



Joanna Grażyna Masternak

**Zależność między strukturą kompleksów wybranych jonów
metali a potencjalnymi właściwościami aplikacyjnymi**

Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych w związku
z ubieganiem się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Kielce 2019

1. Imiona i Nazwisko

Joanna Grażyna Masternak

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe - z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- 2006 magister chemii
Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Kochanowskiego w Kielcach
praca pt. „Właściwości donorowe 2,2'-bis-(4,5-dimethyloimidazolu) w stosunku do jonów kobaltu(II) i niklu(II) w stanie stałym”, promotor dr hab. Krystyna Kurdziel
- 2013 doktor nauk chemicznych
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
praca doktorska pt. „Synteza, struktura i charakterystyka spektroskopowa kompleksów wapnia(II) i kadmu(II) z wybranymi bioligandami”, promotor dr hab. Barbara Barszcz prof. UJK

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

- 2008-2015 Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Kochanowskiego w Kielcach (obecnie Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach), Instytut Chemii, Zakład Chemii Nieorganicznej, asystent
- 2015-aktualnie Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Instytut Chemii, Zakład Chemii Nieorganicznej, adiunkt

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego,

Zależność między strukturą kompleksów wybranych jonów metali a potencjalnymi właściwościami aplikacyjnymi

b) wykaz cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe,

Odnośniki do prac z cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe oznaczone zostały symbolem **H** w całej dokumentacji (szczegółowy opis zawarto w Załączniku 4), natomiast symbol ☒ oznacza autora do korespondencji.

H1	Masternak J. , Zienkiewicz-Machnik M., Kowalik M., Jabłońska-Wawrzycka A., Rogala P., Adach A., Barszcz B., 2016, Recent advances in coordination chemistry of metal complexes based on nitrogen heteroaromatic alcohols. Synthesis, structures and potential applications, <i>Coordination Chemistry Reviews</i> 327-328, 242-270.	IF ₂₀₁₆ 13,324
H2	Barszcz B., Masternak J. , Sawka-Dobrowolska W., 2013, Assembling novel Cd(II) complexes with multidentate nitrogen donor ligands obtained in situ from the system: zerovalent copper, cadmium oxide, 1-hydroxymethyl-3,5-dimethylpyrazole and ammonium thiocyanate, <i>Dalton Transactions</i> 17, 5960-5963.	IF ₂₀₁₃ 4,097

H3	Masternak J. , Barszcz B., Sawka-Dobrowolska W., Wietrzyk J., Jezierska J., Milczarek M., 2014, An efficient process to directly convert 1-hydroxymethyl-3,5-dimethylpyrazole to Cd(II) complexes via C-N bond creation: cytotoxicity and factors controlling the structures, <i>RSC Advances</i> 4, 43962-43972.	IF ₂₀₁₄ 3,840
H4	Masternak J. [✉] , Zienkiewicz-Machnik M., Kazimierczuk K., Barszcz B., 2018, Structural motifs in the Cu(II), Mn(II) and Zn(II) complexes based on N,N,N-donor dipodal or N,N,N,N-donor tripodal ligands obtained in situ: Synthesis, crystal structures and xanthine oxidase inhibition properties, <i>Polyhedron</i> 142, 93-104.	IF ₂₀₁₇ 2,067
H5	Masternak J. [✉] , Barszcz B., Hodorowicz M., Khavryuchenko O. V., Majka A., 2015, Synthesis and physicochemical characterization of two lead(II) complexes with O-, N-donor ligands. Lone pair functionality and crystal structure, <i>Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy</i> 136, 1998-2007.	IF ₂₀₁₅ 2,653
H6	Kowalik M., Masternak J. [✉] , Kazimierczuk K., Kupcewicz B., Khavryuchenko O. V., Barszcz B., 2018, A comparison of structural and luminescence properties of lead(II) coordination polymers with isomeric thiophenecarboxylate ligands, <i>Inorganica Chimica Acta</i> 471, 446-458.	IF ₂₀₁₇ 2,264
H7	Kowalik M., Masternak J. [✉] , Kazimierczuk K., Khavryuchenko O. V., Kupcewicz B., Barszcz B., 2018, Lead(II) coordination polymers with imidazole-4- and pyrazole-3-carboxylate isomeric linkers: Structural diversity and luminescence properties, <i>Journal of Solid State Chemistry</i> 266, 100-111.	IF ₂₀₁₇ 2,179
H8	Gilewska A., Masternak J. , Kazimierczuk K., Trynda J., Wietrzyk J., Barszcz B., 2018, Synthesis, structure, DNA binding and anticancer activity of mixed ligand ruthenium(II) complex, <i>Journal of Molecular Structure</i> 1155, 288-296.	IF ₂₀₁₇ 2,011
H9	Masternak J. , Gilewska A., Kazimierczuk K., Khavryuchenko O. V., Trynda J., Wietrzyk J., Barszcz B., 2018, Synthesis, physicochemical and theoretical studies on new rhodium and ruthenium dimers. Relationship between structure and cytotoxic activity, <i>Polyhedron</i> 154, 263-274.	IF ₂₀₁₇ 2,067
Patent	Barszcz B., Masternak J. , Nowy związek koordynacyjny [dijodo(tris(1-(3,5-dimetylopirazolo)metylo)amina)kadm(II)] i metoda jego wytwarzania. PL393842-A1; PL214124-B1, 26.06.2013	0
		ΣIF 34,502

Wskaźniki bibliograficzne dla całego dorobku:

Łączna liczba publikacji	19
	(6 - pierwszy autor,
	5 - autor korespondencyjny,

	5 prac przed uzyskaniem stopnia doktora)
Sumaryczny Impact Factor	56,586
Liczba punktów MNiSW	584
Suma cytowań zależnych (niezależnych)	115 (100)
Index Hirscha	7
Liczba doniesień konferencyjnych	29

c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Spis treści

1. Wprowadzenie i motywacja
2. Związki koordynacyjne kadmu
 - 2.1. Synteza chelatowych kompleksów kadmu – metoda one pot otrzymywania ligandów skorpionowych i ich kompleksów
 - 2.2. Struktura a właściwości fotoluminescencyjne kompleksów kadmu
 - 2.3. Badania nad kompleksami kadmu jako potencjalnymi cytostatykami
3. Kompleksy miedzi i cynku z ligandami N-donorowymi jako inhibitory oksydazy ksantynowej (XO)
4. Połączenia koordynacyjne ołowiu(II)
 - 4.1. Małocząsteczkowe chelatory toksycznych jonów ołowiu(II)
 - 4.2. Badania nad wpływem wolnej parcy elektronowej na strukturę kompleksów
 - 4.3. Badania nad wpływem struktury ligandów i struktury badanych kompleksów na właściwości fotoluminescencyjne
5. Związek pomiędzy strukturą a właściwościami cytotoksycznymi na przykładzie kompleksów rutenu(II) i rodu(II)
6. Podsumowanie osiągnięcia naukowego będącego podstawą postępowania habilitacyjnego
7. Perspektywy badawcze
8. Literatura

1. Wprowadzenie i motywacja

Moje zainteresowania naukowe związane są ze współczesną chemią koordynacyjną, zarówno metali jako jonów centralnych, jak i ligandów, których bogactwo strukturalne i polidentność warunkuje powstawanie ciekawych, a tym samym zróżnicowanych pod względem właściwości i zastosowań nowych związków. Tym samym związki koordynacyjne stanowią bazę, z której mogą korzystać różne dziedziny współczesnej nauki i technologii takie jak np.:

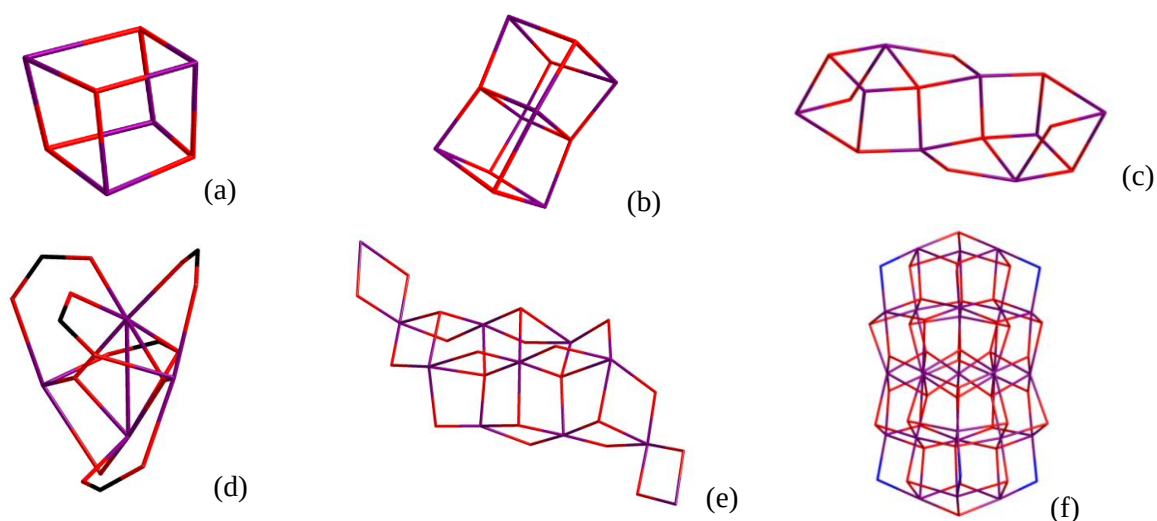
- i) medycyna i nauki biomedyczne, których badania ukierunkowane są na biomimetykę, diagnostykę i terapię. Stwierdzono, że współcześnie jednym z najpilniejszych zadań ludzkości są badania nad podniesieniem efektywności oraz innowacyjności leczenia chorób nowotworowych. Wyróżnia się kilka podstawowych metod leczenia nowotworów, ale statystyki wskazują, że najczęściej stosowaną metodą jest chemioterapia, która realizowana jest samodzielnie lub wspomaga postępowanie pooperacyjne. Bardzo często stosowanymi chemioterapeutykami w leczeniu chorób nowotworowych są związki na bazie platyny. Jednak ze względu na toksyczne efekty uboczne (neuro- i nefrotoksyczność), wąskie spektrum działania oraz wrodzoną lub nabytą odporność komórek nowotworowych na związki platynowe, ich stosowanie jest ograniczone. Dlatego poszukiwanie nowych, bardziej

skutecznych i mniej toksycznych chemioterapeutyków bazujących na innych metalach jest obecnie ważną strategią badawczą.

- ii) inżynieria materiałowa poszukująca funkcjonalnych substancji, które mogą być wykorzystane w nanotechnologii i nanochemii. W tej dziedzinie na podkreślenie zasługują badania nad wykorzystaniem kompleksów metali jako fotokatalizatorów w procesach konwersji energii słonecznej na energię chemiczną, elektryczną, ale również w postaci emitowanego promieniowania. Zjawisko fotoluminescencji kompleksów - luminoforów jest aktualnie wykorzystywane w diodach emitujących białe światło (Light Emitting Diodes).

Współcześnie do najbardziej aktualnych tematów badawczych z zakresu inżynierii materiałowej należą spontanicznie tworzone struktury wielordzeniowe oparte na kompleksach metali, które wykazują m.in. unikalne właściwości magnetyczne. Z analizą magneto-strukturalnych związków zapoznałam się opracowując rozdział pod tytułem „*Heteroaromatic alcohols as ligands for the assembly of single-molecular magnets*” w artykule przeglądowym dla czasopisma *Coordination Chemistry Reviews* [H1]. Wybór tego typu tematyki był podyktowany znajomością chemii koordynacyjnej N-heteroaromatycznych N,O-donorowych alkoholi, gdyż w Zespole Zakładu Chemii Nieorganicznej UJK były prowadzone badania nad związkami koordynacyjnymi metali z tego typu ligandami, także przy moim współudziale.

Badania nad kompleksami typu cząsteczkowych magnesów molekularnych (SMM), koncentrują się na wykorzystaniu zjawisk kwantowych, które wraz z postępującą miniaturyzacją nośników danych, stają się coraz bardziej istotne z punktu widzenia elektroniki [1]. Przeprowadzona przeze mnie analiza danych literaturowych na powyższy temat ukazała korelację pomiędzy różnorodnością struktur koordynacyjnych tworzonych przez paramagnetyczne centra metaliczne (m.in.: Mn, Ni, Co, Fe, Ln) a rodzajem użytych N-heteroaromatycznych alkoholi. Alkohole w tych związkach są uniwersalnymi ligandami, które cechuje duża różnorodności w zakresie koordynacji, szczególnie w przypadku związków ze zdeprotonowanymi grupami hydroksylowymi. W pracy dokonałam przeglądu głównych cech strukturalnych oraz topologii rdzenia koordynacyjnego związków polinuklearnych typu: homometalicznego 3d, heterometalicznego 3d-3d i heterometalicznego 3d-4f. Zwróciłam szczególną uwagę na to, że kompleksy polinuklearne manganu i żelaza mają inną topologię rdzenia, niż kompleksy niklu. Przykładowo, kompleksy manganu tworzą struktury typu: prostopadłościanu, klatki, beczki, czy motyla w kształcie litery V, ale mogą również wykazywać kształt dysku, rombu, wygiętego łańcucha itp. (Rys. 1).



Rys. 1. Wybrane typy centrów koordynacyjnych związków manganu: (a) sześciian, (b) podwójny sześciian, (c) niekompletny podwójny sześciian, (d) motyl w kształcie V, (e) klatka, (f) beczka.

