



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Нада Д. Савић

**СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ
КОМПЛЕКСА СРЕБРА(I) И ЗЛАТА(III) СА АРОМАТИЧНИМ
ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ ЈЕДИЊЕЊИМА КОЈА САДРЖЕ
АЗОТ У ПРСТЕНУ**

Докторска дисертација

Ментор: др Биљана Ђ. Глишић, доцент

Крагујевац, 2019.

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I. Аутор

Име и презиме: Нада Д. Савић
Датум и место рођења: 18. август 1989. године, Чачак
Садашње запослење: истраживач-сарадник, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу

II. Докторска дисертација

Наслов: Синтеза, карактеризација и биолошка активност комплекса сребра(I) и злата(III) са ароматичним хетероцикличним једињењима која садрже азот у прстену
Број страница: 184
Број слика: 74
Број библиографских података: 261
Установа и место где је рад израђен: Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област (УДК) : Хемија(54) – Неорганска хемија(546)
Ментор: др Биљана Ђ. Глишић, доцент

III. Оцена и одбрана

Датум и пријава теме: 21. јун 2017. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: Наставно-научно веће Природно-математичког факултета:
Веће за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу:

Комисија за оцену подобности теме и кандидата:

1. др Биљана Ђ. Глишић, научни сарадник
Природно-математички факултет
Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Неорганска хемија
2. др Милош И. Ђуран, редовни професор
- дописни члан САНУ -
Природно-математички факултет
Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Неорганска хемија
3. др Јасмина Никодиновић-Рунић, научни саветник
Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство
Универзитет у Београду

Комисија за оцену и одбрану
докторске дисертације:

- Ужа научна област: Молекуларна биологија
4. др Живадин Д. Бугарчић, редовни професор
Природно-математички факултет
Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Неорганска хемија
5. др Снежана Рајковић, ванредни професор
Природно-математички факултет
Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Неорганска хемија
1. др Милош И. Ђуран, редовни професор у пензији
- дописни члан САНУ -
Природно-математички факултет
Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Неорганска хемија
2. др Јасмина Никодиновић-Рунић, научни саветник
Институт за молекуларну генетику и
генетичко инжењерство
Универзитет у Београду
Ужа научна област: Молекуларна биологија
3. др Зоран Д. Матовић, редовни професор
Природно-математички факултет
Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Неорганска хемија
4. др Катарина Анђелковић, редовни професор
Хемијски факултет
Универзитет у Београду
Ужа научна област: Неорганска хемија
5. др Игор Опсеница, ванредни професор
Хемијски факултет
Универзитет у Београду
Ужа научна област: Органска хемија

Датум одбране дисертације:

2019. године

МОМ ОЦУ

Драгану Савић

Ова докторска дисертација је рађена на Институту за хемију Природно-математичког факултета у Крагујевцу, под менторским руководством доцента др Биљане Ђ. Глишић.

Свом ментору, доценту др Биљани Ђ. Глишић се захваљујем на указаном поверењу, разумевању, сугестијама, саветима током свих година колико је трајала израда и писање докторске дисертације. Била је част и задовољство радити са тобом.

Захваљујем се професору др Милошу И. Ђурану, председнику комисије за оцену и одбрану ове докторске дисертације, што ме је позвао да радим у његовој групи као и бившим и садашњим члановима његове лабораторије, који су ме подржавали, али и онима који нису, јер су и једни и други на себи својствен начин деловали подстицајно.

Желим да истакнем да сам почаствована и срећна што сам имала могућност да упознам др Јасмину Никодиновић-Рунић, члана комисије за оцену и одбрану ове докторске дисертације и велика ми је част што сарађујем са њом и њеном групом са Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду. Дугујем јој неизмерну захвалност на свим саветима, сугестијама и подршци, у току израде и писања ове дисертације, као и на томе што ми је пружила могућност да проведем одређено време у њеној истраживачкој групи.

Професору др Зорану Матовићу са Природно-математичког факултета у Крагујевцу, професорки др Катарини Анђелковић и професору др Игору Опсеници са Хемијског факултета у Београду се захваљујем на учешћу у комисији за преглед, оцену и одбрану тезе.

Велико хвала свим мојим пријатељима који су били уз мене и који су ми били велика подршка у сваком тренутку (у оним моментима када је било лепо, али и у оним мање лепим тренуцима).

Највећу захвалност на стрпљењу и разумевању, дугујем својој породици која је веровала у мене чак и онда када ја нисам, мом оцу, мојој мајци, и ујаку без чије подршке и вере не бих била ту где јесам и не бих била ово што сам сада.

Нада Д. Савић

САДРЖАЈ

ИЗВОД	I
SUMMARY	V
1. ОПШТИ ДЕО	1
1.1. Физичко-хемијске особине сребра	1
<i>Оксидационо стање +1</i>	2
<i>Оксидационо стање +2</i>	6
<i>Оксидациона стања +3 и +4</i>	7
1.2. Физичко-хемијске особине злата	7
<i>Оксидационо стање +1</i>	10
<i>Оксидационо стање +3</i>	10
1.3. Примена сребра и његових једињења у медицини: историјски преглед	12
1.4. Примена злата и његових једињења у медицини: историјски преглед	14
1.5. Биолошка активност комплекса сребра	15
1.5.1. Токсичност сребра и његових једињења	22
1.6. Биолошка активност комплекса злата(III)	25
1.6.1. Антитуморска активност комплекса злата(III)	26
1.6.2. Антипаразитска активност комплекса злата(III)	33
1.6.3. Антибактеријска и антифунгална активност комплекса злата(III)	35
1.7. Механизам деловања комплекса сребра(I)	36
1.7.1. Резистентност деловања комплекса сребра(I)	38
1.8. Механизам деловања комплекса злата	40

2. ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА	43
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО	46
3.1. Хемикалије и реагенси	46
3.2. Добијање комплекса сребра(I) са ароматичним хетероцикличним лигандима који садрже азот у прстену	46
3.2.1. Добијање $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)_2(\mu\text{-pydz})_2\}_n]$ (Ag1), $[\{\text{Ag}(\text{pm})\}(\text{NO}_3)]_n$ (Ag2), $[\{\text{Ag}(\text{pz})\}(\text{NO}_3)]_n$ (Ag3), $[\{\text{Ag}(\text{qz})\}(\text{NO}_3)]_n$ (Ag4) и $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)_2(\mu\text{-phz})\}_n]$ (Ag5) комплекса	46
3.2.2. Добијање $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (Ag6) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (Ag7) комплекса	48
<i>Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (Ag6) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (Ag7) комплексе</i>	49
3.2.3. Добијање $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O, O')(1,7\text{-phen-N7})_2]$ (Ag8) комплекса	50
3.2.4. Добијање $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N7})_2]\text{X}$ комплекса, $\text{X} = \text{ClO}_4^-$ (Ag9), CF_3SO_3^- (Ag10), BF_4^- (Ag11) и SbF_6^- (Ag12)	51
<i>Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O, O')(1,7\text{-phen-N7})_2]$ (Ag8), $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N7})_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (Ag10) и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N7})_2]\text{BF}_4$ (Ag11) комплексе</i>	53
3.2.5. Добијање $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag13), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag14) и $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)\}_n$ (Ag15) комплекса	55
3.2.6. Добијање $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag16) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (Ag17) комплекса	56
<i>Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag13), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag14), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)\}_n$ (Ag15), $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag16) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (Ag17) комплексе</i>	57
3.3. Добијање комплекса злата(III) са ароматичним хетероцикличним лигандима који садрже азот у прстену	61
3.3.1. Добијање $[\text{AuCl}_3(\text{pydz})]$ (Au1), $[\text{AuCl}_3(\text{pm})]$ (Au2), $[\text{AuCl}_3(\text{pz})]$ (Au3), $[\text{AuCl}_3(\text{qx})]$ (Au4) и $[\text{AuCl}_3(\text{phz})]$ (Au5) комплекса	61
3.3.2. Добијање $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (Au6) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (Au7) комплекса	62
<i>Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (Au6) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (Au7) комплексе</i>	64

3.3.3. Добијање $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (Au8) и $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-bpe})]$ (Au9) комплекса	65
<i>Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (Au8) комплекс</i>	66
3.4. Експериментална мерења	69
3.4.1. Елементарне микроанализе	69
3.4.2. NMR (^1H и ^{13}C) мерења	69
3.4.3. UV-vis мерења	69
3.4.4. IR мерења	69
3.4.5. Волтаметријска мерења цикличном волтаметријом	69
3.4.6. MS мерења	70
3.4.7. Испитивање стабилности комплекса	70
3.5. Квантно-механичке методе	70
3.6. Биолошка испитивања	70
3.6.1. Припрема хранљивих подлога	70
<i>Luria Bertani подлога (LB-течна подлога)</i>	70
<i>Luria Bertani подлога (LA-чврста подлога)</i>	71
<i>RPMI подлога</i>	71
<i>Saburand dextrose подлога (SAB)</i>	71
<i>Spider подлога</i>	71
3.6.2. Антимикробна активност	71
3.6.3. Тест цитотоксичности методом МТТ есеја	72
3.6.4. Хемолитички потенцијал	74
3.6.5. Ефекат комплекса сребра(I) на развој филамената код <i>Candida albicans</i> соја	74
3.6.6. Стварање реактивних кисеоничних врста (ROS) код <i>Candida albicans</i> соја	75
3.6.7. <i>In vivo</i> ембриотоксичност и антиангиогени потенцијал	75
3.7. Интеракције комплекса сребра(I) и злата(III) са биомолекулима	76
3.7.1. <i>In vitro</i> ДНК интеракције применом гел електрофорезе	76
3.7.2. CD спектралне анализе	76
3.7.3. UV-vis спектрофотометријска мерења	77
3.7.4. Флуориметријска мерења	77
3.7.6. Молекулски докинг	78

4. ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА	79
4.1. СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА СРЕБРА(I) И ЗЛАТА(III) СА АРОМАТИЧНИМ ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ ЈЕДИЊЕЊИМА КОЈА САДРЖЕ АЗОТ У ПРСТЕНУ	79
4.1.1. КОМПЛЕКСИ СРЕБРА(I) СА АРОМАТИЧНИМ ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ ЈЕДИЊЕЊИМА КОЈА САДРЖЕ АЗОТ У ПРСТЕНУ	81
Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са диазинима и бензодиазинима	81
<i>Стабилност Ag1-5 комплекса</i>	83
Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са хинозолином и фталазином	84
<i>Спектроскопска карактеризација Ag6 и Ag7 комплекса</i>	85
<i>Опис кристалних структура Ag6 и Ag7 комплекса</i>	85
<i>Стабилност Ag6 и Ag7 комплекса</i>	88
Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са 1,7-фенантролином	89
<i>Спектрална карактеризација Ag8-12 комплекса</i>	90
<i>Опис кристалних структура Ag8, Ag10 и Ag11 комплекса</i>	94
<i>Стабилност Ag8-12 комплекса</i>	96
Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са 4,7-фенантролином	98
<i>Спектрална карактеризација Ag13-17 комплекса</i>	100
<i>Електрохемијска карактеризација Ag13-17 комплекса</i>	101
<i>Опис кристалних структура Ag13-17 комплекса</i>	102
<i>Стабилност Ag13-17 комплекса</i>	107
4.1.2. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА СРЕБРА(I)	109
Антимикробна активност комплекса сребра(I)	109
Механизам антимикробног деловања Ag1-17 комплекса	114
<i>Интеракције са ДНК</i>	114
<i>Формирање реактивних кисеоничних врста</i>	126
<i>Хемолитички потенцијал Ag8-17 комплекса</i>	128
Инхибиција филаментног раста <i>C. albicans</i>	129
<i>In vivo</i> ембриотоксичност на моделу ембриона зебрица (<i>Danio rerio</i>)	130

4.1.3. КОМПЛЕКСИ ЗЛАТА(III) СА АРОМАТИЧНИМ ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ ЈЕДИЊЕЊИМА КОЈА САДРЖЕ АЗОТ У ПРСТЕНУ	133
Синтеза и структурна карактеризација комплекса злата(III) са диазинима и бензодиазинима	133
Стабилност Au1-5 комплекса	134
Синтеза и структурна карактеризација комплекса злата(III) са 1,7- и 4,7-фенантролином	135
Спектроскопска карактеризација Au6 и Au7 комплекса	136
Опис кристалних структура Au6 и Au7 комплекса	138
Стабилност Au6 и Au7 комплекса	141
DFT анализа Au6 и Au7 комплекса	141
Синтеза и структурна карактеризација динуклеарних комплекса злата(III) са 4,4'-бипиридином и 1,2-bis(4-пиридил)етаном	143
Спектроскопска карактеризација Au8 и Au9 комплекса	144
Опис кристалне структуре Au8 комплекса	146
Стабилност Au8 и Au9 комплекса	148
DFT анализа Au8 и Au9 комплекса	149
4.1.4. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III)	153
Антимикробна активност комплекса злата(III)	153
Интеракције комплекса злата(III) са биомолекулима	158
Антиангиогени потенцијал Au6 и Au7 комплекса	161
5. ЗАКЉУЧАК	165
ЛИТЕРАТУРА	169
БИОГРАФИЈА	183

СКРАЋЕНИЦЕ И ОЗНАКЕ

py	пиридин
bipy	2,2'-бипиридин
1,10-phen	1,10-фенантролин
MRSA	метицилин-резистентна <i>Staphylococcus aureus</i>
AgSD	сребро(I)-сулфадиазин
ДНК	дезоксирибонуклеинска киселина
NHC	N-хетероциклични карбени
im	имидазол
triaz	1,2,4-триазол
Hhino	4-изопропилтрополон, хинокитиол
H ₂ his	L-хистидин
H ₂ pyrld	2-пиролидон-5-карбоксилна киселина
Hothf	5-оксо-тетрахидрофуранкарбоксилна киселина
Hsal	салицилна киселина
9-acaH	9-антраценкарбоксилна киселина
HepG	ћелијска линија тумора јетре
A498	ћелијска линија тумора бубрега
H ₂ mna	2-меркаптоникотинска киселина
H ₂ mba	2-меркаптобензоева киселина
РНК	рибонуклеинска киселина
en	етилендиамин
dien	диетилентриамин
A2780/S	ћелијска линија карцинома јајника сензитивна на цисплатину
A2780/R	ћелијска линија карцинома јајника резистентна на цисплатину

terpy	2,2':6',2''-терпиридин
cyclam	1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан
azapy	2-(фенилазо)пиридин
dpq	дипиридо[3,2-f:2',3'-h]хиноксалин
dppz	2,5-bis(2-пиридил)пиазин
dpqc	дипиридо[3,2-a:2',3'-c](6,7,8,9-тетрахидро)феназин
IC ₅₀	концентрација која инхибира 50% раста
dtc	дитиокарбамат
dmdt	<i>N,N</i> -диметилдитиокарбамат
esdt	етилсаркозиндитиокарбамат
MDA-MB-231	ксенографтови рака дојке код мишева
msdt	метилсаркозиндитиокарбамат
ppy	2-пиридилфенил
MOLT-4	ћелијска линија леукемије
C2C12	ћелијска линија тумора код мишева
damp	2-(диметиламино)метилфенил
Gly-L-His	глицил-L-хистидин
bipy ^{dmb}	6-(1,1-диметилбензил)-2,2'-бипиридин
2,6-xylidine	2,6-диметиланилин
py ^{dmb}	2-(1,1-диметилбензил)-пиридин
4,4'-di ^t Bubipy	4,4'-дитерцбутил-2,2'-бипиридин
6-Mebipy	6-метил-2,2'-бипиридин
6-CH ₂ CM ₃ bipy	6-неопентил-2,2'-бипиридин
6-(2,6-Me ₂ C ₆ H ₃)bipy	6-(2,6-диметилфенил)-2,2'-бипиридин
6,6'-diMebipy	6,6'-диметил-2,2'-бипиридин
6,6'-diMephen	6,6'-диметил-1,10-фенантролин
cq	хлорокин
RS	1-тио-β-D-глукоза-2,3,4,6-тетраацетат
pyoxaz ^{iPr}	4-изопропил-2-(пиридин-2-ил)-4,5-дихидрооксазол
pyoxaz ^{Bn}	4-бензил-2-(пиридин-2-ил)-4,5-дихидрооксазол
ctz	клотримазол
ROS	реактивне кисеоничне врсте

TEM	трансмисиона електронска микроскопија
X-ray	рендгенска структурна анализа
FTIR	инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом
ATP	аденозин-трифосфат
NADH	никотинамид-аденин динуклеотид
Sec	селеноцистеин
Gly-Cys-Sec-Gly	глицил-цистеинил-селеноцистеинил-глицин
Trx	тиоредоксин
TrxR	тиоредоксин редуктаза
TrxR2	митохондријална тиоредоксин редуктаза
Trx2	митохондријални тиоредоксин
TrxR1	цитосолна тиоредоксин редуктаза
Trx1	цитосолни тиоредоксин
TE	транскрипциони фактор
ASK1	киназа 1 која стимулише апоптозу
pydz	пиридазин
pm	пиримидин
pz	пиразин
qx	хиноксалин
phz	феназин
phtz	фталазин
qz	хиназолин
4,4'-bipy	4,4'-бипиридин
bpe	1,2-bis(4-пиридил)етан
1,7-phen	1,7-фенантролин
4,7-phen	4,7-фенантролин
BCA	албумин говеђег серума
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i> medium
MOPS	3-(<i>N</i> -морфолин)пропансулфонска киселина
¹ H NMR	протонска нуклеарна магнетна резонанца
¹³ C NMR	угљеник-13 нуклеарна магнетна резонанца
UV-vis	ултраљубичаста-видљива спектрофотометрија

ESI-MS	електроспреј-јонизациона масена спектрометрија
IR	инфрацрвена спектроскопија
MS	масена спектрометрија
FIR	далека инфрацрвена област
SAB	<i>Saburand dextrose</i> подлога
ATCC	American type culture collection
NCTC	National collection of type cultures
MIC	минимална инхибиторска концентрација
cfu	colony forming unit
MTT	(3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолијум-бромид
MRC5	ћелије хуманог фибробласта плућа
HeLa	ћелије тумора грлића материце
A549	туморска ћелијска линија аденокарцинома плућа
DCFH-DA	2',7'-дихлорфлуоресцин-диацетат
OECD	<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
LC ₅₀	концентрација која узрокује леталне ефекте на 50% испитиваних ембриона
EC ₅₀	концентрација која узрокује леталне и тератогене ефекте на 50% испитиваних ембриона
ISVs	интерсегментални крвни судови
SIVs	субинтестинални крвни судови
TI	тератогени индекс
TW	терапеутски индекс
EGFP	зелени флуоресцентни протеин појачане флуоресценције
gDNK	геномска дезоксирибонуклеинска киселина
ЕБ	етидијум-бромид
ТАЕ пуфер	40 mM Tris ацетат/1 mM EDTA
CD	циркуларни дихроизам
СТ-DNK	ДНК који је изолован из тимуса телета
K _{sv}	Стерн-Волмерова константа
Å	ангстрем
γ	жиромагнетна константа језгра

τ_4	параметар који указује на дисторзију тетраедарске геометрије
λ	таласна дужина
ε	моларни екстинкциони коефицијент
ТВАНР	тетрабутиламонијум-хексафлуорофосфат
BDD	бором допована дијамантска електрода
LMCT	пренос наелектрисања са лиганда на метал
DFT	теорија функционала густине
mtz	метронидазол
ΔG	Гибсова (<i>Gibbs</i>) енергија
n	Хилов (<i>Hill</i>) коефицијент
K_q	константа гашења
K_b	константа везивања
1,10-phenidio	1,10-фенантролин-5,6-дион
CV	циклична волтаметрија
DCF	2',7'-дихлорфлуоресцеин
AmB	амфотерицин В
sub-MIC	75% MIC
Ts	терапеутски сигурносни индекс
SI	индекс селективности
XCA	албумин хуманог серума
Trp	триптофан
Tyr	тирозин
Phe	фенилаланин
DLAVs	дорзални бочни судови
Нnpr	напроксен
trp	трифенилфосфин
trtp	три(<i>p</i> -толил)фосфин
Нasp	аспирин
НpHbza	<i>p</i> -хидроксибензенова киселина
trAs	трифениларсин
Gly	глицин
Nam	никотинамид

ИЗВОД

У оквиру ове докторске дисертације описана је синтеза, структурна карактеризација и резултати испитивања антимикуробне и цитотоксичне активности комплекса сребра(I) и злата(III) са ароматичним хетероцикличним једињењима која садрже азот у прстену. У циљу дефинисања механизма деловања новосинтетисаних комплекса испитиване су њихове интеракције са биомолекулима (ДНК и БСА), хемолитички потенцијал и могућност формирања реактивних кисеоничних врста (енг. "Reactive oxygen species, ROS").

У првом делу дисертације приказана је синтеза, спектроскопска карактеризација и биолошка активност комплекса сребра(I) који настају у реакцијама:

1) AgNO_3 са пиридазином (pydz), пиримидином (pm), пиразином (pz), хиноксалином (qx) и феназином (phz). Ови комплекси су полинуклеарни, при чему њихова геометрија зависи од положаја азота у прстену одговарајућег лиганда (*RSC Advances*, **6** (2016) 13193-13206);

2) AgNO_3 са хиназолином (qz) и AgBF_4 са фталазином (phtz). У реакцији између AgNO_3 и qz настаје полинуклеарни $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ комплекс, док у реакцији између AgBF_4 и phtz настаје динуклеарни $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ комплекс (*MedChemComm*, **7** (2016) 282-291);

3) различитих AgX соли са 1,7-фенантролином (1,7-phen), при чему настају мононуклеарни $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O, O')(1,7\text{-phen-N}7)_2]$ и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N}7)_2]\text{X}$ комплекси ($\text{X} = \text{ClO}_4^-, \text{CF}_3\text{SO}_3^-, \text{BF}_4^-$ и SbF_6^-). У овим комплексима, 1,7-phen је монодентатно координован за сребро(I) јон преко стерно мање заклоњеног N7 атома азота (*European Journal of Medicinal Chemistry*, **156** (2018) 760-773);

4) различитих AgX соли ($\text{X} = \text{NO}_3^-, \text{ClO}_4^-, \text{BF}_4^-, \text{CF}_3\text{COO}^-, \text{SbF}_6^-$) са 4,7-фенантролином (4,7-phen), при чему настају полинуклеарни $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N}4, \text{N}7)]_n$, $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N}4, \text{N}7)]_n$, $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$, $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N}4, \text{N}7)]_n$ и динуклеарни $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ комплекси.

Комплекси су окарактерисани применом спектроскопских метода (^1H и ^{13}C NMR, IR, UV-vis), масене спектрометрије и електрохемијских метода (циклична волтаметрија). Структуре синтетисаних комплекса су одређене применом рендгенске структурне анализе. Испитивана је стабилност комплекса у раствору, при чему су комплекси веома стабилни 24 и 48 h након растварања. Поред тога, праћена је стабилност комплекса на светлости и ваздуху, при чему је уочена њихова спора фотодеградација.

Синтетисани комплекси сребра(I) су испитивани према различитим сојевима Грам-позитивних (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*) и Грам-негативних (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*) бактерија и према различитим *Candida* сојевима (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*). Ови тестирани сојеви могу бити узрочници различитих инфекција коже, меких ткива и рана, као и респираторне и нозокомијалне (интрахоспиталне) инфекције. Антимикробна активност синтетисаних комплекса сребра(I) је изражена као вредност минималне инхибиторске концентрације (енг. "Minimum inhibitory concentration, MIC"). У циљу одређивања терапеутског потенцијала ових комплекса, испитивана је њихова антипролиферативна активност (цитотоксичност) према нормалној ћелијској линији фибробласта плућа (MRC5). Испитиване су интеракције синтетисаних комплекса са ДНК, при чему су код већине комплекса уочене електростатичке интеракције,

највероватније преко малог жлеба. Поред тога, у циљу дефинисања механизма деловања, испитиван је хемолитички потенцијал, то јест способност да утичу на ћелијску мембрану, као примарни циљни молекул, већине синтетисаних комплекса, при чему је уочено да они узрокују лизу еритроцита, чиме оштећују ћелијску мембрану и омогућавају истицање ћелијских компонената из унутрашњости ћелије у међућелијски простор. Испитивана је могућност инхибиције филаментног раста *C. albicans* синтетисаних комплекса који показују инхибицију раста гљива, при чему већина комплекса у потпуности инхибира и развој хифа. За $[Ag(NO_3-O,O')(1,7-phen-N7)_2]$ комплекс, који показује највећу антифунгалну активност, испитиван је утицај на формирање реактивних кисеоничних врста, што се сматра једним од механизма деловања комплекса сребра(I). Поред тога, за $[{Ag(NO_3)}_2(\mu-pydz)_2]_n$ комплекс који је показао највећу активност према *Pseudomonas aeruginosa* бактерији, као и за $[Ag(NO_3-O,O')(1,7-phen-N7)_2]$, приказани су резултати испитивања *in vivo* ембриотоксичности на моделу зебрица (*Danio rerio*).

У другом делу дисертације приказана је синтеза, спектроскопска карактеризација и биолошка активност различитих комплекса злата(III) са ароматичним хетероцикличним лигандима који садрже азот у прстену и то:

1) мононуклеарних комплекса злата(III) са диазинима, пиридазином (pydz), пиримидином (pm) и пиразином (pz), диазанафталеном, хиноксалином (qx) и трицикличним ароматима, феназином (phz), 1,7- и 4,7- фенантролином (1,7-phen и 4,7-phen) (*RSC Advances*, **6** (2016) 13193-13206; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **174** (2017) 156-168);

2) динуклеарних комплекса злата(III) са 4,4'-бипиридином (4,4'-bipy) и 1,2-bis(4-пиридил)етаном (bpe) (*MedChemComm*, **7** (2016) 1356-1366).

Сви комплекси су окарактерисани применом спектроскопских метода (1H и ^{13}C NMR, IR, FIR, UV-vis). Структуре синтетисаних комплекса су одређене применом рендгенске структурне анализе. Испитивана је стабилност комплекса у раствору, при чему су они веома стабилни 24 и 48 h након растварања. Поред тога, испитивана је стабилност комплекса на светлости и ваздуху, при чему није уочена фотодеградација. Применом теорије функционала густине (DFT) извршена је

оптимизација геометрије синтетисаних комплекса у вакууму и одговарајућем растварачу.

Комплекси злата(III) су испитивани према различитим сојевима Грам-позитивних (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Micrococcus luteus*) и Грам-негативних (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*) бактерија и према гљиви *C. albicans*. У циљу одређивања индекса селективности, односно терапеутског потенцијала испитиваних комплекса, минималне инхибиторске концентрације су поређене са њиховом антипролиферативном активношћу на нормалним ћелијским линијама фибробласта плућа MRC5. Испитиване су интеракције комплекса злата(III) са pydz, pm, pz, qx и phz са ДНК применом гел електрофорезе, при чему се већина испитиваних комплекса интеркалира између двоструког ланца ДНК. Применом флуориметријских метода испитиване су интеракције динуклеарних комплекса злата(III) са 4,4'-biru и bre са БСА. На основу вредности Стерн-Волмерових константи, може се закључити да оба комплекса имају идентичну тенденцију везивања за БСА. За комплексе злата(III) са 1,7- и 4,7-phen одређене су IC₅₀ вредности (μM) на нормалним ћелијским линијама фибробласта плућа (MRC5) и ћелијама тумора грлића материце (HeLa) и аденокарцинома плућа (A549) и поређене су са одговарајућим вредностима за ауранофин (злато(I) комплекс који се користи у клиничкој пракси). Испитивана једињења нису посебно активна према туморским ћелијама, али и не показују токсичност према нормалним ћелијама фибробласта плућа, док је ауранофин изузетно цитотоксичан према испитиваним ћелијским линијама. Поред тога, испитивана је *in vivo* ембриотоксичности на моделу зебрица (*Danio rerio*). Због уочене појаве редуковане репне циркулације код зебрица, испитиван је антиангиогени потенцијал комплекса злата(III) са 1,7- и 4,7-phen, при чему су они инхибирали ангиогенезу и показали знатно мању токсичност од ауранофина и метастатског агенса сунитиниба (*Journal of Inorganic Biochemistry*, **174** (2017) 156-168).

Добијени резултати у оквиру ове дисертације представљају значајан допринос синтези нових комплекса сребра(I) и злата(III) као потенцијалних терапеутских агенаса, који би се примењивали за лечење мултирезистентних бактеријских и гљивичних инфекција и различитих врста тумора.

SUMMARY

In this PhD thesis, synthesis, structural characterization and evaluation of the antimicrobial and cytotoxic activities of the silver(I) and gold(III) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocycles have been reported. In order to define the mechanism of action of novel complexes, their interactions with biomolecules (DNA and BSA) have been investigated, as well as their hemolytic potential and ability to produce reactive oxygen species (ROS).

In the first part of this thesis, synthesis, structural characterization and biological evaluation of the silver(I) complexes are reported. These silver(I) complexes were obtained in the reactions of:

1) AgNO_3 with pyridazine (pydz), pyrimidine (pm), pyrazine (pz), quinoxaline (qx) and phenazine (phz). The obtained complexes are polynuclear, and their geometry depends on the nitrogen position in the aromatic ring of the corresponding ligand (*RSC Advances*, **6** (2016) 13193-13206);

2) AgNO_3 with quinazoline (qz) and AgBF_4 with phthalazine (phtz). In the reaction between AgNO_3 and qz, polynuclear $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ complex was formed, while the reaction between AgBF_4 and phtz led to the formation of dinuclear $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ complex (*MedChemComm*, **7** (2016) 282-291);

3) different AgX salts and 1,7-phenanthroline (1,7-phen). In these reactions, the mononuclear $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-N}7)_2]$ and $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N}7)_2]\text{X}$ ($\text{X} = \text{ClO}_4^-$, CF_3SO_3^- , BF_4^- and SbF_6^-) complexes were formed. In these complexes, 1,7-phen is

monodentately coordinated to the Ag(I) ion through the sterically less hindered N7 nitrogen (*European Journal of Medicinal Chemistry*, **156** (2018) 760-773);

4) different AgX salts ($X = \text{NO}_3^-$, ClO_4^- , BF_4^- , CF_3COO^- , SbF_6^-) and 4,7-phenanthroline (4,7-phen). In these reactions, polynuclear $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$, $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$, $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$, $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ and dinuclear $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ complexes were formed.

The synthesized silver(I) complexes were characterized by spectroscopic techniques (^1H and ^{13}C NMR, IR, UV-vis), mass spectrometry and electrochemical methods (cyclic voltammetry). Their structures were determined by single-crystal X-ray diffraction analysis. The stability of the complexes was investigated in solution. It was found that these complexes were very stable during 24 and 48 h after their dissolution. Moreover, the air/light stability of the complexes was monitored, showing a slow photodegradation of the complexes during time.

The synthesized silver(I) complexes were evaluated against different Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*) and Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*) bacteria and various *Candida* strains (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*). All these pathogens can lead to many skin and soft tissue, respiratory, wound and nosocomial infections. The antimicrobial activity of the complexes was expressed as the minimum inhibitory concentration (MIC) value. In order to determine the therapeutic potential of the complexes, their antiproliferative effect on the normal human lung fibroblast cell line MRC5 was evaluated. The interactions of the synthesized silver(I) complexes with DNA were studied. It was found that some of the complexes bind to DNA through the electrostatic interactions, most likely through a minor groove. In order to define the mechanism of action of silver(I) complexes, their hemolytic potential was investigated. It was found that these complexes can cause lysis of the red blood cells by disrupting permeability of the cell membrane and leakage of cellular constituents. Most of the silver(I) complexes completely inhibit development of hyphae of *C. albicans*. The $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-}N7)_2]$ complex showing the highest antifungal activity can induce the formation of reactive oxygen species. This is very important because one of the possible mechanism of action of silver(I) complex is related to the ROS formation leading

to the cell death. Additionally, *in vivo* embryotoxicity of $[\{Ag(NO_3)\}_2(\mu\text{-pydz})_2]_n$ complex showing the highest activity towards *P. aeruginosa* and $[Ag(NO_3-O,O')(1,7\text{-phen-N7})_2]$ was evaluated on the zebrafish model (*Danio rerio*).

In the second part of the thesis, synthesis, structural characterization and biological evaluation of gold(III) complexes with aromatic *N*-heterocycles have been reported. The synthesized series of gold(III) complexes includes:

1) mononuclear gold(III) complexes with diazines, pyridazine (pydz), pyrimidine (pm) and pyrazine (pz), diazanaphthalene, quinoxaline (qx) and tricyclic aromatic compounds, phenazine (phz), 1,7- and 4,7- phenanthroline (1,7-phen and 4,7-phen) (*RSC Advances*, **6** (2016) 13193-13206; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **174** (2017) 156-168);

2) dinuclear gold(III) complexes with 4,4'-bipyridine (4,4'-bipy) and 1,2-bis(4-pyridyl) ethane (bpe) (*MedChemComm*, **7** (2016) 1356-1366).

The synthesized gold(III) complexes were characterized by different spectroscopic techniques (1H and ^{13}C NMR, IR, FIR, UV-vis). Their structures were determined by single-crystal X-ray diffraction analysis. The stability of the complexes was investigated in the solution. The obtained results showed that these complexes are very stable during 24 and 48 h after their dissolution. Additionally, the air/light stability of the complexes was investigated, indicating that no photodegradation process was observed. Density functional theory (DFT) was used for the optimization of the complexes' geometry *in vacuo* and in the corresponding solvent.

Gold(III) complexes with aromatic *N*-heterocycles were evaluated against different Gram-positive (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Micrococcus luteus*) and Gram-negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*) bacteria and the fungus *C. albicans*. In order to determine the selectivity index and therapeutic potential of the investigated gold(III) complexes, the MIC values were compared with their antiproliferative activity on the normal MRC5 cell line. The DNA interactions of the gold(III) complexes with pydz, pm, pz, qx and phz were investigated by gel electrophoresis. Most of these complexes could be intercalated between the double stranded DNA. The interactions of dinuclear gold(III) complexes with 4,4'-bipy and bpe and BSA were investigated by fluorimetry. Based on the values of the Stern-Volmer constants, it can be concluded that both of complexes have

identical binding tendency to BSA. The IC_{50} values (μM) on the MRC5 cell line and two cancer cell lines (cervical cancer cell line (HeLa) and adenocarcinoma cell line (A549)) were determined for the gold(III) complexes with 1,7- and 4,7-phenanthroline and compared with those for auranofin. These complexes were not active on cancer cell lines, but also do not show toxicity on the normal lung fibroblast cell line, while auranofin was very cytotoxic. Additionally, *in vivo* embryotoxicity of the gold(III) complexes with 1,7- and 4,7-phenanthroline was studied on the zebrafish model (*Danio rerio*). Prompted by the observed reduced caudal circulation during the embryotoxicity assessment, the potential of gold(III) complexes with 1,7- and 4,7-phenanthroline to affect angiogenesis *in vivo* was evaluated on the zebrafish model. The obtained results showed that both of these complexes inhibited angiogenesis with significantly lower toxicity in comparison to auranofin and sunitinib, clinically used agents (*Journal of Inorganic Biochemistry*, **174** (2017) 156-168).

The results of this thesis can contribute to the development of new silver(I) and gold(III) complexes as potential therapeutic agents that could be used for the treatment of multiresistant bacterial and fungal infections and cancer.

1. ОПШТИ ДЕО

1.1. Физичко-хемијске особине сребра

Хемијски симбол сребра (Ag) потиче од латинске речи *argentum*, изведенице од грчке речи аргос (ἀργός), што значи сјајно или блиставо. Налази се у 11. групи Периодног система елемената. Сребро је бео, сјајан, мекан, растегљив и лако кован метал, што омогућава његово лако обликовање и извлачење у танке жице и фолије. Сребро је најбољи проводник топлоте и електрицитета од свих елемената. Због високог стандардног редокс потенцијала (0,799 V) сребро се раствара у киселинама које имају јако оксидационо дејство (врућа концентрована азотна и сумпорна киселина), док се у води не раствара. Не оксидује се на собној температури у присуству кисеоника. После одређеног времена потамни, због реакције са водоник-сулфидом, који је у веома малим концентрацијама присутан у ваздуху, при чему се ствара сребро(I)-сулфид [1,2].

Заступљеност сребра у земљиној кори је 0,7 ppm. У природи се налази у елементарном стању и у облику сулфидних руда, које обично прате сулфиди гвожђа, бабра, олова и никла [1]. Сребро и његова једињења се користе за посребравање мање племенитих метала и легура, израду огледала, посуђа и разних легура са златом и бакром [2], за израду накита, украса, кованица, у медицини, фотографији, за стерилизацију воде и козметичких препарата и у катализи. Око 700 тона сребра годишње се користи у хетерогеној катализи (у производњи етилен-оксида, формалдехида и за пречишћавање емисионих дизел гасова) [3].

Постоје два изотопа сребра, ^{107}Ag и ^{109}Ag , сличне природне заступљености.

Вредност редокс потенцијала указује на релативно лаку редукцију слободног Ag^+ јона до елементарног сребра.



У комплексним једињењима, вредности стандардног редокс потенцијала су ниже и, самим тим, отежана је редукција сребро(I) јона до елементарног сребра.



Сребро у једињењима може имати следећа оксидациона стања: +1, +2, +3 и +4. Најчешће оксидационо стање сребра је +1. Једињења у којима сребро има оксидациона стања +2 и +3 су малобројна, тешко се добијају и немају значајну примену [2]. Преглед најважнијих оксидационих стања сребра и могућих геометрија одговарајућих комплекса је дат у табели 1.

Табела 1. Најчешћа оксидациона стања сребра у комплексним једињењима и могуће геометрије за одговарајуће оксидационо стање

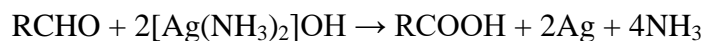
Оксидационо стање и d електронска конфигурација	Координациони број	Геометрија комплекса
$\text{Ag(I)}, d^{10}$	2*	Линеарна
	3	Тригонална
	4*	Тетраедарска
$\text{Ag(II)}, d^9$	4	Квадратно-планарна
	6	Октаедарска
$\text{Ag(III)}, d^8$	2*	Линеарна
	4	Квадратно-планарна
	6	Октаедарска

*Најчешћи координациони број

Оксидационо стање +1

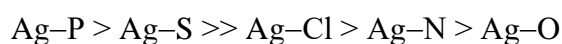
Сребро(I) јон ($[\text{K}\Gamma]4d^{10}$) је умерено јако оксидационо средство, које може да оксидује примарне и секундарне алкоhole до алдехида и кетона [4]. Толенсов

реагенс, амонијачни алкални раствор сребра(I), редукује се у присуству алдехида, при чему настаје елементарно сребро.

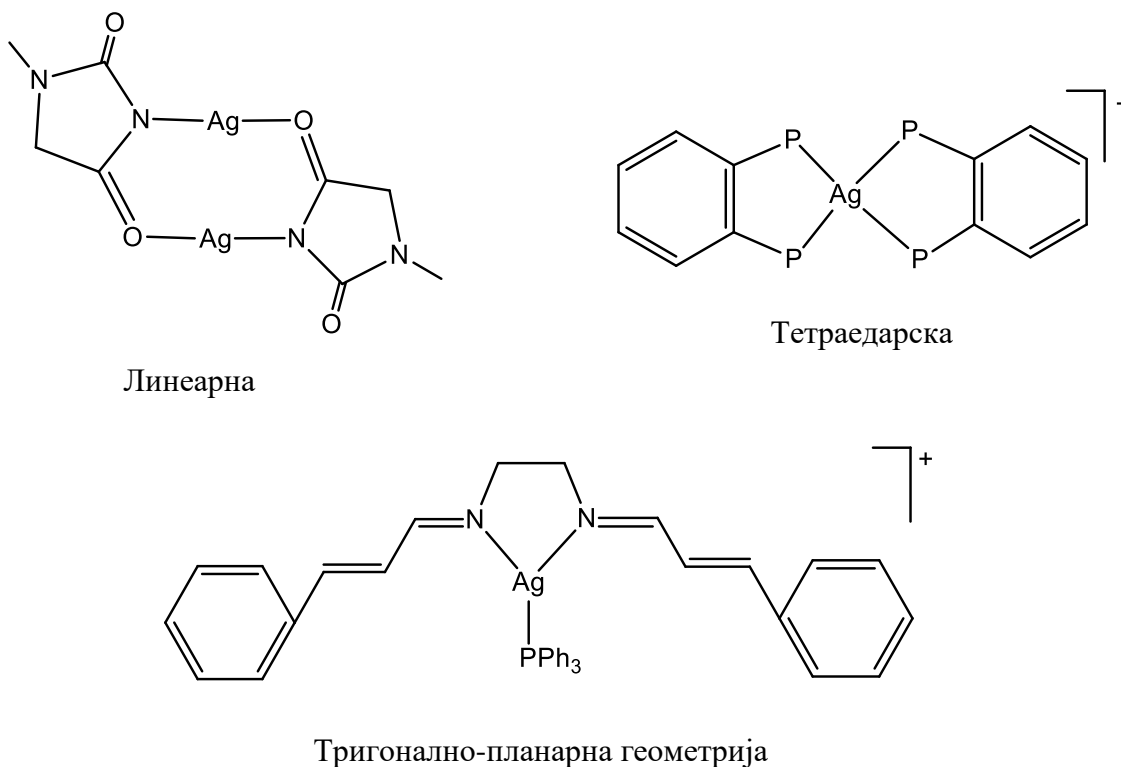


Сребро(I)-халогениди (AgX) могу настати додатком халогенидног јона, X^- , раствору који садржи Ag^+ јон. Нерастворни су у води, осим сребро(I)-флуорида, који је изузетно растворан и припада јонским једињењима [2]. Од свих сребро(I)-халогенида, једино је сребро(I)-хлорид потпуно растворан у амонијачном раствору, због формирања комплексне $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ соли. Сребро(I)-халогениди могу реаговати са халогенидним анјоном, при чему настају полимерни анјонски комплекси [5]. Катјонски комплекси, $[\text{Ag}_2\text{X}]^+$ и $[\text{Ag}_3\text{X}_2]^+$, могу се добити када сребро(I)-халогениди реагују са AgNO_3 или AgClO_4 . Поред комплекса сребра(I) са амонијаком као лигандом ($[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ и $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_3]^+$), познати су и комплекси са цијанидо ($[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$ и $[\text{Ag}(\text{CN})_3]^{2-}$) и тиосулфато лигандима ($[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$). Ови комплекси сребра(I) имају примену у посребравању метала и изради огледала [2].

Сребро(I) јон је мека Луисова (енг. "*Lewis*") киселина и има велики афинитет према неким Луисовим базама (лигандима који као донорске атоме садрже атом сумпора, селена, арсена и фосфора), као и умерени афинитет према лигандима који садрже азот као донорски атом. Предложен је следећи редослед јачине везе између Ag^+ јона и лиганда, који садрже P, S, Cl, N, O донорске атоме [6]:



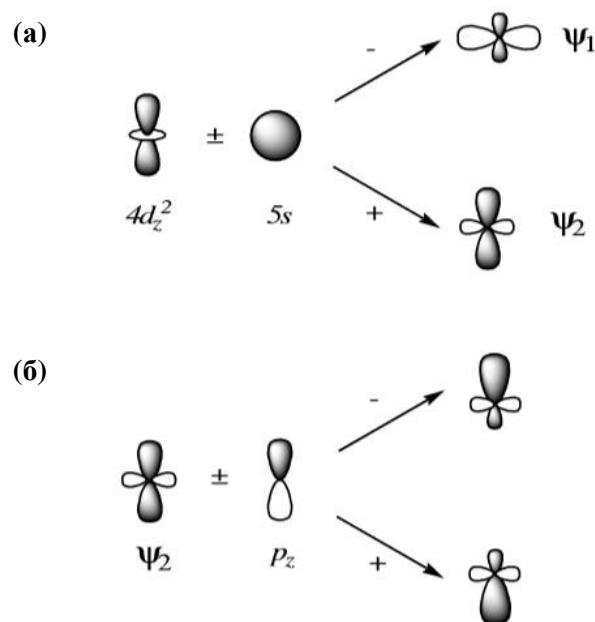
Комплекси сребра(I) су најчешће линеарне и тетраедарске геометрије. У комплексима линеарне геометрије, сребро(I) јон је, у већини случајева, координован за лиганде који садрже азот. Ови комплекси се добијају у воденом раствору [7], док се тетраедарски комплекси сребра(I), најчешће, добијају у неводеним растворима [1]. Поред комплекса сребра(I) линеарне и тетраедарске геометрије, познати су и комплекси тригонално- и квадратно-планарне геометрије. Примери комплекса сребра(I) са одговарајућом геометријом су приказани на слици 1.



Слика 1. Примери комплекса сребро(I) са одговарајућом геометријом

Синтетисани су сребро(I) комплекси са лигандима који садрже азот као донорски атом, укључујући ароматичне лиганде, као што су азоли [8-10]. Од велике важности су и комплекси сребро(I) са карбоксилатима, крунским етрима, каликсаренима и дикетонима, при чему се ови лиганди координују за сребро(I) јон преко атома кисеоника. Сребро(I) формира комплексе са протеинима и пептидима, а посебан афинитет има према атому сумпора из метионина и цистеина и атому азота из имидазола [4]. Познати су комплекси са тиолатима, дитиокарбаматима, тиоуреатима и тиоетрима. Сребро(I) и злато(I), као и бакар(I) и жива(II), показују тенденцију формирања комплекса линеарне геометрије. Ово се може објаснити применом теорије молекулских орбитала, полазећи од чињенице да код ових јона метала постоји релативно мала разлика у енергији између попуњених d орбитала и непопуњене s орбитале ($4d$, $5s$ за $Ag(I)$ јон), чиме се ствара могућност за њихову хибридизацију на начин као што је то приказано на слици 2а. На овај начин електронски пар који се налази у dz^2 орбитали попуњава хибридную Ψ_1 орбиталу са релативно великом електронском густином распоређеном у облику кружног прстена.

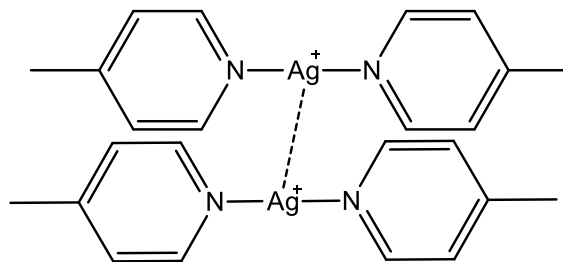
Насупрот томе, у овој орбитали електронска густина изнад и испод равни овог прстена је врло ниска, чиме је омогућено привлачење електронског пара координујућег лиганда. Накнадном хибридизацијом Ψ_2 и p_z орбитала (Слика 2б) настају две нове хибридне орбитале које су, обзиром на распоред електронске густине, врло погодне за формирање две линеарне ковалентне везе које учествују у грађењу одговарајућег комплекса.



Слика 2. Шематски приказ грађења линеарних комплекса сребра(I) методом хибридизације атомских орбитала овог јона метала

Комплекси многих јона метала, као што су комплекси сребра(I), злата(I) и бабра(I), имају тенденцију да формирају метал-метал интеракције у чврстом стању. Метал-метал интеракције у овим комплексима се остварују узајамним дејством између попуњених $d^{I0}-d^{I0}$ орбитала истих јона метала, који се због ових интеракција налазе на растојању од 2,7 до 3,3 Å [11]. Код јона сребра(I), такве интеракције се називају аргентофилне, и јављају се у многим његовим комплексним једињењима (Слика 3). Аргентофилност је тенденција комплекса сребро(I) јона да у чврстом стању граде агрегате, при чему је растојање између два Ag(I) јона у овим агрегатима краће од збира ван дер Валсових радијуса (енг. "van der Waals") (3,44 Å) [12]. Истраживања су показала да су $Ag^{\cdot\cdot}Ag$ интеракције знатно слабије од водоничних веза, при чему њихова енергија зависи од врсте лиганда, који је координан за јон

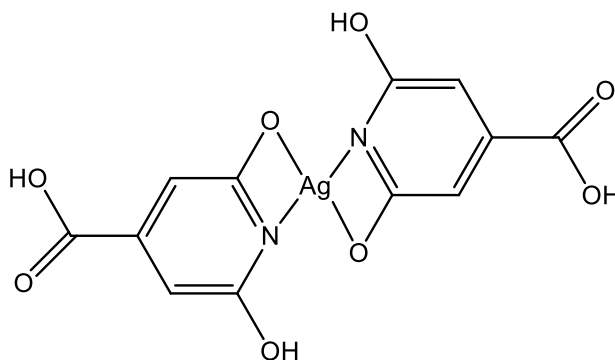
метала. Такође, нађено је да ова врста интеракције нема велики утицај на структуру комплекса.



Слика 3. Пример комплекса сребра(I) у коме постоје аргентофилне интеракције [11]

Оксидационо стање +2

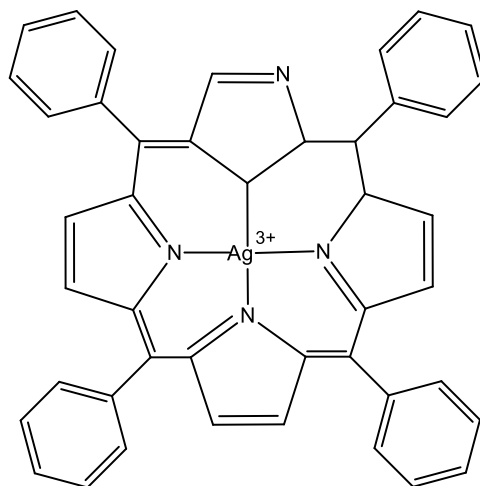
Сребро(II) јон ($[\text{Kr}]4d^9$) најчешће гради комплексе са координационим бројем четири, али се у литератури помињу и комплекси са координационим бројем шест [5]. Познат је аква комплекс $[\text{Ag}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$, који настаје оксидацијом сребро(I) соли озonom у киселој средини [5]. Реакцијом F^- јона са AgF_2 могу настати комплекси различитог типа, који се користе као катализатори: $[\text{AgF}_3]^-$, $[\text{AgF}_4]^{2-}$, $[\text{AgF}_6]^{4-}$, $\text{AgF}_2 \cdot 2\text{SbF}_5$ [13], $\text{AgM}_3^{2+}\text{M}_3^{4+}\text{F}_{20}$ ($\text{M}^{2+} = \text{Cd}^{2+}, \text{Ca}^{2+}, \text{Hg}^{2+}$; $\text{M}^{4+} = \text{Zr}^{4+}, \text{Hf}^{4+}$) [14], и $\text{Ag}[\text{MF}_6]_2$ ($\text{M} = \text{Nb}^{5+}, \text{Ta}^{5+}$) [15]. Сребро(II) јон је, у воденим растворима, изузетно јако оксидационо средство, које се стабилизује стварањем комплексних једињења са дериватима пиридина, $[\text{Ag}(\text{py})_4]^{2+}$, 2,2'-бипиридином, $[\text{Ag}(\text{bipy})_2]^{2+}$, 1,10-фенантролином $[\text{Ag}(1,10\text{-phen})_2]^{2+}$ и ањоном цитразинске киселине, $[\text{Ag}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_4)_2]$ (Слика 4) [16].



Слика 4. Структурна формула $[\text{Ag}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_4)_2]$ комплекса, у коме је сребро(II) јон координован за два ањона цитразинске киселине [16]

Оксидациона стања +3 и +4

Једињења сребра са оксидационим стањем +3 су ретка, и поред тога термодинамички и кинетички нестабилна. Познати су комплекси сребра(III) са изузетно електронегативним лигандима, као што су $[\text{AgF}_6]^{3-}$, $[\text{AgF}_4]^-$, $[\text{Ag}(\text{OH})_4]^-$, $\text{K}_6\text{H}[\text{Ag}(\text{IO}_6)_2]$ и $\text{Na}_6\text{H}_3[\text{Ag}(\text{TeO}_6)_2] \cdot 18\text{H}_2\text{O}$. Поред тога, познати су комплекси сребра(III) са порфиринима, бигвандинима и азот-донорским макроциклима. Нађено је да лиганди пиридинског типа могу стабилизovati сребро(III) јон, као на примеру $[\text{Ag}(\text{py})_2](\text{ClO}_4)_2\text{NO}_3$ комплекса [17]. Пример комплекса сребра(III), који је стабилан на ваздуху, је 5,10,15,20-тетрафенил-2-аза-21-карбапорфиринсребро(III) (Слика 5) [18]. Флуоровањем смеше CsCl и AgCl , под притиском, настаје комплекс у којем сребро има оксидациони број +4, $\text{Cs}_2[\text{AgF}_6]$ [19]. Сви наведени комплекси сребра(III) и (IV) су јака оксидациона средства.



Слика 5. Структурна формула комплекса сребра(III) са 5,10,15,20-тетрафенил-2-аза-21-карбапорфирином [18]

1.2. Физичко-хемијске особине злата

Хемијски симбол злата (Au) изведен је од латинске речи *aurum*, која потиче од богиње зоре Ауроре и значи сјај зоре, осветљење. Налази се у 11. групи Периодног система елемената на крају треће серије прелазних метала. Злато је сјајан и мекан метал жуте боје. Растегљивост и ковност злата је изузетно велика, те се овај метал може извлачити у најфиније жице и листиће мале дебљине [2]. Тако се од 1 g

злата могу добити жице дуге 3 km, а ковањем или ваљањем злата могу се добити листићи дебљине 0,0001 mm, који су око 500 пута тањи од људске длаке. Да би се побољшала тврдоћа злата, припремају се његове легуре са сребром и бакром. Количина злата у тим легурама изражава се у каратима. Чисто злато има 24 карата. Топлотна проводљивост злата износи 75% топлотне проводљивости сребра, док електрична проводљивост износи 70% електричне проводљивости сребра.

Злато је врло редак метал у земљиној кори и налази се у количинама које су мање од једне десетине количине сребра (заступљеност злата је $1,1 \cdot 10^{-3}$ ppm) [2]. У земљиној кори се налази у елементарном стању у виду зрнаца или листића унутар кварцних стена или кварцног песка који настаје трошењем стена и у алувијалним депозитима. Злато се, у малим количинама, може наћи и као пратилац руда бакра и сребра или у једињењима са телуром (AuTe_2) и антимоном (AuSb_2). У природи се појављује и као метал силванит (AgAuTe_4) хексагоналне структуре.

У природи се јавља само један стабилни изотоп ^{197}Au , а постоји и шеснаест радиоактивних изотопа (најпознатији радиоактивни изотоп је ^{198}Au).

Због изузетне хемијске и термичке стабилности, чак и у корозивним условима, велике електричне проводљивости, злато и његова једињења су нашала примену у многим областима. Користе се за израду кованица, накита и украса, у медицини и прехранбеној индустрији и као рефлектори инфрацрвеног зрачења. Поред тога, једињења злата су нашала примену у хетерогеној и хомогеној катализи. Злато је каталитички активно на јако ниским температурама, као и на собној температури [20,21]. Користи се за бојење стакла, припрему порцеланских глазура, у сликарству, у стоматологији и стоматолошкој протетици. Злато је један од главних елемената за израду наноелектронских уређаја, јер је отпорно на оксидацију и механички је постојано. Наночестице злата имају значајну примену у многим областима, као што су електрохемија, електроника, фотофизика, биохемија, биологија и медицина.

Електронска конфигурација последњег енергетског нивоа атома злата у основном стању је $[\text{Xe}]4f^{14}5d^{10}6s^1$. Попуњене d орбитале не заклањају спољашњи $6s^1$ електрон од језгра, при чему долази до његовог јаког привлачења, а последица тога је велика енергија јонизације, висока тачка топљења, релативно мали атомски радијус, као и нереактивност злата. У присуству ваздуха, злато је веома стабилан

метал и не реагује са кисеоником чак ни на повишеној температури, као ни са сумпором и неоксидујућим киселинама [1,2]. Добро се раствара у царској води (смеша концентроване азотне и хлороводоничне киселине у запреминском односу 3 : 1). Злато се раствара у алкалним растворима цијанида, што је нашло примену у рударству и електроплатирању. Са X^- јонима ($X = F^-, Cl^-$ и Br^-) реагује градећи злато(III) соли, док са I^- настаје злато(I) со.

Може се рећи да је оксидација елементарног злата до оксидационог стања +1 могућа само у присуству неког лиганда (CN^- или SCN^-), који са злато(I) јоном гради стабилне комплексе [2]. Оксидација елементарног злата до злата(III) је олакша, али и даље неповољна.



Злато у једињењима може имати различита оксидациона стања, од -1 до +5. Међутим, најчешћа оксидациона стања злата су +1 и +3. У табели 2 су приказана најчешћа оксидациона стања злата, као и одговарајуће геометрије комплекса.

Табела 2. Најчешћа оксидациона стања злата у комплексним једињењима и могуће геометрије за одговарајуће оксидационо стање

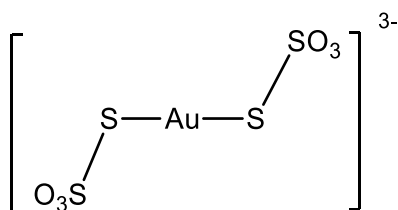
Оксидационо стање и d електронска конфигурација	Координациони број	Геометрија комплекса
Au(I), d^{10}	2*	Линеарна
	3	Тригонално-планарна
	4	Тетраедарска
Au(III), d^8	4*	Квадратно-планарна
	5	Тригонално-бипирамидална
	5	Квадратно-пирамидална
	6	Октаедарска

* Најчешћи координациони број

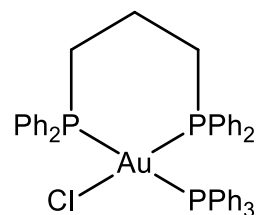
Оксидационо стање +1

Злато(I) јон ($[\text{Xe}]4f^{14}5d^{10}$) показује велики афинитет према лигандима који садрже меке донорске атоме, као што су сумпор у тиолима, RSH , и тиоетрима, R_2S , фосфор у терцијарним фосфинима, R_3P , и селен у RSe^- лиганду. Халогенидни, цијанидни, изоцијанидни и азидни лиганди се такође могу координовати за злато(I). Такође, познати су многи комплекси злата(I) са супституисаним арсинима, фосфинима и сулфидима, као и угљеник(II)-оксидом.

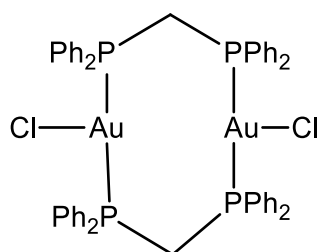
Координациони број злато(I) јона у комплексним једињењима је 2, 3 и 4. Комплекси линеарне геометрије са координационим бројем 2 су најзаступљенији и са биолошког аспекта најзначајнији. Поред линеарне геометрије комплекса, могу постојати и тригонални и тетраедарски комплекси (Слика 6).



Линеарна геометрија



Тетраедарска геометрија

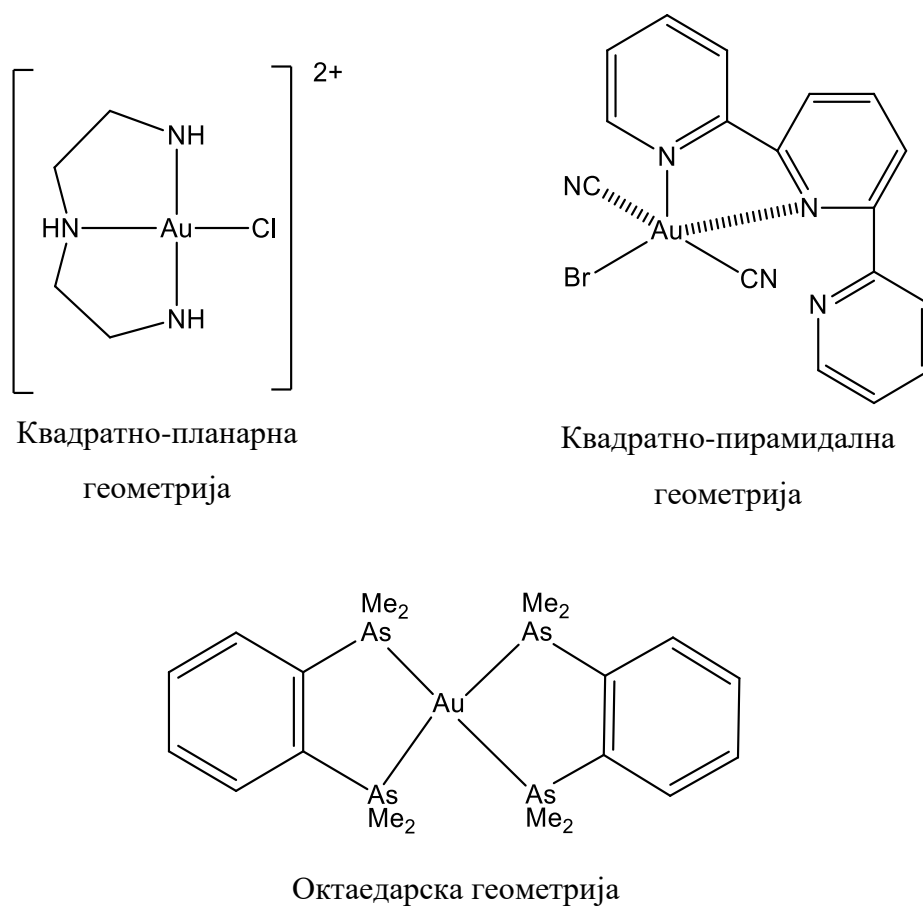


Тригонална геометрија

Слика 6. Могуће геометрије комплекса злата(I)**Оксидационо стање +3**

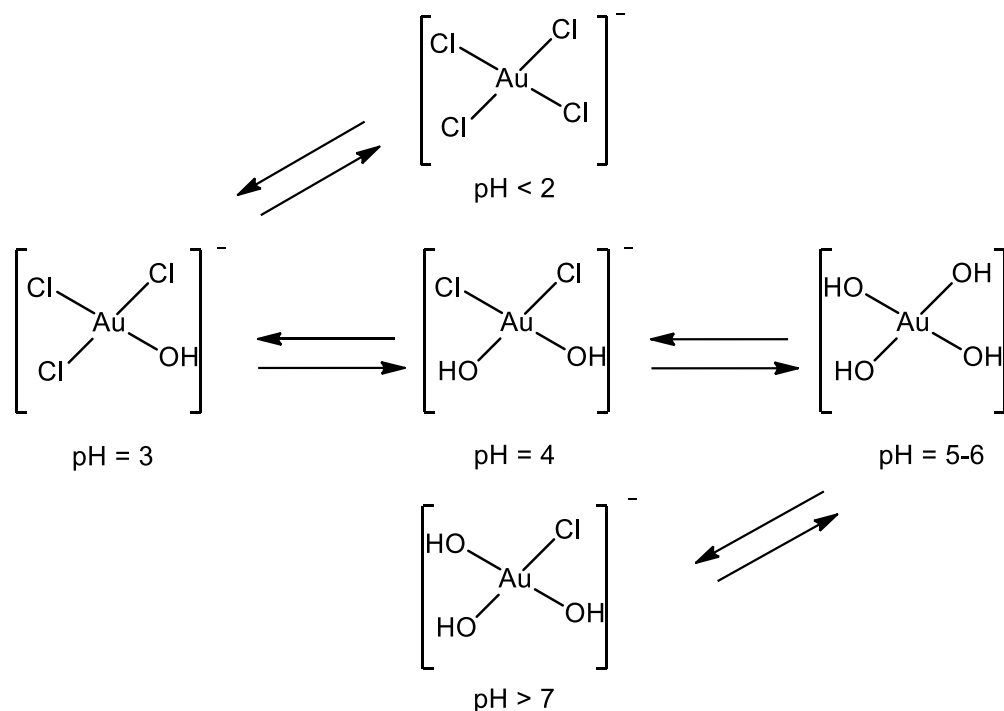
Злато(III) јон ($[\text{Xe}]4f^{14}5d^8$) има мањи јонски радијус од злато(I) јона, па је због тога и мање поларизабилан. Показује велики афинитет према лигандима који садрже тврде донорске атоме, као што су азот и кисеоник, флуор и хлор. Позната су сва

четири халогенида злата(III), од којих је хлорид најзаступљенији. Такође, познат је и хидроксид злата(III), који има амфотерни карактер са јаче израженим киселим својствима и метахидроксид $\text{AuO}(\text{OH})$, који се добија сушењем злато(III)-хидроксида изнад фосфор(V)-оксида. Даљим загревањем метахидроксида на температури од 140 – 150 °C настаје смеђи злато(III)-оксид, Au_2O_3 [2]. За злато(III) комплексе је карактеристична квадратно-планарна геометрија. Поред тога, комплекси злата(III) могу имати тригонално-бипирамидалну, квадратно-пирамидалну и октаедарску геометрију (Слика 7).



Слика 7. Примери комплекса злата(III) са одговарајућом геометријом

Тетрахлоридаурат(III), $[\text{AuCl}_4]^-$, није стабилан у воденом раствору и подлеже спонтаној хидратацији и хидролизи [22]. На слици 8, приказани су различити хидролитички производи који постоје у воденом раствору $[\text{AuCl}_4]^-$ при различитим рН вредностима [23].



Слика 8. Равнотежа између различитих хидролитичких производа који настају у воденом раствору $[\text{AuCl}_4]^{-}$ при различитим рН вредностима [23]

1.3. Примена сребра и његових једињења у медицини: историјски преглед

На острвима у Егејском мору пронађени су докази да су људи издвајали сребро још 3000 година пре нове ере. Антимикробне особине сребра су биле познате још од давнина. Феничани су чували воду, вино и сирће у сребрним боцама да би спречили њихово кварење. Сребро је коришћено у античкој Грчкој и Риму као средство за дезинфекцију, док су га Македонци користили за лечење рана [24]. Аполон, грчки Бог истине и светлости, увек је приказиван на цртежима са сребрном посудом у руци. Хипократ, отац медицине, користио је сребро за лечење рана и многих болести [25,26]. Херодот је описао како је краљ Персије са собом носио воду у сребрним бокалима да би се заштитио од болести [25]. Сребро(І)-нитрат се помиње у фармакопејским списима 69. године пре нове ере у Риму.

Средњовековни алхемичари, како европски тако и арапски, поклањали су велику пажњу сребру. Овај метал је заузимао истакнуто место међу седам светих метала. У периоду од 702. до 980. године, на Средњем истоку, сребро се користило за лечење болести срца, за пречишћавање крви и спречавање непријатног задаха [25].

Парацелзус (*Paracelsus*) је, 1520. године, користио сребро(I)-нитрат за лечење рана [27], док га је Ангело Сала (*Angelo Sala*), 1614. године, користио за смиривање упалних рана и као средство за чишћење [27]. Владари и њихови поданици су, на дворовима, користили сребрни прибор за јело, да би се заштитили од многих инфекција. За њих се говорило да су плаве крви, јер им је боја коже била плава, услед појаве аргирије (акумулације сребра у поткожном ткиву) [27]. Појава аргирије није била документована пре 1800. године, али се знало да је појава плаве боје коже код људи била повезана са смањеном стопом смртности током епидемија куге и других инфективних болести [27]. У XIX веку, људи су стављали вино, воду, млеко и сирће у сребрне посуде, при чему су, на тај начин, чували њихову свежину дужи временски период [27]. У току ратова са Наполеоном, војска руског цара Александра је користила посребрену бурад за складиштење воде са река и извора, коју су касније користили за пиће. На исти начин је руска војска складиштила воду у току Првог и Другог светског рата [25].

Велики допринос примени сребра у медицинске сврхе дао је доктор Џејмс Марион Симс (*James Marion Sims*), познати амерички хирург, 1852. године [28]. Наиме, у то време, приликом хирушких интервенција, коришћени су свилени конци за ушивање рана, који су изазивали честе инфекције. Како би спречио појаву инфекција, овај амерички хирург је користио сребрне жице за ушивање рана. Поред тога, он је користио сребрне катетере за лечење уринарних инфекција. Немачки лекар Карл Зигмунд Франц Креде (*Carl Siegmund Franz Credé*) је, 1880. године, применио сребро(I)-нитрат за превенцију инфекције ока код беба у току порођаја (*Ophthalmia neonatorum*). Најпре је користио 2% раствор, а касније 1% раствор ове соли, због могуће иритације ока, коју може да изазове концентрованији раствор [27]. Ова терапија је била ефикасна и дуго се примењивала у многим земљама широм света, при чему је проценат инфекције смањен од 7,8 до 0,13% за 13 година примене. Халстед (*Halsted*) је користио фолије на бази сребра за третирање инфицираних рана [29,30].

Пре открића антибиотика пеницилина, колоидно сребро је најчешће коришћено као гермицидно и дезинфекционо средство [29,30]. Лекари су га користили за лечење чира роњаче, интерстицијалног кератитиса, блефаритиса (запаљења очних капака) и за хронично запаљење сузне кесице [27], као и у лечењу тропских болести, епилепсије, гонореје и прехладе [27]. Поред тога, колоидно сребро

се користило за лечење породилских сепси, сепси које изазивају стафилококе, упале крајника и других инфективних болести. Открићем пеницилина 1928. године, примена колоидног сребра као антимикуробног агенса се смањила [29].

Фон Негел (*Von Naegele*) је приметио да се антибактеријски ефекат сребра може приписати сребро(I) јону. Он је, такође, утврдио да је сребро(I) јон ефикасан антимикуробни агенс према већини једноћелијских организама (најмање 650 врста), осим према плеснима и паразитима [27].

У медицини сребро има и примену и у дијагностичке сврхе, јер је 1895. године откривено да кристали сребро(I)-халогенида активирају рендгенске зраке [27].

1.4. Примена злата и његових једињења у медицини: историјски преглед

Према палеонтолошким изворима, злато је откривено као жути грумен, око 40 хиљада година пре нове ере у шпанским пећинама, које је користио палеолитски човек. У праисторијском добу, злато се носило у облику амајлије или медаље, која је штитила од болести и злих духова. У Египту, злато је било симбол бога Сунца, Хоруса. Древни Египћани су, највероватније, први развили процес вађења руде злата. Они су правили украсе, накит и предмете од овог метала. Поред тога, уграђивали су злато у пирамиде како би мртвима обезбедили богатство у загробном животу. Најстарији комади златног накита су откривени у гробовима краљице Египта, Зер, и краљице Ура, Пу-аби, у Сумерији, који датирају из трећег миленијума пре нове ере.

