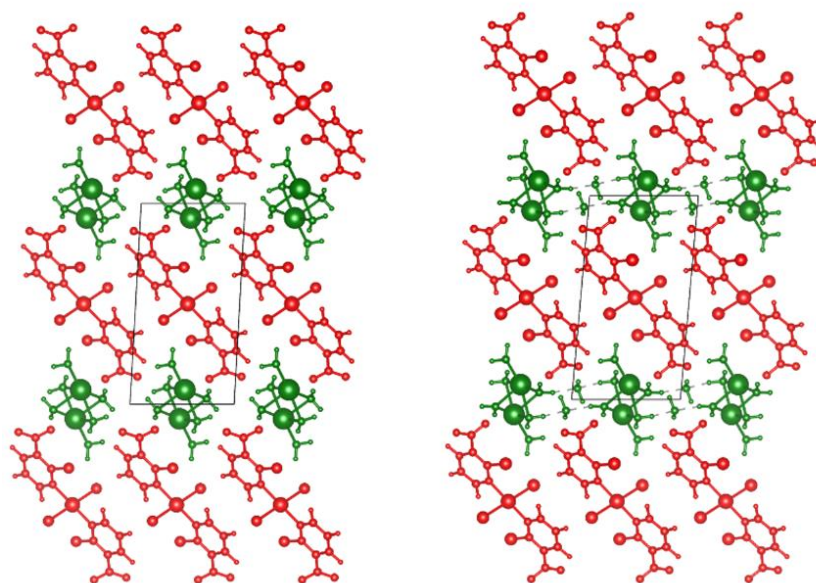
Modelirane su početne strukture sedam koordinacijskih spojeva paladija(II): $\{[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\mu\text{-H}_2\text{O})_4\text{PdBr}_2(\mu\text{-2-Brnic-N:O}')_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}\}_n$ (**1**), $\{[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\mu\text{-H}_2\text{O})_4\text{PdCl}_2(\mu\text{-2-Clnic-N:O}')_2]\}_n$ (**2**), $\{[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\mu\text{-H}_2\text{O})_4\text{PdCl}_2(\mu\text{-2-Clnic-N:O}')_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}\}_n$ (**3**), $\{[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\mu\text{-H}_2\text{O})_4\text{PdBr}_2(\mu\text{-2-Brnic-N:O}')_2]\}_n$ (**4**), $\{[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\mu\text{-H}_2\text{O})_4\text{PdCl}_2(\mu\text{-2-Brnic-N:O}')_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}\}_n$ (**5**), $\{[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\mu\text{-H}_2\text{O})_4\text{PdCl}_2(\mu\text{-2-Brnic-N:O}')_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}\}_n$ (**6**), $[\text{PdCl}_2(2\text{-BrnicH-N})_2] \cdot 2\text{DMF}$ (**7**), $[\text{PdCl}_2(2\text{-ClnicH-N})_2] \cdot 2\text{DMF}$ (**8**) prema sljedećim oznakama Brnic = 2-bromnikotinat, Clnic = 2-klornikotinat, BrnicH = 2-bromnikotinska kiselina, ClnicH = 2-klornikotinska kiselina.

Potom su navedene kristalne strukture podvrgnute optimizaciji geometrije pomoću programa CRYSTAL17.³⁴ Za njihovu optimizaciju odabrana je DFT metoda s PBE³⁵ funkcionalom uz Grimmeove D3³⁶ korekcije za disperzne sile. Korišten je pob-TZVP-rev2³⁷ osnovni skup preuzet iz baze osnovnih skupova za program CRYSTAL17. Prva dva optimizirana spoja bili su spoj **1** i spoj **2** (slika 21). Spoj **2** sadrži dva Na^+ iona koordinirana sa šest molekula vode $[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, dok spoj **1** također sadrži dva Na^+ iona koordinirana sa šest molekula vode $[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ te dodatno sadrži dvije kristalne vode $[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_8]^{2+}$.