Natomiast kompleksy niklu charakteryzują się w przeważającej większości rdzeniem typu sześcianu. Osiągnięciem pracy, które szczególnie docenili recenzenci było wykazanie przeze mnie korelacji pomiędzy topologią rdzenia a właściwościami magnetycznymi. Przeprowadzona w tym celu analiza magneto-strukturalnych związków dowiodła, że:

- i) klastry Mn_{25} wykazujące oddziaływanie ferromagnetyczne między centrami manganu są przykładem cząsteczkowych magnesów molekularnych (SMM) o najlepszych parametrach,
- ii) polinuklearne rdzenie tych związków składają się z jonów manganu na różnych stopniach utlenienia: $Mn(II)$, $Mn(III)$ i $Mn(IV)$,
- iii) związki o tym samym spinie całkowitym ($S = 9$) posiadają taki sam rdzeń i topologię (podwójnego prostopadłościanu), a
- iv) spin całkowity cząsteczki w pewnym stopniu może być kontrolowany przez liczbę jonów manganu tworzących rdzeń.

Zdobyta podczas przygotowywania powyższej publikacji wiedza utwierdziła mnie w przekonaniu jak istotne są badania nad zależnością pomiędzy strukturą związków koordynacyjnych a ich właściwościami. Podjęcie tego zagadnienia zaowocowało powstaniem szeregu prac naukowych [H2-H9], które stanowią podstawę omawianego osiągnięcia naukowego. Głównym celem moich badań, była analiza wpływu różnych czynników, w tym rodzaju liganda na strukturę otrzymanych kompleksów, która z kolei w znacznym stopniu determinuje właściwości fizykochemiczne badanych związków, a tym samym wskazuje ich potencjalne możliwości praktycznego zastosowania (Rys. 2). W kolejnych rozdziałach szczegółowo przedstawiam następujące projekty badawcze, składające się na osiągnięcie naukowe prezentowane w ramach postępowania habilitacyjnego:

(1) badania nad syntezą kompleksów kadmu z polidentnymi ligandami N-donorowymi.

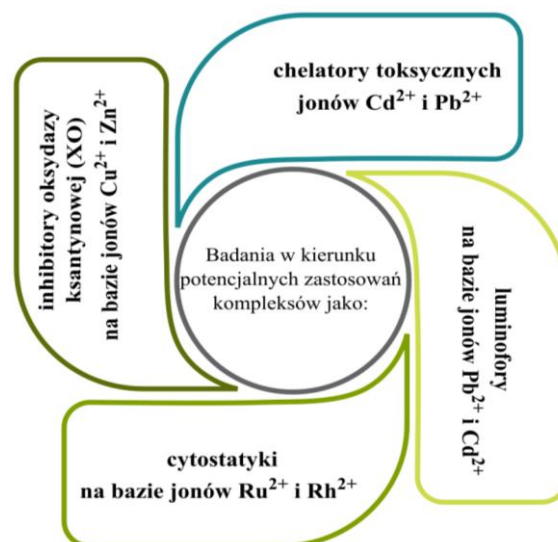
Badania miały głównie na celu poszukiwanie nowych metod syntezy N-donorowych chelatorów do efektywnego skompleksowania toksycznego jonu metalu z wykorzystaniem opracowanych przeze mnie procedur syntezy typu one pot oraz ustalenie dla otrzymanych kompleksów kadmu związku między strukturą a cytotoksycznością i strukturą a właściwościami fotoluminescencyjnymi [H2, H3],

(2) poszukiwanie nowych inhibitorów oksydazy ksantynowej (XO). Badania prowadziłam w oparciu o grupę kompleksów miedzi(II), cynku(II) i manganu(II) z polidentnymi ligandami N-donorowymi [H4],

(3) badania nad kompleksami ołowiu. Badania głównie dotyczyły ustalenia w jaki sposób można modulować strukturę polimerów koordynacyjnych oraz ich właściwości fotoluminescencyjne wprowadzając w sferę koordynacyjną ołowiu(II) różne ligandy [H5-H7],

(4) badania nad potencjalnym wykorzystaniem w chemioterapii związków metaloorganicznych na bazie jonów rutenu i

rodu. Projekt dotyczył głównie ustalenia zależności pomiędzy strukturą otrzymanych połączeń a ich aktywnością antynowotworową. Dodatkowo podjęłam próby określenia modelu oddziaływania otrzymanych związków z wybranymi biocząsteczkami (DNA, BSA) [H8, H9].



Rys. 2. Kierunki prowadzonych badań.

Otrzymane kompleksy metali, jako obiekty badawcze zostały scharakteryzowane za pomocą następujących metod:

- i) w zakresie badań strukturalnych: X-ray na monokryształach,
- ii) spektroskopowych: FTIR, UV-Vis, ^1H i ^{13}C NMR, EPR, PL (badania fotoluminescencji w ciele stałym – widma 2D i 3D),
- iii) trwałości termicznej (TG, DTG),
- iv) badania podatności magnetycznej w temperaturze pokojowej,
- v) wyniki eksperymentalne dla otrzymanych kompleksów zostały wsparte obliczeniami kwantowo-chemicznymi (DFT) oraz analizą powierzchni Hirshfelda (HS).

Ponadto tak scharakteryzowane związki kadmu, rutenu i rodu stanowiły w części biologicznej materiał do badań *in vitro* mających na celu określenie ich potencjalnych właściwości cytotoksycznych względem wybranych linii komórek nowotworowych. Badania zostały przeprowadzone we współpracy z Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Dodatkowo, w oparciu o metody spektroskopowe, a w szczególności dichroizm kołowy (CD), określiłam charakter oddziaływań kompleksów rutenu i rodu z CT-DNA oraz wybranym białkiem, BSA. Ponadto wykorzystując program Autodock, zastosowałam metodę modelowania molekularnego (molecular docking), pozwalającą na znalezienie położenia (i konformacji) liganda w miejscu wiążącym receptora, co miało na celu uzasadnienie różnic we właściwościach badanych modeli inhibitorów oksydazy otrzymanych na bazie jonów miedzi(II) i cynku(II).

2. Związki koordynacyjne kadmu

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaliczyła kadm do pierwszej grupy kancerogenów [2]. Natomiast Agencja ds. Rejestru Substancji Toksycznych i Chorób (ATSDR) przedstawiła listę substancji, które mogą powodować główne problemy zdrowotne wynikające z ich toksyczności i/lub długotrwałego na nie narażenia. Zgodnie z tą listą, rtęć, ołów i kadm są najbardziej toksycznymi metalami ciężkimi, które równocześnie wchodzi w skład najbardziej toksycznych substancji [3]. Toksyczność kadmu i jego związków przejawia się m.in. w [4,5]:

- i) demineralizacji kości (osteomalacja, osteoporoza),
- ii) zaburzeniach metabolizmu miedzi (choroba Wilsona) i cynku (zmiana struktury miejsca aktywnego enzymu),
- iii) niewydolności działania enzymu SOD (dysmutaza ponadtlenkowa) na skutek powstawania dużej ilości wolnych rodników pod wpływem obecnych w układzie jonów kadmu,
- iv) obniżeniu w organizmie poziomu naturalnych reduktorów, np. GSH,
- v) wzroście zachorowalności na raka.

Podane powyżej przykłady toksycznego działania kadmu wskazują jednocześnie na istotne interakcje pomiędzy pierwiastkiem toksycznym a tymi niezbędnymi biologicznie dla żywych organizmów typu: Cd-Ca, Cd-Cu, Cd-Zn. Badania prowadzone nad typem interakcji wskazują, że kadm może: i) współzawodniczyć z wapniem i żelazem o wykorzystanie kanałów do transportu przez błony komórkowe, ii) zastępować niektóre niezbędne metale w miejscach aktywnych enzymów, przez co następuje hamowanie pełnionych przez nie funkcji, iii) gromadzić się w wybranych organach doprowadzając do ich uszkodzenia. W tym kontekście interesującym było odkrycie istnienia enzymu CDAC (kadmowa anhidraza węglanowa), które potwierdziło, że kadm może wchodzić w interakcję modyfikującą z jonami cynku i katalizować odwracalną konwersję

dwutlenku węgla do jonów węglanowych. Proces taki stwierdzono w przypadku okrzemek morskich żyjących w środowisku z dużym deficytem jonów cynku [6].

Badania nad kadmem jako jodem centralnym w kompleksach, których wyniki zawarto w pracach stanowiących osiągnięcie naukowe wchodzące w zakres postępowania habilitacyjnego, miały głównie na celu:

- poszukiwanie metod syntezy efektywnych N-donorowych chelatorów do skompleksowania tego jonu [H2, H3],
- zbadanie czy otrzymane połączenia koordynacyjne kadmu można traktować jako potencjalne chemioterapeutyki oparte na innym jonie metalu niż platyna [H3],
- poszukiwanie związku między strukturą a cytotoksycznością i strukturą a właściwościami fotoluminescencyjnymi badanych kompleksów kadmu [H2, H3].

2.1. Synteza chelatowych kompleksów kadmu - metoda one pot otrzymywania ligandów skorpionowych i ich kompleksów

Mając na uwadze poruszone we wstępie problemy związane z długotrwałymi skutkami działania jonów kadmu w organizmie, poszukiwanie skutecznych chelatorów w celu usunięcia jonów toksycznych, stanowi nadal wyzwanie badawcze. Naturalne mechanizmy obronne organizmu w postaci metalotionein są niewystarczające w przypadku ciężkich zatruć, dlatego wśród powszechnie stosowanych w medycynie związków chelatujących wymienić można: dimerkaptol, dietyloditiokarbaminian sodu, a ostatnio kwas dimerkaptobursztynowy [7,8]. Należy nadmienić, że wymienione proleki wywołują szereg skutków ubocznych. Zatem ciągle ważnym aspektem chemii koordynacyjnej kadmu są badania nad poszukiwaniem selektywnych chelatorów tego jonu. W swoich badaniach skupiłam się na poszukiwaniu chelatorów kadmu opartych na N-donorowych ligandach polidentnych [H2, H3]. Realizacja postawionego celu wymagała dokonania wyboru odpowiedniej, efektywnej metody syntezy zarówno ligandów jak i kompleksów kadmu.

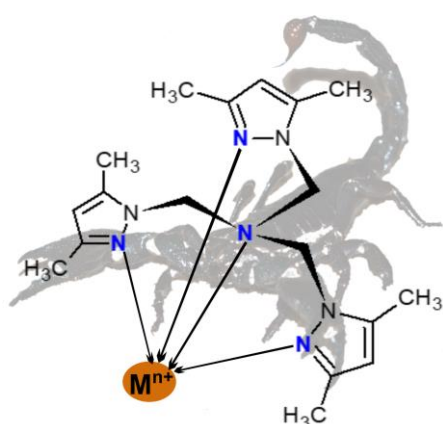
Wybór metody wynikał z krytycznego przeglądu literaturowego stosowanych powszechnie metod preparatywnych, wśród których można wyróżnić techniki tzw. konwencjonalne (m.in. reakcje prowadzone w roztworze jednoskładnikowym, na zasadzie dyfuzji roztworów czy ucierania w moździerzu), jak i niekonwencjonalne (technika Schlenka, metoda hydrotermalna/solwotermalna). Współcześnie coraz częściej stosowane są metody syntezy oparte na samoorganizacji bloków budulcowych, metodach elektrochemicznych, ogrzewania mikrofalowego czy w układach dwufazowych rozpuszczalników. Ten kierunek poszukiwań rozwinął się w związku z powszechnie przyjętymi normami ochrony środowiska. Zaczęto poszukiwać metod syntezy bardziej tzw. zielonochemicznych z punktu widzenia utylizacji produktów ubocznych oraz kosztów otrzymania pożądanego produktu. Jedną z takich metod jest synteza bezpośrednia związków koordynacyjnych, „direct synthesis” (DS) wykorzystująca metodę one pot [9]. Stosując metodę one pot można skutecznie zminimalizować ilość odpadów chemicznych i czas potrzebny na realizację wieloetapowej syntezy z jednoczesnym ominięciem problemu oczyszczania produktów otrzymanych na poszczególnych etapach [10]. Procedura syntetyczna opiera się na samoorganizacji proligandów wprowadzonych do układu lub ligandów powstałych w wyniku transformacji, które następnie wchodzi w interakcję z jodem centralnym, tworząc pożądaną strukturę koordynacyjną. Źródłem jonów metali mogą być: sproszkowane metale, tlenki metali lub użyte w reakcji ich sole. Główną zaletą omawianej metody jest

wytwarzanie docelowych związków w tym samym naczyniu reakcyjnym oraz w łagodnych warunkach jednoetapowej syntezy.

W celu otrzymania związków, w których jon kadmu jest skompleksowany za pomocą polidentnych ligandów N-donorowych, opracowałam nowe procedury różnych syntez (**I-III**) przy wykorzystaniu metody one pot [**H2**, **H3**].

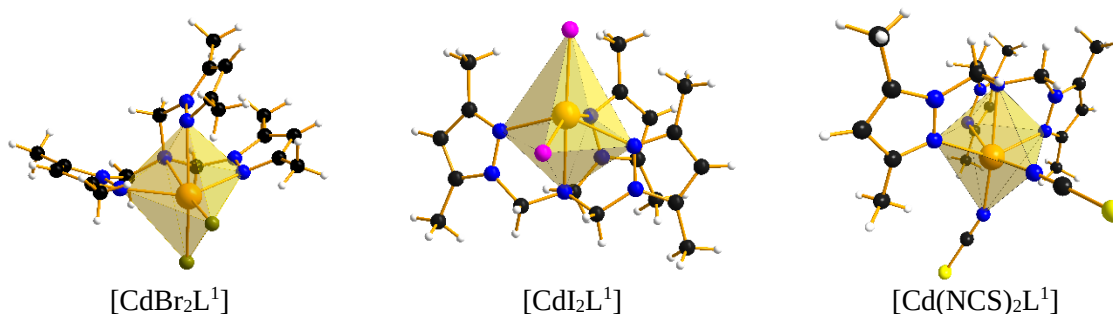
Procedura I – synteza kompleksów skorpionowych

Do skutecznych N-chelatorów należą tzw. ligandy skorpionowe. Klasyczne ligandy skorpionowe z centralnym atomem boru (Trofimenko [**11**]) są to bardzo efektywne wielodonorowe chelatory, które podobnie jak skorpion, chwytają kation metalu poprzez donorowe atomy azotu trzech pierścieni pirazolowych. Nowa generacja tego typu związków zawiera w swojej budowie zamiast atomu boru atom azotu, siarki, węgla itp. (**Rys. 3**).



