



UNIWERSYTET  
MEDYCZNY  
W ŁODZI

**Dr n. farm. Urszula Kalinowska-Lis**

*AUTOREFRAT*

*Poszukiwanie związków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej  
i cytotoksycznej w grupie nowych kompleksów srebra(I) i miedzi(II)  
z pochodnymi (benz)imidazolu i pirydyny*

**Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
Wydział Farmaceutyczny  
Katedra Chemii Medycznej  
Zakład Chemii Bionieorganicznej**

Łódź 2016

## SPIS TREŚCI

1. IMIĘ I NAZWISKO.....	3
2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE.....	3
3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU.....	3
4. PREZENTACJA OSIĄGNIĘĆ STANOWIĄCYCH PODSTAWĘ HABILITACJI (WYNIKAJĄCYCH Z ART. 16, UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ.U. NR 65, POZ. 595, ZE ZM.) .....	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	4
4.2. Wykaz publikacji stanowiących podstawę habilitacji.....	4
4.3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników.....	5
4.3.1. Wprowadzenie.....	5
4.3.2. Cel i zakres przeprowadzonych badań.....	8
4.3.3. Omówienie wyników przeprowadzonych badań.....	9
4.3.3.1. Synteza i charakterystyka kompleksów srebra(I).....	9
4.3.3.2. Synteza i charakterystyka kompleksów miedzi(II).....	19
4.3.3.3. Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej kompleksów Ag(I) i Cu(II).....	23
4.3.3.4. Badania aktywności cytotoksycznej związków kompleksowych srebra(I).....	28
4.3.4. Podsumowanie osiągnięć stanowiących podstawę habilitacji.....	30
5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH.....	39
5.1. Liczbowe zestawienie dorobku naukowego.....	39
5.2. Omówienie działalności naukowo-badawczej przed uzyskaniem stopnia doktora.....	40
5.3. Omówienie działalności naukowo-badawczej po uzyskaniu stopnia doktora.....	41

## 1. Imię i Nazwisko

Urszula Kalinowska-Lis

## 2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł pracy doktorskiej

### 2005 *stopień doktora nauk farmaceutycznych – z wyróżnieniem*

Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Chemii Medycznej, Zakład Chemii Bionieorganicznej

*tytuł pracy doktorskiej:* „Synteza, spektroskopia i aktywność biologiczna fosforanowych związków heterocyklicznych i ich kompleksów Pt(II) i Pd(II)”

*promotor:* Prof. dr hab. Justyn Ochocki

*recenzenci:* Prof. dr hab. Elżbieta Mikiciuk-Olasik (Uniwersytet Medyczny w Łodzi)  
Prof. dr hab. Andrzej Cygański (Politechnika Łódzka)

### 1998 *tytuł magistra chemii*

Uniwersytet Łódzki, Wydział Fizyki i Chemii, Katedra Chemii Organicznej

*tytuł pracy magisterskiej:* „Hydrolityczne transformacje *O,O*-dialkilo 1-(*N*-acetylo-amino)alkanofosfonianów”

*promotor:* Prof. dr hab. Zbigniew Kudzin

## 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

**Uniwersytet Medyczny w Łodzi** (do 2002 r. Akademia Medyczna w Łodzi)

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Chemii Medycznej  
Zakład Chemii Bionieorganicznej

adiunkt	01.03.2007 – do chwili obecnej
asystent	01.10.2004 – 28.02.2007
starszy referent inżynierijno-techniczny	10.05.1999 – 30.09.2004

**4. Prezentacja osiągnięć stanowiących podstawę habilitacji** (wynikających z art. 16, ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595, ze zm.)

#### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

*Poszukiwanie związków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej i cytotoksycznej w grupie nowych kompleksów srebra(I) i miedzi(II) z pochodnymi (benz)imidazolu i pirydyny.*

Podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego stanowi cykl 8 publikacji oryginalnych o łącznym współczynniku oddziaływania (IF) równym **20,104** i wartości punktacyjnej MNiSW **232**, opublikowanych w latach 2009-2016.

#### 4.2. Wykaz publikacji stanowiących podstawę habilitacji

- [P-1]** U. Kalinowska-Lis\*, A. Felczak, L. Chęcińska, I. Szablowska-Gadomska, E. Patyna, M. Małecki, K. Lisowska, J. Ochocki  
„Antibacterial activity and cytotoxicity of silver(I) complexes of pyridine and (benz)imidazole derivatives. X-ray crystal structure of [Ag(2,6-di(CH<sub>2</sub>OH)py)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>”  
*Molecules* **2016**, *21*(2), 87.  
IF= 2,416; punktacja MNiSW: 30
- [P-2]** U. Kalinowska-Lis\*, A. Felczak, L. Chęcińska, M. Małecka, K. Lisowska, J. Ochocki „Influence of selected inorganic counter-ions on the structure and antimicrobial properties of silver(I) complexes with imidazole-containing ligand”  
*New J. Chem.* **2016**, *40*, 694-704.  
IF= 3,089; punktacja MNiSW: 30
- [P-3]** U. Kalinowska-Lis\*, A. Felczak, L. Chęcińska, K. Zawadzka, E. Patyna, K. Lisowska, J. Ochocki  
„Synthesis, characterization and antimicrobial activity of water-soluble silver(I) complexes of metronidazole drug and selected counter-ions”  
*Dalton Trans.* **2015**, *44*, 8178-8189.  
IF= 4,197; punktacja MNiSW: 40
- [P-4]** U. Kalinowska-Lis\*, E.M. Szewczyk, L. Chęcińska, J.M. Wojciechowski, W.M. Wolf, J. Ochocki  
„Synthesis, characterization and antimicrobial activity of silver(I) and copper(II) complexes of phosphate derivatives of pyridine and benzimidazole”  
*ChemMedChem* **2014**, *9*(1), 169-176.  
IF= 2,968; punktacja MNiSW: 30
- [P-5]** U. Kalinowska-Lis\*, A. Felczak, L. Chęcińska, K. Lisowska, J. Ochocki  
„Synthesis, characterization and antimicrobial activity of silver(I) complexes of hydroxymethyl derivatives of pyridine and benzimidazole”  
*J. Organomet. Chem.* **2014**, *749*, 394-399.  
IF= 2,173; punktacja MNiSW: 30

- [P-6] U. Kalinowska-Lis\***, B. Żurowska, K. Ślepokura, J. Ochocki  
„Coordination properties of ethyl bis(pyridin-2-ylmethyl)phosphate ligand with copper and zinc chloride. X-ray crystal structure of Cu(II) complex”  
*Inorg. Chim. Acta* **2011**, 376, 18-22.  
IF= 1,846; punktacja MNiSW: 25
- [P-7] U. Kalinowska-Lis\***, B. Żurowska, J. Ochocki  
„Spectroscopic and magnetic evidence for coordination properties of bioactive diethyl (pyridin-4-ylmethyl)phosphate ligand with chloride transition-metal ions”  
*Chem. Pap.* **2011**, 65 (5), 660-666.  
IF= 1,096; punktacja MNiSW: 20
- [P-8] B. Żurowska\***, **U. Kalinowska-Lis**, A. Brzuszkiewicz, J. Ochocki  
„Spectroscopic and magnetic properties of diethyl (pyridin-4-ylmethyl)phosphate (4-pmOpe) ligand with perchlorate transitionmetal salts. Crystal structure of [Cu(4-pmOpe)<sub>2</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]”  
*Inorg. Chim. Acta* **2009**, 362, 1435-1440.  
IF= 2,322; punktacja MNiSW: 27  
\*autor korespondencyjny

*Opis indywidualnego wkładu habilitanta w powstanie każdej z wieloautorskich publikacji znajduje się w Załączniku 4 (Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki).*

*Oświadczenia współautorów określające ich indywidualny wkład w powstanie prac wskazanych jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę habilitacji, zestawiono w Załączniku 5.*

### 4.3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników

#### 4.3.1. Wprowadzenie

W obliczu dynamicznie rozwijającej się wśród drobnoustrojów oporności na obecnie stosowane leki i rosnących trudności z zastosowaniem skutecznej antybiotykoterapii, naglące staje się poszukiwanie nowych leków przeciwdrobnoustrojowych.

Według raportu Światowej Organizacji Zdrowia (WHO 2014) szczególnie wysoki wskaźnik oporności na antybiotyki został odnotowany dla następujących bakterii: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (MRSA) i *Streptococcus pneumoniae*. Wspomniane mikroorganizmy są głównie odpowiedzialne za infekcje dróg moczowych, zakażenia krwi, zapalenie płuc, zapalenie ucha i infekcje ran. Powodem szybkiego rozprzestrzeniania się wśród bakterii lekooporności w ciągu ostatnich dekad, jest często nieuzasadnione stosowanie antybiotyków przez pacjentów i nadużywanie ich stosowania w wielu gałęziach przemysłu, np. w procesie hodowli zwierząt. W konsekwencji, niektóre antybiotyki stają się mniej efektywne, lub w ogóle nieskuteczne w zwalczaniu chorób, a liczba szczepów opornych wzrasta niewspółmiernie szybko w stosunku do liczby nowo odkrywanych leków przeciwbakteryjnych. Dlatego też, poszukiwanie nowych związków o działaniu bakteriobójczym stało się jednym z priorytetowych kierunków badań w dziedzinie chemii medycznej [1,2].

Kompleksy srebra(I) i miedzi(II) z ligandami o udowodnionej, lub potencjalnej aktywności biologicznej, wydają się być atrakcyjną grupą związków w kontekście poszukiwania nowych substancji o właściwościach przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych. Srebro, w postaci soli lub związków kompleksowych, znane jest ze znaczących właściwości przeciwdrobnoustrojowych, zatem obrany kierunek badań wydaje się uzasadniony.

Związki srebra: azotan srebra i kompleks srebra z sulfadiazyną (ang. *silver sulfadiazine*, AgSD, SSD) znalazły szerokie zastosowanie w medycynie, w leczeniu miejscowych infekcji skórnych. Azotan srebra jest silnym środkiem bakteriostatycznym i bakteriobójczym, stosowanym głównie do dezynfekcji skóry, błon śluzowych i ran. Oprócz działania antyseptycznego wykazuje również działanie przyżegające i ściągające. Używany jest do leczenia kurzajek, brodawek i wrzodów. Jego właściwości przyżegające wykorzystuje się do przyspieszania gojenia ziarninujących ran, tamowania drobnych krwawień oraz niszczenia przerostów tkanki (np. narośli, brodawek). Niestety związek ten wykazuje uciążliwe działania niepożądane, tj. miejscowe podrażnienia i trudne do usunięcia, lub trwałe przebarwienia skóry [3-5].

Kompleks srebra z sulfadiazyną (AgSD) jest najszersze stosowanym lekiem przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybiczym spośród związków srebra. Stanowi połączenie dwóch składników o działaniu przeciwbakteryjnym: sulfadiazyny (leku z grupy sulfonamidów) i jonów srebra. Związek jest nierozpuszczalny w wodzie, stosuje się go miejscowo w formie maści i kremów (*Flamazine*, *Dermazine*, *Silvadene*). Stosowany jest w profilaktyce i leczeniu oparzeń, owrzodzeń i innych przewlekłych infekcji skórnych [3,6-10]. Preparaty zawierające AgSD mogą powodować wiele działań niepożądanych a ich zasięg zależy od wielkości leczonej rany. Wśród nich wyróżnia się głównie te związane z obecnością sulfonamidu w preparacie, m.in.: reakcje alergiczne, dyskardię, dolegliwości żołądkowo-jelitowe, dolegliwości ze strony ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i nefrotoksyczność [10-12]. Ponadto, AgSD może opóźnić leczenie ran z powodu swej toksyczności wobec fibroblastów i keratynocytów [13-14].

Najnowsze badania nad zwiększeniem skuteczności stosowania AgSD, rozwijają się w kierunku inkorporacji AgSD do cząsteczek biopolimerów, np. chitozanu, kwas hialuronowego, poliuretanu oraz umieszczania leków wewnątrz liposomów. Ma to na celu polepszenie rozpuszczalności AgSD i zmniejszenie jej toksyczności w stosunku do tkanek prawidłowych [15-17].

Nanosrebro (metaliczne srebro w postaci cząstek wielkości rzędu nanometra) znalazło wiele klinicznych zastosowań w zapobieganiu infekcjom. Pokrywa się nim powierzchnie implantów (np. implantów stawów) oraz sprzętu medycznego stosowanego podczas zabiegów medycznych - drenów, cewników oraz materiałów opatrunkowych [18-21]. Jednakże najnowsze badania dotyczące toksyczności nanocząstek srebra wskazują, że nanosrebro może prowadzić do powstawania wolnych rodników, które narażają komórki i tkanki na dodatkowe uszkodzenia [22].

Pomimo licznych zastosowań związków srebra, jego mechanizm działania nie został całkowicie poznany. Jest on związany z dużym powinowactwem jonów  $Ag^+$  do ujemnie naładowanych grup funkcyjnych (sulfhydrylowych, karboksylowych, aminowych, fosforanowych) białek i kwasów nukleinowych. Wiązanie się jonów srebra ze ścianą i błoną komórkową bakterii prowadzi do uszkodzenia i przerwania ciągłości osłon komórek bakteryjnych, co skutkuje naruszeniem równowagi pomiędzy środowiskiem zewnętrznym i wewnętrznym komórek bakterii, a w konsekwencji ich śmiercią. Przeciwbakteryjne działanie jonów srebra polega również na unieczynnianiu enzymów, poprzez wiązanie się z grupami funkcyjnymi ich centrów aktywnych. Dotyczy to szczególnie enzymów

wchodzących w skład łańcucha oddechowego, np. cytochromu b. Sugeruje się także mechanizm działania srebra oparty na jego interakcji z rybosomami i zaburzeniu procesu translacji, oraz na oddziaływaniu srebra z DNA [23-29]

Spekuluje się ponadto, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa kompleksów srebra(I) pozostaje w ścisłej zależności z rodzajem atomu połączonego z atomem/jonem srebra oraz łatwością wymiany liganda. Im większa jest labilność kompleksów, a co za tym idzie, prawdopodobieństwo wymiany ligandów na cząsteczki znajdujące się w komórce (zwłaszcza zawierające grupy tiolowe/atomy siarki), tym lepsze działanie przeciwdrobnoustrojowe związku. Zatem kompleksy Ag(I)-N i Ag(I)-O wiązalne, ze słabym wiązaniem metal - ligand, wykazują szersze spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego, niż kompleksy z wiązaniami Ag(I)-S. Natomiast prawie wszystkie związki zawierające wiązania Ag(I)-P są nieaktywne mikrobiologicznie [30-33].

Przeciwbakteryjne właściwości roztworów siarczanu miedzi(II) znalazły zastosowanie w weterynarii w leczeniu zapalenia skóry palca [34]. Zbadano, że pokrywanie powierzchni wyposażenia szpitali warstwą miedzi w postaci metalicznej zmniejsza ilość zakażeń szpitalnych [35,36].

Do realizacji niniejszego cyklu prac, jako ligandy do syntez nowych kompleksów srebra(I) i miedzi(II) wybrano fosforanowe i hydroksymetylowe pochodne zasad heterocyklicznych: pirydyny, imidazolu i benzimidazolu. W literaturze zostało opisanych wiele pochodnych pirydyny i benzimidazolu o potwierdzonych właściwościach biologicznych, w tym przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych i przeciwwirusowych [37-40]. Pochodne pirydyny pełnią ponadto ważne funkcje w organizmie jako składniki koenzymów. Na przykład, kwas nikotynowy, czyli kwas 3-pirydylokarboksylowy (składnik witaminy B<sub>3</sub>) oraz kwas 2-pirydylokarboksylowy pełnią kluczowe role w przemianach metabolicznych. Kwas nikotynowy jest czynnikiem przeciwpelagrycznym, utrzymującym skórę i błony śluzowe w dobrej kondycji [41-43]. Bromek *N*-alkilo-2-hydroksypirydyny wykazuje właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne [37].

Kolejną grupę ligandów do syntezy nowych kompleksów Ag(I) i Cu(II) mają stanowić pochodne imidazolu, w tym metronidazol, znany lek bakteriobójczy i pierwotniakobójczy z grupy nitroimidazoli. Wykazuje on działanie bójcze wobec bakterii beztlenowych, w szczególności z rodzaju *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *PeptoStaphylococcus* oraz *Prevotella* [44-47] i pierwotniaków: *Blastocystis hominis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* i *Trichomonas vaginalis* [48-50]. Znalazł zastosowanie w leczeniu, m.in. zakażeń w obrębie jamy brzusznej, zapalenia opon mózgowych, sepsy, chorób skóry, amebozy i lambliozy. Leki, będące pochodnymi imidazolu, są powszechnie stosowane do leczenia zakażeń grzybiczych (np. ketokonazol, klotrimazol) [51].

Dodatkowo, do podjęcia tej tematyki skłoniły mnie liczne doniesienia literaturowe o przeciwdrobnoustrojowej i cytotoksycznej aktywności kompleksów srebra(I) i miedzi(II) z różnymi ligandami, szczególnie N- i/lub O-donorowymi [52-59]

Założono, że wybrane ligandy o dowiedzionej, lub o potencjalnej aktywności biologicznej, w połączeniu z Ag(I) i Cu(II), znanymi ze swych właściwości przeciwdrobnoustrojowych, będą działały synergicznie i pozwolą stworzyć nową grupę związków kompleksowych o wysokiej aktywności mikrobiologicznej.

Jako że związki te tworzone były z myślą o potencjalnym zastosowaniu zewnętrznym (na skórę i błony śluzowe), do badań aktywności mikrobiologicznej dołączono również ocenę właściwości

cytotoksycznych wobec modelowych komórek skóry prawidłowej (fibroblasty mysie) oraz zmienionej chorobowo (mysi czerniak złośliwy) *in vitro*.

Spodziewano się, że spośród otrzymanych związków uda się wyłonić te, które są mało- lub nietoksyczne wobec prawidłowych komórek skóry. Jednocześnie wysoka aktywność toksyczna wobec komórek nowotworowych, byłaby zaletą w kontekście potencjalnego wspomagania leczenia nowotworowych zmian skóry i ran po zabiegach ich usunięcia.

Dodatkowo, tematyka aktywności cytotoksycznej kompleksów srebra(I) została dotychczas zbadana w dość ograniczonym zakresie [60], pomimo licznych doniesień o ich aktywności mikrobiologicznej [52-55, 61, 62]. Tym bardziej uznano zasadność podjęcia tych badań.

Związki kompleksowe miedzi(II) są szeroko badane, z powodu swoich właściwości przeciwdrobnoustrojowych, przeciwzapalnych, przeciwutleniających i przeciwnowotworowych/cytostatycznych [56-59,63-66]. Pośród kompleksów miedzi(II), związki zawierające ligandy - pochodne pirydyny (kwas 2-pikolinowy, kwas nikotynowy, 2-hydroksypirydynę, 2-aminopirydynę, iminowe pochodne 2-acetylopirydyny), wykazały znaczące właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec *B. subtilis*, *C. albicans*, *S. aureus* and *E.coli* [58,67]. Opisano również cytostatyczne właściwości kompleksów miedzi z pochodnymi benzimidazolu i tiosemikarbazonu [68-70].

#### 4.3.2. Cel i zakres przeprowadzonych badań

Głównym celem niniejszych badań jest poszukiwanie nowych związków w grupie kompleksów srebra(I) i miedzi(II) z pochodnymi (benz)imidazolu i pirydyny, wykazujących wysoką aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą oraz niską toksyczność wobec prawidłowych komórek skóry.

Drugim celem prezentowanych badań jest oszacowanie cytotoksyczności związków srebra(I) i miedzi(II) wobec komórek czerniaka złośliwego *in vitro*. Wysoka toksyczność badanych związków wobec komórek nowotworowych byłaby zaletą w kontekście wspomagania leczenia nowotworowych zmian skóry i ran po zabiegach ich usuwania.

Związki otrzymane w toku pracy w przyszłości mogłyby być stosowane zewnętrznie jako leki przeciwdrobnoustrojowe lub cytostatyczne.

Powyższy cel badawczy realizowano, wykonując następujące zadania:

- Przeprowadzenie syntez nowych kompleksów srebra(I) i miedzi(II) z fosforanowymi i hydroksymetylowymi pochodnymi pirydyny i (benz)imidazolu;
- Zsyntetyzowanie dwóch serii kompleksów srebra(I) z pochodnymi imidazolu, tj. metronidazolem [1-(2-hydroksyetylo)-2-metylo-5-nitro-1*H*-imidazolem] i 4(5)-(hydroksymetylo)imidazolem oraz różnymi anionami: azotanowym(V), chloranowym(VII), trifluoroctowym, tetrafluoroboranowym i metylosulfonianowym;
- Opracowanie metody oczyszczania produktów reakcji;
- Wykonanie analiz spektroskopowych magnetycznego rezonansu jądrowego (<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR i <sup>31</sup>P NMR) i w podczerwieni (IR), analiz spektrometrii mas (ESI-MS) oraz analiz pierwiastkowych (C, H, N), w celu określenia budowy cząsteczkowej kompleksów srebra(I),



a także badań spektroskopowych (far-IR, UV-VIS, EPR) i niskotemperaturowych badań magnetycznych w celu identyfikacji kompleksów miedzi(II);

- Przeprowadzenie rentgenowskich analiz strukturalnych związków kompleksowych, w celu ostatecznego potwierdzenia struktury badanych kompleksów;
- Zbadanie fotostabilności otrzymanych związków kompleksowych srebra(I) w porównaniu z fotostabilnością odpowiednich soli srebra;
- Określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych nowo zsyntetyzowanych kompleksów srebra(I) i miedzi(II) oraz wolnych ligandów, w stosunku do referencyjnych patogennych szczepów bakterii oraz drożdży;
- Porównanie uzyskanych wyników aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej kompleksów Ag(I) i Cu(II) z aktywnością związków referencyjnych: AgNO<sub>3</sub> i AgSD (ang. *silver sulfadiazine*);
- Podjęcie próby ustalenia zależności pomiędzy budową cząsteczkową związków kompleksowych srebra(I) i miedzi(II) a ich aktywnością przeciwdrobnoustrojową;
- Ocena cytotoksyczności otrzymanych związków wobec komórek mysiej linii prawidłowych fibroblastów skóry 10T1/2 *in vitro*.
- Oszacowanie cytotoksyczności badanych związków wobec komórek linii mysiego czerniaka złośliwego B16 *in vitro*;

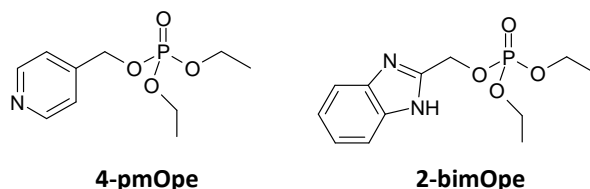
### 4.3.3. Omówienie wyników przeprowadzonych badań

#### 4.3.3.1. SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA KOMPLEKSÓW SREBRA(I)

*Synteza i charakterystyka kompleksów srebra(I) z fosforanowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu [P-4]*

Otrzymano nowe związki kompleksowe srebra(I) z fosforanem dietylu pirydyn-4-ylometylu (4-pmOpe) i fosforanem 1*H*-benzimidazol-2-ylometylu dietylu (2-bimOpe). Synteza ligandów, 4-pmOpe i 2-bimOpe (**Rys. 1**), została przeprowadzona zgodnie z wcześniej opublikowaną przeze mnie procedurą [71,72].