Na prethodno optimiziranim geometrijama napravljeni su *Single Point* računi za svaki pojedini fragment Tako je napravljen *Single Point* račun za $[\text{PdBr}_2(\text{Brnic})_2]^{2-}$, tj. $[\text{Cl}_2(\text{Clnic})_2\text{Pd}]^{2-}$ i za $[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_8]^{2+}$, tj. $[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Energija interakcije izračunata je prema jednostavnom modelu $E_{A \cdots B} - (E_A + E_B)$ u kojem se $E_{A \cdots B}$ odnosi na energiju jedinične ćelije odabranog koordinacijskog spoja, E_A na energiju fragmenta A (crveno prikazan na slici 22.), a E_B na energiju fragmenta B (zeleno prikazan na slici 22). Izračunate energije geometrija prikazane su u tablici 2. Optimizirane strukture vizualizirane su programom VESTA 3.5.8.³⁹



Slika 21. Optimizirane strukture spojeva **1** i **2**.

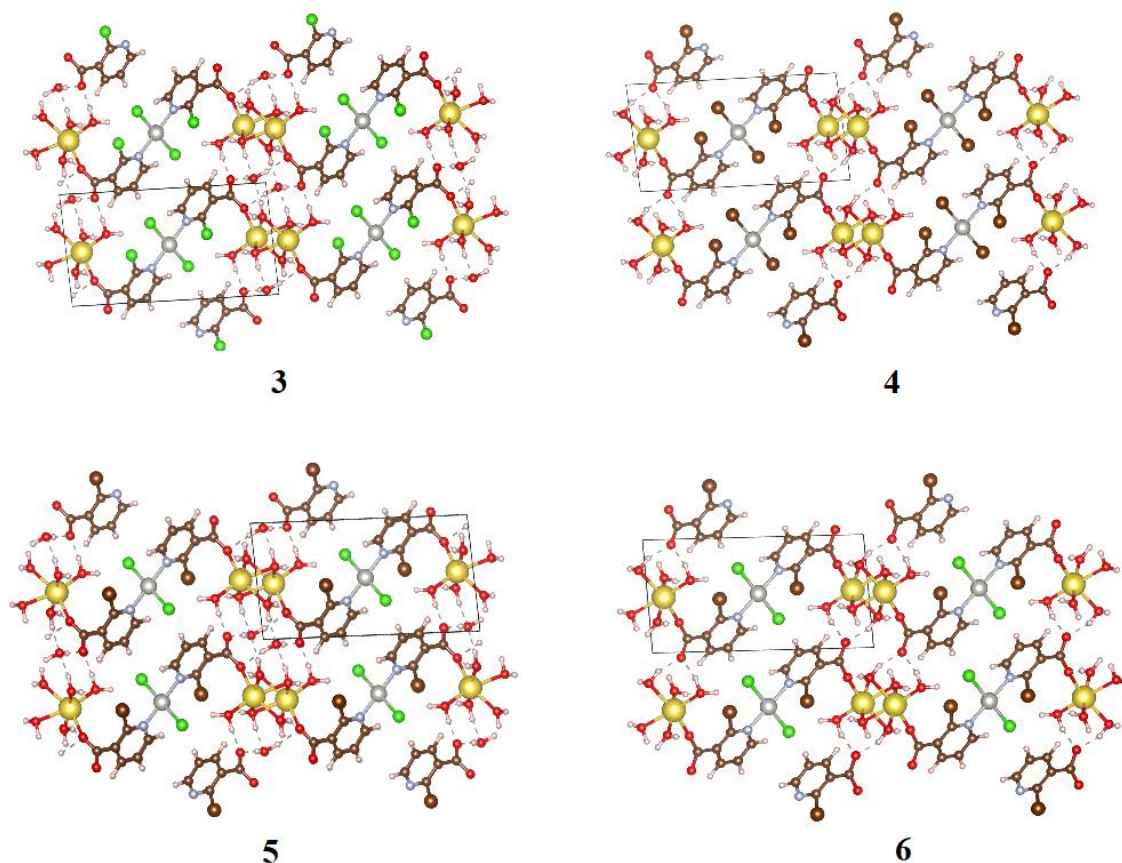


Slika 22. Optimizirane strukture spojeva **1** i **2** s naznačenim fragmentima $[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, tj. $[\text{Na}_2(\text{H}_2\text{O})_8]^{2+}$ i $[\text{Cl}_2(\text{Clnic})_2\text{Pd}]^{2-}$, tj. $[\text{PdBr}_2(\text{Brnic})_2]^{2-}$.

Tablica 2. Energije interakcija spoja **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7** i **8** (slika 21, 23, 24.). Energije su izračunate uporabom programa CRYSTAL17³⁴ na razini teorije PBE-D3/pob-TZVP-rev2.³⁵,
36, 37