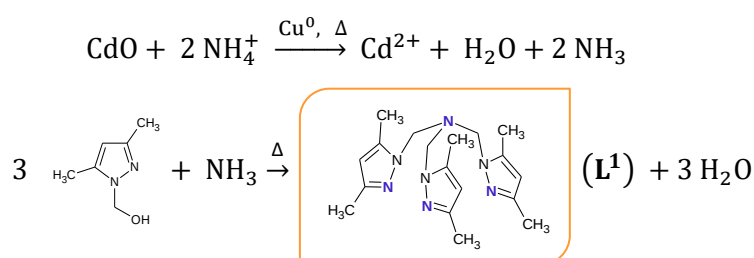
Rys. 3. Model koordynacji liganda N-skorpionowego (**L¹**).

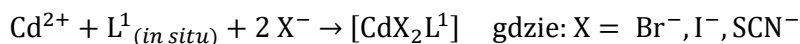
W wyniku licznych prób przeprowadzonych syntez opracowałam nową procedurę, w której przy użyciu 3,5-dimetylopirazol-1-metanolu (**L**), jako proliganda, metalicznej miedzi (katalizator), tlenku kadmu i odpowiednio bromku/jodku/tiocyanianu amonu oraz MeOH, jako rozpuszczalnika otrzymałam *in situ* (w reakcji kondensacji Mannicha [**12**]) nie tylko ligand skorpionowy (**L¹** = tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-yl)metyl]amina), ale również kompleks kadmu z tym ligandem. Zatem podczas opracowanej syntezy one pot jednocześnie zachodzi proces kompleksowania jonów kadmu przy użyciu powstałego *in situ* liganda skorpionowego. W wyniku prowadzonych przeze mnie syntez otrzymałam nowe, trwałe kompleksy kadmu: $[\text{CdBr}_2\text{L}^1]$, $[\text{CdI}_2\text{L}^1]$, $[\text{Cd}(\text{NCS})_2\text{L}^1]$ (**Rys. 4**).



Rys. 4. Struktury molekularne skorpionowych kompleksów kadmu. Kolory atomów: Cd - pomarańczowy, N - niebieski, S - żółty, I - różowy, Br - zielony, C - czarny, H - biały.

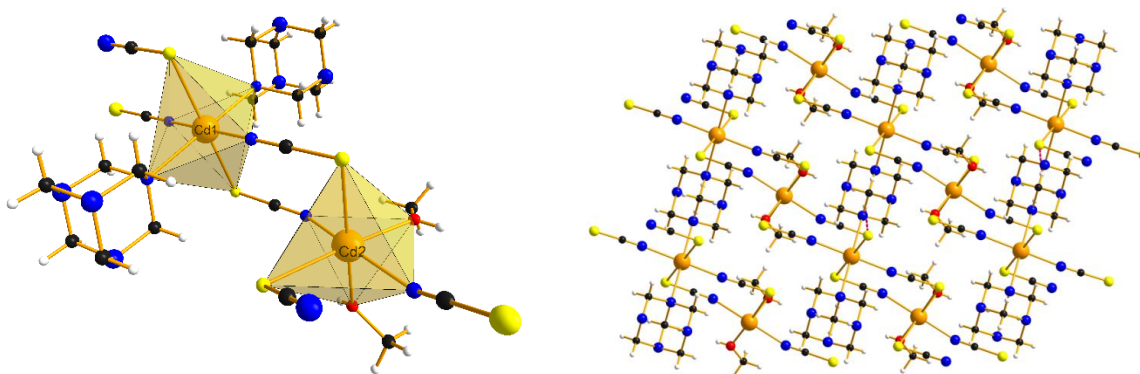
Ustaliłam, że w trakcie syntezy kompleksów kadmu metodą one pot zaszły *in situ* następujące reakcje:





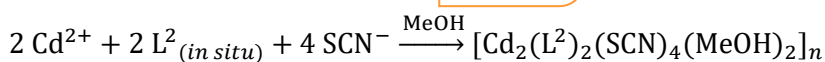
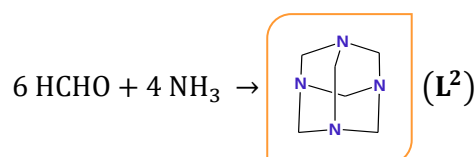
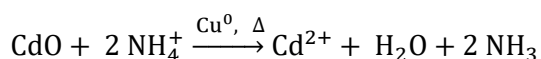
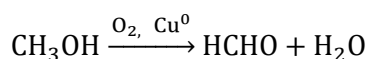
Procedura II – synteza kompleksu polimerycznego

Innego rodzaju polidentnym ligandem N-donorowym jest heksametylenotetramina (urotropina, L^2). Celem efektywnego skompleksowania kadmu za pomocą liganda (L^2) otrzymanego *in situ*, opracowałam nową procedurę syntezy one pot. W tym przypadku do syntezy użyłam: tlenku kadmu, tiocyjanianu amonu, metalicznej miedzi, która pełniła rolę katalizatora oraz MeOH, jako rozpuszczalnika. Badania X-ray na monokryształach wykazały, że otrzymany w trakcie syntezy kompleks kadmu jest polimerem $[\text{Cd}_2(\text{L}^2)_2(\text{SCN})_4(\text{MeOH})_2]_n$, w którym urotropina (L^2) obok jonów rodankowych, pełni rolę liganda mostkującego (Rys. 5).



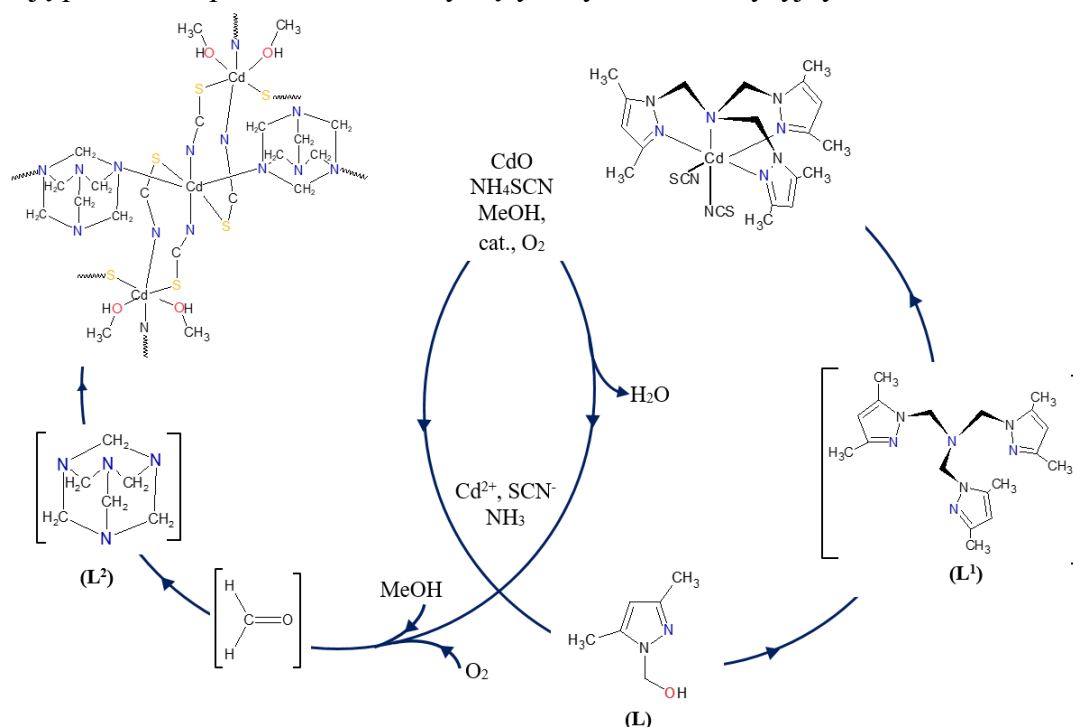
Rys. 5. Jednostka asymetryczna oraz struktura krystaliczna polimeru $[\text{Cd}_2(\text{L}^2)_2(\text{SCN})_4(\text{MeOH})_2]_n$. Kolory atomów: Cd - pomarańczowy, N - niebieski, O - czerwony, S - żółty, C - czarny, H - biały.

Stwierdziłam, że w trakcie syntezy powyższego polimeru metodą one pot zaszły *in situ* następujące reakcje:



Opracowane przeze mnie dwie nowe procedury syntezy kompleksów kadmu są efektywne, gdyż pozwalają ominąć wieloetapowe procesy syntezy kompleksów prowadzonych metodą tradycyjną (Rys. 6). Wieloetapowa synteza tradycyjna wyżej wymienionych kompleksów wymaga bowiem prowadzenia reakcji w atmosferze gazu inertnego z użyciem bezwodnych rozpuszczalników a tym samym zastosowania techniki Schlenka. Natomiast w opracowanej przeze mnie procedurze one pot cały proces syntezy kompleksu przebiega w jednym etapie, w jednym naczyniu, gdzie jednocześnie powstają ligandy: L^1 = tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-yl)metylo]amina, L^2 = heksametylenotetramina (urotropina), które następnie *in situ* koordynują do jonów centralnych i w końcowym etapie prowadzą do otrzymania wyżej omawianych kompleksów kadmu. Tym

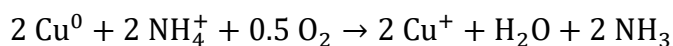
samym zyskuje się czas i oszczędza rozpuszczalniki niezbędne do oczyszczenia przez krystalizację produktów pośrednich towarzyszących syntezom tradycyjnym.



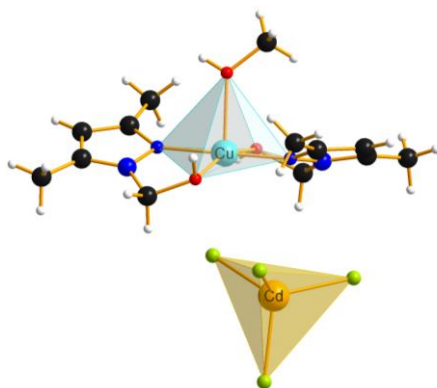
Rys. 6. Proponowany schemat syntezy kompleksów kadmu z ligandami N-donorowymi.

Procedura III – synteza heterojądrowego kompleksu kationowo-anionowego

Zdobyta wiedza podczas preparatyki powyższych kompleksów kadmu pozwoliła mi na opracowanie nowego typu procedury syntezy metodą one pot, ale tym razem kompleksów heterojądrowych. Należy nadmienić, że jako jeden z substratów niezbędnych do otrzymania wyżej opisanych kompleksów kadmu stosowana była metaliczna miedź w postaci proszku, która pełniła rolę katalizatora. Dodatkowo stwierdziłam, że obecność w środowisku reakcji silnych reduktorów w postaci jonów I^- , Br^- , SCN^- uniemożliwia utlenienie Cu^0 do Cu(II) , a jedynie do Cu(I) , co powodowało, że ostatecznym produktem reakcji kompleksowania były tylko związki kadmu:

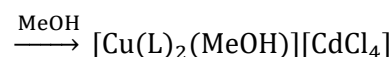
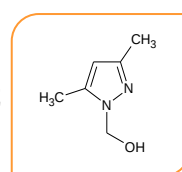
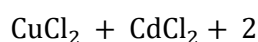
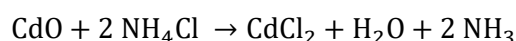
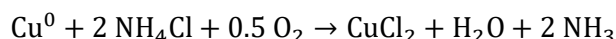


Dlatego też podjęłam próbę zbadania, jakie produkty powstaną w wyniku reakcji zachodzących *in situ* w środowisku zawierającym słabe reduktory, a mianowicie aniony chlorkowe. W tym celu, jako jeden z substratów wykorzystam chlorek amonu. Liczne próby syntez, które przeprowadziłam wykazały, że użycie chlorku amonu obok 3,5-dimetylopirazol-1-metanolu (L), tlenku kadmu, i metalicznej miedzi w roztworze metanolu prowadzi w rezultacie do otrzymania związku heterojądrowego (kationowo-anionowego) o wzorze $[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{MeOH})][\text{CdCl}_4]$ (Rys. 7).



Rys. 7. Struktura molekularna kompleksu $[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{MeOH})][\text{CdCl}_4]$. Kolory atomów: Cu - niebieski, Cd - pomarańczowy, N - niebieski, O - czerwony, Cl - zielony, C - czarny, H - białe.