Związki kompleksowe srebra(I) z 4-pmOpe i 2-bimOpe otrzymano w wyniku reakcji azotanu(V) srebra z odpowiednimi ligandami w środowisku wodnym w temperaturze pokojowej. Reakcje prowadzono osłaniając kolbę reakcyjną przed światłem w celu uniknięcia fotochemicznego rozkładu związków srebra(I) do srebra(O). Reakcja syntezy kompleksu Ag(I) z 4-pmOpe przebiegała w stosunku molowym metalu do liganda jak 1:1. Podjęto także próby syntezy kompleksu w stosunku molowym 1:2 i dowiedziono, że w reakcji kompleksowania bierze udział tylko 1 mol liganda. Użyty w nadmiarze, wolny ligand pozostawał w środowisku reakcyjnym i był usuwany na etapie oczyszczania kompleksu. Syntezę kompleksu Ag(I) z 2-bimOpe przeprowadzono w stosunku molowym metal - ligand jak 1:2.

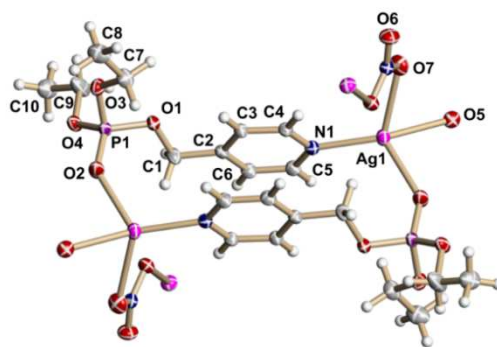


Rys. 1. Wzory strukturalne ligandów fosforanowych.

Kompleks Ag(I) z 4-pmOpe dobrze rozpuszcza się w wodzie i etanolu. Kompleks Ag(I) z 2-bimOpe nie rozpuszcza się w wodzie, rozpuszcza się w etanolu, acetonie, acetonitrylu i sulfotlenku dimetylu (DMSO).

Nowe związki kompleksowe srebra(I) scharakteryzowano za pomocą analizy widm magnetycznego rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  NMR), widm w podczerwieni (IR), widm masowych (ESI-MS) i analizy pierwiastkowej (C, H, N). Budowę kompleksu Ag(I) z 4-pmOpe potwierdzono analizą rentgenostrukturalną monokryształu. Na podstawie wykonanych analiz zaproponowano następujące wzory sumaryczne dla otrzymanych związków:  $\{[\text{Ag}(4\text{-pmOpe})\text{NO}_3]\}_n$ ,  $[\text{Ag}(2\text{-bimOpe})_2]\text{NO}_3$ .

Chociaż zastosowane ligandy (4-pmOpe i 2-bimOpe) należą do grupy fosforanowych kompleksów heterocyklicznych, obydwa zawierają grupy fosforoestrowe i pierścienie heterocykliczne (py i bim), to ich sposób wiązania się z jonami srebra(I) jest odmienny. W kompleksie z 4-pmOpe cząsteczka liganda stanowi element mostkowy, który wiąże się z jonami srebra(I) za pomocą atomu azotu pierścienia pirydyny oraz atomu tlenu grupy fosforanowej, tworząc polimer koordynacyjny o wzorze empirycznym  $\{[\text{Ag}(4\text{-pmOpe})\text{NO}_3]\}_n$ . Podobny sposób koordynacji zaobserwowano w chloranowym(VII) kompleksie miedzi(II) z ligandem 4-pmOpe [**P-8**], w którym cząsteczka 4-pmOpe także stanowiła ligand mostkowy, łączący dwa centra koordynacyjne. Strukturę kompleksu Ag(I) z 4-pmOpe, opisaną jako dwuwymiarowy metalopolimer, zobrazowano na Rys. 2 [**P-4**].

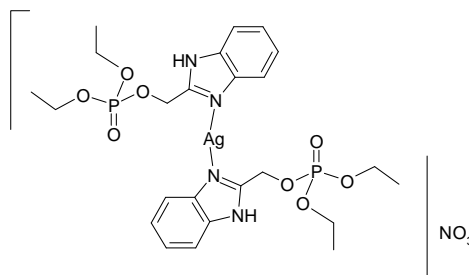


Rys. 2. Struktura krystaliczna  $\{[\text{Ag}(4\text{-pmOpe})]\text{NO}_3\}_n$ .

Geometria rozmieszczenia ligandów wokół kationu srebra w badanym kompleksie jest zdeformowana tetraedryczna; miary kątów wynoszą od  $77.98(3)^\circ$  (dla O5-Ag1-O7) do  $148.34(3)^\circ$  (dla N1-Ag1-O5). Każdy jon srebra jest koordynowany przez dwa atomy tlenu odrębnych grup azotanowych  $\text{NO}_3^-$  [ $\text{Ag1-O5} = 2.4204(9) \text{ \AA}$  i  $\text{Ag1-O7} = 2.5171(11) \text{ \AA}$ ], atom azotu pierścienia pirydyny [ $\text{Ag1-N1} = 2.2460(10) \text{ \AA}$ ] i atom tlenu grupy fosforanowej [ $\text{Ag1-O2} = 2.4015(11) \text{ \AA}$ ]. Zatem, aniony azotanowe w tym kompleksie należą do pierwszej sfery koordynacyjnej związku, a ponadto są ligandami mostkowymi  $\mu_2$  [**P-4**].

W kompleksie  $[\text{Ag}(2\text{-bimOpe})_2]\text{NO}_3$ , ligand 2-bimOpe jest jednofunkcyjny (monodentny) i tworzy wiązanie koordynacyjne z jonami srebra(I) za pomocą wolnej pary elektronowej atomu azotu (N3) pierścienia benzimidazolu (Rys. 3). Struktury krystalicznej tego związku nie udało się zbadać

z powodu trudności z otrzymaniem monokryształu odpowiedniego do badań krystalograficznych. Jednak przez analogię strukturalną do związku kompleksowego palladu(II) z takim samym ligandem, którego strukturę potwierdzono za pomocą analizy rentgenostrukturalnej kryształu, założono, że w rozpatrywanym kompleksie srebra(I) sposób wiązania się cząsteczki 2-bimOpe z atomem centralnym będzie taki sam, czyli monodentny (N3) [73].



Rys. 3. Proponowana struktura kompleksu srebra(I) z 2-bimOpe.

Za pomocą zastosowanych technik analitycznych (NMR, IR, ESI-MS) trudno jest ocenić, czy anion azotanowy  $\text{NO}_3^-$ , równoważący ładunek jonu kompleksowego  $[\text{AgL}_2]^+$ , znajduje się tutaj w zewnętrznej czy wewnętrznej sferze koordynacyjnej kompleksu [P-4].

Jedynie analiza rentgenostrukturalna monokryształu kompleksu daje pewną wiedzę o występujących w cząsteczce kompleksu wiązaniach koordynacyjnych. Z tego powodu, tak duży nacisk w swojej pracy habilitacyjnej położyłam na uzyskanie monokryształów odpowiednich do badań i ich analizę.

Struktury molekularne wszystkich nowo otrzymanych kompleksów Ag(I) z fosforanowymi pochodnymi związków heterocyklicznych zostały potwierdzone analizą spektroskopową protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$  NMR).

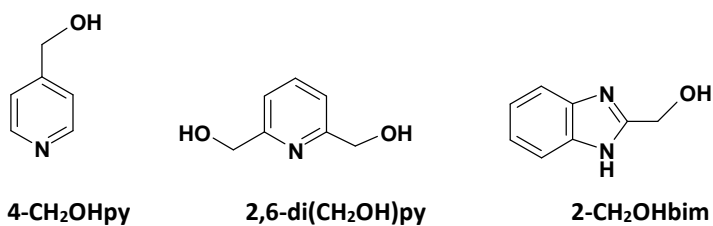
Wartości przesunięć chemicznych poszczególnych sygnałów protonów w kompleksach srebra(I) w porównaniu z ich odpowiednimi sygnałami protonów wolnych ligandów, zależą od odległości tych protonów od miejsca koordynacji. Im bliżej wiązania koordynacyjnego znajduje się rozpatrywana grupa protonów lub pojedynczy proton, tym bardziej jego sygnały lub sygnał są przesunięte w kierunku wyższych wartości przesunięć chemicznych w porównaniu z widmem odpowiedniego wolnego liganda. Jest to związane ze zmianami gęstości elektronowej wokół niektórych protonów w cząsteczkach ligandów po związaniu się z atomem centralnym. Dlatego też na podstawie wielkości danego przesunięcia jesteśmy w stanie z dość dużym prawdopodobieństwem przewidzieć, które z atomów w cząsteczce liganda tworzą wiązania koordynacyjne [74].

Porównując widma  $^1\text{H}$  NMR kompleksów srebra z fosforanowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu, warto zaznaczyć widoczną różnicę w sposobie koordynacji ligandów (4-pmOpe, 2-bimOpe) do centralnego jonu srebra. W kompleksie z pochodną benzimidazolu, ligand wiąże się ze srebrem tylko za pomocą atomu azotu N3, nie tworząc wiązania koordynacyjnego z atomem tlenu grupy fosforanowej (P=O), co ma swoje odzwierciedlenie w obrazie widma  $^1\text{H}$  NMR. Mianowicie, nie zaobserwowano przesunięć chemicznych pobliskich protonów dwóch grup etoksylowych w porównaniu z wolnym ligandem. Dla odmiany, w kompleksie z fosforanową pochodną pirydyny, która jest ligandem mostkowym, istnieje wiązanie koordynacyjne pomiędzy atomem centralnym a atomem tlenu grupy fosforanowej (P=O), i dlatego sygnały pobliskich protonów grup etoksylowych  $-\text{OC}_2\text{H}_5$  są przesunięte w stosunku do wolnego liganda, o około 0,1 ppm. Wartość tego przesunięcia nie jest duża, lecz typowa dla związków kompleksowych srebra(I) [P-4].

Charakterystyczną cechą widm  $^1\text{H}$  NMR kompleksów srebra, zarówno tych otrzymanych przeze mnie w toku pracy habilitacyjnej, jak i tych opisanych w literaturze [30, 75-78], jest występowanie małych różnic w wartościach przesunięć chemicznych poszczególnych sygnałów w widmach kompleksów w porównaniu z ich odpowiednimi wartościami dla wolnego liganda. Często różnice te wynoszą dla roztworów wodnych jedynie ok. 0,1-0,2 ppm. W rozpuszczalniku innym niż  $\text{D}_2\text{O}$ , np. w DMSO- $d_6$ , różnice w wartościach przesunięć chemicznych kompleksów srebra(I) w odniesieniu do odpowiednich wolnych ligandów są większe. Jako przykład może posłużyć widmo  $^1\text{H}$  NMR (DMSO) kompleksu srebra(I) z 2-bimOpe, w którym sygnały protonów NH pierścienia benzimidazolu oraz protonów metylenowych (bim) $\text{CH}_2\text{OP}$ , znajdujących się w najbliższym otoczeniu miejsca koordynacji N3, są przesunięte w kierunku wyższych wartości przesunięć chemicznych odpowiednio o 0,6 ppm oraz 0,2 ppm w stosunku do odpowiednich sygnałów wolnego liganda [P-4]. Podobnie w widmie  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ) kompleksu srebra(I) z 2- $\text{CH}_2\text{OHbim}$  sygnały protonów NH pierścienia benzimidazolu oraz protonów hydroksylowych są przesunięte odpowiednio o 0,9 ppm oraz 0,5 ppm, w porównaniu z sygnałami wolnego liganda [P-5]. Inaczej jest w przypadku widm  $^1\text{H}$  NMR kompleksów srebra(I) z pochodnymi pirydyny, rozpuszczalnych w  $\text{D}_2\text{O}$ , gdzie różnice w wartościach przesunięć chemicznych sygnałów poszczególnych grup protonów były znacznie mniejsze. I tak, dla kompleksu srebra z fosforanową pochodną pirydyny (4-pmOpe), największe przesunięcia w porównaniu z wolnym ligandem, tj.: o 0,19 ppm i 0,12 ppm, odnotowano dla protonów pierścienia pirydyny (pyH(3)H(5)) i protonów metylenowych py $\text{CH}_2\text{OP}$ . Przesunięcia te były o około połowę mniejsze niż dla fosforanowej pochodnej benzimidazolu [P-4].

*Synteza i charakterystyka kompleksów srebra(I) z hydroksymetylowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu [P-5].*

Zsyntetyzowano nowe związki kompleksowe srebra(I) z 4-(hydroksymetylo)pirydyną (4- $\text{CH}_2\text{OHpy}$ ), 2,6-di(hydroksymetylo)pirydyną (2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py) i 2-(hydroksymetylo)-benzimidazolem (2- $\text{CH}_2\text{OHbim}$ ) (Rys. 4).

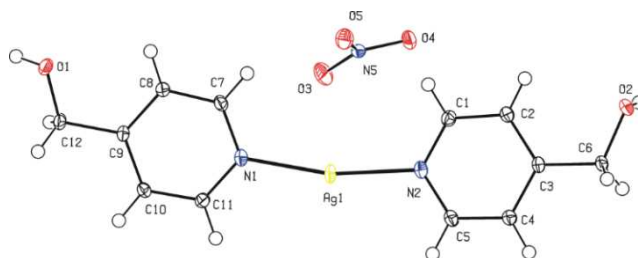


Rys. 4. Wzory strukturalne ligandów hydroksymetylowych.

Związki kompleksowe o wzorze ogólnym  $[\text{Ag}(\text{L})_2]\text{NO}_3$  (L – ligand) otrzymano w wyniku reakcji azotanu(V) srebra z odpowiednim ligandem w stosunku molowym 1:2 z wysokimi wydajnościami (ok. 80%). Kompleksy z pochodnymi pirydyny otrzymano w środowisku wodnym. Kompleks z pochodną benzimidazolu w roztworze kwasu azotowego(V), gdyż substrat 2- $\text{CH}_2\text{OHbim}$  nie rozpuszcza się w wodzie ani innych rozpuszczalnikach organicznych (oprócz *N,N*-dimetyloformamidu, czyli DMF). Dlatego 2- $\text{CH}_2\text{OHbim}$  rozpuszczono w  $\text{HNO}_3$  i połączono z wodnym roztworem  $\text{AgNO}_3$ . Następnie pH mieszaniny reakcyjnej podniesiono do ok. 5 używając roztworu octanu sodu i w tych warunkach uzyskano biały osad kompleksu. Otrzymany związek nie rozpuszcza się w wodzie, etanolu, metanolu, chloroformie i acetonitrylu; rozpuszcza się w DMSO. Natomiast kompleksy z pochodnymi pirydyny dobrze rozpuszczają się w wodzie [P-5].

Nowo zsyntetyzowane związki kompleksowe srebra(I) scharakteryzowano za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  NMR), spektroskopii w podczerwieni (IR), spektrometrii masowej (ESI-MS) i analizy pierwiastkowej (C, H, N). Budowę dwóch kompleksów srebra(I) z pochodnymi pirydyny potwierdzono analizą rentgenostrukturalną monokryształów (**Rys. 5** [**P-5**], **Rys. 7** [**P-1**]).

Za pomocą spektrometrii mas metodą elektrorozpylania (*Electrospray Ionisation Mass Spectrometry*, ESI-MS) potwierdzono obecność jonów kompleksowych srebra(I) w badanych związkach. Metoda to ogólnie polega na rozpylaniu pod ciśnieniem atmosferycznym roztworu zawierającego badaną substancję z igły, do której przyłożono wysokie napięcie (2–5 kV) [79]. W widmach masowych kompleksów srebra(I) występują sygnały (piki) odpowiadające jonom kompleksowym  $[\text{AgL}_2]^+$  i  $[\text{AgL}]^+$  (L- ligand). Każdy obserwowany pik składa się z dwóch sygnałów o prawie równej intensywności, położonych w bliskiej odległości od siebie, ponieważ srebro występuje w postaci dwóch stabilnych izotopów ( $^{107}\text{Ag}$  i  $^{109}\text{Ag}$ ), obecnych w niemal równych ilościach. Ten charakterystyczny profil izotopowy srebra dodatkowo ułatwia identyfikację jonów kompleksowych srebra(I) [**P-2**, **P-3**, **P-4**, **P-5**].



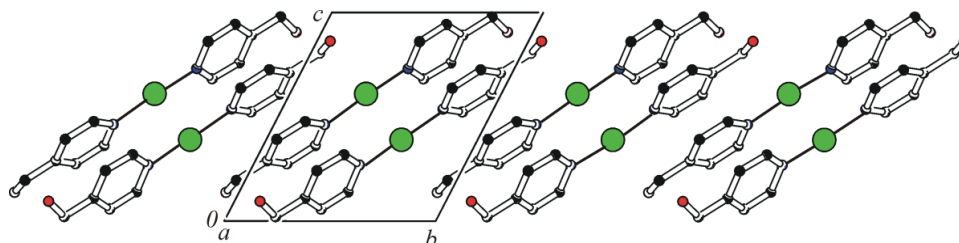
**Rys. 5.** Struktura krystaliczna  $[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHpy})_2]\text{NO}_3$ .

Kompleks srebra(I) z 4- $\text{CH}_2\text{OHpy}$  posiada konformację wygiętą, wartość kąta N1-Ag-N2 wynosi  $167,22(4)^\circ$ . Centralny jon srebra jest otoczony przez dwa atomy azotu pierścienia pirydyny. Oddziaływania  $\text{Ag1}\cdots\text{Ag1}$  pomiędzy sąsiednimi cząsteczkami kationów,  $3,2158(2)$  Å, uznano za zaniedbywalne, chociaż są krótsze niż suma promieni van der Waalsa dla atomów srebra ( $3,44$  Å). Obserwowana odległość  $\text{Ag1}\cdots\text{Ag1}$  jest jednak dłuższa niż ta odnotowana w literaturze dla dinuklearnych kompleksów srebra [80-82], która wynosiła mniej niż  $3$  Å [**P-5**]. W świetle późniejszych badań [**P-3**], gdzie oddziaływania Ag-Ag wynoszące  $3,23$  Å zostały uznane za koordynacyjne, omawiany kompleks  $[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHpy})_2]\text{NO}_3$ , również należałoby potraktować jako krystalizujący w formie dimeru  $[\text{Ag}_2(4\text{-CH}_2\text{OHpy})_4](\text{NO}_3)_2$ . Aniony azotanowe nie są bezpośrednio skoordynowane z kationem srebra, odległości  $\text{Ag}\cdots\text{O}$  mieszczą się w granicach od  $2,867(1)$  do  $4,352(1)$  Å, i podobnie jak oddziaływania  $\text{Ag}\cdots\text{F}$  ( $2,89$  Å i  $3,02$  Å) w kompleksie Ag(I) z metronidazolem oraz anionem  $\text{BF}_4^-$ , zostały zdefiniowane jako niewiążące [**P-3**].

Upakowanie cząsteczek kompleksów srebra(I) w sieci krystalicznej jest stabilizowane przez niekowalencyjne oddziaływanie międzycząsteczkowe: wiązania wodorowe oraz oddziaływania  $\pi$ - $\pi$  stakingowe pomiędzy aromatycznymi pierścieniami heterocyklicznymi.

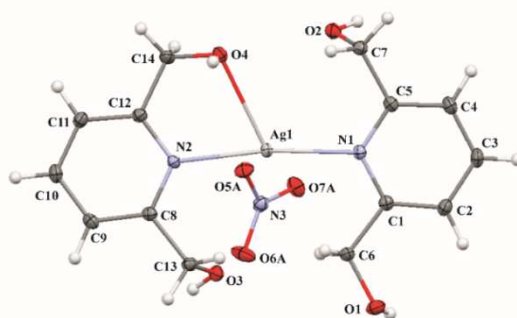
W omawianym kompleksie grupy hydroksylowe ligandów 4- $\text{CH}_2\text{OHpy}$  biorą udział w tworzeniu typowych wiązań wodorowych typu  $\text{O-H}\cdots\text{O}$ . Oprócz tego występują słabsze oddziaływania typu  $\text{C-H}\cdots\text{O}$ , z których większość istnieje pomiędzy centrosymetrycznie zorientowanymi kationami kompleksowymi i anionami azotanowymi. Organizacja cząsteczek

kompleksu w sieci krystalicznej jest dodatkowo stabilizowana przez słabe oddziaływania  $\pi$ - $\pi$  stakingowe pomiędzy pierścieniami pirydyny, jak pokazano na **Rys. 6** [P-5].