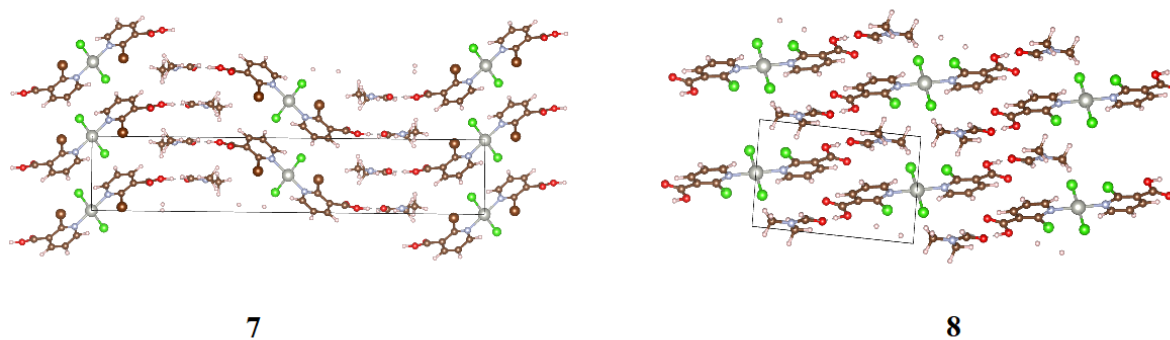
| | $E_{int} / \text{kJ mol}^{-1}$ | | $E_{int} / \text{kJ mol}^{-1}$ | | $E_{int} / \text{kJ mol}^{-1}$ |
|---------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|
| Spoj 1 | -1470,99 | Spoj 2 | -1462,53 | Spoj 7 | -579,68 |
| Spoj 3 | -1500,08 | Spoj 4 | -1301,43 | Spoj 8 | -504,17 |
| Spoj 5 | -1480,62 | Spoj 6 | -1425,30 | | |

Potom je napravljena optimizacija geometrija i parametara jediničnih ćelija za spojeve **3**, **4**, **5** i **6** (slika 23.). Struktura spoja **3** izvedena je iz spoja **1** tako da su svi atomi broma zamijenjeni atomima klora, dok je struktura spoja **5** također izvedena iz spoja **1**, ali na način da su samo atomi broma vezani na paladijev kation zamijenjeni atomima klora. Strukture spojeva **4** i **6** su izvedene iz spoja **2** na način da su u spoju **4** svi atomi klora iz spoja **2** zamijenjeni atomima broma, a u spoju **6** su samo atomi klora nikotinske kiseline spoja **2** zamijenjeni atomima broma. Energije interakcija izračunate su na slični način kao i za prethodno opisane spojeve **1** i **2**. Za to je ponovno korišten program CRYSTAL17³⁴ koristeći DFT metodu s PBE-D3^{35,36} razinom teorije te pob-TZVP-rev2³⁷ osnovnim skupom. Energije dobivene računima prikazuje tablica 1. Optimizirane strukture vizualizirane su programom VESTA 3.5.8.³⁹



Slika 23. Optimizirane strukture spojeva **3**, **4**, **5** i **6**.