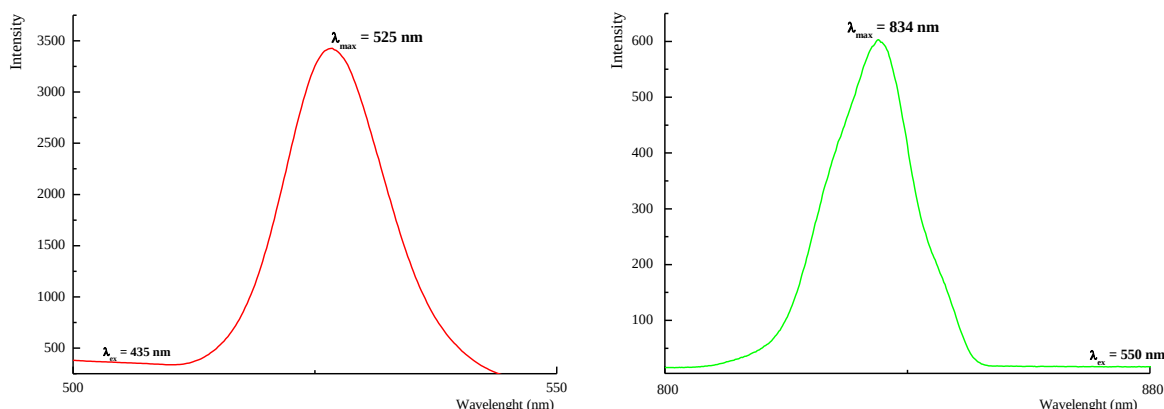
Anion chlorkowy wykazując słabsze właściwości redukujące umożliwił w środowisku reakcji utlenienie metalicznej miedzi do jonu $\text{Cu}(\text{II})$, który jako silny kwas Lewisa wszedł *in situ* w reakcję koordynacji z 3,5-dimetylopirazol-1-metanołem (**L**). Stwierdziłam, że procesy zachodzące w powyższej syntezie one pot można opisać następującymi równaniami reakcji:



Podsumowując, opracowane przeze mnie nowe procedury syntezy kompleksów z polidentnymi ligandami N-donorowymi poszerzyły znacznie wiedzę na temat możliwości prowadzenia preparatyki nowych związków kompleksowych, z uwzględnieniem zasad zielonej chemii.

2.2. Struktura a właściwości fotoluminescencyjne kompleksów kadmu

Otrzymane kompleksy kadmu zbadalam pod kątem właściwości fotoluminescencyjnych, ze względu na ich potencjalne zastosowanie w diodach emitujących światło (LED). Natomiast z biologicznego punktu widzenia związki tego typu mogą być wykorzystane jako sondy luminescencyjne. Stwierdziłam, że dwa z otrzymanych kompleksów $[\text{Cd}(\text{NCS})_2\text{L}^1]$ i $[\text{Cd}_2(\text{L}^2)_2(\text{SCN})_4(\text{MeOH})_2]_n$ wykazują zjawisko fotoluminescencji. Dla badanych związków zarejestrowałam widma fotoluminescencyjne w stanie stałym w temperaturze pokojowej. Pomarańczowy polimer o wzorze $[\text{Cd}_2(\text{L}^2)_2(\text{SCN})_4(\text{MeOH})_2]_n$ wykazywał zieloną emisję promieniowania z maksimum przy 525 nm (wzbudzenie 335 nm). Zielony monomer $[\text{Cd}(\text{NCS})_2\text{L}^1]$ wykazywał natomiast maksimum emisji przy 834 nm, co przypisuje się emisji w zakresie promieniowania czerwonego i bliskiej podczerwieni oraz przejściu LMCT (przejście elektronowe z przeniesieniem ładunku od liganda do metalu), co ilustruje Rysunek 8.



Rys. 8. Widma fotoluminescencji kompleksów: — $[\text{Cd}_2(\text{L}^2)_2(\text{SCN})_4(\text{MeOH})_2]_n$, — $[\text{Cd}(\text{NCS})_2\text{L}^1]$.

Powyższe kompleksy mogą być brane pod uwagę, jako potencjalne rdzenie przy syntezie kadmowych kropek kwantowych, gdyż zgodnie z danymi literaturowymi luminescencyjne związki kadmu umieszczone w osłonce z hydrofobowych ligandów mogą służyć znakowaniu struktur komórkowych [13].

2.3. Badania nad kompleksami kadmu, jako potencjalnymi cytostatykami

Mając na uwadze intensywnie prowadzone badania nad poszukiwaniem nowych, skutecznych chemioterapeutyków opartych na innych jonach metali, głównie ze względu na problem oporności nowotworów na leki platynowe, w pracy **H3** podjęto próbę zbadania aktywności cytotoksycznej *in vitro* otrzymanych kompleksów kadmu. Związki testowano (metoda MTT lub SRB) wobec wybranych linii komórek nowotworowych: A549 (komórki nowotworu płuc), K562 (komórki ludzkiej białaczki szpikowej), HT-29 (komórki nowotworu jelita grubego) oraz w stosunku do komórek prawidłowych BALB/3T3 (mysie fibroblasty, komórki z linii 3T3). Do oceny toksyczności, jako związki referencyjne użyto: cisplatynę, sole kadmu ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdBr}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) i tlenek kadmu. W badaniach stwierdzono, że chlorek kadmu ($\text{IC}_{50} = 1,98 - 3,19 \mu\text{g/ml}$) wykazuje najbardziej cytotoksyczny wpływ na wszystkie badane linie komórkowe, za wyjątkiem HT-29 (Tabela 1). Wyniki analiz cytotoksyczności pozwoliły na wyciągnięcie wniosku wskazującego na związek pomiędzy strukturą otrzymanych kompleksów a cytotoksycznością. Mianowicie, **izostrukturalne kompleksy** $[\text{CdBr}_2\text{L}^1]$, $[\text{CdI}_2\text{L}^1]$, $[\text{Cd}(\text{NCS})_2\text{L}^1]$ z ligandem skorpionowym tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-yl)metylo]aminą (L^1), wykazywały podobną cytotoksyczność (IC_{50} w zakresie od 21,92 do 30,70 $\mu\text{g/ml}$). Natomiast kompleks o strukturze polimerycznej $[\text{Cd}_2(\text{L}^2)_2(\text{SCN})_4(\text{MeOH})_2]_n$, który w swoim składzie nie zawierał ligandów N-skorpionowych, charakteryzował się najwyższą cytotoksycznością ($\text{IC}_{50} = 3,85 \mu\text{g/ml}$) wśród otrzymanych kompleksów względem komórek ludzkiej białaczki szpikowej (K562). Jednocześnie kompleksy skorpionowe kadmu wykazywały niższą aktywność cytotoksyczną w porównaniu z badanymi solami kadmu (Tabela 1). Porównanie cytotoksyczności wyżej wymienionych, izostrukturalnych związków kadmu z cisplatyną wykazało, że badane kompleksy były prawie 10 razy mniej cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych niż cisplatyna, ale jednocześnie badane związki kadmu są od 3,5 do 10 razy mniej toksyczne wobec komórek prawidłowych. Przeprowadzone badania wykazały jak ważne jest kontynuowanie badań z udziałem związków kadmu jako chemioterapeutyków, ze szczególnym akcentem na syntezę kompleksów, które będąc toksycznymi względem wybranych komórek nowotworowych, nie będą jednocześnie w tak wysokim stopniu szkodliwe dla komórek zdrowych.

Tabela 1. Aktywność cytotoksyczna wybranych związków kadmu i cisplatyny.

Związek	Linia komórkowa			
	$\text{IC}_{50} \pm \text{SD} [\mu\text{g/ml}]$			
	A549	HT-29	K562	BALB/3T3
$[\text{CdI}_2\text{L}^1]$	30,19±1,2	26,38±5,9	25,89±1,2	8,55±6,0
$[\text{CdBr}_2\text{L}^1]$	30,44±1,8	30,41±2,5	21,92±4,9	5,54±2,8
$[\text{Cd}(\text{NCS})_2\text{L}^1]$	27,49±4,7	30,70±2,0	25,31±8,9	6,88±3,4
$[\text{Cd}_2(\text{L}^2)_2(\text{SCN})_4(\text{MeOH})_2]_n$	19,62±7,8	30,86±1,7	3,85±1,2	2,74±0,5
$\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$	3,19±0,0	28,46±3,4	1,98±1,0	2,71±0,5
$\text{CdBr}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	13,67±10,3	31,69±0,4	3,08±0,2	2,95±0,4
CdO	26,93±4,0	32,14±0,9	11,41±7,2	1,37±1,0
cisplatyna	3,27±1,4	2,99±0,7	0,95±0,4	0,81±0,4

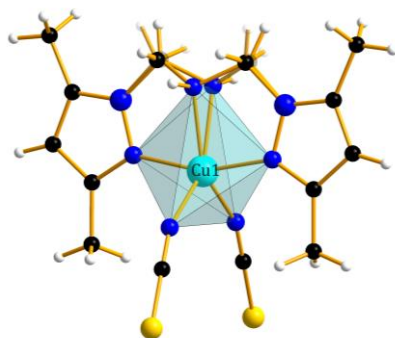
SD - odchylenie standardowe

3. Kompleksy miedzi i cynku z ligandami N-donorowymi, jako inhibitory oksydazy ksantynowej (XO)

Poszukiwanie nowych inhibitorów takiego enzymu jak oksydaza ksantynowa (XO) pozwoliło na rozszerzenie grupy badanych kompleksów z ligandami N-donorowymi o związki miedzi(II), cynku(II) i manganu(II) [H4]. Wysoki poziom oksydazy ksantynowej w organizmie jest odpowiedzialny za objawy dny moczanowej, wywołanej przez odkładający się w organizmie kwas moczowy. Głównym lekiem stosowanym w leczeniu dny jest allopurinol, jednak w wielu przypadkach wywołuje on skutki uboczne takie, jak: zapalenie wątroby, niewydolność nerek czy zespół Stevensa-Johnsona [14]. Niedawno w literaturze doniesiono o kilku niepurynowych inhibitorach ksantyny opartych na kompleksach metali przejściowych [15]. W związku z tym celem kolejnego projektu badawczego wchodzącego w skład prezentowanego osiągnięcia naukowego było opracowanie nowej procedury syntezy kompleksów miedzi(II), cynku(II) i manganu(II) z ligandami N-donorowymi, jako funkcjonalnych modeli inhibitorów oksydazy ksantynowej [H4]. W związku z powyższym opracowano nowe procedury (IV-VI) syntezy kompleksów metodą one pot.

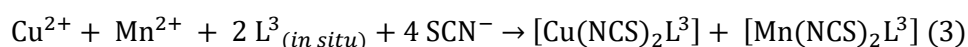
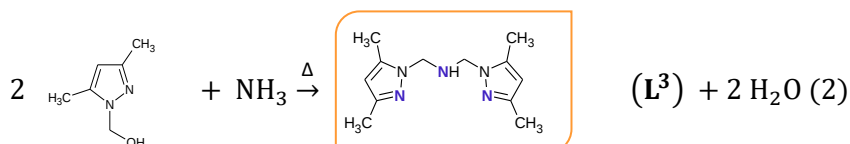
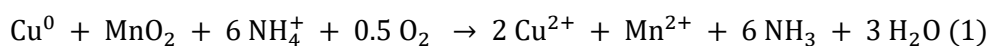
Procedura IV – synteza inhibitorów XO na bazie kompleksów miedzi(II) i manganu(II) z ligandami typu pincerowego (*ang. pincer ligands*)

Z mieszaniny reakcyjnej zawierającej 3,5-dimetylopirazol-1-metanol (**L**), jako proligand, sproszkowaną metaliczną miedź, tlenek manganu(IV) i tiocyjanian amonu oraz MeOH, jako rozpuszczalnik wyizolowano dwa rodzaje kryształów o różnej barwie.



Rys. 9. Struktura molekularna kompleksu [Cu(NCS)₂L³]. Kolory atomów: Cu - niebieski jasny, N - niebieski ciemny, S - żółty, C - czarny, H - biały.

Badania X-ray na monokryształach wykazały, że kryształy o barwie zielonej to kompleks miedzi [Cu(NCS)₂L³], natomiast jasnożółte to izostrukuralny kompleks manganu o wzorze [Mn(NCS)₂L³]. Zaproponowałam następujący cykl równań reakcji (1-3) zawierający poszczególne etapy syntezy *in situ* prowadzące do otrzymania powyższych produktów. Mianowicie, wydzielający się w reakcji (1) amoniak ulega kondensacji Mannicha z proligandem (**L**) tworząc *in situ* ligand nowego typu zwany z *ang.* pincer ligand (**L**³) (2), a w końcowym rezultacie kompleksy miedzi(II) i manganu(II) z tym ligandem (3):

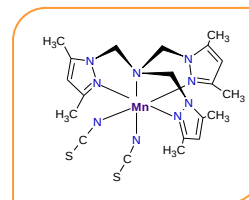
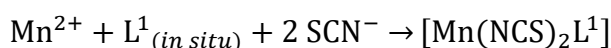
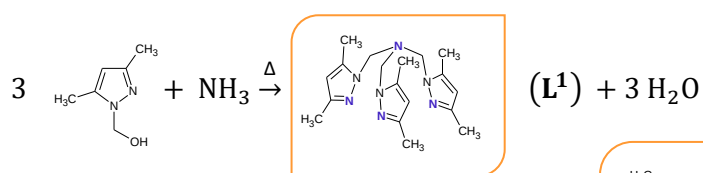


Ligand pincerowy **L**³ = bis(1-(3,5-dimetylopirazol-1-yl)metylo)amina koordynuje jon Cu(II) zgodnie z następującym modelem koordynacji κ³-N,N',N''. Tridentna koordynacja liganda **L**³ oraz dwa aniony SCN⁻ warunkują pięciokoordynacyjne otoczenie jonu miedzi(II) (Rys. 9). Analiza

danych krystalograficznych wskazała na wielościan koordynacyjny o kształcie zniekształconej piramidy kwadratowej ($\tau = 0,31$) (gdzie τ jest parametrem pozwalającym rozróżnić strukturę otoczenia jonu centralnego o liczbie koordynacyjnej 5 pomiędzy idealną piramidą kwadratową ($\tau = 0$) a idealną bipiramidą trygonalną ($\tau = 1$)).