Кинези су први легализовали злато као новчану јединицу још 1091. пре нове ере, а касније су Лиђани (640 – 630. пре нове ере) увели златне новчиће као средство плаћања [31]. Поред тога, трговци из западне Турске су произвели кованице, које су представљале легуру “*electrum*”, која се састојала од 63% злата и 27% сребра, 700. године пре нове ере, док се у античкој Грчкој, злато примењивало у монетарне сврхе од 550. године пре нове ере.

Прва примена злата у медицини је забележена код старих Кинеза 2500. године пре нове ере [32], када су се фолија и прах од злата користили у лечењу чирева на кожи, великих богиња и зубобоље [33]. Такође, стари Кинези су открили да се

лекови на бази злата могу користити и у лечењу плућних болести и болова у зглобовима [33]. У старој Индији, коришћено је црвено колоидно злато под називом “*Swarma Bahasma*” за подмлађивање и ревитализацију [34,35].

У средњевековној Европи, алхемичари су имали бројне рецепте који су садржали врло мало злата за прављење еликсира, познатог као питко злато (*aurum potabile*). Парацелзус је преписивао *aurum potabile* за лечење меланхолије [36]. Злато се помиње у фармакопеји објављеној у XVII веку, а користио га је Николас Калпепер (*Nicholas Culpeper*) за лечење меланхолије, несвестице, грознице и епилепсије [36]. У XIX веку коришћена је смеша злато(III)-хлорида и натријум-хлорида ($\text{Na}[\text{AuCl}_4]$) за лечење сифилиса, док је исту смешу примењивао Лесли Кили (*Leslie Keeley*) за лечење алкохолизма и других болести зависности [36]. Роберт Кох (*Robert Koch*), немачки лекар и микробиолог, пронашао је, 1890. године, да калијум-дицијанидоаурат(I), $\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$, показује антибактеријску активност према бацилу туберкулозе [37]. Поред тог комплекса злата(I), у лечењу туберкулозе и лупуса се примењивао злато(III)-хлорид, док се злато(III)-бромид користио код пацијената који имају епилепсију и мигрену [38]. Упркос токсичности, тиолато-злато(I) комплекси (AuSR) су се у периоду од 1925 до 1935. године користили за лечење туберкулозе, услед чега је тај период назван златна декада [39]. Форестије (*Forestier*) је, 1929. године, открио да се једињења злата(I) могу користити у лечењу реуматоидног артритиса [40]. Светско удружење реуматолога, 1969. године, потврдило је позитивно дејство једињења злата у лечењу реуматоидног артритиса. Од тада се комплекси злата(I) (ауранофин, солганол, миокризин, алокризин) користе за лечење различитих типова реуматских болести [41,42].

1.5. Биолошка активност комплекса сребра

Сребро припада групи неесенцијалних метала. У људском телу је присутно у веома малим концентрацијама ($< 2,3 \mu\text{g/L}$), при чему се апсорбује кроз плућа, гастроинтестинални тракт, кожу и слузокожу [43]. У организму се налази у облику сребро-протеинских комплекса, и нема физиолошких и биохемијских улога [44]. Не сматра се кумулативним отровом и елиминира се из организма путем урина и фецеса [43].

У новије време, сребро се импрегнира у медицинске и комерцијалне производе (гипс, завоји, одећа, мобилни телефони, веш машине, боје, антипреспиранти; Слика 9), због своје антимикробне активности [45]. Технологија израде бројних завоја, које садрже сребро је у експанзији, због пораста броја бактерија отпорних на антибиотике [46], углавном због ширења MRSA (метицилин-резистентне *Staphylococcus aureus*) бактерије. На тај начин се лако може обезбедити оптимална влажност, која је потребна за зарастање рана. У клиничкој пракси, коришћење таквих завоја омогућава боље чишћење рана, лакше се контролишу упални процеси узроковани бактеријским инфекцијама и хроничне ране много брже зарастају [47]. Наиме, циљ је да се обезбеди ефикасна замена за антибиотике [48] са минималном токсичношћу за људе у ниским концентрацијама и са мањом вероватноћом за стварање резистентности код бактерија [49-51]. Поред колоидног сребра, координациони полимери на бази сребра(I) се примењују у медицини као антимикробни заштитни филмови [52,53]. Због својих дезинфекционих особина, сребро је нашло примену у области медицине у којој се користе катетери и ендотрахеалне цеви за дисање [54,55]. Употреба уринарних катетера на бази легуре сребра је ефикасна у смањивању уринарних инфекција. Сребро се инкорпорира и у хирушке игле, шавове и протезе, кардиоваскуларне импланте, хирушке и стоматолошке инструменте [56,57].



(а)



(б)

Слика 9. (а) “CURAD” ханзапласт и (б) хидрофобни завој, који садрже сребро

Пнеумоније су инфекције доњих дисајних путева, које настају 48 сати након инкубације и могу бити узрок великог броја смртних случајева. Нађено је да се

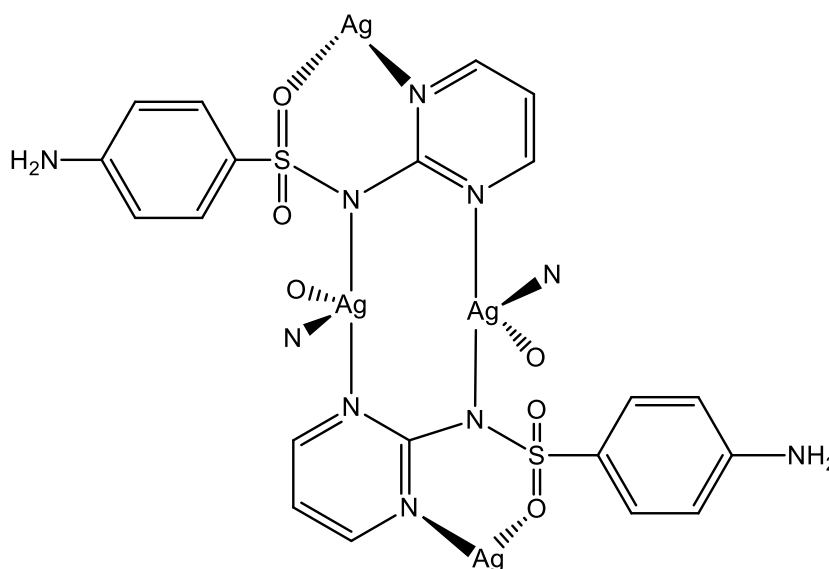
учесталост ових инфекција значајно може смањити применом респираторне опреме, која садржи сребром обложене ендотрахеалне цеви. Ипак, примена ове опреме није погодна за особе које су алергичне на сребро.

Открићем антибиотика пеницилина и сулфонамида, употреба сребра и његових једињења у медицини се значајно смањила у већем делу света [58]. Међутим, након појаве резистенције појединих сојева бактерија на пеницилин средином XX века, научници своју пажњу поново усмеравају на синтезу нових једињења сребра [59]. Посебну опасност за људско здравље представља чињеница да се резистентни генетски материјал може пренети из једне у другу бактеријску ћелију, и то не само из истог соја бактерије. На тај начин се, веома брзо, може развити резистентност многих бактеријских врста на антибиотике који се тренутно користе у медицинске сврхе.

Поновно коришћење сребро(І)-нитрата, као антимикубног агенса је приписано Мојеру (*Moyer*), 1965. године [60]. Ова со сребра(І) се дуго користила као антибактерицидно средство у лечењу опекотина. У циљу превенције инфекције ока у току порођаја, данас се још увек у неким зељама очи беба одмах по рођењу испирају 1% раствором AgNO_3 [61]. Сребро(І)-нитрат показује активност према бактеријама *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и хемолитичким стрептококама, док *Aerobacter (Enterobacter u Klebsiella)* и бројним сапрофитима, које су присутне на људској кожи, нису осетљиве на дејство сребро(І)-нитрата [58]. Сребро(І)-нитрат делује брзо на бактерије, при чему његови ефекти брзо ишчезавају, тако да постоји опасност од поновног инфицирања ране. Применом сребро(І)-нитрата може доћи до губитка електролита присутних у организму, па се због тога пацијентима дају одређене дозе калцијума, натријума и калијума [62].

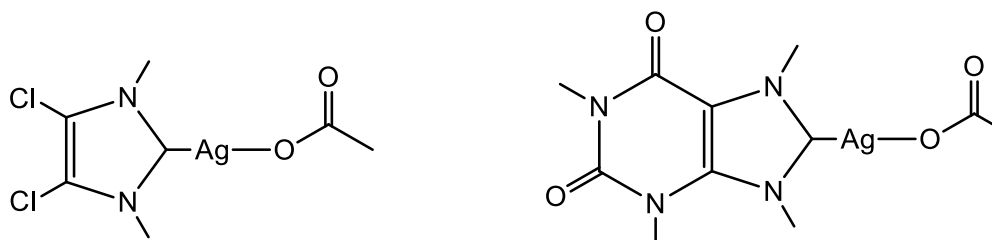
Полинуклеарни комплекс сребра(І) и сулфадиазинског лиганда (AgSD) користи се као антимикубни агенс од 1968. године (Слика 10). Фокс (*Fox*) је предложио полимерну структуру овог комплекса, која се састоји од шест Ag^+ јона и шест молекула сулфадиазина [63]. Овај слабо растворни полинуклеарни комплекс (0,1 mg/100 mL) има особину да лагано отпушта Ag^+ јоне, па се у облику креме користи за превенцију бактеријске инфекције (ефикасан је и према Грам-позитивним и Грам-негативним бактеријама) у случају тежих опекотина [61]. Комерцијално су доступне хидрофилне креме Силваден и Фламазин, које садрже 1% сребро(І)-

сулфадиазина. Комплекс AgSD се користи и у комбинацији са солима лантаноида, које поспешују његово дејство на инхибирању раста Грам-негативних бактерија код пацијената, код којих опекотине захватају преко 50% телесне површине [64]. Комбинација од 1% AgSD и 2,2% церијум-нитрата је позната под комерцијалним називом Flammaserium® и примењује се за третман тежих опекотина. Применом сребро(I)-сулфадиазина може се, у неким случајевима, јавити привремена леукопенија (смањење броја белих крвних ћелија), два или три дана након коришћења креме, која спонтано нестаје када се настави са третманом. Друге контраиндикације након примене сребро(I)-сулфадиазина нису утврђене [58]. Механизам деловања овог комплекса се заснива на његовој реакцији са крвним серумом и телесним течностима, при чему комплекс лагано отпушта сребро(I) јоне. Ови јони узрокују оштећење ћелијске мембране и везују се за многе ћелијске компоненте. Доказано је да јони сребра(I) реагују са ДНК молекулом и спречавају његову транскрипцију, инхибирајући, на тај начин, размножавање различитих сојева бактерија и гљива. Комплекс је веома активан, јер и сам лиганд показује антимикробну активност, при чему инхибира синтезу фолне киселине која је неопходна за размножавање бактерија [64]. Такође, координација сулфадиазина за сребро(I) јон смањује његову фотосензитивност.



Слика 10. Структурна формула комплекса сребра(I) са сулфадиазином (AgSD), који се примењује у медицини за лечење инфекција у случају тежих опекотина [65]

Последњих неколико година, посебну пажњу као антимикробни агенси привлаче комплекси сребра(I) са *N*-хетероцикличним карбенима (енг. "*N*-heterocyclic carbene, NHC") [65]. Комплекси сребра(I) са NHC лигандима, који имају електрон привлачне групе у положају 4 и 5, као што је комплекс (1,3-диметил-4,5-дихлоримидазол-2-илиден)- сребро(I)-ацетат (Слика 11), показују активност према бактеријама, које изазивају цистичну фиброзу плућа и хроничне плућне инфекције [65]. Ови комплекси имају особину да споро отпуштају сребро(I) јоне, при чему штите рану од бактеријске инфекције дуже од комплекса сребра(I) са сулфадиазином [66]. Комплекси приказани на слици 11 показују значајне антимикробне особине против патогена, који су изоловани из плућа пацијената са цистичном фиброзом. Услед цистичне фиброзе долази до стварања слузи, у којој долази до размножавања бактерија и формирања бактеријских биофилмова, који узрокују хроничне инфекције плућа. Комплекси сребра(I) са хетероцикличним карбенима могу лако да дифундују кроз епителијалне ћелије плућа, брже доспевајући до бактерија од многих антибиотика. Ови комплекси су растворни у води и могу имати примену у инхалационој терапији код пацијената који пате од цистичне фиброзе [66].



Слика 11. Структурне формуле комплекса сребра(I) са *N*-хетероцикличним карбенима као лигандима, који делују на бактерије које су узрочници цистичне фиброзе [65-67]

Комплекси сребра(I) се више примењују у клиничкој пракси у односу на соли сребра(I). Хемијске и антимикробне особине комплекса сребра(I) могу се мењати применом различитих лиганата, који се координују за јон сребра(I). Важни фактори у синтези антимикробних комплекса сребра(I) су врста донорског атома лиганда, који се координује за сребро(I) јон и који одређује брзину супституције лиганда и процес отпуштања сребро(I) јона, фото и хемијска стабилност комплекса, као и цене реактаната који се користе у синтези комплекса.

Максимална концентрација сребро(I) јона која доспева до ране је приближно 1 $\mu\text{g/mL}$. Ако је концентрација сребро(I) јона већа, долази до њихове интеракције са хлоридним јонима из телесних течности и формирања нерастворних и неактивних соли, услед чега се смањује активност и стабилност комплекса [68]. Споро ослобађање јона сребра(I) значајно доприноси активности датог комплекса. Имајући у виду наведене чињенице, избор лиганда који ће се употребљавати за синтезу комплекса је од великог значаја. Антимикробна активност комплекса сребра(I) зависи, пре свега, од врсте лиганда који је координован за Ag(I) јон и геометрије комплекса, док је утицај растворљивости, наелектрисања и хиралности комплекса, као и степена полимеризације на његову антимикробну активност знатно мањи [69].

Трифенилфосфински комплекси сребра(I), који у координационој сфери, поред атома фосфора, садрже атоме сумпора или азота, не показују активност према бактеријама и гљивама, али су активни према различитим ћелијским линијама тумора [69]. С друге стране, комплекси сребра(I) са лигандима који садрже донорске атоме азота, кисеоника и сумпора показују антимикробну активност, која зависи од врсте координованог лиганда [69], при чему је активност комплекса сребра(I) са лигандима који садрже сумпор ограничена. То се може приписати чињеници да комплекси сребра(I) са лигандима који садрже азот и кисеоник донорске атоме нису стабилни и да лако долази до супституције лиганда са биомолекулима, као што су различити протеини који садрже аминокиселине са сумпор-донорским атомом, ензими, мембране и мембранске компоненте [70].

Полинуклеарни комплекси сребра(I) са азот- и кисеоник-донорским лигандима, као што су $\{[\text{Ag}(\text{im})]\}_n$ (im = имидазол), $\{[\text{Ag}(\text{triaz})]\}_n$ (triaz = 1,2,4-триазол), $[\text{Ag}(\text{hino})]_2$ (hino = 4-изопропилтрополон), $\{[\text{Ag}(\text{Hhis})] \cdot 0,2\text{EtOH}\}_n$ (H_2his = L-хистидин), $\{[\text{Ag}(\text{Hpyrld})]_2\}_n$ (H_2pyrld = 2-пиролidon-5-карбоксилна киселина) и $\{[\text{Ag}(\text{othf})]_2\}_n$ (Hothf = 5-оксо-тетрахидрофуранкарбоксилна киселина), показују широк спектар антифунгалне и антибактеријске активности [71]. Ови комплекси садрже лиганде који не показују антимикробну активност и могу се веома лако супституисати са неким од донорских атома из пептида и протеина и других биомолекула, који су присутни у организму. Комплекси $[\text{Ag}(2\text{-амино-3-метилпиридин})_2]\text{NO}_3$ и $[\text{Ag}(\text{пиридин-2-карбоксалдиоксим})\text{NO}_3]$ су синтетисани и окарактерисани, и испитивана је активност према 14 различитих клиничких изолата бактерија и гљива [72]. Антимикробне вредности су упоређиване са 17 најчешће

коришћених лекова, који се користе у медицинској пракси. Комплекси су показали изузетну активност према *Sarcina lutea*, *Micrococcus lutea*, *S. aureus* (0,6-17,9 $\mu\text{g/mL}$) и *C. albicans* (2,3 $\mu\text{g/mL}$). Салицилна киселина (Hsal) не инхибира раст и размножавање различитих сојева бактерија и гљива, док комплекси $[\text{Ag}(\text{Hsal})]_2$ и $[\text{Ag}(\text{NH}_3)(\text{Hsal})]_2$ имају, поред антимикуробне, и антитуморску активност [73]. Поред тога, ови комплекси узрокују конформационе промене у ДНК молекулу. Комплекси сребра(I) са аминокиселинама, као што су глицин, аланин, глутаминска и аспарагинска киселина, показују значајну активност према Грам-негативним бактеријама (*Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*), Грам-позитивним бактеријама (*Bacillus subtilis* и *Staphylococcus aureus*) и гљивама [71]. Такође, сребро(I) комплекси са 1,10-фенантролином, 1,10-фенантролином-5,6-дионом, имидазолом и кумаринима показују завидну антимикуробну активност [73-80]. Ови комплекси имају утицај на ћелијску респирацију и инхибирају синтезу цитохрома. Комплекси сребра(I) са *tris*(пиразолил)боратом показују бољу антимикуробну активност према Грам-позитивној бактерији *S. aureus* од сребро(I)-нитрата и сребро(I)-сулфадиазина [81], док $[\text{Ag}_4(9\text{-аса})_4(\text{NH}_3)_2]$ и $[\text{Ag}(9\text{-аса})_2]_n$ комплекси (9-асаН је 9-антраценкарбоксилна киселина) показују 30 пута већу активност према *Candida albicans* гљиви од кетоконазола, антифунгалног агенса, који се употребљава у медицини [82]. Комплекси сребра(I) са 9-антраценкарбоксилатом показују бољу активност према MRSA и *E. coli* од сребро(I)-сулфадиазина и завидну антитуморску активност према ћелијским линијама тумора јетре и плућа (HepG и A498) [82].

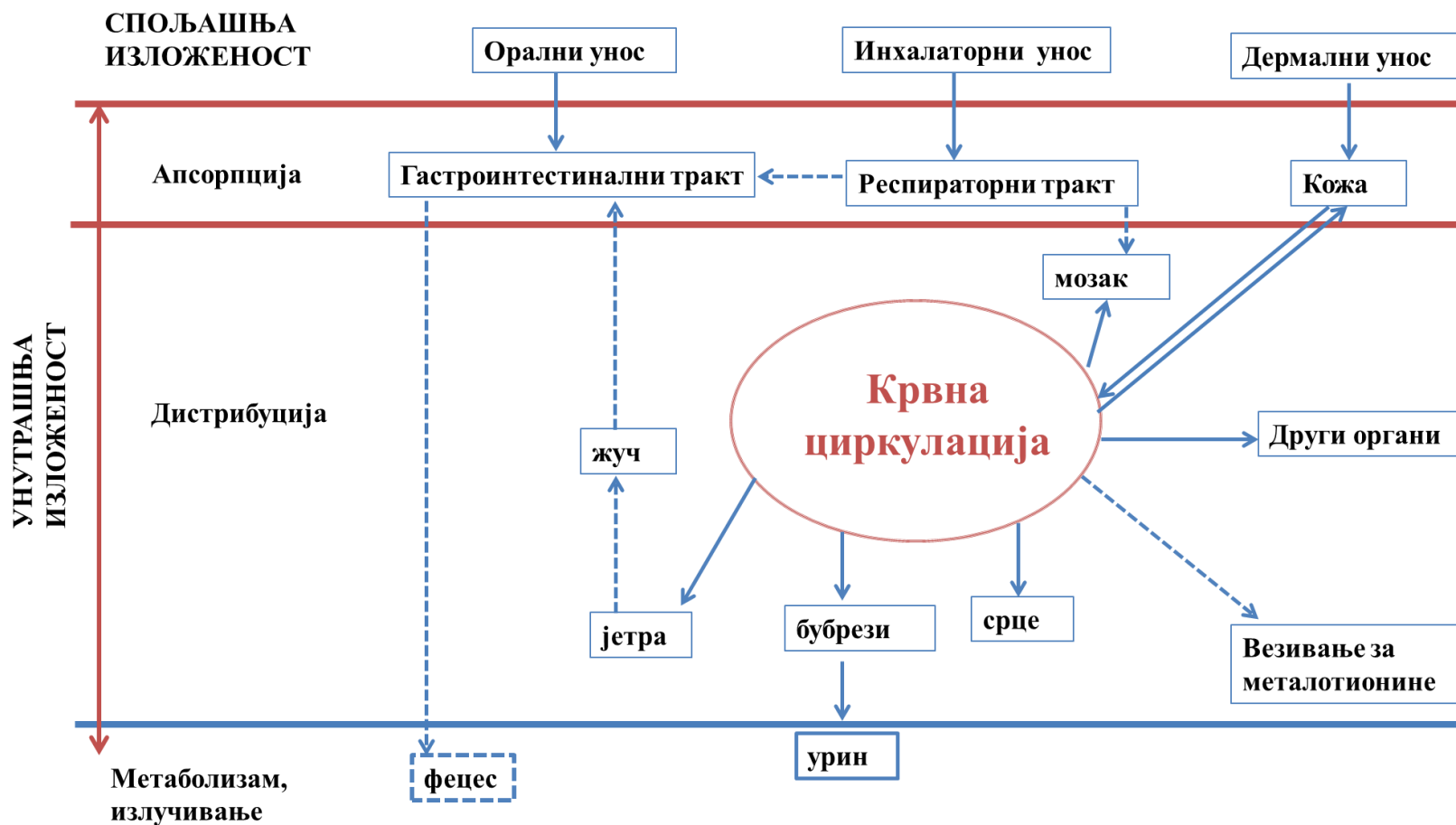
У односу на претходно наведене чињенице, комплекси сребра(I) са лигандима који садрже сумпор-донорски атом, као што су $[\text{Ag}(\text{Hmna})]_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (H_2mna = 2-меркаптотикотинска киселина), $\{\text{Na}[\text{Ag}(\text{Htma})]\}_n$ (H_3tma = тиомалинска киселина), $\{\text{Na}[\text{Ag}(\text{mba})]\}_n$ (H_2mba = 2-меркаптобензојева киселина) и $[\text{Ag}(\text{Hmba})]_n$, $\{\text{Na}[\text{Ag}(\text{Hmba})] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}\}_n$ показују значајну активност према бактеријама, али не и према гљивама [83]. Вредна помена је чињеница да се $\{\text{Na}[\text{Ag}(\text{mba})]\}_n$ комплекс, који је добро растворан у води, већ примењује у медицини као антибактеријски агенс.

1.5.1. Токсичност сребра и његових једињења

Токсичност метала зависи од облика у ком одређени метал доспева у организам, растворљивости његових једињења, афинитета везивања јона метала за биолошки активна места и способности организма да метал преведе у неактивни облик [84]. Што је растворљивост неког једињења већа, организам више апсорбује јон метала, а последица тог процеса је негативан ефекат на људски организам.

Максимална дозвољена концентрација изложености човека свим облицима сребра у САД је $0,01 \text{ mg/m}^3$, док у европским земљама није уједначена гранична вредност максималне концентрације. У Белгији, Финској, Француској и Шведској максимална дозвољена концентрација износи $0,1 \text{ mg/m}^3$ за колоидно сребро и $0,01 \text{ mg/m}^3$ за растворне соли сребра, док се у Аустрији, Данској, Немачкој и Норвешкој безопасним сматрају концентрације веће од $0,01 \text{ mg/m}^3$ за све облике сребра [85].

Елементарно сребро и његова једињења имају различите примене и у организам се могу унети на више начина. Сребро се најчешће уноси у организам кроз респираторни, гастроинтестинални тракт и кожу (Слика 12). Један од главних начина уношења једињења сребра у организам је удисањем пара, гасова, дима и честица које садрже сребро [56], посебно код особа које су професионално изложене сребру и његовим једињењима. Након тога, сребро се складишти у респираторном тракту и долази у директан контакт са ткивима, при чему узрокује оштећења ткива или путем крви долази до плућа. Сребро може доспети у организам кроз уста и дигестивни тракт након уношења хране, воде или лекова који садрже сребро (конзумирањем колоидног сребра). Нерастворна једињења сребра која су доспела у гастроинтестинални тракт (желуцу, танком и дебелом цреву) се излучују физиолошким путем. Растворна једињења сребра се из гастроинтестиналног тракта путем крви транспортују до унутрашњих органа. Такође, сребро се може апсорбовати кроз кожу, посебно када је она у директном контакту са растворима или кремама које садрже једињења сребра [56]. Сребро се може апсорбовати преко иглица коришћених током акупунктуре [86], из катетера [56], зубних пломби и других медицинских импланата и уређаја [56].



Слика 12. Апсорпција, дистрибуција, метаболизам и излучивање једињења сребра унетих у организам; слика је адаптирана из ревије S. Eckhardt *et al* [56]

Тело одрасле особе обично садржи 29 $\mu\text{g}/\text{kg}$ сребра [56]. Дневни унос сребра је 20 – 80 μg по дану, од чега се 10 – 20% апсорбује кроз гастроинтестинални тракт, углавном дуоденум и танко црево. Већина људи је свакодневно изложена веома ниским концентрацијама сребра, углавном из хране, воде за пиће и ваздуха ($1 \cdot 10^{-6}$ $\mu\text{g}/\text{L}$). Просечна концентрација сребра у површинској води језера и река је 0,2 – 2 ppb (0,2 – 2 $\mu\text{g}/\text{L}$), док у земљишту износи 200 – 300 ppb (200 – 300 $\mu\text{g}/\text{L}$). Након прекомерног излагања сребру, долази до његове акумулације у органима и ткивима као што су јетра, кожа, бубрези, слезина, срце, плућа, рожњача, мозак, мишићи и тестиси. Акумулација сребра доводи до појаве аргирије, леукопеније и оштећења јетре, бубрега и промена у крвним ћелијама [56]. Иако су неуротоксични ефекти сребра ретки, нађено је да сребро може изазвати оштећење мозга, епилептичке нападе и трајно вегетативно стање, па чак и смрт животиња када су на њима испитивања рађена у *in vivo* условима [56]. До сада није доказана токсичност ниједног облика сребра на имунолошки, кардиоваскуларни и репродуктивни систем [87]. Такође, овај метал се не сматра карциногеним [88].

Најчешћи симптом који се јавља код људи, као последица дуготрајне инхалације или оралног узимања једињења сребра или колоидног сребра, је карактеристична плавосива обојеност коже, која је више истакнута на деловима тела који су изложенији сунцу (Слика 13). Под аргиријом се подразумева обојеност коже, док је аргироза обојеност очију [89,90]. Када је количина уноса растворне соли сребра у опсегу од $(1,4 - 40) \cdot 10^4$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ може се јавити аргирија [56]. Процес пигментације коже је иреверзибилан и за сада не постоји ниједан начин лечења. Већина лекара и научника сматрају да је видљива промена боје коже најозбиљнији здравствени проблем који може изазвати сребро [56]. Људи који имају аргирију су здраве и функционалне особе, с том разликом да имају плавосивкасту или црну кожу (у зависности од степена интоксикације сребром или његовим једињењима).

Сребро у организму ствара нерастворне комплексе с протеинима, ДНК и РНК, везујући се за сулфхидрилну, аминок, карбоксилну, фосфатну или имидазол групу [87,91,92]. Под утицајем светлости као катализатора, долази до фоторедукције насталих једињења и стварања колоидног сребра, које се потом у ткиву оксидује до сребра(I) [92]. Сребро се обично акумулира у облику сулфида, селенида или колоидног сребра у близини фоликула длаке или знојних жлезди [93]. Претпоставља

се да акумулирано сребро узрокује повећану концентрацију мелатонина, при чему комбинација сребра и мелатонина узрокује плавкасти тен коже.

Најпознатији пацијент који је патио од аргирије био је Пол Карасон (Paul Karason), познат под надимком Велики Штрумпф (Слика 13 а). Покушавајући да излечи проблеме са синусима, Пол Карасон је направио лек на бази сребра, од којег му је кожа трајно поплавила. Американка Роузмери Џејкобс (Rosemary Jacobs, Слика 13(б)) већ 60 година живи са аргиријом коју је добила са 11 година, примењујући капи за нос са колоидним сребром.



(а)

(б)

Слика 13. (а) Пол Карасон, пацијент који је патио од аргирије коју је добио применом препарата на бази сребра за лечење синуса и (б) Роузмери Џејкобс која је добила аргирију примењујући капи за нос са колоидним сребром; слике су преузете из референце [93]

1.6. Биолошка активност комплекса злата(III)

Злато не спада у групу есенцијалних метала, иако се налази у 11. групи Периодног система елемената заједно са багром, металом који је неопходан већини живих организама. Комплекси злата(III) показују активност према различитим ћелијским линијама тумора, различитим сојевима бактеријама и гљива, као и паразитима који су узрочници тропских болести [94], док се комплекси злата(I) примењују у медицини за лечење реуматоидног артритиса [41,42].

1.6.1. Антитуморска активност комплекса злата(III)

Примена комплекса метала у лечењу туморских обољења је започела након открића антитуморских особина цисплатине, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] [95]. У свим земљама, цисплатина се примењује као хемотерапеутски агенс у лечењу тумора главе, врата, плућа, тестиса, грлића материце и јајника. Ипак, примена цисплатине је ограничена због њеног токсичног деловања (нефротоксичност, неуротоксичност, ототоксичност, мучнина, повраћање, опадање косе, мијелосупресија и имуносупресија) и појаве резистенције. Имајући у виду наведене чињенице, истраживања у области медицинске неорганске хемије су усмерена ка синтези и испитивању механизма деловања нових комплекса метала као антитуморских агенаса, који ће превазићи недостатке цисплатине. Између осталих, посебну пажњу привлаче комплекси злата(III), јер су Au(III) и Pt(II) изоелектронски јони (*d*⁸ електронска конфигурација). Ови јони граде комплексе квадратно-планарне геометрије, па је због тога очекивано да ће комплекси злата(III) имати сличну активност као и комплекси платине(II) [96-98]. У поређењу са комплексима платине(II), комплекси злата(III) нису стабилни при физиолошким условима (pH = 7,40; 37 °C), имају ограничену растворљивост, недовољну фотостабилност и лако подлежу хидролизи [99]. Поред тога, због високе вредности стандардног редокс потенцијала, злато(III) јон се лако редукује до елементарног злата у физиолошким условима.

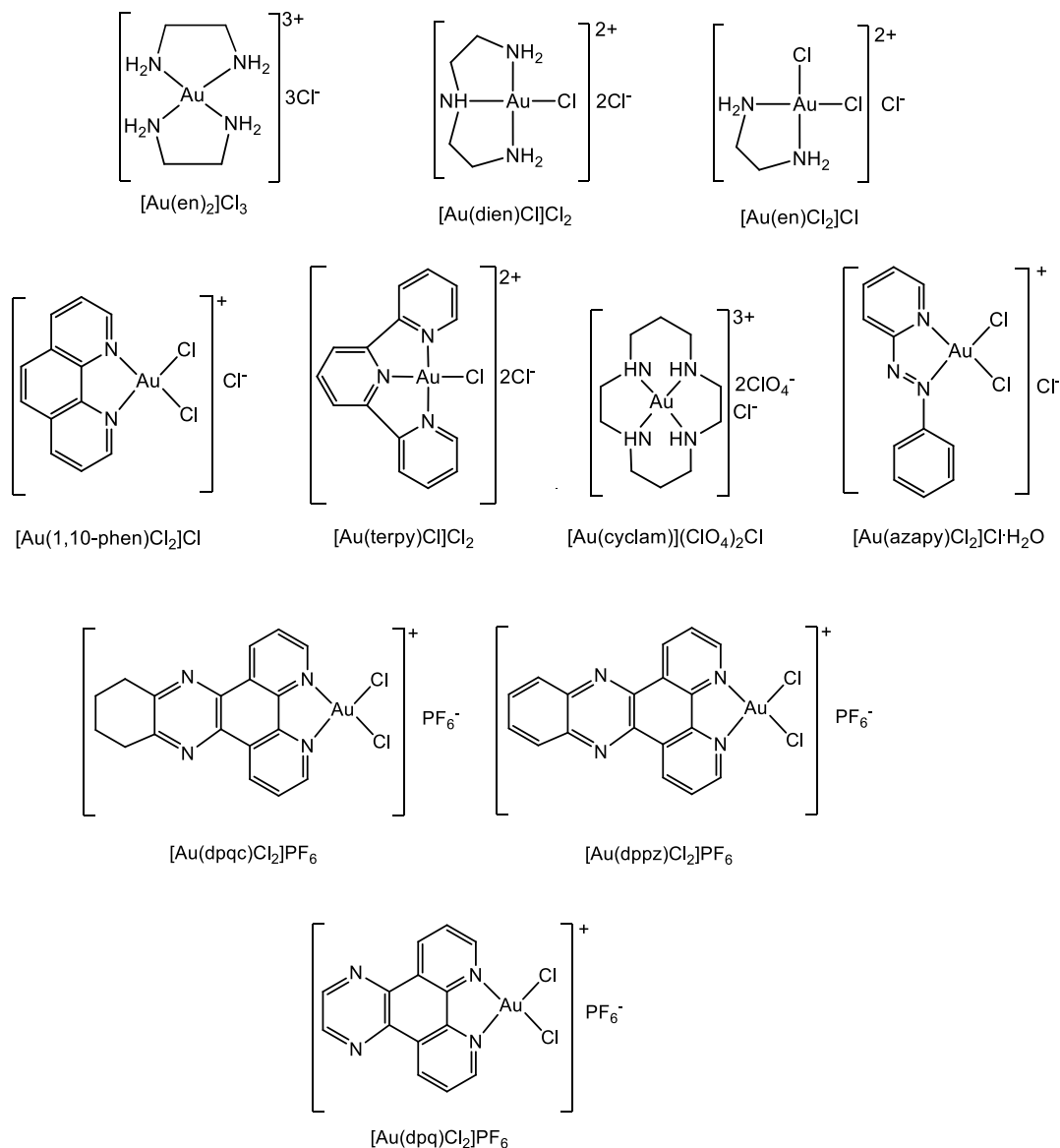
Да би се повећала стабилност комплекса злата(III), користе се различити полидентатни лиганди као што су полиамини, терпиридили, фенантролини, деривати фенилпиридина, бипиридина и порфирина, пептиди и дитиокарбамати [95]. Многи комплекси злата(III) су показали значајну цитотоксичност у *in vitro* условима, док је само неколико комплекса антитуморски активно *in vivo* [100]. Антитуморска активност злато(III) комплекса се приписује присуству Au(III) јона, јер лиганди који су употребљени за синтезу комплекса, у већини случајева, нису активни.

Комплекси [Au(en)₂]Cl₃ (en је бидентатно координовани етилендиамин), и [Au(dien)Cl]Cl₂ (dien је тридентатно координовани диетилентриамин) (Слика 14) показују сличну цитотоксичност према A2780/S (сензитивна на цисплатину) и A2780/R (резистентна на цисплатину) ћелијским линијама карцинома јајника [101]. Ови комплекси су изузетно стабилни при физиолошким условима и није запажена активност лиганда, због чега се може закључити да је злато(III) јон одговоран за

активност комплекса. У односу на ове комплексе, $[\text{Au}(\text{terpy})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ и $[\text{Au}(1,10\text{-phen})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ комплекси (*terpy* је тридентатно координован терпиридин, *1,10-phen* је бидентатно координован 1,10-фенантролин, Слика 14) показују већу антитуморску активност на истим ћелијским линијама тумора [95]. Ово се може објаснити чињеницом да су и сами лиганди, *terpy* и *1,10-phen*, цитотоксични. Сви напред наведени комплекси су стабилни при физиолошким условима, али се, у присуству аскорбата или тиосулфата, редукују [95]. Насупрот овим комплексима злата(III), $[\text{Au}(\text{cyclam})](\text{ClO}_4)_2\text{Cl}$, (*cyclam* је 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан), услед велике стабилизације $\text{Au}(\text{III})$ јона, не показује значајну антитуморску активност [101]. *Au-azaru* комплекс, у коме је $\text{Au}(\text{III})$ јон координован за бидентатни *azaru* лиганд (*azaru* је 2-(фенилазо)пиридин), показује значајну активност према A2780/S и A2780/R туморским ћелијским линијама, као и ћелијским линијама леукемије [102]. Структурне формуле неких антитуморски активних комплекса злата(III) са азот-донорским лигандима су приказане на слици 14.

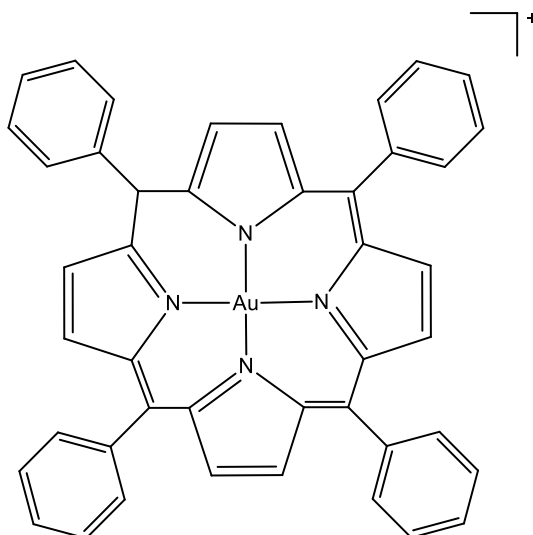
Антитуморску активност су, такође, показали квадратно-планарни комплекси злата(III) који садрже полипиридил лиганде, дипиридо[3,2-*f*:2',3'-*h*]хиноксалин (*dpq*), 2,5-bis(2-пиридил)пиразин (*dpz*) и дипиридо[3,2-*a*:2',3'-*c*](6,7,8,9-тетрахидро)феназин (*dpqs*), при чему су IC_{50} вредности одређене за ове комплексе на A2780 ћелијској линији сличне одговарајућој вредности за цисплатину (Слика 14) [99].

Комплекс злата(III) са порфирином је изузетно стабилан и добро растворан при физиолошким условима, при чему не долази до редукције $\text{Au}(\text{III})$ јона у присуству аскорбинске киселине и глутатиона (Слика 15) [95,103]. Злато(III) комплекси са овим типом лиганда показују значајну *in vitro* антипролиферативну активност, при чему су активнији од цисплатине. Поред тога, ови комплекси су показали изузетну активност према HIV-у (енг. "human immunodeficiency virus, HIV").

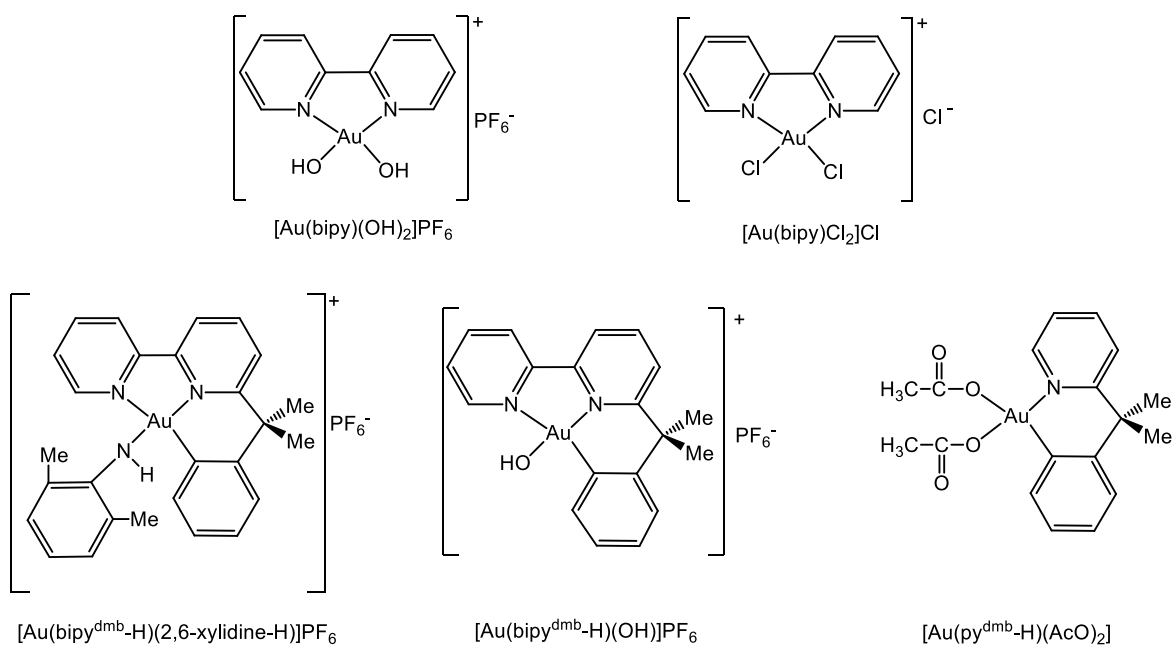


Слика 14. Структурне формуле комплекса злата(III) са неким азот-донорским лигандима који показују значајну цитотоксичност [95,99,101,102]

Активност према различитим ћелијским линијама су показали и многи мононуклеарни и динуклеарни комплекси злата(III), који садрже координовани 2,2'-бипиридин (bipy) или његове деривате [95,103-105]. Ови комплекси су изузетно стабилни при физиолошким условима. Структурне формуле антитуморски активних мононуклеарних комплекса злата(III) са дериватима 2,2'-бипиридина су приказане на слици 16.



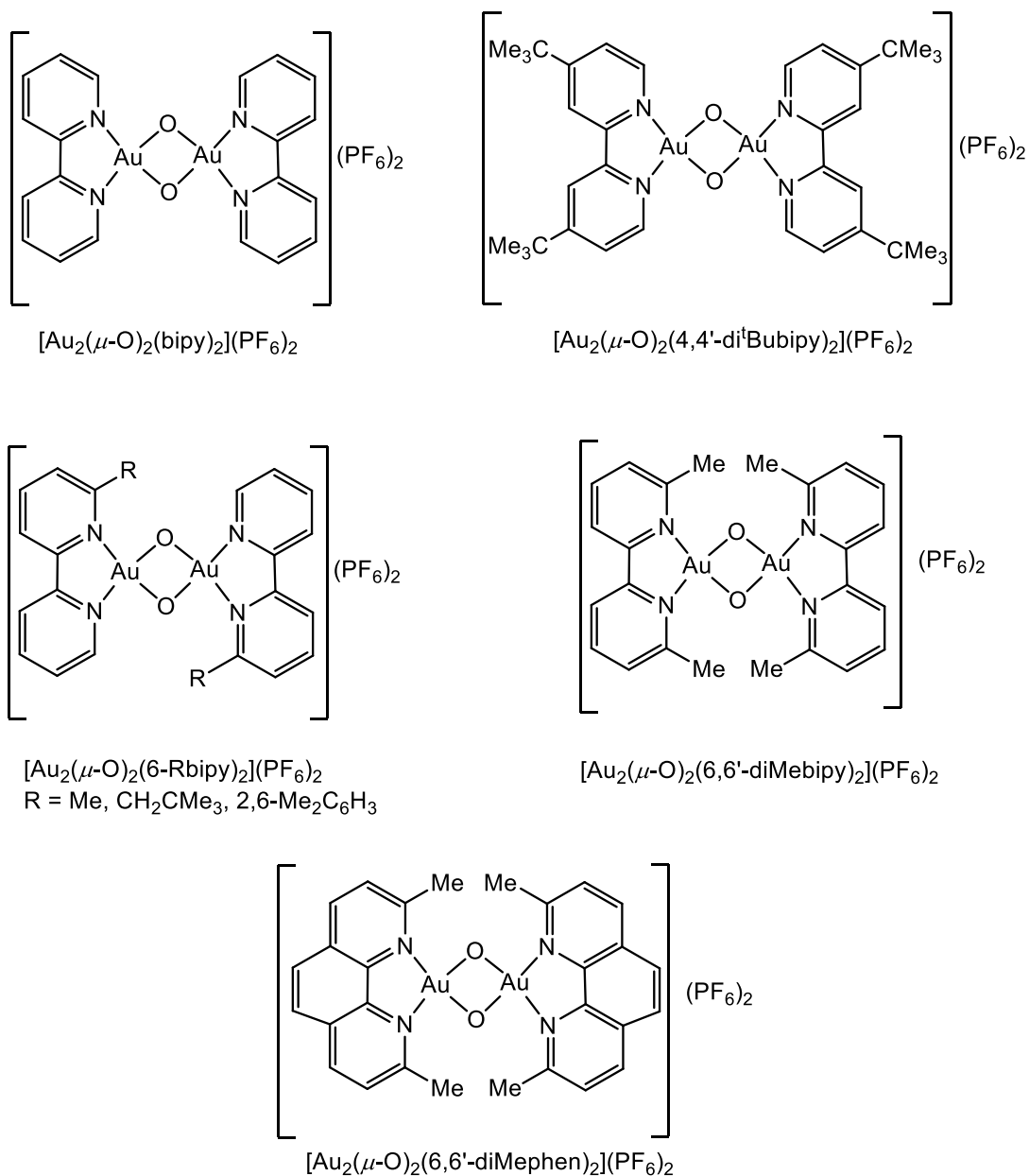
Слика 15. Структурна формула комплекса злата(III) са порфирином [95,103]



Слика 16. Структурне формуле антитуморски активних комплекса злата(III) са дериватима 2,2'-бипиридина [95,103,104]

Структурне формуле антитуморски активних динуклеарних комплекса злата(III) опште формуле $[Au_2(\mu-O)_2(L-N,N')_2][PF_6]_2$ ($L = 2,2'$ -бипиридин или његов дериват) приказане су на слици 17 [105-107]. Ови комплекси садрже $Au_2O_2^{2+}$ структурну јединицу у којој су два $Au(III)$ јона двоструко повезана са мостним

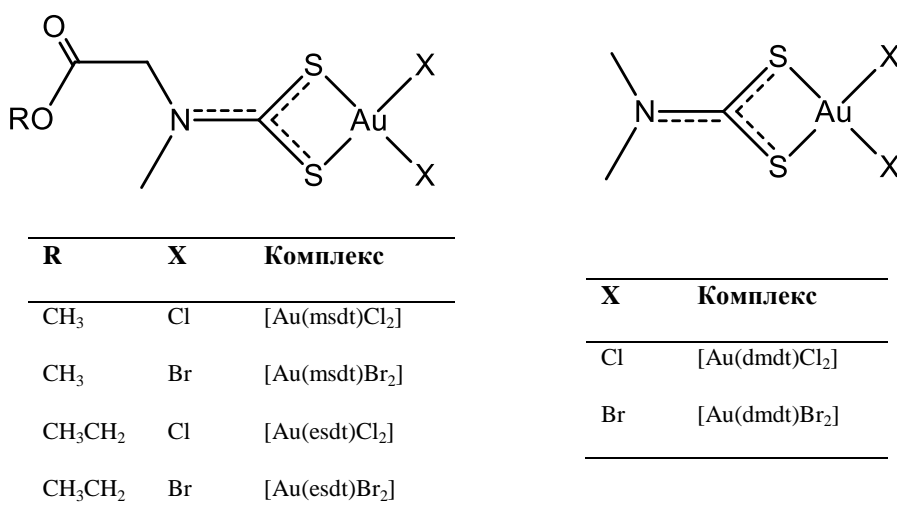
кисеоничним лигандом. Комплекси $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(\text{L-N,N}')_2](\text{PF}_6)_2$ и $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(6,6\text{-diMephen})_2](\text{PF}_6)_2$ имају највећу антипролиферативну активност. Ови комплекси су добро растворни у води и имају могућност да реагују са ДНК молекулом, много брже него са протеинима [95].



Слика 17. Структурне формуле неких антитуморски активних динуклеарних комплекса злата(III) [103]

Комплекси опште формуле $[\text{Au}(\text{dte})\text{X}_2]$, где је $\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- и dte дитиокарбамато лиганди (Слика 18) су стабилни при физиолошким условима и

показују значајну антитуморску активност и мању нефротоксичност на основу резултата *in vitro* и *in vivo* испитивања активности у поређењу са цисплатином [108,109]. Ови комплекси реагују са ДНК и тиоредоксин редуктазом, инхибирају синтезу нуклеинских киселина, доводе до лезије ДНК и показују хемолитичку активност [95]. Комплекси $[\text{Au}(\text{dmdt})\text{X}_2]$ и $[\text{Au}(\text{esdt})\text{X}_2]$ (dmdt је *N,N*-диметилдитиокарбамат и esdt је етилсаркозиндитиокарбамат) су показали већу антитуморску активност и мању нефротоксичност у *in vitro* условима од цисплатине [110]. Из ове серије једињења, посебно се издваја $[\text{Au}(\text{dmdt})\text{Br}_2]$ комплекс, који значајно инхибира раст MDA-MB-231 ксенографтова рака дојке код мишева [110].



Слика 18. Структурне формуле неких антитуморски активних комплекса злата(III) са дитиокарбаматима [108-110]

У табели 3 су приказане IC₅₀ вредности (μM), које су одређене након 72 сата деловања различитих комплекса злата(III) на ћелије карцинома јајника код жена (сензитивна (A2780/S) и резистентна (A2780/R) ћелијска линија на цисплатину) [105].

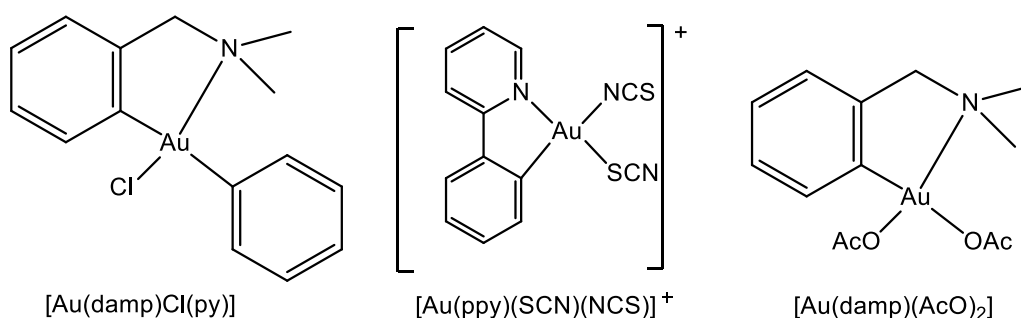
Табела 3. IC₅₀ вредности (μМ) неких комплекса злата(III) у односу на цисплатину, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], као референтни комплекс

Комплекс	A2780/S	A2780/R	Реф.
<i>cis</i> -[PtCl ₂ (NH ₃) ₂]	1,22±0,43	14,16±2,72	[101]
[Au(en) ₂]Cl ₃	8,36±0,77	17,0±4,24	[101]
[Au(dien)Cl]Cl ₂	8,2±0,93	18,7±2,16	[101]
[Au(cyclam)](ClO ₄) ₂ Cl	99,0	>120,0	[101]
[Au(terpy)Cl]Cl ₂	0,2	0,37±0,032	[101]
[Au(1,10-phen)Cl ₂]Cl	3,8±1,1	3,49±0,91	[101]
[Au(Gly-L-His-N,N',N'')Cl]Cl·3H ₂ O	5,2±1,63	8,5±2,3	[111]
[Au(bipy ^{dmb} -H)(OH)]PF ₆	3,3±1,4	8,2±1,5	[104]
[Au(bipy)(OH) ₂]PF ₆	8,8±3,9	24,1±8,7	[104]
[Au(bipy ^{dmb} -H)(2,6-xylylidine-H)]PF ₆	2,50±0,43	5,7±0,3	[112]
[Au(py ^{dmb} -H)(AcO) ₂]	2,90±0,34	6,40±1,0	[112]
[Au ₂ (μ-O) ₂ (bipy) ₂](PF ₆) ₂	22,8±1,53	23,3±0,35	[108]
[Au ₂ (μ-O) ₂ (4,4'-di ^t Bubipy) ₂](PF ₆) ₂	12,1±1,5	13,5±1,8	[108]
[Au ₂ (μ-O) ₂ (6-Mebipy) ₂](PF ₆) ₂	25,4±2,47	29,8±3,1	[108]
[Au ₂ (μ-O) ₂ (6-CH ₂ Me ₃ bipy) ₂](PF ₆) ₂	12,7±1,06	19,8±1,8	[108]
[Au ₂ (μ-O) ₂ (6-(2,6-Me ₂ C ₆ H ₃)bipy) ₂](PF ₆) ₂	11,0±1,5	13,2±1,2	[108]
[Au ₂ (μ-O) ₂ (6,6'-diMebipy) ₂](PF ₆) ₂	1,79±0,17	4,81±0,5	[108]

en = етилендиамин; dien = диетилентриамин; cyclam = 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан; terpy = 2,2':6',2''-терпиридин; 1,10-phen = 1,10-фенантролин; Gly-L-His = глицил-L-хистидин; bipy = 2,2'-бипиридин; bipy^{dmb} = 6-(1,1-диметилбензил)-2,2'-бипиридин; 2,6-xylylidine = 2,6-диметиланилин; py^{dmb} = 2-(1,1-диметилбензил)-пиридин; 4,4'-di^tBubipy = 4,4'-дитерцбутил-2,2'-бипиридин; 6-Mebipy = 6-метил-2,2'-бипиридин; 6-CH₂Me₃bipy = 6-неопентил-2,2'-бипиридин; 6-(2,6-Me₂C₆H₃)bipy = 6-(2,6-диметилфенил)-2,2'-бипиридин; 6,6'-diMebipy = 6,6'-диметил-2,2'-бипиридин

Серија органометалних комплекса злата(III) са 2-пиридилфенилом (ppy) је синтетисана 2000. године [113]. Комплекс [Au(ppy)Cl₂] је структурно сличан

цисплатини и има малу растворљивост у води. Да би се повећала растворљивост, синтетисани су комплекси који садрже карбоксилато уместо хлоридо лиганата. Добијени комплекси су тестирани *in vitro* према MOLT-4 (ћелијска линија леукемије) и према C2C12 (ћелијска линија тумора код мишева) [113]. На слици 19 је приказана структурна формула $[\text{Au}(\text{ppy})(\text{SCN})(\text{NCS})]^+$ комплекса, који је активнији од цисплатине, као и комплекса са damp лигандом (damp је 2-(диметиламинометил)фенил), који показују сличну активност као и цисплатина [95].



Слика 19. Структурне формуле неких органометалних комплекса злата(III) који показују активност према различитим ћелијским линијама тумора [111]

1.6.2. Антипаразитска активност комплекса злата(III)

Осим антитуморске, комплекси злата(III) показују и антипаразитску активност према паразитима који изазивају маларију, лајшманиозу и Шагасову (*Chagas*) болест [114].

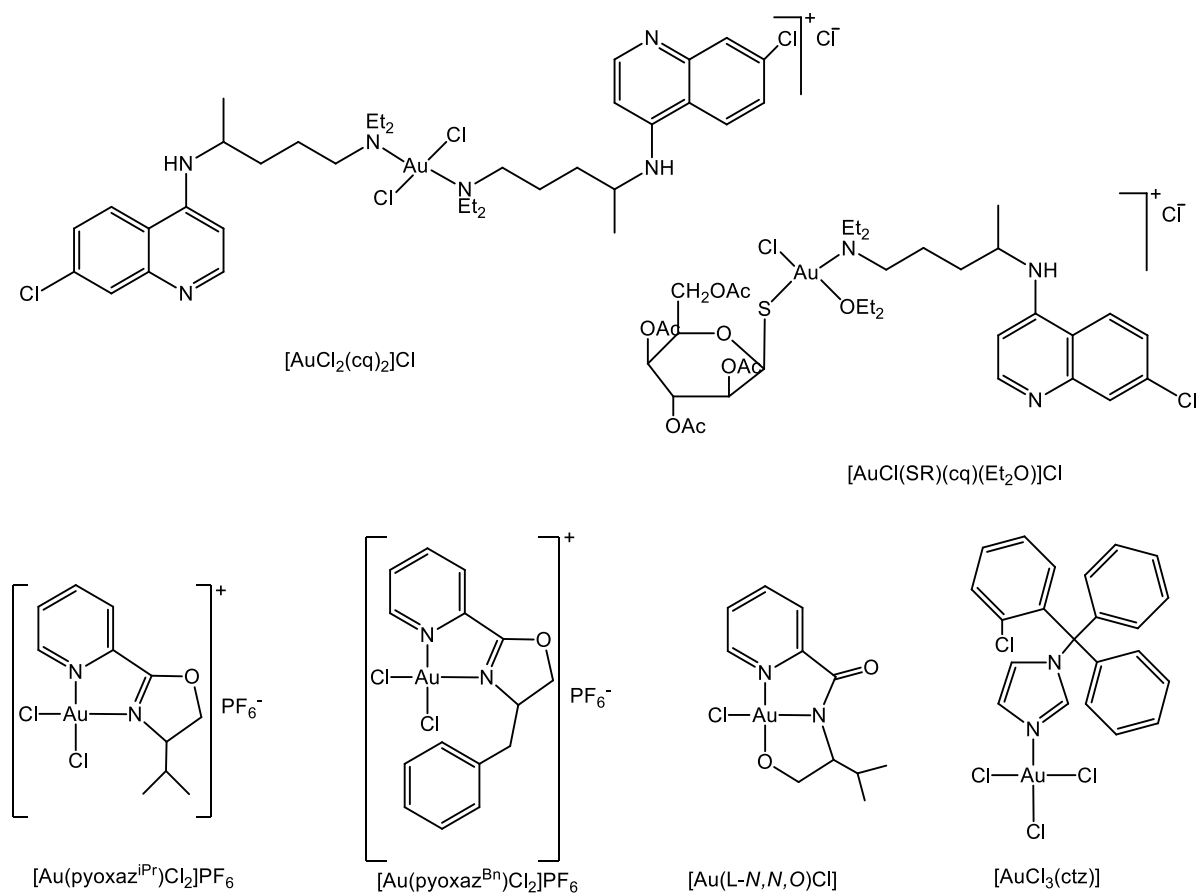
Маларија је инфективна болест коју узрокује паразит из рода *Plasmodium* и највећи је узрочник смртности у тропским земљама [115]. Постоји пет паразита који узрокују маларију (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*), при чему најозбиљнији облик болести узрокује *P. falciparum*. Неколико органских једињења се успешно користе у лечењу ове болести, као што су кинин и хлорокин, примакин и амодиакин. Хлорокин представља најчешће коришћени агенс у лечењу маларије. Међутим, *Plasmodium* паразит, након одређеног времена, развија резистентност према овом агенсу. Имајући ту чињеницу у виду, синтетисани су комплекси злата(III) са хлорокином (cq), $[\text{AuCl}_2(\text{cq})_2]\text{Cl}$ и $[\text{AuCl}(\text{SR})(\text{cq})(\text{Et}_2\text{O})]\text{Cl}$ (RS- је 1-тио- β -D-глукоза-2,3,4,6-тетраацетат) (Слика 20), који су активнији од хлорокин-дифосфата

према К1 врсти (хлорокин, пириметамин и сулфадоксин резистентни сој) *Plasmodium falciparum* паразита [94]. Такође, синтетисани су и други комплекси злата(III) са амодијакином и примакином, али нису показали значајну антипаразитску активност [94].

Злато(III) комплекси са 2,2'-бипиридином као лигандом, такође, показују антималяријску активност ($[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)_2$, $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(6,6'\text{-diMebipy})_2](\text{PF}_6)_2$, $[\text{Au}_2(\mu\text{-O})_2(6\text{-Rbipy})_2](\text{PF}_6)_2$ и $\text{R} = \text{Me}$, CH_2CMe_3 или $2,6\text{-Me}_2\text{C}_6\text{H}_3$), при чему инхибирају 3D7 врсту *Plasmodium falciparum* паразита са IC_{50} вредностима 2,3-12,2 μM [94]. Комплекси $[\text{Au}(\text{pyoxaz}^{\text{iPr}})\text{Cl}_2](\text{PF}_6)$ ($\text{pyoxaz}^{\text{iPr}}$ је 4-изопропил-2-(пиридин-2-ил)-4,5-дихидрооксазол), $[\text{Au}(\text{pyoxaz}^{\text{Bn}})\text{Cl}_2](\text{PF}_6)$ ($\text{pyoxaz}^{\text{Bn}}$ је 4-бензил-2-(пиридин-2-ил)-4,5-дихидрооксазол) и $[\text{Au}(\text{L-N,N,O})\text{Cl}]$ (L је *N*-(1-хидрокси-3-изопропил-2-ил)пиридин-2-карбоксиамид) (Слика 20) су инхибитори *P. falciparum* паразита, при чему су IC_{50} вредности у опсегу 1,33–5,11 μM .

Лајшманиоза је болест коју узрокује паразит из рода *Leishmania*. Комплекс $[\text{Au}(\text{dppz})_2]\text{Cl}_3$, који садржи ДНК интеркалирајући агенс dppz, где је dppz 2,5-bis(2-пиридил)пиразин, показује знатно већу активност према паразиту *Leishmania mexicana*, од комплекса Cu(II) и Ag(I) са истим лигандом [94,116]. MIC вредност за овај комплекс је 3,4 nM, док је летална доза (LD_{26}) 17 nM. Антипаразитска активност овог комплекса је приписана његовој способности да интеркалира ДНК *L. mexicana* паразита [94].

Трипанзومیјаза је паразитска болест узрокована врстом *Trypanosoma*. Постоје две врсте ове болести, Афричка и Америчка трипанзومیјаза. Афричка тропазومیјаза је позната као болест спавања, коју изазива паразит *T. brucei*, а преноси се уједом “цеце” муве, док је Америчка трипанзومیјаза позната као Шагасова болест. На слици 20 је приказана структурна формула комплекса злата(III) са клотримазолом, узрочнику Шагасове болести, од самог клотримазола [117]. На слици 20 је приказана структурна формула комплекса злата(III) са клотримазолом, $[\text{AuCl}_3(\text{ctz})]$, који је незнатно активнији према паразиту *Trypanosoma cruzi*, узрочнику Шагасове болести, од самог клотримазола [117].



Слика 20. Структурне формуле неких антипаразитски активних комплекса злата(III) [94]

1.6.3. Антибактеријска и антифунгална и активност комплекса злата(III)

Органометални злато(III) комплекси опште формуле $[\text{AuX}_2(\text{L})]$, L је бифункционални лиганд који са злато(III) јоном формира Au–C и Au–N везе, X су два монодентатна или један бидентатни ањонски лиганд, показали су антифунгалну и антибактеријску активност [94]. Комплекси $[\text{Au}(\text{damp})\text{Cl}_2]$ (damp је 2-(диметиламинометил)фенил), $[\text{Au}(\text{ppy})\text{Cl}_2]$ (ppy је 2-пиридилфенил) и $[\text{Au}(\text{damp})(\text{AcO})_2]$ показују значајну активност према различитим сојевима бактерија, као што су *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* [94].

1.7. Механизам деловања комплекса сребра(I)

Пресудан утицај на активност комплекса сребра(I) има врста донорског атома лиганда који је координованоан за сребро(I) јон (N, S, O, P) и брзина супституције лиганда неким од биомолекула из ћелије. Антимикробно дејство испољава сребро(I) јон, док лиганди координовани за овај јон имају улогу носача. Што је дифузија сребро(I) јона у ћелијски простор бржа, то је већа могућност да пре дође до његовог везивања за активно место у ћелији.

Механизам антимикробног деловања сребро(I) јона и антибиотика је потпуно различит. Антибиотици нападају бактеријску ћелију увек на истом и специфичном месту, па се због тога може јавити резистентност њиховог деловања [68]. С друге стране, предложено је неколико механизма атимикробног деловања сребро(I) комплекса (Слика 21). Када дођу до ћелијског зида, јони сребра(I) га оштећују, пролазе кроз њега и долазе до ћелијске мембране. На фосфолипидном делу ћелијске мембране, ови јони се могу везивати за протеине који садрже сумпор (цитохроме), аминок, имидазол, фосфатне и карбоксилне групе [68]. Услед тога, долази до промене у пермеабилности саме мембране, ометања мембранског транспорта и заустављања механизма ћелијске пумпе, који је неопходан за одржавање притиска и јонске равнотеже. Последица тих процеса је истицање цитоплазме и смрт бактеријске ћелије [56]. Друга претпоставка је да јони сребра(I) улазе у бактеријску ћелију омогућавајући и другим молекулима да продру у њу [118-120]. Унутар ћелије, јони сребра(I) могу реаговати са различитим биомолекулима. Постоји могућност везивања за протеине, ензиме или нуклеинске киселине, при чему долази до денатурације протеина, инхибиције активности ензима и немогућности репликације нуклеинских киселина. Резултат свих ових процеса је смрт бактеријске ћелије. Сдруге стране, јони сребра(I) могу да ометају ћелијску респирацију, онемогућавајући синтезу аденозин-трифосфата (АТФ) [118-120]. Поред тога, јони сребра(I) могу генерисати реактивне кисеоничне врсте (ROS) у унутрашњости ћелије [61].

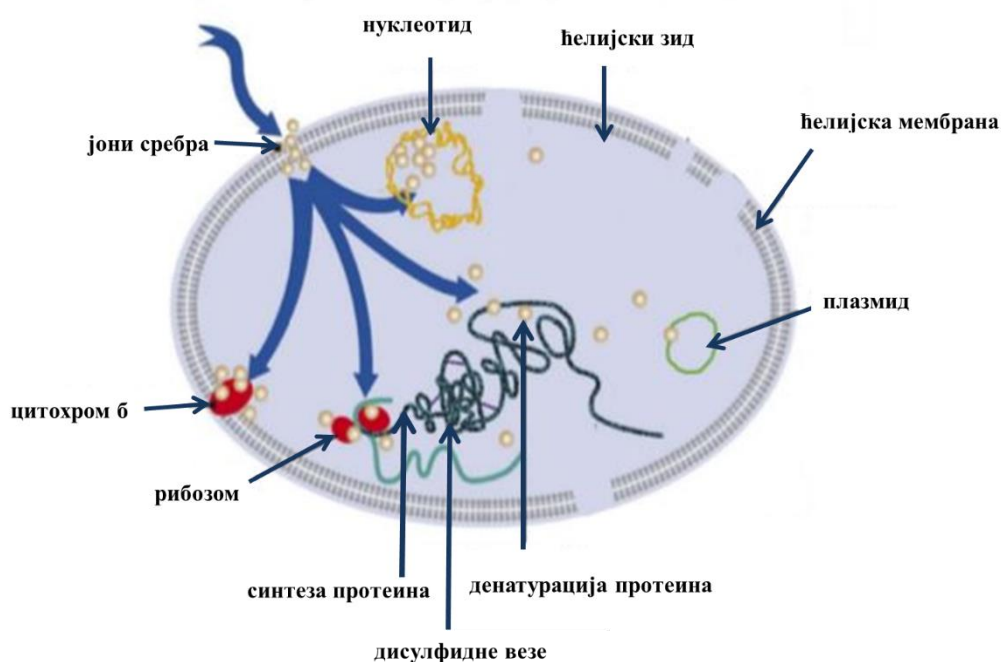
На основу структуре ћелијског зида, бактерије су класификоване у две групе, Грам-позитивне и Грам-негативне бактерије. Код Грам-позитивних бактерија, ћелијски зид је изграђен од слоја пептидогликана дебљине 15-80 nm. Додатној стабилности ћелијског зида ове групе бактерија, доприноси теихоинска киселина, која се налази на његовој површини. С друге стране, ћелијски зид Грам-негативних

бактерија је знатно тањи (2 nm). Ове бактерије садрже додатну спољашњу мембрану, која је изграђена од фосфолипида и липосахарида око пептидогликанског слоја [56], услед чега оне не пропуштају лако у ћелију антибиотике велике молекулске масе (ванкомицин). Међутим, када се сребро(I) јони вежу за протеине у ћелијској мембрани, повећава се њена пропустљивост, омогућавајући продирање молекула веће молекулске масе у бактеријску ћелију [121]. То би се могло искористити за повећавање активности антибиотика који се примењују, али се мора истражити количина сребра коју треба додати, а да није токсична за људски организам [121].

Разлика између еукариотских и бактеријских ћелија је у томе што су еукариотске ћелије много мање осетљиве од бактеријских на исту количину сребро(I) јона. Код еукариота, енергија која је потребна за одвијање животних процеса се ослобађа у унутрашњости ћелије, док се код бактерија, ослобађа у ћелијској мембрани [122]. Коришћењем ТЕМ микроскопије (*transmission electron microscopy*), може се испитати утицај сребро(I) јона на ћелијски зид, јер се, на тај начин, могу уочити морфолошке промене на ћелијском зиду [56]. Фенг (*Feng*) је испитивао инхибицију *S. aureus* и *E. coli* бактерија јонима сребра(I), при чему је применом ТЕМ и X-гау анализе пратио морфолошке промене у ћелији након деловања сребро(I) јона [123]. У случају *E. coli* су уочене значајне промене, као што су празнина између ћелијске мембране и ћелијског зида и присуство гранула велике електронске густине које садрже сребро(I) око ћелијског зида. То указује да јони сребра(I), након уласка у бактеријску ћелију, могу реаговати са ћелијским компонентама мембране које садрже сумпор. У случају *S. aureus*, ћелијска мембрана је одвојена од ћелијског зида. Поред тога, *S. aureus* је Грам-позитивна бактерија са ћелијским зидом знатно веће дебљине у односу на *E. coli*, који штити ћелију од проласка сребро(I) јона у цитоплазму [123]. Код обе врсте бактерија могу се уочити кондензовани ДНК молекули, што је доказ интеракције јона сребра(I) са ДНК. Наиме, када је ДНК у кондензованој форми, овај молекул губи могућност репликације, при чему долази до ћелијске смрти. На основу FTIR спектроскопије и капиларне гел електрофорезе, закључено је да се сребро(I) јон координује за N7 атом гуанина и/или аденина, при чему не долази до већих конформационих промена у молекулу ДНК [124].

Сребро(I) јон може да инхибира бројне оксидативне ензиме, као што је алкохол-дехидрогеназа [60]. Директан утицај јона сребра(I) на респираторни низ је

открио Браг (*Bragg*) 1974. године [56]. Нађено је да се јони сребра(I) везују за цистеин (иако овај јон има већи афинитет за координацију са другим аминокиселинама, као што су хистидин и аргинин) [56] и да утичу на раскидање Fe–S везе код гвожђе-сумпор протеина, који представљају коензим укључен у процес оксидативне фосфорилације [56]. Присуство јона сребра(I) у ћелији у микроларним концентрацијама поспешује пролазак протона кроз ћелијску мембрану, онемогућавајући на тај начин синтезу АТФ молекула. Везивање јона сребра(I) за никотинамид-аденин динуклеотид (NADH) дехидрогеназу за последицу има формирање реактивних врста кисеоника.