Za kraj optimizirane su još strukture u kojima su koordinirani paladijevi kompleksi povezani „slojem“ dimetilformamida koji je zamijenio solvatirane natrijeve ione. Optimizirane strukture spojeva **7** i **8** prikazane su na slici 24. Napravljena je optimizacija strukture u programu CRYSTAL17³⁴ metodom DFT na razini teorije PBE³⁵ s Grimmeovom D3³⁶ korekcijom za disperzne sile. Korišten pob-TZVP-rev2³⁷ osnovni skup preuzet je sa internetske stranice za CRYSTAL17. Energija interakcije izračunata je prema prethodno opisanom modelu pri čemu je zbroj energija pojedinih fragmenata oduzet od ukupne energije kristala. Energije dobivene računom sadržava tablica 1. Optimizirane strukture vizualizirane su programom VESTA 3.5.8.³⁹



Slika 24. Optimizirane strukture spojeva **7** i **8**.

2.3.3. Rasprava i zaključak

Računalnim simulacijama optimizirano je nekoliko spojeva paladija(II) s potencijalnim citostatičkim učinkom. Prvo je analizirana energija optimiziranih geometrija za svaki od $[\text{PdCl}_2(2\text{-BrnicH})_2]$ i $[\text{PdCl}_2(2\text{-ClnicH})_2]$ kompleksa kako bi se odredio stabilniji konfiguracioni izomer. U oba kompleksa energija *trans*-izomera bila je za oko 30 kJ mol^{-1} manja od energije *cis*-izomera. Većoj stabilnosti *trans*-izomera vjerojatno je razlog veća međusobna udaljenost između 2-BrnicH liganada u kompleksu $[\text{PdCl}_2(2\text{-BrnicH})_2]$ i 2-ClnicH u kompleksu $[\text{PdCl}_2(2\text{-ClnicH})_2]$, zbog čega postoje manje steričke smetnje nego u *cis*-izomeru.

Potom su periodičkim DFT metodama modelirane jedinične ćelije spojeva s *trans*-izomerom paladija(II) te je izračunata energija interakcije između pojedinih fragmenata u kristalnoj strukturi. Na temelju postojećih kristalnih struktura modelirani su spoj **1** i spoj **2**. U oba kompleksa paladijevi kationi koordinirani su dvama halogenidima i dvama ligandima supstituiranog nikotinata preko dušikovog atoma (slika 22). Obje molekule derivata nikotinata preko kisikovog atoma karboksilne skupine koordinirani su na atom natrija. Na taj način tvore lančastu strukturu koja se naizmjenično sastoji od atoma natrija i paladija koji su međusobno premošteni molekulama derivata nikotinata. Natrij je u obje strukture koordiniran, osim s navedenim derivatom nikotinata, dodatno sa šest molekula vode, od kojih su četiri molekule premošćujuće između susjednih atoma natrija. Na taj način nastaju strukture dvodimenzijskih heterometalnih ploča. Heterometalne ploče međusobno su povezane vodikovim vezama koje nastaju između molekula vode koje su koordinirane na natrij i kisikov atom karboksilne skupine nikotinata. Spoj **1**, za razliku od spoja **2**, sadrži dvije molekule kristalne vode. Izračunata je energija interakcije između $[\text{PdX}_2(2\text{-Xnic})_2]$ ($\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}$) i $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_n]$ fragmenata obaju spojeva te je energija interakcije spoja **1** ($-1470,99 \text{ kJ mol}^{-1}$) bila negativnija od energije interakcije spoja **2** ($-1462,53 \text{ kJ mol}^{-1}$) što ukazuje na jače interakcije između dvaju fragmenata u **1**.