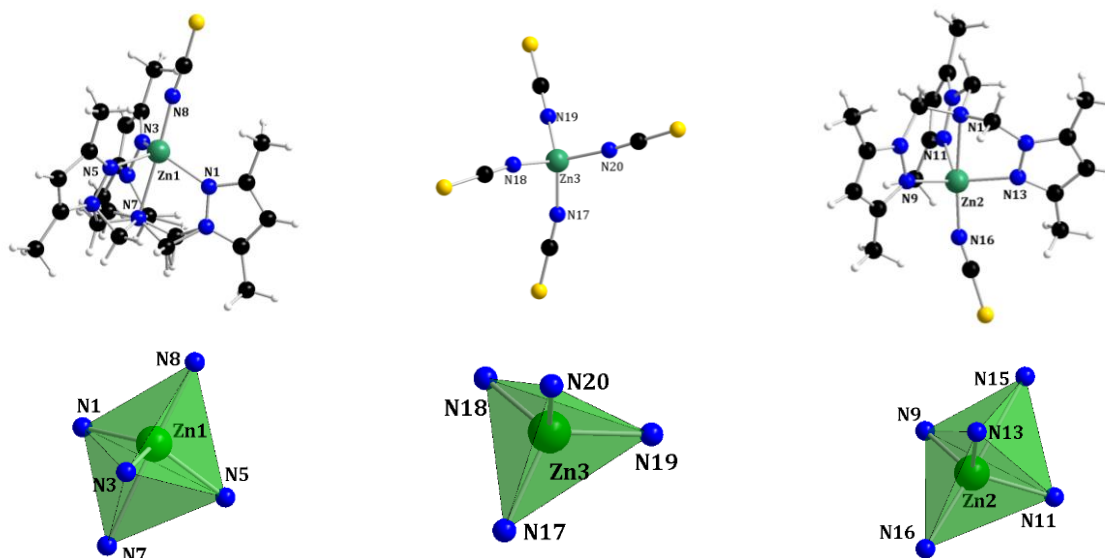
Procedura V – synteza inhibitorów XO na bazie kompleksów skorpionowych manganu(II)

Liczne próby dowiodły, że użycie jako źródła jonów manganu tlenku manganu(II) zamiast tlenku manganu(IV) prowadzi do otrzymania klasycznego N-skorpionowego kompleksu. Procesy zachodzące w trakcie syntezy one pot można zilustrować za pomocą następujących równań reakcji:



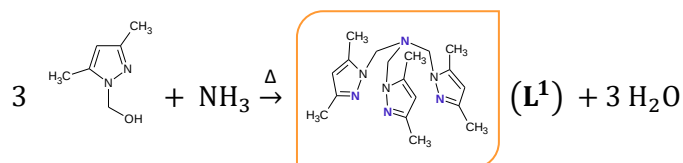
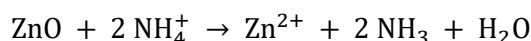
Procedura VI – synteza inhibitorów XO na bazie kompleksów skorpionowych cynku(II)

Opracowanie powyższych syntez pozwoliło mi na zaprojektowanie procedury otrzymania kompleksu kolejnego metalu, tym razem cynku z ligandem skorpionowym ($\text{L}^1 = \text{tris}[1-(3,5\text{-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]amina$). Wychodząc z mieszaniny następujących substratów: ZnO , NH_4SCN , proligand ($\text{L} = 3,5\text{-dimetylopirazol-1-metanol}$), Cu^0 (katalizator), gdzie użytym rozpuszczalnikiem był DMF, wyodrębniono jasnożółte kryształy. Analiza X-ray na monokryształach wykazała, że otrzymany związek jest kompleksem kationowo-anionowym o składzie $[\text{Zn}(\text{NCS})\text{L}^1]_2[\text{Zn}(\text{NCS})_4]$ (Rys. 10).



Rys. 10. Struktura molekularna i wielościany koordynacyjne kompleksu $[\text{Zn}(\text{NCS})\text{L}^1]_2[\text{Zn}(\text{NCS})_4]$.

Z analizy struktury przedstawionej na [Rysunku 10](#) wynika, że kompleks składa się z dwóch kationów zawierających ligandy skorpionowe ($[\text{Zn}(\text{NCS})\text{L}^1]^+$) i tetraedrycznego anionu, w którym ligandami są aniony rodankowe ($[\text{Zn}(\text{NCS})_4]^{2-}$). W kationach ligand skorpionowy L^1 koordynuje jon cynku zgodnie z następującym modelem koordynacji $\kappa^4\text{-N}, \text{N}', \text{N}'', \text{N}'''$. Dwa kationowe centra cynku nieznacznie różnią się krystalograficznie. Bezpośrednie otoczenie jonów centralnych przyjmuje geometrię bipiramidy trygonalnej ($\tau = 1,03$ i $1,02$). Zaproponowałam następujący cykl równań reakcji opisujący poszczególne etapy syntezy *in situ* prowadzące do wyizolowanego produktu:

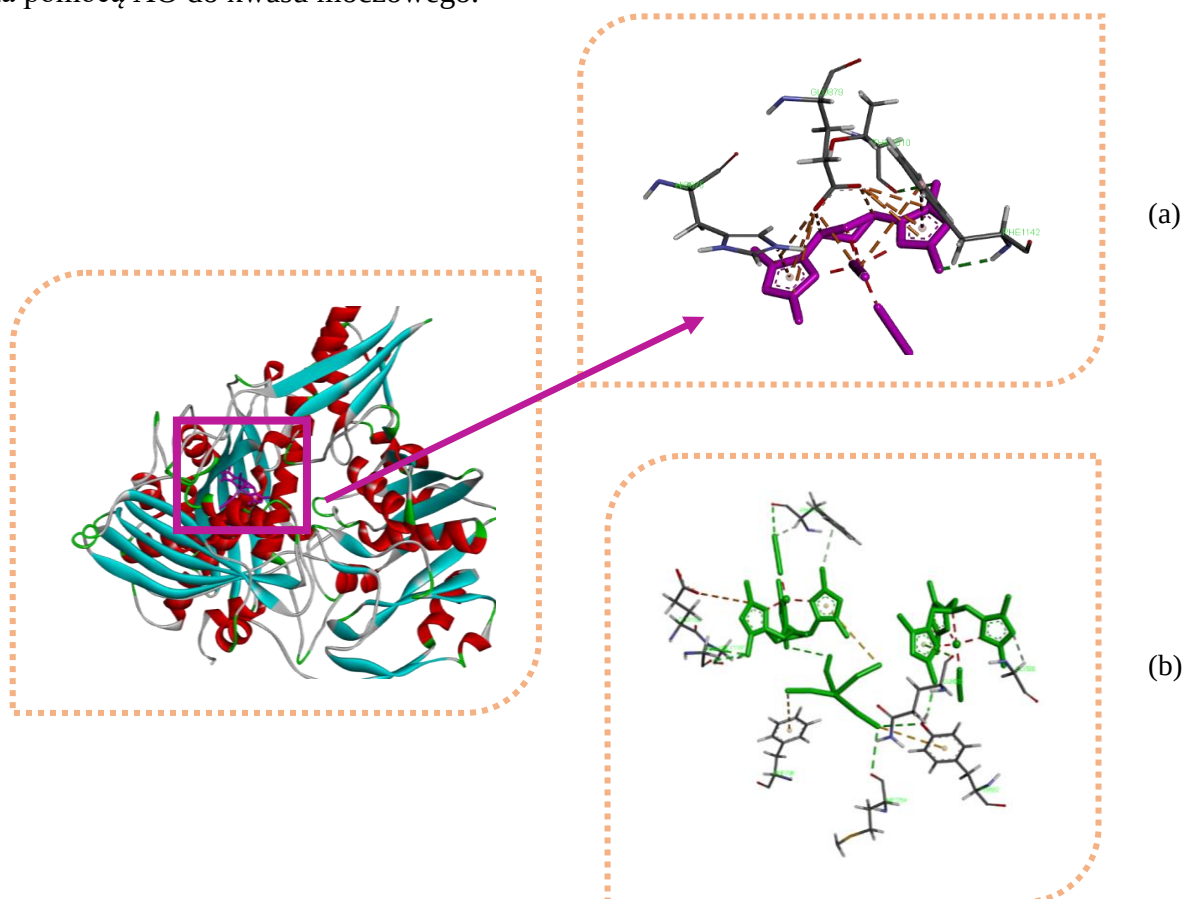


Przeprowadzone reakcje potwierdziły, że w zależności od składu mieszaniny reakcyjnej i stopnia utlenienia jonu w tlenku manganu (Mn(IV) lub Mn(II)) otrzymano odpowiednio pięciokoordynacyjny kompleks manganu(II) z ligandem pincerowym lub sześciokoordynacyjny kompleks manganu(II) z ligandem N-skorpionowym. Niestety dla związków manganu nie udało się uzyskać odpowiedniej jakości monokryształów do badań X-ray a skład i budowę związków $[\text{Mn}(\text{NCS})_2\text{L}^1]$, $[\text{Mn}(\text{NCS})_2\text{L}^3]$ określono na podstawie analizy elementarnej oraz spektroskopowej analizy porównawczej z izostrukтурalnymi związkami miedzi i kadmu. Pomiar momentu magnetycznego oraz widma EPR sproszkowanych próbek związków manganu potwierdził +II stopień utlenienia jonu centralnego.

Analizując omawiane związki na poziomie struktury krystalicznej, stwierdziłam występowanie szeregu oddziaływań wewnątrz- i międzycząsteczkowych typu $\text{C-H}\cdots\text{S}$, $\text{C-H}\cdots\pi$ oraz $\pi\cdots\pi$ stabilizujących strukturę. Obecność niekonwencjonalnych oddziaływań potwierdziłam i uzupełniłam o dane ilościowe za pomocą analizy powierzchni Hirshfelda, która wykazała większy udział międzycząsteczkowych oddziaływań $\text{C-H}\cdots\text{S}$ dla kompleksu $[\text{Zn}(\text{NCS})\text{L}^1]_2[\text{Zn}(\text{NCS})_4]$ a pozostałych dla kompleksu $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}^3]$.

Tak scharakteryzowane kompleksy $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}^3]$ i $[\text{Zn}(\text{NCS})\text{L}^1]_2[\text{Zn}(\text{NCS})_4]$ zostały poddane badaniom biologicznym jako modele inhibitorów oksydazy ksantynowej. Aktywność inhibicyjną badanych związków ustaliłam metodą spektrofotometryczną monitorując tworzenie się kwasu moczowego w obecności kompleksów metali podczas transformacji ksantyny pod wpływem oksydazy ksantynowej w czasie. Analiza krzywych typu dawka-odpowiedź oraz Lineweavera-Burka pozwoliła na obliczenie wartości IC_{50} (oraz K_i , która oznacza stałą dysocjacji układu enzym-substrat-inhibitor), które wynosiły odpowiednio dla kompleksu miedzi $\text{IC}_{50} = 118,22 \mu\text{M}$ ($K_i = 0,017 \mu\text{M}$) a dla kompleksu cynku $\text{IC}_{50} = 262,32 \mu\text{M}$ ($K_i = 0,026 \mu\text{M}$) oraz ustalenie mieszanego mechanizmu inhibicji. Biorąc pod uwagę wartość $\text{IC}_{50} = 17 \mu\text{M}$ dla substancji odniesienia jaką był allopurinol, analizowane związki charakteryzowały się znacznie mniejszą aktywnością. Poszukując przyczyn słabszej aktywności inhibicyjnej kompleksu cynku w stosunku do kompleksu miedzi przeprowadziłam dokowanie molekularne wykorzystując dostępne w bazie PDB białko o kodzie 1FIQ (xanthine oxidase from bovine milk). Przeprowadzone obliczenia wykazały, że z kompleksem $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}^3]$ w centrum aktywnym oksydazy ksantynowej oddziałują następujące aminokwasy: His876, Glu879, Thr1010 i Phe1142 ([Rys.](#)

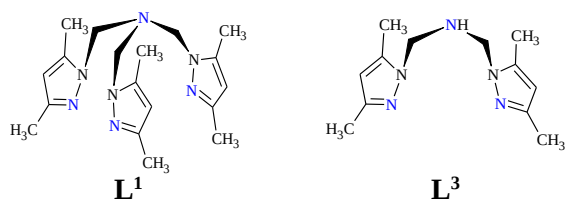
11). Związek miedzi znajdując się w pobliżu aromatycznej reszty Phe1142 oddziałuje z pierścieniem aromatycznym i tworzy słabe oddziaływania typu C-H...O z Thr1010. Natomiast w przypadku kompleksu cynku, który zawiera w sferze koordynacyjnej duży objętościowo, tetradentny ligand skorpionowy (L^1), analiza wykazała, że na skutek znacznie większej zawady sterycznej obserwuje się jedynie obecność słabych niekonwencjonalnych oddziaływań typu C-H...S, O-H...S oraz oddziaływań elektrostatycznych z aminokwasami: glicyną (Gly), kwasem glutaminowym (Glu) oraz glutaminą (Gln). Wyniki przedstawionej analizy sugerują, że silniejsza inhibicja dla kompleksu $[Cu(NCS)_2L^1]$ może być przypisana bliższemu ułożeniu związku w kieszeni miejsca aktywnego XO, co uzasadnia bardziej efektywne blokowanie konwersji ksantyny za pomocą XO do kwasu moczowego.



Rys. 11. Obraz dokowania molekularnego w subdomenie XO najbardziej możliwego miejsca wiązania kompleksu (a) miedzi $[Cu(NCS)_2L^3]$, oraz (b) cynku $[Zn(NCS)L^1]_2[Zn(NCS)_4]$.