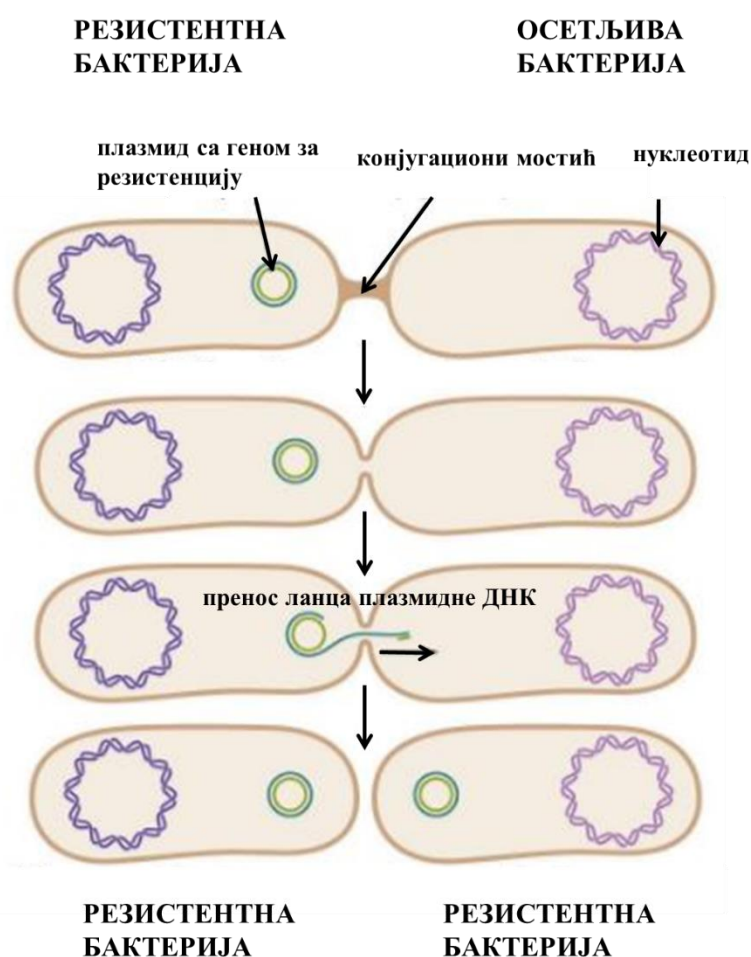


Слика 21. Механизам антимикуробног деловања сребро(I) јона; слика је адаптирана из референци [118,125]

1.8.1. Резистентност деловања комплекса сребра(I)

Плазмиди су мали дволанчани ДНК молекули, који имају могућност репликације независно од бактеријског хромозома (нуклеоида). Везивање сребро(I) јона за ДНК плазмид је од велике важности јер плазмидна ДНК носи ген за резистенцију на антибиотике. Плазмидни генетски материјал се може процесом конјугације пренети из једне у другу бактеријску ћелију не само истог соја, већ и

различитог бактеријског соја (Слика 22), па бактерије могу врло брзо постати резистентне на антибиотик [126]. Наиме, између две бактеријске ћелије, донорске (која садржи плазмид с геном за резистенцију) и акцепторске (која не садржи плазмид с геном за резистенцију, осетљива бактерија) формира се конјугациони мост. Преко тог моста, један ланац плазмидне ДНК прелази из донорске у акцепторску бактеријску ћелију, а други ланац плазмидне ДНК остаје у донорској ћелији. Код донорске и акцепторске бактеријске ћелије долази до синтезе комплементарног ДНК ланца, након чега обе постају резистентне на антибиотик (Слика 22).



Слика 22. Пренос плазмидне ДНК из једне бактеријске ћелије у другу процесом конјугације; слика је адаптирана из референце [126]

Нађено је да неке бактеријске врсте имају могућност раста, када су изложене релативно високим (милимоларним) концентрацијама јона сребра(I) [56]. Бактеријска резистентност за токсичне метале је кодирана на плазмидима, али у ретким случајевима, и на бактеријским хромозомима. Најчешће разматрани плазмиди који се односе на резистентност јона сребра(I) су рКК1, рUPI199 и рMG101 [56]. Механизми резистентности јона сребра(I) још увек нису у потпуности објашњени и предмет су интензивних изучавања.

Теорије о појави резистентности деловања јона сребра(I) и његових једињења се заснивају на истом концепту, а то је детоксикација ћелије [56]. Прва теорија се базира на акумулацији и складиштењу сребра у облику мање токсичних колоидних честица, а друга се односи на излучивање јона сребра(I) из ћелије. Присуство плазида рКК1 је уочено у колонијама Ag-резистентне *P. stutzeri* AG259 бактерије, у којима се сребро(I) јони акумулирају у облику сребро(I)-сулфида због високог садржаја сумпора у бактерији. С друге стране, плазмид рMG101 има улогу у појави резистенције која је повезана са излучивањем јона сребра(I) из ћелије. Наиме, истраживањем клиничког изолата *Salmonella* соја, нађено је да је резистентност јона сребра(I) кодирана *sil* геномима, који су лоцирани на преносивом плазмиду рMG101.

1.8. Механизам деловања комплекса злата

С обзиром на структурну сличност комплекса злата(III) са комплексима платине(II), прва претпоставка је била да злато(III) јон може реаговати са ДНК молекулом [95]. У неким случајевима, долази до интеракције цитотоксичних злато(III) комплекса са ДНК, као и до деструкције овог биомолекула [95]. Међутим, комплекси злата(III) реагују са ДНК на другачији начин од цисплатине, при чему су Au(III)–ДНК везе веома слабе. Поред тога, истраживања показују да се злато(III) јон може везати за нуклеинске киселине у *in vitro* условима, али да до интеракције не може доћи *in vivo*, због редукције овог јона до злата(I) пре него што доспе до ћелије [95]. Комплекси злата(III) са триазаиклононаном [127], дериватима терпиридина и порфирином [95] показују значајне интеракције са ДНК молекулом. С друге стране, за $[Au(en)_2]Cl_3$, $[Au(dien)Cl]Cl_2$, $[Au(cyclam)](ClO_4)_2Cl$, $[Au(terpy)Cl]Cl_2$, $[Au(1,10-phen)Cl_2]Cl$, $[Au(bipy)(OH)_2]PF_6$ комплексе, уочене су слабе и реверзибилне интеракције са ДНК [95].

Многи злато(III) комплекси реагују са албумином, највише заступљеним протеином у крвној плазми код људи, са концентрацијом од око 600 mM код здраве особе. Овај протеин има многе важне физиолошке функције, као што су регулација осмотског притиска и одржавање рН вредности крви, и поседује антиоксидативне особине [128].

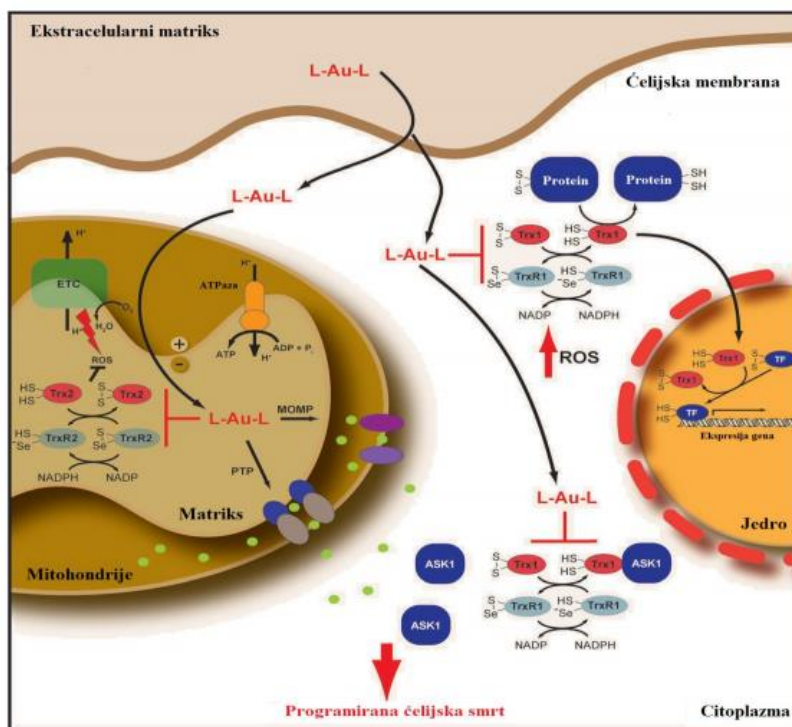
Комплекси злата(III) изазивају оштећење митохондрије, инхибирајући митохондријалну тиоредоксин редуктазу (TrxR2) и утичу на пермеабилност ћелијске мембране [129]. Тиоредоксин редуктаза је хомодимерни флавопротеин који учествује у важним метаболичким процесима [91]. Каталитички активно место TrxR ензима садржи селеноцистеин (Sec), Gly-Cys-Sec-Gly, који има изражен афинитет према злато(I) јонима [95].

Тиоредоксин систем чине тиолни протеин тиоредоксин (Trx), селенопротеин тиоредоксин редуктаза (TrxR) и NADH [130]. Тиоредоксин је неутрални супстрат, док тиоредоксин редуктаза има способност да редукује протеине и молекуле мале молекулске масе [130]. Цитосолне форме су познате као Trx1 и TrxR1, а митохондријалне као Trx2 и TrxR2. Тиоредоксин систем регулише основне ћелијске функције, као што су одрживост и пролиферација [130]. Поред тога, има важну улогу у интрацелуларној редокс регулацији и у хроничним болестима, као што су канцер, реуматоидни артритис и Сјогренов (*Sjögren*) синдром [131]. Наиме, повећана активност овог система је повезана са растом тумора и појавом резистенције на хемиотерапију [131].

Инхибиција TrxR ензима доводи до апоптозе туморских ћелија. Најбољу ефикасност у инхибицији TrxR ензима су показали комплекси злата(III) који имају координован добро одлазећи Cl⁻ лиганд, и који се, након елиминације овог лиганда, редукују до Au(I) [131]. Механизам деловања комплекса злата(I) и злата(III) је идентичан и заснива се на координацији сумпора или селена из TrxR1 и TrxR2 ензима за Au(I) јон, при чему се ензим инхибира, што води ћелијској смрти [131]. Наиме, инхибиција тиоредоксин система (Trx и TrxR) комплекса злата, било у митохондријама или цитосолу, доводи до повећане концентрације реактивних кисеоничних врста (ROS), при чему долази до дисфункционисања генске експресије, а након тога до неспособности редукције транскрипционог фактора (TE), који потом узрокује ћелијску смрт [131]. Редукована форма Trx реагује са киназом 1 која

стимулише апоптозу ASK1 (енг. "apoptosis stimulating kinase 1, ASK1"), делујући као негативан инхибитор апоптозе. Међутим, немогућност редукције Trx има за последицу повећану концентрацију ASK1, што доводи до програмиране ћелијске смрти [131]. Редукован Trx1 има способност да се везује за ASK1 и да на тај начин делује као негативан инхибитор апоптозе. ASK1 може да врати своју функцију након оксидације тиоредоксина, при чему долази до дисоцијације тиоредоксина и ASK1 [131].

Инхибицијом тиоредоксин система помоћу комплекса злата(I/III) долази до повећане концентрације водоник-пероксида у ћелији, и након тога ћелијске смрти [131]. Наиме, водоник-пероксид, који је произведен у митохондријама највећим делом се уклања помоћу глутатион и тиоредоксин система, при чему се успоставља равнотежа између процеса стварања и разлагања водоник-пероксида. Ови редокс системи преносе електроне настале редукцијом NADPH до NADP⁺ помоћу трансхидрогеназе до водоник-пероксида редукујући га до воде. Равнотежа између процеса стварања и разлагања водоник-пероксида може бити нарушена инхибицијом глутатион и/или тиоредоксин система, између осталог, и комплексима злата(I/III).



Слика 23. Механизам антитуморског деловања комплекса злата(I)/(III); слика је адаптирана из ревије S. J. Berners-Price et al [131]

2. ПРЕДМЕТ ИСТРАЖИВАЊА

Основни циљ истраживања у области медицинске неорганске хемије је проналажење нове биолошки активне супстанце која би имала већу активност, шири спектар деловања и мању токсичност у односу на клинички коришћене агенсе. Испитивање новосинтетисаних супстанци као терапеутских агенаса је дуготрајан процес, који укључује неколико фаза: синтезу, карактеризацију, испитивање биолошке активности, преклиничка и клиничка испитивања. С обзиром на чињеницу да је овај процес дуготрајан и изузетно скуп у фазама преклиничких и клиничких испитивања, веома је важно добро осмислити и спровести синтезу, карактеризацију и биолошко испитивање потенцијалних терапеутских агенаса.

Ранија испитивања су показала да инфекције и микроорганизми имају важну улогу у настајању и лечењу многих болести [56]. Бактеријемја је од већих узрочника компликација код пацијената са канцером и другим имунокомпромитованим стањима, док је инвазивна кандидијаза четврти најчешћи узрочник инфекција крви са високом стопом смртности од 40%. Имајући ове чињенице у виду, као и глобални проблем појаве резистентних микроорганизама, проналажење нових антибиотика, како антибактеријских, тако и антифунгалних агенаса је од велике важности.

Комплекси метала представљају нову класу антимикуробних агенаса због њихове веће реактивности и липофилности у односу на клиничка употребљивана органска једињења, и потенцијално другачијег механизма деловања. Од свих комплекса метала за које је утврђено да показују антимикуробну активност,

комплекси сребра(I) и злата(III) привлаче посебну пажњу, као што је напоменуто у Општем делу докторске дисертације [71-83,94].

Истраживања у овој дисертацији су усмерена на синтезу и структурну карактеризацију комплекса сребра(I) и злата(III) са различитим ароматичним хетероцикличним једињењима која садрже азот у прстену, као што су пиридазин, пиримидин, пиразин, хиноксалин, феназин, фталазин, хиназолин, 4,4'-бипиридин, 1,2-bis(4-пиридил)етан, 1,7-фенантролин и 4,7-фенантролин. За синтезу комплекса сребра(I) коришћене су различите соли сребра(I), као што су AgNO_3 , AgClO_4 , AgBF_4 , AgCF_3SO_3 , AgCF_3COO и AgSbF_6 , у циљу испитивања утицаја контра анјона на структуру и биолошку активност комплекса. За синтезу комплекса злата(III) коришћен је $\text{K}[\text{AuCl}_4]$. Поред тога, испитиван је утицај молског односа између $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ и одговарајућег *N*-хетероцикличног лиганда на нуклеарност злато(III) комплекса. Механизам ових реакција и могућност формирања динуклеарних злато(III) комплекса је додатно испитиван применом DFT методе. Сви синтетисани комплекси су структурно окарактерисани у раствору и у чврстом стању, применом различитих спектроскопских метода (^1H и ^{13}C NMR, IR, FIR, UV-vis), масене спектрометрије и електрохемијских метода, док су њихове структуре одређене применом рендгенске структурне анализе. Стабилност комплекса је испитивана применом ^1H NMR и UV-vis спектроскопских метода одмах након растварања комплекса у одговарајућем растварачу у коме су вршена биолошка испитивања, као и 24 и 48 h након растварања. Поред тога, испитивана је њихова стабилност на светлости и ваздуху на собној температури.

Испитивана је антимикуробна активност свих синтетисаних комплекса према различитим сојевима Грам-позитивних и Грам-негативних бактерија као и према различитим *Candida* сојевима. У циљу дефинисања механизма деловања комплекса сребра(I), испитиване су њихове интеракције са ДНК применом различитих метода, гел електрофорезе, UV-vis спектрофотометрије, флуориметрије, циркуларног дихроизма и молекулског моделирања. За комплексе који показују значајну антифунгалну активност, испитиван је хемолитички потенцијал, инхибиција формирања филаментног раста *C. albicans* соја и формирање реактивних кисеоничних врста. Поред тога, за најактивније комплексе, испитивана је *in vivo* ембриотоксичност на моделу зебрица *Danio rerio*. За комплексе злата(III),

испитиване су интеракције са ДНК применом гел електрофорезе и са БСА применом флуориметрије. Антиангиогени потенцијал комплекса злата(III) са 1,7- и 4,7-фенантролином је испитиван на моделу зебрица.

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

3.1. Хемикалије и реагенси

Хемикалије и реагенси DMSO, DMF, DMSO-*d*₆, DMF-*d*₇, CDCl₃, CD₃COCD₃, пиридазин (pydz), пиримидин (pm), пиразин (pz), хиноксалин (qx), феназин (phz), фталазин (phtz), хиназолин (qz), 4,4'-бипиридин (4,4'-bipy), 1,2-bis(4-пиридил)етан (bre), 1,7-фенантролин (1,7-phen), 4,7-фенантролин (4,7-phen), калијум-тетрахлоридоаурат(III) (K[AuCl₄]), сребро(I)-нитрат (AgNO₃), сребро(I)-перхлорат (AgClO₄), сребро(I)-тетрафлуороборат (AgBF₄), сребро(I)-трифлуорометансулфонат (AgCF₃SO₃), сребро(I)-трифлуороацетат (AgCF₃COO), сребро(I)-хексафлуороантимонат(V) (AgSbF₆), ДНК изолован из тимуса телета, ДНК изолован из рибље сперме и албумин говеђег серума (BCA) су купљени од Sigma-Aldrich Chemical Co. Компоненте, које су коришћене за припрему подлога за биолошке тестове као што су екстракт квасца, натријум-хлорид, RPMI, MOPS ((3-(*N*-морфолин)пропансулфонска киселина), глюкоза, пептон, агар, манитол, калијум-фосфат су, такође, купљене од Sigma-Aldrich Chemical Co. Остале хемикалије употребљене у овом раду, етанол, метанол, ацетон, дихлорметан, ацетонитрил, комерцијални су производи аналитичког степена чистоће и купљени су од домаћег произвођача.

3.2. Добијање комплекса сребра(I) са ароматичним хетероцикличним лигандима који садрже азот у прстену

3.2.1. Добијање $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)_2(\mu\text{-pydz})_2\}_n]$ (Ag1), $[\{\text{Ag}(\text{pm})(\text{NO}_3)\}_n]$ (Ag2), $[\{\text{Ag}(\text{pz})(\text{NO}_3)\}_n]$ (Ag3), $[\{\text{Ag}(\text{qz})(\text{NO}_3)\}_n]$ (Ag4) и $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)_2(\mu\text{-phz})\}_n]$ (Ag5) комплекса

Комплекси сребра(I) са пиридазином (pydz), пиримидином (pm), пиразином

(pz), хиноксалином (qx) и феназином (phz) су синтетисани по модификованом поступку који је раније описан у литератури [132-136].

У 5,0 mL апсолутног етанола растворити 2,0 mmol (339,7 mg) AgNO₃. У тај раствор лагано и уз мешање додавати раствор, који садржи еквимоларну количину одговарајућег *N*-хетероцикличног једињења (148,2 μL 98% pydz, 159,2 μL 99% pm, 160,2 mg pz, 260,3 mg qx и 360,4 mg phz), раствореног у 20,0 mL загрејаног апсолутног етанола. Бели талог настаје одмах по додатку одговарајућег *N*-хетероцикличног једињења раствору сребро(I)-нитрата. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Талог процедити, испрати водом, осушити и прекристалисати у ацетонитрилу, а затим добијени раствор оставити у фрижидеру. Након 3 – 5 дана издвајају се безбојни кристали [$\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-pydz})_2\}_n$, $\{\text{Ag}(\text{pm})(\text{NO}_3)\}_n$, $\{\text{Ag}(\text{pz})(\text{NO}_3)\}_n$, $\{\text{Ag}(\text{qz})(\text{NO}_3)\}_n$ и жути кристали $\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-phz})_n$ комплекса. Добијене кристале одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Принос је 88% (440,0 mg) за $\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-pydz})_2$, 80% (399,9 mg) за $\{\text{Ag}(\text{pm})(\text{NO}_3)\}_n$, 84% (419,9 mg) за $\{\text{Ag}(\text{pz})(\text{NO}_3)\}_n$, 78% (468,0 mg) за $\{\text{Ag}(\text{qz})(\text{NO}_3)\}_n$ и 89% (462,7 mg) за $\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-phz})_n$ комплекс. Чистоћа и састав свих комплекса су проверени помоћу резултата елементарне микроанализе, ¹H и ¹³C NMR спектроскопије.

Израчунато за $\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-pydz})_2$ (**Ag1**) = C₄H₄AgN₃O₃ (*M_r* = 249,96): C, 19,22; H, 1,61; N, 16,81%. Нађено: C, 19,26; H, 1,76; N, 17,03%. ¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ = 7,76 (*dd*, *J* = 3,8, 3,2 Hz, 2H), 9,25 ppm (*dd*, *J* = 3,8, 3,2 Hz, 2H). ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ = 127,6, 152,4 ppm. IR (KBr, ν, cm⁻¹): 3430(br), 3059(m), 1646(w), 1570(m), 1414(vs), 1384(vs), 1286(m), 1122(w), 1084(w), 1063(m), 966(m), 825(m), 761(m), 717(w), 667(m), 626(w). UV-vis (DMSO, λ_{max}, nm): 322 (ε = 3,1·10² M⁻¹cm⁻¹).

Израчунато за $\{\text{Ag}(\text{pm})(\text{NO}_3)\}_n$ (**Ag2**) = C₄H₄AgN₃O₃ (*M_r* = 249,96): C, 19,22; H, 1,61; N, 16,81%. Нађено: C, 19,18; H, 1,62; N, 17,10%. ¹H NMR (200 MHz, DMSO): δ = 7,58 (*td*, *J* = 5,0, 1,5 Hz, 1H), 8,78 – 8,88 (*m*, 2H), 9,20 ppm (*s*, 1H). ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): δ = 122,3, 157,5, 158,8 ppm. IR (KBr, ν, cm⁻¹): 3480(br), 3085(m), 1763(w), 1571(s), 1399(vs), 1383(vs), 1226(m), 1177(w), 1160(w), 1067(w), 825(s), 720(m), 647(w), 625(w). UV-vis (DMSO, λ_{max}, nm): 294 (ε = 2,2·10² M⁻¹cm⁻¹).

Израчунато за $\{[\text{Ag}(\text{pz})](\text{NO}_3)\}_n$ (**Ag3**) = $\text{C}_4\text{H}_4\text{AgN}_3\text{O}_3$ ($M_r = 249,96$): C, 19,22; H, 1,61; N, 16,81%. Нађено: C, 19,16; H, 1,61; N, 17,11%. ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $\delta = 8,67$ ppm (s, 4H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $\delta = 145,4$ ppm. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3445(br), 3082(w), 3045(w), 1494(w), 1384(vs), 1154(m), 1132(w), 1081(w), 1054(m), 1023(m), 990(w), 825(m), 805(m). UV-vis (DMSO, λ_{max} , nm): 320,0 ($\varepsilon = 4,3 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Израчунато за $\{[\text{Ag}(\text{qz})](\text{NO}_3)\}_n$ (**Ag4**) = $\text{C}_8\text{H}_6\text{AgN}_3\text{O}_3$ ($M_r = 300,02$): C, 32,03; H, 2,02; N, 14,01%. Нађено: C, 32,02; H, 2,07; N, 14,21%. ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $\delta = 7,84 - 7,94$ (m, 2H), $8,07 - 8,18$ (m, 2H), $8,97$ ppm (s, 2H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $\delta = 129,3, 130,4, 142,4, 145,9$ ppm. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3611(br), 3080(w), 3048(w), 3015(w), 1767(w), 1738(w), 1629(w), 1611(w), 1582(w), 1498(m), 1457(w), 1421(m), 1384(vs), 1361(vs), 1307(m), 1206(m), 1138(m), 1125(m), 1070(w), 1038(m), 954(m), 868(m), 850(m), 767(m), 756(m), 716(m), 659(w), 628(w), 609(w), 535(w), 513(w). UV-vis (DMSO, λ_{max} , nm): 316 ($\varepsilon = 3,1 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Израчунато за $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-phz})]_n$ (**Ag5**) = $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{Ag}_2\text{N}_4\text{O}_6$ ($M_r = 519,95$): C, 27,72%; H, 1,55%; N, 10,78%. Нађено: C, 27,92%; H, 1,65%; N, 10,55%. ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $\delta = 7,92 - 8,04$ (m, 4H), $8,23 - 8,35$ ppm (m, 4H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $\delta = 129,5, 131,3, 143,0$ ppm. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3678(br), 3059(w), 3009(w), 1516(m), 1472(w), 1419(s), 1384(vs), 1361(s), 1297(vs), 1209(m), 1167(w), 1152(m), 1119(m), 1063(w), 1029(m), 1002(w), 977(w), 953(w), 906(w), 863(w), 828(m), 791(w), 745(s), 660(w), 596(m), 552(w), 528(w), 502(w), 480(w), 459(w). UV-vis (DMSO, λ_{max} , nm): 366 ($\varepsilon = 7,7 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

3.2.2. Добијање $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) комплекса

У 10,0 mL врелог метанола растворити 1,0 mmol одговарајуће сребро(I) соли (169,9 mg AgNO_3 и 194,7 mg AgBF_4). У тај раствор лагано и уз мешање додавати раствор добијен растварањем 0,5 mmol (65,1 mg) хиназолина (qz) или фталазина (phtz) у 10 mL врелог ацетона. Бели талог се формира одмах при додатку одговарајућег *N*-хетероцикличног лиганда раствору сребро(I) соли. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Талог процедити, испрати водом, осушити и

прекрсталисати у ацетонитрилу. Добијени раствор оставити у фрижидеру на 4 °С. Безбојни кристали $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ комплекса се издвајају након 3 дана. Добијене кристале одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Принос је 78% (117,0 mg) за $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ и 73% (133,5 mg) за $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$. Чистоћа и састав ових комплекса су проверени помоћу резултата елементарне микроанализе, IR, UV-vis и ^1H NMR спектроскопије.

Израчунато за $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) = $\text{C}_8\text{H}_6\text{AgN}_3\text{O}_3$ ($M_r = 300,03$): C, 32,03; H, 2,02; N, 14,01%. Нађено: C, 31,72; H, 2,12; N, 14,08%. ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $\delta = 7,82$ (ddd, $J = 8,1, 5,2, 2,9$ Hz, 1H), 8,05 – 8,11 (*m*, 2H), 8,22 (*dt*, $J = 8,2, 1,2$ Hz, 1H), 9,32 (*s*, 1H), 9,67 ppm (*s*, 1H). IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3441(br), 3029(w), 2923(w), 1750(w), 1738(w), 1619(m), 1581(m), 1568(m), 1491(m), 1437(s), 1377(vs), 1352(vs), 1312(m), 1278(s), 1212(m), 1036(w), 932(w), 871(w), 832(w), 815(w), 785(m), 758(m), 647(w), 633(w), 510(w), 482(w), 454(w). UV-vis (DMSO, λ_{max} , nm): 306 ($\epsilon = 1,3 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Израчунато за $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) = $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{Ag}_2\text{B}_2\text{F}_8\text{N}_6$ ($M_r = 731,76$): C, 32,83; H, 2,48; N, 11,48%. Нађено: C, 32,98; H, 2,63; N, 11,75%. ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $\delta = 2,08$ (*s*, 6H), 8,01 – 8,13 (*m*, 4H), 8,14 – 8,27 (*m*, 4H), 9,72 ppm (*s*, 4H). IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3450(br), 3038(w), 2984(w), 2922(w), 2174(br), 1618(w), 1489(m), 1438(m), 1377(m), 1307(w), 1278(m), 1247(w), 1217(w), 1159(m), 1058(s), 1036(s), 916(m), 767(m), 751(m), 649(m), 512(w), 474(m). UV-vis (DMSO, λ_{max} , nm): 298 ($\epsilon = 2,1 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (Ag6) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (Ag7) комплексе

Рендгенска структурна испитивања за кристале $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ комплекса су вршена на бази мерења интензитета рефлексија помоћу дифрактометра типа Bruker AXS Smart 1000 CCD применом графитне монохроматске Мо-Ка радијације. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе као и други релевантни подаци за поменуте комплексе су приказани у табели 4. Сви атоми тежи од водоника су утачњавани анизотропно. Позиције водоникових атома су израчунате на стандардним растојањима и утачњаване употребом „riding” модела. За представљење

кристалних структура коришћени су MERCURY и ORTEP компјутерски програми [137,138].

Табела 4. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) комплексе

	Ag6	Ag7
Хемијска формула	$\text{C}_8\text{H}_6\text{AgN}_3\text{O}_3$	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{Ag}_2\text{B}_2\text{F}_8\text{N}_6$
Молекулска маса	300,03	731,76
Кристални систем	Орторомбичан	Триклиничан
Просторна група	$Pna2_1$	$P\bar{1}$
Параметри јединичне ћелије		
a (Å)	13,678(5)	7,544(3)
b (Å)	10,566(5)	8,109(4)
c (Å)	12,076(5)	11,175(5)
α (°)	90	110,495(12)
β (°)	90	99,220(9)
γ (°)	90	98,036(11)
V (Å ³)	1745,1(13)	617,7(5)
Z	8	1
D_x (g/cm ³)	2,284	1,967
μ (mm ⁻¹)	2,298	1,668
Број сакупљених рефлексија	43039	15499
Број независних рефлексија	5992	4134
Број употребљених рефлексија	5494 [$I > 2\sigma(I)$]	3860 [$I > 2\sigma(I)$]
R_{int}	0,0394	0,0225
Метода утачњавања структуре	Метода најмањих квадрата на бази F^2 (пуна матрица)	
R [$F > 4\sigma(F)$] $R(F)$	0,0219	0,0196
$wR(F^2)$	0,0453	0,0460
$\Delta\rho_{\text{max}}$ (e/Å ³)	0,797	0,640
$\Delta\rho_{\text{min}}$ (e/Å ³)	-0,458	-0,294

3.2.3. Добијање $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-N7})_2]$ (**Ag8**) комплекса

У 15,0 mL загрејаног метанола растворити 1,0 mmol (169,9 mg) AgNO_3 . У тај

раствор лагано и уз мешање додавати раствор добијен растварањем 0,5 mmol (90,1 mg) 1,7-фенантролина (1,7-phen) у 15,0 mL загрејаног ацетона. Бели талог настаје одмах након додатка 1,7-phen лиганда раствору сребро(I)-нитрата. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Талог процедити, испрати водом, осушити и прекристалисати у ацетонитрилу. Добијени раствор оставити у фрижидеру на 4 °C. Безбојне кристале $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-}N7)_2]$ комплекса, који се издвајају после 3 дана, одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Принос је 76% (100,8 mg).

Израчунато за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-}N7)_2]$ (**Ag8**) = $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{AgN}_5\text{O}_3$ ($M_r = 530,29$): C, 54,36; H, 3,04; N, 13,21. Нађено: C, 53,95; H, 2,92; N, 13,37%. ^1H NMR (400 MHz, DMF- d_7): $\delta = 8,02$ (dd, $J = 8,1, 4,4$ Hz, H4), 8,13 (dd, $J = 8,3, 4,6$ Hz, H10), 8,42 (d, $J = 9,1$ Hz, H3), 8,46 (d, $J = 9,1$ Hz, H9), 8,79 (dd, $J = 8,1, 1,7$ Hz, H5), 9,34 (dd, $J = 4,4, 1,7$ Hz, H2), 9,42 (dd, $J = 4,5, 1,7$ Hz, H8), 9,88 ppm (dd, $J = 8,3, 1,7$ Hz, H6). ^{13}C NMR (101 MHz, DMF- d_7): $\delta = 122,85$ (C10), 123,47 (C4), 126,54 (C4a), 127,32 (C10a), 128,89 (C3), 130,33 (C9), 133,31 (C6), 136,68 (C5), 145,53 (C1a), 149,16 (C6a), 150,48 (C2), 152,72 ppm (C8). IR (KBr, ν , cm^{-1}): ~ 3040w, 2921w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1617w, 1599m, 1573w, 1496m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1384vs и 1297s ($\nu_{\text{as}}(\text{NO}_3)$), 836s, 773s ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 726w и 700w ($\delta(\text{NO}_3)$). UV-vis (DMF/H $_2$ O, λ_{max} , nm): 268 ($\epsilon = 4,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H $_2$ O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (10).

3.2.4. Добијање $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{X}$ комплекса, X = ClO_4^- (**Ag9**), CF_3SO_3^- (**Ag10**), BF_4^- (**Ag11**) и SbF_6^- (**Ag12**)

У 5,0 mL апсолутног етанола растворити 1,0 mmol одговарајуће сребро(I) соли (207,3 mg AgClO_4 , 256,9 mg AgCF_3SO_3 , 194,7 mg AgBF_4 и 343,6 mg AgSbF_6). У тај раствор лагано и уз мешање додавати раствор, који садржи еквимоларну количину 1,7-phen (180,2 mg) у 20,0 mL загрејаног етанола. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Кристали $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{BF}_4$ комплекса су добијени упаравањем матичног раствора на собној температури после 5 дана. С друге стране, упаравањем матичног раствора $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{ClO}_4$ и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{SbF}_6$ комплекса настаје прах, чијом прекристализацијом нису добијени кристали

погодни за рендгенску структурну анализу. Принос: 68% (193,0 mg) за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{ClO}_4$, 72% (222,2 mg) за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$, 64% (177,6 mg) за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{BF}_4$ и 52% (183,4 mg) за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{SbF}_6$.

Израчунато за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{ClO}_4$ (**Ag9**) = $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{AgClN}_4\text{O}_4$ ($M_r = 567,73$): C, 50,77; H, 2,84; N, 9,87%. Нађено: C, 51,17; H, 2,70; N, 9,31%. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMF- d_7): $\delta = 8,01$ (*dd*, $J = 8,1, 4,4$ Hz, H4), 8,10 (*dd*, $J = 8,3, 4,5$ Hz, H10), 8,40 (*d*, $J = 9,1$ Hz, H3), 8,47 (*d*, $J = 9,1$ Hz, H9), 8,78 (*dd*, $J = 8,1, 1,7$ Hz, H5), 9,33 (*dd*, $J = 4,4, 1,7$ Hz, H2), 9,39 (*dd*, $J = 4,5, 1,7$ Hz, H8), 9,85 ppm (*ddd*, $J = 8,3, 1,7, 0,7$ Hz, H6). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMF- d_7): $\delta = 122,85$ (C10), 123,47 (C4), 126,54 (C4a), 127,31 (C10a), 128,89 (C3), 130,31 (C9), 133,29 (C6), 136,68 (C5), 145,49 (C1a), 149,20 (C6a), 150,48 (C2), 152,69 ppm (C8). IR (KBr, ν , cm^{-1}): $\sim 3048\text{w}, 2923\text{w}$ ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1617w, 1600m, 1575w, 1497m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}$) и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1108vs и 1064s ($\nu(\text{ClO}_4)$), 833s, 775s ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 622s ($\delta(\text{OClO})$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 269 ($\epsilon = 5,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (3).

Израчунато за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (**Ag10**) = $\text{C}_{25}\text{H}_{16}\text{AgF}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ ($M_r = 617,35$): C, 48,64; H, 2,61; N, 9,08%. Нађено: C, 48,92; H, 2,54; N, 8,89%. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMF- d_7): $\delta = 8,02$ (*dd*, $J = 8,3, 4,5$ Hz, H4), 8,11 (*dd*, $J = 8,3, 4,5$ Hz, H10), 8,41 (*d*, $J = 9,1$ Hz, H3), 8,48 (*d*, $J = 9,1$ Hz, H9), 8,79 (*dd*, $J = 8,1, 1,7$ Hz, H5), 9,34 (*dd*, $J = 4,4, 1,7$ Hz, H2), 9,40 (*dd*, $J = 4,5, 1,8$ Hz, H8), 9,86 ppm (*ddd*, $J = 8,3, 1,7, 0,7$ Hz, H6). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMF- d_7): $\delta = 122,88$ (C10), 123,50 (C4), 126,55 (C4a), 127,35 (C10a), 128,88 (C3), 130,38 (C9), 133,39 (C6), 136,69 (C5), 145,53 (C1a), 149,15 (C6a), 150,51 (C2), 152,79 ppm (C8). IR (KBr, ν , cm^{-1}): $\sim 3047\text{w}, 2923\text{w}$ ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1616w, 1602m, 1575w, 1499m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}$) и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1286vs ($\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3)$), 1247vs ($\nu_{\text{s}}(\text{CF}_3)$), 1155s ($\nu_{\text{as}}(\text{CF}_3)$), 1027s ($\nu_{\text{s}}(\text{SO}_3)$), 835s, 771s ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 754m ($\delta_{\text{s}}(\text{CF}_3)$), 637m ($\delta_{\text{s}}(\text{SO}_3)$), 594m ($\delta_{\text{as}}(\text{CF}_3)$), 516m ($\delta_{\text{as}}(\text{SO}_3)$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 269 ($\epsilon = 4,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (17).

Израчунато за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{BF}_4$ (**Ag11**) = $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{AgBF}_4\text{N}_4$ ($M_r = 555,09$): C, 51,93; H, 2,91; N, 10,09%. Нађено: C, 51,87; H, 2,79; N, 10,10%. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMF- d_7): $\delta = 8,01$ (*dd*, $J = 8,0, 4,3$ Hz, H4), 8,09 (*dd*, $J = 8,2, 4,5$ Hz, H10), 8,38 (*d*, $J = 9,0$ Hz, H3), 8,46 (*d*, $J = 9,1$ Hz, H9), 8,78 (*d*, $J = 8,1$ Hz, H5), 9,33 (*d*, $J = 4,3$ Hz, H2), 9,37 (*d*, $J = 4,3$ Hz, H8), 9,84 ppm (*d*, $J = 8,3$ Hz, H6). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMF- d_7): $\delta =$

122,79 (C10), 123,42 (C4), 126,53 (C4a), 127,20 (C10a), 128,91 (C3), 130,15 (C9), 133,11 (C6), 136,66 (C5), 145,56 (C1a), 149,26 (C6a), 150,43 (C2), 152,53 ppm (C8). IR (KBr, ν , cm^{-1}): \sim 3078w, 2963w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}-\text{H})$), 1617w, 1600m, 1575w, 1498m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1059vs ($\nu_{\text{as}}(\text{BF}_4)$), 832s, 774s ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}-\text{H})$), 793m ($\nu_{\text{s}}(\text{BF}_4)$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 269 ($\epsilon = 5,3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (5).

Израчунато за $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{SbF}_6$ (**Ag12**) = C₂₄H₁₆AgF₆N₄Sb ($M_r = 704,03$): C, 40,94; H, 2,29; N, 7,96%. Нађено: C, 40,78; H, 2,15; N, 7,68%. ¹H NMR (400 MHz, DMF-*d*₇): $\delta = 8,02$ (*dd*, $J = 8,1, 4,4$ Hz, H4), 8,13 (*dd*, $J = 8,3, 4,6$ Hz, H10), 8,47 (*m*, H3 и H9), 8,78 (*dd*, $J = 8,1, 1,7$ Hz, H5), 9,34 (*dd*, $J = 4,4, 1,7$ Hz, H2), 9,44 (*dd*, $J = 4,6, 1,7$ Hz, H8), 9,88 ppm (*dd*, $J = 8,3, 1,6$ Hz, H6). ¹³C NMR (101 MHz, DMF-*d*₇): $\delta = 122,97$ (C10), 123,58 (C4), 126,56 (C4a), 127,48 (C10a), 128,85 (C3), 130,60 (C9), 133,73 (C6), 136,72 (C5), 145,42 (C1a), 148,92 (C6a), 150,59 (C2), 153,13 ppm (C8). IR (KBr, ν , cm^{-1}): \sim 3082w, 2949w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}-\text{H})$), 1619w, 1600m, 1575w, 1497m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 836s, 778s ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}-\text{H})$), 656vs ($\nu(\text{SbF}_6)$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 269 ($\epsilon = 5,4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (14).

Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-}N7)_2]$ (Ag8**), $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (**Ag10**) и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{BF}_4$ (**Ag11**) комплексе**

Рендгенска структурна испитивања за кристале $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-}N7)_2]$ (**Ag8**), $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (**Ag10**) и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{BF}_4$ (**Ag11**) комплекса су вршена на бази мерења интензитета рефлексија помоћу Stoe IPDS2 дифрактометра. Мерења за кристале **Ag8** и **Ag10** комплекса су вршена на 298 К, а за **Ag11** на 250 К. За решавање и утачњавање структуре комплекса употребљени су програми ShelXT [139] и ShelXL [140]. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе као и други релевантни подаци за поменуте комплексе су приказани у табели 5. Позиције водоникових атома су израчунате на стандардним растојањима и утачњаване употребом „riding” модела. За представљање кристалних структура коришћен је MERCURY компјутерски програм [137].

Табела 5. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-O,O}')(\text{1,7-phen-N7})_2]$ (**Ag8**), $[\text{Ag}(\text{1,7-phen-N7})_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (**Ag10**) и $[\text{Ag}(\text{1,7-phen-N7})_2]\text{BF}_4$ (**Ag11**) комплексе

	Ag8	Ag10	Ag11
Хемијска формула	$\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{AgN}_5\text{O}_3$	$\text{C}_{25}\text{H}_{16}\text{AgF}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$	$\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{AgBF}_4\text{N}_4$
Молекулска маса	530,29	617,35	555,09
Кристални систем	Триклиничан	Триклиничан	Триклиничан
Просторна група	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$
Температура (К)	298(2)	298(2)	250(2)
Параметри јединичне ћелије			
a (Å)	7,1629(7)	6,9800(5)	7,1759(8)
b (Å)	10,5142(9)	13,6380(9)	10,9209(12)
c (Å)	14,5205(12)	13,9579(9)	14,5568(15)
α (°)	78,215(7)	109,122(5)	83,120(9)
β (°)	81,410(7)	103,327(5)	86,671(9)
γ (°)	73,611(7)	103,352(5)	71,989(9)
V (Å ³)	1022,11(16)	1151,72(14)	1076,8(2)
Z	2	2	2
D_x (g/cm)	1,723	1,780	1,712
μ (mm ⁻¹)	1,026	1,028	0,991
Димензије кристала (mm ³)	0,40 × 0,10 × 0,02	0,29 × 0,13 × 0,04	0,21 × 0,13 × 0,03
Број сакупљених рефлексија	13116	14162	3842
Број независних рефлексија	3640	4106	3842
R_{int}	0,1022	0,1034	
Метода утацњавања структуре	Метода најмањих квадрата на бази F^2 (пуна матрица)		
$R [F_o > 4\sigma(F_o)] R(F)$	0,0481	0,0868	0,0699
$wR(F^2)$	0,1111	0,2212	0,1669
$\Delta\rho_{\text{max}}$ (e/Å ³)	1,06	2,03	0,68
$\Delta\rho_{\text{min}}$ (e/Å ³)	-0,62	-0,66	-0,65

3.2.5. Добијање $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**) и $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**) комплекса

У 15,0 mL загрејаног ацетона растворити 0,2 mmol (36,0 mg) 4,7-phen лиганда. Тај раствор лагано и уз мешање додавати раствору, који је добијен растварањем 0,4 mmol одговарајуће сребро(I) соли (67,9 mg AgNO_3 , 88,4 mg AgCF_3COO и 77,9 mg AgBF_4) у 10,0 mL загрејаног метанола. Бели талог се формира одмах након додатка 4,7-phen лиганда раствору одговарајуће сребро(I) соли. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Након тог времена, процедити талог, испрати водом и осушити. Прах $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ комплекса прекристалисати у ацетонитрилу, при чему се након 3 дана издвајају безбојни кристали погодни за рендгенску структурну анализу. Прах $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ комплекса је прекристалисан у етанолу, док је прах $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ комплекса прекристалисан у метанолу. Након 3 – 5 дана формирају се безбојни, односно жути кристали. Добијене кристале одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Принос: 75% (52,5 mg) за $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$, 63% (50,5 mg) $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ и 87% (69,8 mg) $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ комплекса.

Израчунато за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**) = $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{AgN}_3\text{O}_3$ ($M_r = 350,08$): C, 41,17; H, 2,30; N, 12,00%. Нађено: C, 40,83; H, 2,14; N, 12,01%. ^1H NMR (400 MHz, DMF- d_7): $\delta = 8,06$ (*dd*, $J = 8,4, 4,4$ Hz, H1, H10), 8,53 (*s*, H5, H6), 9,32 (*dd*, $J = 4,4, 1,6$ Hz, H2, H9), 9,63 ppm (*dd*, $J = 8,4, 1,5$ Hz, H3, H8). ^{13}C NMR (101 MHz, DMF- d_7): $\delta = 122,78$ (C1, C10), 125,46 (C1a, C10a), 132,37 (C3, C8), 132,41 (C5, C6), 147,47 (C4a, C6a), 151,64 ppm (C2, C9). IR (KBr, ν , cm^{-1}): $\sim 3077\text{w}$, 2920w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1619w, 1582m, 1524w, 1497s, 1441m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$) и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1384vs, 1301s ($\nu_{\text{as}}(\text{NO}_3)$), 828s, 794s ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$). UV-vis (DMF/ H_2O , λ_{max} , nm): 272 ($\epsilon = 2,4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/ H_2O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (32).

Израчунато за $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**) = $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{AgF}_3\text{N}_2\text{O}_2$ ($M_r = 401,09$): C, 41,92; H, 2,30; N, 6,98%. Нађено: C, 42,28; H, 2,14; N, 6,95%. ^1H NMR (400 MHz, DMF- d_7): $\delta = 8,06$ (*dd*, $J = 8,4, 4,4$ Hz, H1, H10), 8,53 (*s*, H5, H6), 9,32 (*dd*, $J = 4,4, 1,6$ Hz, H2, H9), 9,62 ppm (*dd*, $J = 8,4, 1,5$ Hz, H3, H8). ^{13}C NMR (101 MHz,

DMF-*d*₇): $\delta = 122,76$ (C1, C10), 125,41 (C1a, C10a), 132,32 (C3, C8), 132,40 (C5, C6), 147,57 (C4a, C6a), 151,66 ppm (C2, C9). IR (KBr, ν , cm^{-1}): $\sim 3076\text{w}$, 2925 w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1691 ($\nu(\text{C}=\text{O})$), 1495 m , 1444 w , 1407 w , 1391 w , 1302 m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}$) и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1207 s , 1167 s ($\nu(\text{CF}_3)$), 1105 s ($\nu(\text{C}-\text{O})$), 843 m , 798 m , 719 m ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 272 ($\epsilon = 1,2 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468,0 [Ag(4,7-phen)₂]⁺ (100), 361,0 [Ag(4,7-phen)(DMF)]⁺ (10).

Израчунато за {[Ag(4,7-phen)][Ag(4,7-phen)(H₂O)](BF₄)₂]_n (**Ag15**) = C₂₄H₁₈Ag₂B₂F₈N₄O ($M_r = 767,78$): C, 37,54; H, 2,36; N, 7,30%. Нађено: C, 37,28; H, 2,15; N, 7,35%. ¹H NMR (400 MHz, DMF-*d*₇): $\delta = 8,13$ (*dd*, $J = 8,4, 4,5$ Hz, H1, H10), 8,63 (*s*, H5, H6), 9,39 (*d*, $J = 4,4$ Hz, H2, H9), 9,71 ppm (*d*, $J = 8,4, 1,5$ Hz, H3, H8). ¹³C NMR (101 MHz, DMF-*d*₇): $\delta = 123,06$ (C1, C10), 125,61 (C1a, C10a), 132,64 (C5, C6), 132,92 (C3, C8), 147,25 (C4a, C6a), 155,22 ppm (C2, C9). IR (KBr, ν , cm^{-1}): $\sim 3445\text{m}$ ($\nu(\text{O}-\text{H})$), 3081 w , 2929 w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1618 w , 1585 m , 1521 w , 1495 s , 1444 w , 1389 w , 1304 s ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}}$) и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1058 s ($\nu(\text{BF}_4)$), 837 m , 794 m , 735 w , 720 w ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 272 ($\epsilon = 4,9 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468 [Ag(4,7-phen)₂]⁺ (100), 361 [Ag(4,7-phen)(DMF)]⁺ (9).

3.2.6. Добијање [Ag(ClO₄-O)(4,7-phen- μ -N4,N7)]_n (**Ag16**) и [Ag₂(H₂O)(4,7-phen)₃](SbF₆)₂ (**Ag17**) комплекса

У 5,0 mL апсолутног етанола растворити 1,0 mmol (207,3 mg AgClO₄ и 343,6 mg AgSbF₆). У тај раствор лагано и уз мешање додавати раствор, који садржи еквимоларну количину 4,7-фенантролина (180,2 mg) у 20,0 mL апсолутног етанола. Бели талог настаје одмах по додатку 4,7-phen лиганда раствору соли сребра(I). Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Талог који је настао у реакцији AgClO₄ и 4,7-phen процедити, испрати водом и осушити, а затим прекристалисати у смеси воде и ацетона (ν/ν 1 : 1). Добијени раствор оставити да се полако упарава на собној температури. Након 4 дана формирају се жути кристали [Ag(ClO₄-O)(4,7-phen- μ -N4,N7)]_n комплекса. Безбојни кристали [Ag₂(H₂O)(4,7-phen)₃](SbF₆)₂ комплекса су добијени упаравањем матичног раствора на собној температури. Добијене кристале одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Принос: 93% (360,4 mg) за [Ag(ClO₃-O)(4,7-phen- μ -N4,N7)]_n и 77% (319,8 mg) за [Ag₂(H₂O)(4,7-phen)₃](SbF₆)₂.

Израчунао за $[\text{Ag}(\text{ClO}_3\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (**Ag16**) = $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{AgClN}_2\text{O}_4$ (M_r = 387,52): C, 37,19; H, 2,08; N, 7,23%. Нађено: C, 37,48; H, 2,16; N, 7,25 %. ^1H NMR (400 MHz, DMF- d_7): δ = 8,14 (*dd*, J = 8,4, 4,5 Hz, H1, H10), 8,63 (*s*, H5, H6), 9,43 (*dd*, J = 4,5, 1,5 Hz, H2, H9), 9,76 ppm (*d*, J = 8,5, 1,5 Hz, H3, H8). ^{13}C NMR (101 MHz, DMF- d_7): δ = 123,23 ppm (C1, C10), 125,73 (C1a, C10a), 132,80 (C5, C6), 133,27 (C3, C8), 147,10 (C4a, C6a), 152,60 ppm (C2, C9). IR (KBr, ν , cm^{-1}): ~ 3094w, 2925w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1618w, 1585m, 1528w, 1499s, 1443m, 1395w, 1303s ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 1116vs, 1059s ($\nu(\text{ClO}_4)$), 828m, 795m, 736w, 617m ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 272 (ϵ = $1,8 \cdot 10^4$ $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (8).

Израчунао за $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) = $\text{C}_{36}\text{H}_{26}\text{Ag}_2\text{F}_{12}\text{N}_6\text{OSb}_2$ (M_r = 1245,87): C, 34,71; H, 2,10; N, 6,75%. Нађено: C, 34,58; H, 2,08; N, 6,89%. ^1H NMR (400 MHz, DMF- d_7): δ = 8,18 (*dd*, J = 8,4, 4,5 Hz, H1, H10), 8,68 (*s*, H5, H6), 9,43 (*dd*, J = 4,5, 1,4 Hz, H2, H9), 9,76 ppm (*d*, J = 8,5, 1,3 Hz, H3, H8). ^{13}C NMR (101 MHz, DMF- d_7): δ = 123,25 (C1, C10), 125,72 (C1a, C10a), 132,65 (C5, C6), 133,43 (C3, C8), 146,93 (C4a, C6a), 152,36 ppm (C2, C9). IR (KBr, ν , cm^{-1}): ~3434br ($\nu(\text{O-H})$), 2924w ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 1625w, 1588m, 1526m, 1502m, 1445m, 1398w, 1305m ($\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ и $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{N})$), 835m, 797m ($\gamma(\text{C}_{\text{ar}}\text{-H})$), 655vs, 623vs ($\nu(\text{SbF}_6)$). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 272 (ϵ = $5,3 \cdot 10^4$ $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). (+)ESI-MS (DMF/H₂O) m/z (релативни интензитет): 468,0 $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})_2]^+$ (100), 361,0 $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ (8).

Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag13), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag14), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (Ag15), $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (Ag16) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (Ag17) комплексе

Рендгенска структурна испитивања за кристале $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (**Ag14**), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**), $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (**Ag16**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) комплекса су вршена на бази мерења интензитета рефлексија помоћу Stoe IPDS2 дифрактометра. Мерења за кристале **Ag13** комплекса су вршена на 298 K, за **Ag14** на 293 K, за **Ag16** и **Ag17** на 250 K и за **Ag15** на 200 K. За решавање и утачњавање структуре комплекса употребљени су програми ShelXT [139] и ShelXL [140]. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне

анализе као и други релевантни подаци за поменуте комплексе су приказани у табели 6. Позиције за већину водоникових атома су израчунате на стандардним растојањима и утачњаване употребом „riding” модела. За представљање кристалних структура коришћен је MERCURY компјутерски програм [137].

Табела 6. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**), $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag16**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) комплексе

	Ag13	Ag14	Ag15	Ag16	Ag17
Хемијска формула	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{AgN}_3\text{O}_3$	$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{AgF}_3\text{N}_2\text{O}_2$	$\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{Ag}_2\text{B}_2\text{F}_8\text{N}_4\text{O}$	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{AgClN}_2\text{O}_4$	$\text{C}_{36}\text{H}_{26}\text{Ag}_2\text{F}_{12}\text{N}_6\text{OSb}_2$
Молекулска маса	350,08	401,09	767,78	387,52	1245,87
Кристални систем	Моноклиничан	Моноклиничан	Триклиничан	Моноклиничан	Триклиничан
Просторна група	<i>P21/c</i>	<i>P21/c</i>	<i>P1</i>	<i>P21/c</i>	<i>P1</i>
Параметри јед. ћелије					
<i>a</i> (Å)	10,7794(15)	11,7244(14)	7,1974(4)	10,2659(6)	10,7878(8)
<i>b</i> (Å)	14,485(2)	14,7916(16)	11,8682(6)	14,6602(11)	12,1188(8)
<i>c</i> (Å)	7,320(2)	7,4544(9)	15,0708(8)	7,9925(7)	14,5250(10)
α (°)	90	90	79,146(4)	90	82,918(5)
β (°)	100,585(17)	95,644(10)	76,397(4)	97,922(6)	88,316(6)
γ (°)	90	90	82,976(4)	90	85,176(6)
<i>V</i> (Å ³)	1123,5(4)	1286,5(3)	1224,75(12)	1191,39(15)	1877,4(2)
<i>Z</i>	4	4	2	4	2
<i>D_x</i> (g/cm ³)	2,070	2,071	2,082	2,160	2,184
μ (mm ⁻¹)	1,801	1,612	1,689	1,931	2,550
Димензије кристала (mm ³)	$0,64 \times 0,26 \times 0,02$	$0,39 \times 0,17 \times 0,05$	$0,30 \times 0,15 \times 0,06$	$0,38 \times 0,167 \times 0,04$	$0,37 \times 0,183 \times 0,07$
Бр. сакупљених рефлексија	12782	16077	13046	12271	6304

Бр. независних рефлексија	2013	2296	4351	2126	6304
R_{int} (%)	0,0684	0,1070	0,0391	0,0371	
Метода утацњавања структуре			Метода најмањих квадрата на бази F^2 (пуна матрица)		
$R [F_o > 4\sigma(F_o)] R(F)$	0,0362	0,0346	0,0236	0,0232	0,0869
$wR(F^2)$	0,0727	0,0800	0,0562	0,0546	0,2495
$\Delta\rho_{\text{max}}$ (e/Å ³)	0,75	0,70	0,562	0,32	1,94
$\Delta\rho_{\text{min}}$ (e/Å ³)	-0,34	-0,61	-0,460	-0,34	-1,77

3.3. Добијање комплекса злата(III) са ароматичним хетероцикличним лигандима који садрже азот у прстену

3.3.1. Добијање $[\text{AuCl}_3(\text{pydz})]$ (**Au1**), $[\text{AuCl}_3(\text{pm})]$ (**Au2**), $[\text{AuCl}_3(\text{pz})]$ (**Au3**), $[\text{AuCl}_3(\text{qx})]$ (**Au4**) и $[\text{AuCl}_3(\text{phz})]$ (**Au5**) комплекса

Комплекси злата(III) са пиридазином (pydz), пиримидином (pm), пиразином (pz), хиноксалином (qx) и феназином (phz) су синтетисани по модификованом поступку који је раније описан у литератури [141,142].

У 1,0 mL апсолутног етанола растворити 0,25 mmol одговарајућег *N*-хетероцикличног једињења (18,5 μL 98% pydz, 19,9 μL 99% pm, 20,0 mg pz, 32,5 mg qx и 45,0 mg phz). У тај раствор лагано и уз мешање додавати раствор, који садржи еквимоларну количину $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ (94,5 mg) раствореног у 5,0 mL воде. Одмах након додатка $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ раствору *N*-хетероцикличног једињења настаје жути талог. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Талог процедити, испрати водом и оставити да се суши на собној температури у мраку, а након тога прекристалисати у дихлорметану. Добијене кристале злато(III) комплекса одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Принос је 92% (88,2 mg) за $[\text{AuCl}_3(\text{pydz})]$, 83% (79,6 mg) за $[\text{AuCl}_3(\text{pm})]$, 85% (81,5 mg) за $[\text{AuCl}_3(\text{pz})]$, 65% (70,4 mg) за $[\text{AuCl}_3(\text{qx})]$ и 89% (107,6 mg) за $[\text{AuCl}_3(\text{phz})]$. Чистоћа и састав свих комплекса су проверени помоћу резултата елементарне микроанализе, ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије.

Израчунато за $[\text{AuCl}_3(\text{pydz})]$ (**Au1**) = $\text{C}_4\text{H}_4\text{AuCl}_3\text{N}_2$ ($M_r = 383,41$): C, 12,53; H, 1,05; N, 7,31%. Нађено: C, 12,87; H, 1,21; N, 7,57%. ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 8,45$ (ddd, $J = 8,2, 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 8,60 (ddd, $J = 8,2, 5,7, 2,1$ Hz, 1H), 9,51 (ddd, $J = 4,9, 2,1, 1,0$ Hz, 1H), 9,92 ppm (ddd, $J = 5,7, 1,5, 1,0$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 135,1, 136,5, 156,5, 156,6$ ppm. IR (KBr, ν, cm^{-1}): 3430(br), 3093(m), 3081(m), 1632(m), 1567(m), 1455(m), 1398(vs), 1299(m), 1221(w), 1153(w), 1058(w), 975(s), 774(vs), 727(m), 687(w), 642(w), 472(w). UV-vis (DMF/ H_2O , λ_{max} , nm): 298 ($\epsilon = 6,9 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Израчунато за $[\text{AuCl}_3(\text{pm})]$ (**Au2**) = $\text{C}_4\text{H}_4\text{AuCl}_3\text{N}_2$ ($M_r = 383,41$): C, 12,53; H, 1,05; N, 7,31%. Нађено: C, 12,96; H, 1,14; N, 7,13%. ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 8,19$ (ddd, $J = 6,1, 4,9, 1,1$ Hz, 1H), 9,32 (dd, $J = 4,9, 2,0$ Hz, 1H), 9,51 (ddd, $J = 6,1, 2,0, 1,3$ Hz, 1H), 9,79 ppm (brs, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz,

CD_3COCD_3): $\delta = 125,2, 157,6, 158,0, 162,6$ ppm. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3437(br), 3095(m), 3070(m), 1637(w), 1591(s), 1552(m), 1465(m), 1412(vs), 1177(w), 1133(w), 1084(w), 1062(m), 951(w), 819(m), 693(s), 641(m), 472(w). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 296 ($\varepsilon = 6,4 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Израчунато за $[\text{AuCl}_3(\text{pz})]$ (**Au3**) = $\text{C}_4\text{H}_4\text{AuCl}_3\text{N}_2$ ($M_r = 383,41$): C, 12,53; H, 1,05; N, 7,31%. Нађено: C, 12,69; H, 1,12; N, 7,15%. ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 9,30$ ppm (AA'BB', 4H). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 145,0, 151,2$ ppm. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3446(br), 3121(m), 3104(m), 1636(w), 1584(w), 1417(vs), 1225(w), 1167(m), 1122(m), 1073(m), 1015(w), 798(s), 725(w), 472(m). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 296 ($\varepsilon = 1,0 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Израчунато за $[\text{AuCl}_3(\text{qx})]$ (**Au4**) = $\text{C}_8\text{H}_6\text{AuCl}_3\text{N}_2$ ($M_r = 433,46$): C, 22,17; H, 1,40; N, 6,46%. Нађено: C, 22,45; H, 1,58; N, 6,49%. ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 8,27$ (ddd, $J = 8,2, 7,1, 1,2$ Hz, 1H), 8,38 (ddd, $J = 8,6, 7,1, 1,4$ Hz, 1H), 8,48 (ddd, $J = 8,2, 1,4, 0,7$ Hz, 1H), 8,90 (ddd, $J = 8,6, 1,2, 0,7$ Hz, 1H), 9,57 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 9,84 ppm (d, $J = 2,7$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 127,2, 131,5, 134,2, 135,5, 137,5, 147,1, 147,8, 149,5$ ppm. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3400(br), 3064(w), 1610(w), 1579(w), 1500(vs), 1465(m), 1423(w), 1384(w), 1355(vs), 1293(w), 1269(w), 1220(m), 1207(m), 1147(m), 1136(m), 1045(m), 971(m), 870(s), 849(m), 780(m), 752(s), 654(w), 538(w), 530(w). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 316 ($\varepsilon = 2,1 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Израчунато за $[\text{AuCl}_3(\text{phz})]$ (**Au5**) = $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{AuCl}_3\text{N}_2$ ($M_r = 483,52$): C, 29,81; H, 1,67; N, 5,79%. Нађено: C, 30,02; H, 1,60; N, 5,91%. ^1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 8,34$ (ddd, $J = 8,7, 6,8, 1,1$ Hz, 2H), 8,58 (ddd, $J = 8,9, 6,8, 1,3$ Hz, 2H), 8,65 (ddd, $J = 8,7, 1,3, 0,6$ Hz, 2H), 9,19 ppm (ddd, $J = 8,9, 1,1, 0,6$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 126,1, 131,9, 133,5, 138,4, 147,5$ ppm. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3435(br), 3053(w), 2923(w), 2852(w), 1618(w), 1598(w), 1521(m), 1470(s), 1432(m), 1384(w), 1352(m), 1285(w), 1230(w), 1173(w), 1127(s), 836(m), 749(vs), 662(w), 594(s), 524(w). UV-vis (DMF/H₂O, λ_{max} , nm): 368 ($\varepsilon = 4,4 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

3.3.2. Добијање $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (**Au7**) комплекса

У 5,0 mL апсолутног етанола растворити 0,25 mmol одговарајућег N-

хетероцикличног једињења (45,0 mg 1,7-phen и 4,7-phen). У тај раствор лагано и уз мешање додавати раствор, који је добијен растварањем еквимоларне количине $K[AuCl_4]$ (94,5 mg) у 5,0 mL етанола. Одмах након додатка $K[AuCl_4]$ у раствор *N*-хетероцикличног једињења настаје жути талог. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 5 h. Након тога, процедити талог, испрати водом, оставити да се суши на собној температури у мраку и након тога прекристалисати у ацетонитрилу. Добијени раствор оставити у фрижидеру, при чему се након 3 – 5 дана издвајају жути кристали злато(III) комплекса. Кристале одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Принос је 63% (76,2 mg) за $[AuCl_3(1,7-phen-N7)]$ и 54% (65,3 mg) за $[AuCl_3(4,7-phen-N4)]$.

Израчунато за $[AuCl_3(1,7-phen-N7)]$ (**Au6**) = $C_{12}H_8AuCl_3N_2$ ($M_r = 483,52$): C, 29,81; H, 1,67; N, 5,79%. Нађено: C, 29,62; H, 1,85; N, 6,01%. 1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 7,98$ (*dd*, $J = 8,2, 4,4$ Hz, H4), 8,36 (*dd*, $J = 8,2, 5,7$ Hz, H10), 8,70 (*d*, $J = 9,4$ Hz, H3), 8,75 (*dd*, $J = 8,2, 1,7$ Hz, H5), 8,89 (*d*, $J = 9,3$ Hz, H9), 9,28 (*dd*, $J = 4,4, 1,7$ Hz, H2), 9,83 (*dd*, $J = 5,7, 1,4$ Hz, H8), 10,20 ppm (*d*, $J = 8,2$ Hz, H6). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 123,78$ (C9), 124,85 (C4), 125,12 (C10), 126,66 (C4a), 131,05 (C10a), 134,69 (C3), 137,08 (C5), 139,37 (C6), 143,96 (C1a), 150,99 (C6a), 151,97 (C2), 152,80 ppm (C8). IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3078(m), 2921(m), 2852(w), 1614(s), 1601(s), 1515(m), 1497(s), 1435(s), 1417(w), 1399(m), 1296(s), 1259(w), 1231(w), 1107(m), 1051(w), 1001(w), 883(w), 858(w), 836(s), 830(s), 796(s), 786(vs), 723(w), 514(w). FIR (CsI, ν , cm^{-1}): 363(s), 340 (sh). UV-vis (DMF, λ_{max} , nm): 322 ($\epsilon = 4,0 \cdot 10^3 M^{-1}cm^{-1}$).

Израчунато за $[AuCl_3(4,7-phen-N4)]$ (**Au7**) = $C_{12}H_8AuCl_3N_2$ ($M_r = 483,52$): C, 29,81; H, 1,67; N, 5,79% Нађено: C, 29,51; H, 1,66; N, 6,05%. 1H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 8,00$ (*dd*, $J = 8,5, 4,4$ Hz, H10), 8,37 (*dd*, $J = 8,4, 5,7$ Hz, H1), 8,73 (*d*, $J = 9,5$ Hz, H6), 9,08 (*d*, $J = 9,6$ Hz, H5), 9,25 (*dd*, $J = 4,4, 1,5$ Hz, H9), 9,47 (*d*, $J = 8,3$ Hz, H8), 9,82 (*dd*, $J = 5,7, 1,2$ Hz, H2), 9,94 ppm (*d*, $J = 8,4$ Hz, H3). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3COCD_3): $\delta = 123,96$ (C10), 124,98 (C1), 125,47 (C10a), 126,88 (C5), 131,05 (C1a), 132,16 (C8), 137,00 (C6), 138,57 (C3), 147,79 (C6a), 149,52 (C4a), 152,05 (C2), 152,96 ppm (C9). IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3077(w), 3058(w), 3039(w), 3005(w), 2965(w), 1582(m), 1527(w), 1498(vs), 1450(m), 1410(m), 1389(w), 1341(w), 1300(s), 1263(w), 1112(w), 1060(w), 825(s), 803(s), 751(w), 565(w), 541(w). FIR (CsI, ν , cm^{-1}): 359(s), 342 (sh). UV-vis (DMF, λ_{max} , nm): 321 ($\epsilon = 3,6 \cdot 10^3 M^{-1}cm^{-1}$).

Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[AuCl_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (Au6**) и $[AuCl_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (**Au7**) комплексе**

Рендгенска структурна испитивања за кристале $[AuCl_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (**Au6**) и $[AuCl_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (**Au7**) комплекса су вршена на бази мерења интензитета рефлексија помоћу дифрактометра Xcalibur CCD к-геометрије применом графитне монохроматске Мо-К α радијације [143]. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе као и други релевантни подаци за поменуте комплексе су приказани у табели 7. Кристали комплекса **Au7** су удвојени и сва израчунавања су вршена коришћењем “*Twining – multi-crystals*” процедуре која се налази у CrysAlis програму [143]. За **Au6** комплекс је извршена апсорпциона и семиемпиријска апсорпциона корекција. Структуре комплекса су решене помоћу директних метода применом ShelXT програма [139], а позициони параметри и анизотропни температурски фактори су подешени коришћењем F² ShelXL програма [140]. Водоникови атоми су позиционирани на израчунатим местима са U вредностима које су 1,2 пута веће од вредности еквивалентних изотропских температурских фактора одговарајућег атома угљеника.

Табела 7. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-}κN4)]$ (**Au7**) комплексе

	Au6	Au7
Хемијска формула	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{AuCl}_3\text{N}_3$	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{AuCl}_3\text{N}_3$
Молекулска маса	483,52	483,52
Кристални систем	Моноклиничан	Триклиничан
Просторна група	$P2_1/C$	$P1$
Параметри јединичне ћелије		
a (Å)	12,1848(3)	7,8420(12)
b (Å)	14,1996(3)	8,8631(14)
c (Å)	7,7110(2)	10,7500(5)
α (°)	90	78,707(8)
β (°)	95,833(2)	87,300(8)
γ (°)	90	66,988(15)
V (Å ³)	1327,24(6)	674,04(17)
Z	4	2
D_x (g/cm ³)	2,420	2,382
μ (mm ⁻¹)	11,67	11,49
Димензије кристала (mm ³)	$0,18 \times 0,05 \times 0,03$	$0,18 \times 0,05 \times 0,03$
Број сакупљених рефлексија	18485	4091
Број независних рефлексија	2336	4091
Број употребљених рефлексија	2126 [$I > 2\sigma(I)$]	3247 [$I > 2\sigma(I)$]
R_{int}	0,041	
Метода утачњавања структуре	Метода најмањих квадрата на бази F^2 (пуна матрица)	
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0,019	0,036
$wR(F^2)$	0,044	0,083
S	1,08	0,93
$\Delta\rho_{\text{max}}$ (e/Å ³)	0,83	1,08
$\Delta\rho_{\text{min}}$ (e/Å ³)	-0,56	-0,87

3.3.3. Добијање $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (**Au8**) и $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-bpe})]$ (**Au9**) комплекса

У 2,0 mL апсолутног етанола растворити 0,25 mmol одговарајућег *N*-хетероцикличног једињења (39,0 mg 4,4'-бипиридина (4,4'-bipy) и 46,1 mg 1,2-bis(4-

пиридил)етана (bpe)). У тај раствор лагано и уз мешање додавати раствор, који садржи 0,5 mmol $K[AuCl_4]$ (188,9 mg) у 5,0 mL етанола. Одмах након додатка злато(III) комплекса раствору *N*-хетероцикличног једињења формира се жути талог. Суд са реакционом смешом увити у алуминијумску фолију и оставити на собној температури уз мешање 3 h. Након тога, процедити жути талог, испрати водом и оставити да се суши један дан на собној температури у мраку. Комплекс $[{AuCl_3}_2(\mu-4,4'-bipy)]$ прекристалисати у ацетонитрилу и добијени раствор оставити у фрижидеру. Након 3 – 5 дана издвајају се жути кристали. Кристале одвојити цеђењем, испрати етром и сушити на ваздуху и собној температури у мраку. Прекристализацијом $[{AuCl_3}_2(\mu-bpe)]$ комплекса у различитим растварачима (DMSO, DMF, ацетон, ацетонитрил, етанол, хлороформ и дихлорометан) нису добијени кристали погодни за рендгенску структурну анализу. Приноси су 78% (148,7 mg) за $[{AuCl_3}_2(\mu-4,4'-bipy)]$ и 76% (150,3 mg) за $[{AuCl_3}_2(\mu-bpe)]$.