**Rys. 6.** Schemat miêdzycząsteczkowych oddziaływań stakingowych  $\pi$ - $\pi$  w kryształach związku  $[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHpy})_2]\text{NO}_3$ .

Badania strukturalne oparte na dyfrakcji promieni rentgenowskich wykazały, że ligand 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py wykazuje zarówno podobieństwa, jak i różnice w porównaniu z omawianym wcześniej ligandem 4- $\text{CH}_2\text{OHpy}$  w krystalicznych kompleksach srebra(I) zawierających anion azotanowy. Zasadnicza różnica między tymi dwoma ligandami wynika ze sposobu koordynacji do jonu centralnego. Każda z dwóch cząsteczek liganda 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py zachowuje się odmiennie w strukturze kompleksu  $[\text{Ag}(2,6\text{-di}(\text{CH}_2\text{OH})\text{py})_2]\text{NO}_3$ . Jedna cząsteczka zachowuje się jak ligand kleszczowy i łączy się z atomem centralnym Ag(I) jednocześnie poprzez atom azotu z pierścienia pirydyny i jeden z atomów tlenu grupy  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , tworząc pięciocłonowy pierścień chelatowy zbudowany z atomów Ag1, N2, C12, C14, O4. Drugi ligand 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py łączy się z Ag(I) tylko za pomocą wolnej pary elektronowej atomu azotu. Na podstawie analizy widma  $^1\text{H}$  NMR kompleksu srebra(I) z 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py, nie było możliwe ustalenie różnic w sposobie koordynacji każdej z cząsteczek 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py do jonu centralnego [P-5]. Odmienny sposób koordynacji został ujawniony w kryształach badanego kompleksu za pomocą rentgenowskiej analizy strukturalnej (**Rys. 7**) [P-1].



**Rys. 7.** Struktura krystaliczna  $[\text{Ag}(2,6\text{-di}(\text{CH}_2\text{OH})\text{py})_2]\text{NO}_3$ .

W literaturze zostały opisane także kompleksy innych metali [Co(II), Cu(II), Zn(II), Ni(II)], w których ligand 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py występował jako trójkleszczowy (tridentny) i tworzył dwa pięciocłonowe pierścienie chelatowe w wyniku koordynacji z jonem centralnym [83-85].

W strukturach badanych kompleksów srebra(I) z ligandami: 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py i 4- $\text{CH}_2\text{OHpy}$  obserwuje się stosunkowo duże odległości  $\text{Ag}\cdots\text{O}$  pomiędzy jonem centralnym a grupą azotanową. W strukturze kompleksu  $[\text{Ag}(2,6\text{-di}(\text{CH}_2\text{OH})\text{py})_2]\text{NO}_3$ , podobnie jak w strukturze z ligandem 4- $\text{CH}_2\text{OHpy}$ , długości kontaktów  $\text{Ag}\cdots\text{O}$  przekraczają 2.8 Å.

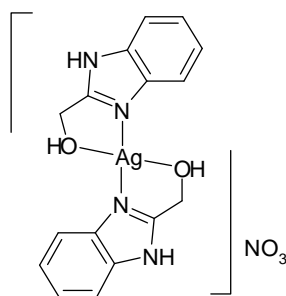
W pracy [P-1] została również przeprowadzona analiza powierzchni Hirshfelda dla cząsteczki kationu badanego kompleksu  $[\text{Ag}(2,6\text{-di}(\text{CH}_2\text{OH})\text{py})_2]^+$ . Powierzchnia Hirshfelda jest to powierzchnia cząsteczki zdefiniowana zewnętrznym konturem zamykającym przestrzeń jaką cząsteczka zajmuje w kryształach. Analiza molekularnej powierzchni Hirshfelda z naniesionym parametrem geometrycznym



$d_{\text{norm}}$  (zależność wiążąca punkty na powierzchni Hirshfelda z najbliższymi atomami w sąsiedztwie) pozwala na identyfikację oddziaływań charakterystycznych dla badanej struktury krystalicznej. Z kolei analiza odpowiadającego jej dwuwymiarowego histogramu zwanego „odciskiem palca” pozwala na określenie udziałów procentowych poszczególnych kontaktów.

Kontynuując temat analizy widm  $^1\text{H}$  NMR kompleksów srebra(I), rozpuszczalnych w wodzie, widzimy, że sygnały protonów w hydroksymetylowych pochodnych pirydyny związanych w kompleksach, są nieznacznie przesunięte w stosunku do odpowiednich sygnałów wolnych ligandów. W widmach  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ) kompleksów pochodnych pirydyny przesunięcia sygnałów protonów pierścienia pirydyny i protonów metylenowych wynoszą od 0,08 do 0,21 ppm. Sygnały protonów grupy hydroksylowej nie są obserwowane z powodu zastosowanego rozpuszczalnika ( $\text{D}_2\text{O}$ ), gdyż nastąpiła wymiana tych protonów na atomy deuteru [P-5].

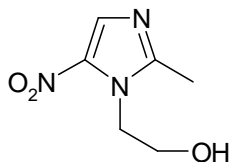
W widmie  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ) kompleksu srebra(I) z 2- $\text{CH}_2\text{OH}$ bim sygnały protonów  $\text{NH}$  i  $\text{OH}$  są znacząco przesunięte, odpowiednio o 0,93 ppm oraz 0,49 ppm w porównaniu z sygnałami wolnego liganda. Sygnały protonów metylenowych, jak również protonów pierścienia benzenowego, które znajdują się stosunkowo daleko od miejsca koordynacji, są przesunięte tylko nieznacznie, o około od 0,17 do 0,25 ppm. Z analizy widma  $^1\text{H}$  NMR tego kompleksu wynika, iż ligand 2- $\text{CH}_2\text{OH}$ bim jest dwukleszczowy i wiąże się z atomem centralnym za pośrednictwem atomu azotu (N3) pierścienia imidazolu oraz atomu tlenu grupy hydroksylowej, tworząc pierścień pięciocłonowy (Rys. 8) [P-5]. Formowanie pierścieni chelatowych w kompleksach metali [Cd(II), Zn(II), Ru(II) i Ni(II)] jest charakterystyczne dla 2-(hydroksymetylo)benzimidazolu [86-89].



Rys. 8. Proponowana struktura kompleksu kompleksu srebra(I) z 2- $\text{CH}_2\text{OH}$ bim.

### Synteza i charakterystyka kompleksów srebra(I) z metronidazolem i wybranymi anionami [P-3]

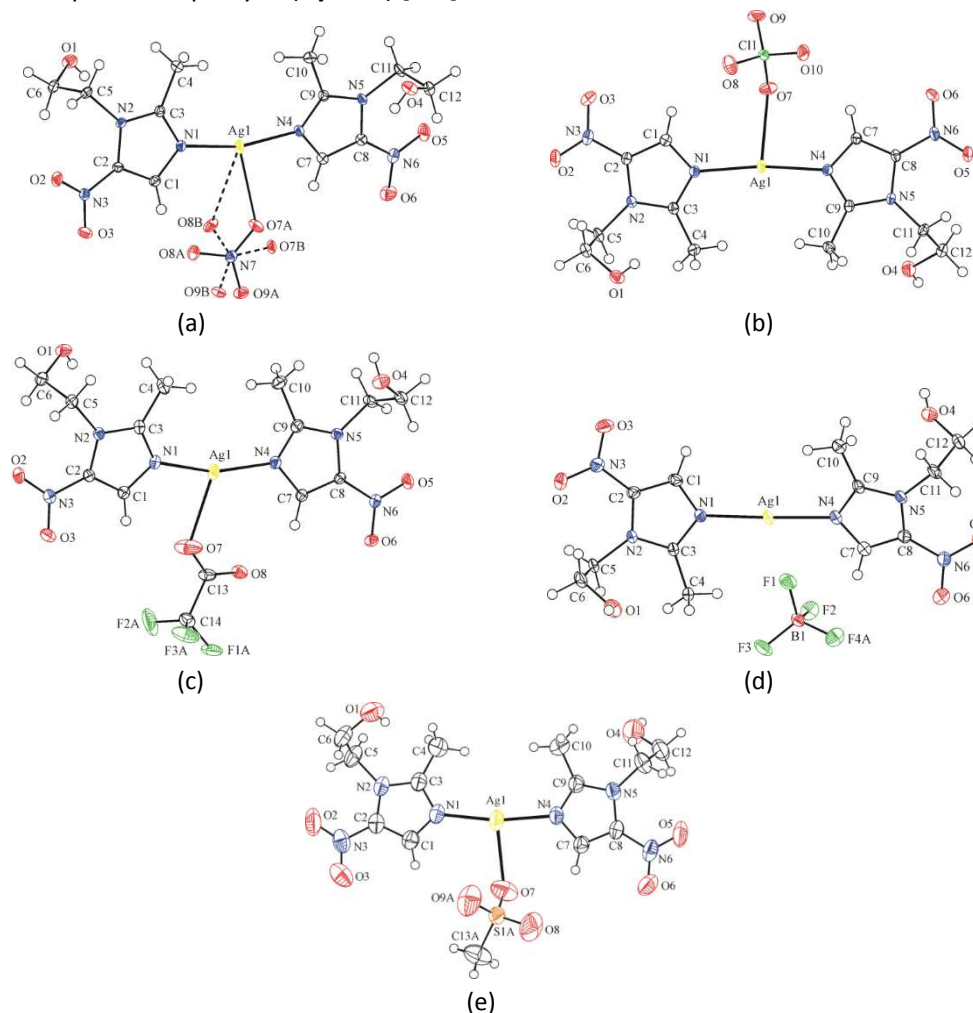
Otrzymano serię pięciu kompleksów srebra(I) z metronidazolem (MTZ= 1-(2-hydroksyetylo)-2-metylo-5-nitroimidazolem) (Rys. 9) oraz wybranymi anionami ( $\text{X} = \text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{BF}_4^-$  i  $\text{SO}_3\text{CH}_3^-$ ) o empirycznym wzorze ogólnym  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{X}]$ .



Rys. 9 Wzór strukturalny metronidazolu (MTZ).

Kompleksy uzyskano w reakcji metronidazolu z odpowiednimi solami srebra, tj.:  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{AgClO}_4$ ,  $\text{AgCF}_3\text{COO}$ ,  $\text{AgBF}_4$  i  $\text{AgSO}_3\text{CH}_3$ ) w stosunku molowym 2:1 w środowisku etanolowym lub etanolowo-wodnym w temperaturze  $60^\circ\text{C}$ . Dopiero tej temperaturze metronidazol rozpuszczał się całkowicie w etanolu. Wszystkie otrzymane związki kompleksowe są dobrze rozpuszczalne w wodzie, metanolu, etanolu, acetonie i DMSO. Wykonano analizy spektroskopowe magnetycznego rezonansu jądrowego

( $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR) i w podczerwieni (IR), analizy spektrometrii mas metodą ESI-MS oraz analizy pierwiastkowej (obecność C, H, N), w celu zidentyfikowania związków i określenia ich budowy cząsteczkowej. Dla każdego związku wykonano analizę rentgenostrukturalną kryształów w celu ostatecznego potwierdzenia struktur krystalicznych kompleksów, zaproponowanych wcześniej przy użyciu metod spektroskopowych (**Rys. 10**) [P-3].



**Rys. 10.** Struktury krystaliczne kompleksów srebra(I) z metronidazolem (MTZ) i wybranymi anionami: (a)  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{NO}_3]$ , (b)  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{ClO}_4]$ , (c)  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{CF}_3\text{COO}]$ , (d)  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{BF}_4]$ , (e)  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{SO}_3\text{CH}_3]$ .

Z badań strukturalnych kryształów kompleksów srebra(I) z metronidazolem i wybranymi anionami wynika, że rodzaj anionu wpływa na strukturę związku kompleksowego. Kompleksy srebra(I) z udziałem anionów:  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$  i  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ , posiadają geometrię litery T (ang. *T-shaped*), gdzie centralny atom srebra jest otoczony przez dwa atomy azotu cząsteczek metronidazolu i jeden atom tlenu odpowiedniego anionu.

Podobną geometrię reprezentuje również kompleks z anionem  $\text{SO}_3\text{CH}_3^-$ , który koordynuje do kationu srebra poprzez jeden z atomów tlenu (O7). Kompleks ten formalnie definiuje się jako dimer  $[\text{Ag}_2(\text{MTZ})_4(\text{SO}_3\text{CH}_3)_2]$  z powodu stosunkowo krótkich oddziaływań  $\text{Ag1}\cdots\text{O9A}$  [2.777(4) Å] pomiędzy molekularnymi ugrupowaniami typu  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2(\text{SO}_3\text{CH}_3)]$  [90] [P-3].

W postaci dimeru krystalizuje także kompleks z anionem  $\text{BF}_4^-$ ,  $[\text{Ag}_2(\text{MTZ})_4](\text{BF}_4)_2$ , w którym potwierdzono występowanie oddziaływań Ag-Ag, krótszych niż suma promieni van der Waalsa dwóch atomów srebra. Obserwowana odległość  $\text{Ag1-Ag1}$  wynosi 3,2310(3) Å i jest najmniejsza wśród



analizowanych kompleksów Ag(I) z metronidazolem [P-3]. Wartość ta jest zgodna z odległościami Ag-Ag podawanymi w literaturze dla innych związków kompleksowych srebra(I) [91-93].

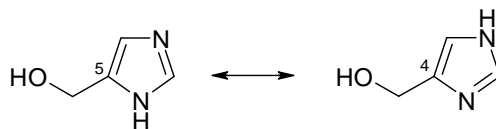
W kompleksie  $[\text{Ag}_2(\text{MTZ})_4](\text{BF}_4)_2$  aniony  $\text{BF}_4^-$  nie tworzą wiązań koordynacyjnych z atomem centralnym, jedynie słabo oddziałują ze srebrem poprzez atomy fluoru, przy czym odległości  $\text{Ag}\cdots\text{F}$  (2,89 Å i 3,02 Å) są krótsze niż suma odpowiednich promieni van der Waalsa wynosząca 3,19 Å.

Kompleks zawierający anion  $\text{BF}_4^-$  różni się od pozostałych nie tylko tym, że występuje w postaci dimeru  $[\text{Ag}_2(\text{MTZ})_4]^{2+}$ , lecz także innym rodzajem geometrii wokół jonu srebra. Jest to ustawienie typu liniowego, w której centralny jon srebra jest otoczony tylko przez dwa atomy azotu dwóch cząsteczek liganda; miara kąta N1-Ag1-N4 wynosi 174,86°. Cząsteczki pozostałych kationów kompleksowych mają bardziej wygiętą konformację: wartości kątów N1-Ag-N4 wynoszą odpowiednio 165,30, 171,82, 162,73 i 169,62° w zależności od koordynującego anionu  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$  i  $\text{CH}_3\text{SO}_3^-$ .

W centrosymetrycznym dimerze  $[\text{Ag}_2(\text{MTZ})_4](\text{BF}_4)_2$  zaobserwowano występowanie oddziaływań  $\pi$ - $\pi$  stakingowych pomiędzy pierścieniami imidazolu. Istnienie tego typu oddziaływań potwierdzono także w sieci krystalicznej kompleksów Ag(I) z anionami  $\text{ClO}_4^-$  i  $\text{CH}_3\text{SO}_3^-$  [P-3].

#### *Synteza i charakterystyka kompleksów srebra(I) z 4(5)-(hydroksymetylo)imidazolem i wybranymi anionami [P-2]*

Otrzymano drugą serię kompleksów srebra(I) z pochodną imidazolu i wybranymi anionami nieorganicznymi ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{BF}_4^-$  i  $\text{CH}_3\text{SO}_3^-$ ). W poprzedniej serii ligandem z grupy pochodnych imidazolu był metronidazol, w tej serii 4(5)-(hydroksymetylo)imidazol [4(5)- $\text{CH}_2\text{OHimH}$ ] (**Rys. 11**). Związek ten występuje w postaci dwóch form tautomerycznych.



**Rys. 11.** Formy tautomeryczne liganda 4(5)- $\text{CH}_2\text{OHimH}$ .

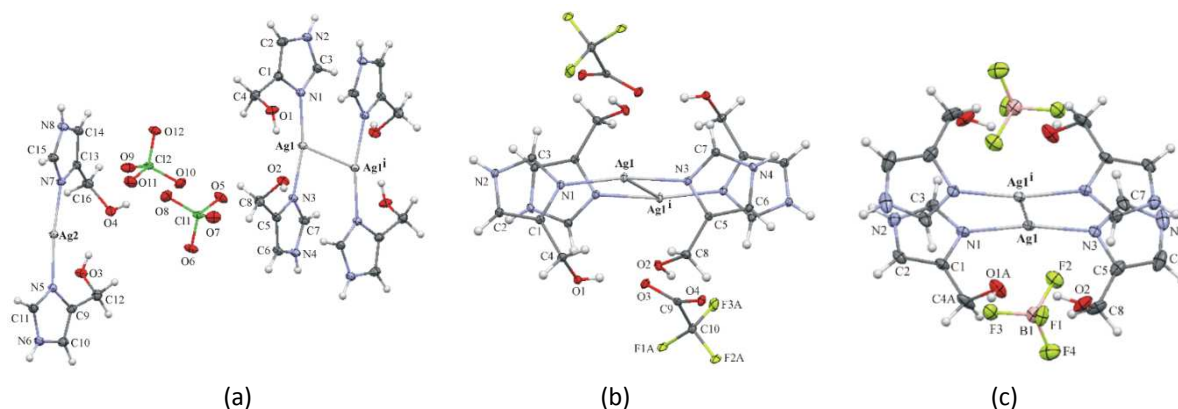
Kompleksy Ag(I) z 4(5)- $\text{CH}_2\text{OHimH}$  i wybranymi anionami zsyntetyzowano w celu oceny ich aktywności mikrobiologicznej i porównania jej z aktywnością pierwszej serii kompleksów srebra(I) z pochodną imidazolu (metronidazolem) i wybranymi anionami. Dzięki temu można było oszacować wpływ poszczególnych anionów ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{BF}_4^-$  i  $\text{CH}_3\text{SO}_3^-$ ) na aktywność przeciwdrobnoustrojową badanych kompleksów.

Zaproponowano struktury molekularne kompleksów srebra(I) z 4(5)- $\text{CH}_2\text{OHimH}$  na podstawie analizy spektroskopowej magnetycznego rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR) i w podczerwieni (IR), analizy spektrometrii mas metodą ESI-MS oraz analiz pierwiastkowych (obecność C, H, N). Wykonano analizę rentgenostrukturalną kryształów dla trzech kompleksów z tej serii, badanie to jednoznacznie potwierdziło zaproponowane wcześniej struktury związków (**Rys. 12**). Przyjęto następujący empiryczny wzór strukturalny dla tej grupy związków kompleksowych  $[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{X}$ , pozostający w zgodności ze stosunkiem stechiometrycznym zastosowanych reagentów [P-2].

Rentgenowska analiza strukturalna wykazała, że badane kompleksy srebra(I) z 4(5)- $\text{CH}_2\text{OHimH}$  krystalizują w formie centrosymetrycznych dimerów  $[\text{Ag}_2(\text{L})_4]^{2+}$  zbudowanych z dwóch jednostek kationowych  $[\text{Ag}(\text{L})_2]^+$ , powiązanych ze sobą a słabymi oddziaływaniami typu Ag-Ag rzędu

3,2 Å. Aniony  $\text{ClO}_4^-$  oraz  $\text{BF}_4^-$  nie wiążą się bezpośrednio z jonem centralnym, natomiast anion  $\text{CF}_3\text{COO}^-$  tworzy z kationem kompleksowym srebra(I) słabe oddziaływanie typu  $\text{Ag}\cdots\text{O}$ , którego długość wynosi 2,875(2) Å. Ponadto w strukturze kompleksu srebra(I) z anionem  $\text{ClO}_4^-$  oprócz formy dimerycznej kompleksu obserwuje się również niezależną jednostkę monomeryczną  $[\text{Ag}(\text{L})_2]^+$ , która tworzy słaby kontakt  $\text{Ag}\cdots\text{O}$  [3,0123(13) Å] ze wspomnianym anionem. W tym przypadku warto podkreślić, że forma monomeryczna kompleksu  $[\text{Ag}(\text{L})_2]^+$  ma konformację molekularną najbardziej zbliżoną do liniowej, kąt walencyjny N-Ag-N wynosi 172,87(2)°. W obrębie dimerów jon centralny również wiąże się bezpośrednio z dwoma atomami azotu pochodzącymi z dwóch ligandów, jednakże kąty N-Ag-N w zakresie od 166,21(4)° do 169,28(6)° zdecydowanie wskazują na konformację zgiętą.

Na upakowanie cząsteczek w sieci krystalicznej badanych kompleksów srebra(I) mają wpływ wiązania wodorowe typu O-H $\cdots$ O i N-H $\cdots$ O. Dodatkowo w strukturze z anionem  $\text{BF}_4^-$  obserwuje się międzycząsteczkowe oddziaływania typu N-H $\cdots$ F oraz O-H $\cdots$ F. We wszystkich trzech badanych strukturach można również zidentyfikować stabilizujące oddziaływania stakingowe pomiędzy sąsiadującymi pierścieniami imidazolu (odległości pomiędzy środkami oddziałujących pierścieni imidazolowych mieszczą się w zakresie od 3,5 Å do 4,2 Å).



**Rys. 12.** Struktury krystaliczne kompleksów srebra(I) z 4(5)- $\text{CH}_2\text{OHimH}$  i wybranymi anionami: (a)  $[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{ClO}_4$ , (b)  $[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{CF}_3\text{COO}$ , (c)  $[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{BF}_4$ .