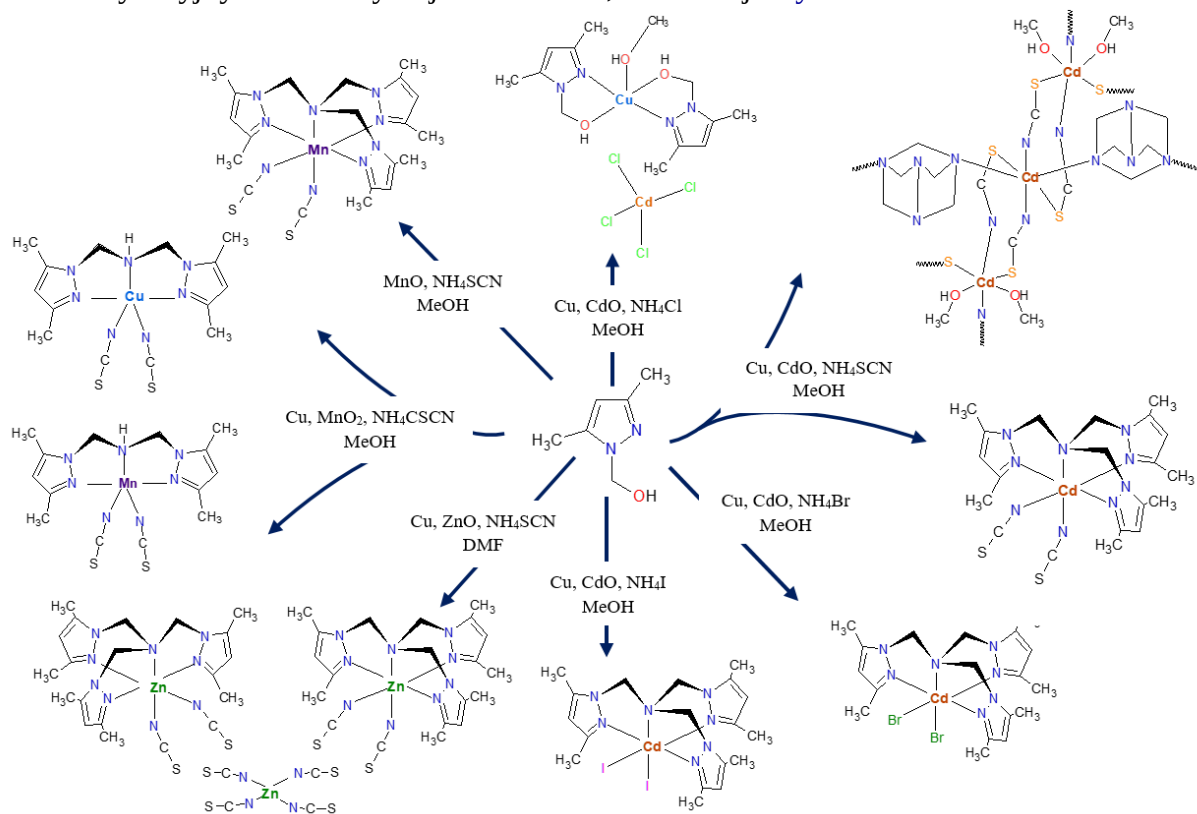
Podsumowując omówione wyniki opublikowanych prac [**H2-H4**], dotyczących syntezy oraz charakterystyki fizykochemicznej nowych związków koordynacyjnych m.in. kadmu, miedzi i cynku, za najważniejsze osiągnięcia należy uznać:

- opracowanie sześciu nowych procedur syntezy metodą one pot, które pozwoliły na otrzymanie *in situ* skorpionowych (L^1) lub pincerowych (L^3) ligandów N-donorowych (Rys. 12), skutecznie chelatujących jony Cd(II), Cu(II), Mn(II) i Zn(II),



Rys. 12. Ligandy N-donorowe otrzymane *in situ*: **L¹** = tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]amina i **L³** = bis[1-(3,5-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]amina.

- wyizolowanie z układów reakcyjnych na drodze syntez one pot 9 nowych połączeń koordynacyjnych z badanymi jonami metali, co ilustruje Rysunek 13:



Rys. 13. Schemat przedstawiający związki koordynacyjne otrzymane *in situ* metodą one pot [H2-H4].

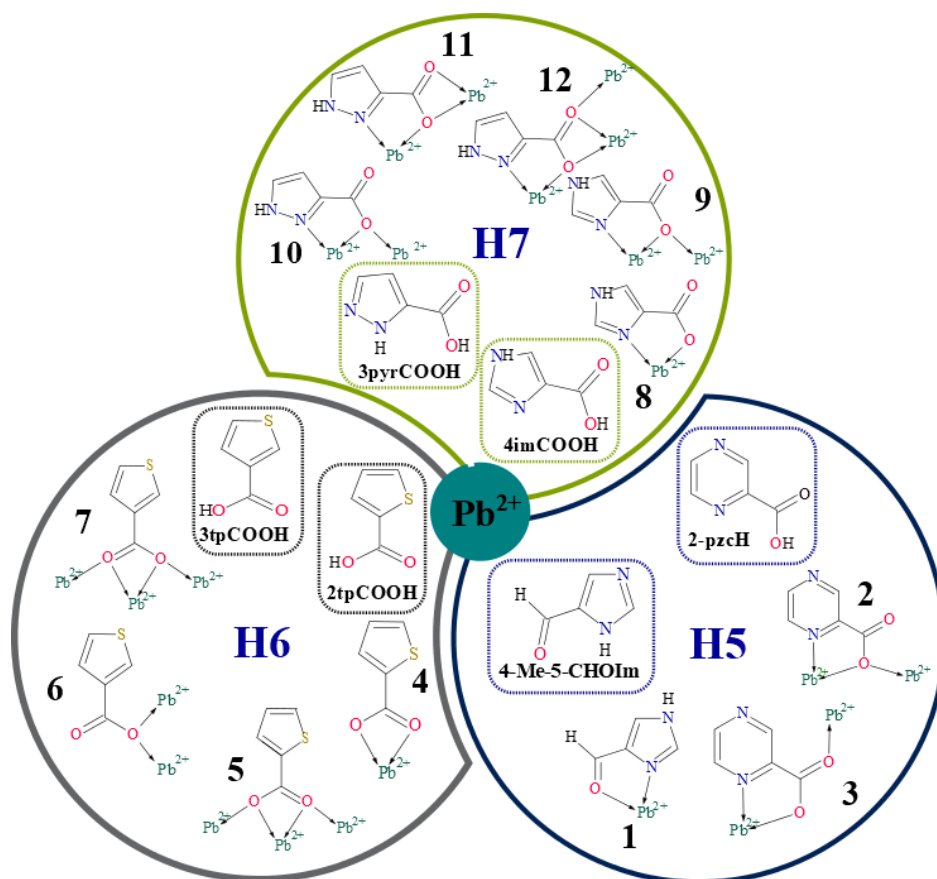
- ustalenie zależności pomiędzy strukturą a cytotoksycznością *in vitro* oraz strukturą i właściwościami fluorescencyjnymi badanych związków kadmu oraz wskazanie na potencjalne możliwości aplikacyjne,
- wykazanie, że otrzymane *in situ* kompleksy miedzi(II) i cynku(II) z polidentnymi N-donorowymi ligandami mogą zostać wykorzystane jako substancje hamujące działanie oksydazy ksantynowej odpowiedzialnej za transformację produktów rozkładu białka do kwasu moczowego. Różnice we właściwościach inhibicyjnych kompleksów potwierdziłam metodą teoretyczną dokowania molekularnego.
- opatentowanie nowej procedury syntezy kompleksów kadmu z ligandami skorpionowymi (**PL393842**), pozwalającej na przeprowadzenie syntezy metodą one pot w jednym etapie, w jednym naczyniu, gdzie jednocześnie tworzy się ligand **L¹** = tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]amina, który następnie *in situ* koordynuje do jonów kadmu(II) co w końcowym etapie prowadzi do otrzymania kompleksu kadmu [CdI₂L¹]. Opatentowana preparatyka pozwala na zaoszczędzenie czasu i rozpuszczalników niezbędnych do oczyszczenia przez krystalizację produktów pośrednich towarzyszących syntezom tradycyjnym.

4. Połączenia koordynacyjne ołowiu(II)

Kolejnym trującym metalem, który obok kadmu znalazł się na liście ATSDR, jest ołów. Po wycofaniu tetraetylołowiu jako dodatku do benzyn, głównym antropogenicznym źródłem tego metalu są: baterie, stopy metali, szkła, materiały ceramiczne i osłony radiacyjne, a także niektóre pigmenty i dodatki do farb. Skutkiem tego jest występowanie jonów ołowiu w wodzie przesyłanej rurami domieszkowanymi ołowiem, w pyłe pochodzącym z powierzchni pokrytych farbami na bazie ołowiu, a w związku z tym w powietrzu i żywności [16]. Ołów jest niebezpiecznym pierwiastkiem dla organizmu człowieka gdyż może zakłócić wiele procesów fizjologicznych przez wiązanie się z licznymi białkami i biocząsteczkami a nawet z DNA i RNA [17,18]. Podobnie jak w przypadku badań nad jonami kadmu istotnym zadaniem w mojej pracy było znalezienie właściwych chelatorów skutecznie wiążących trujące jony ołowiu.

4.1. Małocząsteczkowe chelatory toksycznych jonów ołowiu(II)

W celu skutecznego skompleksowania jonów ołowiu(II) wykorzystałam małocząsteczkowe chelatory, głównie karboksylany kwasów heteroaromatycznych. Dążyłam do otrzymania kompleksów ołowiu nie tylko o dużej trwałości, ale również rozpuszczalnych w wodzie, gdyż wiadomo, że tylko w takiej postaci jony ołowiu mogą być skutecznie usunięte z zatrutego organizmu. Wykorzystane do syntezy ligandy i ich modele koordynacji przedstawia poniższy Rys. 14.



Rys. 14. Zestawienie wzorów strukturalnych (1-12) użytych w syntezie ligandów wraz z sposobami koordynacji występującymi w otrzymanych związkach koordynacyjnych ołowiu(II).

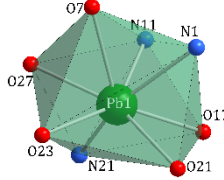
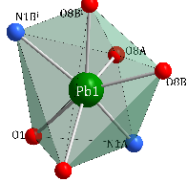
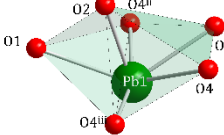
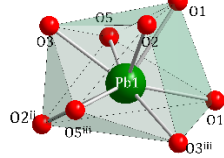
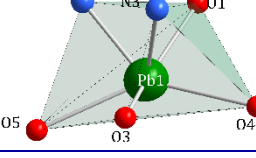
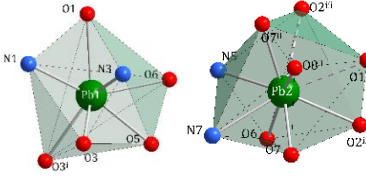
Jak widać na powyższym schemacie, obecność w budowie ligandów nie tylko grup karboksylanowych czy aldehydowych, ale również potencjalnych atomów donorowych azotu,

siarki pochodzących z pierścieni aromatycznych powoduje, że są to związki polidentne. Pełnią zatem funkcje ligandów:

- chelatujących: **4** (κ^2O, O'), **1** i **8** (κ^2N, O) [**H5**, **H6**],
- mostkujących: **6** ($\mu-\kappa O:\kappa O$) [**H6**],
- chelatująco-mostkujących: **2**, **9**, **10** ($\mu-\kappa^2N, O:\kappa O$), **3** ($\mu-\kappa^2N, O:\kappa O'$) [**H5**, **H7**],
- podwójnie chelatujących i mostkujących **11** ($\mu-\kappa^2N, O:\kappa^2O, O'$) [**H7**],
- chelatujących i potrójnie mostkujących: **5**, **7** ($\mu_3-\kappa O:\kappa^2O, O':\kappa O'$) [**H6**],
- podwójnie chelatujących i potrójnie mostkujących: **12** ($\mu_3-\kappa^2N, O:\kappa^2O, O':\kappa^2O'$) [**H7**].

Analizując struktury otrzymanych związków ołowiu(II) na poziomie struktury molekularnej stwierdziłam, że badane kompleksy ołowiu wykazują zróżnicowane liczby koordynacyjne (LK = 6-9), jak i zniekształcone struktury bezpośredniego otoczenia koordynacyjnego jonów centralnych. Zestawienie najważniejszych danych strukturalnych badanych kompleksów ołowiu(II) poglądowo przedstawia [Tabela 2](#).

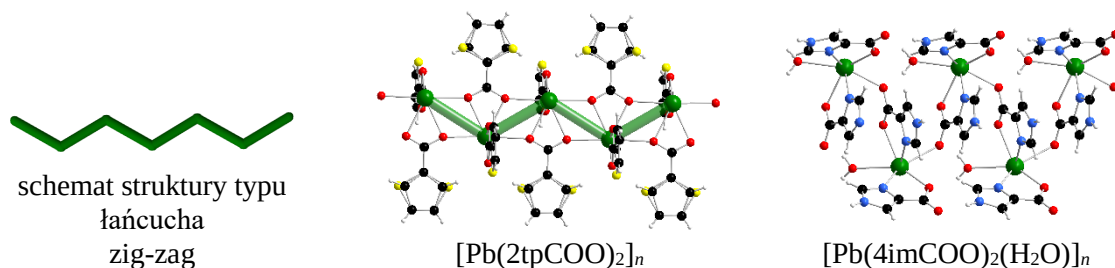
Tabela 2. Zestawienie wybranych parametrów bezpośredniego otoczenia koordynacyjnego jonów Pb(II).