Израчунато за $[{AuCl_3}_2(\mu-4,4'-bipy)]$ (**Au8**) = $C_{10}H_8Au_2Cl_6N_2$ ($M_r = 762,82$): C, 15,74; H, 1,06; N, 3,67%. Нађено: C, 16,13; H, 1,15; N, 3,77%. 1H NMR (200 MHz, DMSO): $\delta = 8,34$ (AA'BB', H3, H5), 9,02 (AA'BB', H2, H6). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $\delta = 123,92$ (C3, C5), 146,19 (C2, C6), 148,15 (C4). IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3100(m), 3052(w), 3023(w), 2924(w), 1610(vs), 1534(m), 1485(w), 1420(s), 1321(w), 1231(w), 1219(m), 1082(m), 1045(w), 1028(w), 964(w), 862(w), 823(s), 667(m), 637(w), 568(w), 532(w), 510(w). FIR (CsI, ν , cm^{-1}): 365(s). UV-vis (DMF, λ_{max} , nm): 324,0 ($\epsilon = 3,9 \cdot 10^3 M^{-1}cm^{-1}$).

Израчунато за $[{AuCl_3}_2(\mu-bpe)]$ (**Au9**) = $C_{12}H_{12}Au_2Cl_6N_2$ ($M_r = 790,89$): C, 18,22; H, 1,53; N, 3,54%. Нађено: C, 18,57; H, 1,68; N, 3,60%. 1H NMR (200 MHz, DMSO): $\delta = 3,30$ (s, CH₂), 7,94 (AA'BB', H3, H5), 8,82 (AA'BB', H2, H6). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $\delta = 34,41$ (CH₂), 127,02 (C3, C5), 141,89 (C2, C6), 160,61 (C4). IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3093(m), 3022(w), 2932(w), 1610(vs), 1559(w), 1498(w), 1453(m), 1436(s), 1262(w), 1207(m), 1075(s), 835(s), 575(w), 544(m). FIR (CsI, ν , cm^{-1}) 368(s). UV-vis (DMF, λ_{max} , nm): 318,0 ($\epsilon = 5,1 \cdot 10^3 M^{-1}cm^{-1}$).

Основни кристалографски подаци и рендгенска структурна анализа за $[{AuCl_3}_2(\mu-4,4'-bipy)]$ (**Au8**) комплекс

Рендгенска структурна испитивања за кристале $[{AuCl_3}_2(\mu-4,4'-bipy)]$ (**Au8**) комплекса су вршена на бази мерења интензитета рефлексија помоћу дифрактометра

типа Xcalibur к-геометрије применом графитне монохроматске Мо-К α радијације ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) на 130 К, који је опремљен са Eos CDD детектором и CrysAlisPro софтвером [143]. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за поменути комплекс су приказани у табели 8. Аналитичке нумеричке апсорпционе корекције су урађене применом раније описаног кристалног модела [144]. Структура комплекса је решена помоћу директне методе употребом ShelXS-86 програма [145], а параметри су подешени коришћењем F² ShelXL-2014 програма [140]. Анизотропни позициони параметри су подешени за све атоме осим водоникових атома. Позиције водоникових атома који су везани за атоме угљеника су израчунате на стандардним растојањима (0,95 \AA) и утачњаване употребом „riding” модела са изотропским позиционим параметрима 20% већим од изотропских параметара угљеникових атома. За графичку презентацију кристалне структуре употребљен је CCDC MERCURY компјутерски програм [137].

Табела 8. Подаци о експерименталним мерењима, резултати рендгенске структурне анализе, као и други релевантни подаци за [$\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})$] комплекс (**Au8**)

Au8	
Хемијска формула	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{Au}_2\text{Cl}_6\text{N}_2$
Молекулска маса	762,82
Кристални систем	Моноклиничан
Просторна група	$C2/c$
Температура (К)	130
Параметри јединичне ћелије	
a (Å)	16,2461(6)
b (Å)	7,5152(3)
c (Å)	14,1846(5)
α (°)	90
β (°)	97,938(3)
γ (°)	90
V (Å ³)	1715,24(11)
Z	4
μ (mm ⁻¹)	18,01
Димензије кристала (mm ³)	0,10 × 0,10 × 0,02
Број сакупљених рефлексија	12813
Број независних рефлексија	1517
Број употребљених рефлексија	1419 [$I > 2\sigma(I)$]
R_{int}	0,035
Метода утацњавања структуре	Метода најмањих квадрата на бази F^2 (пуна матрица)
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$	0,019
$wR(F^2)$	0,049
S	1,20
$\Delta\rho_{\text{max}}$ (e/Å ³)	1,02
$\Delta\rho_{\text{min}}$ (e/Å ³)	-0,45

3.4. Експериментална мерења

3.4.1. Елементарне микроанализе

Елементарне микроанализе за С, Н и N параметре су рађене на Микроаналитичком одељењу Института за хемију, Хемијског факултета, Универзитета у Београду и Адолф Меркл Институту (*Adolphe Merkle*), Универзитета у Фрибургу.

3.4.2. NMR (^1H и ^{13}C) мерења

За снимање ^1H и ^{13}C NMR спектра употребљени су DMSO- d_6 , DMF- d_7 , CDCl_3 и CD_3COCD_3 растварачи. ^1H и ^{13}C NMR спектри су снимљени на спектрометру фирме Varian Gemini 2000 на 200 односно 51,3 MHz и на Bruker Avance III 400 MHz спектрофотометру на 400 MHz, односно 101 MHz. Спектри су снимани у NMR киветама пречника 5 mm.

3.4.3. UV-vis мерења

Сви електронски апсорпциони спектри су снимљени на Shimadzu double-beam спектрофотометру, који је опремљен хелијом за термостатирање, у опсегу таласних дужина 200 – 900 nm. Експериментални резултати су обрађивани применом компјутерских програма Origin 9.0 и Microsoft Office Excel 2010.

3.4.4. IR мерења

Инфрацрвени спектри су снимљени на Perkin Elmer Spectrum One спектрофотометру у области од 4000 - 450 cm^{-1} коришћењем KBr технике. FIR спектри су снимљени на Perkin Elmer 983 спектрофотометру.

3.4.5. Волтаметријска мерења цикличном волтаметријом

Циклични волтамограми су снимљени на потенциостату/галваностату (CH Instruments, USA). Дијамантска електрода (Windsor Scientific, UK) је коришћена као радна електрода. Засићена Ag/AgCl је употребљена као референтна, а платинска жица као помоћна електрода. Проводни електролит за извођење волтаметријских мерења је био тетра-*n*-бутиламонијум-хексафлуорфосфат.

3.4.6. MS мерења

ESI-MS спектри у позитивном моду су снимљени на Bruker Esquire Ion Trap масеном спектрометру, на Институту за хемију Универзитета у Фрибургу.

3.4.7. Испитивање стабилности комплекса

Стабилност синтетисаних комплекса сребра(I) и злата(III) је праћена применом UV-vis спектрофотометрије и ^1H NMR спектроскопије у периоду од 48 h. Поред тога, испитивана је стабилност комплекса сребра(I) и злата(III) на ваздуху и светлости. Стерилни целулозни дискови су импрегнирани са 5,0 μL раствора комплекса и лиганата коришћених за њихову синтезу концентрације 50,0 mg/mL. Раствори испитиваних једињења су припремљени у DMSO или DMF као растварачу. Стабилност комплекса је визуелно праћена директним излагањем целулозних дискова атмосферском ваздуху и дневној светлости у периоду од 48 и 96 h на собној температури.

3.5. Квантно-механичке методе

За оптимизацију геометрије комплекса коришћен је M06-2X функционал у комбинацији са cc-pVDZ базисним скупом [146,147] за атоме H, C, N и Cl и LanL2TZ(f) базисним скупом [148] за атоме злата. Све структуре су оптимизоване без ограничења, док је утицај растварача на геометрију комплекса испитиван помоћу CPSCM методе [149]. За сва теоријска израчунавања је коришћен Gaussian 09 компјутерски програм [150].

3.6. Биолошка испитивања

3.6.1. Припрема хранљивих подлога

Luria Bertani подлога (LB-течна подлога)

У 1,0 L дејонизоване воде додати триптон (10,0 g), екстракт квасца (5,0 g) и натријум-хлорид (10,0 g). Мешати док се додате супстанце не растворе. Добијени раствор стерилисати у аутоклаву 20 min на 15 psi (1,05 kg/cm³).

Luria Bertani подлога (LA-чврста подлога)

У 1,0 L дејонизоване воде додати триптон (10,0 g), екстракт квасца (5,0 g), натријум-хлорид (10,0 g) и агар (14,2 g). Мешати док се додате супстанце не растворе. Добијени раствор стерилисати у аутоклаву 20 min на 15 psi (1,05 kg/cm³).

RPMI подлога

У 900,0 mL аутоклавиране воде додати комерцијални RPMI (10,4 g) и MOPS (3-(*N*-морфолин)пропансулфонска киселина) (34,5 g). pH вредност раствора подесити на приближно 7,0 помоћу 1,0 M раствора NaOH. Добијени раствор разблажити водом до 1,0 L, а затим стерилизовати уз помоћ филтрације (0,22 микрометра филтери) и чувати на 4 °C.

Saburand dextrose подлога (SAB)

У 950,0 mL дејонизоване воде додати глукозу (40,0 g), пептон (10,0 g) и агар (15 g). pH вредност раствора подесити на приближно 5 - 6 и разблажити водом до 1,0 L. Раствор стерилисати у аутоклаву 20 min на 15 psi (1,05 kg/cm³).

Spider подлога

У 950,0 mL дејонизоване воде додати хранљиву подлогу (10,0 g), манитол (10,0 g), калијум-фосфат (2,0 g) и агар (13,5 g) и разблажити водом до 1 L. Добијени раствор стерилисати у аутоклаву 20 min на 15 psi (1,05 kg/cm³).

3.6.2. Антимикробна активност

Минималне инхибиторске концентрације (MIC) сребро(I) и злато(III) комплекса и лиганата коришћених за њихову синтезу су одређене стандардним микродилутационим тестом у течном медијуму, који је препоручен од стране Националног удружења за клиничке лабораторијске стандарде (M07-08) за бактеријска испитивања и према стандардима Европског удружења антимикробних тестова (Edef.7.1.) [151]. Концентровани раствори испитиваних једињења су припремљени и чувани у DMSO или DMF растварачу на 4 °C. Есеји су извођени у микротитарским плочама са 96 бунарића. Коришћена је двострука серија разблажења у LB течној подлози код антибактеријских испитивања и у RPMI подлози са 2% глукозе код антифунгалних испитивања, при чему су почетне концентрације

испитиваних једињења биле у опсегу од 500 – 250 $\mu\text{g/mL}$. Бактеријске културе су гајене у LB подлози и разблажене до оптичке густине OD_{625} од 0,00001 (10^5 cfu/mL), док су фунгалне колоне гајене на SAB подлози и разблажене до оптичке густине OD_{530} од 0,0001 (10^4 cfu/mL). Бактерије и гљиве инкубиране у DMSO или DMF су коришћене као позитивна контрола раста. Стерилност је контролисана у бунарићима који су садржавали само подлогу. Испитивање је изведено у дупликату за свако једињење. По потреби стандардни раствори антибиотика (канамицин) и антимицотика (нистатин и амфотерицин Б) су коришћени као позитивна контрола.

Бактеријски сојеви који су се користили за испитивање су *Escherichia coli* NCTC 9001, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* NCTC 11994, *Micrococcus luteus* ATCC 379 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. За испитивање су се користили и различити сојеви гљива, *C. albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 2001 and *C. krusei* ATCC 6258.

Апсорбанца је мерена на апарату Infinite200 PRO Тесан на таласној дужини од 600 nm непосредно након инокулације ($t = 0$) и 24 h након инкубације ($t = 24$ h). MIC је дефинисан као најнижа концентрација антимицробног агенса која инхибира видљиви раст након 24 h.

3.6.3. Тест цитотоксичности методом МТТ есеја

Цитотоксичност синтетисаних комплекса и једињења коришћених у њиховим синтезама је испитивана МТТ тестом. МТТ тест је колориметријска метода којом се одређује проценат преживелих ћелија, односно којом се процењује инхибиција раста. МТТ тест се заснива на способности метаболички активних ћелија да редукују жути тетразолијум МТТ (3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолијум бромид) у љубичасти формазан који се даље може солубилизовати и квантификовати спектрофотометријским методама [152].

Ћелије хуманих фибробласта плућа (MRC5), ћелије тумора грлића материце (HeLa) и карцинома плућа (A549; све ћелије су из ATCC колекције) налазиле су се у RPMI-1640 подлози суплементираној са 100 $\mu\text{g/mL}$ стрептомицина, 100 U/mL пеницилина и 10% говеђег серума (FBS). Ћелије су засејане на плочи од 96 бунарића, при чему је густина ћелија била 1×10^4 ћелија по бунарићу у запремини од

100,0 μL RPMI подлоге. Ћелије су остављене да се залепе за дно суда преко ноћи у инкубатору у атмосфери 5% CO_2 на 37 $^\circ\text{C}$. Плоче су остављене у инкубатору за време од 48 h након чега се пажљиво одлије подлога, а да се при том не поремети слој ћелија залепљен за дно бунарића. Додато је по 50,0 μL свежег стерилисаног раствора МТТ (0,5 mg/mL у RPMI) у сваки бунарић. Плоче су затим инкубиране још 1 h. Медијум и раствор МТТ су затим уклоњени пажљиво са плоче како се не би пореметио талог формазана на дну бунарића. Кристали формазана су растворени у 50,0 μL DMSO и мерена је апсорбанца на 540 nm. Вредности апсорпције третираних бунарића су биле изражене као проценат нетретираних контрола у циљу добијања процентних вредности. Процентне вредности су приказане у функцији концентрација и из добијене криве су одређене IC_{50} вредности. Цитотоксичност је изражавана као концентрација једињења која инхибира 50% раст ћелија (IC_{50}) у односу на контролу (нетретиране ћелије) [153]. Индекс селективности је рачунат као однос IC_{50} и MIC вредности.

3.6.4. Хемолитички потенцијал

Хемолитички потенцијал синтетисаних комплекса сребра(I) је испитиван на агар плочама које садрже овчију крв применом дифузионе методе. Columbia агар плоче са 5% овчије крви (BD, Sparks, Maryland, USA) су стерилним пастеровим пипетама избушене и на тај начин су направљени бунарићи пречника 5 mm. Након тога је додато 50,0 μL 25 mM раствора испитиваних комплекса сребра(I), одговарајућих соли сребра(I) и лиганата коришћених за синтезу испитиваних комплекса и сребро(I)-сулфадиазина (AgSD). Плоче су инкубиране 72 h на 30 $^\circ\text{C}$. Хемолитички потенцијал је процењен на основу јасно уочљивих светлих зона око бунарића.

3.6.5. Ефекат комплекса сребра(I) на развој филамената код *Candida albicans* соја

Испитиване су морфолошке промене код *C. albicans* соја услед присуства синтетисаних комплекса сребра(I) са 1,7- и 4,7-фенантролином као лигандима, гајене на Spider подлози припремљеној према претходно описаном поступку (одељак 3.1.6). Хранљива подлога, на којој је гајена *C. albicans*, припремљена је тако да садржи субминималну инхибиторску концентрацију (75% MIC) испитиваних једињења,

сребро(I)-сулфадиазина и нистатина. Подлоге су инкубирани на 37 °C током 36 h и праћена је морфологија *C. albicans* колонија формираних на Spider хранљивој подлози визуелизацијом помоћу микроскопа.

3.6.6. Стварање реактивних кисеоничних врста (ROS) код *Candida albicans* соја

Стварање интрацелуларних кисеоничних врста је праћено помоћу флуоресцентне боје 2',7'-дихлорфлуоресцин-диацетат (DCFH-DA, Sigma) [154]. 10^7 ћелија/mL *C. albicans* у SAB подлози су инкубирани 1,5 h на 30 °C и 200 rpm са 4 x MIC концентрацијама [Ag(NO₃-O,O')(1,7-phen-N7)₂] комплекса, 1,7-фенантролина и сребро(I)-сулфадиазина. Позитивна контрола је третирана са 4 µg/mL амфотерицина Б. Након обојења са 10 µM DCFH-DA на 30 °C током 30 min, ћелије су сакупљене и испирани два пута са PBS-ом. Одређени су интензитети флуоресценције (екстинкција на 488 nm и емисија на 540 nm) испитиваних ћелија са CyFlow Space Partec проточним цитометром, коришћењем Partec FloMax софтвера (Partec GmbH, Munster, Germany). Експеримент је поновљен 3 пута.

3.6.7. *In vivo* ембриотоксичност и антиангиогени потенцијал

In vivo испитивање леталне и тератогене токсичности комплекса, одговарајућих соли метала и лиганата коришћених за синтезу комплекса је вршено на моделу ембриона зебрица, по стандардима OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test; OECD: Paris, France, 2013; test no. 236). Дивљи сој зебрице (*Danio rerio*) је гајен у узгајалишту за зебрице при контролисаним условима (28 °C температура воде, светлосни режим 14 h дан; 10 h мрак) и храњене су сувом храном (TetraMin™ flakes; Tetra Melle, Germany) два пута дневно и свежим *Artemia nauplii* једном дневно. Након парења адултних женки и мужјака (однос 2 : 3), добијени ембриони су сакупљени и испирани од детритуса, а потом гајени у Петријевој шољи са водом за ембрионе (0,2 g/L of Instant Ocean® Salt у дестилованој води) на температури од 28,5 °C.

Ембриони су пребачени у плоче од 24 бунарића, које садрже 1,0 L ембрио медијума, при чему се 10 ембриона налазило у сваком бунарићу и инкубирани су на 28 °C. Јаја су 4 или 6 h након оплодње (hpf – 4 h post fertilization) третирана са више различитих концентрација у зависности од испитиваних једињења. Као негативна

контрола је коришћен 0,25% DMSO, односно 0,035% DMF. Експерименти су поновљени 2 пута користећи 30 ембриона по испитиваној концентрацији.

Приликом одређивања токсичности испитиваних једињења, апикалне тачке су снимане 24, 48, 72, 96 и 114 hpf помоћу инвертног микроскопа (СКХ41, Olympus, Токуо, Јапан). На свака 24 h мртви ембриони су пребројани и одбачени. После 96, односно 114 hpf, ембрионима је дата анестезија додатком 0,1% раствора трикаина (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), фотографисани су и убијени замрзавањем на -20 °C више од 24 h. Експеримент се сматра валидним ако је проценат нормалних ембриона или ларви у контролном бунарићу (0,25% DMSO) најмање 90%. LC₅₀ (концентрација која узрокује смртност 50% ембриона) и EC₅₀ (концентрација која узрокује леталне и тератогене поремећаје код 50% ембриона) су одређиване помоћу програма ToxRatPro (ToxRat®, Software for Statistical Analysis of Biotests, ToxRat Solution GmbH, Alsdorf, Germany, Version, 1.10.05).

Сви експерименти су урађени у складу са Европском директивом 86/609/ЕЕС и према правилнику за рад са огледним животињама Института за Молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду.

Трансгени ембриони зебрица *Tg(fli1:GFP)* су коришћени за одређивање антиангиогеног потенцијала комплекса злата(III) са 1,7- и 4,7-фенантролином као лигандима. Ови ембриони имају изражен зелени флуоресцентни протеин (EGFP) у ендотелијалним ћелијама. Ембриони зебрица *Tg(fli1:GFP)* су добијени од др Ане Цвејић (Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, UK). Трансгени ембриони су настали мрешћењем дивљег типа одраслих јединки *Tg(fli1:GFP)* и одгајани су у ембрио води на 28 °C, у условима који су претходно описани. Ембриони су постављени 20 hpf. Непосредно пре третирања комплекса злата(III), ембриони су били распоређени и раздвојени финим пинцетама у плоче са 24 бунарића, при чему се 10 ембриона налазило у сваком бунарићу. Ембриони су инкубирани на 28 °C у 1,0 mL ембрио воде која садржи различите концентрације испитиваних комплекса (2,5, 5, 10 и 17,5 μM). Као негативна контрола је коришћен 0,035% раствор DMF. Након третирања ембриона испитиваним комплексима, ембрионима је дата анестезија додатком 0,003% раствора трикаина и они су фотографисани. Развијени интерсегментални крвни судови (ISVs) и субинтестинални крвни судови (SIVs) ембриона су посматрани и сликани 48 и 72 hpf на флуоресцентном микроскопу (Olimpus BX51, Applied, Imaging Corp., San Jose, CA, USA). Ауранофин (Sigma-

Aldrich), и сунитиниб (Sutent, Pfizer, New York) су клинички агенси који инхибирају ангиогенезу, и коришћени су као позитивна контрола [155,156]. У циљу одређивања тератогеног потенцијала испитиваних једињења, одређиван је тератогени индекс (ТИ), као однос LC_{50} и EC_{50} вредности. Антиангиогена активност је одређивана на основу вредности терапеутског индекса (ТW), који представља однос LC_{50} и IC_{50} концентрација.

3.7. Интеракције комплекса сребра(I) и злата(III) са биомолекулима

3.7.1. *In vitro* ДНК интеракције применом гел електрофорезе

Геномска ДНК (gDNK) пореклом из *P. aeruginosa* PAO1 и *C. albicans* ATCC 10231 је изолована помоћу DNeasy tissue kit (Quiagen, Hilden, Germany) или по методи Nikodinovic *et al.* [157]. Квалитет и концентрација испитиваног ДНК молекула су проверени на основу мерења апсорбанце на NanoVue Plus спектрофотометру (GE Healthcare, Freiburg, Germany). За експерименте раздвајања и визуелизације је коришћен електрофорезни агарозни гел [158,159]. gDNK је помешан са раствором испитиваних комплекса у фосфатном пуферу (pH = 7,4) концентрације 25 $\mu\text{g/mL}$, након чега је раствор инкубиран 12 h на 37 °C. Након инкубације, раствор је нанет на 0,8% агарозни гел, који садржи 0,1 $\mu\text{g/mL}$ етидијум-бромида (3,8-диамино-5-етил-6-фенилфенантридинијум бромид, ЕБ) у ТАЕ пуферу (40 mM Tris ацетат/1 mM EDTA, pH = 7,4) на 60 V у периоду од 2 h. Гел је сниман и анализиран коришћењем Gel Doc EZ система (Bio-Rad, Life Science, Hercules, USA), који је опремљен Image Lab™ софтвером.

3.7.2. CD спектралне анализе

CD спектри ДНК хеликса из сперме харинге (dsDNA) и одговарајућег сребро(I) комплекса, који је додаван у различитим аликвотима (0 – 500 μL) су снимљени на Jasco J-815 циркуларном дихроичном полариметру (JASCO, UK), који је калибрисан са амонијум(+)-10-камфорулфонатом. Спектри су снимљени у опсегу таласних дужина 900 – 200 nm, при чему је брзина скенирања била 200 nm/min. Коришћене су кварцне кивете, оптичке дужине од 0,1 mm са временом интеграције података 2 s. Добијени резултати су нормализовани одузимањем базне линије која је снимљена у 10 mM натријум-бикарбонатном пуферу (pH = 8,0). Добијени резултати су изражени као елиптичност (mdeg).

3.7.3. UV-vis спектрофотометријска мерења

У циљу одређивања константи везивања синтетисаних комплекса за ДНК снимљени су електронски апсорпциони спектри раствора комплекса и овог биомолекула. Концентрација комплекса је била константна, док је концентрација ДНК молекула варијабилна. На основу добијених података израчунате су унутрашње константе везивања [160] према једначини:

$$[\text{ДНК}]/(\varepsilon_a - \varepsilon_f) = [\text{ДНК}]/(\varepsilon_b - \varepsilon_f) + 1/K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)$$

при чему су ε_f и ε_b екстинкциони коефицијенти слободног и везаног комплекса. Екстинкциони коефицијент ε_f је одређен из калибрационе криве која је добијена мерењем апсорбанце раствора комплекса различитих концентрација. Екстинкциони коефицијент ε_a је израчунат на основу Ламбер-Беровог (*Lambert-Beer*) закона као однос између измерене апсорбанце испитиваног раствора A_{obs} и концентрације комплекса у том раствору. Добијени резултати су приказивани графички као зависност $[\text{ДНК}]/(\varepsilon_a - \varepsilon_f)$ од $[\text{ДНК}]$. Нагиб добијене праве има вредност $1/(\varepsilon_b - \varepsilon_f)$ и одсечак на у оси $1/K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)$. Константа везивања синтетисаних комплекса за ДНК K_b се добија из односа нагиба и одсечка.

3.7.4. Флуориметријска мерења

Интеракције синтетисаних комплекса са говеђим серум албумином (БСА) и ДНК молекулом који је изолован из тимуса телета (СТ-DNK) су испитиване флуориметријски.

Флуоресцентни емисиони спектри БСА-комплекс система су снимљени у опсегу таласних дужина 280 – 500 nm са ексцитацијом на 275 nm на Jasco FP-6600 спектрофлуориметру. Концентрација БСА је била константна и износила је $1 \cdot 10^{-6}$ M, док је концентрација раствора комплекса била у опсегу 0 – $1 \cdot 10^{-5}$ M. Ширина прореза између ексцитације је била 3 nm, а између емисије 6 nm.

У циљу испитивања компетитивне реакције синтетисаних комплекса и етидијум-бромида (ЕБ) са ДНК, снимљени су флуоресцентни спектри ДНК-ЕБ у присуству синтетисаних комплекса (Jasco FP-6600 спектрофлуориметар).

Концентрација ДНК је била 100 μ M, док је концентрација ЕБ износила 10 μ M. Коначна концентрација комплекса мора бити једнака концентрацији ДНК молекула. Флуоресцентни емисиони спектри су снимљени у опсегу таласних дужина 525 – 800

nm са ексцитацијом на 520 nm. Ширина прореза између ексцитације је била 5 nm, а између емисије 6 nm.

Коришћењем једначине:

$$F_0/F = 1 + K_q\tau_0[Q] = 1 + K_{sv}[Q]$$

израчуната је Стерн-Волмерова константа формирања комплекса са ДНК (K_{sv}) [161,162], F_0 и F представљају интензитет флуоресценције пре и после додатка комплекса, K_q је биомолекулска константа гашења, τ_0 је време живота флуорофоре у одсуству комплекса ($\tau_0 = 10^{-8}$ s) и $[Q]$ концентрација слободног комплекса. Константа везивања и број везујућих места (n) за макромолекул се може израчунати коришћењем следеће једначине: $\log(F_0 - F)/F = \log K_A + n\log[Q]$. K_A је константа везивања комплекса за ДНК молекул, односно за БСА молекул, док n представља број везујућих места. Добијени резултати су приказивани графички као зависност $\log(F_0 - F)/F$ од $[Q]$. Вредност K_A се може добити из пресека праве $\log F_0 - F/F = f(\log[Q])$ са ординатом, а број везујућих места (n) из нагиба праве [161].

3.7.6. Молекулски докинг

Оптимизација геометрије испитиваних сребро(I) комплекса и 1,7-фенантролина је извршена применом В3LYP методе, са 6-31g** базисним сетом за атоме неметала и LanL2DZ базисним сетом за сребро(I) јон. За изучавање интеракција између комплекса и ДНК коришћен је В-ДНК додекамер (CGCGAATTCGCG)₂ (PDB:1BNA) [163]. За припрему ДНК структуре је коришћен AutoDock 4.2 софтверски програм [164], укључујући водоникове атоме и искључујући молекуле воде. Discovery Studio (BIOVIA Software product) [165] програм је коришћен за анализу и приказивање резултата докинга.

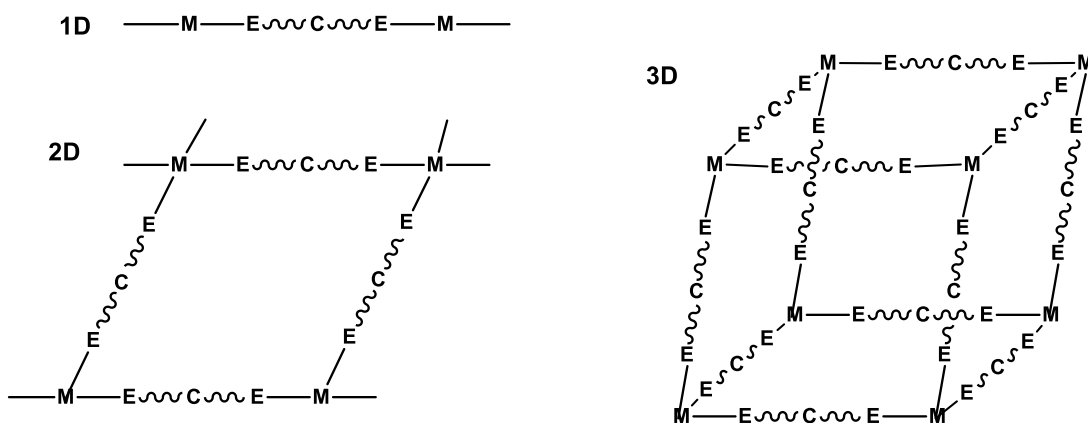
4. ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА

4.1. СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА СРЕБРА(I) И ЗЛАТА(III) СА АРОМАТИЧНИМ ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ ЈЕДИЊЕЊИМА КОЈА САДРЖЕ АЗОТ У ПРСТЕНУ

Ароматична хетероциклична једињења која садрже азот у прстену (*N*-хетероциклична једињења) представљају веома значајну групу лиганата у координационој, бионеорганској и супрамолекулској хемији [166-168]. Поред тога, ова једињења улазе у састав многих природних производа, биолошки активних једињења, као и једињења која се примењују у фармацији и медицини [169-171]. Према величини прстена, ароматична *N*-хетероциклична једињења се могу поделити у две групе: петочлани азоли и шесточлани азини. Азоли и азини формирају стабилне комплексе са великим бројем прелазних метала, а међусобно се разликују по начину формирања π везе са централним јоном метала. И док су петочлани азоли π донори, шесточлани азини су π акцептори, који са јоном метала формирају π везу у процесу повратне донације [172]. Хетероциклична једињења која у својој структури садрже више од једног атома азота, као и она која настају кондензацијом само хетероцикличних прстенова, или хетероцикличних и карбоцикличних прстенова се као лиганди користе за синтезу мононуклеарних и полинуклеарних комплекса, али имају и велики значај у бионеорганској хемији [173,174].

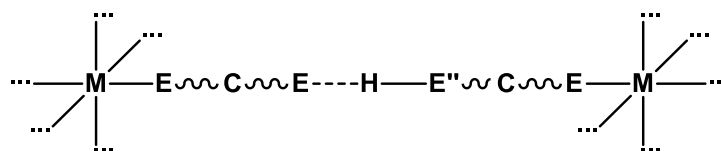
Осим у синтезама комплексних једињења различитих јона прелазних метала, ароматични *N*-хетероцикли имају велики значај и у синтезама координационих

полимера [175,176]. Координациони полимери су једињења састављена од атома или јона метала и молекула лиганата међусобно повезаних везама јачег или слабијег ковалентног карактера у бесконачно дуге 1D ланце или 2D и 3D структуре (Слика 24) [176]. Формирање координационих полимера зависи од врсте метала, његовог оксидационог и координационог броја, дентатности и флексибилности лиганда, одговарајућег анјона, врсте растварача и експерименталних услова синтезе и кристализације.



Слика 24. Шематски приказ 1D, 2D и 3D координационих полимера. М означава јон метала, а Е-С-Е мостни лиганд

Поред координационих полимера, ароматична *N*-хетероциклична једињења се користе у синтезама супрамолекулских полимера, у којима су мономерне јединице међусобно повезане нековалентним интеракцијама (водоничне везе, халогенске везе, π - π интеракције, метал-метал интеракције) (Слика 25).



Слика 25. Шематски приказ супрамолекулског полимера

Ароматична *N*-хетероциклична једињења се такође примењују у синтези комплекса сребра(I) и злата(III), који показују значајну активност према различитим

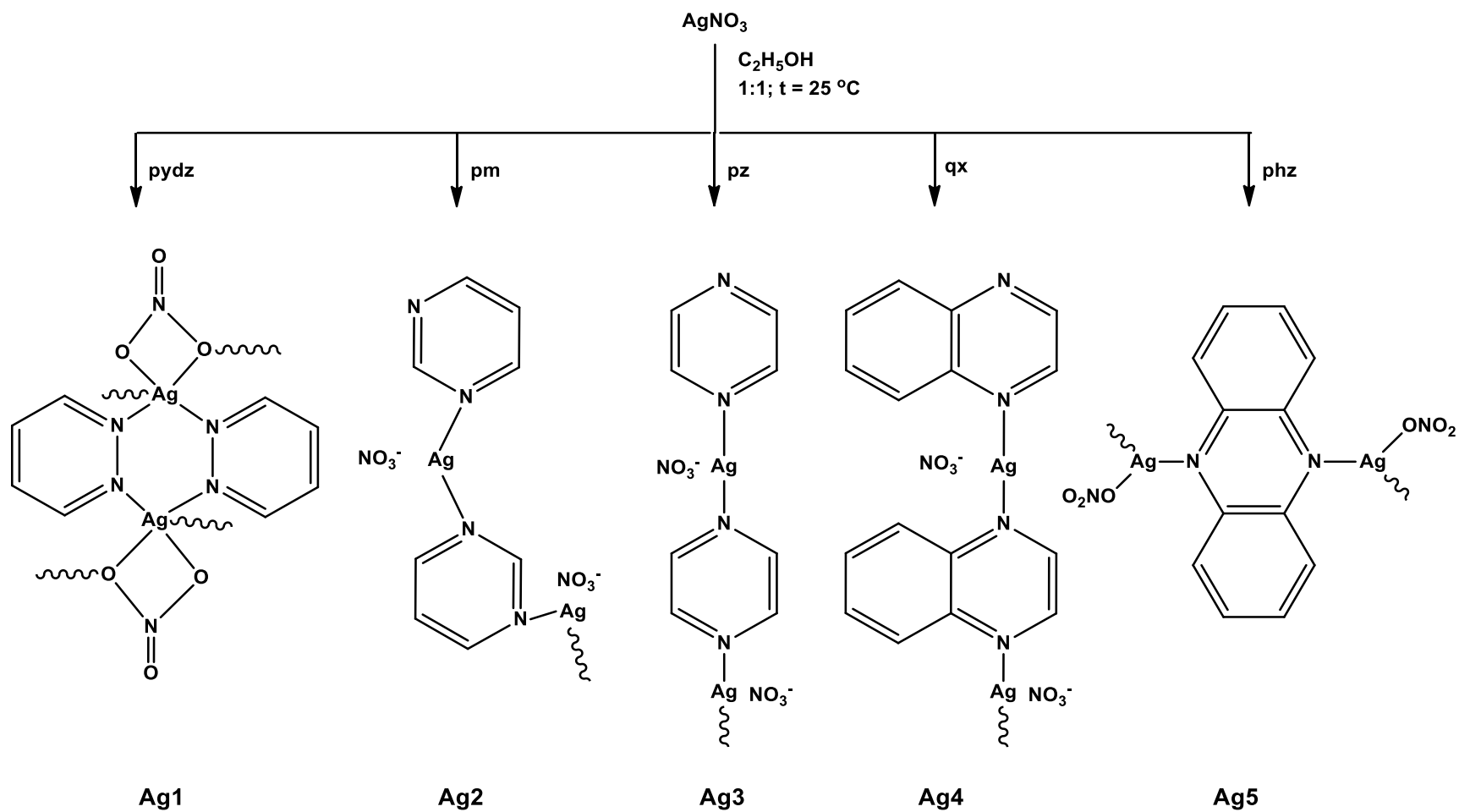
Грам-позитивним и Грам-негативним бактеријама и гљивама, као и према различитим ћелијским линијама тумора [94,95,177-180]. Имајући у виду потенцијални примену комплекса сребра(I) и злата(III) у лечењу бактеријских и гљивичних инфекција и тумора, ова докторска дисертација се бави синтезом, структурном карактеризацијом и испитивањем антимикробне и цитотоксичне активности комплекса сребра(I) и злата(III) са ароматичним хетероцикличним једињењима која садрже азот у прстену. У циљу дефинисања механизма деловања новосинтетисаних комплекса испитиване су њихове интеракције са биомолекулима (ДНК и БСА), хемолитички потенцијал и могућност формирања реактивних кисеоничних врста (ROS).

4.1.1. КОМПЛЕКСИ СРЕБРА(I) СА АРОМАТИЧНИМ ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ ЈЕДИЊЕЊИМА КОЈА САДРЖЕ АЗОТ У ПРСТЕНУ

Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са диазинима и бензодиазинима

У овој студији, у реакцијама AgNO_3 са еквимоларним количинама пиридазина (pydz), пиримидина (pm), пиразина (pz), хиноксалина (qx) и феназина (phz) у етанолу на собној температури добијени су полинуклеарни комплекси сребра(I), у којима сребро(I) јон има различиту геометрију (Слика 26). На основу резултата IR, UV-vis и NMR спектроскопије закључено је да су структуре синтетисаних комплекса сребра(I) у сагласности са претходно објављеним резултатима за комплексе сребра(I) са истим лигандима, чија је структура раније одређена применом рендгенске структурне анализе [132-136].

Комплекс сребра(I) са пиридазином, $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-pydz})_2]_n$ (**Ag1**) је симетричан, при чему се пиридазин понаша као мостни лиганд између два сребро(I) јона. Преостала два координациона места заузимају кисеоникови атоми из нитратног ањона [133]. Комплекс сребра(I) са пиримидином, $[\text{Ag}(\text{pm})](\text{NO}_3)_n$ (**Ag2**), има тетрацикличну структуру и садржи четири сребро(I) јона и четири пиримидина. Сваки јон сребра(I) има савијену геометрију због слабих интеракција са нитратним ањоном [135].



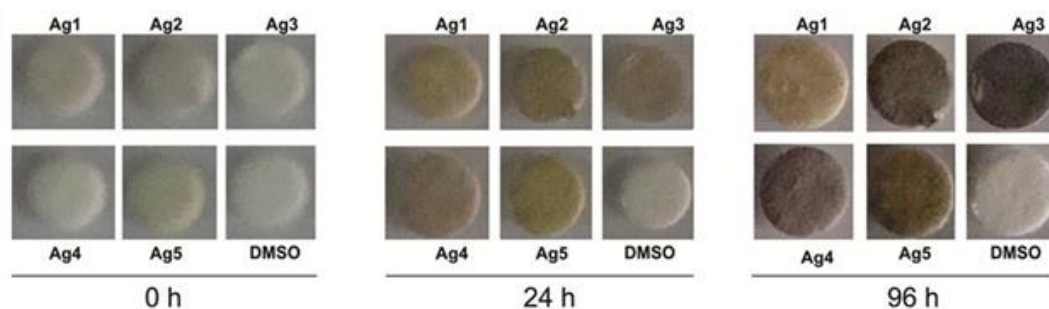
Слика 26. Шематски приказ реакције синтезе **Ag1 - 7** комплекса

Комплекси сребра(I) са пиразином, $\{[Ag(pz)](NO_3)\}_n$ (**Ag3**), и хиноксалином, $\{[Ag(qx)](NO_3)\}_n$ (**Ag4**), су 1D координациони полимери са карактеристичном линеарном геометријом [132,136], док комплекс са феназином, $[\{Ag(NO_3)\}_2(\mu-phz)]_n$ (**Ag5**), има тригонално-планарну геометрију [134]. Асиметрична јединица **Ag5** комплекса садржи сребро(I) јон, нитратни анјон и половину феназинског молекула.

Стабилност **Ag1-5** комплекса

Стабилност **Ag1-5** комплекса у раствору, као неопходан услов за њихова биолошка испитивања [181], праћена је UV-vis спектрофотометријом. Комплекси су растворени у DMSO растварачу и UV-vis спектри су снимљени одмах након растварања и након 24 h инкубације на 37 °C. Уочено је смањење интензитета апсорпционих максимума **Ag1-5** комплекса 24 h након инкубације, при чему се облик спектра није значајно променио. Примећено смањење интензитета апсорпционих максимума се може приписати раскидању везе између одговарајућег лиганда и сребро(I) јона или парцијалној редукцији овог јона метала до елементарног сребра [182]. Стабилност **Ag1-5** комплекса у раствору је додатно испитивана 1H NMR спектроскопијом, при чему није запажена координација молекула растварача за сребро(I) јон нити супституција координованих лиганда.

Испитивање стабилности комплекса сребра(I) на ваздуху и светлости је од великог значаја за њихову примену као антимикуробних агенаса у облику креме или масти [183]. Имајући ту чињеницу у виду, стерилни целулозни дискови импрегнирани са 5,0 μ L раствора комплекса у DMSO (50,0 mg/mL) су изложени светлости на ваздуху током 96 h на собној температури.

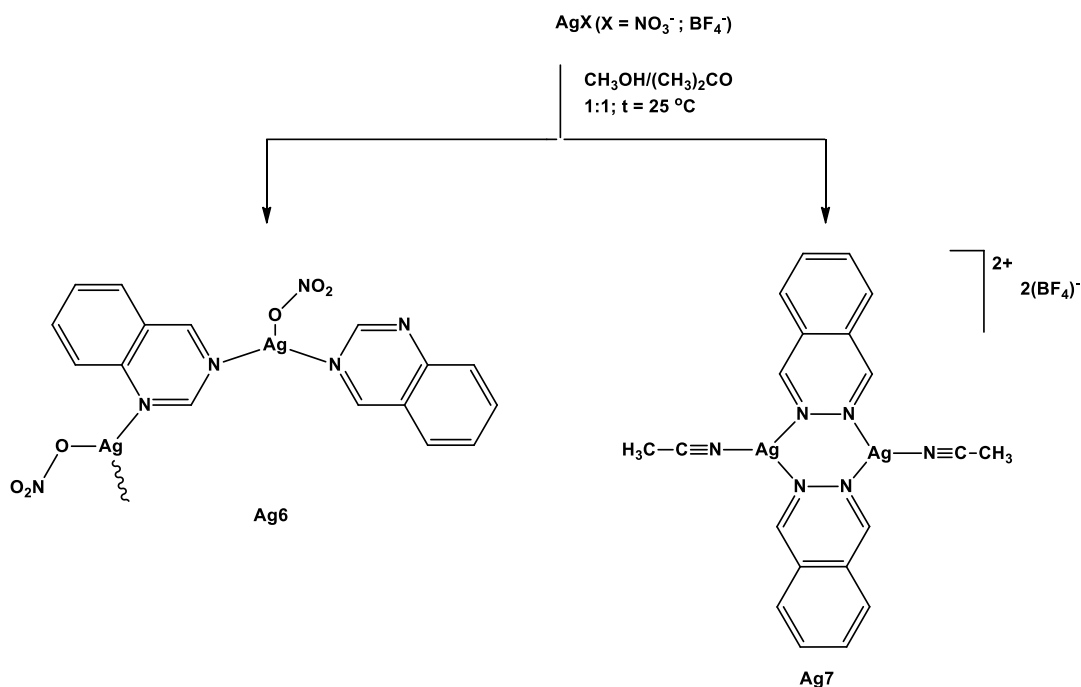


Слика 27. Временска зависност стабилности импрегнираних **Ag1-5** комплекса на целулозним дисковима на светлости и ваздуху и собној температури

Као што се може видети са слике 27, дискови импрегнирани комплексима су постали тамнији после 24 h излагања, док су после 96 h, потпуно потамнели, изузев комплекса сребра(I) са пиридазином (**Ag1**).

Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са хиназолином и фталазином

У реакцији између AgNO_3 и хинозалина (qz) изведеној у 1 : 2 молском односу реактанта у смеси метанол/ацетон (v/v 1 : 1) на собној температури и прекристализацијом добијеног белог талоба у ацетонитрилу, добијен је полинуклеарни $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) комплекс (Слика 28). С друге стране, у реакцији између AgBF_4 и фталазина (phz) при истим експерименталним условима настаје динуклеарни $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) комплекс (Слика 28).



Слика 28. Шематски приказ реакције синтезе $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) комплекса

Ацетонитрил је координован за сребро(I) јон у **Ag7** комплексу, док координација овог растварача није уочена у **Ag6** комплексу. То је у сагласности са чињеницом да је способност ацетонитрила да се координује за сребро(I) јон обрнуто

пропорционална координационој способности анјона, при чему NO_3^- има много већу тенденцију да се координује за сребро(I) од BF_4^- [184]. Наиме, координација NO_3^- анјона за сребро(I) јон спречава координацију ацетонитрила, док слаба интеракција BF_4^- анјона са сребро(I) јоном омогућава формирање динуклеарног $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ комплекса.

Спектроскопска карактеризација **Ag6** и **Ag7** комплекса

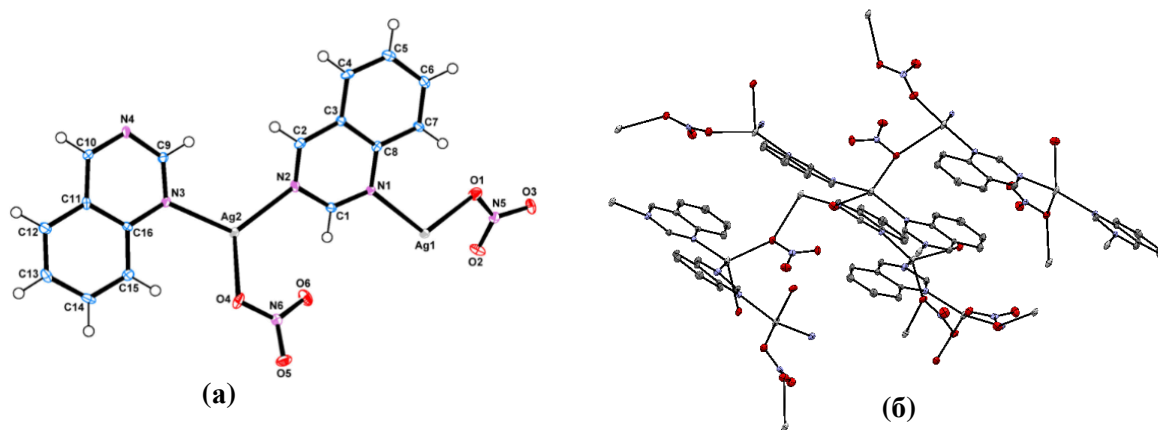
Применом IR спектроскопије се јасно може потврдити координација хиназолина и фталазина у **Ag6** и **Ag7** комплексима, као и нитратног анјона у **Ag6** комплексу. Наиме, две интензивне траке на 1377 и 1352 cm^{-1} које потичу од асиметричних валенционих вибрација нитратног анјона указују на монодентатну координацију NO_3^- анјона [185,186]. С друге стране, присуство интензивне траке на 1058 cm^{-1} и траке средњег интензитета на 767 cm^{-1} указује да је BF_4^- контра-анјон у **Ag7** комплексу [187].

У Експерименталном делу (3.2.2.) приказане су вредности таласних дужина апсорпционих максимума (λ_{max} , nm) и моларних екстинкционих коефицијената (ϵ , $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) за **Ag6** и **Ag7** комплексе. Вредности λ_{max} су веома сличне за некоординоване *N*-хетероцикличне лиганде ($\lambda_{\text{max}}(\text{qz}) = 304\text{ nm}$ и $\lambda_{\text{max}}(\text{phtz}) = 288\text{ nm}$) и одговарајуће сребро(I) комплексе ($\lambda_{\text{max}}(\text{Ag6}) = 306\text{ nm}$ и $\lambda_{\text{max}}(\text{Ag7}) = 298\text{ nm}$). На основу тога је закључено да за оба комплекса, апсорпциони максимуми потичу од $\pi \rightarrow \pi^*$ прелаза у одговарајућем *N*-хетероцикличном лиганду. Апсорпциони максимуми комплекса показују незнатно батохромно померање (померање ка црвеном делу спектра) у односу на апсорпциони максимум некоординованих лиганада.

Опис кристалних структура **Ag6** и **Ag7** комплекса

На слици 29 приказана је структура $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) комплекса која је одређена применом рендгенске структурне анализе, а одговарајуће дужине веза и углови између веза су дати у табели 9. Као што се са слике 29 може видети, асиметрична јединица **Ag6** координационог полимера садржи два сребро(I) јона, два хиназолина и NO_3^- анјона. Као што се може очекивати за комплексе са

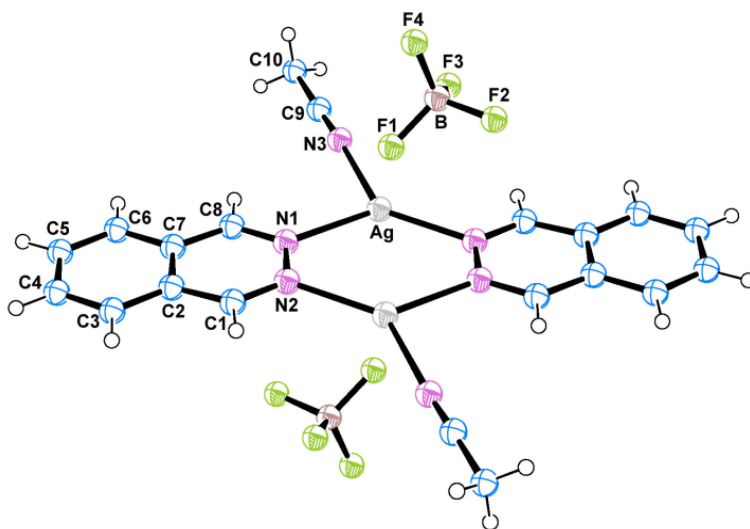
пиримидинским типом лиганда [135,188], хиназолин као мостни лиганд повезује два јона сребра(I) преко два атома азота хиназолинског прстена. Дужина Ag–N(qz) везе је у опсегу 2,255(3) – 2,322(4) Å, што је у сагласности са одговарајућим подацима за раније објављене полимерне комплексе сребра(I) са хетероцикличним лигандима који у прстену садрже азот [189]. Дужине Ag–O веза су у опсегу 2,377(3) – 2,451(3) Å и незнатно су дуже од те везе у раније синтетисаним комплексима сребра(I) (2,3 Å) [190]. Значајно је напоменути да аргентофилне интеракције нису запажене у **Ag6** комплексу, јер је дужина интеракције између два јона сребра(I) много већа од суме ван дер Валсовог радијуса (3,44 Å) [12].



Слика 29. (а) Асиметрична јединица полимерног $[Ag(NO_3)(qz)]_n$ (**Ag6**) комплекса. Елипсоиди су дати са 50% вероватноће, а водоникови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника. (б) Паковање у кристалима **Ag6** комплекса

Динуклеарни $\{[Ag(CH_3CN)]_2(\mu\text{-phtz})_2\}(BF_4)_2$ (**Ag7**) комплекс садржи шесточлани прстен, који чине два Ag(I) јона и четири атома азота два молекула фталазина (Слика 30). Два молекула фталазина су мостни лиганди између два сребро(I) јона, док треће координационо место заузима ацетонитрил. Дужина везе између јона сребра(I) и атома азота Ag–N1/N2(phtz) износи 2,317(1)/2,227(2) Å, што је у сагласности са дужинама Ag–N везе у другим сребро(I) комплексима са *N*-хетероцикличним лигандима [135,189,191-193]. Дужина Ag–N3(ацетонитрил) везе износи 2,245(2) Å, што је у складу са претходно објављеним резултатима (2,18–2,33 Å) [194]. Сребро(I) јон има дисторговану тригонално-планарну геометрију, при чему

углови између веза, N2–Ag–N1, N2–Ag–N3 и N3–Ag–N1, износе 127,44(4), 135,49(5) и 96,99(5)°. За разлику од **Ag6** комплекса, код **Ag7** комплекса су уочене слабе аргентофилне интеракције. Наиме, дужина интеракције између два јона сребра(I) износи 3,386(1) Å, што је незнатно дуже у односу на раније објављене податке за аргентофилне интеракције (2,85 – 3,29 Å [195]), али је краћа од суме ван дер Валсовог радијуса радијуса (3,44 Å) [12]. Поред **Ag7** комплекса, раније су окарактерисани сребро(I) комплекси са фталазином опште формуле $[\{\text{Ag}(\text{X})(\text{phtz})\}_2(\mu\text{-phtz})_2]$, X = NO₃⁻, CF₃SO₃⁻ и ClO₄⁻ [189]. Такође, у реакцији између сребро(I)-bis(трифлуорометансулфонил)имида (AgNTf₂) и фталазина настаје тетрануклеарни [Ag₄(μ-phtz)₇](NTf₂)₄ комплекс, док у присуству 2,2':6',2''-терпиридина (terpy) настаје динуклеарни [Ag₂(μ-phtz)(terpy)₂](NTf₂)₂·2CH₃CN комплекс [196].



Слика 30. Структура $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) комплекса. Елипсоиди су дати са 50% вероватноће, а водоникови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника

Табела 9. Дужине веза (Å) и углови између веза (°) у **Ag6** и **Ag7** комплексима

Ag6		Ag7	
Ag1—O1	2,377(3)	Ag—N1	2,3173(13)
Ag1—N1	2,266(3)	Ag—N2 ⁱⁱⁱ	2,2267(15)
Ag1—N4 ⁱ	2,255(4)	Ag—N3	2,2447(15)
Ag2—O4	2,451(3)	N2—Ag ⁱⁱⁱ	2,2267(14)
Ag2—N2	2,322(4)		
Ag2—N3	2,255(3)		
N1—Ag1—O1	113,19(11)	N2 ⁱⁱⁱ —Ag—N1	127,44(4)
N4 ⁱ —Ag1—O1	121,85(11)	N2 ⁱⁱⁱ —Ag—N3	135,49(5)
N4 ⁱ —Ag1—N1	121,21(13)	N3—Ag—N1	96,99(5)
C1—N1—Ag1	119,4(3)	N2—N1—Ag	117,88(8)
C1—N1—C8	117,5(3)	C8—N1—Ag	122,87(9)
C8—N1—Ag1	123,1(2)	C8—N1—N2	119,26(12)
O3 ⁱⁱ —Ag2—O4	100,56(8)	N1—N2—Ag ⁱⁱⁱ	114,12(9)
N2—Ag2—O4	123,42(10)	C1—N2—Ag ⁱⁱⁱ	125,67(9)
N3—Ag2—O4	103,56(10)	C1—N2—N1	119,65(12)
N3—Ag2—N2	119,69(13)	C9—N3—Ag	174,77(13)
C1—N2—Ag2	114,7(3)		
C2—N2—Ag2	127,8(3)		
C2—N2—C1	116,8(4)		
C9—N3—Ag2	117,7(3)		
C9—N3—C16	117,3(3)		
C16—N3—Ag2	124,7(3)		

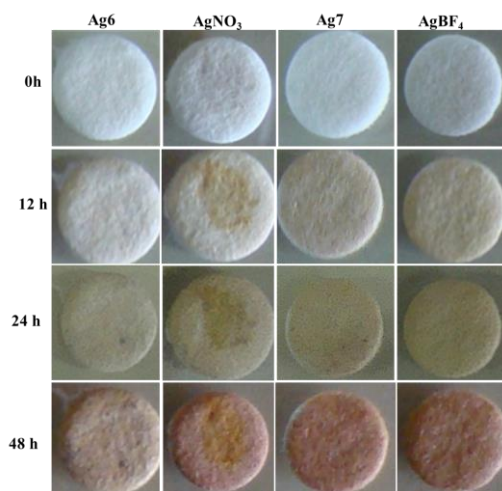
Симетријске трансформације: (i) $x, y+1, z$; (ii) $-x+1, -y+2, z+1/2$; (iii) $-x+2, -y+2, -z+2$

Стабилност **Ag6** и **Ag7** комплекса

У циљу испитивања стабилности $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) комплекса, снимљени су UV-vis спектри у DMSO одмах након растварања, као и након 24 и 96 h инкубације на 37 °C. После 96 h, примећена је промена у интензитету апсорпционог максимума од 7% за **Ag6** и 11% за **Ag7**, док је облик спектра остао непромењен. Стабилност комплекса сребра(I) је додатно праћена ¹H NMR спектроскопијом, при чему није уочена координација DMSO растварача у току времена.

У циљу испитивања стабилности **Ag6** и **Ag7** комплекса на ваздуху и светлости, ови комплекси су импрегнирани на стерилне целулозне дискове (5 µL

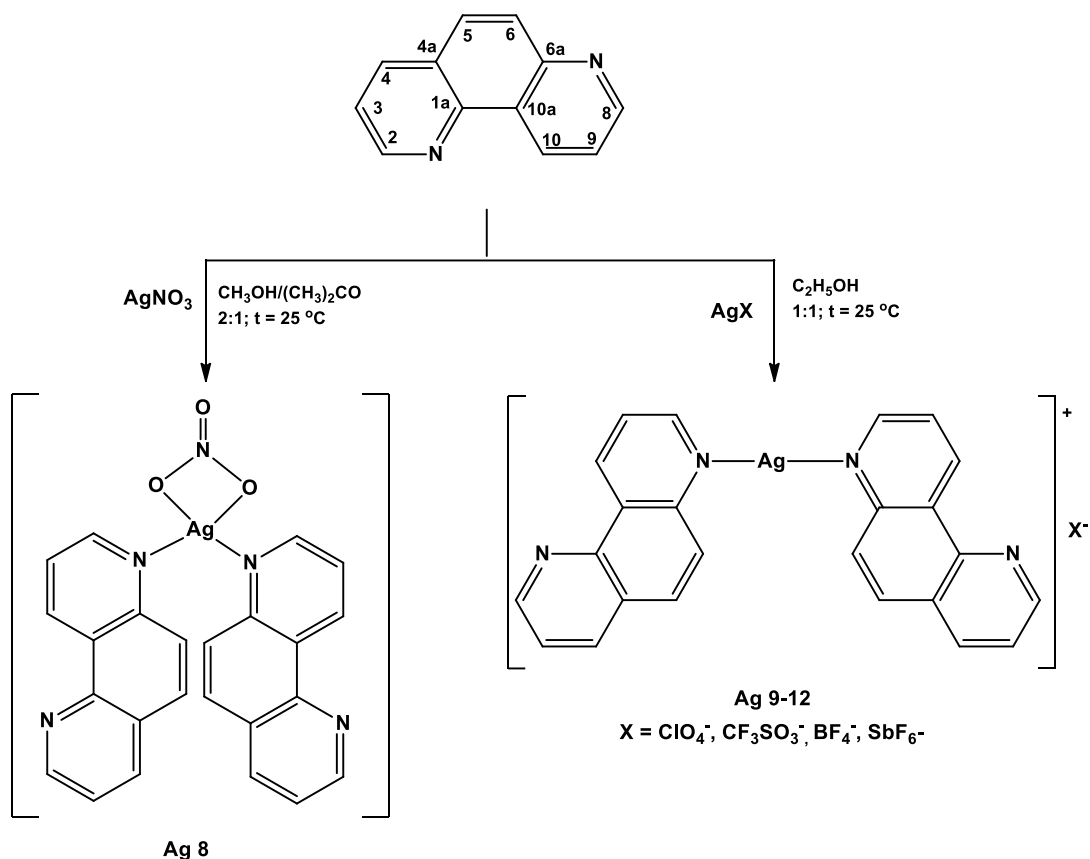
раствора комплекса у DMSO, концентрације 50 mg/mL) и изложени светлости и ваздуху у периоду од 48 h. На основу добијених резултата, може се закључити да су комплекси знатно стабилнији од одговарајућих соли сребра(I). Дискови импрегнирани комплексима мењају боју након 12 h, док након 48 h постају знатно тамнији, што указује на разлагање комплекса под утицајем светлости. При овим условима, комплекс **Ag6** показује већу стабилност у односу на **Ag7** комплекс (Слика 31).



Слика 31. Временска зависност стабилности импрегнираних **Ag6** и **Ag7** комплекса на целулозним дисковима на светлости и ваздуху и собној температури

Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са 1,7-фенантролином

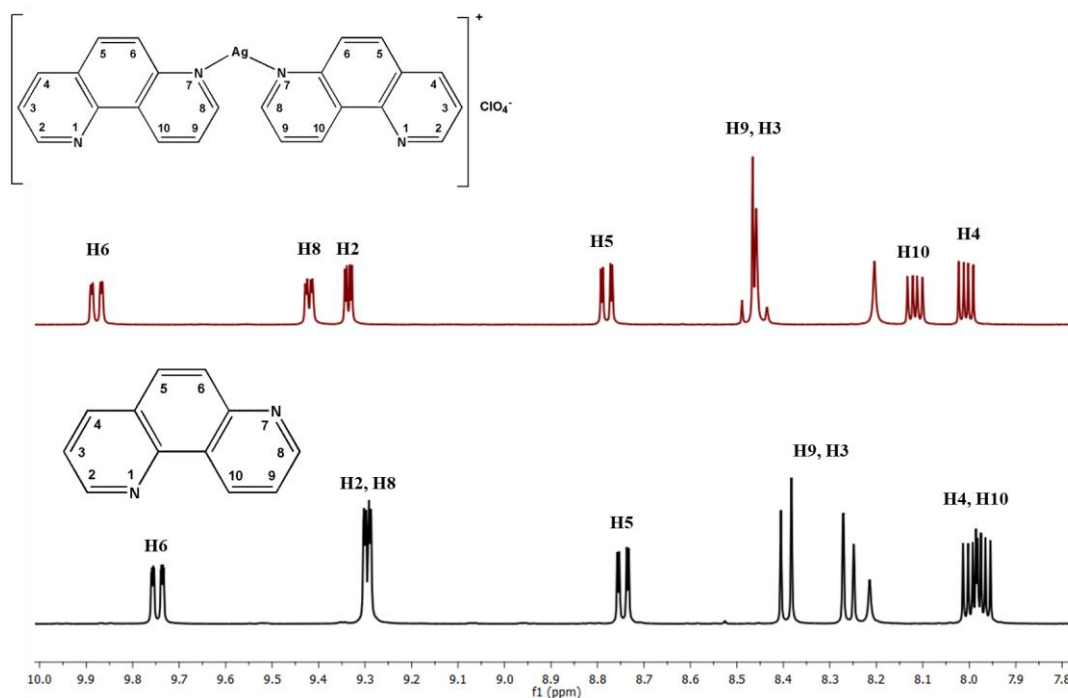
У реакцији између AgNO_3 и 1,7-фенантролина (1,7-phen) у 2 : 1 молском односу у смеси метанол/ацетон (v/v 1 : 1) на собној температури настаје мононуклеарни $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-N}7)_2]$ комплекс (**Ag8**) (Слика 32). У реакцији AgX ($X = \text{ClO}_4^-$, CF_3SO_3^- , BF_4^- и SbF_6^-) и 1,7-phen у 1 : 1 молском односу у етанолу настају $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N}7)_2]\text{X}$ комплекси, $X = \text{ClO}_4^-$ (**Ag9**), CF_3SO_3^- (**Ag10**), BF_4^- (**Ag11**) и SbF_6^- (**Ag12**). Упркос чињеници да су у синтезама комплекса сребра(I) са 1,7-фенантролином коришћене различите AgX соли, у свим случајевима настају комплекси у којима је 1,7-phen монодентатно координован за сребро(I) јон преко стерно мање заклоњеног N7 атома азота.



Слика 32. Шематски приказ за реакцију синтезе комплекса сребра(I) са 1,7-фенантролином **Ag8-12**

Спектрална карактеризација **Ag8-12** комплекса

^1H NMR спектри **Ag8-12** комплекса су снимљени у $\text{DMF-}d_7$ као растварачу. Услед монодентатне координације 1,7-phen лиганда долази до промене његових електронских особина, због чега се у спектру сребро(I) комплекса уочава осам сигнала, за разлику од спектра некоординованог лиганда у коме се може уочити пет сигнала. Координација 1,7-phen за Ag(I) јон узрокује померање сигнала у ^1H NMR спектру ка већој вредности хемијског померања, тј. ка нижем пољу (Слика 33). На основу $\Delta(^1\text{H})_{\text{coord}}$ вредности можемо закључити да се 1,7-phen координује за сребро(I) јон преко стерно мање заклоњеног N7 атома азота.



Слика 33. ^1H NMR спектри 1,7-фенантролина и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{ClO}_4$ (**Ag9**) комплекса, снимљени у $\text{DMF-}d_7$ као растварачу

Интересантно је напоменути да су хемијска померања протонских сигнала за комплексе сребра(I) у зависности од растварача веома мала у односу на протонске сигнале за одговарајући лиганд [183]. Као што је већ поменуто у Општем делу ове дисертације, сребро се у природи налази у облику смеше два изотопа, ^{107}Ag и ^{109}Ag . Оба изотопа су активна у NMR спектроскопији, а квантни број нуклеарног спина је $I = \frac{1}{2}$. Због ниске вредности жиромагнетне константе језгра (γ), изотопи сребра су мале осетљивости и њихови спинови имају дуго време опуштања спин-решетке (T_1), па њихово праћење применом NMR спектроскопије како у раствору тако и у чврстом стању није једноставно.

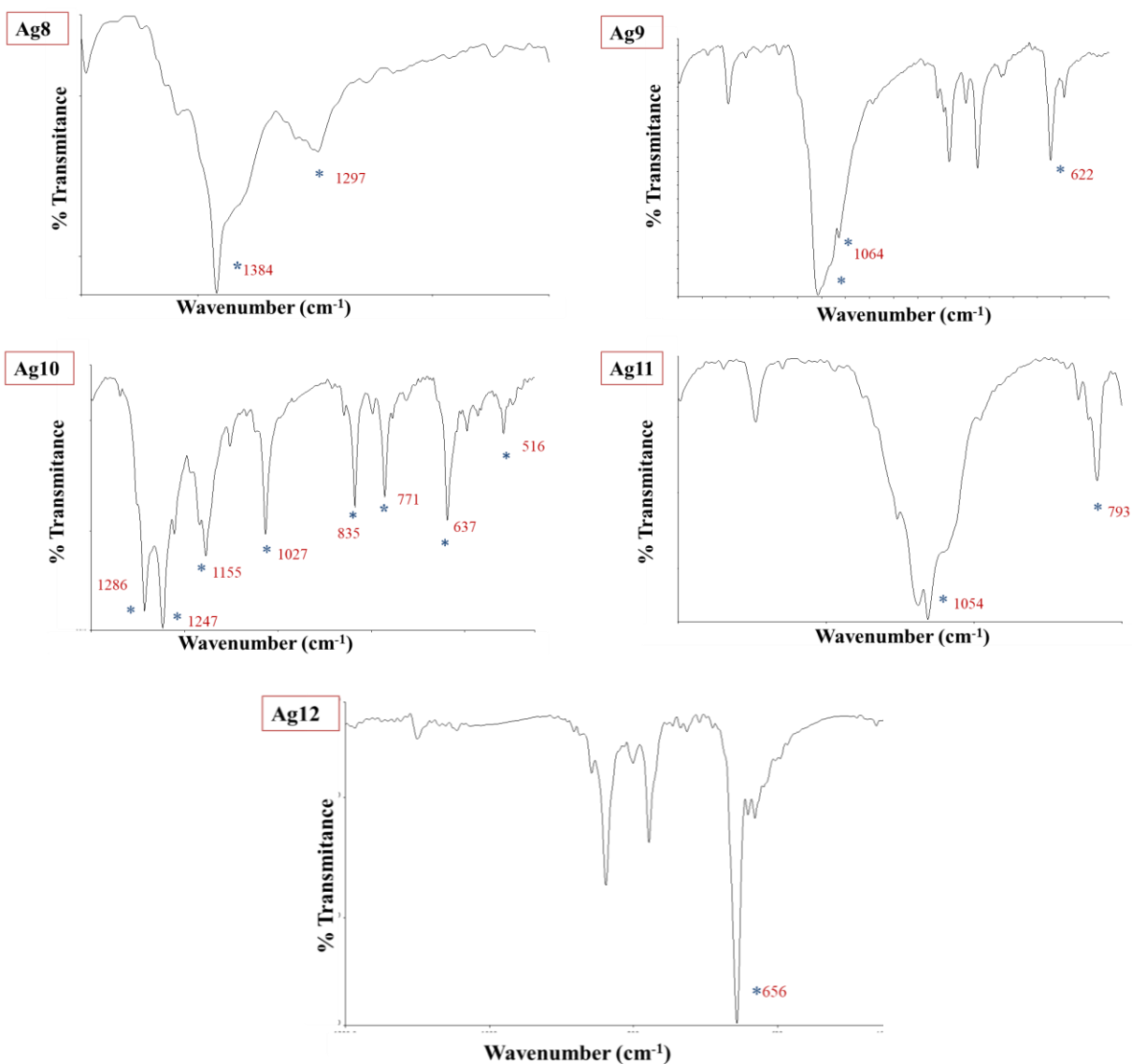
У ^{13}C NMR спектру **Ag8-12** комплекса, сигнали за већину угљеникових атома су померени ка нижем пољу (већем хемијском померању) у односу на одговарајуће сигнале за угљеникове атоме у спектру 1,7-phen лиганда. На основу ових спектра се такође може закључити да је 1,7-phen координан за сребро(I) јон преко N7 атома азота, јер је разлика у хемијским померањима $\Delta(^1\text{H})_{\text{coord}}$ највећа за C6 и C8 атоме

угљеника, који су најближи N7 атому азота. С друге стране, $\Delta(^1\text{H})_{\text{coord}}$ вредност за остале угљеникове атоме је незнатна.

UV-vis спектри **Ag8-12** комплекса и 1,7-phen лиганда су снимљени у смеши DMF/H₂O (v/v 1 : 9). Вредности λ_{max} су веома сличне за некоординовани 1,7-phen ($\lambda_{\text{max}} = 267 \text{ nm}$) и сребро(I) комплексе ($\lambda_{\text{max}} = 268 \text{ nm}$ за Ag8 комплекс и 269 nm за Ag9-Ag12 комплексе), на основу чега је закључено да за комплексе, апсорпциони максимум потиче од $\pi \rightarrow \pi^*$ прелаза у лиганду. Апсорпциони максимуми комплекса показују незнатно батохромно померање у односу на апсорпциони максимум некоординованог лиганда.