W kompleksach tych ligand występuje preferencyjnie w postaci jednej formy tautomerycznej, z grupą hydroksymetylową w pozycji 4. Przegląd literatury podobnych związków kompleksowych prowadzi do takiej samej konkluzji [94,95]. Chociaż omawiany ligand może utworzyć chelat pięciocłonowy w połączeniu z atomem centralnym, to jednak ze srebrem najczęściej wiąże się tylko za pomocą jednego atomu donorowego, tj. atomu azotu (N3) pierścienia imidazolowego [P-2]. Taki sam sposób koordynacji zaobserwowano w kompleksach Cd(II) i Zn(II) z 4- $\text{CH}_2\text{OHimH}$  i tri-*tert*-butoksylsylanotiolanem, w których atom tlenu grupy hydroksylowej również nie był atomem donorowym [94,95]. W związkach kompleksowych Co(II), Cu(II) i Ni(II) z 4(5)- $\text{CH}_2\text{OH}$ -5(4)- $\text{CH}_3\text{imH}$ , ligandy zachowują się dwojako, gdyż dwa z nich wiążą się z jonem centralnym jednofunkcyjnie (monodentnie) poprzez atom azotu (N3), zaś dwa pozostałe dwufunkcyjnie (O,N3), z utworzeniem chelatów pięciocłonowych [96,97].

Analizując widma  $^1\text{H}$  NMR kompleksów nie można stwierdzić, która z form tautomerycznych liganda istnieje w kompleksach. Tak samo jak w poprzednich grupach związków kompleksowych Ag(I) rozpuszczalnych w wodzie, tak i tutaj, różnice pomiędzy odpowiednimi wartościami przesunięć chemicznych sygnałów protonów kompleksów i wolnego liganda są niewielkie, rzędu 0,1-0,2 ppm.

Największe przesunięcia są zauważalne dla protonów sąsiadujących z miejscem koordynacji N3, czyli dla protonów H(2) pierścienia imidazolu, które wynosiły tutaj 0,24 ppm [P-2].

*Badania fotostabilności kompleksów srebra(I) z pochodnymi imidazolu i wybranymi anionami [P-2, P-3]*

Zbadano fotostabilność kompleksów srebra(I) z pochodnymi imidazolu, tj. metronidazolem i 4(5-(hydroksymetylo)imidazolem, i wybranymi anionami. Płatki z czystej bawełny nasączono  $0,025 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  roztworami wodnymi badanych kompleksów srebra(I) i eksponowano na światło bezpośrednio w rytmie dobowym w temperaturze pokojowej w czasie 120 godzin. Dla porównania zbadano fotostabilność odpowiednich wodnych roztworów soli srebra, tj.  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{AgClO}_4$ ,  $\text{AgCF}_3\text{COO}$ ,  $\text{AgBF}_4$  i  $\text{AgSO}_3\text{CH}_3$ , w identycznych warunkach.

Wysoka fotostabilność kompleksów srebra(I) wydaje się bardzo istotną właściwością pod kątem ich potencjalnych zastosowań jako środków przeciwdrobnoustrojowych do użytku zewnętrznego w formie maści, żeli czy materiałów opatrunkowych. Przeprowadzony eksperyment miał na celu wizualną ocenę stabilności związków na podłożu z bawełny w warunkach imitujących warunki życia codziennego w rytmie dobowym. Wiadomo, że roztwory azotanu srebra używane w leczeniu infekcji skórnych, powodują jej przebarwienia oraz przebarwienia opatrunków i odzieży mającej kontakt z leczoną skórą. Jest to bardzo uciążliwy efekt uboczny stosowania azotanu srebra.

Rezultaty badań pokazały, że kompleksy srebra(I) wykazały lepszą fotostabilność niż ich odpowiednie sole. Płatki bawełniane nasączone roztworami soli srebra zaczęły ciemnieć już pod 4 godzinach, podczas gdy te nasączone roztworami kompleksów srebra(I) pozostały prawie niezmiennie po 2 dobach. Po tym czasie ich zabarwienie stawało się jasno beżowe i pozostawało beżowe lub beżowo-szare aż do 120h. Natomiast płatki bawełniane nasączone roztworami soli srebra po pierwszej dobie były już całkowicie ciemne.

Ogólnie, badane związki kompleksowe srebra okazały się bardziej stabilne przy wystawieniu na światło i w kontakcie z bawełną, niż nieorganiczne sole srebra.

Wszystkie opisane powyżej kompleksy srebra(I) poddano dalszym badaniom, w celu oceny ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej (**rozdział 4.3.3.3**) i cytotoksycznej (**rozdział 4.3.3.4**).

#### **4.3.3.2. SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA KOMPLEKSÓW MIEDZI(II)**

*Synteza i charakterystyka strukturalna kompleksów miedzi(II) z fosforanowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu [P-6, P-7, P-8]*

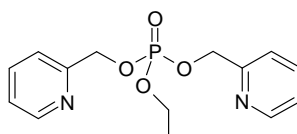
Nowe związki kompleksowe miedzi(II) zsyntetyzowano i scharakteryzowano, aby następnie ocenić ich aktywność przeciwdrobnoustrojową i porównać ją z aktywnością odpowiednich kompleksów srebra(I). Na podstawie doniesień literaturowych wiadomo, że kompleksy miedzi(II) z różnymi ligandami wykazują szereg właściwości biologicznych [56-59, 63-70, 98, 99], w tym przeciwdrobnoustrojową i cytotoksyczną, co zachęcało do przeprowadzenia kolejnych badań.

Otrzymano nowe związki kompleksowe miedzi(II) z fosforanem dietylu pirydyn-4-ylometylu (4-pmOpe), fosforanem 1*H*-benzimidazol-2-ylometylu dietylu (2-bimOpe) oraz fosforanem etylu bis(pirydyn-2-ylometylu) [2-bis(pm)Ope] [P-6, P-7, P-8].

Kompleksy Cu(II) z fosforanowymi pochodnymi są jedyną grupą związków miedzi(II) przedstawianą w niniejszej pracy, ponieważ syntezę kompleksów miedzi(II) z hydroksymetylowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu, 2,6-di(CH<sub>2</sub>OH)py, 2-CH<sub>2</sub>OHbim, oraz z metronidazolem zostały wcześniej opisane w literaturze [85,86,100]. Zsyntetyzowano i scharakteryzowano tylko jeden nowy kompleks miedzi(II) z ligandem z grupy pochodnych hydroksymetylowych, tj. z 4-(hydroksymetylo)pirydyną i opis zamieszczono w publikacji gotowej do wysłania do recenzji. Na potrzeby badań aktywności cytotoksycznej, będących przedmiotem wspomnianej publikacji, powtórzono także syntezę kompleksów Cu(II) z 2,6-di(CH<sub>2</sub>OH)py i 2-CH<sub>2</sub>OHbim, wykorzystując procedury podane w literaturze [85,86].

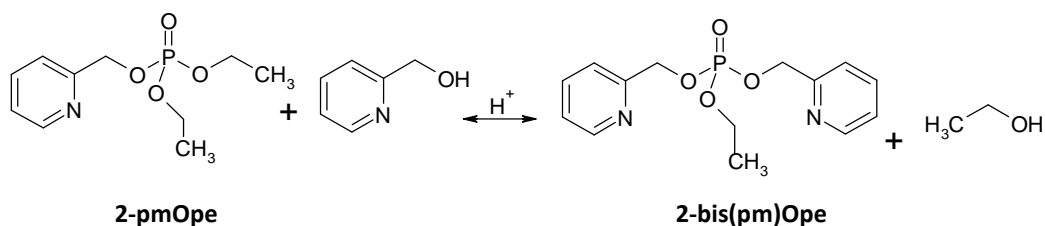
Synteza ligandów, 4-pmOpe i 2-bimOpe (**Rys. 1**), została przeprowadzona zgodnie z wcześniej opublikowaną przeze mnie procedurą [71,72].

Nowy fosforan etylu bis(pirydyn-2-ylometylu) [2-bis(pm)Ope] (**Rys. 13**) uzyskano w procesie transestryfikacji (alkoholizy) estru fosforowego, fosforanu dietylu pirydyn-2-ylometylu (2-pmOpe), zilustrowanej na Schemacie 1. Reakcje syntezy nowego fosforanu 2-bis(pm)Ope oraz fosforanu dietylu pirydyn-2-ylometylu (2-pmOpe) przebiegały równolegle w wyniku kondensacji 2-(hydroksymetylo)pirydyny, trietyloaminy oraz chlorofosforanu dietylu. Otrzymany z powyższych substratów fosforan dietylu pirydyn-2-ylometylu (2-pmOpe) [71] uległ częściowemu przekształceniu do fosforanu etylu bis(pirydyn-2-ylometylu) [2-bis(pm)Ope] w wyniku transestryfikacji [P-6].



**2-bis(pm)Ope**

**Rys. 13.** Wzór strukturalny fosforanu etylu bis(pirydyn-2-ylometylu) [2-bis(pm)Ope]



**2-pmOpe**

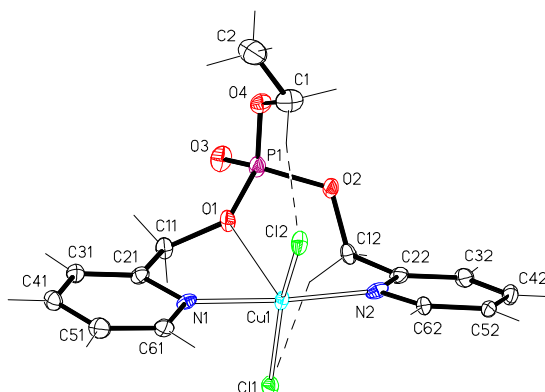
**2-bis(pm)Ope**

**Schemat 1.** Transestryfikacja fosforanu dietylu (pirydyn-2-ylometylu) (2-pmOpe).

W procesie tym jedna z grup etoksylowych fosforanu dietylu pirydyn-2-ylometylu (2-pmOpe) została podstawiona grupą pirydyn-2-ylometoksylową w środowisku kwaśnym. Prawdopodobnie proces był katalizowany przez niezwiązany przez trietyloaminę kwas solny, który był produktem ubocznym głównej reakcji. Uzyskane w wyniku reakcji produkty, 2-bis(pm)Ope i 2-pmOpe, zostały rozdzielone i oczyszczone na drodze chromatografii kolumnowej. Czystość i tożsamość produktów potwierdzono z pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego NMR (<sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P), spektroskopii w podczerwieni oraz analizy pierwiastkowej [P-6].

Nowy kompleks miedzi(II) o wzorze sumarycznym [CuCl<sub>2</sub>(2-bis(pm)Ope)] otrzymano w wyniku reakcji CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O z fosforanem etylu bis(pirydyn-2-ylometylu) [2-bis(pm)Ope] (**Rys. 14**), połączonych w stosunku molowym 1:1 [P-6].

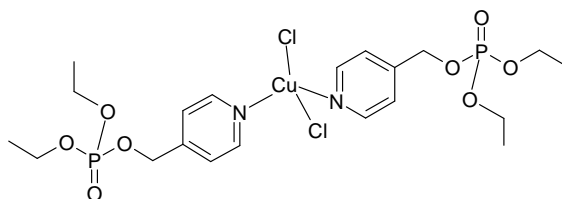
Związek zidentyfikowano za pomocą analizy widm far-IR, analizy pierwiastkowej oraz badań właściwości magnetycznych. Struktura krystaliczna kompleksu została także potwierdzona za pomocą rentgenowskiej analizy strukturalnej (**Rys. 14**).



**Rys. 14.** Struktura krystaliczna kompleksu  $[\text{CuCl}_2(2\text{-bis(pm)Ope})]$  [P-6].

Kompleks miedzi(II) posiada konfigurację zniekształconej piramidy tetragonalnej [4+1]. Centralny jon miedzi Cu(II) jest otoczony w płaszczyźnie ekwatorialnej przez dwa atomy azotu należące do dwóch pierścieni pirydyny oraz dwa aniony chlorkowe, natomiast atom tlenu z grupy fosforanowej tworzy słabe wiązanie osiowe. Wiązanie osiowe Cu1-O1 jest dłuższe [2.470(5) Å] niż wiązania w podstawie piramidy: Cu-N (2,00 Å) i wiązania Cu-Cl (2,24 Å). W strukturze krystalicznej kompleksu  $[\text{CuCl}_2(2\text{-bis(pm)Ope})]$  ligand 2-bis(pm)Ope jest trójkleszczowy [P-6].

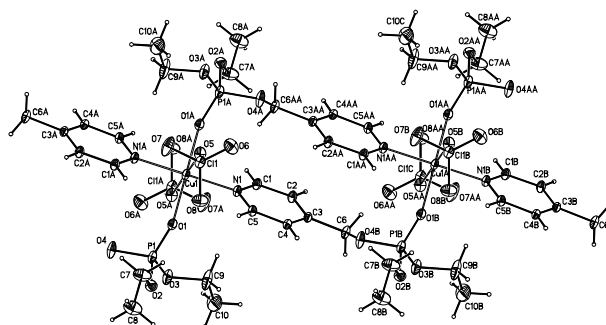
Chlorkowy kompleks miedzi(II) z fosforanem dietylu pirydyn-4-ylometylu (4-pmOpe) o wzorze sumarycznym  $[\text{CuCl}_2(4\text{-pmOpe})_2]$  (**Rys. 15**) otrzymano w wyniku reakcji uwodnionego chlorku miedzi  $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  z odpowiednim ligandem w stosunku molowym 1:2. Budowę związku potwierdzono za pomocą badań spektroskopowych (IR, UV-VIS, EPR) i niskotemperaturowych badań magnetycznych oraz analizy pierwiastkowej [P-7].



**Rys. 15.** Proponowana struktura kompleksu kompleksu miedzi(II) z 4-pmOpe.

Zaproponowano dla niego zniekształconą konfigurację tetraedryczną (chromofor  $\text{CuN}_2\text{Cl}_2$ ). W kompleksie ligand 4-pmOpe jest jednofunkcyjny (monodentny), inaczej niż w chloranowym(VII) kompleksie miedzi [P-8], w którym jest on ligandem mostkowym.

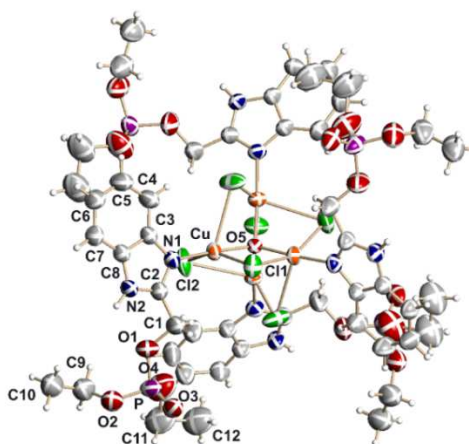
Struktura krystaliczna kompleksu Cu(II) z fosforanem dietylu pirydyn-4-ylometylu (4-pmOpe) o wzorze empirycznym  $[\text{Cu}(4\text{-pmOpe})_2(\text{ClO}_4)_2]$ , stanowi jednowymiarowy łańcuch polimeryczny, w którym jony miedzi(II) są połączone mostkowo (N,O) dwoma ligandami 4-pmOpe w układzie *trans* oraz wiążą się z dwoma jonami chloranowymi(VII). Liczba koordynacyjna w tym kompleksie miedzi wynosi 6, zaś wielościanem koordynacyjnym jest zniekształcony oktaedr (**Rys 16**) [P-8].



Rys. 16. Struktura krystaliczna kompleksu  $[\text{Cu}(4\text{-pmOpe})_2(\text{ClO}_4)_2]$  [P-8].

Kompleks miedzi(II) z fosforanem 1*H*-benzimidazol-2-ilometylu dietylu (2-bimOpe) otrzymano w wyniku reakcji 1 mola  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  z 1 molem 2-bimOpe w etanolu w atmosferze otoczenia. Nowy związek scharakteryzowano za pomocą analizy widma w podczerwieni (far-IR), analizy pierwiastkowej oraz rentgenostrukturalnej monokryształu [P-4].

Struktura krystaliczna kompleksu miedzi(II), pokazana na Rys. 17, jest nietypowa. Cztery jony miedzi(II) są unieruchomione w klastrze  $\text{Cu}_4\text{OCl}_6$  o wysokiej symetrii, zbudowanym wokół  $\mu_4$  mostkowego anionu tlenkowego  $\text{O}^{2-}$ , dodatkowo stabilizowanego przez sześć anionów chlorkowych [101]. Istnieją badania, które sugerują, że klastry typu  $\text{Cu}_4\text{OCl}_6$  mogą tworzyć się w środowisku zawierającym wodę. Obecny w kompleksie miedzi(II) anion tlenkowy  $\text{O}^{2-}$ , może pochodzić z wody obecnej w mieszaninie reakcyjnej [102]. Rzeczywiście, reakcja syntezy kompleksu przebiegała z zastosowaniem uwodnionego chlorku miedzi ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) w nieodwodnionym etanolu w atmosferze otoczenia. W rozpatrywanym kompleksie anion tlenkowy  $\text{O}^{2-}$  koordynuje do czterech sąsiadujących kationów miedzi  $\text{Cu}^{2+}$ , tworząc prawie idealny tetraedr, z kątami pomiędzy wiązaniami  $\text{Cu-O5-Cu}$  wynoszącymi  $110,74(2)^\circ$  i  $106,96(3)^\circ$ . Na elektrycznie obojętną cząsteczkę kompleksu składają się cztery cząsteczki liganda 2-bimOpe, cztery kationy miedzi  $\text{Cu}^{2+}$ , jeden anion tlenkowy  $\text{O}^{2-}$  oraz sześć mostkowych  $\mu_2$  anionów chlorkowych  $\text{Cl}^-$ , z których każdy wiąże się z dwoma jonami miedzi. W rezultacie każdy jon miedzi posiada liczbę koordynacyjną równą 5, tworząc geometrię zniekształconej piramidy tetragonalnej. Każda z czterech cząsteczek liganda 2-bimOpe jest jednofunkcyjna (monodentna), podobnie jak w kompleksie srebra(I) z 2-bimOpe. [P-4].



Rys. 17. Struktura krystaliczna kompleksu miedzi(II) z fosforanem 1*H*-benzimidazol-2-ilometylu dietylu (2-bimOpe) [P-4].



Otrzymane kompleksy Cu(II) z fosforanowymi pochodnymi poddano dalszym badaniom aktywności przeciwdrobnoustrojowej (**rozdział 4.3.3.3.**) i cytotoksycznej (wyniki nieopublikowane).

#### **4.3.3.3. BADANIA AKTYWNOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWEJ KOMPLEKSÓW Ag(I) i Cu(II)**

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa (przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza) nowo zsyntetyzowanych związków kompleksowych srebra(I) i miedzi(II) z pochodnymi pirydyny i (benz)imidazolu, opisanych w poprzedniej części niniejszej pracy oraz wolnych ligandów została zbadana we współpracy z zespołem Prof. dr hab. Katarzyny Lisowskiej w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii Uniwersytetu Łódzkiego oraz zespołem Prof. dr hab. Eligii Szewczyk w Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe związków zostały określone w stosunku do wybranych szczepów referencyjnych bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228), Gram-ujemnych (*Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442) oraz drożdży (*Candida albicans* ATCC 10231). Właściwości przeciwdrobnoustrojowe zostały wyrażone za pomocą minimalnego stężenia hamującego (MIC) i minimalnego stężenia bakteriobójczego/ grzybobójczego (MBC/MFC) i podane w  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  (lub  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Aktywności przeciwdrobnoustrojowe zostały wyznaczone za pomocą zmodyfikowanej metody mikrorozcieńczeń w odpowiednich podłożach zgodnie z obowiązującymi standardami. W przypadku bakterii zastosowano normę NCCLS, Standard M7-A5 [1-54, 2000], w przypadku drożdży normę EUCAST EDef7.1. [398-405, 2008] [**P-1, P-2, P-3, P-5**]. Ponadto, kompleksy srebra(I) i miedzi(II) z fosforanowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu zostały przebadane na klinicznych i wzorcowych szczepach bakterii: *Staphylococcus aureus*: ATCC 6538; *S. aureus* ZMF MM3 (MRSA: Methicillin-resistant *S. aureus*); *S. aureus* ZMF KSK (MRSA); *Staphylococcus epidermidis* ZMF 12 (MRSE: Methicillin-resistant *S. epidermidis*); *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 oraz drożdży: *Candida albicans* ATCC 10231 i *Candida albicans* ZMF4, metodą mikrorozcieńczeń zgodnie z rekomendacjami CLSI [103, 104] [**P-4**]. Jako związki referencyjne zastosowano azotan srebra  $\text{AgNO}_3$  i związek kompleksowy srebra z sulfadiazyną (ang. silver sulfadiazine AgSD), leki przeciwbakteryjne do użytku zewnętrznego stosowane w leczeniu zakażeń skóry i błon śluzowych. [**P-1, P-2, P-3, P-4, P-5**].

Drobnoustroje wybrane do testów biologicznych są izolowane ze skóry oraz tkanek miękkich. Mogą powodować wiele chorób, np. zakażenia skóry, ran i oparzeń a także zakażenia dróg moczowych, zapalenia płuc, biegunki czy zapalenia wsierdza [105, 106]. Są również przyczyną innych rozmaitych infekcji mogących stanowić poważne zagrożenie dla życia. Spośród nich szczególnie trudne w leczeniu, z powodu obecności więcej niż jednego szczepu drobnoustrojów, są zakażenia towarzyszące poparzeniom [107]. Omawiane bakterie są także odpowiedzialne za rozmaite zakażenia szpitalne [108,109], które mogą być kłopotliwe w leczeniu ze względu na często występującą oporność szczepów szpitalnych na popularnie stosowane antybiotyki.