Kako bi se ispitaio utjecaj različitih halogenida na energiju interakcije (tablica 2), iz spoja **1** izvedeni su spojevi **3** i **5**, a iz spoja **2** spojevi **4** i **6**. Kristalna voda u spojevima **1**, **3** i **5** tvori dodatne vodikove veze s nikotinatom i molekulama vode koje su koordinirane na atom natrija što je vjerojatno uzrok nižoj energiji interakcija ovih spojeva u usporedbi sa spojevima **2**, **4** i **6**, kada se izravno usporede energije interakcija za analoge s jednakim rasporedom halogenida,

odnosno za parove spojeve **1** ($-1470,99 \text{ kJ mol}^{-1}$) i **4** ($-1301,43 \text{ kJ mol}^{-1}$), **2** ($-1462,53 \text{ kJ mol}^{-1}$) i **3** ($-1500,08 \text{ kJ mol}^{-1}$), odnosno **5** ($-1480,62 \text{ kJ mol}^{-1}$) i **6** ($-1425,30 \text{ kJ mol}^{-1}$).

Energije interakcija izračunate za prethodno opisane spojeve negativnije su od energija interakcija izračunatih spojeve **7** ($-579,68 \text{ kJ mol}^{-1}$) i **8** ($-504,17 \text{ kJ mol}^{-1}$) u kojima su koordinirani natrijevi ioni zamijenjeni dimetilformamidom. Budući da ovdje u interakciju stupaju neutralni ligandi 2-bromnikotinske kiseline koordinirani na paladij, interakcije su slabije u odnosu na spojeve koji umjesto dimetilformamida sadrže pozitivno nabijene vodom koordinirane natrijeve iona u interakciji s nikotinatnim ligandima.

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (datum pristupa: 30.4.2023.)
2. B. Rosenberg, *Interdiscip. Sci. Rev.* **3** (1978) 134–147.
3. B. Rosenberg, L. Vancamp, J.E. Trosko, V.H. Mansour, *Nature* **222** (1969) 385–386.
4. J.D. Hainsworth, D.H. Johnson, F.A. Greco, *J. Clin. Oncol.* **10** (1992) 912–922.
5. R. Czarnomysy, D. Radomska, O.K. Szewczyk, P. Roszczenko, K. Bielawski, *Int. J. Mol. Sci.* **22** (2021) 8271.
6. N.P. Johnson, J.D. Hoeschele, R.O. Rahn, J.P. O'Neill, A.W. Hsie, *Cancer Res.* **40** (1980) 1463–1468.
7. P.C. Dedon, R.F. Borch, *Biochem. Pharmacol.* **36** (1987) 1955–1964.
8. A.J. Zelazowski, J.S. Garvey, J.D. Hoeschele, *Arch. Biochem. Biophys.* **229** (1984) 246–252.
9. A.M.J. Fichtinger-Schepman, J.L. Van der Veer, J.H.J. Den Hartog, P.H.M. Lohman, J. Reedijk, *Biochemistry* **24** (1985) 707–713.
10. A. Eastman, M.A. Barry, *Biochemistry* **26** (1987) 3303–3307.
11. V. Brabec, M. Leng, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90** (1993) 5345–5349.
12. R. Oun, Y.E. Moussa, N.J. Wheate, *Dalton Trans.* **19** (2018) 6645–6653.
13. M. Ashiq, M. Danish, M. A. Mohsin, S. Bari, F. Mukhtar, *Int. J. Sci. Basic Appl. Res.* **7** (2013) 50–61.
14. A. S. Abu-Surrah, H. H. Al-Sa'doni, M. Y. Abdalla, *Cancer Ther.* **6** (2008) 1–10.
15. T.J. Carneiro, A.S. Martins, M.P.M. Marques, A.M. Gil, *Front. Oncol.* **10** (2020) 590970
16. T. Scattolin, V.A. Voloshkin, F. Visentin, S.P. Nolan, *Cell Rep. Phys. Sci.* **2** (2021) 100446.
17. F. Jensen, *Introduction to computational chemistry*, John Wiley & Sons, Chichester, 2007.
18. F. Fan, K. V. Wood, *Assay Drug Dev. Technol.* **5** (2007) 127–136.
19. T. Kishimoto, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, S. Komeda, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2019) 34.
20. E.R. Jamieson, M.P. Jacobson, C.M. Barnes, C.S. Chow, S.J. Lippard, *B. J. Biol. Chem.* **274** (1999) 12346–12354.
21. D. Yang, S.S.G.E. van Boom, J. Reedijk, J.H. van Boom, A.H.J. Wang, *Biochemistry* **34** (1995) 12912–12920.