IR спектри **Ag8-12** комплекса су снимљени у опсегу таласних бројева 4000 – 450 cm^{-1} . На основу детаљне анализе IR спектра за ове комплексе, могу се извести закључци о начину координације или изостанку координације одговарајућег анјона (Слика 34). У IR спектру $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-N7})_2]$ (**Ag8**) комплекса, трака која потиче од валенционих асиметричних вибрација нитратног анјона је разложена на две траке (1384 и 1297 cm^{-1}), што указује да је нитратни анјон координован. Да би се извели закључци о начину координације овог анјона, потребно је посебну пажњу обратити на област 1800 – 1700 cm^{-1} . У IR спектру **Ag8** комплекса, две слабе траке на 1769 и 1721 cm^{-1} , које потичу од комбинације симетричних деформационих вибрација и вибрација у равни, указују на бидентатну координацију нитратног анјона. Наиме, када је нитратни анјон монодентатно координован разлика у таласном броју између те две траке износи 5 – 26 cm^{-1} , док је у случају бидентатне координације овог јона, разлика много већа и износи 20 – 66 cm^{-1} [185]. У IR спектру $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N7})_2]\text{ClO}_4$ комплекса (**Ag9**) јављају се две јаке траке на 1108 и 1064 cm^{-1} , које потичу од валенционих вибрација перхлоратног анјона, $\nu(\text{ClO}_4)$, и једна трака на 622 cm^{-1} , која потиче од деформационих вибрација овог анјона [197]. Разлагање траке која потиче од $\nu(\text{ClO})$ је, у овом случају, последица формирања водоничних веза у којима учествује кисеоников атом перхлоратног анјона [197,198]. У IR спектру $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N7})_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ комплекса (**Ag10**), у којем је трифлат контра-анјон, карактеристичне су интензивне траке у области 1300 – 1000 cm^{-1} . Јаке траке на 1286 и 1027 cm^{-1} су приписане асиметричним и симетричним валенционим вибрацијама – SO₃ групе трифлатног јона [199]. Неразложена трака која потиче од асиметричних валенционих вибрација -SO₃ групе указује да се CF₃SO₃⁻ понаша као контра-анјон

[200]. Две траке на 1247 и 1155 cm^{-1} потичу од симетричних и асиметричних валенционих вибрација $-\text{CF}_3$ групе трифлатног јона. Траке средњег интензитета на



Слика 34. Карактеристичне траке у IR спектрима **Ag8-12** комплекса које потичу од одговарајућег X анијона ($X = \text{NO}_3^-$, ClO_4^- , CF_3SO_3^- , BF_4^- и SbF_6^-)

637 и 516 cm^{-1} и 754 и 594 cm^{-1} приписују се симетричним и асиметричним деформационим вибрацијама $-\text{SO}_3$ и $-\text{CF}_3$ групе некоординованог CF_3SO_3^- анијона [199]. У IR спектрима $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{BF}_4$ (**Ag11**) и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{SbF}_6$ (**Ag12**), присуство јаке траке на 1059 cm^{-1} и траке средњег интензитета на 793 cm^{-1} и јаке

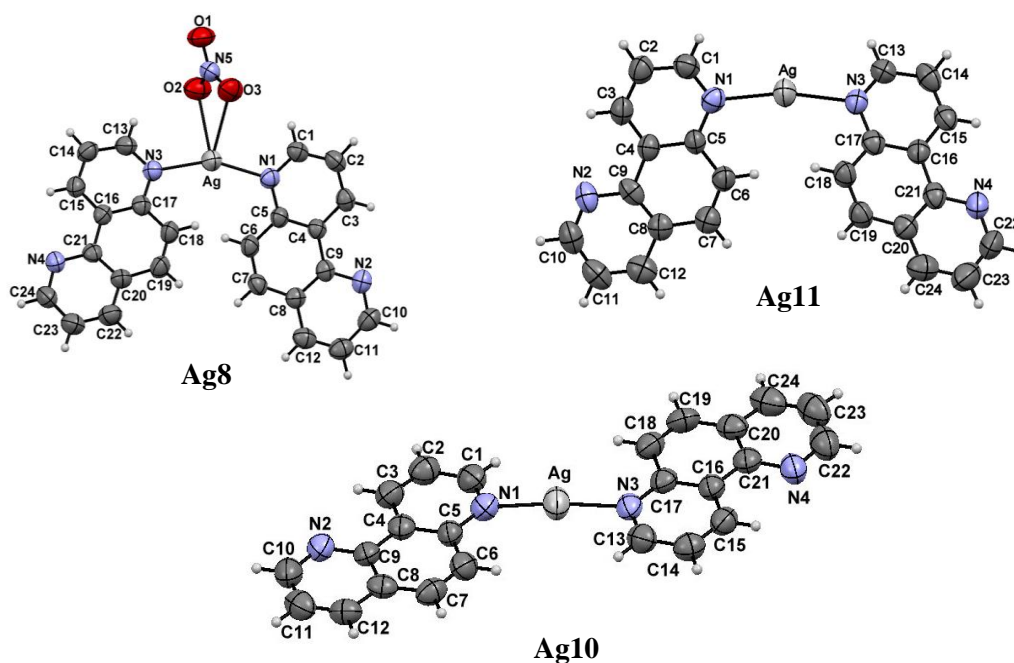
траке на 656 cm^{-1} указује да BF_4^- и SbF_6^- анјони нису координовани за сребро(I) јон (Слика 34) [187,201].

Као што је већ споменуто, сребро се у природи јавља у облику два изотопа, ^{107}Ag и ^{109}Ag , сличне природне заступљености. Због тога се масени спектри сребро(I) комплекса карактеришу појавом дублета са сличним интензитетом пикова што указује на присуство моноклеарних врста у раствору или триплета са односом пикова 1 : 2 : 1, као последица формирања динуклеарних сребро(I) врста [177,202]. Два дублета у ESI масеним спектрима **Ag8-12** комплекса, који се налазе на $m/z = 468,0$ и $361,0$, потичу од $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})_2]^+$ и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ катјона и потврђују да у раствору постоје моноклеарне сребро(I) врсте.

Опис кристалних структура **Ag8**, **Ag10** и **Ag11** комплекса

На слици 35 представљене су структуре $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-N}7)_2]$ (**Ag8**), $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N}7)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (**Ag10**) и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-N}7)_2]\text{BF}_4$ (**Ag11**) комплекса одређене применом рендгенске структурне анализе. **Ag8** комплекс је моноклеаран и има дисторговану тетраедарску геометрију. Сребро(I) јон је координован за два атома азота два 1,7-фенантролинска лиганда и два атома кисеоника нитратног анјона. На дисторзију тетраедарске геометрије указује параметар τ_4 [203], који износи 0,67 ($\tau_4 = [360^\circ - (\beta + \alpha)]/141^\circ$, где су β и α највећи углови око јона метала ($\beta = \text{N1-Ag-N3} = 154,78(15)^\circ$ и $\alpha = \text{N1-Ag-O2} = 110,83(15)^\circ$, Табела 10). За идеалну квадратно-планарну и тетраедарску геометрију, вредност τ_4 параметра износе 0 односно 1 [203]. Два координована атома азота 1,7-phen лиганда су на подједнаком растојању од сребра(I) јона; дужине Ag-N1/N3 веза износи 2,203(4) и 2,206(4) Å (Табела 10). Ове вредности су сличне одговарајућим дужинама веза у другим псеудотетраедарским комплексима сребра(I) [189,192,203]. Дужина Ag-O (нитрат) везе износи 2,630(4) – 2,652(4) Å, што је знатно дуже од просечне дужине Ag-O везе од 2,3 Å [190], на основу чега је закључено да је NO_3^- веома слабо координован за сребро(I) јон. Слично **Ag8** комплексу, **Ag10** и **Ag11** комплекси имају два монодентатно координована 1,7-phen лиганда, док одговарајући анјони (CF_3SO_3^- и BF_4^-) нису координовани за сребро(I) јон. **Ag10** и **Ag11** комплекси имају дисторговану линеарну геометрију, при чему угао N1-Ag1-N3 износи 174,2(3),

односно $166,6(3)^\circ$. Дужине Ag–N веза су сличне као и у другим комплексима сребра(I) са ароматичним хетероцикличним једињењима која у прстену садрже азот [189,191,192].



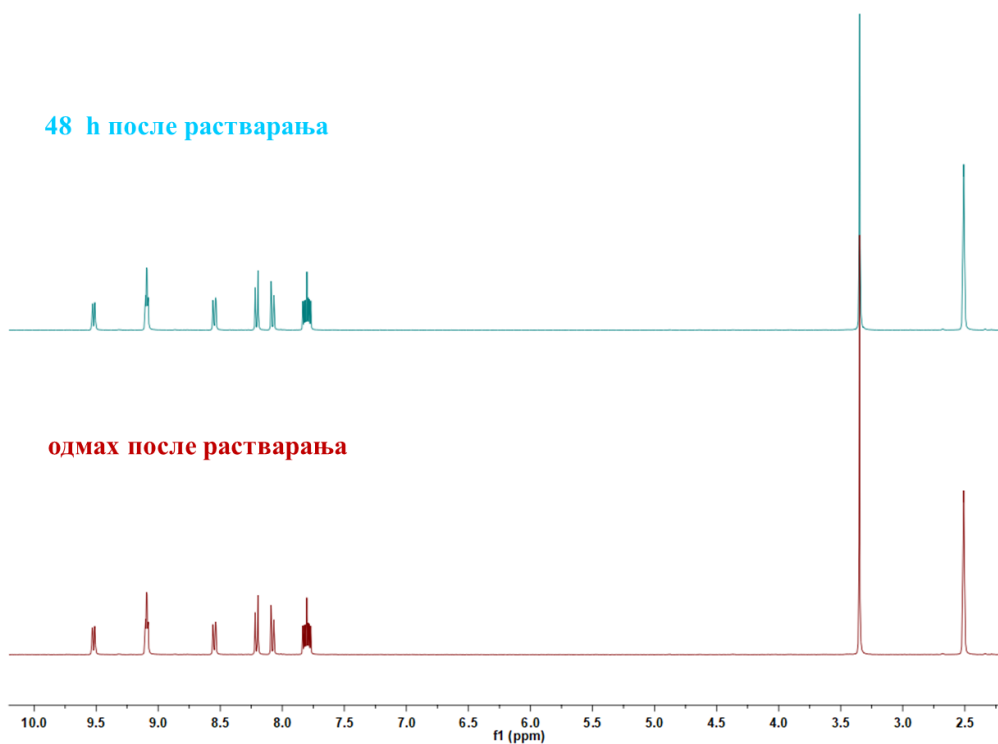
Слика 35. Структуре $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-}N7)_2]$ (**Ag8**), $\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2[\text{CF}_3\text{SO}_3]$ (**Ag10**) и $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{BF}_4$ (**Ag11**) комплекса. Контра-анјони у **Ag10** и **Ag11** нису приказани. Елипсоиди су дати са 50% вероватноће, а водоникови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника

Табела 10. Дужине веза (Å) и углови између веза (°) у [Ag(NO₃-O,O')(1,7-phen-N7)₂] (**Ag8**), Ag(1,7-phen-N7)₂]CF₃SO₃ (**Ag10**) и [Ag(1,7-phen-N7)₂]BF₄ (**Ag11**) комплексима

	Ag8	Ag10	Ag11
Ag—N1	2,203(4)	2,137(10)	2,172(7)
Ag—N3	2,206(4)	2,146(9)	2,191(7)
Ag—O2	2,630(4)		
Ag—O3	2,652(4)		
N1—Ag—N3	154,78(15)	174,2(3)	166,6(3)
N1—Ag—O3	95,33(15)		
N3—Ag—O2	93,83(15)		
O2—Ag—O3	47,85(12)		
N1—Ag—O2	110,83(15)		
N3—Ag—O3	105,53(15)		
N5—O3—Ag	95,1(3)		
N5—O2—Ag	95,8(3)		
C1—N1—Ag	120,6(3)	118,4(8)	121,5(6)
C5—N1—Ag	121,8(3)	121,7(8)	119,6(5)
C13—N3—Ag	119,5(3)	119,2(8)	119,1(6)
C17—N3—Ag	122,7(3)	120,1(7)	120,1(5)

Стабилност Ag8-12 комплекса

Стабилност **Ag8-12** комплекса у раствору је испитивана на основу ¹H NMR спектроскопије. Комплекси су растворени у DMSO-*d*₆, при чему су спектри снимљени одмах и 48 h након растварања. Као што се са слике 36 може видети на примеру **Ag10** комплекса, спектри су непромењени након 48 h, што указује на изузетну стабилност комплекса у раствору. Координација DMSO-*d*₆ за сребро(I) јон и супституција 1,7-phen лиганда нису уочене у току испитиваног временског периода. (Слика 36).



Слика 36. ^1H NMR спектри $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{CF}_3\text{SO}_3$ комплекса (**Ag10**) снимљени у $\text{DMSO-}d_6$ као растварачу одмах и 48 h након растварања

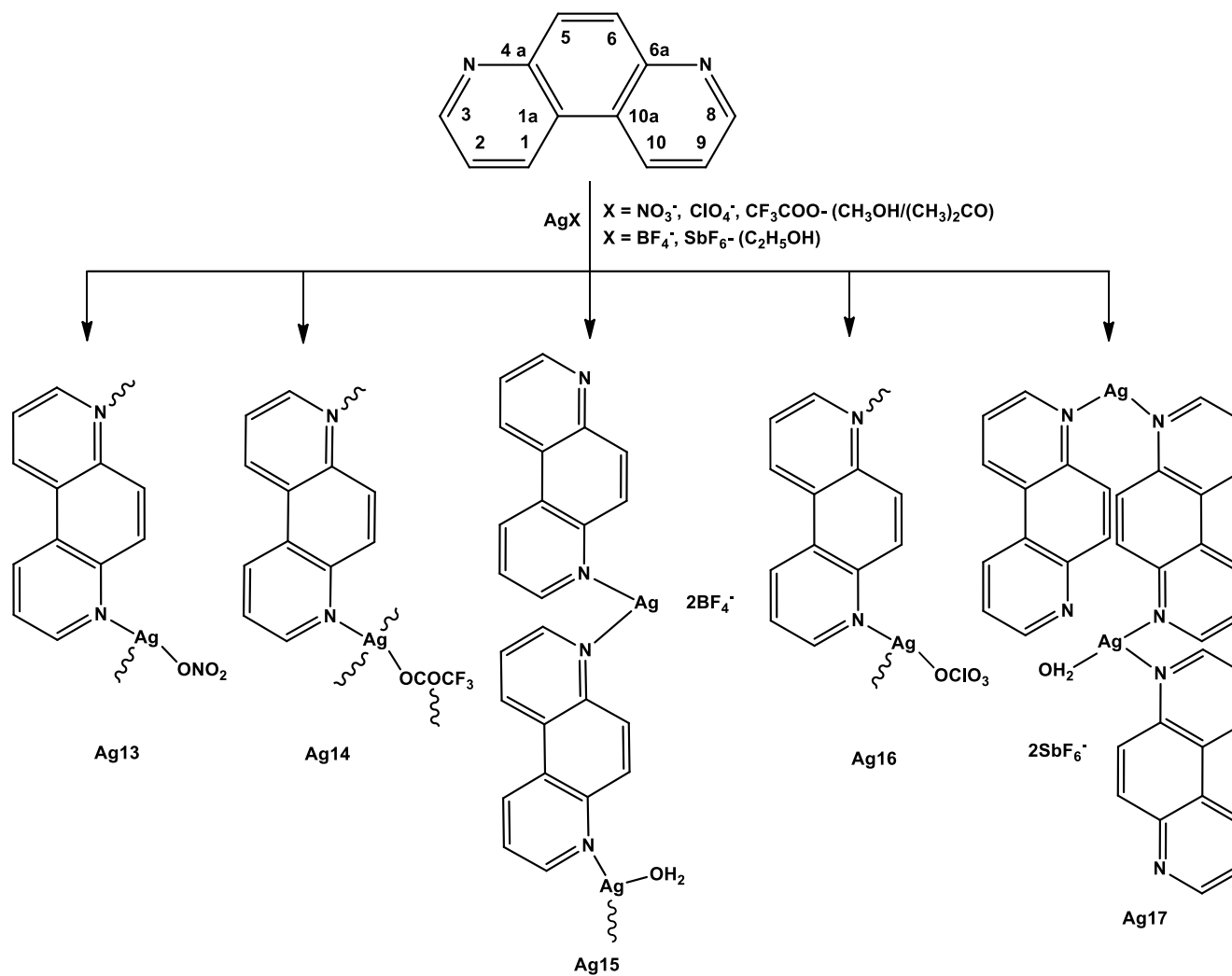
Стабилност **Ag8-12** комплекса је праћена и UV-vis спектрофотометријом. Комплекси су растворени у смеси DMF/ H_2O (v/v 1 : 9). Спектри су снимљени 10 min и 48 h после растварања. Ни у једном случају, нису запажене промене у облику спектра и интензитету апсорпционог максимума, што указује на изузетну стабилност комплекса сребра(I) у испитиваној смеси растварача.

У циљу испитивања фотосензитивности **Ag8-12** комплекса, њихови раствори у DMSO-у су наносени на стерилне целулозне дискове, који су излагани светлости и ваздуху током 48 h. Добијени резултати су показали да дискови са растворима комплекса постају незнатно тамни након 24 h, док су након 48 h постали знатно тамнији, што указује на фотодеградацију комплекса сребра(I) у испитиваном временском периоду.

Синтеза и структурна карактеризација комплекса сребра(I) са 4,7-фенантролином

У реакцијама између AgX ($\text{X} = \text{NO}_3^-$, CF_3COO^- и BF_4^-) и 4,7-фенантролина (4,7-phen) у 2 : 1 молском односу у смеси метанол/ацетон (v/v 1 : 1) на собној температури настају полинуклеарни комплекси $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**) и $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**) (Слика 37). С друге стране, производи реакција између AgClO_4 и AgSbF_6 и 4,7-phen у 1 : 1 молском односу у етанолу на собној температури су $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag16**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) (Слика 37).

У свим комплексима, 4,7-phen има улогу мостног лиганда између два сребро(I) јона. У комплексима **Ag13**, **Ag14** и **Ag16** који настају у реакцијама лиганда са солима сребра(I) које у анјону садрже кисеоник, одговарајући анјон (NO_3^- , CF_3COO^- и ClO_4^-) је монодентатно координован за сребро(I) јон, док анјони полазне соли који садрже флуор (BF_4^- и SbF_6^-) нису координовани за јон метала у **Ag15** и **Ag17** комплексима. У **Ag15** и **Ag17** комплексима за сребро(I) јон је координован молекул воде.



Слика 37. Шематски приказ реакције синтезе комплекса сребра(I) са 4,7-фенантролином (**Ag13-17**) полазећи од различитих AgX соли

Спектрална карактеризација Ag13-17 комплекса

^1H и ^{13}C NMR спектри 4,7-phen лиганда и комплекса сребра(I), $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**), $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag16**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) су снимљени у DMF- d_7 као растварачу. ^1H NMR спектри **Ag13-17** комплекса потврђују присуство симетричне врсте у раствору, јер садрже исти број сигнала као и спектри некоординованог 4,7-phen лиганда. Ово указује на чињеницу да су оба атома азота фенантролинског лиганда, N4 и N7, координована за Ag(I) јон, тј. да се 4,7-phen понаша као мостни лиганд између два Ag(I) јона.

У свим случајевима, координација 4,7-фенантролина за Ag(I) јон узрокује померање сигнала у ^1H NMR спектру ка већој вредности хемијског померања, тј. ка нижем пољу. С друге стране, сигнал који потиче од C4a и C6a угљеникових атома у **Ag13-17** комплексима је померен ка нижем хемијском померању, односно ка вишем пољу, у односу на одговарајући сигнал некоординованог 4,7-фенантролина.

У Експерименталном делу дисертације (3.2.5. и 3.2.6) приказане су вредности таласних дужина апсорпционих максимума (λ_{max} , nm) и моларних екстинкционих коефицијената (ϵ , $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) за 4,7-phen лиганд и **Ag13-17** комплексе. Вредности λ_{max} су веома сличне за некоординовани 4,7-phen ($\lambda_{\text{max}} = 267$ nm) и синтетисане комплексе ($\lambda_{\text{max}} = 272$ nm), на основу чега је закључено да апсорпциони максимуми комплекса потичу од $\pi \rightarrow \pi^*$ електронских прелаза у лиганду. Апсорпциони максимуми комплекса показују незнатно батохромно померање у односу на апсорпциони максимум некоординованог 4,7-фенантролина.

Фреквенције вибрација 4,7-phen лиганда и X ањона ($X = \text{NO}_3^-$, CF_3COO^- , ClO_4^- , SbF_6^- и BF_4^-) се налазе у области $4000 - 450$ cm^{-1} . У IR спектру $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**) комплекса, јављају се две траке (1384 и 1299 cm^{-1}) које потичу од асиметричних валенционих вибрација нитратног јона, што потврђује координацију тог јона [185]. Као што је већ напоменуто, разлика између две веома слабе траке које потичу од комбинације симетричних деформационих вибрација и вибрација у равни (1749 и 1736 cm^{-1}) износи 13 cm^{-1} , што указује на монодентатну координацију нитратног ањона [185]. У IR спектру $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ комплекса (**Ag14**) могу се уочити две траке јаког и средњег интензитета, које

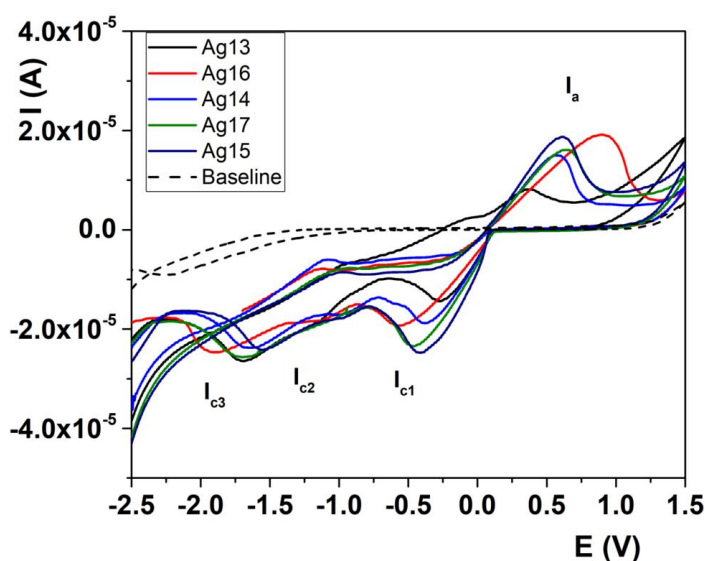
одговарају симетричним и асиметричним валенционим вибрацијама $-\text{CF}_3$ групе трифлуороацетата на 1207 и 1167 cm^{-1} и једна трака на 1105 cm^{-1} , која потиче од валенционих вибрација $\text{C}-\text{O}$ групе овог ањона [183]. Такође, може се уочити једна веома интензивна трака на 1691 cm^{-1} , која потиче од валенционих вибрација координованог карбоксилата [204]. У ИР спектру $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ комплекса (**Ag15**), уочава се једна интензивна трака на 1058 cm^{-1} , која потиче од валенционих вибрација некоординованог BF_4^- ањона [187], као и широка трака на $\sim 3445 \text{ cm}^{-1}$ која одговара валенционим вибрацијама $\text{O}-\text{H}$ групе воде координоване за сребро(I) јон. За ИР спектар $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ комплекса (**Ag16**) карактеристичне су две интензивне траке на 1116 и 1059 cm^{-1} , које потичу од валенционих вибрација перхлоратног ањона, $\nu(\text{ClO}_4)$, и једна трака на 617 cm^{-1} , која потиче од деформационих вибрација овог ањона, $\delta(\text{OClO})$. Две интензивне траке које потичу од $\nu(\text{ClO}_4)$ се јављају услед монодентатне координације перхлоратног ањона за сребро(I) [197]. Код $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ комплекса (**Ag17**), може се уочити присуство интензивне траке која одговара валенционим вибрацијама некоординованог SbF_6^- јона [201]. Ова трака је слабо разложена (655 и 623 cm^{-1}) што је последица формирања водоничних веза између SbF_6^- ањона и координованог H_2O молекула за јон сребра(I).

ESI масена анализа потврђује да је структура **Ag13-17** комплекса у раствору слична структури у чврстом стању. У масеним спектрима свих комплекса, најинтензивнији је сигнал на $m/z = 468,0$, што је у складу са теоријски израчунатим m/z вредностима за $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})_2]^+$ катјон. Поред тог сигнала, у масеним спектрима се може детектовати сигнал на $m/z = 361,0$ који потиче од $[\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{DMF})]^+$ катјона.

Електрохемијска карактеризација Ag13-17 комплекса

Електрохемијско понашање комплекса сребра(I), $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (**Ag14**), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**), $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})]_n$ (**Ag16**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) праћено је применом цикличне волтраметрије у DMSO растварачу у присуству $0,1 \text{ mol/dm}^3$ раствора тетрабутиламонијум-хексафлуорофосфата (ТВАНР) као помоћног електролита. Потенцијали су снимљени

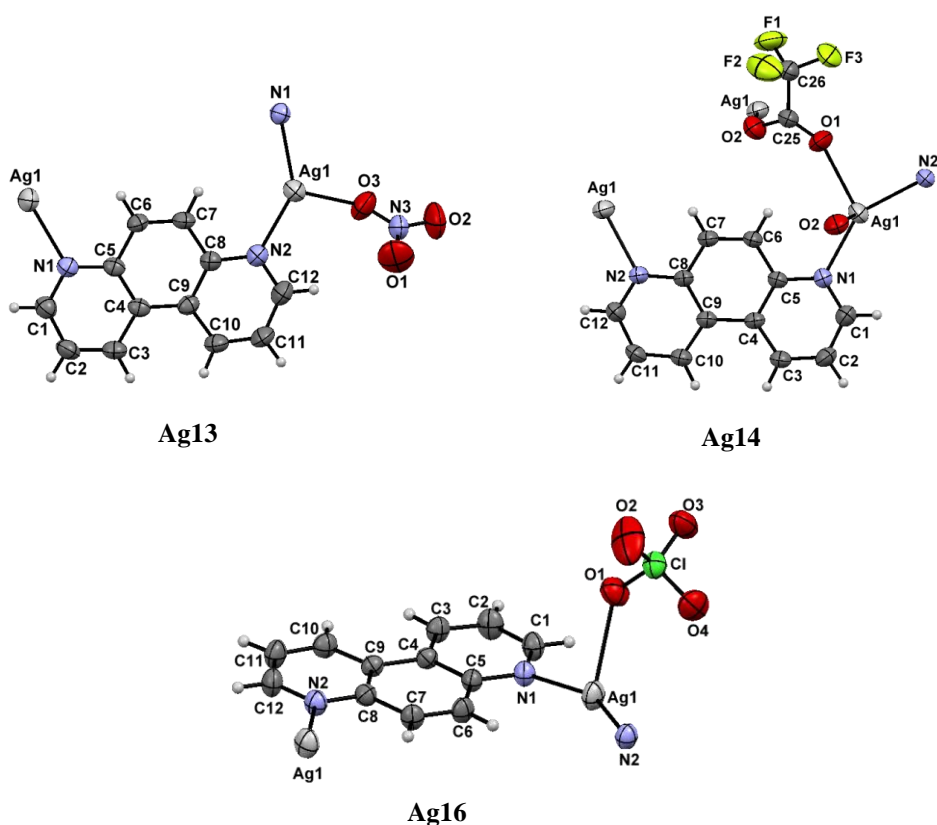
у опсегу $-2,5 - +1,5$ V, и добијени волтамограми су приказани на слици 38. Када је мерење потенцијала вршено у анодном смеру, долази до оксидационог процеса са јасно дефинисаним пиком I_a , чији положај зависи од структуре комплекса. Највеће вредности потенцијала су приписане **Ag14** комплексу, који има дисторговану тетраедарску геометрију, док најмање вредности има **Ag15** комплекс, у коме један Ag(I) јон има линеарну, а други тригонално-планарну геометрију. Овај пик одговара оксидацији елементарног сребра, Ag(0) до Ag(I) [205]. С друге стране, када је мерење потенцијала вршено у супротном смеру, јављају се три пика за сваки испитивани комплекс (I_{c1} , I_{c2} и I_{c3}). Пик I_{c1} се може приписати редукцији Ag(I) јона до Ag(0) и његов положај зависи од структуре комплекса. Други редукциони пик (I_{c2}) се може приписати редукцији фенантролинског фрагмента у комплексима, док се трећи (I_{c3}) може повезати са редукцијом Ag(I) јона и фенантролинског фрагмента [206,207].



Слика 38. Циклични волтамограми $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**), $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag16**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) комплекса снимљени на BDD електроди у DMSO растварачу у присуству $0,1 \text{ mol/dm}^3$ раствора ТВАНР, при брзини скенирања 50 mV/s

Опис кристалних структура Ag13-17 комплекса

Комплекси сребра(I) са 4,7-фенантролином су окарактерисани применом рендгенске структурне анализе. На слици 39 приказане су структуре $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**) и $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag16**) комплекса који садрже координоване анјоне полазне соли сребра(I) преко атома кисеоника, док су дужине веза и углови између веза дати у табели 11. На основу кристалографског испитивања ових комплекса, закључено је да 4,7-phen има улогу мостног лиганда између два Ag(I) јона и да сви комплекси имају полимерну структуру.



Слика 39. Структуре $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**) и $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag16**) комплекса. Елипсоиди су дати са 50% вероватноће, а воденикови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника

Као што се са слике 39 може видети, **Ag13** и **Ag16** комплекси имају дисторговану тригонално-планарну геометрију и садрже једну Ag–O(анјон) и две

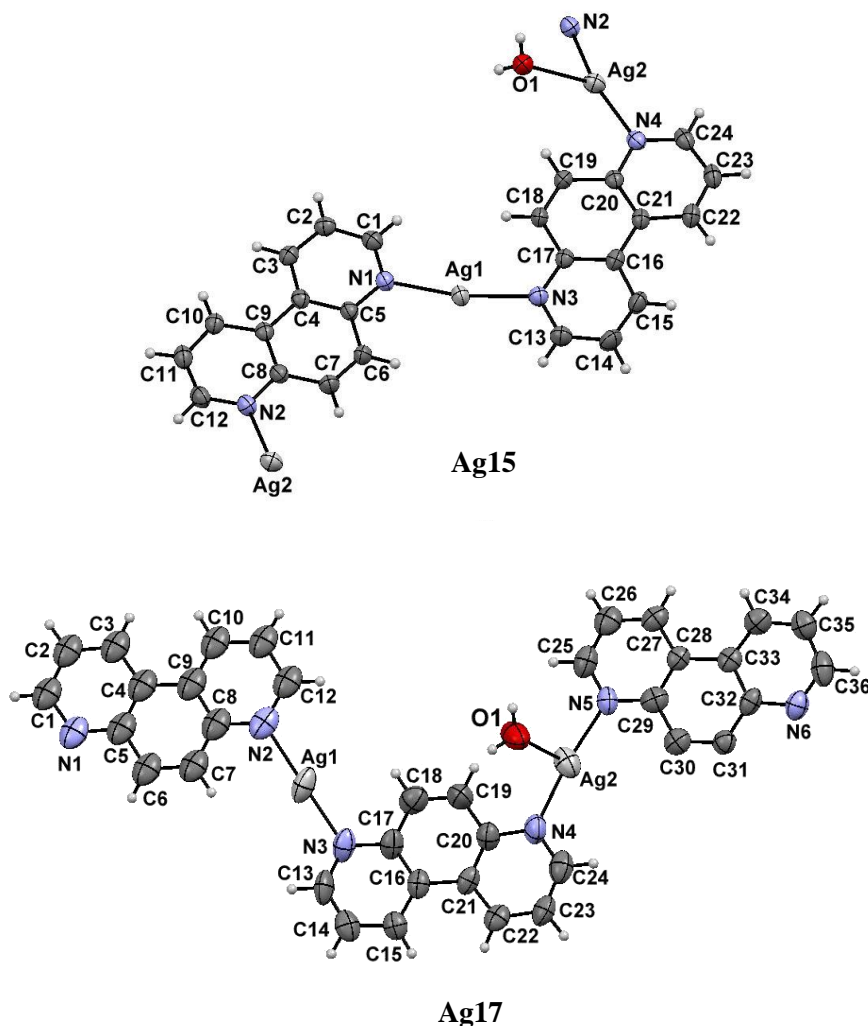
Ag–N(4,7-phen) везе. Дисторзија тригонално-планарне геометрије се може видети на основу вредности одговарајућих углова између веза, N1–Ag–N2, N1–Ag1–O3/O1 и N2–Ag1–O3/O1, које значајно одступају од угла од 120°. С друге стране, **Ag14** комплекс има дисторговану тетраедарску геометрију, што се може закључити на основу вредности τ_4 параметра ($\tau_4 = 0,64$) [203]. У овом комплексу, за сваки Ag(I) јон су координована два атома азота из 4,7-phen лиганда и два атома кисеоника из трифлуороацетата, при чему се 4,7-phen и CF₃COO[–] понашају као мостни лиганди између два Ag(I) јона. Дужине Ag–N и Ag–O веза у **Ag13**, **Ag14** и **Ag16** комплексима су у очекиваном опсегу; сличне дужине одговарајућих веза су утврђене у кристалним структурама раније окарактерисаних комплекса сребра(I) са ароматичним хетероцикличним једињењима која садрже азот у прстену [189-192]. Средња вредност дужине Au–N везе износи 2,271 Å у **Ag13**, 2,246 Å у **Ag14** и 2,194 Å у **Ag16** (Табела 11). У синтетисаним комплексима, Ag–O веза је значајно дужа (2,544(4) Å у **Ag13**, 2,571 Å у **Ag16** и 2,440 Å и 2,636 Å у **Ag14**) од Ag–N веза.

Табела 11. Дужине веза (Å) и углови између веза (°) у [Ag(NO₃-O)(4,7-phen- μ -N4,N7)]_n (**Ag13**), [Ag(CF₃COO-O)(4,7-phen- μ -N4,N7)]_n (**Ag14**) и [Ag(ClO₄-O)(4,7-phen- μ -N4,N7)]_n (**Ag16**) комплексима

Ag13		Ag14		Ag16	
Ag1—N1	2,274(3)	Ag1—N1	2,239(3)	Ag1—N1	2,196(2)
Ag1—N2	2,268(3)	Ag1—N2	2,254(3)	Ag1—N2 ⁱ	2,193(2)
Ag1—O3	2,544(4)	Ag1—O1	2,440(3)	Ag1—O1	2,571(2)
		Ag1—O2	2,636(3)	N2—Ag1 ⁱⁱ	2,193(2)
N1—Ag1—N2	139,34(12)	N1—Ag1—N2	144,95(12)	N2 ⁱ —Ag1—N1	150,98(9)
N1—Ag1—O3	113,16(12)	N1—Ag1—O1	124,22(12)	N2 ⁱ —Ag1—O1	110,70(9)
N2—Ag1—O3	92,34(13)	N2—Ag1—O1	89,78(12)	N1—Ag1—O1	86,10(9)
C1—N1—Ag1	120,9(3)	N1—Ag1—O2	84,49(12)	C1—N1—Ag1	120,2(2)
C5—N1—Ag1	121,4(2)	N2—Ag1—O2	107,51(12)	C5—N1—Ag1	120,44(18)
C12—N2—Ag1	119,2(3)	O1—Ag1—O2	87,43(11)	C12—N2—Ag1 ⁱⁱ	120,3(2)
C8—N2—Ag1	121,3(3)	C1—N1—Ag1	120,5(3)		
N3—O3—Ag1	123,2(3)	C5—N1—Ag1	121,1(2)		
		C12—N2—Ag1	117,6(3)		
		C8—N2—Ag1	123,2(2)		
		C25—O1—Ag1	147,4(3)		

Симетријске трансформације: (i) -x+1, y+1/2, -z+3/2; (ii) -x+1, y-1/2, -z+3/2

На слици 40 приказане су структуре $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) комплекса, код којих одговарајући анјони полазне соли сребра(I) нису координовани за Ag(I). Најважније дужине веза и углови између веза за **Ag15** и **Ag17** комплексе су приказани у табели 12.



Слика 40. Структуре $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) комплекса. BF_4^- и SbF_6^- контра-анјони нису приказани. Елипсоиди су дати са 50% вероватноће, а водоникови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника

Комплекс **Ag15** је полинуклеаран, док је **Ag17** динуклеарни комплекс. У оба комплекса, могу се разликовати два Ag(I) јона (Ag1 и Ag2) различите геометрије. За Ag1 су координована два атома азота из два 4,7-phen лиганда, због чега овај јон

метала има дисторговану линеарну геометрију. Одступање од линеарне геометрије је више изражено у случају **Ag15** комплекса, јер угао N1–Ag1–N3 (165,01(8)°) у већој мери одступа од 180°. За Ag2 јон координована су, такође, два атома азота из два 4,7-phen лиганда, док треће место у координационој сфери заузима кисеоников атом из молекула воде, услед чега јон метала има дисторговану тригоналну геометрију. Молекул воде је јаче координован за Ag2 у **Ag17** у односу на **Ag15**, што се може закључити на основу дужине Ag–O везе у овим комплексима (2,630 Å у **Ag15** и 2,41 Å у **Ag17**, Табела 12). Разлика у дужини Ag–O везе у овим комплексима се може приписати чињеници да је координовани кисеоников атом у **Ag15** комплексу донор водоничне везе у којој је акцептор водониковог атома флуор у BF₄[–] контра-анјону (Табела 13). С друге стране, координовани кисеоников атом из молекула воде у **Ag17** комплексу учествује у интермолекулском водоничном везивању са некоординованим N1 атомом азота 4,7-фенантролина (Табела 13).

Табела 12. Дужине веза (Å) и углови између веза (°) у {[Ag(4,7-phen)][Ag(4,7-phen)(H₂O)](BF₄)₂]_n (**Ag15**) и [Ag₂(H₂O)(4,7-phen)₃](SbF₆)₂ (**Ag17**) комплекса

Ag15		Ag17	
Ag1—N3	2,168(2)	Ag1—N3	2,104(15)
Ag1—N1	2,170(2)	Ag1—N2	2,131(8)
Ag2—N4	2,161(2)	Ag2—O1	2,41(2)
Ag2—N2 ⁱ	2,171(2)	Ag2—N4	2,139(14)
N2—Ag2 ⁱⁱ	2,171(2)	Ag2—N5	2,142(11)
Ag2—O1	2,630(2)		
N1—Ag1—N3	165,01(8)	N2—Ag1—N3	175,5(4)
N2 ⁱ —Ag2—N4	162,57(8)	N4—Ag2—O1	92,9(6)
C1—N1—Ag1	119,42(17)	N4—Ag2—N5	167,7(5)
C5—N1—Ag1	121,89(16)	N5—Ag2—O1	99,3(6)
C12—N2—Ag2 ⁱⁱ	121,07(19)	C13—N3—Ag1	121,5(10)
C8—N2—Ag2 ⁱⁱ	120,27(17)	C17—N3—Ag1	122,4(12)
C13—N3—Ag1	118,75(18)	C12—N2—Ag1	117,2(6)
C17—N3—Ag1	122,34(16)	C8—N2—Ag1	121,6(6)
C24—N4—Ag2	120,66(18)	C20—N4—Ag2	124,4(11)
C20—N4—Ag2	120,62(16)	C24—N4—Ag2	119,3(10)
		C25—N5—Ag2	118,8(9)
		C29—N5—Ag2	123,9(10)

Симетријске трансформације: (i) $x-1, y, z+1$; (ii) $x+1, y, z-1$

Табела 13. Дужине и углови водоничних веза у $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**) и $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) комплексима

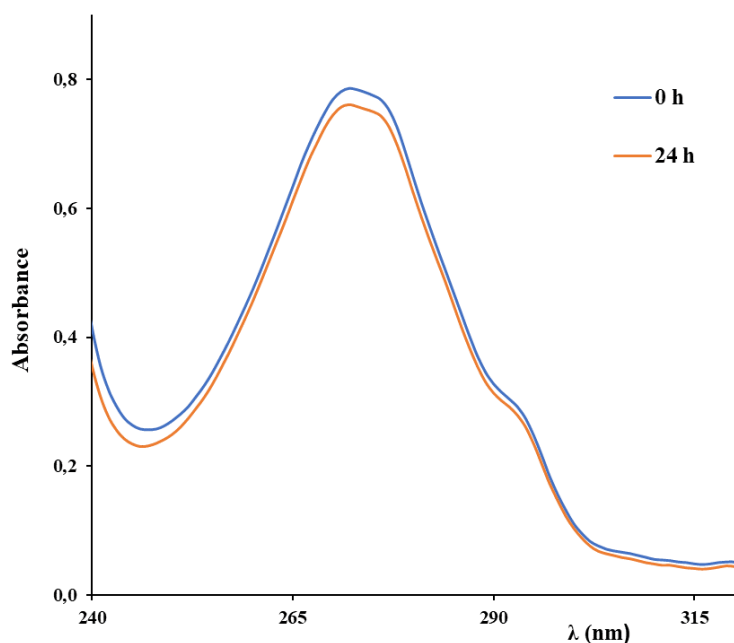
	D–H [Å]	D…A [Å]	H…A [Å]	D–H…A [°]	Симетријске трансформације које се односе на акцепторски атом (A)
Ag15					
O1–H1B…F7	0,75(4)	2,898(3)	2,21(4)	154(4)	$x-I, y, z+I$
O1–H1B…F5	0,75(4)	3,057(3)	2,40(4)	147(4)	$x+I, y, z-I$
O1–H1A…F3	0,74(4)	2,755(3)	2,01(4)	177(4)	$-x+2, -y+I, -z+I$
Ag17					
O1–H1A…N1	0,90(2)	2,69(7)	1,95(6)	139(2)	$+x, +y, -I+z$
O1–H1B…N1	0,91(2)	3,16(8)	2,36(7)	146(2)	$I-x, 2-y, 2-z$

Стабилност Ag13-17 комплекса

Стабилност **Ag13-17** комплекса у раствору је праћена ^1H NMR спектроскопијом, при чему су комплекси растварани у DMSO- d_6 као растварачу. Спектри су снимљени одмах и 48 h након растварања. На основу добијених резултата закључено је да су комплекси изузетно стабилни и да се DMSO- d_6 не координује за сребро(I) јон.

Стабилност **Ag13-17** комплекса је додатно испитивана применом UV-vis спектрофотометрије. Комплекси су растворени у смеси DMF/H $_2$ O (v/v 1 : 9), при чему су спектри снимљени 10 min и 24 h после растварања. Нису запажене промене у облику спектра и интензитету апсорпционих максимума, што указује на изузетну стабилност комплекса сребра(I) у испитиваној смеси растварача. Поред тога, резултати UV-vis спектрофотометријских испитивања су показали да су синтетисани комплекси стабилни у RPMI медијуму са 2% глукозе (Слика 41).

У циљу испитивања фотосензитивности **Ag13-17** комплекса, њихови раствори у DMSO су наносени на стерилне целулозне дискове, који су излагани светлости и ваздуху током 24 h на собној температури. Добијени резултати су показали да дискови са растворима комплекса постају незнатно тамнији 24 h након растварања што указује на фотодеградацију комплекса сребра(I) у испитиваном временском периоду (Слика 42).



Слика 41. UV-vis спектри $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})]\}(\text{BF}_4)_2)_n$ (**Ag15**) комплекса раствореног у RPMI медијуму са 2% глукозе снимљени 10 min и 24 h након растварања; концентрација испитиваног комплекса је $1,3 \cdot 10^5$ M, $t = 25$ °C



Слика 42. Временска зависност стабилности импрегнираних **Ag13-17** комплекса на целулозним дисковима на светлости и ваздуху и собној температури

4.1.2. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА СРЕБРА(I)

Антимикробна активност комплекса сребра(I)

Синтетисани комплекси сребра(I) (**Ag1-17**) испитивани су према различитим сојевима Грам-негативних (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*), Грам-позитивних (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*) бактерија и различитим *Candida* сојевима гљива (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*) (Табела 14). Сви поменути микроорганизми су хумани патогени и могу узроковати кожне болести, пнеумонију, дијареју, тифусну грозницу, инфекције централног нервног система и уринарног тракта, нозокомијалне (интрахоспиталне) инфекције, инфекције које се могу јавити као последица тежих опекотина и рана, као и инфекције које настају код пацијената који болују од различитих врста канцера и који имају друга имунокомпромитивна стања [208]. Микроорганизми, који могу бити узрочници поменутих инфекција имају важну улогу у карциногенези и имунолошкој реакцији пацијената оболелих од тумора [208-211].

Антимикробна активност синтетисаних комплекса сребра(I) је изражена као вредност минималне инхибиторске концентрације (МИС; $\mu\text{g/mL}$ и μM) и поређена је са антипролиферативном активношћу у циљу одређивања њиховог терапеутског потенцијала. Антипролиферативна активност је изражена као IC_{50} вредност ($\mu\text{g/mL}$ и μM), која представља концентрацију испитиваних једињења која инхибирају 50% ћелијског раста. МИС вредности испитиваних комплекса су поређене са одговарајућим вредностима за сребро(I)-сулфадиазин (AgSD), који се као антимикробни агенс користи у медицини користи више од 40 година (Општи део 1.5, Слика 10).

Комплекси **Ag1-7** показују значајну антибактеријску активност према испитиваним сојевима бактерија, при чему су МИС вредности у опсегу од 2,5 до 31,2 $\mu\text{g/mL}$, односно од 10,0 до 104,0 μM (Табела 14). Веома је значајно напоменути да ниједан од коришћених лиганата за синтезу комплекса не показује активност према испитиваним сојевима бактерија и гљива. Из табеле 14 се може закључити да се антибактеријска активност комплекса сребра(I) смањује са повећањем броја хетероцикличних прстенова, посебно ако се атом азота не налази у истом прстену.

Табела 14. Антимикробна активност^а **Ag1-17** комплекса и сребро(I)-сулфадиазина (AgSD), у поређењу са антипролиферативним ефектом на нормалне ћелије фибробласта плућа (MRC5)

Организми	Комплекси сребра(I)																	
	Ag1	Ag2	Ag3	Ag4	Ag5	Ag6	Ag7	Ag8	Ag9	Ag10	Ag11	Ag12	Ag13	Ag14	Ag15	Ag16	Ag17	AgSD
<i>P. aeruginosa</i>	2,5 10	2,5 10	7,8 31,2	15,6 52	7,8 15	7,8 26	15,6 21,3	26,5 50	14,2 25	49,4 80	13,9 25	28,2 40	50,2 17,6	100 249,3	100 130,2	25 64,5	200 160,5	8,9 25
<i>E. coli</i>	7,8 31,2	7,8 31,2	15,6 62,4	15,6 52	15,6 30	7,8 26	15,6 21,3	39,8 75	45,4 80	49,4 80	55,5 100	49,3 70	16,5 47,1	25 62,3	6,2 8,1	25 64,5	25 20,1	17,8 50
<i>S. aureus</i>	15,6 62,4	15,6 62,4	15,6 62,4	31,2 103,9	31,2 60	15,6 52	15,6 21,3	66,3 125	56,8 100	49,4 80	49,9 90	88 125	95,2 33,3	25 62,3	25 32,6	25 65,5	50 40,1	26,8 75
<i>S. typhimurium</i>								7,8 26	7,8 10,7									
<i>L. monocytogenes</i>	7,8 31,2	7,8 31,2	7,8 31,2	7,8 26	15,6 30	15,6 52	15,6 21,3											
<i>K. pneumoniae</i>								53 100	50 88	49,4 80	55,5 100	56,3 80	33,3 95,2	100 249,3	100 130,2	100 258,1	100 80,3	26,8 75

<i>E. faecalis</i>								42,4	25	25,9	25	28,1	33,3	25	25	12,5	25	35,7
								80	44	42	45	40	95,2	62,3	32,6	32,3	20,1	100
<i>C. albicans</i>	7,8	15,6	15,6	15,6	31,2	125	125	0,95	3,1	6,2	3,1	3,1	3,5	1,6	1,5	3,1	6,2	3,6
	31,2	62,4	62,4	52	60	416,6	170,8	1,8	5,5	10,1	5,6	4,4	10	3,9	2	8	5	10
<i>C. parapsilosis</i>								0,6	6,2	6,2	6,3	6,3	0,9	3,1	6,2	3,1	31,1	0,9
								1,2	11	10,1	11,3	8,9	2,5	7,8	8,1	8	25	2,5
<i>C. glabrata</i>								5,3	6,2	6,2	6,3	6,3	5,2	6	6,2	3,1	12,4	1,8
								10	11	10,1	11,3	8,9	15	15	8,1	8	10	5,1
<i>C. krusei</i>								1,3	3,1	3,1	3,1	6	0,9	3,1	3,1	3,1	3,1	0,9
								2,5	5,5	5,1	5,6	8,5	2,5	7,8	4,1	8,1	2,5	2,5
<i>MRC5</i>	3,2	2,5	2,8	3	4	4	3	21,2	8,5	15,4	6,9	14	12,2	6,8	7,8	5,8	6,2	3,6
	12,8	10	11,2	10	7,7	13,3	4,1	40	15	25	12,5	20	35	17	10	15	5	10

^aЦрном бојом су означене минималне инхибиторске концентрације (MIC) и антрипролиферативни ефекат (IC₅₀) испитиваних комплекса, који су изражене у µg/mL, док су црвеном боје означене исте вредности изражене у µM

Комплекси **Ag1** и **Ag2** показују веома значајну активност према *P. aeruginosa* бактерији, при чему МИС вредности износе 2,5 µg/mL, односно 10,0 µM. Комплекси $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})]_2(\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) не показују изражену селективност према Грам-позитивним и Грам-негативним бактеријама. Сви испитивани комплекси имају релативно ниске IC₅₀ вредности према нормалним фибробластима плућа (MRC5). Терапеутски индекс мањи од 1 ограничава примену ових једињења као антибиотика, али се због јако добре антибактеријске активности ова једињења могу користити као агенси за спољашњу примену. Поред тога, многи медицински уређаји се могу импрегнирати овим једињењима, или се ови комплекси могу даље испитивати као антитуморски агенси. Такође, испитивани комплекси могу наћи примену у комбинацији са другим антитуморским агенсима, посебно код пацијената који болују од различитих врста карцинома. Од 12,7 милиона људи који су у 2008. години оболели од различитих канцерогених обољења, око 2 милиона се може повезати са бактеријским инфекцијама [209]. Осим тога, бактеријемја је главни узрочник компликација које су опасне по живот пацијената, који болују од канцера и који су знатно осетљивији на инвазивну инфекцију због улцерозних повреда на слузокожи, имунолошке супресије, неутропеније и мукозитиса. Пацијенти који болују од рака имају изузетно висок ризик од инфекција које изазивају Грам-негативне бактерије отпорне на антибиотике [208a]. С обзиром на чињеницу да су инфекције главни узрок смртности код деце која болују од различитих врста карцинома [212], двојна активност (антибактеријска и антипролиферативна) **Ag1-7** комплекса може бити даље испитивана. За разлику од значајне антибактеријске активности, комплекси **Ag1-7** показују умерену активност према гљиви *S. albicans* (Табела 14).

Слично резултатима биолошких испитивања за **Ag1-7** комплексе, раније синтетисани и окарактерисани комплекси сребра(I) са метронидазолом (mtz), $[\text{Ag}(\text{mtz})_2(\text{NO}_3)]$ и $[\text{Ag}_2(\text{mtz})_4](\text{BF}_4)_2$, показују већу активност, посебно према Грам-негативним бактеријама *E. coli* и *P. aeruginosa* (МИС = 8,7 – 60,1 µg/mL; 17 – 98 µM), у односу на активност према *S. albicans* (МИС ≥ 220 µg/mL; 215 µM) [188]. Супротно томе, сребро(I) комплекси са 4-(хидроксиметил)пиридином, 2,6-ди(хидроксиметил)пиридином, 2-

(хидроксиметил)бензимидазолом показују већу активност према *C. albicans* (МИС = 10 – 20 µg/mL; 21 – 52 µM), у односу на Грам-позитивне бактерије *S. aureus* и *Staphylococcus epidermidis* (МИС = 40 – 90 µg/mL; 103 – 201 µM) [177].

Комплекси сребра(I) са 1,7- и 4,7-фенантролином (**Ag8-17**) показују израженију антифунгалну у односу на антибактеријску активност (Табела 14). МИС вредности испитиваних комплекса према различитим сојевима бактерија се крећу у опсегу 6,2 – 200 µg/mL, односно 8,1 – 258,1 µM, што указује да комплекси имају умерену антибактеријску активност. Поред тога, МИС вредности **Ag8-17** комплекса су сличне одговарајућим вредностима за AgSD, као и за комплексе сребра(I) са 2,2'-бипиридином и 1,10-фенантролином [213,214]. Супротно умереној антибактеријској активности ових комплекса, они показују веома значајну антифунгалну активност према различитим *Candida* сојевима, при чему су *C. albicans* и *C. krusei* најосетљивији сојеви. Антифунгална активност **Ag8-17** комплекса је, у неким случајевима, већа од одговарајуће активности AgSD комплекса, при чему су МИС вредности од 0,6 до 31,1 µg/mL тј. од 1,2 до 11,3 µM (Табела 14). Комплекс [Ag(NO₃-O,O')(1,7-phen-N7)₂] (**Ag8**) показује 5 пута већу активност и 4 пута мању токсичност у односу на AgSD, када су испитивања рађена на *C. albicans* соју. Значајно је напоменути да **Ag8-17** комплекси показују умерену цитотоксичност према нормалној ћелијској линији фибробласта плућа. Комплекс [Ag(NO₃-O,O')(1,7-phen-N7)₂] (**Ag8**) показује највећи индекс селективности (≥ 30) на *C. parapsilosis* (Табела 14).

Сличну анти-*Candida* активност је показао [Ag₂(1,10-phen)₃(mal)]·2H₂O комплекс, при чему и лиганд 1,10-фенантролин има завидну антифунгалну активност [214]. Супротно 1,10-фенантролину, изомерни 1,7- и 4,7-фенантролини не показују активност ни према различитим сојевима бактерија ни према гљивама.

Механизам антимикуробног деловања Ag1-17 комплекса

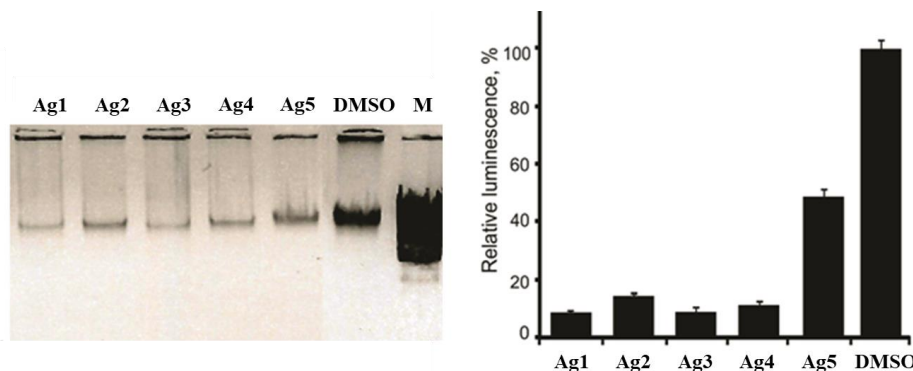
Интеракције са ДНК

Пошто јон сребра(I) дифундује кроз ћелијску мембрану и доспе у унутрашњост ћелије, један од могућих механизма његовог деловања су интеракције са ДНК молекулом. Ове интеракције могу бити ковалентне и нековалентне [105,215]. У случају ковалентног везивања, лабилни лиганд комплекса се супституише атомом азота нуклеинске базе у ДНК. Постоји четири различита типа нековалентних, односно електростатичких интеракција између ДНК и испитиваног једињења: интеркалативан начин везивања испитиваног једињења између суседних парова база ДНК молекула, интеракције за велики и мали жлеб и електростатичке интеракције између негативно наелектрисаних фосфатних остатака дезоксирибозе ДНК молекула (екстерналне интеракције) [158]. За мале молекуле је карактеристичан интеркалативни начин везивања и везивање за мали жлеб [216-218]. За већину раније испитиваних сребро(I) комплекса је нађено да се везују за ДНК преко малог жлеба [216,217]. Интеркалирајући агенси имају тенденцију везивања за гуанин и цитозин у ДНК молекулу. Једињења, која се везују за ДНК преко малог жлеба имају тенденцију да се везују за аденин-тимин у ДНК молекулу [217,219,220]. За велики или мали жлеб се везују једињења која имају могућност формирања водоничних веза са ДНК [216], док се за велики жлеб могу везати и неки протеини. Једињења, која имају могућност везивања за мали жлеб, могу инхибирати активност датих протеина [218].

Интеракције Ag1-17 комплекса са ДНК су испитиване применом гел електрофорезе, док су, у појединим случајевима, коришћени циркуларни дихроизам (CD), флуориметрија, UV-vis спектрофотометрија и молекулско моделирање.

Интеракције комплекса Ag1-5 са ДНК су испитиване применом гел електрофорезе. На основу добијених резултата може се закључити да се комплекси $[\{Ag(NO_3)\}_2(\mu\text{-pydz})_2]$ (Ag1), $\{[Ag(pm)](NO_3)\}_n$ (Ag2), $\{[Ag(pz)](NO_3)\}_n$ (Ag3), $\{[Ag(qz)](NO_3)\}_n$ (Ag4) и $\{[Ag(NO_3)\}_2(\mu\text{-phz})\}_n$ (Ag5) понашају као интеркалирајући агенси геномског ДНК, услед чега спречавају

интеркалацију етидијум-бромида (ЕБ) између двоструког ланца ДНК и емитовање светлости под дејством UV зрака (Слика 43). На основу смањења емисионог интензитета ЕБ-ДНК комплекса може се закључити да највећу могућност интеркалативног начина везивања за ДНК имају комплекси **Ag1** и **Ag3** (око 80%) у односу на контролу (DMSO као растварач).

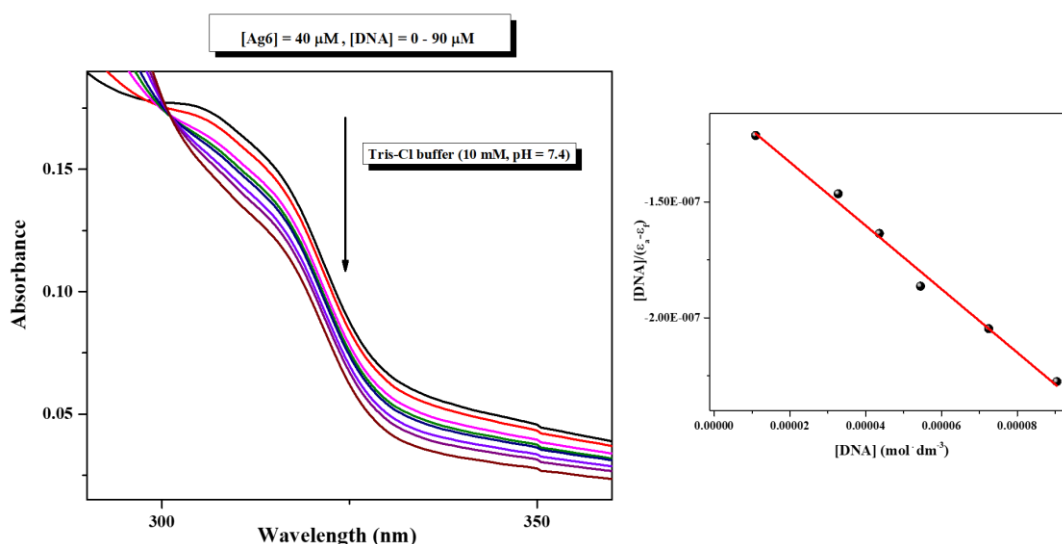


Слика 43. *In vitro* интеракције **Ag1-5** комплекса са геномским ДНК молекулом изолованим из *P. aeruginosa* бактерије

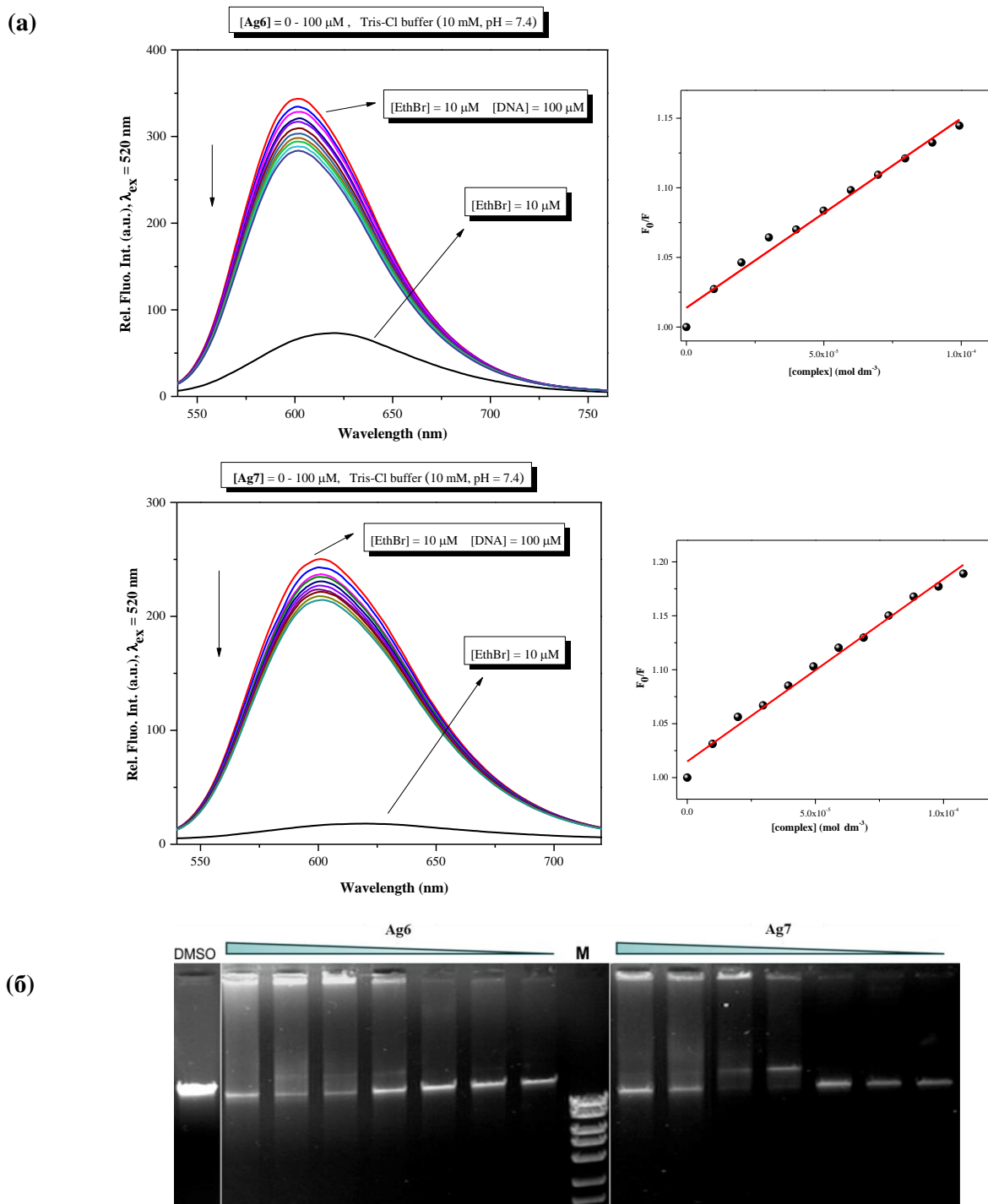
UV-vis спектрофотометријске титрације комплекса метала са ДНК представљају један од начина испитивања њихових интеракција. На основу промена у апсорпционим спектрима испитиваног комплекса могу се извести претпоставке о начину његове интеракције са ДНК [221]. Хипохромизам се односи на интеркалативан начин везивања у случају батохромног померања апсорпционих спектра, док се хиперхромизам односи на формирање електростатичких интеракција или водоничних веза између испитиваног једињења и ДНК [221]. Поред UV-vis спектрофотометрије, за испитивање интеракција комплекса метала са ДНК веома често се користе и флуориметријске методе, које се заснивају на променама у флуоресцентним спектрима ЕБ-ДНК комплекса након додатка комплекса метала.

На слици 44 су приказани UV-vis апсорпциони спектри $[Ag(NO_3)(qz)]_n$ (**Ag6**) комплекса константне концентрације у одсуству и присуству растуће концентрације ДНК. Спектрофотометријске титрације $\{[Ag(CH_3CN)]_2(\mu\text{-phtz})_2\}(BF_4)_2$ (**Ag7**) комплекса са ДНК нису биле могуће због преклапања апсорпционог максимума комплекса са апсорпционим максимумом ДНК. Може се запазити да се интензитет апсорпције **Ag6** комплекса смањује после додавања ДНК, што указује на

њихову интеракцију (Слика 44). Константа везивања (K_b) комплекса за ДНК износи $1,30 \cdot 10^4$, док је проценат хипохромизма 9% (R^2 је 0,9899). Вредност Гибсове енергије (ΔG) износи $-5,61 \text{ kcal/mol}$, што указује да је интеракција између **Ag6** комплекса и ДНК спонтан процес. С обзиром на чињеницу да је константа везивања **Ag6** комплекса за ДНК мања у односу на одговарајућу константу за ЕБ ($1,23 \cdot 10^5$ [222]), да није уочено батохромно померање, као и да проценат хипохромизма није значајан, може се претпоставити да **Ag6** интерагује са ДНК преко малог жлеба или да постоји више различитих типова интеракција. Поред тога, интензитет емисионог спектра ЕБ-ДНК опада након додатка **Ag6** и **Ag7** комплекса (Слика 45а). Смањење интензитета емисије ЕБ-ДНК система може бити узроковано супституцијом етидијум-бромида испитиваним једињењем или формирањем комплекс-ЕБ-ДНК система. Вредност Стерн-Волмерове константе (K_{sv}) за **Ag6** износи $(1,30 \pm 0,05) \cdot 10^3$, проценат хипохромизма 12,1 док је $R^2 = 0,9809$. K_{sv} за **Ag7** износи $(1,67 \pm 0,06) \cdot 10^3$, проценат хипохромизма је 14,8, док је $R^2 = 0,9874$. На основу K_{sv} вредности за ове комплексе, може се претпоставити да интеркалација није главни начин њиховог везивања, већ да постоји више различитих типова интеракција.



Слика 44. Апсорпциони спектар $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) комплекса у одсуству и присуству растуће концентрације ДНК. Инсертована слика приказује график зависности $[\text{ДНК}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ од $[\text{ДНК}]$

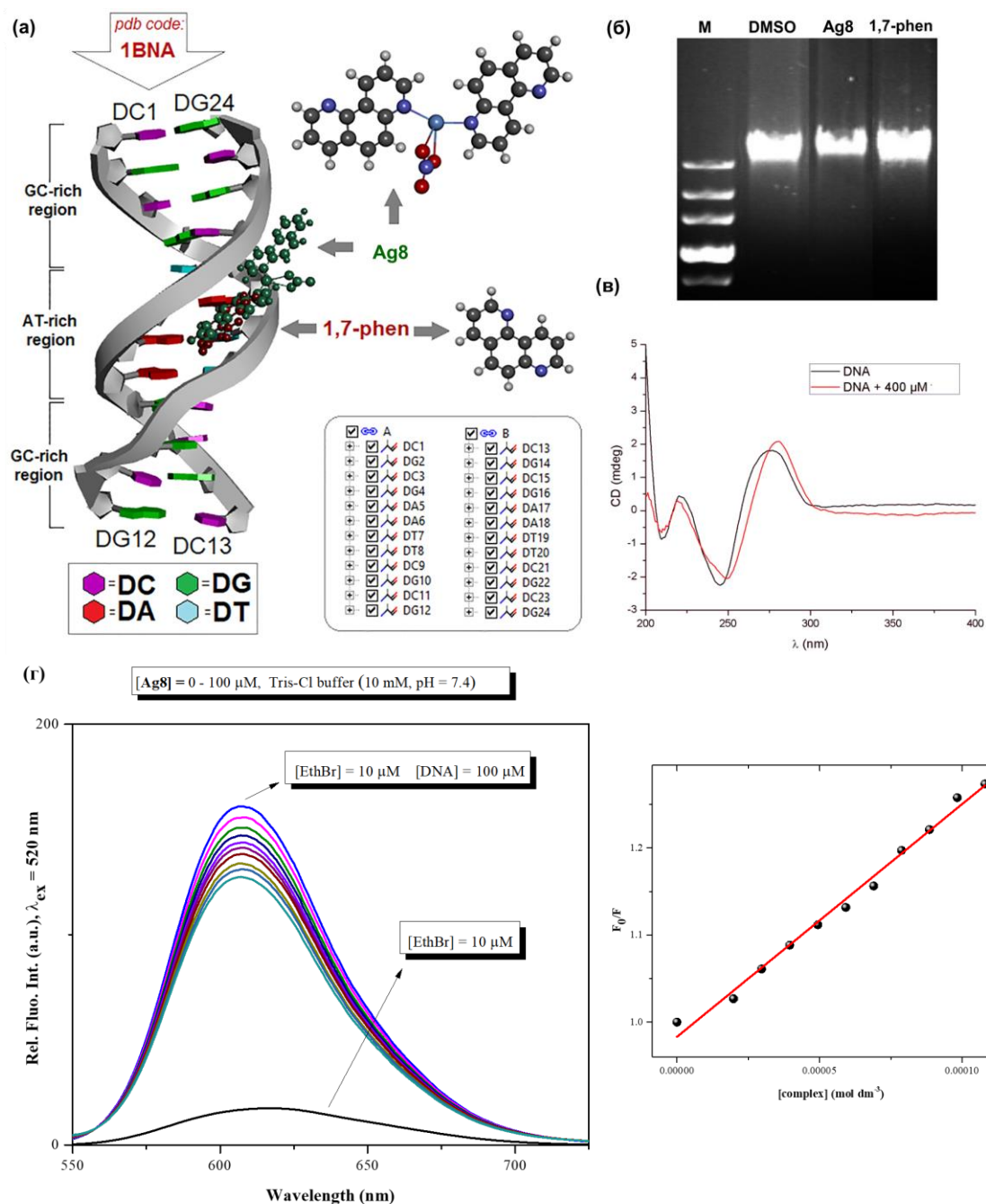


Слика 45. (a) Флуоресцентни емисиони спектар ЕБ-ДНК система у одсуству и присуству растуће концентрације $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag6**) и $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag7**) комплекса; инсертоване слике приказују Стерн-Волмерове дијаграме. (b) *In vitro* интеракција **Ag6** и **Ag7** комплекса са бактеријским ДНК. Концентрације комплекса су 400, 200, 100, 50, 25, 12,5 и 6,25 μM

Интеракције **Ag6** и **Ag7** комплекса са бактеријским ДНК су испитиване применом гел електрофорезе (Слика 456). Као што се са слике може видети, при већим концентрацијама комплекса ($\geq 50 \mu\text{M}$), не долази до кретања ДНК молекула кроз агарозни гел, док при концентрацијама $\leq 25 \mu\text{M}$ долази до смањења интензитета емисије ЕБ-ДНК система. На основу добијених резултата, додатно је потврђено да везивање ових комплекса за ДНК укључује више различитих типова интеракција.