#### *Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej kompleksów srebra(I) z hydroksymetylowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu [**P-1, P-5**]*

Aktywność przeciwdrobnoustrojową nowo otrzymanych kompleksów srebra(I) z hydroksymetylowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu, tj. 4-(hydroksymetylo)pirydyną

(4-CH<sub>2</sub>OHpy), 2,6-di(hydroksymetylo)pirydyną (2,6-di(CH<sub>2</sub>OH)py) i 2-(hydroksymetylo)-benzimidazolem (2-CH<sub>2</sub>OHbim), przebadano na następujących szczepach referencyjnych bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228) [P-5], Gram-ujemnych (*P. hauseri* ATCC 13315, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 15442) [P-1] oraz drożdży (*C. albicans* ATCC 10231) [P-5], i porównano z aktywnością AgNO<sub>3</sub>, AgSD (ang. silver sulfadiazine) oraz wolnych ligandów (4-CH<sub>2</sub>OHpy, 2,6-di(CH<sub>2</sub>OH)py, 2-CH<sub>2</sub>OHbim) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Wartości MIC i MBC/MFC badanych związków srebra podane w μmol·l<sup>-1</sup> [μM] [P-1, P-5]

Badany związek	<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>P. hauseri</i> ATCC 13315		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442		<i>C. albicans</i> ATCC 10231	
	MIC [μM]	MBC [μM]	MIC [μM]	MBC [μM]	MIC [μM]	MBC [μM]	MIC [μM]	MBC [μM]	MIC [μM]	MBC [μM]	MIC [μM]	MFC [μM]
{[Ag(4-pmOpe)]NO <sub>3</sub> ] <sub>n</sub>	#75	#602	#75*	#75*	96	145	72	120	48	72	#19	#19
[Ag(2-bimOpe) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	#42	#85	#11*	#21*	27	54	27	41	14	27	#21	#21
[Ag(2,6-di(CH <sub>2</sub> OH)py) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	201	246	201	246	67	67	67	112	45	67	22	67
[Ag(4-CH <sub>2</sub> OHpy) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	103	103	103	129	52	77	52	77	26	52	52	103
[Ag(2-CH <sub>2</sub> OHbim) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	171	193	171	193	21	21	21	43	21	21	21	43
[Ag(MTZ) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	117	117	39	59	98	98	98	117	59	117	59	≥215
[Ag(4-CH <sub>2</sub> OHimH) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	82	109	82	109	109	164	137	219	109	137	82	≥273
AgNO <sub>3</sub>	88	147	88	118	118	177	118	177	59	59	59	177
AgSD	168	252	112	224	56	84	84	84	56	56	56	56

\* *S. epidermidis* ZMF 12 (MRSE) [P-4]; # wartości wyznaczone za pomocą metody opisanej w pracy [P-4]

Na szczególną uwagę zasługują właściwości przeciwbakteryjne kompleksu Ag(I) z 2-(hydroksymetylo)benzimidazolem. Związek hamował wzrost *E. coli* ATCC 25922 oraz *P. aeruginosa* ATCC 15442 przy stężeniach 2,6 razy niższych niż AgSD, zaś wzrost bakterii *P. hauseri* ATCC 13315 przy stężeniu 4-krotnie niższym niż AgSD. Ponadto, wartości MIC związku odpowiadały jednocześnie jego wartościom stężeń bójczych (MBC) [P-1].

Dobłą aktywnością wobec testowanych bakterii Gram-ujemnych charakteryzował się także kompleks srebra(I) z 4-(hydroksymetylo)pirydyną. Jego minimalne stężenie hamujące wzrost *P. aeruginosa* było 2-krotnie mniejsze niż stężenia związków referencyjnych AgSD i AgNO<sub>3</sub>.

Całkowite ograniczenie wzrostu *E. coli* oraz *P. hauseri* przy zastosowaniu tej pochodnej zachodziło przy stężeniach 52 μmol·l<sup>-1</sup>, czyli 2 razy niższych niż przy użyciu AgNO<sub>3</sub>. Kompleks srebra(I) z drugą pochodną pirydyny (2,6-di(CH<sub>2</sub>OH)py) hamował wzrost testowanych bakterii przy stężeniach zbliżonych do stężeń hamujących zastosowanych związków referencyjnych (AgSD i AgNO<sub>3</sub>) [P-1].

Omawiana grupa związków srebra(I) okazała się mniej aktywna w stosunku do testowanych szczepów bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus* i *S. epidermidis*) niż w stosunku do bakterii Gram-ujemnych oraz *C. albicans*. Ich wartości MIC wobec w/w dwóch szczepów wynosiły 103 μmol·l<sup>-1</sup>, 171 μmol·l<sup>-1</sup> i 201 μmol·l<sup>-1</sup>. W badanej grupie najlepszą aktywnością, nieco wyższą od aktywności AgSD (MIC 168 μmol·l<sup>-1</sup> i 112 μmol·l<sup>-1</sup>), charakteryzował się kompleks Ag(I) z 4-CH<sub>2</sub>OHpy. Pozostałe związki srebra wykazały około 2 razy mniejszą aktywność niż AgNO<sub>3</sub>, i zbliżoną lub nieco niższą aktywność niż AgSD [P-5].

Wszystkie związki srebra(I) z pochodnymi hydroksymetylowymi wykazały bardzo dobrą



aktywność przeciugrzybiczą, która wyrażona za pomocą wartości MIC wynosiła  $21 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $22 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $52 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Uzyskane stężenia były około 2 razy niższe lub porównywalne z aktywnością związków referencyjnych  $\text{AgNO}_3$  i  $\text{AgSD}$  (odpowiednio  $59 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  i  $56 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [P-5].

Wolne ligandy: 4- $\text{CH}_2\text{OHpy}$ , 2,6-di( $\text{CH}_2\text{OH}$ )py i 2- $\text{CH}_2\text{OHbim}$ , nie wykazały aktywności przeciwdrobnoustrojowej nawet w bardzo wysokich stężeniach. Nie ustalono ich wartości MIC w badanym zakresie stężeń, które wobec badanych bakterii Gram-dodatnich i drożdży były wyższe od  $500 \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , zaś wobec badanych bakterii Gram-ujemnych wyższe od  $200 \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  [P-5, P-1].

*Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej kompleksów srebra(I) i miedzi(II) z fosforanowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu [P-1, P-4]*

Nowo zsyntetyzowane kompleksy srebra(I) i miedzi(II) z fosforanowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu, tj. fosforanem dietylu pirydyn-4-ylometylu (4-pmOpe), fosforanem 1*H*-benzimidazol-2-ilometylu dietylu (2-bimOpe) i fosforanem etylu bis(pirydyn-2-ylometylu) [2-bis(pm)Ope], zostały przebadane na następujących szczepach bakterii: *S. aureus* ATCC 6538; *S. aureus* ZMF MM3 (MRSA); *S. aureus* ZMF KSK (MRSA); *S. epidermidis* ZMF 12 (MRSE); *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 27853 oraz drożdży: *C. albicans* ATCC 10231 i *C. albicans* ZMF4. [P-4]. Dodatkowo, właściwości przeciwbakteryjne związków kompleksowych srebra(I) z 4-pmOpe i 2-bimOpe zostały określone w stosunku do wybranych szczepów referencyjnych bakterii Gram-ujemnych (*P. hauseri* ATCC 13315, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 15442) [P-1]. Aktywności związków zostały porównane z aktywnościami odpowiednich wolnych ligandów i związków referencyjnych  $\text{AgNO}_3$  i  $\text{AgSD}$  [P-1, P-4] (Tabela 2).

**Tabela 2.** Wartości MIC i MBC/MFC badanych związków srebra podane w  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  [ $\mu\text{M}$ ] [P-4].

	<i>E. coli</i> ATCC 8739		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>S. epidermidis</i> ZMF 12 (MRSE)		<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>S. aureus</i> ZMF MM3 (MRSA)		<i>S. aureus</i> ZMF KSK (MRSA)		<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>C. albicans</i> ZMF4	
	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MFC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MFC [ $\mu\text{M}$ ]
1	38	38	38	38	75	75	75	602	75	151	75	75	19	19	19	38
2	21	21	5	11	11	21	42	85	21	677	21	42	21	21	21	21
3	23	23	46	92	23	46	92	92	46	2941	23	92	23	46	23	23
4	22	44	44	44	44	88	88	88	88	175	88	175	11	11	22	22

1- $[\text{Ag}(4\text{-pmOpe})]\text{NO}_3$ <sub>n</sub>

2- $[\text{Ag}(2\text{-bimOpe})_2]\text{NO}_3$

3- $\text{AgNO}_3$

4- $\text{AgSD}$

Wyniki badań pokazały, że wolne ligandy (4-pmOpe, 2-bis(pm)Ope, 2-bimOpe) oraz kompleksy Cu(II) z w/w ligandami nie były aktywne w badanym zakresie stężeń, wyższym od  $500 \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  [P-4], podczas gdy wszystkie badane kompleksy srebra(I) posiadały stosunkowo dobre właściwości przeciwdrobnoustrojowe [P-4, P-1].

Najlepszą aktywnością charakteryzował się kompleks Ag(I) z fosforanową pochodną benzimidazolu (2-bimOpe) i hamował wzrost *P. aeruginosa* ATCC 15442 przy stężeniu  $14 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , 4-krotnie niższym niż referencyjna  $\text{AgSD}$  [P-1]. Związek ten ograniczał wzrost bakterii *P. aeruginosa* ATCC 27853 przy stężeniu  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , czyli aż 8-krotnie niższym niż referencyjne  $\text{AgSD}$  i  $\text{AgNO}_3$  [P-4].

Zastosowanie tej substancji w stężeniu  $27 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , tj. 2-3 razy niższym niż AgSD, powodowało hamowanie wzrost *P. hauseri* ATCC 13315 i *E. coli* ATCC 25922 [P-1].

Omawiany związek, kompleks Ag(I) z fosforanową pochodną benzimidazolu (2-bimOpe), wykazywał bardzo dobrą aktywność hamującą i bójczą wobec badanych szczepów bakterii Gram-dodatnich. Prawie wszystkie jego wartości MIC i MBC były 4-krotnie niższe niż odpowiednie wartości MIC i MBC dla związku referencyjnego AgSD [P-4].

Obydwa kompleksy srebra(I), z fosforanową pochodną benzimidazolu (2-bimOpe) i pirydyny (4-pmOpe), hamowały wzrost drożdży, *C. albicans* ATCC 10231 i *C. albicans* ZMF4, przy stężeniach ok.  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , porównywalnych ze stężeniami hamującymi i bójczymi dla związków referencyjnych AgSD i  $\text{AgNO}_3$  [P-4].

*Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej kompleksów srebra(I) z metronidazolem i wybranymi anionami [P-3]*

Zbadano aktywność przeciwdrobnoustrojową serii pięciu kompleksów srebra(I) z metronidazolem (MTZ) [MTZ= 1-(2-hydroksyetylo)-2-metylo-5-nitroimidazol] i wybranymi anionami ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{BF}_4^-$  i  $\text{SO}_3\text{CH}_3^-$ ). Skoro jedynym zmiennym elementem w omawianych kompleksów był zastosowany anion, przy stałym rdzeniu kompleksu złożonym ze srebra i metronidazolu,  $[\text{Ag}(\text{MTZ})_2]^{2+}$ , zatem przeprowadzone testy pozwoliły na ocenę wpływu przeciwjonu na aktywność mikrobiologiczną testowanych kompleksów. Uzyskane wyniki badań aktywności mikrobiologicznej związków kompleksowych porównano nie tylko z aktywnością AgSD i wolnego liganda (metronidazolu), lecz także z aktywnością odpowiednich dobrze rozpuszczalnych w wodzie soli srebra, tj.  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{AgClO}_4$ ,  $\text{AgCF}_3\text{COO}$ ,  $\text{AgBF}_4$  i  $\text{AgSO}_3\text{CH}_3$  [P-3] (Tabela 3).

**Tabela 3.** Wartości MIC i MBC/MFC badanych związków srebra podane w  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  [ $\mu\text{M}$ ] [P-3, P-2].

Badany związek	<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>P. hauseri</i> ATCC 13315		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442		<i>C. albicans</i> ATCC 10231	
	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MBC [ $\mu\text{M}$ ]	MIC [ $\mu\text{M}$ ]	MFC [ $\mu\text{M}$ ]
$[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{NO}_3]$	117	117	39	59	98	98	98	117	59	117	59	$\geq 215$
$[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{ClO}_4]$	109	145	36	73	36	73	55	91	36	55	55	$\geq 200$
$[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{CF}_3\text{COO}]$	107	107	36	53	71	107	107	142	36	89	71	$\geq 195$
$[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{BF}_4]$	130	130	56	75	56	56	56	75	<b>19</b>	<b>19</b>	37	$\geq 205$
$[\text{Ag}(\text{MTZ})_2\text{SO}_3\text{CH}_3]$	55	55	<b>18</b>	<b>37</b>	110	146	128	165	37	37	<b>18</b>	<b>37</b>
$[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{NO}_3$	82	109	82	109	109	164	137	219	109	137	82	$>273$
$[[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{ClO}_4]$	91	91	74	124	91	91	124	173	74	124	91	$>248$
$[[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{CF}_3\text{COO}]$	72	72	48	96	96	120	120	144	72	72	96	$>240$
$[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{BF}_4$	102	153	77	153	102	179	205	230	102	102	102	$>256$
$[[\text{Ag}(4\text{-CH}_2\text{OHimH})_2]\text{SO}_3\text{CH}_3]$	100	200	75	150	125	175	125	175	100	125	100	$>250$
$\text{AgNO}_3$	88	147	88	118	118	177	118	177	59	59	59	177
$\text{AgClO}_4$	97	193	48	193	97	97	97	97	97	193	48	241
$\text{AgCF}_3\text{COO}$	90	226	45	226	45	136	90	181	90	181	45	$\geq 498$
$\text{AgBF}_4$	206	257	103	103	51	51	103	201	103	103	51	$\geq 565$
$\text{AgSO}_3\text{CH}_3$	148	148	148	148	148	197	148	246	49	99	49	$\geq 542$
AgSD	168	252	112	224	56	84	84	140	56	56	56	56

Wolny ligand- metronidazol nie wykazał aktywności wobec badanych szczepów bakterii i drożdży (MIC >200 mg·l<sup>-1</sup>). Metronidazol jest chemioterapeutyką efektywną w leczeniu chorób wywołanych przez bakterie beztlenowe, w szczególności z rodzaju *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *PeptoStaphylococcus* oraz *Prevotella* [44-47] i pierwotniaki: *Blastocystis hominis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* i *Trichomonas vaginalis* [48-50].

Badane kompleksy srebra(I) z metronidazolem (Ag(I)-MTZ) i wybranymi anionami posiadały stosunkowo dobre właściwości przeciwbakteryjne, zależnie od użytego szczepu. Aktywności związków przebadano na szczepach bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228), Gram-ujemnych (*P. hauseri* ATCC 13315, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 15442) oraz drożdży (*C. albicans* ATCC 10231) [P-3].

Wszystkie testowane kompleksy srebra(I) z metronidazolem hamowały wzrost bakterii *S. epidermidis* ATCC 12228 przy stężeniach niższych niż ich odpowiednie sole srebra i AgSD. Najlepszą aktywnością wobec tego szczepu bakterii wykazał się kompleks Ag(I)-MTZ z anionem SO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub><sup>-</sup>, który był około 8 razy bardziej aktywny niż jego odpowiednia sól AgSO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub> i około 6 razy bardziej aktywny niż AgSD. W omawianej grupie związków ten cechował się również najlepszą aktywnością wobec *S. aureus* ATCC 6538, około 3 razy wyższą niż związki referencyjne.

Podobnie, prawie wszystkie kompleksy Ag(I)-MTZ hamowały wzrost bakterii *P. aeruginosa* ATCC 15442 przy stężeniach niższych niż ich odpowiednie sole srebra i AgSD. Jedynie aktywność kompleksu z anionem NO<sub>3</sub><sup>-</sup> była taka sama jak aktywność związków referencyjnych. Najbardziej aktywny wobec tego szczepu bakterii był kompleks z anionem BF<sub>4</sub><sup>-</sup>. Okazał się bardziej aktywny niż AgBF<sub>4</sub> (5-6 razy) i AgSD (3 razy).

Wzrost pozostałych badanych bakterii Gram-ujemnych, tj. *Proteus hauseri* ATCC 13315 i *Escherichia coli* ATCC 25922, najskuteczniej hamowały kompleksy z anionami ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> i BF<sub>4</sub><sup>-</sup>, przy stężeniach około 2-krotnie niższych niż ich odpowiednie sole oraz AgSD.

Z kolei, kompleksy z anionami BF<sub>4</sub><sup>-</sup> i SO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub><sup>-</sup> wykazywały lepszą aktywność niż AgSD i ich odpowiednie sole, w stosunku do drożdży *Candida albicans* ATCC 10231, i hamowały ich wzrost przy stężeniach 37 μmol·l<sup>-1</sup> i 18 μmol·l<sup>-1</sup>. kompleks z anionem SO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub><sup>-</sup> posiadał korzystną wartość MFC (minimalnego stężenia grzybobójczego) równą 37 μmol·l<sup>-1</sup>, mniejszą niż wartość MFC dla AgSD (56 μmol·l<sup>-1</sup>) i dla AgSO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub> (MFC > 542 μmol·l<sup>-1</sup>).

Oceniając wartości stężeń bakteriobójczych (MBC) tej grupy związków, zauważono że dla wszystkich związków, w stosunku do bakterii Gram-dodatnich wartości te są mniejsze od wartości MBC dla odpowiednich soli i AgNO<sub>3</sub>. Związek kompleksowy zawierający anion SO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub><sup>-</sup>, posiadał właściwości bakteriobójcze, wobec bakterii *S. epidermidis* i *S. aureus*, przy stężeniach 6-krotnie i 4,5-krotnie niższych niż AgSD. W stosunku do bakterii Gram-ujemnych tylko związek z anionem BF<sub>4</sub><sup>-</sup> miał lepszą aktywność bójczą niż AgSD, zaś związek z anionem ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> miał aktywność bójczą zbliżoną do AgSD [P-3].

Ponadto, wyniki badań pokazały, że niektóre nieorganiczne sole srebra mają lepszą aktywność hamującą wzrost wybranych szczepów bakterii niż powszechnie stosowany w lecznictwie azotan srebra AgNO<sub>3</sub>. Przykładowo, sole AgClO<sub>4</sub> i AgCF<sub>3</sub>COO okazały się 2 razy bardziej aktywne niż azotan srebra wobec *S. epidermidis* ATCC 12228, zaś sole AgCF<sub>3</sub>COO i AgBF<sub>4</sub> około 2 razy bardziej aktywne niż azotan srebra wobec *E. coli* ATCC 25922. Wspomniane sole posiadały także lepsze aktywności bakteriobójcze, czyli niższe wartości MBC, wobec *E. coli* niż azotan srebra. Wartość MBC

dla  $\text{AgBF}_4$  wobec *S. aureus* oraz wartość dla  $\text{AgClO}_4$  wobec *P. hauseri* były także niższe niż dla  $\text{AgNO}_3$  [P-3].

*Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej kompleksów srebra(I) z 4(5)-(hydroksymetylo)imidazolem w wybranych anionami [P-2]*

Drugą spośród badanych grup kompleksów srebra(I) z pochodnymi imidazolu i wybranymi anionami była seria związków kompleksowych z 4(5)-(hydroksymetylo)imidazolem i następującymi anionami ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{BF}_4^-$  i  $\text{SO}_3\text{CH}_3^-$ ). Przebadanie tej grupy kompleksów pozwoliło ustalić, iż obecność poszczególnych anionów miała wpływ na aktywność przeciwdrobnoustrojową związków [P-2] (Tabela 3).

W badanej grupie związków, kompleks zawierający anion  $\text{CF}_3\text{COO}^-$  posiadał najwyższą aktywność wobec bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228), inaczej niż w przypadku pierwszej serii kompleksów srebra(I) z metronidazolem, gdzie najlepszą aktywnością wyróżniał się związek z anionem  $\text{SO}_3\text{CH}_3^-$  [P-3]. Pozostałe związki srebra(I) z 4(5)- $\text{CH}_2\text{OH}$ imidazolem także posiadały dość dobrą aktywność hamującą oraz bójczą wobec bakterii Gram-dodatnich, lepszą niż  $\text{AgSD}$  [P-2].

Aktywność rozpatrywanych kompleksów wobec bakterii Gram-ujemnych i drożdży była słabsza, około 2-3-krotnie mniejsza niż aktywność związku referencyjnego  $\text{AgSD}$  [P-2].

#### **4.3.3.4. BADANIA AKTYWNOŚCI CYTOTOKSYCZNEJ ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH SREBRA(I) [P-1]**

Związki srebra są przeważnie stosowane zewnętrznie, więc do badań aktywności mikrobiologicznej zostały dołączone badania cytotoksyczności związków na modelowych komórkach skóry prawidłowej (fibroblastach mysich) oraz zmienionej chorobowo (linii mysiego czerniaka złośliwego).

Chociaż w literaturze odnotowano wiele przykładów kompleksów srebra o znaczącej aktywności cytotoksycznej wobec komórek nowotworowych, to jednak liczba przebadanych związków srebra w porównaniu z kompleksami innych metali pozostaje wciąż bardzo niska. Zbadana aktywność kompleksów srebra(I) często bywała wyższa od aktywność *cis*-platyny, leku przeciwnowotworowego, przy ich stosunkowo niskiej toksyczności wobec komórek prawidłowych.

Kompleksy srebra(I) wykazują selektywną aktywność cytotoksyczną w stosunku do różnych typów komórek nowotworowych, zależnie od rodzaju liganda połączanego z jonami srebra(I). Zależność ta jest prawdopodobnie związana ze trwałością kompleksów i ich właściwościami hydro- i lipofilowymi [60]. I tak, kompleksy srebra zawierające pochodne kwasów karboksylowych są najbardziej aktywne w stosunku do komórek gruczolakoraków (np. HeLa, MCF-7), nowotworów złośliwych (np. HepG2) i mięsaków (np. LMS), i wykazują niską toksyczność dla komórek prawidłowych (NIH3T3, L-02) [110-112]. Kompleksy srebra z ligandami N-, O-, oraz S-donorowymi są mniej aktywne wobec komórek gruczolakoraków i nowotworów złośliwych, zaś najefektywniej działają na komórki czerniaka A-375 [113] i chłoniaka K-562 [114], przy czym ich toksyczność dla komórek nierakowych jest umiarkowana. Aktywność związków srebra z P-donorowymi ligandami wobec komórek prawidłowych nie była badana, natomiast określono ich wysoką aktywność dla komórek nowotworów złośliwych i mięsaków [115, 116]. Kompleksy srebra z ligandami z grupy karbenów charakteryzują się bardzo wysoką toksycznością wobec komórek prawidłowych, o średniej wartości  $\text{IC}_{50}$  wynoszącej  $0,7 \mu\text{M}$  [117-119].