Wzór związku	Chromofor (LK)	Wielościann koordynacyjny (grupa przestrzenna)
$[Pb_2(4-CHO-5-MeIm)_6(NO_3)_2](NO_3)_2$	$\{PbN_3O_5\}$ (8)	 pseudododekaedr ($P2_1/c$)
$[Pb(2-pzc)_2(H_2O)]_n$	$\{PbN_2O_5\}$ (7)	 pryzmat trygonalny z wierzchołkiem na ścianie ($P2_1/c$)
$[Pb(2tpCOO)_2]_n$	$\{PbO_6\}$ (6)	 piramida pentagonalna ($P2_1/m$)
$[Pb(3tpCOO)_2(H_2O)]_n$	$\{PbO_8\}$ (8)	 pseudododekaedr ($P2_1/c$)
$[Pb(4imCOO)_2(H_2O)]_n$	$\{PbN_2O_4\}$ (6)	 piramida pentagonalna ($P2_1/c$)
$[Pb_2(3pyrCOO)_4]_n$	$\{PbN_2O_5\}$ (7), $\{PbN_2O_7\}$ (9)	 piramida pentagonalna z wierzchołkiem na ścianie, pryzmat trygonalny z trzema wierzchołkami na ścianach ($P2_1/c$)

Okazało się, że bogate w atomy donorowe ligandy pozwoliły na otrzymanie z jonami ołowiu metaloorganicznych polimerów koordynacyjnych (MOCs) o bardzo interesujących i różnorodnych strukturach i topologiach. Należy nadmienić, że badania nad syntezą polimerów koordynacyjnych opartych na jonach ołowiu cieszą się coraz większym zainteresowaniem ze względu na potencjalne ich wykorzystanie, jako materiały luminescencyjne, wymiennicze jonowe czy materiały optyczne.

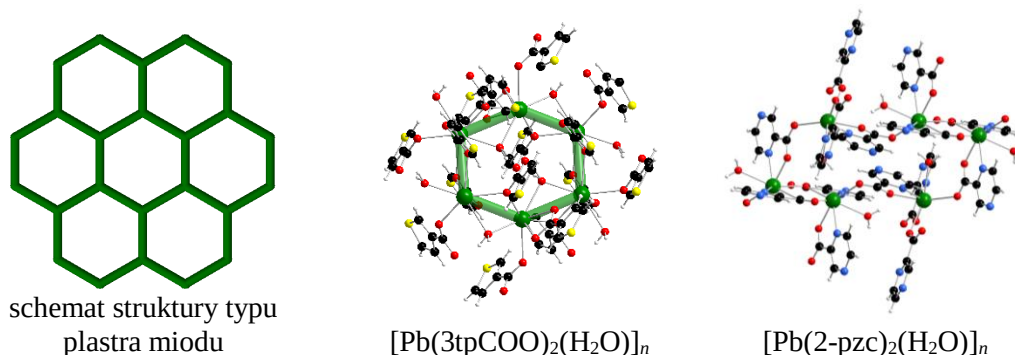
Wśród otrzymanych polimerów koordynacyjnych wyróżniamy:

- jednowymiarowe (1D) łańcuchy typu zig-zag (Rys. 15): $[\text{Pb}(\text{2tpCOO})_2]_n$ [H6], $[\text{Pb}(\text{4imCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ [H7],

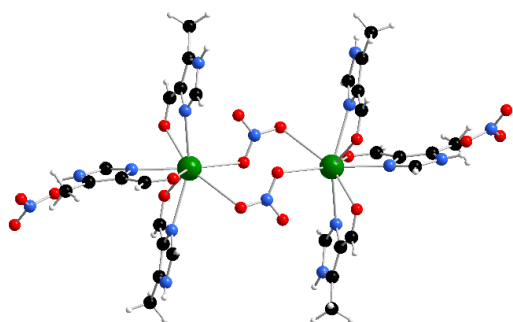


Rys. 15. Schemat struktury łańcucha typu zig-zag i fragmenty sieci koordynacyjnych otrzymanych polimerów ołowiu. Kolory atomów: Pb - zielony, N - niebieski, O - czerwony, S - żółty, C - czarny, H - biały.

- dwuwymiarowe (2D) np. typu plastra miodu lub pseudo plastra miodu (Rys. 16): $[\text{Pb}(\text{2-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ [H5], $[\text{Pb}(\text{3tpCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ [H6].



Rys. 16. Schemat struktury plastra miodu i fragmenty sieci koordynacyjnych otrzymanych polimerów ołowiu o strukturze typu plastra miodu. Kolory atomów: Pb - zielony, N - niebieski, O - czerwony, S - żółty, C - czarny, H - biały.



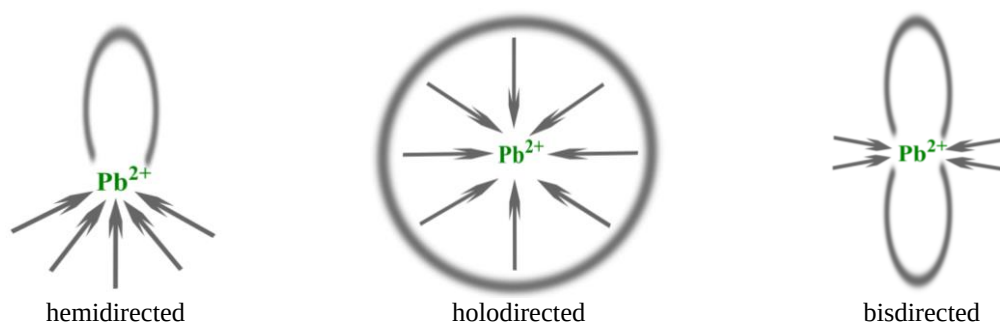
Rys. 17. Struktura molekularna dimeru $[\text{Pb}_2(\text{4-CHO-5-MeIm})_6(\text{NO}_3)_2](\text{NO}_3)_2$. Kolory atomów: Pb - zielony, N - niebieski, O - czerwony, C - czarny, H - biały.

Natomiast w reakcji $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ z 4-metylo-5-karbaldehydoimidazolem otrzymałam połączenie koordynacyjne o budowie dimeru i wzorze $[\text{Pb}_2(\text{4-CHO-5-MeIm})_6(\text{NO}_3)_2](\text{NO}_3)_2$ (Rys. 17). Dwa kationy $[\text{Pb}(\text{4-CHO-5-MeIm})_3(\text{NO}_3)]^+$ są połączone za pomocą dwóch mostkujących azotanów(V) ($\mu\text{-}\kappa^2\text{O}, \text{O}'$) tworząc dimer z centrum inwersji. Każdy jon ołowiu(II) jest skoordynowany przez trzy cząsteczki aldehydu, który łączy się na sposób chelatowy ($\kappa^2\text{N}, \text{O}$) za pomocą atomu azotu pierścienia imidazolowego i atomu tlenu grupy aldehydowej [H5].

Rozpatrując wyżej wymienione związki na poziomie struktur krystalicznych zaobserwowałam bogactwo wewnątrz- i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych ($\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$, $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$, $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$), oraz różnego typu oddziaływań, także niekonwencjonalnych, takich jak: $\text{C}-\text{H}\cdots\text{S}$, $\text{C}-\text{H}\cdots\pi$ i $\pi\cdots\pi$. Dodatkowo, dla każdego z omawianych polimerów koordynacyjnych przeprowadzono analizę powierzchni Hishfelda, która potwierdziła ilościowo obecność wyżej wymienionych oddziaływań w odpowiednich strukturach.

4.2. Badania nad wpływem wolnej pary elektronowej na strukturę kompleksów

Chemia koordynacyjna ołowiu(II) jest również interesująca ze względu na występowanie na atomie centralnym tzw. wolnej pary elektronowej ($6s^2$) wynikającej z konfiguracji elektronowej jonów ołowiu(II): $[\text{Xe}] 4f^{14}5d^{10}6s^2$. Wolna para elektronowa w istotny sposób wpływa zarówno na strukturę molekularną, jak i właściwości związków, np. luminescencję. Shimoni-Livny [19] analizując dane krystalograficzne z bazy CSD wykazał, że para może być aktywna stereochemicznie lub nieaktywna, co oznacza, że może wpływać na strukturę danego kompleksu lub też nie. Otoczenie koordynacyjne kompleksów, w których wolna para elektronowa $6s^2$ nie wpływa na długość wiązań Pb-ligand oraz nie zakłóca symetrycznego rozkładu ligandów nazwano **holodirected**, natomiast takie otoczenie jonu centralnego gdzie wolna para wpływa na geometrię kompleksu – **hemidirected** lub **bisdirected**, gdy ligandami są np. eter koronowy. W tym przypadku tylko część sfery koordynacyjnej wypełniają ligandy, natomiast pozostała przestrzeń stanowi tzw. lukę koordynacyjną (Rys. 18).



Rys. 18. Schematyczna reprezentacja możliwego otoczenia koordynacyjnego jonów Pb(II).

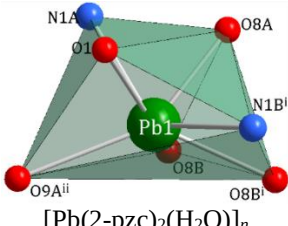
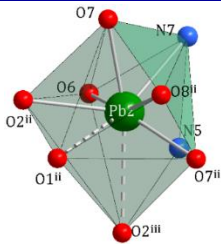
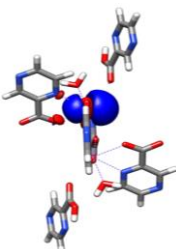
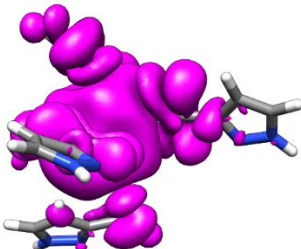
Shimoni-Livny [19] wykazał, że kompleksy o liczbie koordynacyjnej 2-5 zwykle przyjmują geometrię hemidirected, a o LK = 9-12 przeważnie są kompleksami o geometrii jonu centralnego typu holodirected. Natomiast w kompleksach, w których jon ołowiu(II) przyjmuje liczbę koordynacyjną tzw. pośrednią (6-8), zaobserwowano zarówno otoczenie jonu centralnego typu hemidirected, jak i holodirected.

Przeprowadzona przeze mnie analiza struktur otrzymanych kompleksów ołowiu(II) w ramach prezentowanego osiągnięcia naukowego pozwoliła na przedyskutowanie, a następnie ocenę czynników determinujących rodzaj aktywności wolnej pary elektronowej $6s^2$, co tym samym pozwoliło zakwalifikować uzyskane kompleksy do odpowiednich grup (holo- lub hemidirected). Wyniki zaprezentowane w pracach H5-H7 udowodniły, że wśród otrzymanych kompleksów Pb(II) znajdują się przedstawiciele obu wymienionych grup, przy czym w układach polimerycznych przeważają kompleksy typu hemidirected ($[\text{Pb}(\text{2tpCOO})_2]_n$ (LK = 6), $[\text{Pb}(\text{4imCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ (LK = 6), $[\text{Pb}(\text{2-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ (LK = 7), $[\text{Pb}_2(\text{4-CHO-5-MeIm})_6(\text{NO}_3)_2](\text{NO}_3)_2$ (LK = 8), $[\text{Pb}(\text{3tpCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ (LK = 8)). Należy zaznaczyć, że jednoznaczne określenie typu geometrii centrum koordynacyjnego w kompleksach ołowiu(II), w których występuje liczba koordynacyjna z zakresu 6-8 nastręcza spore trudności, dlatego w pracach posiłowano się badaniami teoretycznymi (DFT), które zostały wykonane przez dr

Oleksiya Khavryuchenko z Narodowej Akademii Medycznej Kształcenia Podyplomowego Shupyk na Ukrainie, natomiast interpretacja otrzymanych rezultatów została przeprowadzona przy moim udziale w Zakładzie Chemii Nieorganicznej UJK.

Występowanie zjawiska wpływu wolnej pary elektronowej jonu centralnego na strukturę zilustruję na przykładzie kompleksów: $[\text{Pb}(2\text{-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ (geometria hemidirected), $[\text{Pb}_2(3\text{pyrCOO})_4]_n$ (geometria holodirected, Pb2) (Tabela 3).

Tabela 3. Przykłady kompleksów hemi- i holodirected oraz czynników wpływających na typ geometrii.

hemidirected			holodirected		
					
[Pb(2-pzc)2(H2O)] _n			[Pb ₂ (3pyrCOO) ₄] _n		
LK = 7			LK = 9		
długość wiązań Pb-N [Å]					
Pb(1)-N(1A)	2,593(3)	Δ = 0,217	Pb(2)-N(5)	2,729(5)	Δ = 0,047
Pb(1)-N(1B) ^I	2,810(3)		Pb(2)-N(7)	2,776(7)	
wyniki obliczeń DFT					
		s - 8% p - 40%			s - 16,5% p - 35,7%

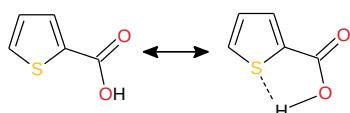
Geometria hemidirected została przypisana dla otoczenia koordynacyjnego jonu Pb(II) w kompleksie $[\text{Pb}(2\text{-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$, natomiast holodirected w kompleksie $[\text{Pb}_2(3\text{pyrCOO})_4]_n$, przy uwzględnieniu następujących czynników: wartość liczby koordynacyjnej, długość wiązań Pb-N, wynikający z obliczeń udział procentowy gęstości elektronowej na orbitalach s i p jonu centralnego. Stopień aktywności pary elektronowej $6s^2$ uwidacznia się w wielkościach długości wiązań Pb-L występujących w strukturze kompleksu, które nie uczestniczą w mostkach tworzących struktury polimerowe. Przedstawione w Tabeli 3 długości wiązań Pb-N w strukturze kompleksu $[\text{Pb}(2\text{-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$, są znacznie zróżnicowane ($\Delta = 0,217$ Å), co dowodzi geometrii hemidirected, natomiast w kompleksie $[\text{Pb}_2(3\text{pyrCOO})_4]_n$ wiązania są zbliżone co do długości ($\Delta = 0,047$ Å), co obrazuje symetryczny rozkład ligandów i tym samym geometrię holodirected. Ponadto głównym czynnikiem wpływającym na aktywność wolnej pary elektronowej jest typ orbitalu walencyjnego jonu ołowiu(II) (s lub p), na którym przeważa lokalizacja gęstości elektronowej wolnej pary. Wykonane obliczenia wykazały, że w kompleksie o geometrii holodirected, $[\text{Pb}_2(3\text{pyrCOO})_4]_n$, gęstość elektronowa wolnej pary w znacznie większym stopniu zlokalizowana jest na orbitalu s (16,5%) w porównaniu z związkiem o geometrii hemidirected, $[\text{Pb}(2\text{-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$, gdzie udział gęstości na orbitalu s jest o połowę mniejszy.