С обзиром на чињеницу да је комплекс $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-N7})_2]$ (**Ag8**), структурно другачији од других комплекса сребра(I) са 1,7-фенантролином и при томе најактивнији и најмање токсичан од свих испитиваних комплекса сребра(I) са 1,7-phen, детаљно је испитиван механизам његовог деловања.

На основу теоријских испитивања, закључено је да се 1,7-фенантролин везује за аденин-тимин базе малог жлеба ДНК (Слика 46а), што указује да интеркалација вероватно није начин његовог везивања за ДНК. С обзиром на тенденцију **Ag8** комплекса да се везује за мали жлеб ДНК, може се извести исти закључак да интеркалација није начин везивања овог комплекса за ДНК. Међутим, испитивања су показала да се већина комплекса метала са ароматичним лигандима може интеркалирати између суседних парова база. На основу *Monte Carlo* симулација, закључено је да постоји могућност премештања комплекса из аденин-тимин дела малог жлеба до суседних парова база у ДНК и интеркалативног начина везивања, при чему ван дер Валсове силе омогућују ову миграцију [223]. На основу ове чињенице, претпостављено је да постоји више начина везивања **Ag8** комплекса за ДНК, при чему је интеркалација један од њих. Упркос јачем везивању **Ag8** комплекса за мали жлеб ДНК молекула ($-7,06 \text{ kcal/mol}$) у односу на 1,7-фенантролин ($-3,83 \text{ kcal/mol}$), начин везивања испитиваног комплекса за ДНК је у сагласности са претходном претпоставком. Нађено је да оба испитивана једињења формирају слабе нековалентне интеракције са ДНК (слабе водоничне везе, ван дер Валсове интеракције и $\pi\text{-}\pi^*$ интеракције). Комплекс **Ag8** има две ротирајуће везе (Ag-N) које омогућавају конформацију комплекса у коме се један од лиганда 1,7-фенантролина понаша као интеркалирајући агенс између суседних парова база, док је други везан за мали жлеб. Интеркалација другог лиганда који је везан за сребро(I) јон је конформацијски ограничена, због N-Ag-N угла.



Слика 46. Интеракција **Ag8** комплекса са ДНК. (а) Структуре ДНК, **Ag8** комплекса и 1,7-фенантролина (1,7-phen) и најстабилније везивање испитиваних једињења са ДНК на основу теоријских испитивања; (б) *In vitro* интеракције **Ag8** комплекса са хромозомалном ДНК изолованом из *C. albicans* применом гел електрофорезе; (в) CD спектри ДНК из сперме харинге у одсуству и присуству **Ag8** комплекса; (г) Флуоресцентни емисиони спектар ЕБ-ДНК у одсуству и присуству растуће концентрације **Ag8** комплекса, при чему инсертована слика приказује Стерн-Волмеров дијаграм

На основу *in vitro* интеракција **Ag8** комплекса са ДНК применом гел електрофорезе, доказано је да овај комплекс не интерагује интеркалативно са геномском ДНК изолованом из *C. albicans*, и да не супституише ЕБ (Слика 46б). Поред тога, **Ag8** не узрокује деградацију ДНК молекула. Ови резултати су у супротности са резултатима добијеним испитивањем интеракција комплекса сребра(I) са 1,10-фенантролин-5,6-дионом, $[\text{Ag}(1,10\text{-phenдио})_2]\text{ClO}_4$, са ДНК, који узрокује неспецифично цепање овог биомолекула [78,224].

Циркуларни дихроизам (CD) је веома осетљива метода и веома успешно се користи за изучавање интеракција између ДНК и малих молекула [225]. CD спектар двоструког хеликса ДНК (dsDNA), који је изолован из сперме харинге, има позитивну траку на 277 nm, која се односи на π - π^* интеракције и негативну траку на 245 nm, која се односи на хелицитет, који је карактеристичан за најзаступљенији конформер, десни хеликс ДНК (B-DNA). Познато је да се услед интеркалације повећава интензитет обе траке због јаких π - π интеракција и стабилизације ДНК. С друге стране, везивање малих молекула за мали или велики жлеб у ДНК не узрокује значајне промене у CD спектру. У присуству **Ag8** комплекса концентрације од 400 μM , долази до повећања интензитета позитивног дела спектра и смањења интензитета негативног дела (Слика 46в). Поред тога, запажена су померања у CD спектру након додатка **Ag8** комплекса, што указује на конформациону промену В- у А- облик услед интеракције испитиваног комплекса и ДНК молекула. Слично **Ag8** комплексу реагује и раније испитивани $[\text{Ag}(2,9\text{-диметил-1,10-фенантролин})_2]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ комплекс [226], док $[\text{Ag}(1,10\text{-phen})_2]\text{NO}_3$ комплекс има могућност интеркалативног начина везивања преко једног од координованих лиганата [227].

На основу резултата флуориметријских испитивања (Слика 46г) и вредности Стерн-Волмерове константе $((2,71 \pm 0,085) \cdot 10^3)$, можемо закључити да се **Ag8** комплекс везује за ДНК преко малог жлеба. Вредности константи, као и Хилов (Hill) коефицијент, односно број везујућих места за ДНК, приказани су у табели 15. Вредност константе гашења (K_q) је $2,71 \cdot 10^{11}$, што указује на статички механизам гашења емисије. Вредности динамичког механизма гашења емисије су мање од 10^{10} [228]. На основу Хиловог коефицијента може се закључити да број везујућих места за ДНК износи 1. Константа везивања (K_b) износи $4,38 \cdot 10^4$, и много је мања у односу

на вредности одговарајућих константи интеркалирајућих агенаса [228], што додатно потврђује претпоставку о везивању **Ag8** комплекса за мали жлеб ДНК молекула.

Табела 15. Стерн-Волмерова константа (K_{sv}), проценат хипохромизма (%), константа гашења (K_q), константа везивања (K_b) и Хиллов коефицијент (n) за интеракцију између **Ag8** комплекса и ДНК

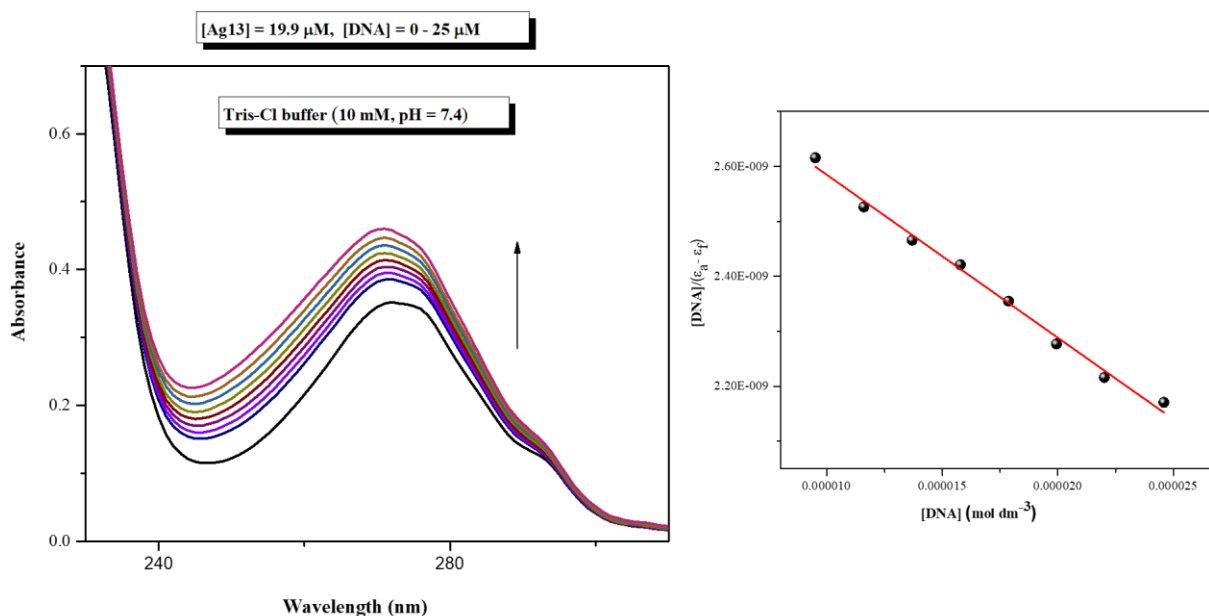
Комплекс	Стерн-Волмерова једначина				Логаритамска једначина		
	K_{sv} (M^{-1})	Хипохромизам (%)	K_q ($M^{-1}s^{-1}$)	R^a	K_b (M^{-1})	n	R
Ag8	$(2,71 \pm 0,085) \cdot 10^3$	20,3	$2,71 \cdot 10^{11}$	0,9899	$4,38 \cdot 10^4$	1,3	0,9857

^a R линеарни корелациони коефицијент

Интеракције комплекса **Ag13-17** са ДНК су испитиване применом UV-vis спектрофотометрије, флуориметрије, гел електрофорезе и цикличне волтаметрије (CV). На слици 47 су приказани UV-vis спектри **Ag13** комплекса у присуству растуће концентрације ДНК. Као што се са слике 47 може видети, интензитет апсорпције комплекса се повећава после додавања ДНК, што указује на њихову интеракцију. С обзиром на структуру **Ag13-17** комплекса, може се претпоставити да се формирају водоничне везе између атома кисеоника или флуора испитиваних комплекса и ДНК, при чему ове интеракције доприносе повећању апсорпције у UV-vis спектрима. С друге стране, између испитиваних комплекса и ДНК се могу успоставити ван дер Валсове интеракције. Поред тога, хиперхромни ефекат се може приписати електростатичким интеракцијама између позитивно наелектрисаног катјона и негативно наелектрисаних фосфатних ањона који се налазе на двоструком хеликсу ДНК, као и интеракцији са великим или малим жлебом ДНК [229a].

Вредности константи везивања (K_b) су приказане у табели 16. По опадајућој вредности константи везивања, комплекси су поређани следећим редом **Ag15 > Ag13 > Ag14 > Ag17 > Ag16**. Вредности слободних енергија (ΔG) су негативне, што указује да је интеракција између испитиваних једињења и ДНК спонтан процес.

Константе везивања су у сагласности са константама, које су добијене за друге комплексе сребра(I) као што је $[\text{Ag}(2,9\text{-диметил-}1,10\text{-фенантролин})_2]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [226], комплекс сребра(I) са антиинфламаторним агенсом, напрокеном (Ннар), $\{[\text{Ag}(\text{tpp})_3(\text{нар})](\text{H}_2\text{O})\}$ и $[\text{Ag}(\text{trtp})(\text{нар})]$ (tpp је трифенилфосфин и trtp је три(*p*-толил)фосфин) [229b], као и $[\text{Ag}(\text{asp})(\text{trAs})_3]$, $[\text{Ag}(\text{SalH})(\text{trAs})_3]$, $[\text{Ag}(\text{нар})(\text{trAs})_3]$ и $\{[\text{Ag}(\text{pHbza})(\text{trAs})_3](\text{DMF})\}$ (Hasp је аспирин, H₂sal је салицилна киселина, HрHbza је *p*-хидроксибензенова киселина, и trAs трифениларсин) [229c]. Вредности константи везивања испитиваних комплекса су знатно мање у поређењу са константом везивања Hoechst 32258 (молекула који се везује за мали жлеб ДНК), где је $K_b = 4.6 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ и етидијум-бромида (интеркалирајућег агенса), при чему је $K_b = 1.23 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ [222,229d].



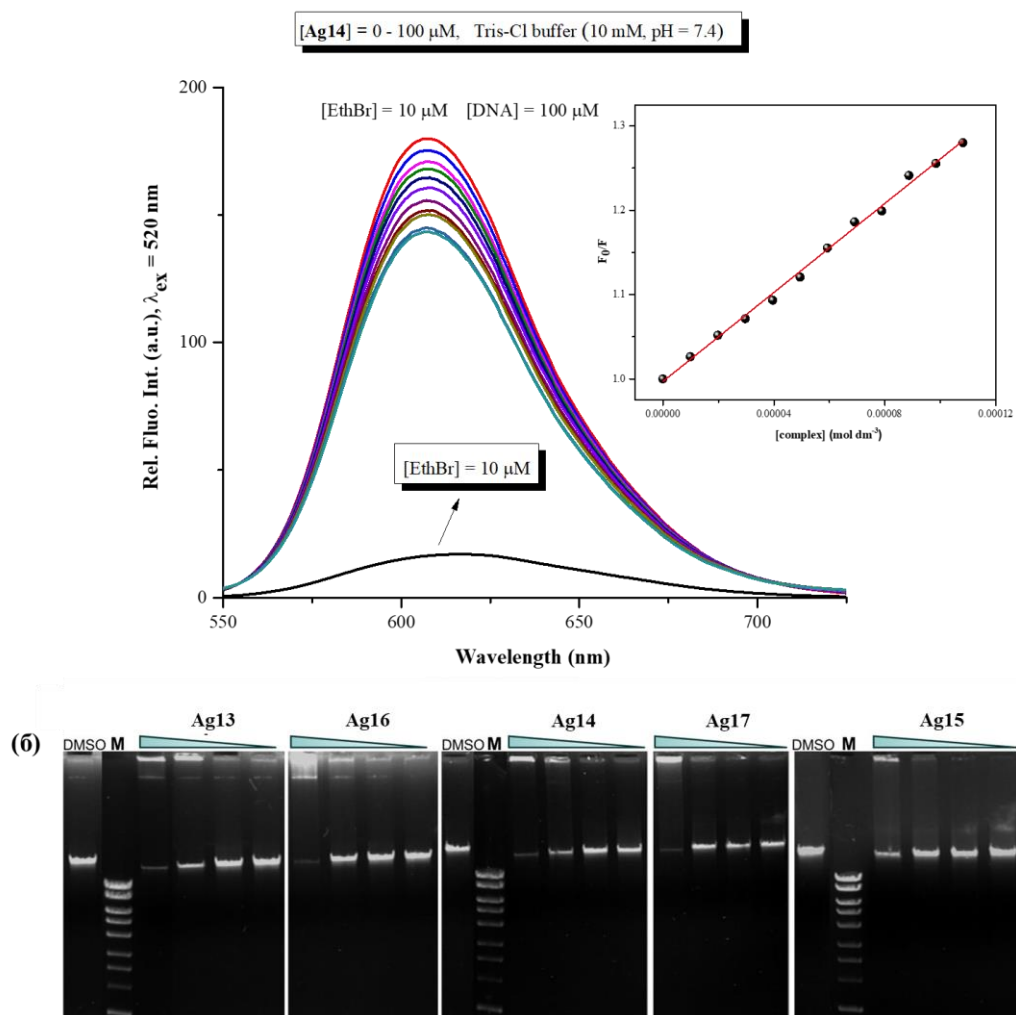
Слика 47. Апсорпциони спектар $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})_n$ (**Ag13**) комплекса у одсуству и присуству растуће концентрације ДНК. Инсертована слика приказује график зависности $[\text{ДНК}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ од $[\text{ДНК}]$

Табела 16. Вредности константи везивања и слободне енергије за интеракције **Ag13-17** комплекса са ДНК

Комплекс	K_b (M^{-1})	ΔG^0 (kcal/mol)
Ag13	$1,03 \cdot 10^4$	-5,5
Ag14	$7,00 \cdot 10^3$	-5,2
Ag15	$1,20 \cdot 10^4$	-5,5
Ag16	$1,22 \cdot 10^3$	-4,2
Ag17	$3,74 \cdot 10^3$	-4,9

Поред спектроскопских метода за испитивање интеракција **Ag13-17** комплекса са ДНК, коришћене су и флуориметријске методе. Смањење интензитета емисије ЕБ-ДНК система може бити узроковано супституцијом етидијум-бромида испитиваним једињењем или формирањем комплекс-ЕБ-ДНК система. На основу резултата флуориметријских испитивања и вредности Стерн-Волмерових константи (Табела 17, Слика 48а), може се закључити да се **Ag13-17** комплекси нису класични интеркалирајући агенси. На основу те чињенице, друга претпоставка може бити један од разлога на основу ког се може објаснити смањење флуоресценције у ЕБ-ДНК систему након додавања комплекса. По опадајућој вредности Стерн-Волмерових константи, ови комплекси су поређани следећим редом: **Ag15** > **Ag14** ~ **Ag13** > **Ag17** > **Ag16**. Вредности константи гашења (K_q) су реда величине 10^{11} , на основу чега се може закључити да долази до статичког механизма гашења емисије. Број везујућих места за ДНК је у опсегу 0,91 – 1,30. Вредности константи везивања (K_b) за **Ag13-17** комплексе су знатно мање од одговарајућих константи класичних интеркалирајућих агенаса [228]. Процент хипохромизма је мали (до 25%), што потврђује неинтеркаливни начин везивања. На пример, луцигенин (интеркалирајући агенс) је изазвао смањење интензитета емисије ЕБ-ДНК система за око 50%. Вредности Стерн-Вилмерових константи су у сагласности са константама везивања, које су добијене применом UV-vis спектрофотометријских метода. Сличне вредности Стерн-Волмерових константи су добијене и за $[Ag_2(HGly)_2]_n(NO_3)_{2n}$ и $[Ag(Nam)_2]NO_3 \cdot H_2O$ комплексе, (Gly је глицин и Nam је никотинамид) [229e], као и за комплекс сребра(I) са трис(пиразолил)метансулфонатом и 1,3,5-триаза-7-фосфоадамтаном [190].

Интеракције синтетисаних комплекса са бактеријским ДНК молекулом су испитиване применом гел електрофорезе. ДНК је инкубиран са различитим концентрацијама испитиваних комплекса. Ниједан од испитиваних комплекса није интеркалативно интераговао са ДНК и супституисао етидијум-бромид, нити изазвао деградацију ДНК молекула (Слика 48б). Занимљива је чињеница да се при већим концентрацијама комплекса није могло уочити кретање ДНК молекула кроз агарозни гел, што се може приписати делимичној интеракцији комплекса и фосфатних остатка ДНК молекула.

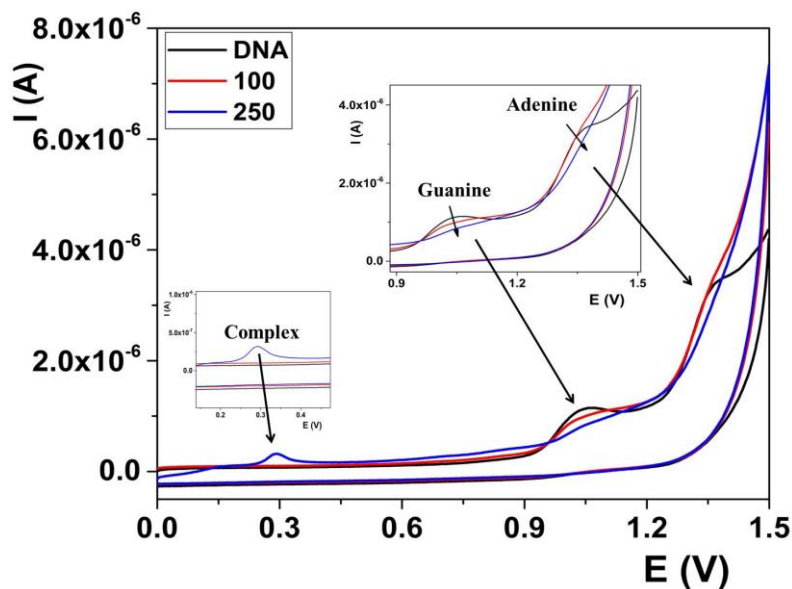


Слика 48. (а) Флуоресцентни емисиони спектар ДНК-ЕБ систем у одсуству и присуству растуће концентрације **Ag14** комплекса, при чему инсертована слика приказује Стерн-Волмеров дијаграм; (б) *In vitro* интеракција комплекса сребра(I) **Ag13-17** са бактеријским ДНК молекулом. Концентрације комплекса су 400, 40, 10 и 5 μM

Табела 17. Стерн-Волмерова константа (K_{sv}), проценат хипохромизма (%), константа гашења (K_q), константа везивања (K_b) и Хиллов коефицијент (n) за интеракције између **Ag13-17** комплекса и ДНК

Комплекс	K_{sv} (M^{-1})	Хипохромизам (%)	K_q ($M^{-1}s^{-1}$)	R	K_b (M^{-1})	n	R
Ag13	$(2,62 \pm 0,10) \cdot 10^3$	19,7	$2,62 \cdot 10^{11}$	0,9848	$4,23 \cdot 10^4$	1,30	0,9873
Ag14	$(2,65 \pm 0,05) \cdot 10^3$	20,8	$2,65 \cdot 10^{11}$	0,9960	$2,78 \cdot 10^3$	1,01	0,9961
Ag15	$(3,23 \pm 0,06) \cdot 10^3$	24,6	$3,23 \cdot 10^{11}$	0,9967	$1,47 \cdot 10^3$	0,91	0,9972
Ag16	$(1,72 \pm 0,05) \cdot 10^3$	13,0	$1,72 \cdot 10^{11}$	0,9908	$9,56 \cdot 10^3$	1,18	0,9788
Ag17	$(2,06 \pm 0,10) \cdot 10^3$	13,7	$2,06 \cdot 10^{11}$	0,9821	$1,12 \cdot 10^3$	0,92	0,9878

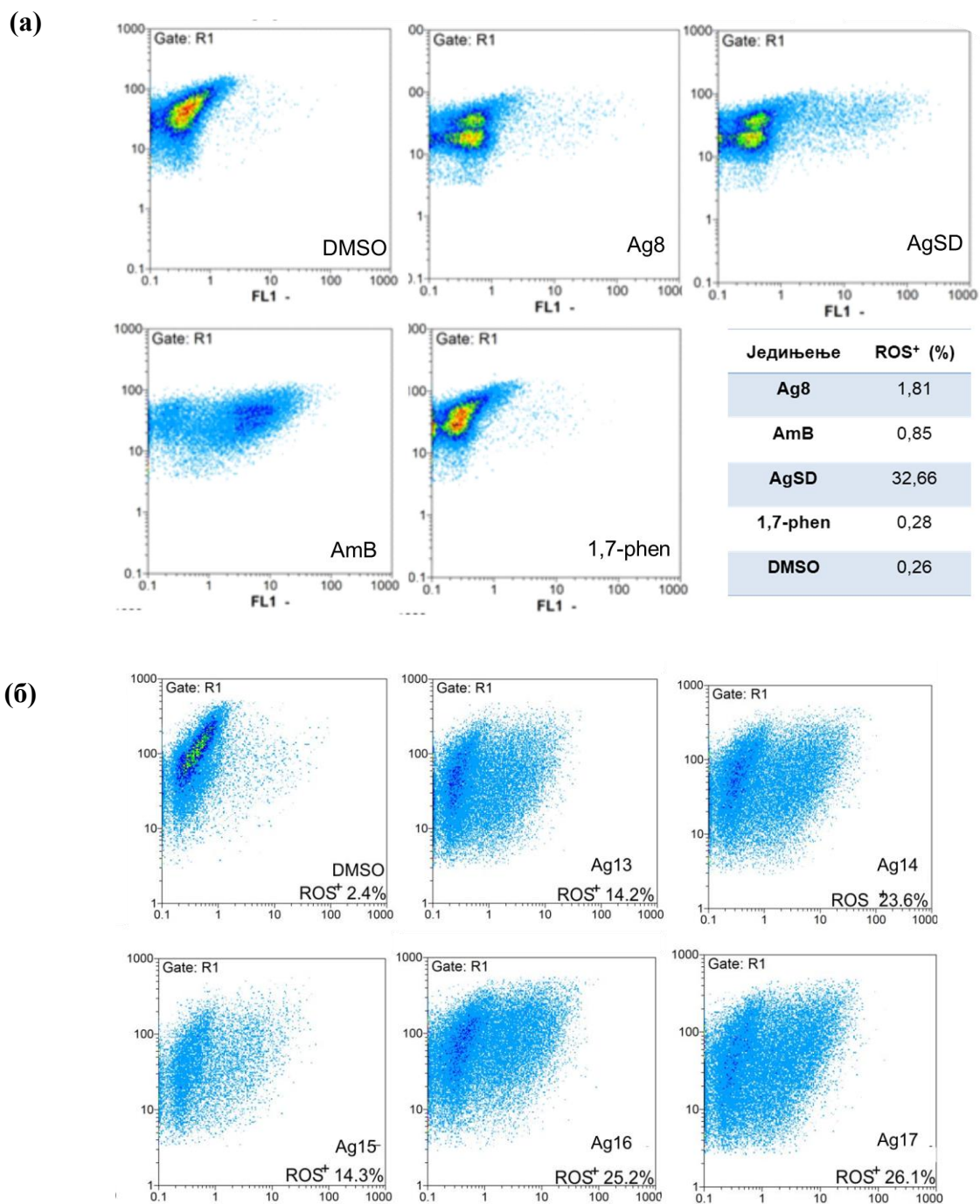
Интеракције **Ag13-17** комплекса са ДНК су додатно испитиване применом цикличне волтаметрије, при чему је на слици 49 приказан репрезентативни волтамограм за **Ag17** комплекс. При датим експерименталним условима, ДНК показује два оксидациона пика: први у опсегу потенцијала 1 – 1,1 V који је повезан са оксидацијом гуанина и други у опсегу потенцијала 1,3 – 1,4 V који се односи на оксидацију аденина [230]. Након додатка комплекса раствору ДНК, долази до пропорционалног смањења интензитета пикова који се односе на оксидацију гуанина и аденина, што указује на структурне промене ДНК услед његове интеракције са комплексом сребра(I). При концентрацијама комплекса већим од 150 ppm, јавља се оксидациони пик на 0,3 V, које се може приписати оксидацији сребро(I) јона. На основу цикличне волтаметрије може се закључити да сви испитивани комплекси (**Ag13-17**) комплекси интерагују на сличан начин са ДНК.



Слика 49. Циклични волтамограми ДНК након додатка **Ag17** комплекса у области концентрација 0 – 250 ppm

Формирање реактивних кисеоничних врста унутар *C. albicans*

Као што је већ поменуто, један од механизма деловања комплекса сребра(I) је формирање реактивних кисеоничних врста (ROS). Поред тога, утврђено је да постоји повезаност између антифунгалне активности једињења и могућности формирања реактивних кисеоничних врста [231]. Формирање реактивних кисеоничних врста код ћелија *C. albicans* је испитивано и квантификовано DCFH-DA бојењем, при чему је коришћена DCF флуоресцентна боја. Проточна цитометрија као метода је коришћена за квантификацију ћелијске продукције реактивних кисеоничних врста. Резултати испитивања су показали да долази до значајног повећања DCF флуоресценције после инкубације са **Ag8** и **Ag13-17** комплексима у временском интервалу од 1,5, односно 1 h (Слика 50а и б). Ово повећање за **Ag8** је значајније у односу на амфотерицин В (AmB), који је клинички коришћен антимикотик познат по својој способности да индукује апоптозу, а тиме и



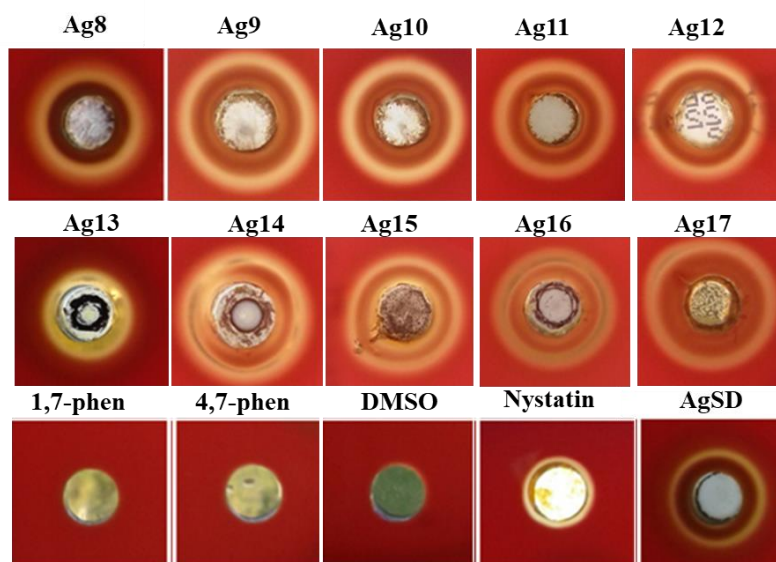
Слика 50. (a) Формирање ROS у ћелијама *C. albicans*, након деловања 2xMIC комплекса [Ag(NO₃-O,O')(1,7-phen-N7)₂] (Ag8), 1,7-фенантролина и AgSD и (b) након деловања 1xMIC комплекса Ag13-17. Ћелије третиране DMSO су коришћене као контрола

производњу ROS у ћелијама *C. albicans* [231]. Када су испитивања вршена са 1,7-фенантролином, проценат формираних ROS је скоро идентичан као и код контроле, тј. код ћелија третираних DMSO. Код ћелија третираних AgSD комплексом, производња ROS је приближно 30 пута већа у односу на **Ag8** комплекс и AmB, што се приписује токсичним ефектима AgSD комплекса [232]. У случају **Ag13-17** (Слика 50б) комплекса, посебно се издвајају комплекси **Ag14**, **Ag16** и **Ag17**, код којих је производња реактивних кисеоничних врста више изражена у односу на **Ag13** и **Ag15** комплексе. С друге стране, комплекси **Ag13** и **Ag15** имају већу тенденцију везивања за ДНК у односу на друге испитиване комплексе.

На основу добијених резултата, може се закључити да је антифунгална активност свих испитиваних комплекса повезана са формирањем реактивних кисеоничних врста, што је у складу са раније претпостављеним механизмом деловања сребро(I) комплекса [233].

Хемолитички потенцијал Ag8-17 комплекса

Хемолитички потенцијал **Ag8-17** комплекса, одговарајућих лиганата (1,7- и 4,7-фенантролина), AgSD комплекса и нистатина (антимикотика који се користи за лечење инфекција узрокованих различитим *Candida* сојевима, а чије је примарно циљно место деловање мембрана гљива), испитиван је дифузионом методом на агар плочама које садрже овчију крв. DMSO је коришћен као контрола. Светла зона око бунарића, која представља индикатор хемолитичке активности, примећена је код свих испитиваних комплекса и нистатина. Ранија испитивања су показала да се нистатин везује за ћелијску мембрану, спречавајући раст и убијајући ћелије гљиве [234]. У случају лиганата коришћених за синтезу комплекса није уочена појава светле зоне. Код неких комплекса је уочена тамна зона око бунарића. Занимљиво је да је редослед појављивања тамних и светлих зона супротан у случају $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-O})(4,7\text{-phen-}\mu\text{-N4,N7})_n]$ (**Ag13**) комплекса у односу на остале испитиване комплексе.



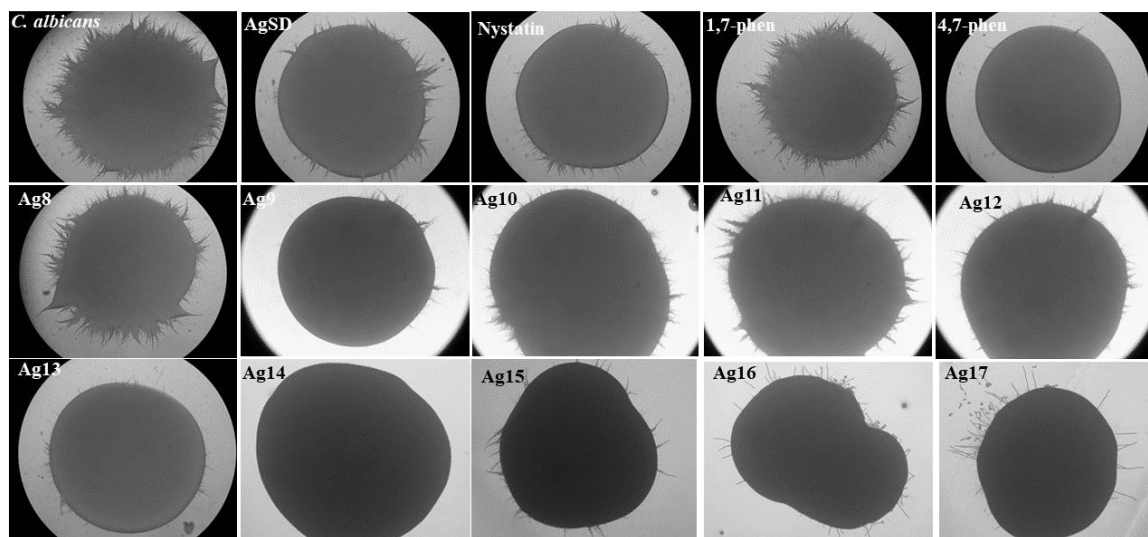
Слика 51. Хемолитички потенцијал **Ag8-17** комплекса, одговарајућих лиганата (1,7- и 4,7-фенантролина), AgSD и нистатина. DMSO је коришћен као контрола

На основу слике 51 може се закључити да сви испитивани комплекси сребра(I) и нистатин узрокују лизу еритроцита. Поред тога, ова једињења оштећују ћелијску мембрану, што је веома значајно, јер је један од механизма деловања комплекса сребра(I) оштећење ћелијске мембране и истицање ћелијских компонената у међућелијски простор.

Инхибиција филаментног раста *C. albicans*

С обзиром на чињеницу да комплекси сребра(I) са 1,7- и 4,7-phen (**Ag8-17**) показују значајну антифунгалну активност испитивана је инхибиција филаментног раста *C. albicans* (Слика 52). При sub-MIC концентрацијама (75% MIC), код већине испитиваних комплекса уочена је потпуна инхибиција раста филамената код *C. albicans* на подлози која поспешује њихово формирање и филаментацију (Spider подлога). Комплекс **Ag8** и 1,7-фенантролин не инхибирају, док 4,7-фенантролин у потпуности инхибира раст филамената. Прелаз из квасца у форму када расту филаменти, хифе, важан је за инвазију ткива и формирање биофилмова код *Candida*

врста, тј. њихову вируленцију и патогеност, па су молекули који ометају овај процес потенцијални агенси за третман инфекција [235].

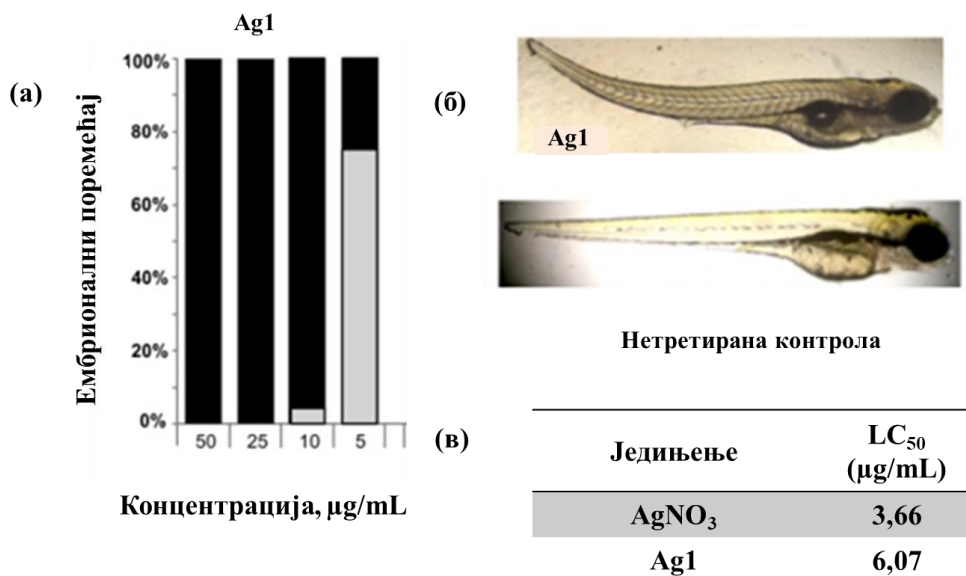


Слика 52. Раст *C. albicans* на подлози која поспешује њихово формирање и филаментацију (Spider подлога) у присуству **Ag8-17** и AgSD комплекса, нистатина и одговарајућих лиганда (1,7- и 4,7-phen)

***In vivo* ембриотоксичност на моделу ембриона зебрица (*Danio rerio*)**

У циљу испитивања *in vivo* ембриотоксичности комплекса сребра(I), коришћен је модел ембриона зебрица. Праћено је развијање ембриона током времена након њиховог третирања са различитим концентрацијама комплекса. Ембриони зебрица (*Danio rerio*) се веома често користе као *in vivo* модел кичмењака за испитивање токсичности нових лекова и фармаколошки активних једињења, због њихове значајне генетске сличности са људима [236,237]. Такође, транспарентност њиховог тела омогућава визуелизацију унутрашњих органа после третмана са одговарајућим једињењима. Ембриони зебрица се најчешће излегу 72 h после оплодње [238]. С обзиром на чињеницу да нека биолошки активна једињења могу да ометају овај процес и да на тај начин смање преживљавање ембриона, развој ембриона је праћен 114 h након оплодње.

Имајући у виду чињеницу да је $[[Ag(NO_3)]_2(\mu\text{-pydz})_2]$ (**Ag1**) комплекс показао најбољу активност према бактеријским врстама *P. aeruginosa* и *E. coli*, испитивана је његова ембриотоксичност на моделу ембриона зебрица (Слика 53).



Слика 53. (a) Токсичност $[[Ag(NO_3)]_2(\mu\text{-pydz})_2]$ (**Ag1**) комплекса према ембрионима зебрица 114 h после оплодње. Сивом бојом је обележен проценат тератогених излеглих ембриона, а црном бојом проценат ембриона који су умрли 96 h након оплодње; (б) Ембрион зебрица 114 h после оплодње након третмана са 5 µg/mL **Ag1** комплекса; (в) LC₅₀ вредности за AgNO₃ и **Ag1**

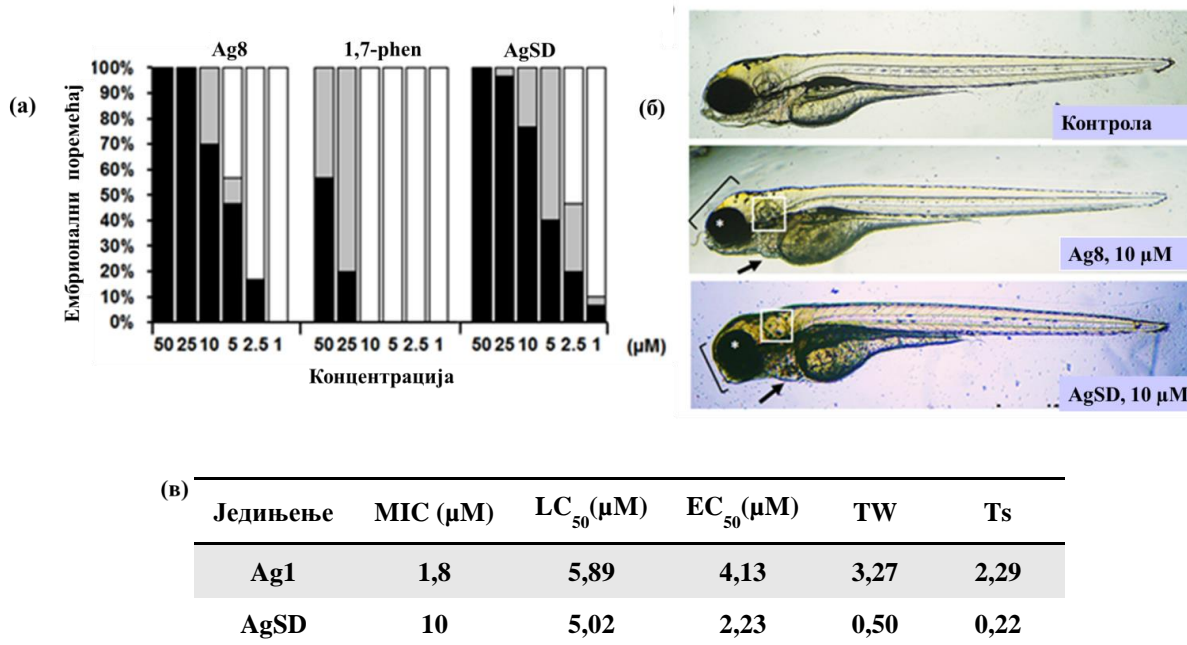
Код преживелих ембриона (око 80%) који су третирали **Ag1** комплексом концентрације 5 µg/mL, уочене су различите скелетне неправилности (сколиоза, смањени обим главе и деформација чељусти) (Слика 53). Третирањем ембриона различитим концентрацијама AgNO₃ (10 – 50 µg/mL), ниједан од испитиваних ембриона није преживео. Свега 4% ембриона је преживело, када су испитивања вршена са 5 µg/mL AgNO₃, при чему су имали озбиљне тератогене аномалије, што је у сагласности са раније описаним литературним подацима за токсичност ове соли сребра према ембрионима зебрица [239]. На основу добијених резултата и LC₅₀ вредности (концентрација која узрокује леталне ефекте на 50% испитиваних

ембриона) испитиваног комплекса и соли сребра(I) може се закључити да је комплекс **Ag1** мање токсичан у односу на AgNO_3 .

С обзиром на чињеницу да је $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-N7})_2]$ (**Ag8**) комплекс показао најмању токсичност према MRC5 ћелијској линији и најбољу активност према *C. albicans*, детаљно је испитивана његова токсичност на моделу зебрица. Коришћени су ембриони 6 h после оплодње и посматрани су у временском интервалу од 114 h. Поред **Ag8** комплекса, испитивана је токсичност 1,7-фенантролина и AgSD (Слика 54). Добијени резултати су показали да су **Ag8** комплекс и 1,7-phen мање токсични у односу на AgSD, што је у сагласности са *in vitro* резултатима на хуманим ћелијама фибробласта плућа.

На основу LC_{50} вредности може се закључити да је **Ag8** комплекс 1,2 пута мање токсичан према ембрионима зебрица у односу на AgSD и 7,8 пута више токсичан од 1,7-phen. Кад су ембриони изложени дејству **Ag8** комплекса концентрације 10 μM , показивали су веома мале перикардијалне едеме, док су неки од њих имали незнатно деформисану главу (Слика 54). Комплекс **Ag8** не показује ни леталну ни тератогену токсичност у концентрацијама које одговарају MIC вредностима према *C. albicans* и *C. parapsilosis* (1,8 и 1,2 μM). На основу добијених резултата, може се закључити да је терапеутски профил **Ag8** комплекса изузетно добар.

На основу терапеутског индекса (TW) и терапеутског сигурносног индекса (Ts) може се закључити да је AgSD токсичнији при концентрацијама мањим од MIC вредности (10 μM), према *C. albicans* соју у односу на **Ag8** комплекс. Када су ембриони изложени дејству AgSD комплекса концентрације 1 μM , уочени су различити деформитети, док је кардиотоксичност уочена при концентрацији $\geq 2,5$ μM , што указује на веома ниску терапеутску сигурност овог комплекса. Веома је важно напоменути да **Ag8** комплекс не показује негативан утицај на кардиоваскуларне функције ембриона зебрица. С друге стране, различита истраживања указују на појаву кардиотоксичности (кардиомиопатија, аритмије, проширење срца) код пацијената који користе неке антимицитике, као што су азоли (кетоназол, итраконазол и флуконазол), ехинокандини, а посебно Амфотерицин Б и његови деривати [240-242].



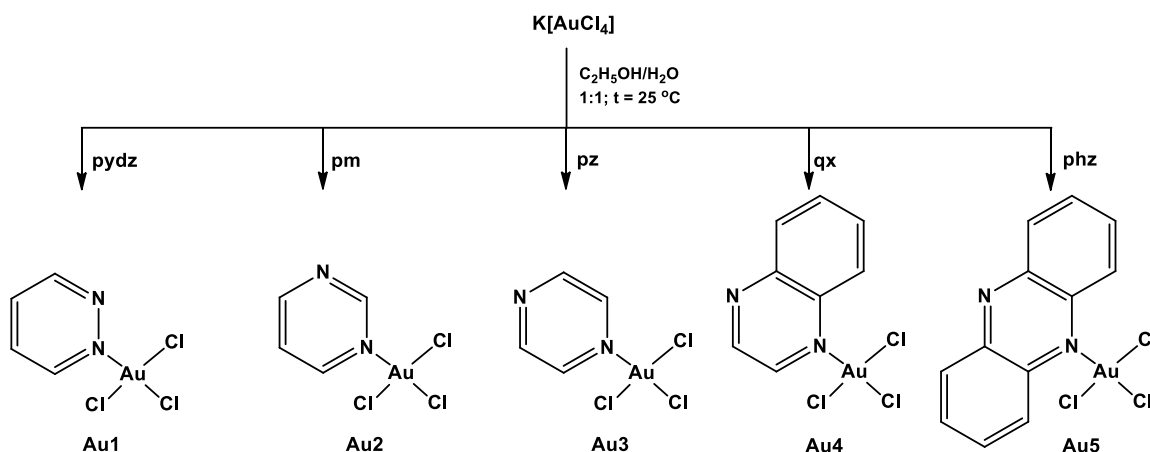
Слика 54. (а) Токсичност **Ag8** комплекса, 1,7-фенантролина и сребро(I)-сулфадиазина на ембрионима зебрица; (б) Морфологија ембриона зебрице 114 h након третирања **Ag8** комплексом. (в) EC₅₀ – концентрација комплекса која узрокује негативне (леталне и тератогене) ефекте на 50% испитиваних ембриона; TW – терапеутски индекс (однос између LC₅₀ и MIC); Ts – терапеутски сигурносни индекс (однос између EC₅₀ и MIC)

4.1.3. КОМПЛЕКСИ ЗЛАТА(III) СА АРОМАТИЧНИМ ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ ЈЕДИЊЕЊИМА КОЈА САДРЖЕ АЗОТ У ПРСТЕНУ

Синтеза и структурна карактеризација комплекса злата(III) са диазинима и бензодиазинима

У реакцијама K[AuCl₄] са еквимоларним количинама пиридазина (pydz), пиримидина (pm), пиразина (pz), хиноксалина (qx) и феназина (phz) у смеси етанол/вода на собној температури добијени су мононуклеарни комплекси злата(III) опште формуле [AuCl₃(N-хетероциклично једињење)], у којима злато(III) јон има квадратно-планарну геометрију (Слика 55). На основу резултата IR, UV-vis и NMR спектроскопије закључено је да су структуре синтетисаних комплекса злата(III) у

сагласности са претходно објављеним структурама за комплексе злата(III) са истим *N*-хетероцикличним једињењима, чија је структура одређена применом рендгенске структурне анализе [141,142]. Важно је напоменути да исти мононуклеарни $[\text{AuCl}_3(\text{N-хетероцикл})]$ комплекси настају и када се реакције између $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ и одговарајућег *N*-хетероцикличног једињења изводе у 2 : 1 молском односу реактанта. Ово се може објаснити чињеницом да злато(III) јон има јако изражена електрон-привлачна својства и да због тога смањује нуклеофилност другог атома азота у прстену, спречавајући формирање динуклеарних злато(III) комплекса [141,142]. У овој дисертацији испитивана је биолошка активност окарактерисаних **Au1-5** комплекса (Слика 55) и добијени резултати су поређени са одговарајућом активношћу комплекса злата(III) са другим *N*-хетероцикличним лигандима, о чему ће бити речи у поглављу 4.1.4.



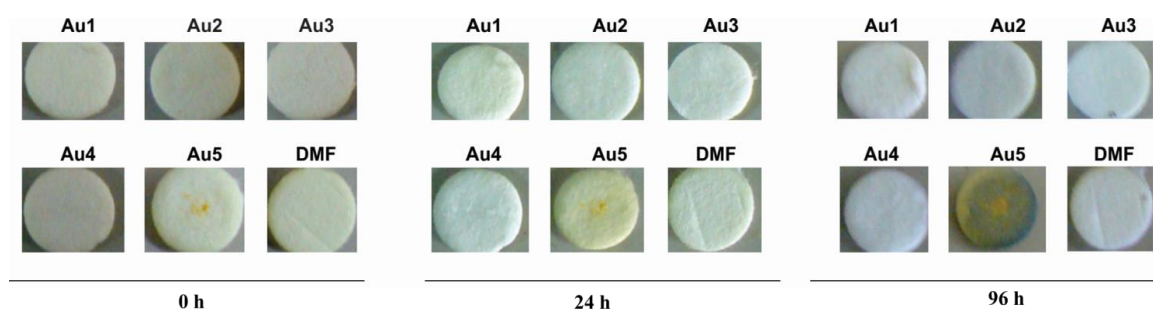
Слика 55. Шематски приказ за реакцију синтезе $[\text{AuCl}_3(\text{N-хетероцикл})]$ комплекса, *N*-хетероцикл = pydz (**Au1**), pm (**Au2**), pz (**Au3**), qx (**Au4**) и phz (**Au5**) [141,142]

Стабилност **Au1-5** комплекса

Стабилност **Au1-5** комплекса у раствору је испитивана применом UV-vis спектрофотометрије у смеши DMF/ H_2O (1 : 1 v/v). DMSO није коришћен за снимање спектра, због нестабилности **Au1-5** комплекса у овом растварачу [141,142]. UV-vis спектри комплекса су снимљени одмах након растварања и после 24 h инкубације на $37\text{ }^\circ\text{C}$, при чему је уочено незнатно смањење интензитета апсорпционог максимума, без значајних промена у облику спектра. Ове незнатне промене у интензитету

апсорпционог максимума се могу приписати раскидању везе између одговарајућег *N*-хетероцикличног лиганда и злато(III) јона или делимичној редукцији овог јона метала до елементарног злата, Au(0).

Као и у случају сребро(I) комплекса, испитивана је стабилност **Au1-5** комплекса на светлости и ваздуху у временском периоду од 96 h на 25 °C (слика 56). У поређењу са комплексима сребра(I) са истим лигандима (**Ag1-5**), комплекси злата(III) **Au1-5** показују значајно већу стабилност. Најмању стабилност показује комплекс злата(III) са феназином **Au5**, што је у складу са UV-vis спектрофотометријским испитивањем стабилности комплекса. Наиме, највећа промена у интензитету апсорпционог максимума је уочена за овај комплекс.



Слика 56. Временска зависност стабилности **Au1-5** комплекса на светлости и ваздуху на собној температури

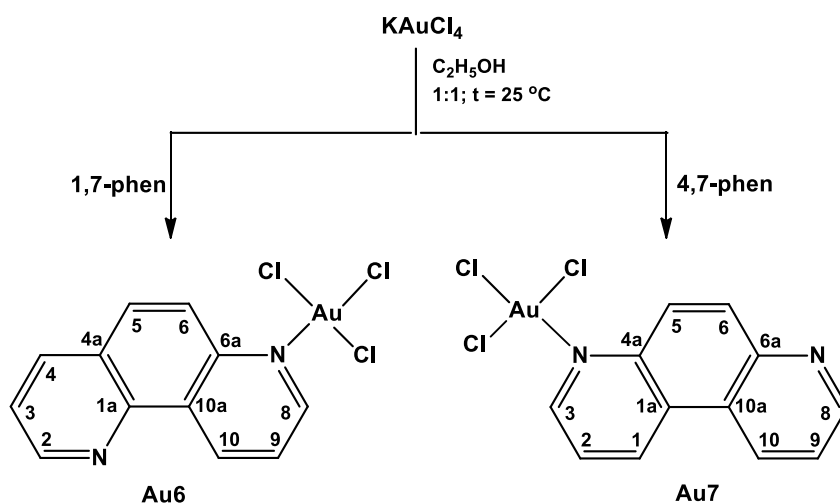
Синтеза и структурна карактеризација комплекса злата(III) са 1,7- и 4,7-фенантролином

Мононуклеарни злато(III) комплекси $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-}N4)]$ (**Au7**) су добијени у реакцијама између еквимоларне количине $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ и одговарајућег фенантролинског лиганда у етанолу на собној температури (Слика 57). Наши покушаји да добијемо динуклеарне комплексе злата(III) са 1,7- и 4,7-фенантролином који садрже два атома азота у различитим прстеновима раздвојеним једним бензеновим прстеном су били неуспешни, јер је и у вишку полазног комплекса злата(III) настајао мононуклеарни комплекс са монодентатно координованим фенантролином.

Спектроскопска карактеризација **Au6 и **Au7** комплекса**

^1H и ^{13}C NMR спектри $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (**Au7**) комплекса и одговарајућих 1,7- и 4,7-фенантролина су снимљени у деутероацетону као растварачу, при чему су спектроскопски подаци за комплексе приказани у Експерименталном делу дисертације (поглавље 3.3.2).

У ^1H NMR спектрима слободних лиганата, јављају се четири сигнала који одговарају ароматичним протонима 1,7-phen, односно пет сигнала који одговарају ароматичним протонима 4,7-phen лиганата. Након координације лиганата за Au(III) јон долази до појаве осам раздвојених сигнала у ^1H NMR спектрима оба комплекса, што указује на монодентатну координацију фенантролинских лиганата. Монодентатна координација 1,7- и 4,7-phen лиганата за Au(III) јон узрокује померање сигнала у ^1H NMR спектру ка већој вредности хемијског померања, тј. ка нижем пољу. Померање сигнала ка нижем пољу након координације ових лиганата, приписано је електрон-привлачним особинама Au(III) јона, услед чега хетероароматични прстен постаје електрон-дефицитаран.



Слика 57. Шематски приказ реакција синтезе мононуклеарних $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (**Au7**) комплекса. Означавање угљеникових атома ароматичних *N*-хетероциклических лиганата је у складу са IUPAC-овим правилима

На основу ^1H NMR спектра **Au6** комплекса може се закључити да се 1,7-фенантролин координује за злато(III) јон преко N7 атома азота. Наиме, сигнал који

одговара H8 протону у **Au6** комплексу је за 0,8 ppm померен ка nižем пољу, односно већем хемијском померању у односу на сигнал који одговара истом протону некоординованог лиганда. С друге стране, сигнал који одговара H2 протону је за 0,2 ppm померен ка nižем пољу, односно већем хемијском померању у односу на сигнал који одговара истом протону некоординованог 1,7-фенантролина.

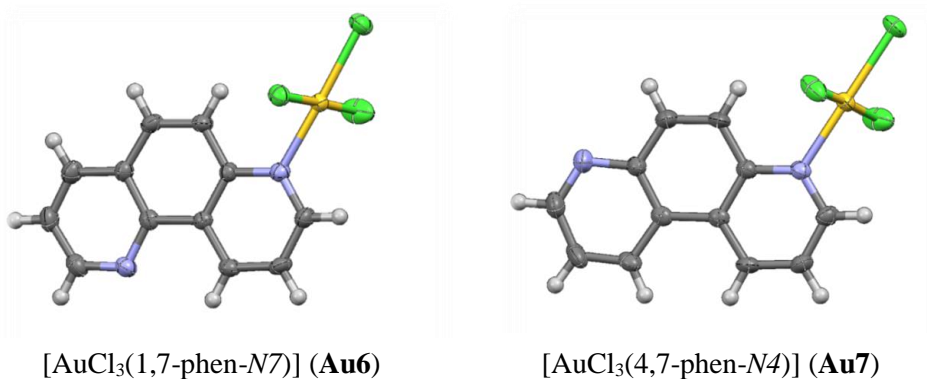
Супротно померању сигнала свих водоникових атома ка nižем пољу услед координације 1,7- и 4,7-phen лиганада за Au(III) јон, сигнали који потичу од C1a/C9 и C4a/C6 угљеникових атома у **Au6** и **Au7** комплексима померени су ка вишем пољу у односу на одговарајуће сигнале некоординованих лиганада.

IR спектри **Au6** и **Au7** комплекса су снимљени у области таласних бројева 4000 – 450 cm⁻¹, у којој се могу уочити траке приписане координованим фенантролинским лигандима. У FIR спектрима испитиваних комплекса, карактеристичне су траке јаког интензитета на 363 cm⁻¹ за **Au6** и 359 cm⁻¹ за **Au7**, које потичу од вибрација Au–Cl везе, која се налази у *trans* положају у односу на координован атом азота. Добијени резултати су у сагласности са претходно објављеним резултатима за комплексе злата(III) опште формуле [AuCl₃L], при чему је L = пиридин, 2-, 3- и 4-метилпиридин, 2,6-, 3,5-, и 2,4-лутидин и 4-цијанопиридин, у чијим се FIR спектрима јавља интензивна трака у области 366 – 356 cm⁻¹, која одговара валенционим вибрацијама *trans* Au–Cl везе [243].

UV-vis спектри **Au6** и **Au7** комплекса су снимљени у DMF као растварачу. Облик спектра и вредности апсорпционих максимума су скоро идентични за оба комплекса ($\lambda_{\max} = 322$ nm за **Au6** и $\lambda_{\max} = 321$ nm за **Au7**), што потврђује монодентатну координацију фенантролинских лиганада за злато(III) јон. UV-vis спектри комплекса показују значајно батохромно померање у односу на спектре некоординованих лиганада; апсорпциони максимуми лиганада се налазе на $\lambda_{\max} = 267$ nm за 1,7-phen и 270 nm за 4,7-phen. Апсорпциони максимуми који се налазе на око 320 nm се могу приписати преносу електрона са лиганда у *d* орбитале Au(III) јона (LMCT) [244,245].

Опис кристалних структура Au6 и Au7 комплекса

Комплекси злата(III) са монодентатно координованим фенантролинским лигандима су окарактерисани применом рендгенске структурне анализе. На слици 58 приказане су структуре $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N}7)]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N}4)]$ (**Au7**) комплекса, док су дужине веза и углови између веза дати у табели 18. Као што се са слике 58 може видети, комплекси злата(III) са фенантролинима имају квадратно-планарну геометрију и садрже једну Au–N(фенантролин) и три Au–Cl везе. Комплекс **Au6** има C_s симетрију, док је симетрија комплекса **Au7** C_{2v} . Упркос чињеници да оба комплекса имају веома сличну структуру, постоје одређене разлике у релативној оријентацији фенантролинског прстена у односу на координациону раван злата(III). Тако је фенантролински прстен у скоро нормалном положају ($83,15(4)^\circ$) у односу на координациону раван злата(III) у **Au6** комплексу, док је у **Au7** комплексу хетероароматични прстен нагнут под углом од $74,52(9)^\circ$ у односу на координациону раван злата(III). Све Au–Cl везе у **Au6** комплексу су различите дужине, док су у **Au7** комплексу Au–Cl₂ и Au–Cl₃ везе исте дужине (Табела 18). Може се претпоставити да је различита дужина Au–Cl веза у **Au6** комплексу последица постојања различитих интермолекулских интеракција, као што су $\text{Au}\cdots\text{Cl}$, $\text{Cl}\cdots\text{Cl}$, $\pi\cdots\pi$ и $\text{C-H}\cdots\text{Cl}$ интеракције, као и $\text{C-H}\cdots\text{N}$ водоничне везе (Слика 59). У кристалу **Au7** комплекса, $\text{Au}\cdots\text{Cl}$ и $\text{Cl}\cdots\text{Cl}$ интеракције су знатно дуже у односу на одговарајуће интеракције у **Au6** комплексу, што за последицу има слабије кристално паковање (Табела 19). $\text{C-H}\cdots\text{N}$ водоничне везе су јаче у **Au7** у односу на **Au6** комплекс, јер је некоординовани N7 атома азота 4,7-фенантролина стерно приступачнији у односу на стерно заклоњен некоординовани N1 атома азота у 1,7-фенантролину (Табела 19).

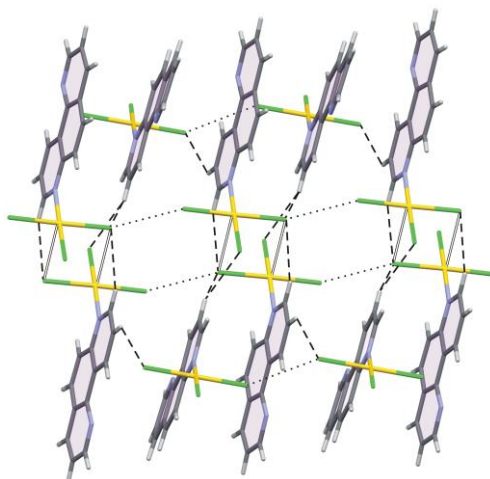


Слика 58. Структуре [AuCl₃(1,7-phen-N7)] (**Au6**) и [AuCl₃(4,7-phen-N4)] (**Au7**) комплекса. Елипсоиди су дати са 40% вероватноће, а водоникови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника

Табела 18. Дужине веза (Å) и углови између веза (°) у [AuCl₃(1,7-phen-N7)] (**Au6**) и [AuCl₃(4,7-phen-N4)] (**Au7**) комплексима

	Au6		Au7	
	X-ray	DFT	X-ray	DFT
Au—N ^a	2,049(3)	2,0477	2,066(7)	2,0490
Au—Cl1	2,2858(10)	2,3007	2,284(3)	2,3005
Au—Cl2	2,2643(10)	2,2789	2,273(2)	2,2788
Au—Cl3	2,2701(12)	2,2993	2,273(3)	2,2997
<hr/>				
N—Au—Cl1	89,64(9)	89,0716	89,5(2)	89,1026
N—Au—Cl2	178,07(10)	178,6975	179,9(3)	178,4938
N—Au—Cl3	88,90(9)	88,7922	88,9(2)	88,7689
Cl1—Au—Cl2	90,29(4)	91,1128	90,58(11)	91,0814
Cl1—Au—Cl3	178,49(4)	177,8293	176,79(11)	177,8456
Cl2—Au—Cl3	91,16(4)	91,0316	91,04(11)	91,0551
Au—N—C4a			122,2(6)	122,0368
Au—N—C3			116,1(6)	116,5949
Au—N—C6a	121,0(2)	121,8445		
Au—N—C8	118,4(3)	116,9398		

^aN7 за **Au6** и N4 за **Au7**.



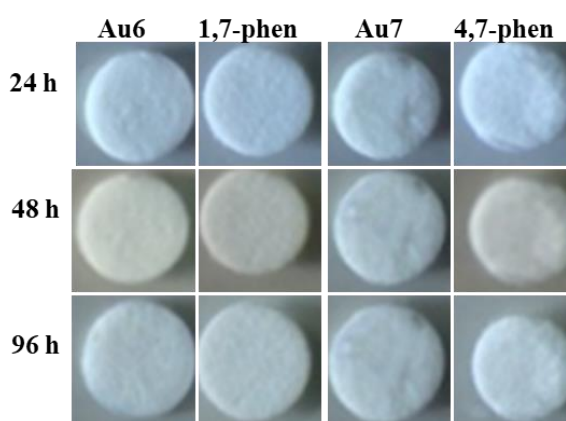
Слика 59. Различите интермолекуларне интеракције у кристалу $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) комплекса. Испрекидане линије означавају водоничне везе, две линије означавају $\text{Au}\cdots\text{Cl}$ интеракције, тачкасте линије означавају $\text{Cl}\cdots\text{Cl}$ интеракције, док осенчени делови означавају $\pi\cdots\pi$ интеракције

Табела 19. Дужине и углови интермолекуларних водоничних веза у $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-}N4)]$ (**Au7**) комплексима

	D–H [Å]	D \cdots A [Å]	H \cdots A [Å]	D–H \cdots A [°]	Симетријске трансформације које се односе на акцепторски атом (A)
Au6					
C2–H2 \cdots N1	0,93	3,632(5)	2,79	151	$-x+1, -y+2, -z+1$
C3–H3 \cdots C11	0,93	3,753(5)	2,87	158	$-x+1, +y+1/2, -z+1/2+1$
C4–H4 \cdots C13	0,93	3,832(4)	2,92	166	$-x+1, -y+1, -z+1$
C8–H8 \cdots C11	0,93	3,705(4)	2,87	150	$-x, -y+1, -z+1$
C9–H9 \cdots C11	0,93	3,600(4)	2,96	127	$x, -y+1/2+1, +z-1/2$
C9–H9 \cdots C12	0,93	3,701(4)	2,93	141	$-x, +y+1/2, -z+1/2$
Au7					
C2–H2 \cdots N7	0,93	3,398(13)	2,48	171	$x+1, +y-1, +z$
C9–H9 \cdots C11	0,93	3,713(12)	2,87	151	$-x, -y+1, -z$
C9–H9 \cdots C13	0,93	3,544(11)	2,88	129	$-x+1, -y+1, -z$
C8–H8 \cdots C12	0,93	3,820(10)	2,92	164	$x-1, +y+1, +z-1$
C5–H5 \cdots C13	0,93	3,573(12)	2,84	137	$-x+1, -y+1, -z+1$
C3–H3 \cdots C11	0,93	3,713(9)	2,83	160	$-x+1, -y, -z+1$
C1–H1 \cdots C12	0,93	3,778(11)	2,88	163	$x, +y, +z-1$

Стабилност Au6 и Au7 комплекса

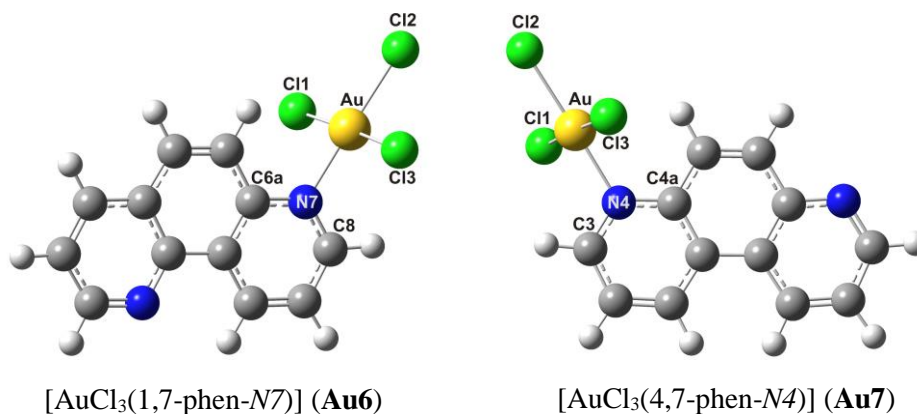
Стабилност **Au6** и **Au7** комплекса је испитивана применом UV-vis спектрофотометрије. Комплекси су растворени у DMF растварачу и UV-vis спектри су снимљени одмах након растварања и након 24 h инкубације на 37 °C. Уочено је незнатно смањење апсорпционог максимума за оба комплекса (< 10%), при чему се облик спектра није значајно променио. Осим стабилности у раствору, **Au6** и **Au7** комплекси су изузетно стабилни на светлости и ваздуху на 25 °C (Слика 60), при чему није уочена промена боје дискова који су импрегнирани растворима комплекса након 96 h.



Слика 60. Стабилност $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-}N4)]$ (**Au7**) комплекса на светлости и ваздуху у различитим временским интервалима на собној температури

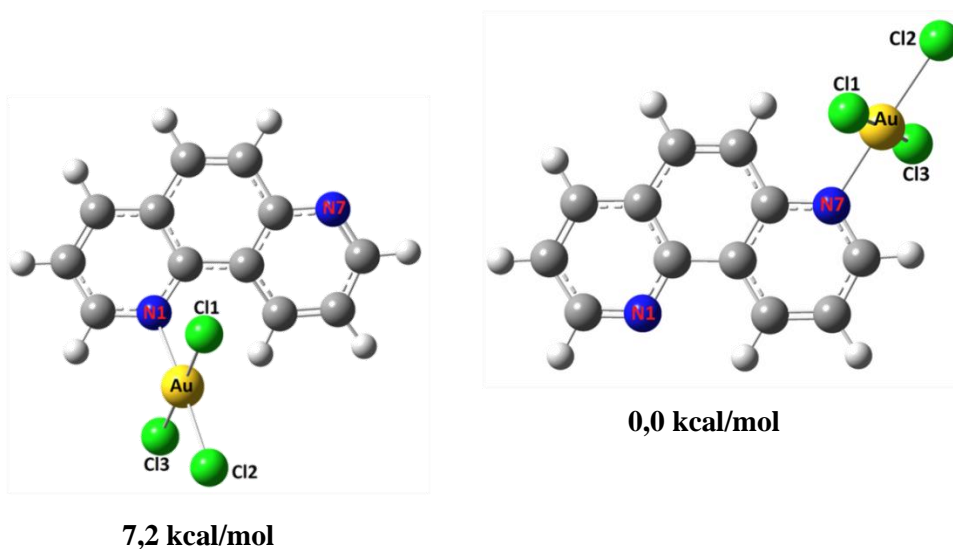
DFT анализа Au6 и Au7 комплекса

Структуре мононуклеарних $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-}N4)]$ (**Au7**) комплекса које су оптимизоване у етанолу коришћењем M06-2X/cc-pVDZ+LanL2TZ(f) DFT методе су приказане на слици 61, док су вредности израчунатих дужина и углова веза приказани у табели 20. Као што се из табеле може видети, параметри за оптимизоване структуре **Au6** и **Au7** комплекса су у сагласности са одговарајућим параметрима добијеним применом рендгенске структурне анализе.