Aktywność cytotoksyczna nowych kompleksów srebra(I) z pochodnymi pirydyny i (benz)imidazolu została zbadana w ramach współpracy z Katedrą Farmacji Stosowanej i Bioinżynierii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w zespole Prof. dr hab. Macieja Małeckiego.

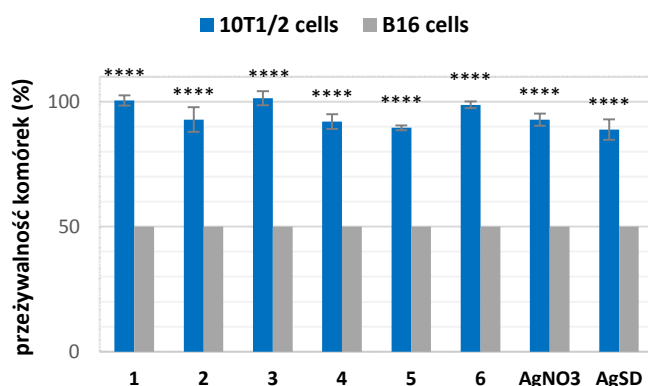
Badania zostały wykonane za pomocą kolorymetrycznego testu redukcji MTT [120]. Wykorzystuje się w nim aktywność enzymu mitochondrialnego, dehydrogenazy bursztynianowej, obecnego w żywych komórkach. Enzym ten przekształca rozpuszczalną sól tetrazolową, bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenyloctetrazolowy, w formę zredukowaną, nierozpuszczalny formazan. Kryształ formazanu rozpuszcza się w DMSO lub izopropanolu i mierzy absorbancję roztworów. Intensywność barwy roztworu jest wprost proporcjonalna do ilości powstałego formazanu i pośrednio do liczby żywych komórek.

Aktywność cytotoksyczna związków została zbadana na linii komórek nowotworowych mysiego czerniaka złośliwego (B16) oraz linii komórek mysich prawidłowych fibroblastów skóry (10T1/2), i wyrażona za pomocą wartości  $IC_{50}$  [ $\mu M$ ], która określa stężenie badanego związku powodujące zahamowanie wzrostu komórek o 50%, w stosunku do wzrostu komórek kontrolnych. Wyznaczone wartości porównano z wartościami  $IC_{50}$  dla *cis*-platyny, azotanu srebra i kompleksu srebra z sulfadiazyną (AgSD).

Najpierw wyznaczono wartości  $IC_{50}$  związków srebra(I) na linii komórkowej mysiego czerniaka złośliwego B16. Wartości te dla kompleksów srebra(I) wahały się w granicach od 2,4 do 28,7  $\mu M$ . Najwyższą aktywność odnotowano dla kompleksu srebra(I) z 4-(hydroksymetylo)pirydyną oraz kompleksu z 2-(hydroksymetylo)benzimidazolem. Wartości  $IC_{50}$  dla tych związków wynosiły odpowiednio 2,4 i 7,1  $\mu M$ . Aktywność kompleksu z pochodną pirydynową okazała się 4-krotnie wyższa niż  $AgNO_3$  ( $IC_{50} = 9,7 \mu M$ ), 8-krotnie wyższa niż AgSD ( $IC_{50} = 19,1 \mu M$ ) i około 3-krotnie wyższa niż aktywność *cis*-platyny ( $IC_{50} = 7,9 \mu M$ ).

Zbadano także aktywność cytotoksyczną wolnych ligandów wobec linii B16. Charakteryzowały się one zdecydowanie niższą aktywnością cytotoksyczną niż kompleksy srebra(I), ich wartości  $IC_{50}$  oszacowano jako większe od 200  $\mu M$ .

Kolejny etap oceny cytotoksyczności związków przeprowadzono na linii komórkowej mysich prawidłowych fibroblastów skóry (10T1/2). Aktywność cytotoksyczna związków została określona dokładnie w stężeniach odpowiadających wartościom  $IC_{50}$  związków wobec linii komórek nowotworowych B16, wyznaczonych w poprzednim etapie badań (**Wykres 1**)



**Wykres 1.** Procent przeżywalności komórek 10T1/2 traktowanych związkami 1-6 (1-[Ag(4-pmOpe)NO<sub>3</sub>]<sub>n</sub>, 2-[Ag(2-bimOpe)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>, 3-[Ag(2,6-di(CH<sub>2</sub>OH)py)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>, 4-[Ag(4-CH<sub>2</sub>OH)py)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>, 5-[Ag(2-CH<sub>2</sub>OHbim)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>, 6-[Ag(MTZ)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>), AgNO<sub>3</sub> i AgSD, w stężeniach odpowiadających wartościom  $IC_{50}$  wobec komórek B16. \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Wyniki tego etapu badań miały pokazać, czy badane związki będą toksyczne dla linii komórkowych prawidłowych fibroblastów skóry (10T1/2) w stężeniach działających hamująco w 50% na przeżywalność linii komórek nowotworowych (B16).

Rezultaty okazały się bardzo obiecujące, gdyż zbadany procent przeżywalności komórek prawidłowych 10T1/2 wynosił od 90% do 100%. Oznacza to, że badane kompleksy srebra(I) były mało- lub nietoksyczne w stosunku do komórek prawidłowych przy działaniu hamującym rozwój komórek nowotworowych w 50%.

#### 4.3.4. PODSUMOWANIE OSIĄGNIĘĆ STANOWIĄCYCH PODSTAWĘ HABILITACJI

- Zsyntetyzowano nowe kompleksy srebra(I) i miedzi(II) z fosforanowymi i hydroksymetylowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu.
- Zsyntetyzowano dwie serie nowych kompleksów srebra(I) z pochodnymi imidazolu, tj. lekiem metronidazolem [1-(2-hydroksyetylo)-2-metylo-5-nirto-1*H*-imidazolem] i 4(5)-(hydroksymetylo)imidazolem oraz różnymi anionami: azotanowym(V), chloranowym(VII), trifluoroctowym, tetrafluoroboranowym i metylosulfonianowym.
- Opracowano dogodne metody syntezy i oczyszczania tych kompleksów.
- Uzyskano nowy fosforan etylu bis(pirydyn-2-ylometylu) [2-bis(pm)Ope] oraz wyjaśniono jego mechanizm powstawania.
- Kompleksy srebra(I) charakteryzowano przy użyciu analizy spektroskopowej magnetycznego rezonansu jądrowego (<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR i <sup>31</sup>P NMR) i w podczerwieni (IR), analizy spektrometrii mas (ESI-MS) oraz EA i zaproponowano ich budowę cząsteczkową. Kompleksy miedzi(II) charakteryzowano przy użyciu badań spektroskopowych (far-IR, UV-VIS, EPR) i magnetycznych oraz EA.
- Ustalono struktury krystaliczne 11 kompleksów srebra(I) oraz 4 kompleksów miedzi(II) za pomocą rentgenowskiej analizy strukturalnej monokryształów.
- Badania fotostabilności związków pokazały, że otrzymane związki kompleksowe srebra(I) są bardziej stabilne przy wystawieniu na światło i w kontakcie z bawełną, niż nieorganiczne sole srebra.
- Określono właściwości przeciwdrobnoustrojowe nowych kompleksów Ag(I) i Cu(II) w stosunku do wybranych szczepów referencyjnych bakterii i drożdży, wyznaczając ich minimalne stężenia hamujące (MIC), minimalne stężenia bakteriobójcze/grzybobójcze (MBC/MFC).
- Porównano aktywność przeciwdrobnoustrojową kompleksów z aktywnością związków referencyjnych: AgSD (ang. silver sulfadiazine) i AgNO<sub>3</sub> (lub innych odpowiednich soli srebra).
- Wykazano znaczącą aktywność przeciwdrobnoustrojową kompleksów Ag(I), która w większości przypadków okazała się wyższa niż dla związków referencyjnych.
- Najbardziej aktywne okazały się kompleksy srebra(I) z pochodnymi benzimidazolu. Wykazywały kilkakrotnie lepszą aktywność przeciwbakteryjną wobec szczepów bakterii



Gram-ujemnych (*P. hauseri* ATCC 13315, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 15442) i wobec drożdży (*C. albicans* ATCC 10231) niż związki referencyjne: AgSD i AgNO<sub>3</sub>.

- W stosunku do szczepów bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus*, *S. epidermidis*) znaczącą aktywnością wykazywał się kompleks srebra(I) z fosforanową pochodną benzimidazolu.
- Wszystkie kompleksy Ag(I) z fosforanowymi i hydroksymetylowymi pochodnymi pirydyny i benzimidazolu odznaczały się nieco lepszą aktywnością przeciwbakteryjną wobec testowanych szczepów bakterii Gram-ujemnych niż wobec Gram-dodatnich.
- Najlepszą aktywność przeciwgrzybiczą wobec *C. albicans* wykazały związki Ag(I) z pochodnymi pirydyny i benzimidazolu zawierającymi grupę –CH<sub>2</sub>OH oraz kompleks Ag(I)-MTZ z anionem SO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub><sup>-</sup>, około 3 razy wyższą od aktywności związków referencyjnych: AgNO<sub>3</sub> i AgSD.
- Określono wpływ wybranych anionów (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>, CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, BF<sub>4</sub><sup>-</sup> i SO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub><sup>-</sup>) na aktywność przeciwdrobnoustrojową związków kompleksowych Ag(I), na podstawie badań dwóch grup związków srebra(I) z pochodnymi imidazolu, tj.: metronidazolem i 4(5)-(hydroksymetylo)-imidazolem, oraz wybranymi anionami.
- W grupie związków srebra(I) z metronidazolem i wybranymi anionami najlepsze parametry hamujące i bójcze wobec bakterii Gram-dodatnich i drożdży *C. albicans* wykazywał związek zawierający anion SO<sub>3</sub>CH<sub>3</sub><sup>-</sup>, zaś wobec bakterii Gram-ujemnych związki z anionami ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> i BF<sub>4</sub><sup>-</sup>.
- Spośród kompleksów srebra(I) z 4(5)-(hydroksymetylo)imidazolem i wybranymi anionami na uwagę zasługuje związek z anionem CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, który posiadał znaczące właściwości przeciwbakteryjne (hamujące i bójcze) wobec bakterii Gram-dodatnich.
- Obydwie grupy kompleksów z pochodnymi imidazolu wykazały lepszą aktywność wobec bakterii Gram-dodatnich niż wobec bakterii Gram-ujemnych i drożdży. Prawdopodobnie jest to związane z różnicami w strukturze ściany i błony komórkowej poszczególnych mikroorganizmów.
- Ponadto, wyniki badań pokazały, że niektóre nieorganiczne sole srebra (np. AgCF<sub>3</sub>COO, AgBF<sub>4</sub>, AgClO<sub>4</sub>) mają lepszą aktywność hamującą lub/i bójczą wobec wybranych szczepów bakterii niż powszechnie stosowany AgNO<sub>3</sub>.
- Związki kompleksowe miedzi(II), podobnie jak wszystkie wolne ligandy, nie wykazały aktywności przeciwdrobnoustrojowej w bardzo wysokich stężeniach, ich wartości MIC były wyższe od 200 mg·l<sup>-1</sup> albo 500 mg·l<sup>-1</sup>. Może to wskazywać, iż obecność jonów srebra(I) determinuje aktywność przeciwdrobnoustrojową kompleksów [121].
- Oceniono aktywność cytotoksyczną *in vitro* kompleksów srebra(I) wobec linii komórek nowotworowych mysiego czerniaka złośliwego (B16) oraz linii komórek prawidłowych mysich fibroblastów skóry (10T1/2).
- Wszystkie kompleksy srebra(I) charakteryzowały się wysoką aktywnością cytotoksyczną wobec linii komórek nowotworowych mysiego czerniaka złośliwego (B16), ich wartości IC<sub>50</sub> wahały się w granicach od 2,4 do 28,7 μM.

- Dwa związki kompleksowe srebra(I), tj. kompleks z 4-(hydroksymetylo)pirydyną oraz kompleks z 2-(hydroksymetylo)benzimidazolem, wykazały najlepszą aktywność cytotoksyczną wobec linii B16, często kilkakrotnie wyższą w odniesieniu do związków referencyjnych (*cis*-platyny, AgNO<sub>3</sub> i AgSD).
- Oceniono toksyczność kompleksów srebra(I) wobec linii komórek prawidłowych fibroblastów skóry (10T1/2), badając ich procent przeżywalności w stężeniach odpowiadających wartościom IC<sub>50</sub> na linii B16. Okazał się on bardzo wysoki, w granicach 90-100%.  
Tym samym dowiedziono, że wszystkie kompleksy srebra(I) były praktycznie nietoksyczne w stosunku do komórek prawidłowych przy stężeniu hamującym rozwój komórek nowotworowych w 50%.
- Wolne ligandy, odpowiadające testowanym kompleksom srebra(I), okazały się nieaktywne cytotoksycznie; ich wartości IC<sub>50</sub> były większe od 200 μM.
- Zauważono, że kompleks srebra(I) z fosforanową pochodną benzimidazolu wykazuje aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą wobec wszystkich badanych szczepów, w stężeniach, które nie były toksyczne dla prawidłowych komórek eukariotycznych.
- Natomiast kompleks srebra(I) z 2,6-di(hydroksymetylo)pirydyną wykazuje hamujące działanie przeciwgrzybicze przy stężeniu nietoksycznym dla komórek eukariotycznych.

Założony cel pracy habilitacyjnej udało się zrealizować. Dzięki przeprowadzonym badaniom udało się stworzyć nową grupę kompleksów srebra(I) o znaczącej aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej oraz niskiej cytotoksyczności wobec komórek prawidłowych skóry.

Udowodniono także wysoką aktywność cytotoksyczną kompleksów srebra(I) wobec linii komórek nowotworowych mysiego czerniaka złośliwego.

Związki, będące efektem przedłożonej pracy mogą znaleźć potencjalne zastosowanie w leczeniu i profilaktyce różnego rodzaju zakażeń skóry i błony śluzowej wywołanych przez bakterie i drożdże. Nowe związki srebra(I) mogłyby być stosowane w leczeniu infekcji poparzeń, owrzodzeń, odleżyn, ropni, ran, grzybicy skóry i paznokci, trądziku, itp. Związki mogłyby być aplikowane w formie maści, żeli, płynów i materiałów opatrunkowych. Dodatkowym atutem nowych kompleksów srebra(I) jest ich wysoka fotostabilność, lepsza niż powszechnie stosowanego leku azotanu srebra, którego uciążliwym działaniem niepożądanym jest powodowanie przebarwień skóry i otoczenia pacjenta.

Podsumowując, przeprowadzone badania mogą przyczynić się do opracowania nowego leku przeciwdrobnoustrojowego (przeciwbakteryjnego i przeciwgrzybiczego), a także do podjęcia dalszych badań zmierzających do opracowania alternatywnej/wspomagającej terapii przeciw nowotworom skóry.

### **Wykaz skrótów**

4-pmOpe:	fosforan dietylu pirydyn-4-ylometylu
2-bimOpe:	fosforan 1 <i>H</i> -benzimidazol-2-ilmetylu dietylu
2-bis(pm)Ope:	fosforan etylu bis(pirydyn-2-ylometylu)
2-pmOpe:	fosforan dietylu pirydyn-2-ylometylu
4-CH <sub>2</sub> OHpy:	4-(hydroksymetylo)pirydyna
2,6-di(CH <sub>2</sub> OH)py:	2,6-di(hydroksymetylo)pirydyna



2-CH <sub>2</sub> OHim:	2-(hydroksymetylo)benzimidazol
4(5)-CH <sub>2</sub> OHimH:	4(5)-(hydroksymetylo)imidazol
MTZ:	metronidazol [1-(2-hydroksetylo)-2-metylo-5-nitroimidazol]
Ag(I)-MTZ:	kompleks srebra(I) z metronidazolem
AgSD:	kompleks srebra(I) z sulfadiazyną (ang. <i>silver sulfadiazine</i> )
NMR:	spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (ang. <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> )
IR:	spektroskopia w podczerwieni (ang. <i>Infrared</i> )
far-IR:	spektroskopia w dalekiej podczerwieni (ang. <i>Far-Infrared</i> )
UV-Vis:	spektroskopia w nadfiolecie oraz świetle widzialnym (ang. <i>Ultraviolet-Visible</i> )
ESI-MS:	spektrometria mas metodą elektrorozpylania (ang. <i>Electrospray Ionisation Mass Spectrometry</i> )
EPR:	spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego (ang. <i>Electron Paramagnetic Resonance</i> )
EA:	analiza pierwiastkowa (ang. <i>Elemental Analysis</i> )
MIC:	minimalne stężenie hamujące
MBC:	minimalne stężenie bakteriobójcze
MFC:	minimalne stężenie grzybobójcze
B16:	linia komórek nowotworowych mysiego czerniaka złośliwego
10T1/2:	linia komórek prawidłowych mysich fibroblastów skóry
IC <sub>50</sub> :	stężenie badanego związku, które hamuje wzrost komórek o 50%
cisplatin, (cis-platin or cis-DDP)	cisplatyna, cis-diaminadichloroplatyna(II)

### Piśmiennictwo

- [1] Antimicrobial Resistance, Global Report of Surveillance, *World Health Organization*, 2014
- [2] L.L. Silver, Challenges of Antibacterial Discovery, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2011, 24, 71-109
- [3] A.B.G. Lansdown, Silver in Healthcare: Its Antimicrobial Efficacy and Safety in Use, *Royal Society of Chemistry*, 2010, 6
- [4] Bray Healthcare, Toughened silver nitrate caustics in medicine: warts, verrucae, cautery, granuloma, 1997, <http://www.bray.co.uk>
- [5] H.J. Klasen, Historical review of the use of silver in the treatment of burns, Part I Early uses, *Burns*, 200, 26, 117; Part 2. Renewed interest for silver, *Burns*, 2000, 26, 131
- [6] G.G. de Gracia, An open study comparing topical silver sulfadiazine and topical silver sulfadiazine-cerium nitrate in the treatment of moderate and severe burns, *Burns*, 2001, 27, 67-74
- [7] R.J. White and R. Copper, Silver sulphadiazine: a review of the evidence, *Wounds*, UK, 2005, vol.1, 51-61
- [8] H.J. Klasen, A historical review of the use of silver in the treatment of burns, Part II Renewed interest for silver. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 2000, 26, 131-138
- [9] M. Mohan, S.K. Gupta, V.K. Kalra, R.B. Vajpayee, M.S. Sachdev, Topical silver sulphadiazine - a new drug for ocular keratomycosis, *Br. J. Ophthalmol.*, 1988, 72, 192-195
- [10] Silvadene® Cream 1% (silver sulfadiazine) <http://labeling.pfizer.com/showlabeling.aspx?id=701> (March 2013)
- [11] J.M.T. Hamilton-Miller, S. Shah, C. Smith, Silver sulphadiazine: A comprehensive in vitro reassessment, *Chemotherapy*, 1993, 39, 405-409
- [12] F.W. Fuller, The side effects of silver sulfadiazine, *Journal of burn care & research: official publication of the American Burn Association*, 2009, 30, 464-470
- [13] M.L. Cooper, S.T. Boyce, J.F. Hansbrough, T.J. Foreman, D.H. Frank, Cytotoxicity to cultured human keratinocytes of topical antimicrobial agents, *The Journal of surgical research*, 1990, 48, 190-195