22. S.S. Van Boom, D. Yang, J. Reedijk, G.A. van der Marel, A.H. Wang, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **13** (1996) 989–998.
23. E. Gao, C. Liu, M. Zhu, H. Lin, Q. Wu, L. Liu, *Anticancer Agents Med. Chem.* **9** (2009) 356–368.
24. E. Gao, L. Liu, M. Zhu, Y. Huang, F. Guan, X. Gao, M. Zhang, L. Wang, W. Zhang, Y. Sun, *Inorg. Chem.* **50** (2011) 4732–4741
25. F.A. Al-Saif, J.Y. Al-Humaidi, D.N. Binjawhar, M.S. Refat, *J. Mol. Struct.* **1218** (2020) 128547.
26. E. A. Nyawade, N. R. Sibuyi, M. Meyer, R. Lalancette, M. O. Onani, *Inorg. Chim. Acta* **515** (2021) 120036.
27. O. Tokgun, D.E. Karakas, S. Tan, E.R. Karagür, B. İnal, H. Akca, F. Durap, A. Baysal, M. Aydemir, *Chem. Pap.* **74** (2020) 2883–2892.
28. S. Aliwaini, J. Peres, W.L. Kröger, A. Blanckenberg, J. de la Mare, A.L. Edkins, S. Mapolie, S. Prince, *Cancer Lett.* **357** (2015) 206–218.
29. A. A. Franich, M.D. Živković, D. Čočić, B. Petrović, M. Milovanović, A. Arsenijević, J. Milovanović, D. Arsenijević, B. Stojanović, M.I. Djuran, S. Rajković, *J. Biol. Inorg. Chem.* **24** (2019) 1009–1022.
30. M. Vojtek, S. Gonçalves-Monteiro, E. Pinto, S. Kalivodová, A. Almeida, M.P.M. Marques, A.L.M. Batista de Carvalho, C.B. Martins, H. Mota-Filipe, I. Ferreira, C. Diniz, *Pharmaceuticals* **14** (2021) 173.
31. R. Czarnomysy, D. Radomska, A. Muszyńska, J.M. Hermanowicz, I. Prokop, A. Bielawska, K. Bielawski, *Molecules* **25** (2020) 2860.
32. M. Campbell, R.J. Pranker, A.S. Davie, W.N. Charman, *J. Pharm. Pharmacol.* **56** (2004) 1327–1332.
33. S. Ishida, J. Lee, D.J. Thiele, I. Herskowitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99** (2002) 14298–14302.
34. R. Dovesi, A. Erba, R. Orlando, C. M. Zicovich-Wilson, B. Civalleri, L. Maschio, M. Rerat, S. Casassa, J. Baima, S. Salustro, B. Kirtman, *WIREs Comput Mol Sci.* **8** (2018) e1360.
35. J. P. Perdew, K. Burke, Y. Wang, *Physical review B* **54** (1996) 16533.
36. S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, S. Krieg, *J. Chem. Phys.* **132** (2010) 154104.
37. F. Weigend, R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7** (2005) 3297–3305.

-
38. GaussView, Version 6, Dennington, Roy; Keith, Todd A.; Millam, John M. Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2016.
 39. K. Momma, F. Izumi, *J. Appl. Crystallogr.* **44** (2011) 1272–1276.