Слика 61. Структуре мононуклеарних [AuCl₃(1,7-phen-N7)] (**Au6**) и [AuCl₃(4,7-phen-N4)] (**Au7**) комплекса оптимизоване применом M06-2X(CPCM)/cc-pVTZ+LanL2TZ(f) методе

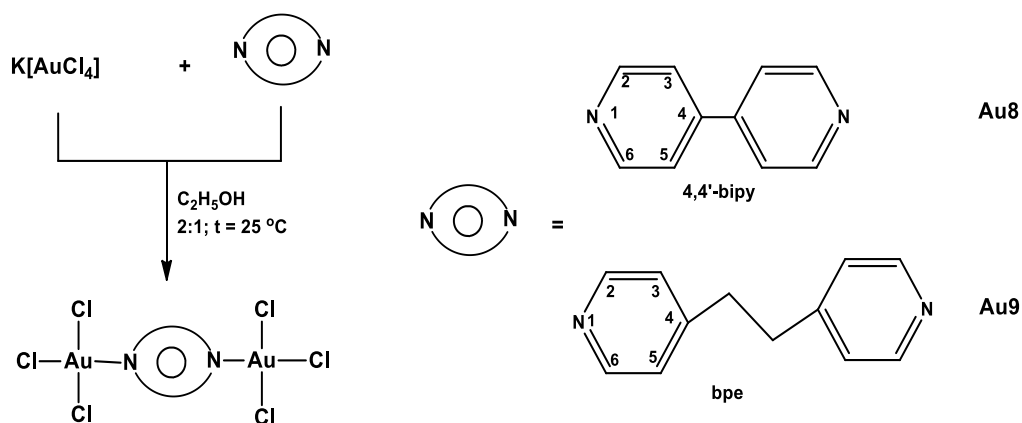
Имајући у виду чињеницу да 1,7-фенантролин има два стерно различита атома азота, која могу представљати потенцијално место за везивање злато(III) јона, било је могуће претпоставити да се структурно два различита мононуклеарна комплекса могу добити у реакцији KAuCl₄ и 1,7-фенантролина, [AuCl₃(1,7-phen-N1)] и [AuCl₃(1,7-phen-N7)]. Међутим, као што се може видети са слике 62, злато(III) комплекс са N1 координованим 1,7-phen лигандом има већу енергију за 7,2 kcal/mol у односу на комплекс са N7 координованим лигандом, указујући да је координација лиганда преко N7 атом азота термодинамички и кинетички фаворизована.



Слика 62. Могуће структуре мононуклеарних комплекса злато(III) са 1,7-фенантролином и њихове релативне енергије (kcal/mol)

Синтеза и структурна карактеризација динуклеарних комплекса злата(III) са 4,4'-бипиридином и 1,2-bis(4-пиридил)етаном

Два динуклеарна комплекса злата(III) **Au8** и **Au9**, опште формуле $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-L})]$ (L је мостни *N*-хетероциклични лиганд 4,4'-бипиридин (4,4'-bipy) и 1,2-bis(4-пиридил)етан (bpe)), добијена су у реакцији између $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ и одговарајућег *N*-хетероцикличног лиганда у 2 : 1 молском односу у етанолу као растварачу (Слика 63). Синтетисани **Au8** и **Au9** комплекси су окарактерисани помоћу резултата елементарне микроанализе, NMR (^1H и ^{13}C) и IR спектроскопије, као и UV-vis спектрофотометрије. Комплекс $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (**Au8**) је окарактерисан применом рендгенске структурне анализе. С обзиром на чињеницу да за $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-bpe})]$ (**Au9**) комплекс нису добијени кристали погодни за рендгенску структурну анализу, геометрије оба комплекса су оптимизоване применом DFT M06-2X методе.



Слика 63. Шематски приказ реакција за синтезу динуклеарних **Au8** и **Au9** опште формуле $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-L})]$, L = 4,4'-bipy и bpe. Атоми у хетероароматичном прстену су означени у складу са IUPAC-овим правилима

Формирање динуклеарних комплекса **Au8** и **Au9** у реакцијама Au(III) јона са 4,4'-bipy и bpe лигандима је у супротности са формирањем мононуклеарних комплекса злата(III) у реакцијама овог јона са пиридазином (pydz), пиримидином (pm), пиразином (pz), хиноксалином (qx) и феназином (phz), које су извођене у 2 : 1 молском односу реактаната [141,142]. Монодентатна координација pydz, pm, pz, qx и phz лиганда за Au(III) јон приписана је јаким електрон-привлачним особинама овог

јона, тј. присуство електрон-привлачне AuCl_3 групе, која је координована за атом азота хетероароматичног прстена, чини овај прстен електрон-дефицитарним и смањује нуклеофилност другог атома азота, спречавајући формирање динуклеарног комплекса злата(III). Насупрот томе, у 4,4'-bipy и bpe лигандима, утицај координоване AuCl_3 групе на нуклеофилност другог атома азота је значајно смањена, услед чињенице да су у овим лигандима два хетероароматична прстена раздвојена са једном (4,4'-bipy) или три (bpe) простих σ -веза, што има за последицу да се ароматичност једног прстена због спречене делокализације електронске π -шарже не може пренети на други ароматични прстен испитиваних лиганата.

Спектроскопска карактеризација Au8 и Au9 комплекса

^1H и ^{13}C NMR спектри 4,4'-bipy и bpe лиганата и одговарајућих динуклеарних комплекса **Au8** и **Au9** су снимљени у $\text{DMSO-}d_6$ као растварачу, при чему су добијени спектроскопски подаци приказани у Експерименталном делу дисертације (3.3.3). **Au8** и **Au9** комплекси су стабилни у овом растварачу, насупрот мононуклеарним комплексима злата(III) са монодентатно координованим pydz, pm, pz, qx и phz лигандима, који се у присуству $\text{DMSO-}d_6$ распадају, дајући слободне *N*-хетероцикличне лиганде [141,142].

Хемијска померања некоординованих 4,4'-bipy и bpe лиганата у $\text{DMSO-}d_6$ су у сагласности са хемијским померањима ових лиганата у другим растварачима [246,247]. У ^1H NMR спектрима оба лиганата, јављају се два AA'BB' мултиплета који одговарају ароматичним протонима пиридинских прстенова, док се у спектру bpe лиганата додатно јавља синглет на 2,93 ppm који потиче од алифатичних CH_2 протона мостне етиленске групе. Формирање динуклеарних $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-L})]$ ($\text{L} = 4,4'\text{-bipy}$ (**Au8**) и bpe (**Au9**)) комплекса узрокује померање сигнала у ^1H NMR спектру који потичу од ароматичних протона ка већој вредности хемијског померања, тј. ка нижем пољу. Померање сигнала ароматичних протона ка нижем пољу након координације 4,4'-bipy и bpe лиганата за Au(III) јон, приписано је присуству електрон-привлачне AuCl_3 групе, услед чега хетероароматични прстен постаје електрон-дефицитаран. Поред тога, синглет који се налази на 2,93 ppm и који одговара протонима етиленске групе у bpe лиганду, помера се на 3,30 ppm ($\Delta\delta = 0,37$

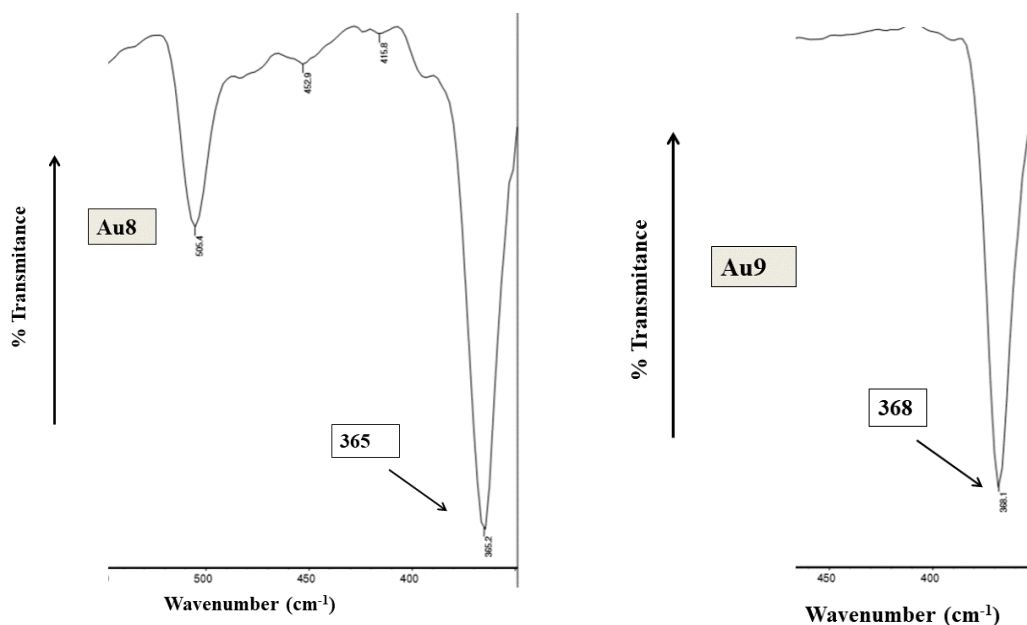
ppm) након његове координације за Au(III) јон у комплексу **Au9**. Важно је напоменути да је разлика у хемијским померањима H3 и H5 протона у злато(III) комплексима **Au8** и **Au9** и одговарајућим лигандима већа од разлике у померањима H2 и H6 протона, који су ближи координованом атому азота, што је приписано процесу повратне донације, тј. интеракцији између *d* орбитала Au(III) јона и π -електрона координованог лиганда.

Супротно померању сигнала свих водоникових атома ка nižем пољу услед формирања **Au8** и **Au9** комплекса, сигнали који потичу од угљеникових атома који су суседни координованом атому азота (C2 и C6) у овим комплексима померени су ка nižем хемијском померању тј. ка вишем пољу у односу на сигнале одговарајућих угљеникових атома некоординованих лиганда ($\Delta\delta = -4,51$ ppm за 4,4'-bipy и $-7,69$ ppm за bre). Померање сигнала ових угљеникових атома након координације 4,4'-bipy и bre лиганда за Au(III) јон приписано је процесу повратне донације. Поред тога, сигнал који потиче од алифатичног угљениковог атома мостне етиленске групе у комплексу **Au9** померен је незнатно ка вишем пољу у односу на сигнал који потиче од истог угљениковог атома у некоординованом 4,4'-bre лиганду ($\Delta\delta = -0,23$ ppm).

IR спектри **Au8** и **Au9** комплекса су снимљени у опсегу таласних бројева $4000 - 450 \text{ cm}^{-1}$. У овој области се могу уочити траке које потичу од координованог *N*-хетероцикличног једињења. У FIR спектрима **Au8** и **Au9** комплекса најзначајније су интензивне траке на 365 и 368 cm^{-1} , које потичу од вибрација Au–Cl везе, која се налази у *trans* положају у односу на координован атом азота (Слика 64). Раније је утврђено да се асиметричне валенционе вибрације *trans* Au–Cl везе налазе у области $371 - 364 \text{ cm}^{-1}$, док се симетричне валенционе вибрације налазе у области $370 - 360 \text{ cm}^{-1}$ [248]. Као што се може видети, разлика у таласном броју симетричних и асиметричних валенционих вибрација је веома мала, тако да веома често долази до преклапања ових трака и може се уочити присуство само једне интензивне траке у испитиваној области FIR спектра [248].

UV-vis спектри **Au8** и **Au9** комплекса су снимљени у DMF као растварачу. Апсорпциони максимуми се налазе на $\lambda_{\text{max}} = 324 \text{ nm}$ за **Au8** комплекс и на $\lambda_{\text{max}} = 318 \text{ nm}$ за **Au9** комплекс што, поред сличног облика спектра, указује на индентичну координацију *N*-хетероцикличних лиганда за злато(III) јон. Спектри комплекса показују батохромно померање у односу на спектре лиганда; апсорпциони

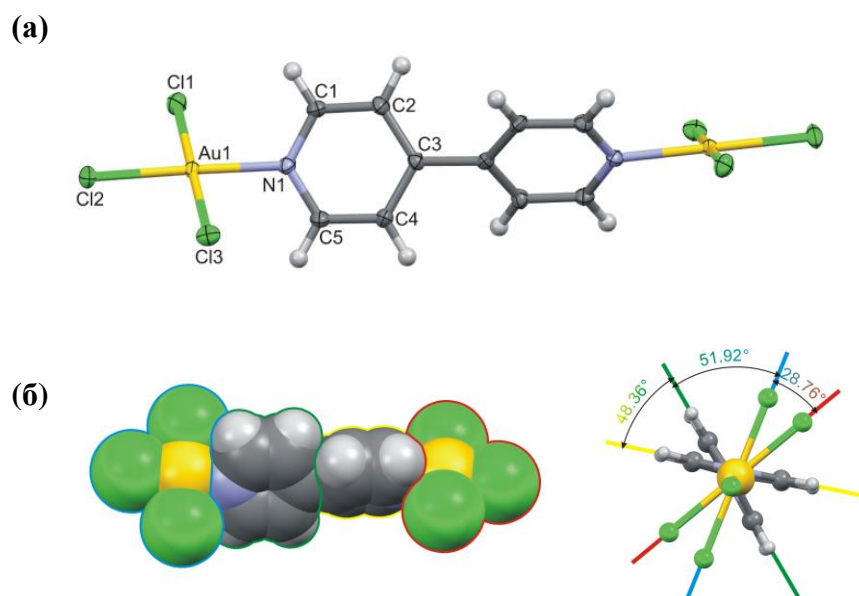
максимуми лиганата се налазе на $\lambda_{\max} = 292 \text{ nm}$ за 4,4'-bipy и $\lambda_{\max} = 282 \text{ nm}$ за bpe. Као што је већ напоменуто, апсорпциони максимуми комплекса који се налазе на око 320 nm могу се приписати преносу електрона са лиганда у d орбитале Au(III) јона (LMCT – ligand-to-metal charge transfer), тј. Cl \rightarrow Au преносу електрона на основу поређења са UV-vis спектром $[\text{AuCl}_4]^-$ комплекса [244,245].



Слика 64. IR спектри динуклеарних $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-L})]$ ($L = 4,4'$ -bipy (**Au8**) и bpe (**Au9**)) комплекса

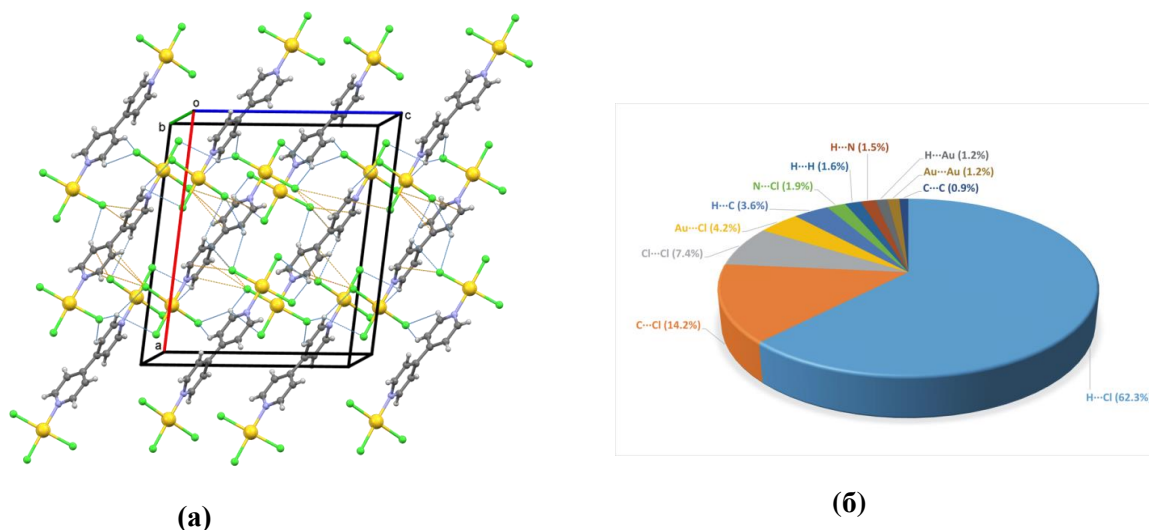
Опис кристалне структуре **Au8** комплекса

Структура $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (**Au8**) комплекса одређена применом рендгенске структурне анализе приказана је на слици 65, а одговарајуће дужине веза и углови између веза су дати у табели 20. Као што се са слике 65а може видети, 4,4'-bipy се понаша као мостни лиганд између два злато(III) јона, при чему комплекс **Au8** има квадратно-планарну геометрију. Два пиридинска прстена у 4,4'-bipy лиганду формирају угао од $48,36(18)^\circ$, док сваки пиридински прстен са AuCl_3 фрагментом формира угао од $51,92(15)^\circ$, узрокујући савијање терминалних AuCl_3 јединица за $28,76(3)^\circ$. Важно је напоменути да је савијање четири планарна фрагмента идентично, што доприноси савијању целе молекулске структуре (Слика 65б).



Слика 65. (a) Структура $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-4,4'-bipy})]$ (**Au8**) комплекса. Молекул има C_2 симетрију у кристалу. Друга половина молекула је одређена применом симетријских трансформација координата $-x$, y , $0,5-z$. Елипсоиди су дати са 40% вероватноће, а водоникови атоми су приказани као мале сфере произвољног полупречника. (b) Просторно представљање комплекса, које показује савијање четири планарне јединице, које чине молекул

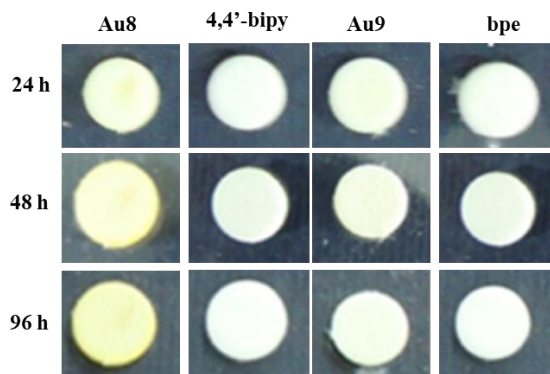
Паковање молекула у кристалу **Au8** комплекса одређују $\text{C-H}\cdots\text{Cl}$ и $\text{C}\cdots\text{Cl}$ интеракције (Слика 66a). На основу Хиршфилдове (*Hirshfeld*) површинске анализе [249], ова два типа интермолекулских интеракција су заступљена са 62,3 и 14,2% од свих молекулских интеракција која се јављају у кристалном паковању синтетисаног комплекса (Слика 66b).



Слика 66. (а) 3D супрамолекулска структура **Au8** комплекса (приказ дуж *b*-смера) која је стабилизована са две најзаступљеније интеракције: C-H...Cl (цртице плаве боје) и C...Cl (цртице беж боје). **(б)** Хиршфилдова површинска анализа различитих интермолекулских интеракција у кристалу **Au8** комплекса, израчунате применом Crystal Explorer програма [249]

Стабилност **Au8** и **Au9** комплекса

Стабилност **Au8** и **Au9** комплекса је праћена применом ^1H NMR спектроскопије, при чему су комплекси растворени у DMSO- d_6 као растварачу. Спектри су снимљени одмах и 96 h након растварања комплекса на собној температури. NMR спектри оба комплекса су непромењени након 96 h, што указује на њихову стабилност у раствору. Поред тога, испитивање стабилности комплекса применом UV-vis спектрофотометрије у DMSO растварачу показује смањење интензитета њихових апсорпционих максимума за око 30% без значајних промена у облику спектра после 24 h. Поред стабилности у раствору, комплекси **Au8** и **Au9** показују изузетну стабилност на светлости и ваздуху на собној температури (Слика 67).

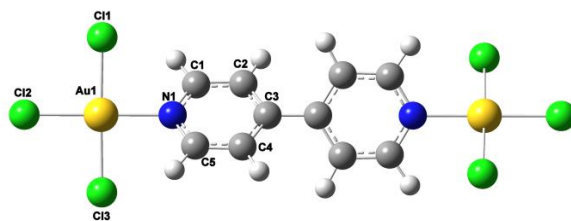


Слика 67. Стабилност динуклеарних $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-L})]$ ($\text{L} = 4,4'\text{-bipy}$ (**Au8**) и bpe (**Au9**)) комплекса на светлости и ваздуху у различитим временским интервалима на собној температури

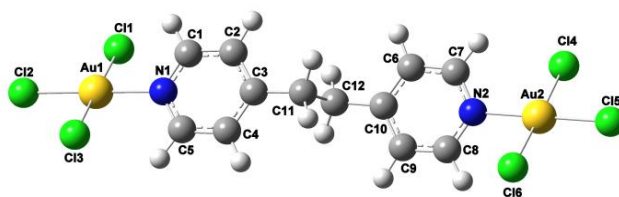
DFT анализа Au8 и Au9 комплекса

Структуре динуклеарних $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-L})]$ ($\text{L} = 4,4'\text{-bipy}$ (**Au8**) и bpe (**Au9**)) комплекса су оптимизоване у вакууму применом M06-2X/cc-pVDZ+LanL2TZ(f) методе. Раније је нађено да се применом DFT M06-2X методе могу прецизно предвидети структуре комплекса злата(III) са *N*-хетероцикличним једињењима [250]. Такође, овај функционал се веома успешно примењује за испитивање електронских особина хетероцикличних једињења која у прстену садрже азот [250]. Оптимизоване структуре испитиваних комплекса, одређене применом M06-2X/cc-pVDZ+LanL2TZ(f) методе, приказане су на слици 68, док су вредности DFT израчунатих дужина веза и углова дати у табели 20. У циљу поређења резултата, у овој табели су приказане и одговарајуће вредности за $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (**Au8**) комплекс добијене методом дифракције X-зрака са кристала. Као што се из табеле 20 може видети, вредности за дужине веза и углове између веза добијене применом DFT прорачуна и рендгенске структурне анализе су веома сличне. Au–N везе у испитиваним **Au8** и **Au9** комплексима су знатно краће у односу на Au–Cl везе. Поред тога, Au–Cl веза која се налази у *trans* положају у односу на координовани атом азота је краћа у односу на преостале две Au–Cl везе (Табела 20). Дужине Au–N и Au–Cl веза у комплексима **Au8** и **Au9** су сличне дужинама одговарајућих веза које су одређене у кристалној структури других $[\text{AuCl}_3(\text{X-N})]$ комплекса [144,142,250], где X

представља ароматично *N*-хетероциклично једињење координовано за Au(III) јон преко атома азота.



$[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (**Au8**)



$[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-bpe})]$ (**Au9**)

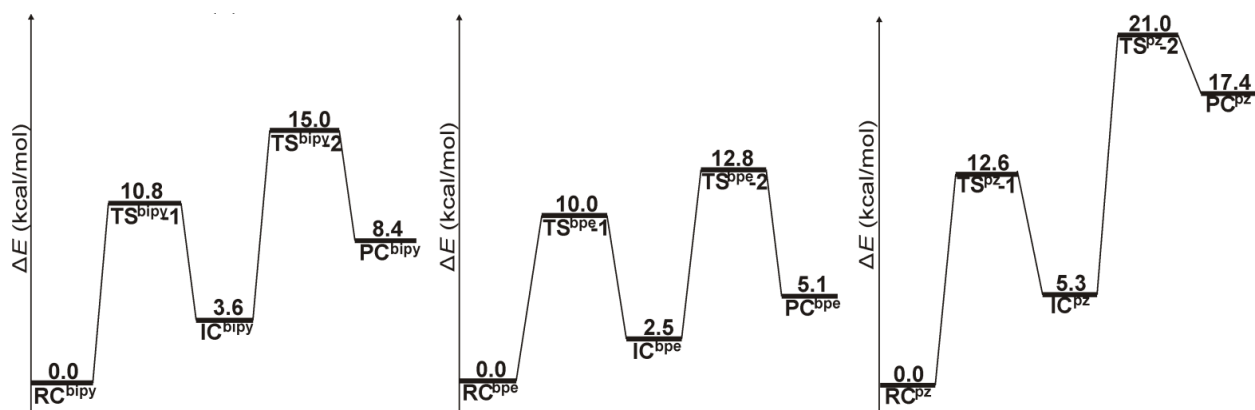
Слика 68. Структуре динуклеарних $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipy})]$ (**Au8**) и $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-bpe})]$ (**Au9**) комплекса оптимизоване применом DFT M06-2X/(LanL2TZ(f)+cc-PVTZ)//M06-2X/(LanL2TZ(f)+cc-PVDZ) методе

На слици 69 је приказан енергетски дијаграм формирања динуклеарних $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-L})]$ комплекса у реакцијама између $[\text{AuCl}_4]^-$ и 4,4'-bipy, bpe и pz (пиразин), при чему се може закључити да су све три реакције ендотермне. Енергија активације за реакције формирања мононуклеарних интермедијера IC^{bipy} и IC^{bpe} (Слика 69 и 70) су приближно индентичне и износе 10,8 и 10,0 kcal/mol и за око 2,0 kcal/mol су мање од енергије активације за формирање интермедијера IC^{pz} (12,6 kcal/mol). Након формирања мононуклеарног злато(III) комплекса са одговарајућим *N*-хетероцикличним лигандом, може доћи до координације другог злато(III) јона за други атом азота лиганда, при чему се формира динуклеарни комплекс. На основу енергија активације, приказаних на слици 69 може се закључити да је формирање динуклеарног комплекса злата(III) са пиразином PC^{pz} , у коме се атоми азота налазе у истом прстену, кинетички и термодинамички неповољан процес. Енергија активације за реакцију формирања PC^{pz} је за 52,4 и 37,7% већа од одговарајућих

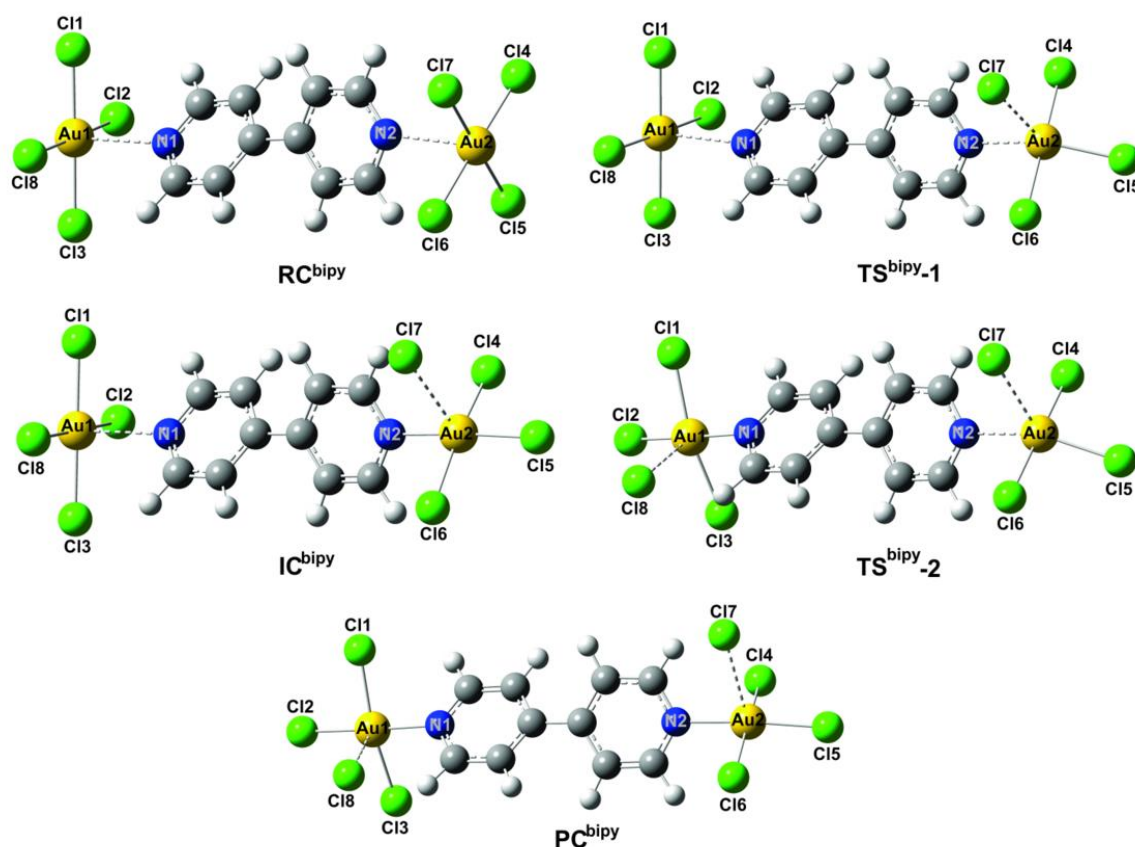
енергија активације за реакције формирања динуклеарних комплекса злата(III) са 4,4'-bipy и бре лигандима (PC^{bipy} и PC^{bpe}). Такође, мононуклеарни комплекс злата(III) са пиразином IC^{pz} је за 12,1 kcal/mol стабилнији од PC^{pz} комплекса.

Табела 20. Дужине веза (Å) и углови између веза (°) у динуклеарним злато(III) [{AuCl₃]₂(μ-L)] (L = 4,4'-bipy (**Au8**) и бре (**Au9**)) комплексима

	Au8		Au9
	X-ray	DFT	DFT
Au1—N1	2,043(4)	2,1012	2,0954
Au1—Cl1	2,2751(15)	2,3047	2,3053
Au1—Cl2	2,2613(14)	2,2516	2,2548
Au1—Cl3	2,2692(14)	2,3047	2,3059
Au2—N2			2,0957
Au2—Cl4			2,3061
Au2—Cl5			2,2542
Au2—Cl6			2,3045
N1—Au1—Cl1	90,87(14)	89,29	89,42
N1—Au1—Cl2	178,02(14)	179,98	179,51
N1—Au1—Cl3	88,65(14)	89,29	89,23
Cl1—Au1—Cl2	91,09(6)	90,71	90,64
Cl1—Au1—Cl3	179,52(5)	178,58	178,64
Cl2—Au1—Cl3	89,39(6)	90,71	90,72
Au1—N1—C5	119,0(4)	120,19	120,47
Au1—N1—C1	120,3(4)	120,19	120,03
N2—Au2—Cl4			89,20
N2—Au2—Cl5			179,59
N2—Au2—Cl6			89,52
Cl4—Au2—Cl5			90,53
Cl4—Au2—Cl6			178,71
Cl5—Au2—Cl6			90,76
Au2—N2—C7			120,22
Au2—N2—C8			120,32



Слика 69. Енергетски дијаграми за формирање динуклеарних $[\{AuCl_3\}_2(\mu-L)]$ комплекса у реакцијама између $[AuCl_4]^-$ и 4,4'-bipy (а), bpe (б) и pz (в)



Слика 70. Оптимизоване геометрије комплексних врста које су укључене у формирање $[\{AuCl_3\}_2(\mu-4,4'-bipy)]$ комплекса (**Au8**) применом M06-2X/(LanL2TZ(f)+cc-PVTZ)//M06-2X/(LanL2TZ(f)+cc-PVDZ) методе. RC^{bipy} -реактант; TS^{bipy-1} -прелазно стање 1; IC^{bipy} -интермедијер; TS^{bipy-2} -прелазно стање 2; PC^{bipy} -производ

4.1.4. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМПЛЕКСА ЗЛАТА(III)

Антимикробна активност комплекса злата(III)

Синтетисани комплекси злата(III) су испитивани према различитим врстама Грам-негативних (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*) и Грам-позитивних бактерија (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *M. luteus*) и према гљиви *C. albicans* (Табела 21). Као што је већ поменуто, ови микроорганизми су узрочници многих болести и инфекција. Да би се на адекватан начин одредио индекс селективности испитиваних комплекса (SI), минималне инхибиторске концентрације (MIC) су поређене са њиховом антипролиферативном активношћу на нормалним ћелијским линијама фибробласта плућа MRC5 (IC₅₀) (Табела 21 и 22).

Сви испитивани комплекси показују антимикробну активност у опсегу од 3,9 до > 193,4 µg/mL, односно од 5,1 до > 400 µM. Ниједан од коришћених лиганата за синтезу комплекса не показује активност према испитиваним сојевима бактерија и гљива. У поређењу са K[AuCl₄], сви комплекси имају сличне MIC вредности према различитим патогенима, осим комплекса [AuCl₃(1,7-phen-N7)] (**Au6**) и [AuCl₃(4,7-phen-N4)] (**Au7**), који не показују значајну антимикробну активност. Посебно треба истаћи [{AuCl₃}₂(µ-4,4'-bipy)] (**Au8**) комплекс, који има 8 пута већу активност од K[AuCl₄] према *M. luteus*, односно 6,4 пута већу активност према *L. monocytogenes*. Сви испитивани комплекси показују незнатну активност према *L. monocytogenes*, осим [{AuCl₃}₂(µ-4,4'-bipy)] (**Au8**) и [{AuCl₃}₂(µ-bpe)] (**Au9**) комплекса и према гљиви *C. albicans*. Антимикробна активност синтетисаних комплекса је слична активности органометалних комплекса злата(III), као што је [AuCl₂(ppy)] (ppy је 2-фенилпиридин; поглавље 1.6.3. у Општем делу дисертације) [251], или већа од активности злато(I) комплекса са *N*-хетероцикличним карбенима [252]. Комплекси [AuCl₃(pydz)] (**Au1**) и [AuCl₃(pz)] (**Au3**) показују најбољу активност према свим испитиваним врстама, на основу чега се може закључити да се са повећавањем броја ароматичних прстенова смањује антимикробна активност комплекса. Значајно је напоменути да антимикробна активност динуклеарних злато(III) комплекса **Au8** и **Au9** није много већа у односу на активност мононуклеарних злато(III) комплекса, осим према *L. monocytogenes*. У неким случајевима MIC вредности за **Au8** и **Au9** комплексе су око два пута мање, у односу на мононуклеарне комплексе, што се приписује синергистичком деловању два злато(III) јона.

Битно је напоменути да испитивани комплекси злата(III) нису токсични према нормалним ћелијским линијама фибробласта плућа, што је веома значајно, јер могу наћи примену у медицини као антимикуробни агенси. Већина испитиваних комплекса има индекс селективности већи од 2, изузев **Au6** и **Au7** комплекса (Табела 22). Од мононуклеарних комплекса, највећи терапеутски потенцијал има **Au3** комплекс према *P. aeruginosa* бактерији (SI = 8,1), док динуклеарни комплекс **Au8** има терапеутски индекс 19,2 према *M. luteus*. За комплексе злата(III) је потпуно очекивано да нису токсични према MRC5 ћелијској линији. Сличне вредности су утврђене и за комплексе злата(III) са флуорохинолином, норфлоксацином, левофлоксацином и спарфлоксацином [253], са естрима као што је (S,S)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-пропаноат [254] и дипептидима [255]. Битно је истаћи да ниједан од испитиваних комплекса не показује значајну антифунгалну активност.

Испитивани комплекси злата(III) не показују селективност у деловању према Грам-позитивним и Грам-негативним бактеријама, изузев динуклеарног **Au8** комплекса, који је веома активан према Грам-позитивним *M. luteus* и *L. monocytogenes* бактеријама. Слично том комплексу, раније синтетисани [Au (damp) Cl₂] и [Au(damp)(AcO)₂] (damp је 2-((диметиламино)метил)фенил) комплекси, показују већу селективност према Грам-позитивним бактеријама [251,256].

Табела 21. Антимикробна активност^а **Au1-9** комплекса и $K[AuCl_4]$, у поређењу са антипролиферативним ефектом на нормалне ћелије фибробласта плућа (MRC5)

Организми	Комплекси злата(III)										Канамицин /нистатин ^б
	Au1	Au2	Au3	Au4	Au5	Au6	Au7	Au8	Au9	$K[AuCl_4]$	
<i>P. aeruginosa</i>	10,0 26,1	15,0 39,1	8,0 20,9	12,5 28,8	30,0 62,0			15,6 20,5	15,6 19,7	31,2 82,5	50,0
<i>E. coli</i>	15,6 40,7	15,6 40,7	16,0 41,7	31,2 72,0	62,5 129,3	193,4 400,0	193,4 400,0	15,6 20,5	31,2 39,4	10,0 26,5	12,5
<i>S. aureus</i>	15,6 40,7	15,6 40,7	15,6 40,7	15,6 36,0	62,5 129,3	96,7 200,0	145,1 300,0	31,2 40,9	62,5 79,0	15,6 41,3	25,0
<i>S. typhimurium</i>								31,2 40,9	62,5 79,0	62,5 165,3	25,0
<i>L. monocytogenes</i>	100,0 260,8	100,0 260,8	100,0 260,8	100,0 230,7	100,0 206,8	193,4 400,0	> 193,4 > 400,0	15,6 20,9	15,6 19,7	100,0 264,6	12,5
<i>M. luteus</i>								3,9 5,1	15,6 19,7	31,2 82,5	12,5

<i>C. albicans</i>	50,0	200,0	50,0	250,0	250,0	145,1	> 193,4	125,0	62,5	40,0	4,0
	130,4	521,6	130,4	576,8	517,0	300,0	> 400,0	163,9	79,0	105,8	
<i>MRC5</i>	60,0	70,0	65,0	72,0	> 100,0	38,7	58,0	75,0	32,0	60,0	
	156,5	182,6	169,5	166,1	> 206,8	80,0	120,0	98,3	40,4	158,7	

^aЦрном бојом су означене минималне инхибиторске концентрације (MIC) и антрипролиферативни ефекат (IC₅₀) испитиваних комплекса изражене у µg/mL, док су црвеном бојом означене исте вредности изражене у µM

^bMIC и IC₅₀ вредности за канамицин и нистатин су изражене у µg/mL

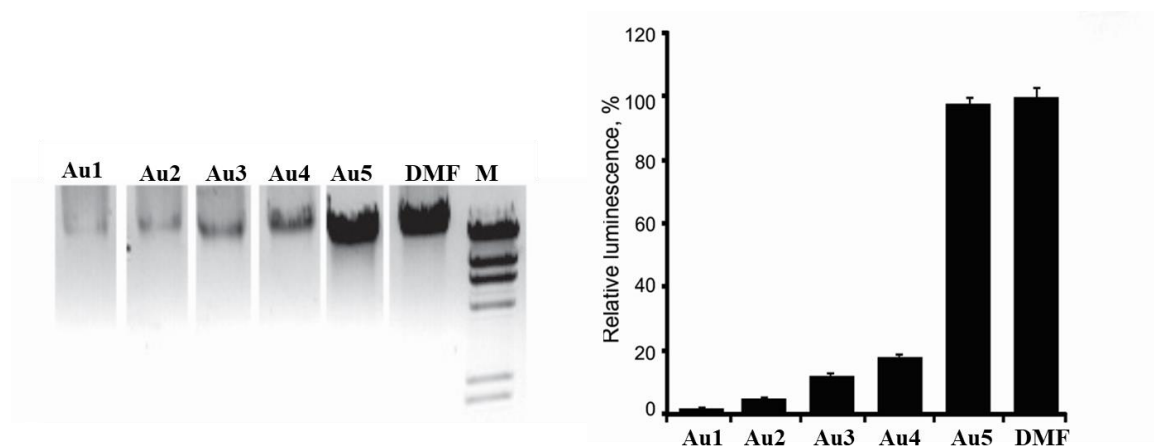
Табела 22. Индекс селективности (SI)^a Au1-9 комплекса и K[AuCl₄]

Организми	Комплекси злата(III)									
	Au1	Au2	Au3	Au4	Au5	Au6	Au7	Au8	Au9	K[AuCl ₄]
<i>P. aeruginosa</i>	6,0	4,7	8,1	5,8	> 3,3			4,8	2,0	1,9
<i>E. coli</i>	3,8	4,5	4,1	2,3	> 1,6	0,2	0,3	4,8	1,0	6,0
<i>S. aureus</i>	3,8	4,5	4,2	4,6	> 1,6	0,4	0,4	2,4	0,5	3,8
<i>S. typhimurium</i>								2,4	0,5	1
<i>L. monocytogenes</i>	0,6	0,7	0,6	0,7	> 1,0	0,2	< 0,3	4,8	2,0	0,6
<i>M. luteus</i>								4,8	19,2	1,9
<i>C. albicans</i>	1,2	0,35	1,3	0,3	> 0,4	0,3	< 0,3	0,6	0,5	1,5

^aИндекс селективности представља количник између IC₅₀ вредности према MRC5 и MIC вредности према испитиваним сојевима бактерија и гљива

Интеракције комплекса злата(III) са биомолекулима

Испитиване су интеракције мононуклеарних $[\text{AuCl}_3(\text{pydz})]$ (**Au1**), $[\text{AuCl}_3(\text{pm})]$ (**Au2**), $[\text{AuCl}_3(\text{pz})]$ (**Au3**), $[\text{AuCl}_3(\text{qx})]$ (**Au4**) и $[\text{AuCl}_3(\text{phz})]$ (**Au5**) комплекса са ДНК применом гел-електрофорезе. На основу добијених резултата, може се закључити да се ови комплекси понашају као интеркалирајући агенси геномског ДНК, услед чега спречавају интеркалирање етидијум-бромида између двоструког ланца ДНК и емитовање светлости под дејством UV зрака (Слика 71). На основу смањења емисионог интензитета етидијум-бромида-ДНК система, може се закључити да највећу могућност интеркалативног начина везивања за ДНК имају комплекси **Au1** и **Au2** (85 – 100%) у односу на контролу (DMF као растварач). Као што се са слике 71 може видети, **Au5** комплекс не показује могућност интеркалације, при чему је емисиони интензитет етидијум-бромида индентичан као и за контролу.



Слика 71. *In vitro* интеракције злато(III) комплекса **Au1-5** са геномским ДНК молекулом изолованим из *P. aeruginosa* бактерије

Велики утицај на ефикасност неког агенса који се примењује у медицини има степен његовог везивања за протеине присутне у крвној плазми. Тако је слабије везан агенс ефикаснији и лакше може дифундовати кроз ћелијску мембрану. Протеин крвне плазме за који се агенси најчешће везују је албумин хуманог серума (ХСА). Флуоресцентна спектроскопија је веома корисна метода која може дати информације о везивању малих молекула за овај протеин. Међутим, чешће се испитују интеракције са албумином говеђег серума (БСА), јер он представља структурни аналог албумина хуманог серума. Флуоресценција БСА молекула потиче

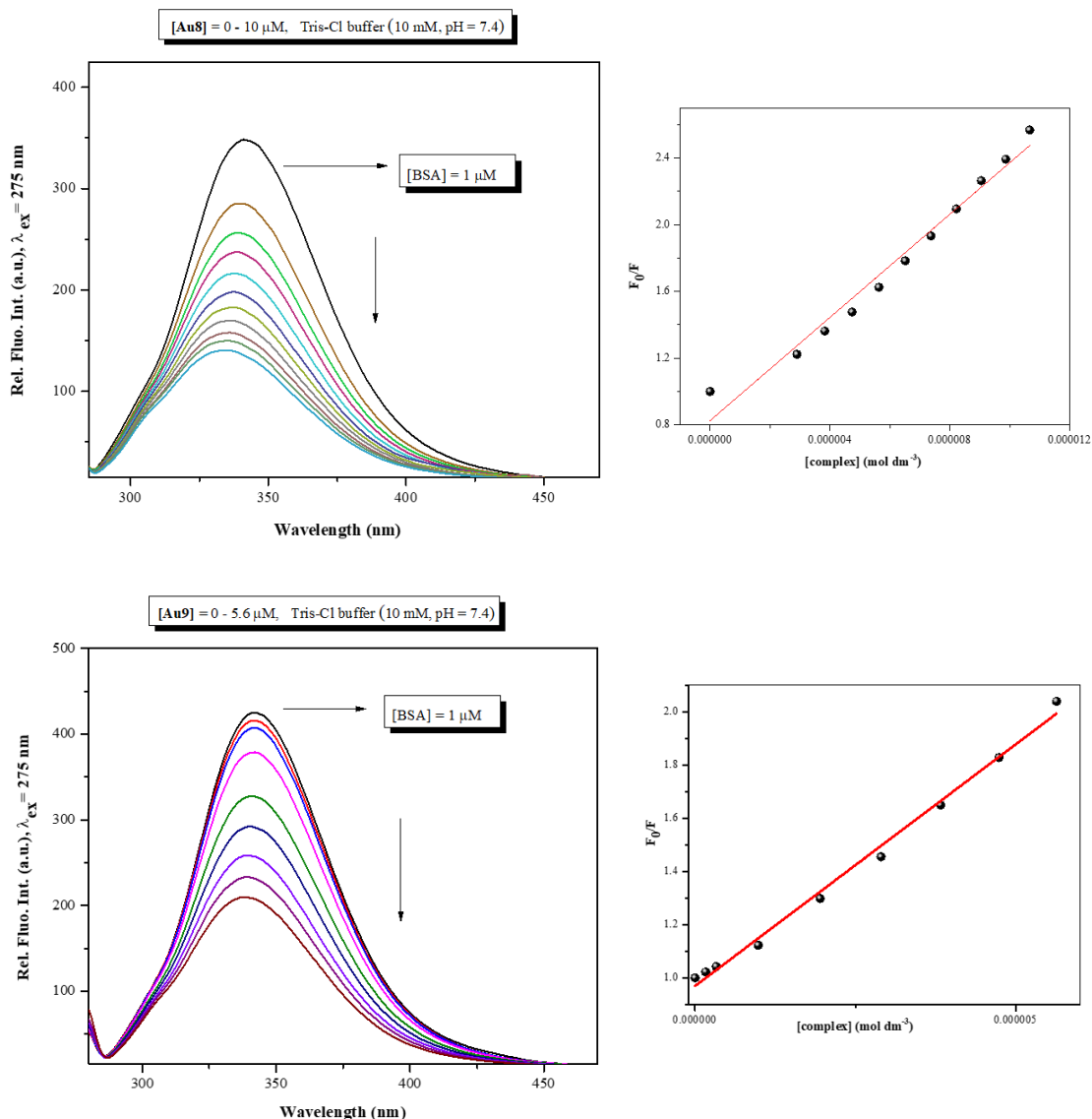
од триптофана (Trp), тирозина (Tyr) и фенилаланина (Phe), при чему триптофан (Trp-134 и Trp-212) у највећем степену доприноси интензивној флуоресценцији овог биомолекула [161,257]. Промене у флуоресцентном спектру БСА које се могу запазити након додатка комплекса су последица промена у конформацији протеина, повезивања субјединица, везивања комплекса за протеин или денатурације [258].

Испитиване су интеракције динуклеарних $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-4,4'-bipy})]$ (**Au8**) и $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-bpe})]$ (**Au9**) комплекса са БСА (Слика 72 и Табела 23). Флуоресцентни емисиони спектри БСА константне концентрације су снимљени у одсуству и присуству растућих концентрација испитиваних комплекса. Са слике 72 се може видети да се интензитет флуоресценције БСА смањује са порастом концентрације комплекса, што указује да испитивани комплекси интерагују са овим биомолекулом. Такође, уочено је померање емисионих спектра ка мањим таласним дужинама, што указује на повећање хидрофобности око активног центра БСА, након његове интеракције са комплексима [259].

Табела 23. Стерн-Волмерова константа (K_{sv}), константа гашења (K_q), константа везивања (K_b) и Хиллов коефицијент (n) за интеракцију између **Au8** и **Au9** комплекса и БСА

Комплекс	Стерн-Волмерова једначина			Логаритамска једначина		
	K_{sv} ($\times 10^5 \text{ M}^{-1}$)	K_q ($\times 10^{13} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	R^a	K_b ($\times 10^4 \text{ M}^{-1}$)	n	R^a
Au8	$1,87 \pm 0,08$	1,87	0,9726	3,74	1,49	0,9988
Au9	$1,87 \pm 0,05$	1,87	0,9932	56,16	1,10	0,9972

^aR линеарни корелациони коефицијент



Слика 72. Флуоресцентни емисиони спектар БСА у одсуству и присуству растуће концентрације **Ag8** и **Ag9** комплекса. Инсертоване слике приказују Стерн-Волмерове дијаграме

На основу линеарности у Стерн-Волмеровим графицима, може се закључити да оба комплекса доводе до гашења емисије Тгр БСА молекула. На основу добијених спектра израчунате су Стерн-Волмерова константа (K_{SV}), константа брзине гашења флуоресценције БСА (K_q), константа везивања (K_b) и број везујућих места (n) (Табела 23). На основу вредности Стерн-Волмерових константи, може се закључити да оба комплекса имају идентичну тенденцију везивања за БСА. Број везујућих места за комплексе је око 1, што указује да се комплекси везују за једно место у албумину.

Вредности K_q су веће од 10^{10} и указују на статички механизам гашења емисије [260]. На основу вредности K_b може се закључити да се **Au8** и **Au9** комплекси могу везати за БСА и на тај начин транспортовати до ћелије, а затим раскинути везу са БСА на одговарајућем месту у ћелији [260].

Антиангиогени потенцијал **Au6** и **Au7** комплекса

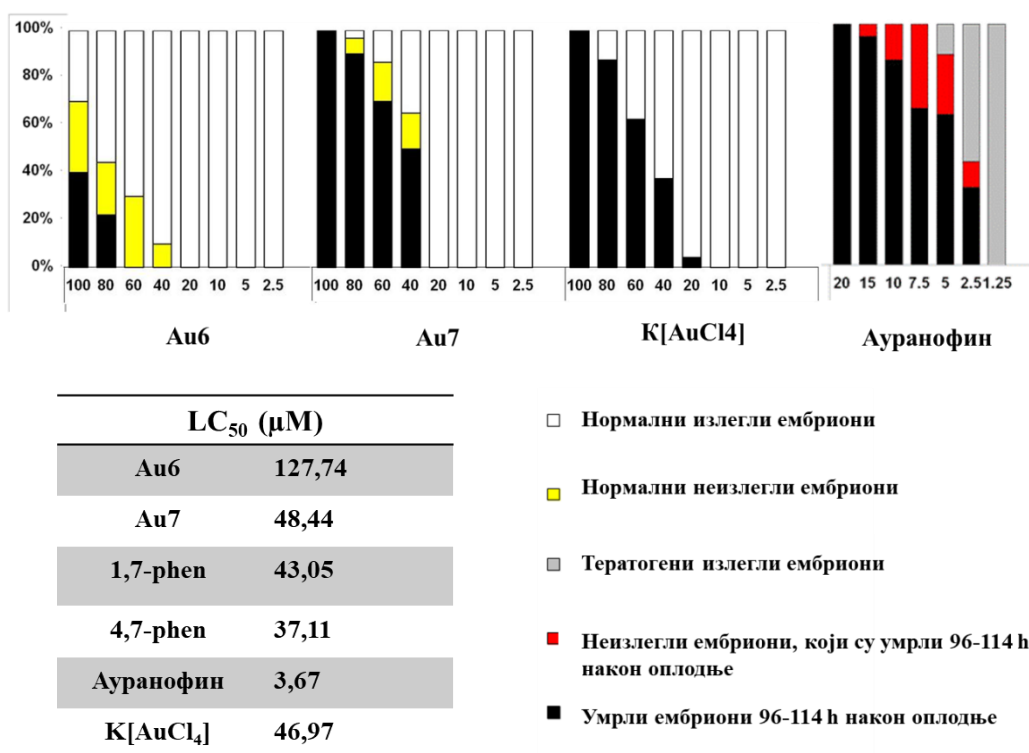
У табели 24 приказане су IC_{50} вредности (μM) за $[AuCl_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[AuCl_3(4,7\text{-phen-}N4)]$ (**Au7**) комплексе, одговарајуће лиганде (1,7- и 4,7-phen) и ауранофин (злато(I) комплекс који се користи за лечење реуматоидног артритиса), одређене на нормалним ћелијским линијама фибробласта плућа (MRC5) и ћелијама тумора грлића материце (HeLa) и аденокарцинома плућа (A549).

Из табеле се може закључити да испитивана једињења нису значајно активна према туморским ћелијама, али и да не показују токсичност према нормалним ћелијама фибробласта плућа, док је ауранофин изузетно цитотоксичан према свим испитиваним ћелијским линијама. С обзиром на веома малу токсичност испитиваних комплекса злата(III) и на чињеницу да комплекси злата(III) са дипептидима, који су раније синтетисани у нашој лабораторији, показују антиангиогену активност [255], испитивана је *in vivo* антиангиогена активност **Au6** и **Au7** комплекса на моделу зебрица.

Табела 24. IC_{50} вредности (μM) за $[AuCl_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[AuCl_3(4,7\text{-phen-}N4)]$ (**Au7**) комплексе, одговарајуће лиганде (1,7- и 4,7-phen) и ауранофин одређене на нормалним ћелијским линијама фибробласта плућа (MRC5) и ћелијама тумора грлића материце (HeLa) и аденокарцинома плућа (A549)

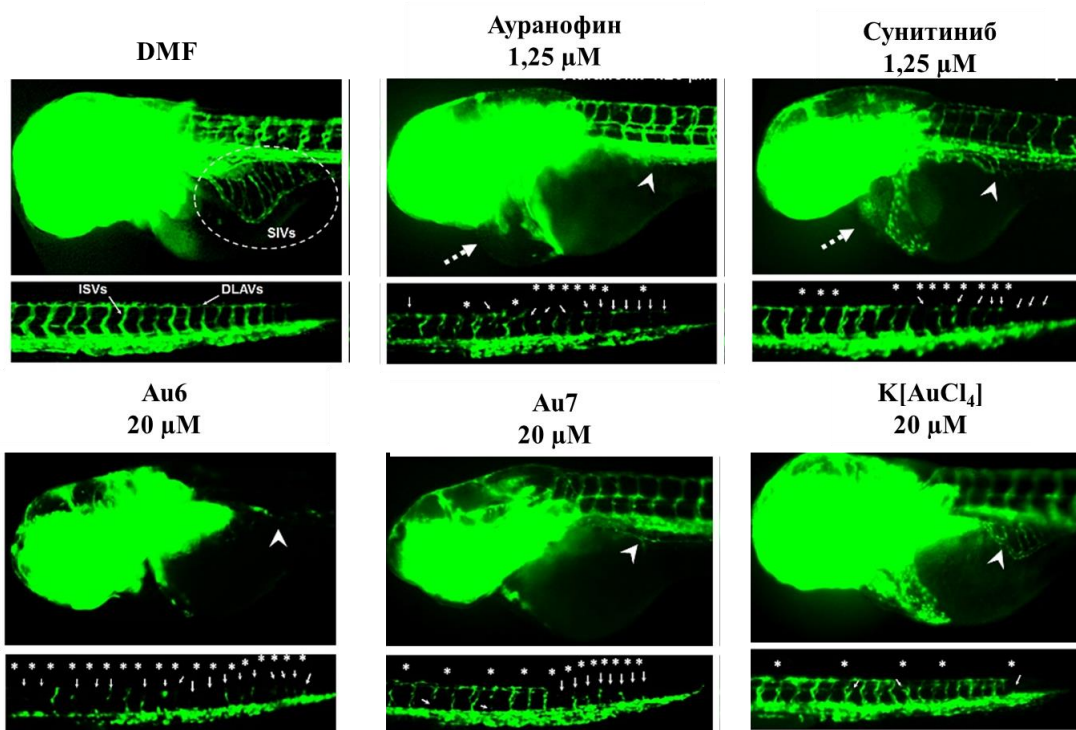
Једињење	IC_{50} (μM)		
	MRC5	HeLa	A549
Au6	80	62,5	70
1,7-phen	135	70	150
Au7	120	115	80
4,7-phen	170	125	155
K[AuCl₄]	150	170	160
Ауранофин	0,5	0,5	0,5

Најпре је испитивана токсичност комплекса злата(III), полазне соли за синтезу комплекса, одговарајућих лиганата и ауранофина на моделу зебрица. На слици 73 је приказан утицај различитих концентрација испитиваних једињења на ембрионе зебрица и одговарајуће LC₅₀ вредности. Злато(III) комплекси **Au6** и **Au7** су знатно мање токсични у односу на ауранофин (35, односно 13 пута) и сунитиниб (118, односно 45 пута) и одговарајуће лиганде. Ауранофин у концентрацији од 1,25 μM изазива кардиотоксичност и скелетне деформације ембриона зебрица. При концентрацији ауранофина већој од 7,5 μM током 114 h, сви ембриони су угинули. Калијум-тетрахлоридаурат(III) не утиче на развој ембриона зебрица и показује већу ембриотоксичност у поређењу са **Au6** и **Au7** комплексима. Ови комплекси не изазивају скелетне деформације и кардиотоксичност код ембриона, при концентрацијама мањим од 40 μM за **Au6** и мањим од 80 μM за **Au7**. Поред тога, испитивани комплекси узрокују редуковану репну циркулацију код ембриона, што је утврђено и код ембриона након деловања ауранофина или сунитиниба.



Слика 73. Ембриотоксичност [AuCl₃(1,7-phen-N7)] (**Au6**) и [AuCl₃(4,7-phen-N4)] (**Au7**) комплекса, одговарајућих лиганда (1,7- и 4,7-phen) и ауранофина; на слици је приказана и табела са LC₅₀ вредностима

Услед појаве редуковане репне циркулације током испитивања ембриотоксичности, испитивана је способност **Au6** и **Au7** комплекса да инхибирају ангиогенезу на моделу ембриона зебрица. Коришћени су ембриони трансгених зебрица (*[Tg(fli-1:EGFP)]*), у којима ендотелијалне ћелије имају зелени флуоресцентни протеин (EGFP), који може бити праћен флуоресцентним микроскопом. Ангиогенеза се може пратити помоћу две врсте крвних судова, интерсегменталних (ISVs), који се развијају 48 h након оплодње, и субинтестиналних крвних судова (SIVs), који се развијају 72 h након оплодње. Инхибиција ангиогенезе се може пратити помоћу смањења броја или дужине субинтестиналних судова или интерсегменталних судова дуж тела, односно поремећаја дорзалних бочних судова (DLAVs). Антиангиогена активност **Au6** и **Au7** комплекса је поређена са одговарајућом активношћу клинички релевантних агенаса ауранофина и сунитиниба, док је DMF коришћен као контрола (Слика 74).



Слика 74. Антиангиогена активност $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (**Au7**) комплекса, $\text{K}[\text{AuCl}_4]$, сунитиниба и ауранофина на моделу зебрица

Ембриони зебрица су изложени дејству комплекса злата(III) концентрације 20 μM и ауранофину и сунитинибу концентрације 1,25 μM . Важно је напоменути да

злато(III) комплекси при испитиваним концентрацијама нису токсични према ембрионима зебрица и не изазивају скелетне и кардиоваскуларне поремећаје, док ауранофин и сунитиниб изазивају озбиљне дефекте, када су ембриони изложени концентрацији 1,25 μM ових једињења. Сунитиниб је метастатски лек који се примењује у медицини, при чему је кардиотоксичност главна нуспојава овог лека, због чега се не може користити дужи временски период [261]. На слици за контролну пробу може се запазити нормално формирање крвних судова, док се на свим другим сликама види редуковано формирање крвних судова (Слика 74). Са слике 74 се јасно може видети да $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ има незнатан утицај на формирање крвних судова. Поред тога, очигледно је да **Au6** комплекс показује најбољи антиангиогени потенцијал и најмању токсичност. Када су ембриони зебрица изложени **Au6** и **Au7** комплексима концентрације 2,5 μM , инхибиторни ефекат формирања субинтестиналних крвних судова је исти или већи као и код ембриона третираних ауранофином и сунитинибом концентрације 1,25 μM (инхибиција интерсегменталних крвних судова је 33%, а субинтестиналних 59%), при чему су на тој концентрацији клинички коришћени агенси веома токсични према ембрионима зебрица. Када су ембриони изложени дејству **Au6** и **Au7** комплекса концентрације 20 μM , субинтестинални судови су редуковани за 100 односно 86%, док су интерсегментални судови редуковани за 77 односно 65%, при чему токсични ефекат испитиваних комплекса није запажен.

5. ЗАКЉУЧАК

У оквиру ове докторске дисертације, приказани су резултати, који се односе на синтезу, структурну карактеризацију и биолошко испитивање комплекса сребра(I) и злата(III) са различитим ароматичним хетероцикличним једињењима која садрже азот у прстену.

У реакцијама AgNO_3 са пиридазином (pydz), пиримидином (pm), пиразином (pz), хиноксалином (qx) и феназином (phz) добијени су $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-pydz})_2]_n$ (**Ag1**), $[\{\text{Ag}(\text{pm})\}(\text{NO}_3)]_n$ (**Ag2**), $[\{\text{Ag}(\text{pz})\}(\text{NO}_3)]_n$ (**Ag3**), $[\{\text{Ag}(\text{qx})\}(\text{NO}_3)]_n$ (**Ag4**) и $[\{\text{Ag}(\text{NO}_3)\}_2(\mu\text{-phz})]$ (**Ag5**) комплекси. Геометрија и структура ових сребро(I) комплекса зависи од положаја азота у прстену, односно од врсте *N*-хетероцикличног лиганда. Супротно комплексима сребра(I), у реакцијама $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ са истим лигандима настају мононуклеарни $[\text{AuCl}_3(\text{N-хетероциклично једињење})]$ комплекси (*N*-хетероциклично једињење = pydz (**Au1**), pm (**Au2**), pz (**Au3**), qx (**Au4**) и phz (**Au5**)) без обзира на молски однос између реактаната. Ова чињеница је приписана јаким електрон-привлачним особинама $\text{Au}(\text{III})$ јона, који смањује нуклеофилност другог атома азота у прстену комплекса, спречавајући формирање динуклеарног комплекса. Поред тога, када су у синтези злато(III) комплекса коришћени трициклични 1,7- и 4,7-фенантролин (1,7- и 4,7-phen) у којима су атоми азота раздвојени једним ароматичним прстеном, добијени су мононуклеарни $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-}N7)]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-}N4)]$ (**Au7**) комплекси. У случају **Au6** комплекса, 1,7-phen се координује за $\text{Au}(\text{III})$ јон преко стерно мање заклоњеног атома азота *N7*. Динуклеарни комплекси злата(III), $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-4,4'-bipy})]$ (**Au8**) и $[\{\text{AuCl}_3\}_2(\mu\text{-bpe})]$ (**Au9**), настали су у реакцији између $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ и 4,4-бипиридина и 1,2-bis(4-

пиридилетана), у којима се атоми азота налазе у два пиридинска прстена, која су повезана помоћу једне односно три једноструке везе. На основу DFT методе, израчунате су енергије активације за формирање моно- и динуклеарних комплекса у реакцијама између $[\text{AuCl}_4]^-$ и 4,4'-bipy, bpe и pz, при чему је потврђено да је формирање динуклеарног комплекса злата(III) са пиразином кинетички и термодинамички неповољан процес.

У реакцији између AgNO_3 и хиназолина (qz) настаје полинуклеарни $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{qz})]_n$ (**Ag5**) комплекс, док у реакцији између AgBF_4 и фталазина (phz) при истим експерименталним условима настаје динуклеарни $[\{\text{Ag}(\text{CH}_3\text{CN})\}_2(\mu\text{-phtz})_2](\text{BF}_4)_2$ (**Ag6**) комплекс. Координација ацетонитрила у **Ag6** комплексу је била очекивана, с обзиром на чињеницу да NO_3^- има много већу тенденцију да се координује за $\text{Ag}(\text{I})$ јон у поређењу са BF_4^- , спречавајући координацију растварача.

У реакцији између AgNO_3 и 1,7-фенантролина (1,7-phen) настаје $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O,O')(1,7\text{-phen-}N7)_2]$ (**Ag8**) комплекс тетраедарске геометрије, док у реакцијама између AgX и 1,7-phen настају линеарни $[\text{Ag}(1,7\text{-phen-}N7)_2]\text{X}$ комплекси ($\text{X} = \text{ClO}_4^-$ (**Ag9**), CF_3SO_3^- (**Ag10**), BF_4^- (**Ag11**) и SbF_6^- (**Ag12**)), где координација контра-анјона није уочена. Супротно томе, у реакцијама различитих AgX соли са 4,7-фенантролином (4,7-phen) настају полинуклеарни $[\text{Ag}(\text{NO}_3\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag13**), $[\text{Ag}(\text{CF}_3\text{COO-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag14**), $\{[\text{Ag}(4,7\text{-phen})][\text{Ag}(4,7\text{-phen})(\text{H}_2\text{O})](\text{BF}_4)_2\}_n$ (**Ag15**) и $[\text{Ag}(\text{ClO}_4\text{-}O)(4,7\text{-phen-}\mu\text{-}N4,N7)]_n$ (**Ag16**) комплекси, као и динуклеаран $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})(4,7\text{-phen})_3](\text{SbF}_6)_2$ (**Ag17**) комплекс. У свим комплексима, 4,7-phen има улогу мостног лиганда између два $\text{Ag}(\text{I})$ јона. У комплексима који настају у реакцијама лиганда са солима сребра(I) које у анјону садрже кисеоник, одговарајући анјон (NO_3^- , CF_3COO^- и ClO_4^-) је монодентатно координован за сребро(I) јон, док анјони полазне соли који садрже флуор (BF_4^- и SbF_6^-) нису координовани за јон метала. Међутим, у **Ag15** и **Ag17** комплексима је уочена координација воде за $\text{Ag}(\text{I})$, што је било за очекивати с обзиром на координациону способност поменутих анјона.

На основу резултата биолошких испитивања, може се закључити да комплекси сребра(I) са два атома азота у истом прстену (**Ag1-7**) показују бољу активност према различитим бактеријским сојевима, док су комплекси сребра(I) са лигандима у којима се атоми азота налазе у различитим прстеновима активнији

према *Candida* сојевима (**Ag8-17**). У односу на терапеутски потенцијал, посебно се издвајају комплекси сребра(I) са 1,7- и 4,7-phen (**Ag8-17**) који показују изузетну активност према различитим *Candida* сојевима и мању токсичност према нормалним ћелијским линијама фибробласта плућа у односу на клинички коришћен сребро(I)-сулфадиазин. Супротно комплексима сребра(I), злата(III) комплекси (**Au1-5**) показују слабију антимикуробну активност, али и знатно мању цитотоксичност према нормалној ћелијској линији фибробласта плућа и знатно бољи терапеутски профил у односу на комплексе сребра(I) са истим лигандима (**Ag1-5**). Комплекси $[\text{AuCl}_3(1,7\text{-phen-N7})]$ (**Au6**) и $[\text{AuCl}_3(4,7\text{-phen-N4})]$ (**Au7**) не показују активност према бактеријама али инхибирају ангиогенезу *in vivo* на моделу зебрица, што је веома значајно, јер неконтролисана ангиогенеза може бити узрок многих патолошких стања, као што су различите инфламаторне болести, реуматоидни артритис, артериосклероза и канцер. Динуклеарни комплекс **Au8** је посебно активан према бактеријама *M. luteus* и *L. monocytogenes*, што се може приписати синергији два Au(III) јона. Веома је значајна чињеница да су комплекси сребра(I) и злата(III) показали мању токсичност на моделу зебрица у односу на клинички коришћене агенсе, сребро(I)-сулфадиазин и ауранофин.

Сви синтетисани комплекси сребра(I) интерагују са ДНК, при чему код већине комплекса те интеракције нису јаке и специфичне, већ слабе електростатичке интеракције. Већи број ових комплекса узрокује лизу еритроцита, што иде у прилог чињеници да ћелијска мембрана може бити једно од циљних места деловања ових комплекса. Такође, већина комплекса показује способност инхибиције раста и филаментације хифа, које су одговорне за формирање биофилмова. Комплекси **Ag8** и **Ag13-17**, који показују изузетну антифунгалну активност, узрокују формирање реактивних кисеоничних врста у ћелији *C. albicans*. На основу добијених резултата, може се закључити да не постоји тачно одређен и специфичан начин деловања комплекса сребра(I), што је веома значајно јер на више начина могу изазвати смрт бактеријске и фунгалне ћелије.

Добијени резултати у оквиру ове дисертације су од значаја у медицинској неорганској, бионеорганској и координационој хемији и могу се применити у синтези комплекса сребра(I) и злата(III) као потенцијалних терапеутских агенаса у лечењу мултирезистентних микробних инфекција и тумора. Проучавање механизма деловања комплекса сребра(I) и злата(III) и испитивање њихове токсичности је веома

значајно и може допринети синтези нових комплекса, који ће показати бољу активност и мању токсичност, а самим тим и потенцијалну примену у клиничкој пракси у односу на клинички коришћене агенсе.

ЛИТЕРАТУРА

1. F. A. Cotton., G. Wilkinson, *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Johan Wiley & Sons, **1998**
2. И. Филиповић, С. Липановић, *Опћа и анорганска кемија (II део)*, Школска књига, Загреб, **1985**
3. K. M. Fromm, *Nat. Chem.* **2** (2011) 178
4. M. Naodovic, H. Yamamoto, *Chem. Rev.* **108** (2008) 3132
5. R. B. King, *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, 2nd ed., Wiley, **2005**
6. K. Nomiya, K. Tsuda, T. Sudoh, M. Oda, *J. Inorg. Biochem.* **68** (1997) 39
7. F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. A. Murillo, M. Bochamann, *Advanced Inorganic Chemistry*, 6th ed., F. Wiley Interscience, New York, **1999**
8. Б. Ђ. Глишић, Н. Савић, М. И. Ђуран, *Хемијски преглед* **56** (2015) 58
9. J. E. Bauman Jr., J. C. Wang, *Inorg. Chem.* **3** (1964) 368
10. A. G. Young, L. R. Hanton, *Coord. Chem. Rev.* **252** (2008) 1346
11. A. N. Khlobystov, A. J. Blake, N. R. Champness, D. A. Lemenovskii, A. G. Majouga, N. V. Zyk, M. Schröder, *Coordin. Chem. Rev.* **222** (2001) 155
12. A. Bondi, *Phys. Chem.* **68** (1964) 441
13. D. Gantar, I. Leban, B. Frlec, J. H. Holloway, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1987) 2379
14. O. Graudejus, B. G. Müller, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **622** (1996) 1549
15. B. G. Müller, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **26** (1987) 689
16. a) M. A. S. Goher, A. E. H. Abdou, *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **5** (1991) 65; b) M. P. Heyward, C. F. Wells, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1982) 2185; c) M. P. Heyward, C. F. Wells, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1986) 2593; d) P. Arselli, C. Baiocchi, E. Mentasti, J.