- [14] M.L. Cooper, J.A. Laxer, J.F. Hansbrough, The cytotoxic effects of commonly used topical antimicrobial agents on human fibroblasts and keratinocytes, *The Journal of trauma*, 1991, 31, 775-782; discussion 782-774
- [15] G. Sandri, M.C. Bonferoni, F. Ferrari, S. Rossi, C. Aguzzi, M. Mori, P. Grisoli, P. Cerezo, M. Tenci, C. Viseras, *et al.* Montmorillonite–chitosan–silver sulfadiazine nanocomposites for topical treatment of chronic skin lesions: In vitro biocompatibility, antibacterial efficacy and gap closure cell motility properties, *Carbohydrate Polymers*, 2014, 102, 970-977
- [16] Y.-S. Cho, J.-W. Lee, J.-S. Lee, J.H. Lee, T.R. Yoon, Y. Kuroyanagi, M.H. Park, D.G. Pyun, H.J. Kim, Hyaluronic acid and silver sulfadiazine- impregnated polyurethane foams for wound dressing application, *J. Mat. Sci., Mat in Medicine*, 2002, 13, 861-865
- [17] N.M. Morsi, G.A. Abdelbary, M.A. Ahmed, Silver sulfadiazine based cubosome hydrogels for topical treatment of burns: Development and in vitro/in vivo characterization, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2014, 86, 178-189
- [18] H.H. Lara, E.N. Garza-Trevino, L. Ixtepan-Turrent, D.K. Singh, Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds, *J. Nanobiotechnol.*, 2011, Aug 3;9:30, DOI: 10.1186/1477-3155-9-30
- [19] L. Pauksch, S. Hartmann, G. Szalay, V. Alt, R. Schnettler, K.S. Lips, Biocompatibility of an antibacterial nanosilver-coated titanium implant on primary human mesenchymal stem cells and osteoblasts, *Int J Biol Med Res.*, 2013; 4, 3719-3726
- [20] S. Nqanga, N. Mortiz, R. Kolakovic, K. Jakobsson, J.O. Nyman, M. Borgogona, A. Travan, M. Crosera, I. Donati, P.K. Vallittu, N. Sandler, Inkjet printing of Chitlac-nanosilver - a method to create functional coatings for non-metallic bone implants, *Biofabrication.*, 2014 Oct 22; 6(4):041001. doi: 10.1088/1758-5082/6/4/041001
- [21] E. Adomavičiūtė, S. Stanys, M. Žilius, V. Juškaitė, A. Pavilionis, V. Briedis, Formation and Biopharmaceutical Characterization of Electrospun PVP Mats with Propolis and Silver Nanoparticles for Fast Releasing Wound Dressing, *BioMed Research International*, Volume 2016, Article ID 4648287, 11 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4648287>
- [22] T. Verano-Braga, R. Miethling-Graff, K.I. Wojdyla, A. Rogowska-Wrzesinska, J.R. Brewer, H. Erdmann, F. Kjeldsen, 2014, Insights into the Cellular Response Triggered by Silver Nanoparticles using Quantitative Proteomics, *A C S Nano*, 2014, 8, 2161–2175
- [23] W.K. Jung, H.C. Koo, K.W. Kim, S. Shin, S.H. Kim, Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, 74, 2171-2178
- [24] S.Y. Liao, D.C. Read, W.J. Pugh, J.R. Furr, A.D. Russell, Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions, *Lett. Appl. Microbiol.*, 1997, 25, 279-283
- [25] Y. Matsumura, K. Yoshikata, S.I. Kunisaki, T. Tsuchido, Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69, 4278-4281
- [26] A.D. Russell, W.B. Hugo, Antimicrobial activity and action of silver, *Progr. Med. Chem.*, 1994, 31, 351-370
- [27] K.J. Woo, H.C. Koo, K.W. Kim, S. Shin, S.H. Kim, Y.H. Park, Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, 74, 2171-2178
- [28] M. Yamanaka, K. Hara, J. Kudo, Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, 71, 7589-7593
- [29] Q.L. Feng, J. Wu, G.Q. Chen, F.Z. Cui, T.M. Kim, J.O. Kim, A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *J. Biomed. Mat. Res.*, 2000, 52, 662-668
- [30] N.C. Kasuga, A. Sugie, K. Nomiya, Syntheses, structures and antimicrobial activities of water-soluble silver(I)-oxygen bonding complexes with chiral and racemic camphanic acid (Hca) ligands, *Dalton Trans.*, 2004, 3732 -3740, DOI: 10.1039/B411859F
- [31] C.L. Fox, S.M. Modak, Mechanism of Silver Sulfadiazine Action on Burn Wound Infections, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1974, 5(6), 582–588
- [32] K. Nomiya, K. Tsuda, T. Sudoh, M. Oda, Ag(I)-N bond-containing compound showing wide spectra in effective antimicrobial activities: polymeric silver(I) imidazolate, *J. Inorg. Biochem.*, 1997, 68, 39-44

- [33] K. Nomiya, R. Noguchi, M. Oda, Synthesis and crystal structure of coinage metal(I) complexes with tetrazole (Htetz) and triphenylphosphine ligands, and their antimicrobial activities. A helical polymer of silver(I) complex  $[Ag(tetz)(PPh_3)_2]_n$  and a monomeric gold(I) complex  $[Au(tetz)(PPh_3)]$ , *Inorg. Chim. Acta.*, 2000, 298, 24-32
- [34] M. Holzhauer, C.J. Bartels, C. Bergsten, M.M.J. van Riet, K. Frankena, T.J.G.M. Lam, The effect of an acidified, ionized copper sulphate solution on digital dermatitis in dairy cows, *The veterinary Journal*, 2012, 193, 659-663
- [35] A.L. Casey, D. Adams, T.J. Karpanen, P.A. Lambert, B.D. Cookson, P. Nightingale, L. Miruszenko, R. Shillam, P. Christian, T.S.J. Elliott, Role of copper in reducing hospital environment contamination, *Journal of Hospital Infection*, 2010 74, 72-77
- [36] J. O’Gorman, H. Humphreys, Application of copper to prevent and control infection. Where are we now?, *J. Hospital Infection*, 2012, 81, 217-223
- [37] S.M. Ahmed, D.A. Ismail, Synthesis and Biological Activity of 8-Hydroxyquinoline and 2-Hydroxypyridine Quaternary Ammonium Salts, *J. Surfact. Deterg.* 2008, 11, 231-235
- [38] N.S. Pawar, D.S. Dalal, S.R. Shimpi, P.P. Mahulikar, Studies of antimicrobial activity of N-alkyl and N-acyl 2-(4-thiazolyl)-1H-benzimidazoles, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2004, 21, 115-118
- [39] L. Garuti, M. Roberti, C. Cermelli, Synthesis and antiviral activity of some N-benzenesulphonylbenzimidazoles, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1999, 9, 2525-2530
- [40] S.A. el-Hawash, S.A. el-Badawey, T. Kappe, Benzimidazole condensed ring systems. XII. Synthesis and anticancer evaluation of certain pyrido[1,2-a]benzimidazole derivatives, *Pharmazie*, 1999, 54, 341-346
- [41] E.T. Bodor, S. Offermanns, Nicotinic acid: an old drug with a promising future, *Br. J. Pharmacol.*, 2008, 153, S68-S75
- [42] B.G. Brown, X.Q. Zhao, Nicotinic Acid, Alone and in Combinations, for Reduction of Cardiovascular Risk, *Am. J. Cardiol.*, 2008, 101, B58-B62
- [43] P.J. Aggett, P.K. Fenwick, H. Kirk, An In Vitro Study of the Effect of Picolinic Acid on Metal Translocation across Lipid Bilayers, *J. Nutr.*, 1989, 119, 1432-1437
- [44] R. Schaumann, M. Funke, E. Janssen, A. C. Rodloff, In vitro activities of clindamycin, imipenem, metronidazole, and piperacillin-tazobactam against susceptible and resistant isolates of *Bacteroides fragilis* evaluated by kill kinetics., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2012, 56, 3413-3416
- [45] L. Dubreuil, J. Devos, C. Neut, C. Romond, Susceptibility of anaerobic bacteria from several French hospitals to three major antibiotics, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1984, 25, 764-766
- [46] P. Van der Auwera, Y. Van Laethem, N. Defresne, M. Husson, J. Klustersky, Comparative serum bactericidal activity against test anaerobes in volunteers receiving imipenem, clindamycin, latamoxef and metronidazole, *J. Antimicrob. Chemother.*, 1987, 19, 205-210
- [47] J.S. Brazier, P.N. Levett, A.J. Stannard, K.D. Phillips, A.T. Willis, Antibiotic susceptibility of clinical isolates of clostridia, *J. Antimicrob. Chemother.*, 1985, 15, 181-185
- [48] A. N. Ibrahim, Comparison of in vitro activity of metronidazole and garlic-based product (Tomex®) on *Trichomonas vaginalis*, *Parasitol. Res.*, 2013, 112, 2063-2067
- [49] F. López-Vallejo, R. Castillo, L. Yépez-Mulia, J. L. Medina-Franco, Benzotriazoles and indazoles are scaffolds with biological activity against *Entamoeba histolytica*, *J. Biomol. Screening*, 2011, 16, 862-868
- [50] L. Nigro, L. Larocca, L. Massarelli, I. Patamia, S. Minniti, F. Palermo and B. Cacopardo, A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metronidazole, *J. Travel Med.*, 2003, 10, 128-130
- [51] B. Sadek, Imidazole-substituted drugs and tendency for inhibition of Cytochrome P450 Isoenzymes: A review, *Pharma Chem.*, 2011, 3, 410-419
- [52] R. Rowan, T. Tallon, A.M. Sheahan, R. Curran, M. McCann, K. Kavanagh, M. Devereux, V. McKee ‘Silver bullets’ in antimicrobial chemotherapy: Synthesis, characterisation and biological screening of some new Ag(I)-containing imidazole complexese, *Polyhedron*, 2006, 25, 1771-1778

- [53] P. Smoleński, S.W. Jaros, C. Pettinari, G. Lupidi, L. Quassinti, M. Bramucci, L.A. Vitali, D. Petrelli, A. Kochel, A.M. Kirillov, New water-soluble polypyridine silver(I) derivatives of 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane (PTA) with significant antimicrobial and antiproliferative activities, *Dalton Trans.*, 2013, 42, 6572-6581
- [54] S.H. Alisir, S. Demir, B. Sariboga, O. Buyukgungor, A disparate 3-D silver(I) coordination polymer of pyridine-3,5-dicarboxylate and pyrimidine with strong intermetallic interactions: X-ray crystallography, photoluminescence and antimicrobial activity, *Journal of Coordination Chemistry*, 2015, 68, 155-168
- [55] K. Gholivand, F. Molaei, N. Oroujzadeh, R. Mobasser, H. Naderi-Manesh, Two novel Ag(I) complexes of N-nicotinyl phosphoric triamide derivatives: Synthesis, X-ray crystal structure and in vitro antibacterial and cytotoxicity studies, *Inorganica Chimica Acta*, 2014, 423, 107-116
- [56] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents, *Chem. Rev.*, 2014, 114, 815-862
- [57] R.S. Kumar, K. Sasikala, S. Arunachalam, DNA interaction of some polymer-copper(II) complexes containing 2,2'-bipyridyl ligand and their antimicrobial activities, *J. Inorg. Biochem.*, 2008, 102, 234-241
- [58] T. Suksrichavalit, S. Prachayasittikul, C. Nantasenamat, C. Isarankura-Na-Ayudhya, V. Prachayasittikul, Copper complexes of pyridine derivatives with superoxide scavenging and antimicrobial activities, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, 44, 3259-3265
- [59] S.A. Galal, K.H. Hegab, A.S. Kassab, M.L. Rodriguez, S.M. Kerwin, A.-M.m.A. El-Khamry, H.I. El Diwani, New transition metal ion complexes with benzimidazole-5-carboxylic acid hydrazides with antitumor activity. *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, 44, 1500-1508
- [60] C.N. Banti, S.K. Hadjikakou, Anti-proliferative and anti-tumor activity of silver(I) compounds, *Metallomics*, 2013, 5, 569-596
- [61] R.A. Haque, S.Y. Choo, S. Budagumpi, M.A. Iqbal, A. Al-Ashraf Abdullah, Silver(I) complexes of mono- and bidentate N-heterocyclic carbene ligands: Synthesis, crystal structures, and in vitro antibacterial and anticancer studies, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 90, 82-92
- [62] R.A. Haque, P.O. Asekunowo, M.R. Razali, Dinuclear silver(I)-N-heterocyclic carbene complexes of N-allyl substituted (benz)imidazol-2-ylidenes with pyridine spacers: synthesis, crystal structures, nuclease and antibacterial studies, *Transition Metal Chemistry*, 2014, 39, 281-290
- [63] C. Marzano, M. Pellei, F. Tisato, C. Santini, Copper complexes as anticancer agents, *Anti-cancer Agents Med. Chem.* 2009, 9, 185-211
- [64] J.E. Weder, C.T. Dillon, T.W. Hambley, B.J. Kennedy, P.A. Lay, J.R. Biffin, H.L. Regtop, N.M. Davies, Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized, *Coord. Chem. Rev.*, 2002, 232, 95-126
- [65] B.S. Creaven, M. Devereux, D. Karcz, A. Kellett, M. McCann, A. Noble, M. Walsh, Copper(II) complexes of coumarin-derived Schiff bases and their anti-Candida activity, *J. Inorg. Biochem.*, 2009, 103, 1196-1203
- [66] J. Patujo, A. Badshah, R.A. Hussain, M.N. Tahir, S. Tahir, M.K. Rauf, Synthesis, Chemical Characterization, DNA Interaction and Antioxidant, Studies of New Nitrosubstituted Thioureas and Their Copper Complexes. *J. Chin. Chem. Soc.*, 2015, 62, 1020-1027
- [67] X.M. Hu, L.W. Xue, G.-Q. Zhao, Y.-J. Han, Synthesis, Structures, and Antimicrobial Activity of Zinc and Copper Complexes Derived From *N*-isopropyl-*N'*-(1-pyridin-2-ylethylidene)ethane-1,2-diamine. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 2012, 42, 557-562
- [68] L.A. Rodriguez Solano, I. Aguiniga, M.L. Ortiz, R. Tiburcio, A. Luviano, I. Regla, E. Santiago-Osorio, V.M. Ugalde-Saldivar, R.A. Toscano, I. Castillo, Bis(2-methylbenzimidazolyl)amine-Derived Copper Complexes and Their Antineoplastic Activity, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2011, 23, 3454-3460
- [69] P.J. Jansson, P.C. Sharpe, P.V. Bernhardt, D.R. Richardson, Novel Thiosemicarbazones of the ApT and DpT Series and Their Copper Complexes: Identification of Pronounced Redox Activity and Characterization of Their Antitumor Activity, *J. Med. Chem.*, 2010, 53, 5759-5769
- [70] T. Rosu, E. Pahontu, S. Pasculescu, R. Georgescu, N. Stanica, A. Curaj, A. Popescu, M. Leabu, Synthesis, characterization antibacterial and antiproliferative activity of novel Cu(II) and Pd(II) complexes with 2-hydroxy-8-R-tricyclo[7.3.1.0.2,7] tridecane-13-one thiosemicarbazone, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 1627-1634

- [71] U. Kalinowska, L. Chęcińska, M. Małecka, A. Erxleben, B. Lippert, J. Ochocki, Synthesis and spectroscopy of diethyl (pyridinylmethyl) phosphates and their palladium(II) complexes. X-ray crystal structures of Pd(II) complexes, *Inorg. Chim. Acta*, 2005, 358, 2464–2472
- [72] A. Kufelnicki, M. Woźniczka, U. Kalinowska-Lis, J. Jezierska, J. Ochocki, Synthesis, acid–base and complexing properties with Cu(II), Co(II) and Zn(II) in aqueous solution of a novel 1H-benzimidazol-2-ylmethyl diethyl phosphate ligand: Comparison with other 2-substituted benzimidazole ligands, *Polyhedron*, 2013, 53, 20–25
- [73] L. Chęcińska, M. Małecka, J. Ochocki, U. Kalinowska, *trans*-Bis(1H-benzimidazol-2-ylmethyl-κN<sup>3</sup> diethyl phosphate)dichloropalladium(II) monohydrate, *Acta Cryst.*, 2004, E60, m1558-m1561
- [74] H. Günther, Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego, *Wydawnictwo Naukowe PWN*, Warszawa 1983, 114-117
- [75] W. Liu, K. Bendorf, A. Hagenbach, U. Abram, B. Niu, A. Mariappan, R. Gust, Synthesis and biological studies of silver N-heterocyclic carbene complexes derived from 4,5-diarylimidazole, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, 46, 5927-5934
- [76] A.A. Massoud, Y.M. Gohar, V. Langer, P. Lincoln, F.R. Svensson, J. Jänis, S.T. Gårdebjer, M. Haukka, F. Jonsson, E. Aneheim, P. Löwenhielm, M.A.M. Abu-Youssef and L.R. Öhrström, Bis 4,5-diazafluoren-9-one silver(I) nitrate: Synthesis, X-ray structures, solution chemistry, hydrogel loading, DNA coupling and anti-bacterial screening, *New J. Chem.*, 2011, 35, 640-648. DOI: 10.1039/c0nj00697a
- [77] K. Nomiya and H. Yokoyama, Syntheses, crystal structures and antimicrobial activities of polymeric silver(I) complexes with three amino-acids [aspartic acid (H<sub>2</sub>asp), glycine (Hgly) and asparagine (Hasn)], *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2002, 2483 -2490. DOI: 10.1039/b200684g
- [78] U. Siegert, H. Hahn and H. Lang, Investigation of the solution behavior of tri-n-butylphosphine copper(I) and silver(I) acetates using <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} NMR spectroscopy, *Inorg. Chim. Acta*, 2010, 363, 944-948
- [79] R.M. Silverstain, F.X. Webstar, D.J. Kiemle, Spektroskopowe metody identyfikacji związków ograniczonych, *Wydawnictwo Naukowe PWN SA*, Warszawa 2005
- [80] M.A.M. Abu-Youssef, R. Dey, Y. Gohar, A.A. Massoud, L. Öhrström, V. Langer, Synthesis and structure of silver complexes with nicotinate-type ligands having antibacterial activities against clinically isolated antibiotic resistant pathogens, *Inorg. Chem.*, 2007, 46, 5893-5903
- [81] S. Hamamci, V.T. Yilmaz, W.T.A. Harrison, Silver(I)-Saccharinato Complexes with 2-(Aminomethyl)pyridine and 2-(2-Aminoethyl)pyridine Ligands: [Ag(sac)(ampy)] and [Ag<sub>2</sub>(sac)<sub>2</sub>(μ-aepy)<sub>2</sub>], *Z. Naturforsch.*, 2005, 60b, 978-983
- [82] E. Barreiro, J.S. Casas, M.D. Couce, A. Sanchez, R. Seoane, J. Sordo, J.M. Varela, E.M. Vázquez-López, Synthesis and antimicrobial activities of silver(I) sulfanylcarboxylates. Structural isomers with identically or unequally coordinated Ag centers in an Ag<sub>4</sub>S<sub>4</sub> ring, *Dalton Trans.*, 2007, 28, 3074-3085 DOI: 10.1039/B702936E
- [83] S. Winter, W. Seichter, E. Weber, Syntheses and crystal structures of cobalt and nickel complexes of 2,6-bis(hydroxymethyl)pyridine, *J. Coord. Chem.*, 2004, 57, 997–1014
- [84] G.C. Vlahopoulou, D.I. Alexandropoulos, C.P. Raptopoulou, S.P. Perlepes, A. Escuer, T.C. Stamatatos, A tetranuclear complex from the employment of pyridine-2,6-dimethanol in copper(II) nitrate chemistry: Synthetic, structural and magnetic studies, *Polyhedron*, 2009, 28, 3235–3242
- [85] S. Winter, W. Seichter, E. Weber, Complexes of 2, 6-bis(hydroxymethyl)pyridine with different copper(II) salts involving the anions chloride, perchlorate, nitrate and acetate. Synthesis and crystal structures of the complexes, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 2004, 630, 434–442
- [86] B. Barszcz, A. Jabłońska-Wawrzycka, K. Stadnicka, J. Jezierska, Coordination chemistry of 2-hydroxymethylbenzimidazole complexes with copper(II) and cadmium(II) ions: Similarities and differences, *Polyhedron*, 2008, 27, 3500-3508
- [87] A. Jabłońska-Wawrzycka, B. Barszcz, K. Stadnicka, Similarities and differences of thermal behaviour of 2-hydroxymethylbenzimidazole complexes with Zn(II) and Cd(II) ions, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2010, 101, 463-469



- [88] J.G. Małecki, R. Kruszyński, Z. Mazurak, Synthesis, spectroscopic and structural characterizations of two new complexes of ruthenium with 2-(hydroxymethyl)benzimidazole and 1,10-phenanthroline ligands, *Polyhedron*, 2009, 28 3891-3898
- [89] X. Song, Y. Xu, L. Li, D. Liao, Z. Jiang, An unexpected cubane-like nickel(II) tetranuclear complex bridged by the anion of 2-hydroxymethylbenzimidazole: Crystal structure and magnetic properties, *Inorg. Chim. Acta*, 2007, 360, 2039-2044
- [90] A. L. Spek, Structure validation in chemical crystallography, *Acta Crystallogr., Sect. D: Biol. Crystallogr.*, 2009, D65, 148-155
- [91] H. Wu, X.-W. Dong, J.-F. Ma, Tetrakis( $\beta$ -picoline)disilver(I)(Ag-Ag) bis(2-amino-5-chlorobenzenesulfonate) hydrate, *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, 2006, 62, m1227-m1228
- [92] P. Kleyi, R.S. Walmsley, M.A. Fernandes, N. Torto, Z.R. Tshentu, Syntheses, characterization and antimicrobial activity of silver(I) complexes containing 2-hydroxymethyl-N-alkylimidazole ligands, *Polyhedron*, 2012, 41, 25-29
- [93] P. Ovejero, E. Asensio, J.V. Heras, J. A. Campo, M. Cano, M.R. Torres, C. Núñez, C. Lodeiro, Silver-pyrazole complexes as hybrid multifunctional materials with metallomesogenic and photoluminescent behaviour", *Dalton Trans.*, 2013, 42, 2107-2120
- [94] A. Dołęga, K. Baranowska, Z. Jarząbek, (4-Hydroxymethyl-1H-imidazole- $\kappa$ N<sup>3</sup>)bis(tri-*tert*-butoxysilanethiolato- $\kappa^2$ O,S)cadmium(II), *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, 2008, 64, m1515
- [95] A. Dołęga, K. Baranowska, A. Pładzyk, K. Majcher, Two isomorphous Zn<sup>II</sup>/Co<sup>II</sup> complexes with tri-*tert*-butoxysilanethiol and histamine, and (4-hydroxymethyl-1H-imidazole- $\kappa$ N)bis(tri-*tert*-butoxysilanethiolato- $\kappa^2$ O,S)zinc(II), *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 2008, 64, m259-m263
- [96] K. Kurdziel, T. Głowiak, J. Jezierska, *Trans* hexaco-ordinate complexes of copper(II) and nickel(II) with 4(5)-hydroxymethyl-5(4)-methylimidazole—crystal structure and physico-chemical properties, *Polyhedron*, 2002, 21, 1857-1863
- [97] B. Barszcz, T. Głowiak, J. Jezierska and K. Kurdziel, Comparison of 1-hydroxymethyl-3,5-dimethylpyrazole and 1-benzyl-2-hydroxymethylimidazole coordination properties towards copper(II), *Inorg. Chem. Commun.*, 2002, 5, 1056-1058
- [98] T. Wang, Z. Guo, Copper in medicine: homeostasis, chelation therapy and antitumor drug design, *Cur. Med. Chem.*, 2006, 13, 525-537
- [99] P. Szymański, T. Frączek, M. Markowicz, E. Mikiciuk-Olasik, Development of copper based drugs, radiopharmaceuticals and medical materials, *Biometals*, 2012, 25, 1089-1112
- [100] F. Athar, K. Husain, M. Abid, S.M. Agarwal, S.J. Coles, M.B. Hursthouse, M.R. Maurya, A. Azam, Synthesis and Anti-Amoebic Activity of Gold(I), Ruthenium(II), and Copper(II) Complexes of Metronidazole, *Chemistry & Biodiversity*, 2005, 5, 1320-1330
- [101] G.A. van Albada, M. Ghazzali, K. Al-Farhan, J. Reedijk, Synthesis and crystal structure of ( $\mu$ -4-oxido)hexakis( $\mu$ -chlorido)tetrakis(2-(3-pyridyl)ethane-1-ol)tetracopper(II): A compound with a unique hydrogen bond system stabilizing the network, *Inorg. Chem. Commun.*, 2011, 14, 1149-1152
- [102] P.F. Kelly, M. Sit-Ming, A.M.Z. Slawin, K.W. Waring, Preparation of a range of copper complexes of diphenylsulfimide: X-ray crystal structures of [Cu(Ph<sub>2</sub>SNH)<sub>4</sub>]Cl<sub>2</sub> and [Cu<sub>4</sub>( $\mu$ -O)( $\mu$ -Cl)<sub>6</sub>(Ph<sub>2</sub>SNH)<sub>4</sub>], *Polyhedron*, 1999, 18, 3173-3179
- [103] CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, Approved Standards, 7th Edition M7-A7, vol. 26, No. 2, 2006
- [104] CLSI: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing in Yeasts, Approved Standards, 3rd Edition M27-A3, vol. 28, No. 14, 2008
- [105] J.A. Driscoll, S.L. Brody, M.H. Kollef, The epidemiology, pathogenesis and treatment of pseudomonas aeruginosa infections, *Drugs*, 2007, 67, 351-368
- [106] C.P. Sousa, The versatile strategies of Escherichia coli pathotypes: a mini review, *J. Venom. Toxins Incl. Trop. Dis.*, 2006, 12, 363-373

- [107] D. Church, S. Elsayed, O. Reid, B. Winston, B. Lindsay, Burn wound infections, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2006, 403-434
- [108]. J.B. Kaper, J.P. Nataro, H.L. Mobley, Pathogenic escherichia coli, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, 2, 123–140
- [109]. W. Bereket, K. Hemalatha, B. Getenet, T. Wondwossen, A. Solomon, A. Zeynudin, S. Kannan, Update on bacterial nosocomial infections, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2012, 16, 1039–1044
- [110] H.L. Zhu, X.M. Zhang, X.Y. Liu, X.J. Wang, G.F. Liu, A. Usman, H.K. Fun, Clear Ag–Ag bonds in three silver(I) carboxylate complexes with high cytotoxicity properties, *Inorg. Chem. Commun.*, 2003, 6, 1113-1116
- [111] X.Y. Liu, H.L. Zhu, Strong Silver-Silver Interactions in Three Silver(I) Carboxylate Complexes with High Cytotoxicity Properties, *Synth. React. Inorg., Met.-Org., Nano-Met. Chem.*, 2005, 35, 325–332.
- [112] Z.D. Liu, Z.L. You, H.L. Zhu, M.Y. Tan, A novel structure of silver polymer through Na–O bonds with cytotoxicity property *Inorg. Chem. Commun.*, 2004, 7, 1292–1294
- [113] C. Pettinari, F. Marchetti, G. Lupidi, L. Quassinti, M. Bramucci, D. Petrelli, L.A. Vitali, M. Fatima, C. Guedes da Silva, L.M.D.R.S. Martins, P. Smolenski, A.J.L. Pombeiro, Synthesis, antimicrobial and antiproliferative activity of novel silver(I) tris(pyrazolyl)methanesulfonate and 1,3,5-triaza-7-phosphadamantane complexes, *Inorg. Chem.*, 2011, 50, 11173–11183
- [114] M. Gottschaldt, A. Pfeifer, D. Koth, H. Górls, H.M. Dahse, U. Mollmann, M. Obata, S. Yano, Silver(I) complexes based on novel tripodal thioglycosides: synthesis, structure and antimicrobial activity, *Tetrahedron*, 2006, 62, 11073–11080
- [115] C. Santini, M. Pellei, G. Papini, B. Morresi, R. Galassi, S. Ricci, F. Tisato, M. Porchia, M. Pia Rigobello, V. Gandin, C. Marzano, In vitro antitumour activity of water soluble Cu(I), Ag(I) and Au(I) complexes supported by hydrophilic alkyl phosphine ligands, *J. Inorg. Biochem.*, 2011, 105, 232–240
- [116] M.J. McKeage, P. Papathanasiou, G. Salem, A. Sjaarda, G.F. Swiegers, P. Waring, S. Bruce Wild, Antitumor activity of gold(i), silver(i) and copper(i) complexes containing chiral tertiary phosphines, *Met.-Based Drugs*, 1998, 5, 217–223
- [117] W. Liu, R. Gust, Metal N-heterocyclic carbene complexes as potential antitumor metallodrugs, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, 42, 755–773
- [118] M.L. Teyssoit, A.S. Jarrouse, M. Manin, A. Chevry, S. Roche, F. Norre, C. Beaudoin, L. Morel, D. Boyer, R. Mahiou, A. Gautier, Metal-NHC complexes: a survey of anti-cancer properties, *Dalton Trans.*, 2009, 6894-6902
- [119] A. Gautier, F. Cisnetti, Advances in metal-carbene complexes as potent anti-cancer agents, *Metallomics*, 2012, 4, 23–32
- [120] T. Mosmann Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Meth.*, 1983, 65, 55-63
- [121] K. Nomiya, A. Yoshizawa, K. Tsukagoshi, N.C. Kasuga, S. Hirakawa, J. Watanabe, Synthesis and structural characterization of silver(I), aluminium(III) and cobalt(II) complexes with 4-isopropyltropolone (hinokitiol) showing noteworthy biological activities. Action of silver(I)-oxygen bonding complexes on the antimicrobial activities, *J. Inorg. Biochem.*, 2004, 98, 46-60

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

### 5.1. Liczbowe zestawienie dorobku naukowego

#### Prace oryginalne:

- łącznie – 23 publikacje (w tym jako pierwszy autor – 10 prac);
- po uzyskaniu stopnia naukowego doktora – 19 prac (w tym jako pierwszy autor – 8 prac).

**Prace przeglądowe:**

- łącznie – 1 publikacja (w tym jako pierwszy autor – 1 praca);
- po uzyskaniu stopnia naukowego doktora – 1 praca (w tym jako pierwszy autor – 1 praca).

**Sumaryczny impact factor (IF) publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR)**

Impact factor (IF) oraz IF(5-Year) publikacji naukowych podano zgodnie z rokiem ich opublikowania.

Sumaryczny IF wszystkich publikacji: **57,361** (2,390 na jedną pracę)

Sumaryczny IF publikacji, w których habilitant jest pierwszym autorem: **35,646** (3,241 na jedną pracę)

Sumaryczny IF(5-Year) wszystkich publikacji: **59,250** (2,469 na jedną pracę)

Sumaryczny IF(5-Year) publikacji, w których habilitant jest pierwszym autorem: **37,267** (3,388 na jedną pracę)

Suma punktów MNiSW wszystkich publikacji: **559** (23,29 na jedną pracę)

- Sumaryczny IF publikacji przed uzyskaniem stopnia doktora: **7,034** (1,759 na jedną pracę)
- Sumaryczny IF publikacji po uzyskaniu stopnia doktora: **50,327** (2,649 na jedną pracę)

**Liczba cytowań publikacji**

Całkowita liczba cytowań (wg bazy ISI Web of Science Core Collection): **251** (19.04.2016)

**Researcher ID** w bazie ISI Web of Science: **E-3930-2013**

Całkowita liczba cytowań (wg bazy Scopus): **261** (19.04.2016)

Indeks Hirscha (wg ISI Web of Science Core Collection): **8** (19.04.2016)

Indeks Hirscha (wg bazy Scopus): **7** (19.04.2016)

**5.2. Omówienie działalności naukowo-badawczej przed uzyskaniem stopnia doktora**

Moją pracę naukową rozpoczęłam w 1999r. w Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytecie Medycznym) w Łodzi w Zakładzie Chemii Bionieorganicznej, kierowanym przez Prof. dr hab. Justyną Ochockiego, gdzie pracuję nieprzerwanie do dzisiaj. W początkowym okresie mojej pracy, będąc na stanowisku starszego referenta inżynierjno-technicznego, zostałam włączona w cykl prac, które dotyczyły syntezy i charakterystyki strukturalnej estrów i kwasów fosfonowych wybranych związków heterocyklicznych: pirydyny, chinoliny, uracylu. Moim zadaniem było wykonywanie syntez i potwierdzanie tożsamości, za pomocą metod spektroskopowych (NMR – *Nuclear Magnetic Resonance* i IR) i analizy pierwiastkowej, związków z w/w grupy, opublikowanych wcześniej przez Prof. dr hab. Justyną Ochockiego. Na tym etapie związki te były przedmiotem dalszych badań ich właściwości kompleksotwórczych w roztworach, równowag kwasowo-zasadowych i syntezy kompleksów miedzi(II), prowadzonych przy współpracy z zespołami badawczymi Prof. dr H. Siegla (University of Basel) i Prof. dr J. Reedijka (Leiden University). Mój udział w syntezach związków został odnotowany poprzez podziękowania od autorów w następujących publikacjach: (a) C. F. Moreno-Luque, E. Freisinger, B. Costisella, R. Griesser, J. Ochocki, B. Lippert, H. Sigel; *J. Chem. Soc., Perkin*



*Trans.* 2001, 2, 2005; (b). C. F. Moreno-Luque, R. Griesser, J. Ochocki, H. Sigel; *Z. Anorg. Allg. Chem.* 2001, 627, 1882; (c). B. Żurowska, J. Ochocki, Jerzy Mroziński, Z. Ciunik, J. Reedijk, *Inorg. Chim. Acta* 2004, 357, 755).

Odrębnym kierunkiem moich badań było zaplanowanie syntez i otrzymywanie nowych fosforanowych pochodnych pirydyny i benzimidazolu oraz ich kompleksów platyny(II) i palladu(II), a następnie charakterystyka spektroskopowa i rentgenostrukturalna związków. Kompleksy Pt(II) i Pd(II) były zsyntetyzowane w celu oceny ich aktywności cytotoksycznej i genotoksycznej, we współpracy z Zakładem Cytogenetyki i Biologii Molekularnej Roślin Uniwersytetu Łódzkiego. Uzyskane wyniki badań zawarłam w swojej dysertacji doktorskiej zatytułowanej „Synteza, spektroskopia i aktywność biologiczna fosforanowych związków heterocyklicznych i ich kompleksów Pt(II) i Pd(II)”, której promotorem był Prof. dr hab. Justyn Ochocki. Pracę doktorską obroniłam z wyróżnieniem. Najistotniejsze wyniki badań uzyskane podczas wykonywania pracy doktorskiej publikowałam w formie trzech artykułów naukowych (Zał. 4, II, poz. 14, 15 i 16). Najważniejszym wynikiem mojej pracy doktorskiej było uzyskanie dwóch izomerycznych kompleksów Pt(II) z pochodną pirydyny, które wykazały wysoką aktywność cytotoksyczną wobec linii komórek nowotworowych (A 549 i HT 29), porównywalną z aktywnością leku *cis*-platyny lub 2-krotnie wyższą. Ponadto, były one mniej cytotoksyczne dla komórek prawidłowych niż dla nowotworowych.

Przed uzyskaniem stopnia doktora, moja działalność naukowa dotyczyła także tematyki syntezy, charakterystyki i badań cytotoksyczności nowych analogów leku przeciwnowotworowego- 5-fluorouracylu. Wyniki tych badań zostały zamieszczone w publikacji *Eur. J. Inorg. Chem.* 2005 (Zał. 4, II, poz. 13).

### 5.3. Omówienie działalności naukowo-badawczej po uzyskaniu stopnia doktora

Zwieńczeniem moich badań dotyczących kompleksów platyny było napisanie publikacji przeglądowej, pt. „*Trans geometry in platinum antitumor complexes*”, której jestem głównym autorem. Praca ta została opublikowana w 2008r. w prestiżowym czasopiśmie *Coord. Chem. Rev.* o IF=10,566. Została zacytowana już 103 razy, w tym 3 razy w podręcznikach specjalistycznych: *Ligand Design in Medicinal Inorganic Chemistry* (2014); *Molecules at Work: Selfassembly, Nanomaterials, Molecular Machinery* (2012); *Bioinorganic Medicinal Chemistry* (2011).

W roku 2008 zajmowałam się pozyskiwaniem funduszy na badania naukowe, jako osoba odpowiedzialna za przygotowanie i redakcję wniosku projektu badawczego MNiSW (kierowanego przez Prof. dr hab. J. Ochockiego), pt.: „Poszukiwanie związków o działaniu przeciwnowotworowym w grupie kompleksów jonów metali [Pt(II), Pd(II), Ru(III), Cu(II)] z fosforoorganicznymi pochodnymi wybranych heterocykli. Synteza, charakterystyka i ocena aktywności cytotoksycznej”, który uzyskał finansowanie na lata 2009-2014. Byłam także głównym wykonawcą tego projektu.

W ramach współpracy z zespołem Prof. dr hab. A. Kufelnickiego z Zakładu Chemii Fizycznej i Biokoordynacyjnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, uczestniczyłam w badaniach właściwości protolitycznych i kompleksotwórczych ligandów z grupy pochodnych uracylu oraz fosforowych, fosfonowych i hydroksymetylenowych pochodnych pirydyny i benzimidazolu w roztworach wodnych. Efektem badań było wyznaczenie stałych protonowania ligandów metodą potencjometryczną, a następnie, przy założeniu określonych modeli koordynacji ligandów z metalami [Cu(II), Zn(II), Co(II) i Ni(II)], wyznaczenie stałych tworzenia kompleksów metodami potencjometrycznymi (pH-metryczną

i ISE – *Ion Selective Electrode*). Właściwości koordynacyjne ligandów z powyższymi metalami przejściowymi zostały potwierdzone za pomocą pomiarów spektrofotometrycznych UV-VIS.

Współuczestniczyłam w badaniach prowadzonych we współpracy z Panią dr hab. Bogumiłą Żurowską z Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, mających na celu badanie właściwości kompleksotwórczych fosfonowych pochodnych pirydyny z jonami metali przejściowych [Co(II), Ni(II), Cu(II) i Zn(II)], a następnie badanie właściwości spektroskopowych i magnetycznych otrzymanych związków kompleksowych z tymi metalami.

Od roku 2011 moja praca badawcza koncentruje się na tematyce kompleksów srebra(I) i miedzi(II) z pochodnymi imidazolu, benzimidazolu i pirydyny oraz badaniu ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej (przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej) i cytotoksycznej. Badania te są przedmiotem niniejszej rozprawy habilitacyjnej. Wyniki badań uzyskane w ramach przedłożonej pracy habilitacyjnej mają szansę przyczynić się opracowania nowych leków przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych i cytostatycznych. Badania te mają charakter interdyscyplinarny i są efektem współpracy kilku krajowych ośrodków naukowych: Zakładu Chemii Bionieorganicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii Uniwersytetu Łódzkiego, Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Katedry Farmacji Stosowanej i Bioinżynierii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakładu Chemii Strukturalnej i Krystalografii Uniwersytetu Łódzkiego oraz Zespołu Rentgenografii Strukturalnej i Krystalochemii Instytutu Chemii Ogólnej i Ekologicznej Politechniki Łódzkiej.

W obrębie powyższej tematyki powstało już kilka publikacji naukowych, a zagadnienia te będą kontynuowane i rozszerzane w ramach ostatnio pozyskanego grantu NCN w konkursie Opus 8, pt. „Kompleksy srebra(I) z pochodnymi imidazolu i pirydyny- synteza, charakterystyka strukturalna, aktywność mikrobiologiczna i cytotoksyczna” (kierownik Prof. dr hab. J. Ochocki). Jestem głównym wykonawcą tego projektu, odpowiedzialnym za jego część związaną z metodami chemicznymi, tj. opracowanie warunków syntezy i oczyszczania nowych związków kompleksowych srebra(I), przeprowadzenie syntez związków i ich identyfikację strukturalną. Brałam aktywny udział w pozyskiwaniu funduszy na ten projekt, poprzez współformułowanie koncepcji badawczej, przygotowanie i redakcję wniosku w konkursie NCN.

Wspomniany projekt badawczy ma obejmować także opracowanie metod syntezy i oczyszczania dwóch nowych grup związków organicznych, tj. sulfonowych i fosfonowych pochodnych (benz)imidazolu i pirydyny, a następnie syntezę i charakterystykę strukturalną związków kompleksowych srebra(I) z tymi ligandami. Badania właściwości przeciwdrobnoustrojowych wszystkich dotychczas uzyskanych kompleksów srebra(I) będą uzupełnione o badania na mikroskopowych grzybach strzępkowych (*Aspergillus flavus* ATCC 204304, *Aspergillus fumigatus* ATCC 204305). Zostanie także określony toksyczny wpływ badanych związków na komórki drobnoustrojów, poprzez ich działanie na osłony komórkowe, z wykorzystaniem odpowiednich barwników i mikroskopii konfokalnej. Aktywność cytotoksyczna związków srebra(I) zostanie oszacowana na ludzkich komórkach skóry prawidłowej (fibroblastach) oraz linii ludzkiego czerniaka złośliwego *in vitro*.

Przeprowadzono badania i opracowano wyniki w formie manuskryptu gotowego do wysłania do recenzji, dotyczące aktywności cytotoksycznej, wobec linii komórek nowotworowych mysiego czerniaka złośliwego oraz linii komórek prawidłowych mysich fibroblastów skóry, serii kompleksów miedzi(II) z fosforanowymi i hydroksymetylowymi pochodnymi (benz)imidazolu i pirydyny. Badania te

przeprowadzono we współpracy z zespołem Prof. dr hab. M. Małeckiego z Katedry Farmacji Stosowanej i Bioinżynierii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

W ramach moich obowiązków dydaktycznych w Zakładzie Chemii Bionieorganicznej prowadzę zajęcia laboratoryjne z „Chemii ogólnej i nieorganicznej” i „Chemii analitycznej jakościowej” dla studentów pierwszego roku studiów farmacji oraz studentów pierwszego i drugiego roku oddziału medycyny laboratoryjnej.

Jestem autorką rozdziału w skrypcie dla studentów I-go roku Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi: *Ćwiczenia z chemii ogólnej z elementami chemii nieorganicznej i bionieorganicznej*, pod redakcją Prof. dr hab. J. Ochockiego (2008), rozdział 3 pt. „Kwasy i zasady”, str. 48-83.

Sprawuję opiekę naukową nad pracami magisterskimi studentów na kierunku farmacja. Dotychczas byłam opiekunem podczas wykonywania i pisania siedmiu prac dyplomowych.

Systematycznie podnoszę swoje kwalifikacje zawodowe poprzez uczestnictwo w krajowych i zagranicznych szkoleniach i kursach specjalistycznych. Uczestniczyłam m.in. w “Practical Training Course: Role of Metals in Biology, Medicine and the Environment” (Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium, May 20-30, 2002) oraz “European School of Medicinal Chemistry - XXX Advanced Course of Medicinal Chemistry and “E. Duranti” National Seminar for PhD Students” (Urbino, Italy, July 4-9, 2010). Ponadto, w roku akademickim 2010/2011 uczestniczyłam w kursie języka angielskiego na poziomie zaawansowanym (192 godz.) oraz w szkoleniu kadry akademickiej z zakresu nowoczesnej metodyki nauczania i metod oceniania (30 godz.), organizowanych przez Centrum Nauczania Języków Obcych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w ramach projektu pt.: “Poprawa jakości nauczania w języku angielskim na UM poprzez podniesienie kompetencji akademickiej kadry dydaktycznej”.

Biorę aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych. Jestem współautorką 25 doniesień konferencyjnych, w tym 7 zagranicznych.

Jestem zapraszana przez czasopisma naukowe do wykonywania recenzji artykułów. Sporządziłam 27 recenzji manuskryptów publikacji dla czasopism o zasięgu międzynarodowym (znajdującym się w bazie JCR), w tym 12 recenzji dla czasopisma *European Journal of Medicinal Chemistry* (IF 3,447).

Mój dorobek naukowy obejmuje 24 publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR) o sumarycznym IF zgodnym z rokiem opublikowania wynoszącym 57,361, liczbie cytowań 261 (na dzień 19.04.2016r) i *h*-indeksie: 7, wg bazy Scopus. Publikacje naukowe, w których jest pierwszą autorką (Zał. 4, II, poz. 9 i 14) zostały 5-krotnie zacytowane w podręcznikach akademickich i książkach specjalistycznych, tj.: M. Cieślak-Golonka *et al.*, *Wstęp do chemii koordynacyjnej*, PWN 2010; *Ligand Design in Medicinal Inorganic Chemistry* (2014); *Molecules at Work: Selfassembly, Nanomaterials, Molecular Machinery* (2012); *Bioinorganic Medicinal Chemistry* (2011).

Uzyskane związki kompleksowe srebra(I) o najwyższej aktywności mikrobiologicznej, ich sposób wytwarzania i zastosowanie są przedmiotem dwóch krajowych zgłoszeń patentowych, których jestem współautorką. Jedno zgłoszenie patentowe zostało rozszerzone na Europę.

Za działalność naukową otrzymywałam 7-krotnie zespołowe Nagrody Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, indywidualną Nagrodę Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a w roku

2009 zostałam wyróżniona zespołową nagrodą Ministra Zdrowia za artykuł przeglądowy, pt. „*Trans geometry in platinum antitumor complexes*”.

*Szczegółowe informacje o osiągnięciach naukowo-badawczych zamieszczam w Załączniku 4 (Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki).*

*Urszula Kalinowska-Lis*