- S. Coe, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1984) 475; e) E. Mentasti, C. Baiocchi, J. S. Coe, *Coord. Chem. Rev.* **54** (1984) 131
17. A. Kahani, M. Abedini, M. Farnia, *J. Coord. Chem.* **53** (2001) 1
18. H. Furuta, T. Ogawa, Y. Uwatoko, K. Araki, *Inorg. Chem.* **38** (1999) 2676
19. T. C. W. Mak, X.-L. Zhao, *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, (ed. R. B. King), Online, Vol. 8, John Wiley & Sons, **2006**
20. G. C. Bond, C. Louis, D. T. Thompson, *Catalysis by Gold, Catalytic Science Series*, (ed. G. J. Hutchings), Vol. 6, Imperial College Press, **2006**
21. A. S. K. Hashmi, *Chem. Rev.* **107** (2007) 3180
22. S. Ivanova, C. Petit, V. Pitchon, *Appl. Catal. A* **267** (2004) 191
23. M. D. Đurović, R. Puchta, Ž. D. Bugarčić, R. van Eldik, *Dalton Trans.* **43** (2014) 8620
24. <http://www.atomicsilver.info/historical-uses-of-silver.html>
25. E. J. Rentz, *Historic perspectives on clinical use and efficacy of silver*, <http://www.lifesilver.com/history.htm>
26. <http://classics.mit.edu/Browse/browse-Hippocrates.html>
27. A. Wesley, *Surg. Infect.* **10** (2009) 289
28. <https://hpsrepository.asu.edu/handle/10776/5661>
29. N. Grier, *Silver and its compounds, In: Disinfection, sterilization, and preservation*, 1st ed. Philadelphia: Lea & Febiger **1968**, 375
30. W. R. Hill, D. M. Pillsbury, *Argyria - The Pharmacology of Silver*, Baltimore, Williams & Wilkins, **1939**
31. <http://www.onlygold.com/tutorialpages/HistoryFS.htm>
32. S. P. Fricker, *Gold Bull.* **29** (1996) 53
33. Z. Huaizhi, N. Yuantao, *Gold Bull.* **34** (2001) 24
34. S. Mahdihassan, *Am. J. Chinese Med.* **9** (1981) 23
35. S. Mahdihassan, *Janus.* **58** (1971) 112
36. G. J. Higby, *Gold Bull.* **15** (1982) 130
37. W. F. Kean, I. R. L. Kean, *Inflammopharmacology* **16** (2008) 112
38. M. W. Whitehouse, *Inflammopharmacology*, **16** (2008) 107
39. P. D'Arcy Hart, *Br. Med. J.* **2** (1946) 849
40. A. Casini, G. Ketler, C. Gabbiani, M. A. Cinellu, G. Minghetti, D. Fregona, H.-H. Fiebig, L. Messori, *J. Biol. Inorg. Chem.* **14** (2009) 1139

41. G. D. Champion, G. G. Graham, J. B. Ziegler, *Baillière's Clin. Rheumatol.* **4** (1990) 491
42. B. M. Sutton, *Gold Bull.* **19** (1986) 15
43. A. T. Wan, R. A. J. Conyers, C. J. Coombs, J. P. Masterton, *Clin. Chem.* **37** (1991) 1683
44. A. B. G. Lansdown, *Crit. Rev. Toxicol.* **37** (2007) 237
45. S. Prabhu, E. K. Poulouse, *Int. Nano Lett.* **2** (2012) 32
46. Y. Qin, *Int. Wound J.* **2** (2005) 172
47. G. Kammerlander, R. Afarideh, A. Baumgartner, M. Berger, K. Fischelmayer, G. Hirschnberger, W. Hangler, A. Huber, M. Kramml, E. Locherer, C. Scandella, A. Süß-Burkhard, P. Wipplinger, *J. Wound Care* **17** (2008) 384
48. B. S. Atiyeh, M. Costagliola, S. N. Hayek, S. A. Dibo, *Burns* **33** (2007) 139
49. „*Colloidal Silver Product*“, National Center for Complementary and Alternative Medicine, **2006**
50. S. Saint, J. G. Elmore, S. D. Sullivan, S. S. Emerson, T. D. Koepsell, *Am. J. Med.* **105** (1998) 236
51. *Salt Lake Metals: Antibacterial Effect of silver*;
http://saltlakemetals.com/silver_antibacterial/
52. T. Vig Slenters, J. L. Sagué, P. S. Brunetto, S. Zuber, A. Fleury, L. Mirolo, A. Y. Robin, M. Meuwly, O. Gordon, R. Landmann, A. U. Daniels, K. M. Fromm, *Materials* **3** (2010) 3407
53. P. S. Brunetto, T. Vig Slenters, K. M. Fromm, *Materials* **4** (2011) 355
54. D. C. Tien, K.-H. Tseng, C.-Y. Liao, T.-T. Tsung, *Med. Eng. Phys.* **30** (2008) 948
55. A. Pourjavadi, R. J. Soleyman, *J. Nanopart. Res.* **13** (2011) 4647
56. S. Eckhardt, P. S. Brunetto, J. Gagnon, M. Priebe, B. Giese, Katharina M. Fromm, *Chem. Rev.* **113** (2013) 4708
57. A. B. G. Lansdown, *Curr. Probl. Dermatol.* **33** (2006) 17
58. H. J. Klasen, *Burns* **26** (2000) 131
59. http://who.int/mediacentre/news/releases/2010/amr_20100820/en/
60. C. A. Moyer, L. Brentano, D. L. Gravens, H. W. Margraf, W. W. Monafo, *Arch. Surg.* **90** (1965) 812
61. M. I. Đuran, *Primena kompleksnih jedinjenja u medicini*, Prirodno matematički fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, **2000**

62. A. D. Russell, W. B. Hugo, G. A. J. Ayliffe, *The Principles and Practice of Disinfection, Preservation, and Sterilization*, Blackwell Scientific, **1982**
63. G. McDonnell, A. D. Russell, *Clin. Microbiol. Rev.* **12** (1999) 147
64. D. J. Barillo, D. E. Marx, *Burns* **40** (2014) S3
65. N. J. Farrer, P. J. Sadler, Medicinal Inorganic Chemistry: state of the art, new trends, and a vision of the future. In *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, ed. E. Alessio, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2011**
66. A. K. Nebiogly, M. J. Panzner, C. A. Tessier, C. L. Cannon, W. J. Youngs, *Coord. Chem. Rev.* **251** (2007) 884
67. K. M. Hindi, M. J. Panzner, C. A. Tessier, C. L. Cannon, W. J. Youngs, *Chem. Rev.* **109** (2009) 3859
68. S. L. Percival, P. G. Bowler, D. Russell, *J. Hosp. Infec.* **60** (2005) 1
69. K. Nomiya, H. Yokoyama, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (2002) 2483
70. K. M. Fromm, *Appl. Organomet. Chem.* **27** (2013) 683
71. K. Nomiya, S. Takahashi, R. Noguchi, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (2000) 1343
72. M. A. M. Abu-Youssef, S. M. Soliman, V. Langer, Y. M. Gohar, A. A. Hasanen, M. A. Makhyoun, A. H. Zaky, L. R. Ohrström, *Inorg. Chem.* **49** (2010) 9788
73. B. Coyle, M. McCann, K. Kavanagh, M. Devereux, V. McKee, N. Kayal, D. Egan, C. Deegan, G. J. Finn, *J. Inorg. Biochem.* **98** (2004) 1361
74. C. Deegan, M. McCann, M. Devereux, B. Coyle, D. A. Egan, *Cancer Lett.* **247** (2007) 224
75. B. Coyle, P. Kinsella, M. McCann, M. Devereux, R. O'Connor, M. Clynes, K. Kavanagh, *Toxicol. in Vitro* **18** (2004) 63
76. S. Abuskhuna, J. Briody, M. McCann, M. Devereux, K. Kavanagh, J. B. Fontecha, V. McKee, *Polyhedron* **23** (2004) 1249
77. R. Rowan, T. Tallon, A. M. Sheahan, R. Curran, M. McCann, K. Kavanagh, M. Devereux, V. McKee, *Polyhedron* **25** (2006) 1771
78. M. McCann, B. Coyle, S. McKay, P. McCormack, K. Kavanagh, M. Devereux, V. McKee, P. Kinsella, R. O'Connor, M. Clynes, *Biometals* **17** (2004) 635
79. B. S. Creaven, D. A. Egan, K. Kavanagh, M. McCann, M. Mahon, A. Noble, B. Thati, M. Walsh, *Polyhedron* **24** (2005) 949
80. B. S. Creaven, D. A. Egan, K. Kavanagh, M. McCann, A. Noble, B. Thati, M. Walsh, *Inorg. Chim. Acta* **359** (2006) 3976

81. H. V. R. Dias, K. H. Batdorf, M. Fianchini, H. V. K. Diyabalanage, S. Carnahan, R. Mulcahy, A. Rabiee, K. Nalsen, L. G. van Waasbergen, *J. Inorg. Biochem.* **100** (2006) 158
82. R. Curran, J. Lenehan, M. McCann, K. Kavanagh, M. Devereux, D. A. Egan, G. Clifford, K. Keane, B. S. Creaven, V. McKee, *Inorg. Chem. Commun.* **10** (2007) 1149
83. K. Nomiya, K.-I. Onoue, Y. Kondoh, N. C. Kasuga, H. Nagano, M. Oda, S. Sakuma, *Polyhedron* **14** (1995) 1359
84. F. W. Weir, *AIHAJ* **40** (1979) 245
85. P. L. Drake, K. J. Hazelwood, *Ann. Occup. Hyg.* **49** (2005) 575
86. S. Sato, H. Sueki, A. Nishijima, *Brit. J. Dermatol.* **140** (1999) 158
87. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Toxicological Profile for Silver, TP-90-24, **1990**
88. A. Furst, M. C. Schlauder, *J. Environ. Pathol. Tox.* **1** (1978) 51
89. H. G. Seiler, H. Sigel, A. Sigel, *Handbook on toxicity of inorganic compounds*, Marcel Dekker, New York, **1988**
90. S. H. Gulbranson, J. A. Hud, R. C. Hansen, *Cutis* **66** (2000) 373
91. M. C. Fung, D. L. Bowen, *Clin. Toxicol.* **34** (1996) 119
92. G. Danscher, *Histochemistry* **71** (1981) 177
93. R. J. Curran, *Silver(I) Complexes as Antimicrobial and Anticancer Drugs*, PhD thesis, Department of Chemistry, National University of Ireland Maynooth, **2009**
94. B. Đ. Glišić, M. I. Djuran, *Dalton Trans.* **43** (2014) 5950
95. I. Ott, *Coord. Chem. Rev.* **253** (2009) 1670
96. B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature* **205** (1965) 698
97. B. Rosenberg, L. Van Camp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **222** (1969) 385
98. B. Lippert, *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, John Wiley & Sons Inc., New York, **1999**
99. K. Palanichamy, A. C. Ontko, *Inorg. Chim. Acta* **359** (2006) 44
100. S. Nobili, E. Mini, I. Landini, C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, *Med. Res. Rev.* **30** (2010) 550
101. L. Messori, F. Abbate, G. Marcon, P. Orioli, M. Fontani, E. Mini, T. Mazzei, S. Carotti, T. O'Connell, P. Zanello, *J. Med. Chem.* **43** (2000) 3541
102. A. Garza-Ortiz, H. den Dulk, J. Brouwer, H. Kooijman, A. L. Spek, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.* **101** (2007) 1922
103. C. Gabbiani, A. Casina, L. Messori, *Gold Bull.* **40** (2007) 73

104. G. Marcon, S. Carotti, M. Coronello, L. Messori, E. Mini, P. Orioli, T. Mazzei, M. A. Cinellu, G. Minghetti, *J. Med. Chem.* **45** (2002) 1672
105. A. Casini, M. A. Cinellu, G. Minghetti, C. Gabbiani, M. Coronello, E. Mini, L. Messori, *J. Med. Chem.* **49** (2006) 5524
106. M. A. Cinellu, L. Maiore, M. Manassero, A. Casini, M. Arca, H.-H. Fiebig, G. Kelter, E. Michelucci, G. Pieraccini, C. Gabbiani, L. Messori, *ACS Med. Chem. Lett.* **1** (2010) 336
107. A. Casini, G. Kelter, C. Gabbiani, M. A. Cinellu, G. Minghetti, D. Fregona, H.-H. Fiebig, L. Messori, *J. Biol. Inorg. Chem.* **14** (2009) 1139
108. L. Ronconi, C. Marzano, P. Zanello, M. Corsini, G. Miolo, C. Maccà, A. Trevisan, D. Fregona, *J. Med. Chem.* **49** (2006) 1648
109. L. Ronconi, D. Fregona, *Dalton Trans.* (2009) 10670
110. V. Milacic, D. Chen, L. Ronconi, K. R. Landis-Piwowar, D. Fregona, Q. P. Dou, *Cancer Res.* **66** (2006) 10478
111. S. Carotti, G. Marcon, M. Marussich, T. Mazzei, L. Messori, E. Mini, P. Orioli, *Chem. Biol. Interact.* **125** (2000) 29
112. M. Coronello, E. Mini, B. Caciagli, M. A. Cinellu, A. Bindoli, C. Gabbiani, L. Messori, *J. Med. Chem.* **48** (2005) 6761
113. D. Fan, C.-T. Yang, J. D. Ranford, P. F. Lee, J. J. Vittal, *Dalton Trans.* (2003) 2680
114. M. Navarro, *Coord. Chem. Rev.* **253** (2009) 1619
115. M. Navarro, F. Vásquez, R. A. Sánchez-Delgado, H. Pérez, V. Sinou, J. Schrével, *J. Med. Chem.* **47** (2004) 5204
116. M. Navarro, C. Hernández, I. Colmenares, P. Hernández, M. Fernández, A. Sierraalta, E. Marchán, *J. Inorg. Biochem.* **101** (2007) 111
117. R. A. Sánchez-Delgado, M. Navarro, K. Lazard, R. Atencio, M. Capparelli, F. Vargas, J. A. Urbina, A. Bouillez, A. F. Noels, D. Masi, *Inorg. Chim. Acta* **275–276** (1998) 528
118. J. B. Ricco, O. Assadian, *Semin. Vasc. Surg.* **24** (2011) 234
119. D. Chudobova, L. Nejd, J. Gumulec, O. Krystofova, M. A. Merlos Rodrigo, J. Kynicky, B. Ruttkay-Nedecky, P. Kopel, P. Babula, V. Adam, R. Kizek, *Int. J. Mol. Sci.* **14** (2013) 13592
120. K. Chaloupka, Y. Malam, A. M. Seifalian, *Trends Biotechnol.* **28** (2010) 580
121. J. R. Morones-Ramirez, J. A. Winkler, C. S. Spina, J. J. Collins, *Sci. Transl. Med.* **5** (2013) 190

122. V. Alt, T. Bechert, P. Steinrücke, M. Wagener, P. Seidel, E. Dingeldein, *Biomaterials* **25** (2004) 4383
123. Q. L. Feng, J. Wu, G. Q. Chen, F. Z. Cui, T. N. Kim, J. O. Kim, *J. Biomed. Mater.* **52** (2000) 662
124. H. Arakawa, J. F. Neault, H. A. Tajmir-Riahi, *Biophys. J.* **81** (2001) 1580
125. S. Roca, *Characterization of silver(I) complexes with mono- and dihalo-substituted derivatives of pyridine in solution and in solid state*, PhD thesis, Faculty of Science, University of Zagreb, **2017**
126. <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%207/horizontal.html>
127. P. Shi, Q. Jiang, J. Lin, Y. Zhao, L. Lin, Z. Guo, *J. Inorg. Biochem.* **100** (2006) 939
128. G. Marcon, L. Messori, P. Orioli, M. A. Cinellu, G. Minghetti, *Eur. J. Biochem.* **270** (2003) 4655
129. X. Wang, Z. Guo, *Dalton Trans.* (2008) 1521
130. A. Bindoli, M. P. Rigobello, G. Scutari, C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori, *Coord. Chem. Rev.* **253** (2009) 1692
131. S. J. Berners-Price, A. Filipovska, *Metallomics* **3** (2011) 863
132. M. A. M. Abu-Youssef, V. Langer, L. Öhrström, *Dalton Trans.* (2006) 2542
133. L. Carlucci, G. Ciani, D. M. Proserpio, A. Sironi, *Inorg. Chem.* **37** (1998) 5941
134. M. Munakata, S. Kitagawa, N. Ujimarū, M. Nakamura, M. Maekawa, H. Matsuda, *Inorg. Chem.* **32** (1993) 826
135. C. V. K. Sharma, R. D. Rogers, *Cryst. Eng.* **1** (1998) 19
136. R. G. Vranka, E. L. Amma, *Inorg. Chem.* **5** (1966) 1020
137. I. J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edgington, M. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson, R. Taylor, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **58** (2002) 389
138. L. J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.* **45** (2012) 849
139. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A: Found. Crystallogr.* **71** (2015) 3
140. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* **71** (2015) 3
141. B. Đ. Glišić, B. Waržajtis, N. S. Radulović, U. Rychlewska, M. I. Djuran, *Polyhedron* **87** (2015) 208
142. B. Waržajtis, B. Đ. Glišić, N. S. Radulović, U. Rychlewska, M. I. Djuran, *Polyhedron* **79** (2014) 221
143. CrysAlis PRO, Agilent Technologies, Yarnton, Oxfordshire, England **2014**

144. R. C. Clark, J. S. Reid, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **51** (1995) 887
145. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **64** (2008) 112
146. T. H. Dunning Jr., *J. Chem. Phys.* **90** (1989) 1007
147. D. E. Woon, T. H. Dunning Jr., *J. Chem. Phys.* **98** (1993) 1358
148. P. J. Hay, W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **82** (1985) 270
149. V. Barone, M. Cossi, *J. Phys. Chem. A* **102** (1998) 1995
150. M. J. Frisch et al, Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT **2013**.
151. J. T. Casey, C. O’Cleirigh, P. K. Walsh, D. G. O’Shea, *J. Microbiol. Meth.* **58** (2004) 327
152. M. B. Hansen, S. E. Nielsen, K. Berg, *J. Immunol. Methods* **119** (1989) 203
153. N. D. Savić, B. Đ. Glišić, H. Wadepohl, A. Pavic, L. Senerovic, J. Nikodinovic-Runic, M. I. Djuran, *MedChemComm* **7** (2016) 282
154. L. Sun, K. Liao, C. Hang, D. Wang, *PloS one* **12** (2017) e0172228
155. M.-F. He, X.-P. Gao, S.-C. Li, Z.-H. He, N. Chen, Y.-B. Wang, J. X. She, *Eur. J. Pharmacol.* **740** (2014) 240
156. G. Chimote, J. Sreenivasan, N. Pawar, J. Subramanian, H. Sivaramakrishnan, S. Shrama, *Drug Des. Devel. Ther.* **8** (2014) 1107
157. J. Nikodinovic, K. D. Barrow, J.-A. Chuck, *Biotechniques* **35** (2003) 932
158. V. T. Yilmaz, E. Gocmen, C. Icel, M. Cengiz, S. Y. Susluer, O. Buyukgungor, *J. Photochem. Photobiol. B* **131** (2014) 31
159. P. Smolenski, S. W. Jaros, C. Pettinari, G. Lupidi, L. Quassinti, M. Bramucci, L. A. Vitali, D. Petrelli, A. Kochel, A. M. Kirillov, *Dalton Trans.* **42** (2013) 6572
160. A. Wolfe, G. H. Shimer Jr., T. Meehan, *Biochemistry* **26** (1987) 6392
161. P. Smoleński, C. Pettinari, F. Marchetti, M. F. C. Guedes da Silva, G. Lupidi, G. V. Badillo Patzmay, D. Petrelli, L. A. Vitali, A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chem.* **54** (2015) 434
162. S.-S. Wu, W.-B. Yuan, H.-Y. Wang, Q. Zhang, M. Liu, K.-B. Yu, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 2026
163. H. R. Drew, R. M. Wing, T. Takano, C. Broka, S. Tanaka, K. Itakura, R. E. Dickerson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78** (1981) 2179
164. G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, A. J. Olson, *J. Comput. Chem.* **30** (2009) 2785

165. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017 (2016)
166. C. J. Sumbly, *Coord. Chem. Rev.* **255** (2011) 1937
167. C. Kaes, A. Katz, M. W. Hosseini, *Chem. Rev.* **100** (2000) 3553
168. P. J. Steel, *Coord. Chem. Rev.* **106** (1990) 227
169. M. Asif, *Curr. Med. Chem.* **19** (2012) 2984
170. D. J. Connolly, D. Cusack, T. P. O'Sullivan, P. J. Guiry, *Tetrahedron*, **61** (2005) 10153
171. M. A. J. Duncton, E. L. Piatnitski, R. Katoch-Rouse, L. M. Smith II, A. S. Kiselyov, D. L. Milligan, C. Balagtas, W. C. Wong, J. Kawakami, J. F. Doody, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 1579
172. C. J. Sumbly, *The synthesis and study of bridging heterocyclic ligands*, PhD thesis, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand, **2003**
173. J. A. McCleverty, T. J. Meyer, *Comprehensive Coordination Chemistry II*, vol. 1, Pergamon Press, Oxford, **2004**
174. E. G. Brown, *Ring Nitrogen and Key Biomolecules: The Biochemistry of N-Heterocycles*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, **1998**
175. M. Munakata, G. L. Ning, Y. Suenaga, K. Sugimoto, T. Kuroda-Sowa, M. Maekawa, *Chem. Commun.* (1999) 1545
176. C. Janiak, *Dalton Trans.* (2003) 2781
177. U. Kalinowska-Lis, A. Felczak, L. Chęcińska, K. Lisowska, J. Ochocki, *J. Organomet. Chem.* **749** (2014) 394
178. L. Ortego, J. Gonzalo-Asensio, A. Laguna, M. D. Villacampa, M. C. Gimeno, *J. Inorg. Biochem.* **146** (2015) 19
179. M. Sullivan, A. Folytn-Arfa Kia, M. Long, M. Walsh, K. Kavanagh, S. McClean, B. S. Creaven, *Polyhedron* **67** (2014) 549
180. C. N. Banti, S. K. Hadjikakou, *Metallomics* **5** (2013) 569
181. M. Rizzotto, in *A Search for Antibacterial Agents*, ed. V. Bobbarala, InTech, Rijeka, Croatia, **2012**
182. S. S. Al-Jaroudi, M. Altaf, A. A. Al-Saadi, A. N. Kawde, S. Altuwaijri, S. Ahmad, A. A. Isab, *BioMetals* **28** (2015) 827
183. U. Kalinowska-Lis, A. Felczak, L. Chęcińska, K. Zawadzka, E. Patyna, K. Lisowska, J. Ochocki, *Dalton Trans.* **44** (2015) 8178

184. C. W. Kim, J. Ahn, S. M. Kim, T. H. Noh, O.-S. Jung, *Transit. Metal Chem.* **36** (2011) 545
185. A. B. P. Lever, E. Mantovani, B. S. Ramaswamy, *Can. J. Chem.* **49** (1971) 1957
186. A. Tăbăcaru, C. Pettinari, F. Marchetti, C. di Nicola, K. V. Domasevitch, S. Galli, N. Masciocchi, S. Scuri, I. Grappasonni, M. Cocchioni, *Inorg. Chem.* **51** (2012) 9775
187. A. M. Petrosyan, *Vib. Spectrosc.* **43** (2007) 284
188. Y. V. Kokunov, Y. E. Gorbunova, *Russ. J. Inorg. Chem.* **52** (2007) 1530
189. B. Đ. Glišić, L. Senerovic, P. Comba, H. Wadepohl, A. Veselinovic, D. R. Milivojevic, M. I. Djuran, J. Nikodinović-Runic, *J. Inorg. Biochem.* **155** (2016) 115
190. C. Pettinari, F. Marchetti, G. Lupidi, L. Quassinti, M. Bramucci, D. Petrelli, L. A. Vitali, M. F. da Silva, L. M. D. R. S. Martins, P. Smoleński, A. J. Pombeiro, *Inorg. Chem.*, **50** (2011) 11173
191. D. L. Reger, R. P. Watson, J. R. Gardinier, M. D. Smith, *Inorg. Chem.* **43** (2004) 6609
192. D. L. Reger, E. A. Foley, M. D. Smith, *Inorg. Chem.* **49** (2010) 234
193. T. Tsuda, S. Ohba, M. Takahashi, M. Ito, *Acta Crystallogr. Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* **45** (1989) 887
194. M. Vetrichelvan, Y.-H. Lai, K.-F. Mok, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2004) 2086
195. A. Melaiye, Z. Sun, K. Hindi, A. Milsted, D. Ely, D. H. Reneker, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 2285
196. Y. E. Türkmen, S. Sen, V. H. Rawal, *CrystEngComm* **15** (2013) 4221
197. K. N. Lazarou, I. Chadjistamatis, A. Terzis, S. P. Perlepes, C. P. Raptopoulou, *Polyhedron* **29** (2010) 1870
198. K. N. Lazarou, C. P. Raptopoulou, S. P. Perlepes, V. Psycharis, *Polyhedron* **28** (2009) 3185
199. D. Johnston, D. F. Shriver, *Inorg. Chem.* **32** (1993) 1045
200. G. A. van Albada, W. J. J. Smeets, A. L. Spek, J. Reedijk, *Inorg. Chim. Acta* **260** (1997) 151
201. Q.-L. Ren, S.-S. Zhao, L.-X. Song, S.-S. Qian, J. Qin, *J. Coord. Chem.* **69** (2016) 227
202. K. Nomiya, S. Takahashi, R. Noguchi, S. Nemoto, T. Takayama, M. Oda, *Inorg. Chem.* **39** (2000) 3301
203. L. Yang, D. R. Powell, R. P. Houser, *Dalton Trans.* (2007) 955

204. K. Nakamoto, *Infrared spectra of inorganic and coordination compounds*; Second edition, Wiley-interscience a division of John Wiley & Sons, **1979**
205. L. Thornton, V. Dixit, L. O. N. Assad, T. P. Ribeiro, D. D. Queiroz, A. Kellett, A. Casey, J. Colleran, M. D. Pereira, G. Rochford, M. McCann, D. O'Shea, R. Dempsey, S. McClean, A. Foltyn-Arfa Kia, M. Walsh, B. Creaven, O. Howe, M. Devereux, *J. Inorg. Biochem.* **159** (2016) 120
206. M. Giovanni, M. Pumera, *Electroanal.* **24** (2012) 615
207. G. Shul, M. Weissmann, D. Bélanger, *Electrochim. Acta* **162** (2015) 146
207. F. Perez, J. Adachi, R. A. Bonomo, *Clin. Infect. Dis.* **59** (2014) S335
208. G. Samonis, K. Z. Vardakas, D. P. Kofteridis, D. Dimopoulou, A. M. Andrianaki, I. Chatzinikolaou, E. Katsanevaki, S. Maraki, M. E. Falagas, *Infection* **42** (2014) 721
209. C. de Martel, J. Ferlay, S. Franceschi, J. Vignat, F. Bray, D. Forman, M. Plummer, *Lancet Oncol.* **13** (2012) 607
210. E. Elinav, R. Nowarski, C. A. Thaiss, B. Hu, C. Jin, R. A. Flavell, *Nat. Rev. Cancer* **13** (2013) 759
211. R. F. Schwabe, C. Jobin, *Nat. Rev. Cancer* **13** (2013) 800
212. M. G. Quiles, L. C. Menezes, K. de C. Bauab, E. K. Gimpl, T. T. Rocchetti, F. S. Palomo, F. Carlesse, A. C. Pignatari, *BMC Infect. Dis.* **15** (2015) 283.
213. S. Aslam, A. A. Isab, M. A. Alotaibi, M. Saleem, M. Monim-ul-Mehboob, S. Ahmad, I. Georgieva, N. Trendafilova, *Polyhedron* **115** (2016) 212
214. M. McCann, M. Geraghty, M. Devereux, D. O'Shea, J. Mason, L. O'Sullivan, *Met. Based Drugs* **7** (2000) 185
215. S. Mandal, A. Hepp, J. Müller, *Dalton Trans.* **44** (2015) 3540
216. X. Han, X. Gao, *Curr. Med. Chem.* **8** (2001) 551
217. S. Neidle, C. M. Nunn, *Nat. Prod. Rep.* **15** (1998) 1
218. G. Bischoff, S. Hoffmann, *Curr. Med. Chem.* **9** (2002) 321
219. J. N. Lisgarten, M. Coll, J. Portugal, C. W. Wright, J. Aymami, *Nature Struct. Biol.* **9** (2002) 57
220. S. Neidle, *Nat. Prod. Rep.* **18** (2001) 291
221. N. Shahabadi, M. Maghsudi, *Mol. BioSyst.* **10** (2014) 338
222. a) A. Dimitrakopoulou, C. Dendrinou-Samara, A. A. Pantazaki, M. Alexiou, E. Nordlander, D. P. Kessissoglou, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 618

223. R. Rohs, I. Bloch, H. Sklenar, Z. Shakked, *Nucl. Acids Res.* **33** (2005) 7048
224. A. Eshwika, B. Coyle, M. Devereux, M. McCann, K. Kavanagh, *Biometals* **17** (2004) 415
225. B. Nordén, F. Tjerneld, *Biopolymers* **21** (1982) 1713
226. N. Shahabadi, S. Kashanian, Z. Ahmadipour, *DNA Cell Biol.* **30** (2011) 187
227. N. A. Kasyanenko, Z. Qiushi, M. S. Varshavskii, V. M. Bakulev, V. N. Demidov, *J. Struct. Chem.* **58** (2017) 406
228. Y. Shi, C. Guo, Y. Sun, Z. Liu, F. Xu, Y. Zhang, Z. Wen, Z. Li, *Biomacromolecules* **12** (2011) 797
229. a) F. Jalali, P. S. Dorraji, *Arab. J. Chem.* **10** (2017) S3947; b) C. N. Banti, A. D. Giannoulis, N. Kourkoumelis, A. M. Owczarzak, M. Kubicki, S. K. Hadjidakou, *Dalton Trans.* **43** (2014) 6848; c) C. N. Banti, C. Papatriantafyllopoulou, A. J. Tasiopoulos, S. K. Hadjidakou, *Eur. J. Med. Chem.* **143** (2018) 1687; d) A. I. Matesanz, E. Jimenez-Faraco, M. C. Ruiz, L. M. Balsa, C. Navarro-Ranninger, I. E. León, A. G. Quiroga, *Inorg. Chem. Front.* **5** (2018) 73 e) M. Rendošová, Z. Vargová, J. Kuchár, D. Sabolová, Š. Levoča, J. Kudláčová, H. Paulíková, D. Hudecová, V. Helebrandtová, M. Almáši, M. Vilková, M. Dušek, D. Bobálová, *J. Inorg. Biochem.* **168** (2017) 1
230. L. Švorc, K. Kalcher, *Sens. Actuat B Chem.* **194** (2014) 332
231. A. J. Phillips, I. Sudbery, M. Ramsdale, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **100** (2003) 14327
232. <https://www.drugs.com/monograph/silver-sulfadiazine.html>
233. O. Gordon, T. V. Slenters, P. S. Brunetto, A. E. Villaruz, D. E. Sturdevant, M. Otto, R. Landmann, K. M. Fromm, *Antimicrob. Agents Chemother.* **54** (2010) 4208
234. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00646>
235. B. S. Mohamed, M. Subramanian, K. P. Shunmugiah, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **98** (2014) 6775
236. C. Chakraborty, C. H. Hsu, Z. H. Wen, C. S. Lin, G. Agoramoorthy, *Curr. Drug Metab.* **10** (2009) 116
237. C. A. MacRae, R. T. Peterson, *Nat. Rev. Drug Discov.* **14** (2015) 721
238. Z. Gong, V. Korzh, *Fish Development and Genetics: The Zebrafish and Medaka Models*, World Scientific Publishing Co., Singapore, **2004**
239. O. Bar-Ilan, R. M. Albrecht, V. E. Fako, D. Y. Furgeson, *Small* **5** (2009) 1897
240. A. C. Bandeira, J. M. Filho, K. de Almeida Ramos, *Med. Mycol. Case Rep.* **13** (2016) 19

241. C. Koch, M. Wolff, M. Henrich, M. A. Weigand, C. Lichtenstern, F. Uhle, *Antimicrob. Agents Chemother.* **60** (2016) 301
242. R. L. Page, C. L. O'Bryant, D. Cheng, T. J. Dow, B. Ky, C. M. Stein, A. P. Spencer, R. J. Trupp, J. Lindenfeld, *Circulation* **134** (2016) e32
243. L. Cattalini, R. J. H. Clark, A. Orío, C. K. Poon, *Inorg. Chim. Acta* **2** (1968) 62
244. J. P. Foster, F. Weinhold, *J. Am. Chem. Soc.* **102** (1980) 7211
245. A. Djekovic, B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, R. Puchta, R. van Eldik, *Dalton Trans.* **41** (2012) 3633
246. M.-L. Tong, B.-H. Ye, J.-W. Cai, X.-M. Chen, S. W. Ng, *Inorg. Chem.* **37** (1998) 2645
247. L. Castedo, M. M. Cid, R. Domínguez, J. A. Seijas, M. C. Villaverde, *Heterocycles* **31** (1990) 1271
248. J. Shamir, A. Givan, L. Canovese, L. Cattalini, P. Uguagliati, M. L. Tobe, *J. Raman Spectrosc.* **24** (1993) 233
249. S. K. Wolff, D. J. Grimwood, J. J. McKinnon, M. J. Turner, D. Jayatilaka, M. A. Spackman, Crystal Explorer 3.5, University of Western Australia, Crawley, Australia **2012**
250. B. Đ. Glišić, M. Hoffmann, B. Waržajtis, M. S. Genčić, P. D. Blagojević, N. S. Radulović, U. Rychlewska, M. I. Djuran, *Polyhedron* **105** (2016) 137
251. R. V. Parish, B. P. Howe, J. P. Wright, J. Mack, R. G. Pritchard, R. G. Buckley, A. M. Elsome, S. P. Fricker, *Inorg. Chem.* **35** (1996) 1659
252. I. Özdemir, N. Temelli, S. Günal, S. Demir, *Molecules* **15** (2010) 2203
253. L. R. Gouvea, L. S. Garcia, D. R. Lachter, P. R. Nunes, F. de Castro Pereira, E. P. Silveira-Lacerda, S. R. W. Louro, P. J. S. Barbeira, L. R. Teixeira, *Eur. J. Med. Chem.* **55** (2012) 67
254. N. Pantelić, T. P. Stanojković, B. B. Zmejkovski, T. J. Sabo, G. N. Kaluđerović, *Eur. J. Med. Chem.* **90** (2015) 766
255. B. Waržajtis, B. Đ. Glišić, N. D. Savić, A. Pavić, S. Vojnović, A. Veselinović, J. Nikodinović-Runic, U. Rychlewska, M. I. Djuran, *Dalton Trans.* **46** (2017) 2594
256. R. V. Parish, J. Mack, L. Hargreaves, J. P. Wright, R. G. Buckley, A. M. Elsome, S. P. Fricker, B. R. C. Theobald, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1996) 69
257. V. T. Yilmaz, C. Içsel, J. Batur, S. Aydınlik, M. Cengiz, O. Buyukgungor, *Dalton Trans.* **46** (2017) 8110

258. A. Tarushi, X. Totta, A. Papadopoulos, J. Kljun, I. Turel, D. P. Kessissoglou, G. Psomas, *Eur. J. Med. Chem.* **74** (2014) 187
259. A. F. Santos, I. P. Ferreira, C. B. Pinheiro, V. G. Santos, M. T. P. Lopes, L. R. Teixeira, W. R. Rocha, G. L. S. Rodrigues, H. Beraldo, *ACS Omega* **3** (2018) 7027
260. G. Psomas, D. P. Kessissoglou, *Dalton Trans.* **42** (2013) 6252
261. M. H. Chen, R. Kerkelä, T. Force, *Circulation* **118** (2008) 84

БИОГРАФИЈА



Нада Д. Савић је рођена 18. августа 1989. године у Чачку. Основну школу „Момчило Настасијевић“ и Гимназију „Таковски устанак“, општи смер, завршила је у Горњем Милановцу са одличним успехом. На Природно-математички факултет у Крагујевцу, група Хемија, смер истраживање и развој, уписала се 2008/09. године, где је и дипломирала у децембру 2012. године, са просечном оценом 9,26. Школске 2013/14. године уписала је мастер академске студије хемије на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, смер истраживање и развој, које је завршила јула 2014. године са просечном оценом 10.

Докторске академске студије уписала је школске 2014/15. године на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, модул неорганска хемија. Од 2015. године учествује као истраживач-приправник, а од децембра 2017. године као истраживач-сарадник на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије „Синтеза нових комплекса метала и испитивање њихових реакција са пептидима“ (бр. пројекта: 172036). Учествовала је као истраживач на међународном пројекту *SupraMedChem@Balkans.Net: Biomedical Dimension of Supramolecular Chemistry in the training and research in the Balkans area* (2016 – 2018), и на билатералном пројекту „Нови комплекси платинске групе метала као потенцијални агенси за биомедицинску примену“ (Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу и Факултет за хемију и хемијску технологију, Универзитет у Љубљани, Словенија; бр. пројекта 24).

Активно учествује у раду са студентима хемије и биологије у Институту за хемију, Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу. Изводила је вежбе из предмета: *Опита хемија* и *Неорганска хемија 1* - основне студије хемије, прва година хемије. Тренутно изводи вежбе из предмета *Основи хемије* - основне студије биологије, прва година.

Добитник је Специјалног признања Српског хемијског друштва за 2013. годину за изузетан успех у току студија хемије на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу. Добитник је две ИУРАС-ове награде за најбољи постер на 54. саветовању Српског хемијског друштва (Београд, Србија, 29-30. септембар, 2017) и на 55. саветовању Српског хемијског друштва (Нови Сад, Србија, 08-09. јун, 2018).

Бави се истраживачким радом у области бионеорганске и медицинске неорганске хемије. Предмет њеног истраживања су синтеза, карактеризација и испитивање биолошке активности комплекса сребра(I) и злата(III) са ароматичним хетероцикличним једињењима која садрже азот у прстену и пептидима који садрже аминокиселину L-хистидин.

Боравила је месец дана (децембар 2017. године) на Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, у лабораторији за молекуларну биологију и екологију микроорганизама, у групи др Јасмине Никодиновић-Рунић. У оквиру *SupraMedChem@Balkans.Net: Biomedical Dimension of Supramolecular Chemistry in the training and research in the Balkans area* пројекта боравила је месец дана (фебруар 2018. године) на Институту за органску хемију са центром за фитохемију, Бугарске академије наука у Софији, у групи професора др Људмила Антонова.

Списак радова и саопштења Наде Д. Савић

1. Научни радови публиковани у међународним часописима

*Радови под бројем 1.1, 1.2, 1.3, 1.5, 1.7. и 1.8. су у оквиру теме за докторску дисертацију

- 1.1. **N. D. Savić, B. Đ. Glišić, H. Wadepohl, A. Pavic, L. Senerovic, J. Nikodinovic-Runic, M. I. Djuran**
Silver(I) complexes with quinazoline and phthalazine: synthesis, structural characterization and evaluation of biological activities
MedChemComm, **7** (2016) 282-291. **M22**
- 1.2. **N. D. Savić, D. R. Milivojevic, B. Đ. Glišić, T. Ilic-Tomic, J. Veselinovic, A. Pavic, B. Vasiljevic, J. Nikodinovic-Runic, M. I. Djuran**
A comparative antimicrobial and toxicological study of gold(III) and silver(I) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocycles: synergistic activity and improved selectivity index of Au(III)/Ag(I) complexes mixture
RSC Adv., **6** (2016) 13193-13206. **M21**
- 1.3. **B. Đ. Glišić, N. D. Savić, B. Warżajtis, L. Djokic, T. Ilic-Tomic, M. Antić, S. Radenković, J. Nikodinovic-Runic, U. Rychlewska, M. I. Djuran**
Synthesis, structural characterization and biological evaluation of dinuclear gold(III) complexes with aromatic nitrogen-containing ligands: antimicrobial activity in relation to the complex nuclearity
MedChemComm, **7** (2016) 1356-1366. **M22**
- 1.4. **B. Warżajtis, B. Đ. Glišić, N. D. Savić, A. Pavic, S. Vojnovic, A. Veselinović, J. Nikodinovic-Runic, U. Rychlewska, M. I. Djuran**
Mononuclear gold(III) complexes with L-histidine-containing dipeptides: tuning the structural and biological properties by variation of the N-terminal amino acid and counter anion
Dalton Trans., **46** (2017) 2594-2608. **M21**
- 1.5. **A. Pavic, B. Đ. Glišić, S. Vojnovic, B. Warżajtis, N. D. Savić, M. Antić, S. Radenković, G. V. Janjić, J. Nikodinovic-Runic, U. Rychlewska, M. I. Djuran**
Mononuclear gold(III) complexes with phenanthroline ligands as efficient inhibitors of angiogenesis: a comparative study with auranofin and sunitinib
J. Inorg. Biochem., **174** (2017) 156-168. **M21**

- 1.6. **S. Radenković, M. Antić, N. D. Savić, B. Đ. Glišić**
The nature of the Au-N bond in gold(III) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocycles: the influence of Au(III) ions on the ligand aromaticity
New J. Chem., **41** (2017) 12407-12415. **M22**
- 1.7. **N. D. Savić, S. Vojnovic, B. Đ. Glišić, A. Crochet, A. Pavic, G. Janjić, M. Pekmezović, I. Opsenica, K. M. Fromm, J. Nikodinovic-Runic, M. I. Djuran**
Mononuclear silver(I) complexes with 1,7-phenanthroline as potent inhibitors of *Candida* growth
Eur. J. Med. Chem., **156** (2018) 760-773. **M21a**
- 1.8. **A. Pavic, N. D. Savić, B. Đ. Glišić, A. Crochet, S. Vojnovic, A. Kurutos, D. M. Stanković, K. M. Fromm, J. Nikodinovic-Runic, M. I. Djuran**
Silver(I) complexes with 4,7-phenanthroline ligand efficient in rescuing the zebrafish embryos of lethal *Candida albicans* infection
submitted for publication
2. **Стручни радови објављени у националним научним часописима**
- 2.1. **B. Đ. Glišić, N. D. Savić, M. I. Djuran**
Medicinal uses of silver and its compounds. Silver(I) complexes as antimicrobial and antitumor agents
Hemijski pregled, **3** (2015) 58-64. **M53**
3. **Саопштења на међународним научним конференцијама штампана у изводу (M34)**
- 3.1. **D. R. Milivojević, N. D. Savić, B. Đ. Glišić, T. Ilić-Tomić, M. I. Djuran, B. Vasiljević**
Silver(I) and gold(III) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocycles: antimicrobial evaluation
Microbiologia Balkanica 2015 organized by the Hellenic Microbiology Society, Thessaloniki, October 22-24, 2015, P9B, p. 188.
- 3.2. **N. D. Savić, B. Warzajtis, B. Đ. Glišić, L. Djokić, T. Ilić-Tomić, J. Nikodinović-Runić, U. Rychlewska, M. I. Djuran**
Synthesis and biological evaluation of dinuclear gold(III) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocycles
International Summer School, Supramolecular Chemistry, Ideas, Design and Methods for Investigations organized by Bulgarian Academy of Sciences, Borovets, Bulgaria, June 16-18, 2016, P13.

- 3.3. **N. D. Savić, B. Đ. Glišić, B. Warzajtis, J. Nikodinović-Runić, U. Rychlewska, M. I. Djuran**
Synthesis and biological evaluation of gold(III) complexes with some L-histidine-containing dipeptides
13th European Biological Inorganic Chemistry Conference organized by Hungarian Chemical Society, Budapest, Hungary, August 28-September 01, 2016, P139, p. 292.
- 3.4. **N. D. Savić, B. Đ. Glišić, A. Crochet, S. Vojnovic, A. Pavic, J. Nikodinović-Runić, K. Fromm, M. I. Djuran**
Silver(I) complexes with phenanthroline ligands: structural characterization and biological evaluation
International Spring School Supramolecular Chemistry Ideas, Supramolecular Chemistry, Methods, Concepts and Applications, organized by Bulgarian Academy of Sciences, Plovdiv, Bulgaria, April 19-21, 2017, P7.
- 3.5. **N. D. Savić, B. Glišić, A. Pavić, M. Đuran, J. Nikodinović-Runić, S. Vojnović**
Metal complexes as a base for new antifungal drugs
International Meeting on Medicinal and Bio(in)organic Chemistry, Vrnjačka Banja, Serbia, August 26-31, 2017, p10.
- 3.6. **N. D. Savić, B. Đ. Glišić, A. Pavic, B. Warzajtis, S. Vojnovic, J. Nikodinovic-Runic, U. Rychlewska, M. I. Djuran**
Gold(III) complexes as effective angiogenesis inhibitors
International Meeting on Medicinal and Bio(in)organic Chemistry, Vrnjačka Banja, Serbia, August 26-31, 2017, p14.
- 3.7. **N. D. Savić, S. Vojnovic, B. Đ. Glišić, A. Crochet, I. Opsenica, K. M. Fromm, J. Nikodinovic-Runic, M. I. Djuran**
Antifungal silver(I) complexes with 1,7-phenanthroline: possible mechanism of action
International Summer School, Supramolecular chemistry in Medicine and in Technology, Advances and Challenges, Albena (near Varna), Bulgaria, August 30 – September 3, 2018, p. 7.
- 3.8. **A. Pavić, S. Ž. Đurić, B. Đ. Glišić, H. Wadepohl, N. D. Savić, M. I. Djuran, M. Mojićević, J. Nikodinovic-Runic**
Improvement of antifungal potential of itraconazole drug after its coordination to silver(I)
International Summer School, Supramolecular chemistry in Medicine and in Technology, Advances and Challenges, Albena (near Varna), Bulgaria, August 30 – September 3, 2018, p 1.

4. **Саопштења на националним научним конференцијама штампана у изводу (M64)**
- 4.1. **N. D. Savić, D. R. Milivojević, J. Nikodinović-Runić, B. Đ. Glišić, M. I. Djuran**
Solution study and biological activity of gold(III) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocycles
52th Meeting of the Serbian Chemical Society organized by the Serbian Chemical Society, Novi Sad, Serbia, May 29-30, 2015, NH P5, p. 67.
- 4.2. **N. D. Savić, B. Đ. Glišić, M. I. Djuran**
Synthesis and characterization of dinuclear gold(III) complexes with some aromatic nitrogen-containing heterocycles
Third Conference of Young Chemists of Serbia organized by the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, October 24, 2015, HS P31, p. 58.
- 4.3. **N. D. Savić, B. Warzajtis, B. Đ. Glišić, M. Antić, S. Radenković, U. Rychlewska, M. I. Djuran**
Synthesis and characterization of gold(III) complexes with tricycle aromatic nitrogen-containing heterocycles
53th Meeting of the Serbian Chemical Society organized by the Serbian Chemical Society, Kragujevac, Serbia, June 10-11, 2016, NH O4, p. 55.
- 4.4. **S. Radenković, M. Antić, N. D. Savić, B. Đ. Glišić, M. I. Djuran**
The nature of Au-N bond and aromaticity of N-heterocycles coordinated to Au(III) ion
53th Meeting of the Serbian Chemical Society organized by the Serbian Chemical Society, Kragujevac, Serbia, June 10-11, 2016, TH O1, p. 67.
- 4.5. **N. D. Savić, B. Đ. Glišić, M. I. Djuran, A. Crochet, K. Fromm**
Synthesis and characterization of silver(I) complexes with aromatic N-heterocycles
Fourth Conference of Young Chemists of Serbia organized by the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, November 5, 2016, HS P 21.
- 4.6. **N. D. Savić, B. Đ. Glišić, A. Crochet, K. M. Fromm, M. I. Djuran**
Silver(I) complexes with phenanthrolines: the influence of ligand and silver(I) salt on the complex nuclearity
54th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, September 29-30, 2017, NH 03, p38.
- 4.7. **S. Ž. Đurić, A. Pavic, H. Wadepohl, N. D. Savić, M. Mojićević, S. Vojnovic, B. Đ. Glišić, J. Nikodinovic-Runic, M. I. Djuran**
Polynuclear silver(I) complexes with 1,5-naphthyridine as efficient antifungal agents
55th Meeting of the Serbian Chemical Society, Novi Sad, Serbia, June 8-9, 2018, NH 03, p46.

- 4.8. A. Pavić, B. Glišić, N. D. Savić, S. Vojnović, M. Đuran, J. Nikodinović-Runić**
Uvođenje modela infekcije zebrafish-*Candida* u početnoj fazi procesa indentifikacije novih antifungalnih jedinjenja
Drugi kongres biologa Srbije, Kladovo, Srbija, Septembar 25-30, 2018, p231.
- 4.9. A. Pavić, B. Glišić, N. D. Savić, S. Vojnović, M. Đuran, J. Nikodinović-Runić**
Model zebrice (zebrafish) kao platforma za otkrivanje novih efikasnih bezbednih antitumorskih jedinjenja
Drugi kongres biologa Srbije, Kladovo, Srbija, Septembar 25-30, 2018, p257.
- 5. Предавања по позиву на међународним научним конференцијама (M31)**
- 5.1. N. D. Savić, A. Pavić, S. Vojnović, J. Nikodinović-Runić, B. Đ. Glišić**
Metal complexes with potential use in medicine: a case study of gold(III) complexes
8th Conference of The Indian Science Congress Association "Reaching The unreached through Science and Technology, Nainital, India, October 14-15, 2017.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, **Нада Д. Савић**, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

**„Синтеза, карактеризација и биолошка активност
комплекса сребра(I) и злата(III) са ароматичним хетероцикличним
једињењима која садрже азот у прстену”**

која је одбрањена на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам једини аутор наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији нисам извршио/ла повреду ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 22. новембар 2018. године

Нада Д. Савић

потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, *Нада Д. Савић*

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

**„Синтеза, карактеризација и биолошка активност
комплекса сребра(I) и злата(III) са ароматичним хетероцикличним
једињењима која садрже азот у прстену”**

која је одбрањена на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем преузимања.

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од Creative Commons лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих Creative Commons лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- ⑤) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 22. новембар 2018. године

Нада 2. Савић
потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од Creative Commons лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>

ПРИЛОГ


 CrossMark
click for updates

 Cite this: *Med. Chem. Commun.*,
2016, 7, 282

Silver(I) complexes with quinazoline and phthalazine: synthesis, structural characterization and evaluation of biological activities†

 Nada D. Savić,^a Biljana Đ. Glišić,^{*a} Hubert Wadepohl,^b Aleksandar Pavic,^c
Lidija Senerovic,^c Jasmina Nikodinovic-Runic^c and Miloš I. Djuran^a

New silver(I) complexes with quinazoline (qz) and phthalazine (phtz), [Ag(NO₃)(qz)]_n (**1**) and {[Ag(CH₃CN)]₂(μ-phtz)₂}[BF₄]₂ (**2**), have been synthesized and structurally characterized by using different spectroscopic and single-crystal X-ray diffraction techniques. The obtained results revealed that the reaction of AgNO₃ with qz at room temperature in a 2:1 molar ratio led to the formation of the polynuclear complex **1**. However, the reaction of AgBF₄ with phtz under the same experimental conditions resulted in the formation of the dinuclear complex **2**. The solution behaviour and air/light stability of these silver(I) complexes have been investigated. The complexes **1** and **2**, along with the silver(I) salts used for their synthesis, were evaluated by *in vitro* antimicrobial studies against a panel of microbial strains that lead to many skin and soft tissue, respiratory, wound, and nosocomial infections. The obtained results indicate that all tested silver(I) compounds have good antibacterial activity with MIC values in the range from 1.5 to 15.6 μg mL⁻¹ against the investigated strains. On the other hand, their antifungal activity against *Candida albicans* was moderate. In order to determine the therapeutic potential of **1** and **2**, their antiproliferative effect on the normal human lung fibroblast cell line MRC5, hemolytic effect on red blood cells and embryotoxicity on zebrafish (*Danio rerio*) have also been evaluated.

 Received 2nd November 2015,
Accepted 20th November 2015

DOI: 10.1039/c5md00494b

www.rsc.org/medchemcomm

Introduction

The bioactivities of silver, especially its antimicrobial properties, are widely exploited in numerous products and medical devices. For this purpose colloidal and nanocrystalline silver and different forms of silver(I) compounds (oxide, salts and complexes) have been used.^{1,2} The therapeutic potential and toxicity of silver highly depend on the chemical species. Up to now, numerous studies have been conducted in attempts to elucidate the mechanism of activity of the abovementioned silver preparations and although a general consensus has not been reached, the highest activity seems to be due to ionic Ag⁺.^{3–5} Several different mechanisms are thought to be responsible for the antimicrobial activity of this ion: (i) Ag⁺ interacts with thiol groups of L-cysteine residues of proteins,

inactivating their functions; (ii) Ag⁺ binds to nucleic acids; (iii) Ag⁺ causes potassium release and (iv) Ag⁺ generates superoxide intracellularly.⁶ Therefore, free Ag⁺ has plenty of possibilities to disturb biochemical processes on multiple levels. For example, the interaction of Ag⁺ with bacterial proteins and nucleic acids causes structural changes in membranes by blocking respiration or nucleic acid transcription.⁶

Among other biologically active silver formulations, in the last few decades, silver(I) complexes came into focus as an alternative formulation of silver with desirable and tunable antimicrobial properties.^{7–17} Numerous silver(I) complexes with nitrogen-, oxygen-, phosphorus- and sulphur-donor ligands, as well as N-heterocyclic carbenes (NHC) have been synthesized and evaluated as potential antibacterial and antifungal agents against different Gram-positive and Gram-negative bacteria and various yeasts and molds. The results show that one of the key factors determining the antimicrobial potential of silver(I) complexes is the nature of the donor coordinated to Ag⁺ rather than the complexes' solubility, charge, chirality or degree of polymerization.¹² Thus, silver(I) complexes with nitrogen and oxygen donors exhibit an effective and wide spectrum of antimicrobial activities.^{12,16} Their effectiveness was ascribed to the presence of weak Ag(I)–O/N bonds, which are cleaved in their reactions with different biomolecules, especially with those containing thiol groups.⁶

^a Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac,
R. Domanovića 12, PO Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia. E-mail: bglisic@kg.ac.rs
^b Anorganisch-Chemisches Institut, University of Heidelberg, Im Neuenheimer Feld
270, 69120 Heidelberg, Germany

^c Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade,
Vojvode Stepe 444a, 11000 Belgrade, Serbia

† Electronic supplementary information (ESI) available: Fig. S1 and Table S1–S3. CCDC 1426003 and 1426004 contains the supplementary crystallographic data for this paper. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c5md00494b



CrossMark
click for updates

Cite this: *RSC Adv.*, 2016, 6, 13193

A comparative antimicrobial and toxicological study of gold(III) and silver(I) complexes with aromatic nitrogen-containing heterocycles: synergistic activity and improved selectivity index of Au(III)/Ag(I) complexes mixture†

Nada D. Savić,^a Dusan R. Milivojevic,^b Biljana Đ. Glišić,^{*a} Tatjana Ilic-Tomic,^b Jovana Veselinovic,^c Aleksandar Pavic,^b Branka Vasiljevic,^b Jasmina Nikodinovic-Runic^{*b} and Miloš I. Djuran^a

Five aromatic nitrogen-containing heterocycles, pyridazine (pydz, 1), pyrimidine (pm, 2), pyrazine (pz, 3), quinoxaline (qx, 4) and phenazine (phz, 5) have been used for the synthesis of gold(III) and silver(I) complexes. In contrast to the mononuclear Au1–5 complexes all having square-planar geometry, the corresponding Ag1–5 complexes have been found to be polynuclear and of different geometries. Complexes Au1–5 and Ag1–5, along with K[AuCl₄], AgNO₃ and N-heterocyclic ligands used for their synthesis, were evaluated by *in vitro* antimicrobial studies against a panel of microbial strains that lead to many skin and soft tissue, respiratory, wound and nosocomial infections. All tested complexes exhibited excellent to good antibacterial activity with minimal inhibitory (MIC) values in the range of 2.5 to 100 μg mL⁻¹ against the investigated strains. The complexes were particularly efficient against pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 2.5–30 μg mL⁻¹) and had a marked ability to disrupt clinically relevant biofilms of strains with high inherent resistance to antibiotics. Moreover, the Au1–4 and Ag1–5 complexes exhibited pronounced ability to competitively intercalate double stranded genomic DNA of *P. aeruginosa*, which was demonstrated by gel electrophoresis techniques and supported by molecular docking into the DNA major groove. Antiproliferative effect on the normal human lung fibroblast cell line MRC5 has also been evaluated in order to determine therapeutic potential of Au1–5 and Ag1–5 complexes. Since the investigated gold(III) complexes showed much lower negative effects on the viability of the MRC5 cell line than their silver(I) analogues and slightly lower antimicrobial activity against the investigated strains, the combination approach to improve their pharmacological profiles was applied. Synergistic antimicrobial effect and the selectivity index of 10 were achieved for the selected gold(III)/silver(I) complexes mixtures, as well as higher *P. aeruginosa* PAO1 biofilm disruption activity, and improved toxicity profile towards zebrafish embryos, in comparison to the single complexes. To the best of our knowledge, this is the first report on synergistic activity of gold(III)/silver(I) complexes mixtures and it could have an impact on development of new combination therapy methods for the treatment of multi-resistant bacterial infections.

Received 6th December 2015
Accepted 25th January 2016

DOI: 10.1039/c5ra26002g

www.rsc.org/advances

Introduction

Metal-based drugs have a wide range of medicinal applications, both as diagnostic and therapeutic agents, and are now

routinely administered to patients.^{1,2} Generally, compounds containing platinum (anticancer), silver (antimicrobial), iron (antimalarial), bismuth (antiulcer), vanadium (antidiabetic) and gold (antiarthritic) are examples of metal-based drugs which have been used for the treatment of the wide range of diseases.³ Although the mechanism of biological action of metal compounds for therapy and diagnosis has been extensively investigated, in several cases is still not fully elucidated. The activity of metal-based drugs usually relies on their redox changes and/or ligand exchange reactions *in vivo* to generate the active species.^{2,4} Metal complexes offer quite diverse chemistry in comparison to small organic bioactive molecules, due to the

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, PO Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia. E-mail: bglisic@kg.ac.rs

^bInstitute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade, Vojvode Stepe 444a, 11000 Belgrade, Serbia. E-mail: jasmina.nikodinovic@gmail.com

^cFaculty of Medicine, Department of Chemistry, University of Niš, 18000 Niš, Serbia

† Electronic supplementary information (ESI) available: Fig. S1–S4 and Tables S1–S3. See DOI: 10.1039/c5ra26002g



Cite this: *Med. Chem. Commun.*,
2016, 7, 1356

Synthesis, structural characterization and biological evaluation of dinuclear gold(III) complexes with aromatic nitrogen-containing ligands: antimicrobial activity in relation to the complex nuclearity^{†‡}

Biljana Đ. Glišić,^{*a} Nada D. Savić,^a Beata Warżajtis,^b Lidija Djokic,^c Tatjana Ilic-Tomic,^c Marija Antić,^a Slavko Radenković,^a Jasmina Nikodinovic-Runic,^c Urszula Rychlewska^b and Miloš I. Djuran^a

Dinuclear gold(III) complexes {[AuCl₃]₂(μ-4,4'-bipy)} (1) and {[AuCl₃]₂(μ-bpe)} (2) with bridging aromatic nitrogen-containing heterocyclic ligands, 4,4'-bipyridine (4,4'-bipy) and 1,2-bis(4-pyridyl)ethane (bpe), were synthesized and characterized by NMR (¹H and ¹³C), UV-vis and IR spectroscopic techniques. The crystal structure of 1 was determined by single-crystal X-ray diffraction analysis, while the DFT M06-2X method was applied in order to optimize the structures of 1 and 2. A detailed mechanistic study was performed using the same DFT approach in order to shed light on the disparate coordination modes of the presently investigated N-heterocyclic ligands and the monocyclic pyrazine, which contains two nitrogen atoms within one ring, toward the AuCl₃ fragment. The investigation of the solution stability of 1 and 2 in DMSO revealed that both complexes were sufficiently stable in this solvent at room temperature. Complexes 1 and 2, along with K[AuCl₄] and the N-heterocyclic ligands used for their synthesis, were evaluated by *in vitro* antimicrobial studies against a panel of Gram-positive and Gram-negative bacteria and the fungus *Candida albicans*. In most cases, complexes 1 and 2 have higher antibacterial activity than K[AuCl₄] (MICs for 1 and 2 were in the range 3.9–62.5 μg mL⁻¹), while both of the N-heterocycles did not affect the bacterial growth at concentrations up to 500 μg mL⁻¹. On the other hand, the antifungal activity of these two complexes against *C. albicans* was moderate and lower than that of K[AuCl₄]. In order to determine the therapeutic potential of 1 and 2, their antiproliferative effect on the normal human lung fibroblast cell line MRC5 and embryotoxicity on zebrafish (*Danio rerio*) have also been evaluated. To the best of our knowledge, complexes 1 and 2 are the first examples of dinuclear gold(III) complexes with aromatic six-membered heterocycles containing two nitrogen atoms as bridging ligands.

Received 16th April 2016,
Accepted 1st May 2016

DOI: 10.1039/c6md00214e

www.rsc.org/medchemcomm

1. Introduction

In recent decades, gold(III) complexes have attracted considerable attention due to their potential use in medicine as anti-tumor, antibacterial, antiviral and antiparasitic agents.^{1–3} Due to the fact that the Au(III) ion has high reduction potential, a

range of strategies have been applied in order to obtain gold(III) complexes with sufficient stability under physiologically relevant conditions. These strategies are mostly related to appropriate ligand selection, which has been shown to be crucial in decreasing the pronounced tendency of the Au(III) metal center to be reduced to Au(I) or/and Au(0).¹ Among others, an important class of ligands for the synthesis of gold(III) complexes comprises aromatic nitrogen-containing heterocycles (N-heterocycles). These compounds and their derivatives embedded with a variety of functional groups are important structural moieties of many natural products and pharmacologically active compounds, and show diverse biological activities, such as antitumor, antimicrobial, anticonvulsant and anti-inflammatory.^{4–7} So far, different aromatic N-heterocycles such as 2,2'-bipyridine, 2,2':6',2''-terpyridine, 1,10-phenanthroline, quinoline and their derivatives, as well as porphyrins have been utilized for the synthesis of a large

^a Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, PO Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia. E-mail: bglisic@kg.ac.rs

^b Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Umultowska 89B, 61-614 Poznań, Poland

^c Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade, Vojvode Stepe 444a, 11000 Belgrade, Serbia

[†] The authors declare no competing interests.

[‡] Electronic supplementary information (ESI) available: Fig. S1–S4 and Tables S1–S5. CCDC 1449961 contains the supplementary crystallographic data for this paper. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c6md00214e



Mononuclear gold(III) complexes with phenanthroline ligands as efficient inhibitors of angiogenesis: A comparative study with auranofin and sunitinib

Aleksandar Pavic^{a,*}, Biljana Đ. Glišić^{b,*}, Sandra Vojnović^a, Beata Warzajtis^c, Nada D. Savić^b, Marija Antić^b, Slavko Radenković^b, Goran V. Janjić^d, Jasmina Nikodinović-Runic^a, Urszula Rychlewska^c, Miloš I. Djuran^{b,e}

^a Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade, Vojvode Stepe 444a, 11000 Belgrade, Serbia

^b University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, R. Domanovića 12, PO Box 60, 34000 Kragujevac, Serbia

^c Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Umultowska 89B, 61-614 Poznań, Poland

^d Institute of Chemistry, Metallurgy and Technology, University of Belgrade, Njegoševa 12, 11000 Belgrade, Serbia

^e Serbian Academy of Sciences and Arts, Knez Mihailova 35, 11000 Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

Keywords:

Gold(III) complexes
Phenanthroline
Cytotoxicity
Embryotoxicity
Angiogenesis

ABSTRACT

Gold(III) complexes with 1,7- and 4,7-phenanthroline ligands, [AuCl₃(1,7-phen-κN7)] (1) and [AuCl₃(4,7-phen-κN4)] (2) were synthesized and structurally characterized by spectroscopic (NMR, IR and UV–vis) and single-crystal X-ray diffraction techniques. In these complexes, 1,7- and 4,7-phenanthrolines are monodentately coordinated to the Au(III) ion through the N7 and N4 nitrogen atoms, respectively. In comparison to the clinically relevant anti-angiogenic compounds auranofin and sunitinib, gold(III)-phenanthroline complexes showed from 1.5- to 20-fold higher anti-angiogenic potential, and 13- and 118-fold lower toxicity. Among the tested compounds, complex 1 was the most potent and may be an excellent anti-angiogenic drug candidate, since it showed strong anti-angiogenic activity in zebrafish embryos achieving IC₅₀ value (concentration resulting in an anti-angiogenic phenotype at 50% of embryos) of 2.89 μM, while had low toxicity with LC₅₀ value (the concentration inducing the lethal effect of 50% embryos) of 128 μM. Molecular docking study revealed that both complexes and ligands could suppress angiogenesis targeting the multiple major regulators of angiogenesis, such as the vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR-2), the matrix metalloproteases (MMP-2 and MMP-9), and thioredoxin reductase (TrxR1), where the complexes showed higher binding affinity in comparison to ligands, and particularly to auranofin, but comparable to sunitinib, an anti-angiogenic drug of clinical relevance.

1. Introduction

Angiogenesis is a physiological process of the sprouting of new blood capillaries from preexisting vessels, which involves endothelial cells activation, invasion, migration, proliferation, tube formation and, finally, capillary network establishment [1]. While controllable and balanced angiogenesis play an essential role in normal physiological processes, an excessive activation of angiogenesis leads to numerous pathological processes, such as inflammatory disease, rheumatoid arthritis, psoriasis, atherosclerosis, diabetic retinopathy and cancer, for which growth, invasion and metastasis is crucial to form new vessels [2]. Accordingly, the blockade of angiogenesis by targeting activated endothelial cells and inhibiting them to proliferate and migrate is a proven strategy for the treatment of angiogenesis-related diseases [3]. It is evidenced that angiogenesis inhibitors combined with adjuvant

chemotherapy increased its efficacy and provided significantly better survival of the cancer patients [4]. So far, more than 300 angiogenesis inhibitors have been developed, and 80 anti-angiogenic drugs are currently in clinical trials [5]. However, the drawbacks of many anti-angiogenic therapies, mostly associated with clinical resistance and toxicity, particularly cardiotoxicity [6], highlight the need for developing new drug candidates with improved bioactivity and a more favorable safety profile.

In recent years, the metal-based chemotherapeutics has undergone a renaissance, yet offering excellent and unexplored opportunities for further drug discovery [7]. In this vein, gold-based compounds present a very promising family of cytotoxic and potentially anticancer agents [8–10]. While many gold(III)-complexes containing organic heterocyclic ligands were proven for substantial anticancer activity [8,9], an anti-angiogenic activity has been demonstrated only for few of them

* Corresponding authors.

E-mail addresses: sasapavic@imgge.bg.ac.rs (A. Pavic), bglisic@kg.ac.rs (B.Đ. Glišić).



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmech>

Research paper

Mononuclear silver(I) complexes with 1,7-phenanthroline as potent inhibitors of *Candida* growth

Nada D. Savić^{a,1}, Sandra Vojnović^{b,1}, Biljana Đ. Glišić^a, Aurélien Crochet^c, Aleksandar Pavić^b, Goran V. Janjić^d, Marina Pekmezović^e, Igor M. Opsenica^f, Katharina M. Fromm^{c,*}, Jasmina Nikodinovic-Runic^{b,**}, Miloš I. Djuran^{g,***}

^a University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia^b Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade, Vojvode Stepe 444a, 11000 Belgrade, Serbia^c Department of Chemistry, University of Fribourg, Chemin du Musée 9, CH-1700 Fribourg, Switzerland^d Institute of Chemistry, Metallurgy and Technology, University of Belgrade, Njegoševa 12, 11000 Belgrade, Serbia^e Department of Microbial Pathogenicity Mechanisms, Hans Knöll Institute, Jena, Germany^f University of Belgrade-Faculty of Chemistry, Studentski trg 16, 11158 Belgrade, Serbia^g Serbian Academy of Sciences and Arts, Knez Mihailova 35, 11000 Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 April 2018

Received in revised form

11 May 2018

Accepted 17 July 2018

Available online 18 July 2018

Keywords:

Silver(I) complexes

Antimicrobial activity

Cytotoxicity

*Candida**Danio rerio*

ABSTRACT

Mononuclear silver(I) complexes with 1,7-phenanthroline (1,7-phen), [Ag(NO₃-O,O') (1,7-phen-N7)₂] (1) and [Ag(1,7-phen-N7)₂]X, X = ClO₄⁻ (2), CF₃SO₃⁻ (3), BF₄⁻ (4) and SbF₆⁻ (5) were synthesized and structurally characterized by NMR (¹H and ¹³C), IR and UV–Vis spectroscopy and ESI mass spectrometry. The crystal structures of 1, 3 and 4 were determined by single-crystal X-ray diffraction analysis. In all these complexes, 1,7-phen coordinates to the Ag(I) ion in a monodentate fashion via the less sterically hindered N7 nitrogen atom. The investigation of the solution stability of 1–5 in DMSO revealed that they are sufficiently stable in this solvent at room temperature. Complexes 1–5 showed selectivity towards *Candida* spp. in comparison to bacteria, effectively inhibiting the growth of four different *Candida* species with minimal inhibitory concentrations (MIC) between 1.2 and 11.3 μM. Based on the lowest MIC values and the lowest cytotoxicity against healthy human fibroblasts with selectivity index of more than 30, the antifungal potential was examined in detail for the complex 1. It had the ability to attenuate *C. albicans* virulence and to reduce epithelial cell damage in the cell infection model. Induction of reactive oxygen species (ROS) response has been detected in *C. albicans*, with fungal DNA being one of the possible target biomolecules. The toxicity profile of 1 in the zebrafish model (*Danio rerio*) revealed improved safety and activity in comparison to that of clinically utilized silver(I) sulfadiazine.

© 2018 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Candida albicans and emerging non-*albicans Candida* species, such as *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. krusei*, may cause infections ranging from superficial to life-threatening disseminated bloodstream and deep-tissue infections and account for ≥95% of all candidemia [1,2]. Existing therapies for the

treatment of *Candida* infections rely on the use of several classes of compounds including polyenes, azoles, echinocandins, nucleoside analogs and allylamines with varying efficacy depending on the type and site of the infection, as well as susceptibility of the *Candida* species [3]. However, *Candida* species developed resistance to these conventionally used antifungal agents, leading to the treatment failures in patients and changes in the prevalence of species causing diseases [4]. The mechanisms of resistance to the antifungal drugs include an increased expression of drug efflux pumps which remove the drug from the cell before a toxic concentration can be reached, alteration of the structure or concentration of antifungal target proteins, and variation in the ergosterol biosynthetic pathways [5,6]. The problems associated with the developing resistance to the traditional therapy are a strong incentive for the search and

* Corresponding author.

** Corresponding author.

*** Corresponding author.

E-mail addresses: katharina.fromm@unifr.ch (K.M. Fromm), jasmina.nikodinovic@gmail.com (J. Nikodinovic-Runic), djuran@kg.ac.rs (M.I. Djuran).¹ N.D.S. and S.V. contributed equally.