4.3. Badania nad wpływem struktury ligandów i struktury badanych kompleksów na właściwości fotoluminescencyjne

Oprócz opisanych powyżej badań nad poszukiwaniem skutecznych chelatorów jonów ołowiu(II) oraz badań nad wpływem wolnej pracy elektronowej na strukturę kompleksów przeprowadzono również badania właściwości fotoluminescencyjnych otrzymanych związków ołowiu [H5-H7]. Badania miały na celu ustalenie w oparciu o strukturę wyizolowanych kompleksów jak można modulować właściwości fotoluminescencyjne wprowadzając w sferę koordynacyjną ołowiu(II) różne ligandy. Interesującymi okazały się badania, których wyniki pozwoliły mi wyjaśnić jak niewielkie różnice w strukturze ligandów mogą wpływać na właściwości fotoluminescencyjne związków. W tym celu do badań wybrałam ligandy w formie izomerów i otrzymane przy ich udziale związki kompleksowe:

- (1) izomery podstawienia: kwas tiofeno-2-karboksylowy (2tpCOOH) i kwas tiofeno-3-karboksylowy (3tpCOOH) oraz polimery $[\text{Pb}(\text{2tpCOO})_2]_n$ i $[\text{Pb}(\text{3tpCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ [H6],
- (2) izomery strukturalne: pirazolo-3-karboksylowy (3pyrCOOH) i kwas imidazolo-4-karboksylowy (4imCOOH) oraz $[\text{Pb}_2(\text{3pyrCOO})_4]_n$, $[\text{Pb}(\text{4imCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ [H7].

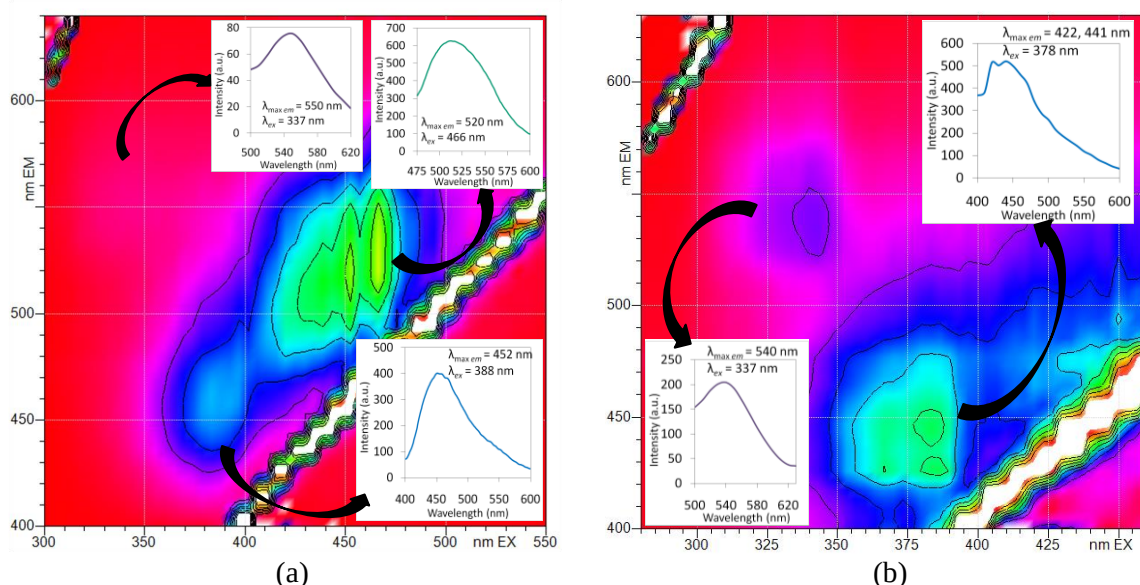
Badając zjawisko emisji promieniowania związków w grupie (1) zauważyłam, że w przeciwieństwie do bardzo słabej fluorescencji kwasu tiofeno-3-karboksylowego, kwas tiofeno-



Rys. 19. Wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w strukturze kwasu tiofeno-2-karboksylowego.

2-karboksylowy wykazuje dwa intensywne pasma emisji (438 i 492 nm). Okazało się, że kwas 2tpCOOH w odróżnieniu od kwasu 3tpCOOH ze względu na swoją budowę tworzy dodatkowo wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe ($\text{O}-\text{H}\cdots\text{S}$), warunkujące utworzenie pięcioczłonowego pierścienia, co zwiększa sztywność cząsteczki (Rys. 19). Ten fakt tłumaczy różnicę we

właściwościach fotoluminescencyjnych obu izomerów. Zarejestrowane widma zarówno 3D, jak i 2D (Rys. 20) wskazują na znacznie intensywniejszą luminescencję otrzymanych kompleksów $[\text{Pb}(\text{2tpCOO})_2]_n$ i $[\text{Pb}(\text{3tpCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ w porównaniu z ligandami [H6]. Wysoka intensywność fluorescencji związku $[\text{Pb}(\text{3tpCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ o strukturze plastra miodu wynika z planarności struktury i łatwiejszego transportu energii pomiędzy centrami metalu w stosunku do kompleksu $[\text{Pb}(\text{2tpCOO})_2]_n$ o strukturze łańcucha zig-zag.



Rys. 20. Widma fotoluminescencji w ciele stałym kompleksów: (a) $[\text{Pb}(\text{2tpCOO})_2]_n$ i (b) $[\text{Pb}(\text{3tpCOO})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$.

W widmach związków ołowiu(II) występowały trzy odrębne maksima emisji, które posilując się obliczeniami DFT przypisano odpowiednio: i) przeniesieniu ładunku z liganda do metalu (LMCT), ii) przejściom wewnątrz liganda $\pi \rightarrow \pi^*$ i/lub $n \rightarrow \pi^*$, iii) przejściu z udziałem wolnej pary w obrębie orbitali s i p atomu centralnego (MC).

Kontynuując badania nad właściwościami fotoluminescencyjnymi ligandów (4imCOOH i 3pyrCOOH) i otrzymanych przy ich udziale polimerów ołowiu(II) w grupie (2) zaobserwowałam, że najciekawsze właściwości fotoluminescencyjne wykazuje polimer $[\text{Pb}_2(3\text{pyrCOO})_4]_n$ [H7]. Wyniki badań dowodzą, że możliwa jest zmiana koloru emitowanego światła z niebieskiego na zielono-żółty poprzez zmianę długość fali wzbudzenia z ok. 270 do 350 nm. Różnorodność emitowanej barwy przypisano dwóm możliwym przejściom:

- i) dla pasma 449 nm z heteroaromatycznego liganda na jon Pb(II) (LMCT),
- ii) dla pasma o niższej energii (532 nm), mogącego wynikać z przeniesienia energii na centrum metaliczne ołowiu (MC) wykorzystując głównie orbitale walencyjne s i p (DFT).

Ciekawe właściwości otrzymanego polimeru $[\text{Pb}_2(3\text{pyrCOO})_4]_n$ sugerują kontynuację badań w kierunku zastosowania związku jako materiału optycznego typu LED.

Prowadzone przez mnie wstępne badania właściwości fotoluminescencyjnych otrzymanych kompleksów ołowiu(II) $[\text{Pb}_2(4\text{-CHO-5-MeIm})_6(\text{NO}_3)_2](\text{NO}_3)_2$ i $[\text{Pb}(2\text{-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ miały również na celu poszukiwanie nowych, lepszych materiałów typu luminofory. Zarejestrowane widma emisji promieniowania wykazały, że koordynacyjny polimer ze względu na prawdopodobną synergię efektów pochodzących od jonów ołowiu(II) oraz koordynującego liganda organicznego wykazuje wyższą emisję promieniowania. Pasma emisji z maksimum przy długości fali 638 nm ($[\text{Pb}(2\text{-pzc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$) przypisałam przejściom metal to ligand charge transfer (MLCT) [H5]. Natomiast porównanie widma liganda 4-CHO-5-MeIm oraz dimeru $[\text{Pb}_2(4\text{-CHO-5-MeIm})_6(\text{NO}_3)_2](\text{NO}_3)_2$ dowodzi, że proces koordynacji częściowo wygasza emisję promieniowania a tym samym dimer wykazuje słabsze właściwości luminescencyjne ($\lambda_{\text{max.}} = 574$ nm, MLCT).

Reasumując, w pracach H5-H7 przedstawiono pełną charakterystykę fizykochemiczną (CHNS, FTIR, PL, X-ray, DFT) dla otrzymanych sześciu nowych połączeń koordynacyjnych z jonami ołowiu(II). Ten materiał posłużył mi do badań nad chemią ołowiu w następujących kierunkach:

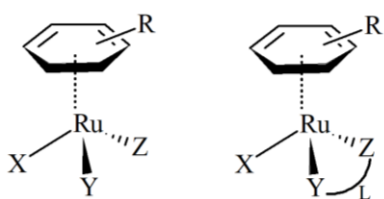
- poszukiwania małocząsteczkowych chelatorów skutecznie wiążących jony ołowiu. Otrzymano kompleksy ołowiu nie tylko o dużej trwałości termicznej (TG), ale również rozpuszczalne w wodzie, które w takiej postaci mogą skutecznie usuwać jony ołowiu z zatrutego organizmu.
- poszukiwania nowych, lepszych materiałów typu luminofory z myślą wykorzystania np. w czujnikach elektrochemicznych lub diodach LED. W tym celu starałam się ustalić jak można modulować właściwości fotoluminescencyjne kompleksów wprowadzając w sferę koordynacyjną ołowiu(II) różne ligandy. Zróżnicowanie emisji pomiędzy związkami przypisano różnym sposobom koordynacji izomerów, sztywności struktur krystalicznych oraz możliwości tworzenia układów sprzężonych poprzez oddziaływania $\pi \cdots \pi$ pomiędzy pierścieniami heteroaromatycznymi. Dodatkowo, w przypadku związku o najciekawszych właściwościach fotoluminescencyjnych stwierdziłam, że różnorodność emitowanej barwy może wynikać z przeniesienia energii wzbudzenia na centrum metaliczne (MC) przy zaangażowaniu orbitali walencyjnych s i p (DFT).
- zbadania wpływu wolnej pary elektronowej $6s^2$ jonu centralnego na strukturę a tym samym właściwości fotoluminescencyjne. W związku z powyższym w otrzymanych połączeniach

scharakteryzowano rodzaj aktywności wolnej pary elektronowej $6s^2$ i stwierdzono występowanie zarówno jonu ołowiu w otoczeniu o geometrii holodirected, jak i hemidirected, przy czym stwierdzono, że przeważa ta druga.

Pragnę zaznaczyć, że badania fotoluminescencji dla kompleksów $[Pb_2(4-CHO-5-MeIm)_6(NO_3)_2](NO_3)_2$, $[Pb(2-pzc)_2(H_2O)]_n$ [H5] zostały wykonane przy moim udziale w Instytucie Chemii Fizycznej PAN w Warszawie. Natomiast widma trójwymiarowe zamieszczone w pracach H6 i H7 zostały zarejestrowane przez Doktoranta Mateusza Kowalika podczas stażu odbytego w Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pod kierunkiem dr hab. Bogumiły Kupcewicz. Natomiast interpretacja otrzymanych rezultatów została przeprowadzona przy moim udziale w Zakładzie Chemii Nieorganicznej UJK.

5. Związek pomiędzy strukturą a właściwościami cytotoksycznymi na przykładzie kompleksów rutenu(II) i rodu(II)

Spśród toksycznych związków wykorzystywanych w chemioterapii cisplatyna jest pierwszym, który na tak szeroką skalę stosuje się w terapii antynowotworowej. To dzięki odkryciu Rosenberga [20] aktualnie stosowane w nowoczesnej chemioterapii leki [21] są głównie oparte na platynie, której działanie terapeutyczne wynika z możliwości tworzenia silnych wiązań kowalencyjnych z DNA. Oprócz pozytywnych efektów, jakie daje wykorzystanie leków platynowych w walce z chorobami nowotworowymi, współczesna medycyna notuje również wiele skutków ubocznych, związanych głównie z lekoopornością na cisplatynę. Problemy te ukierunkowały aktywność naukowców na poszukiwanie nowych, mniej toksycznych i niewywołujących efektu oporności chemioterapeutyków opartych na innych niż platyna jonach metali (np.: Ru, Au, Rh, Ir, Os, Cu, Cd). Należy nadmienić, że wyróżniającymi się pionierami w tych badaniach były grupy pod kierunkiem: Lipparda [22], Sadlera [23], Kepplera i Dysona [24], Reedijka [25] i Allesio [26]. Kompleksy rutenu(II)/(III) [27] stały się jedną z szerzej badanych alternatyw dla związków Pt(II) ze względu na: i) podobieństwo szybkości wymiany ligandów w roztworze wodnym - szybkość porównywalna do szybkości podziału komórki, ii) zdolność rutenu do zastępowania żelaza w połączeniach z białkami transportującymi, iii) niższą toksyczność związków rutenu *in vitro* wobec komórek zdrowych, iv) niskie potencjały redoks pozwalające w warunkach fizjologicznych na zmianę podstawowych stopni utlenienia, oraz v) prawdopodobnie odmienny mechanizm działania. W poszukiwaniu potencjalnych kandydatów



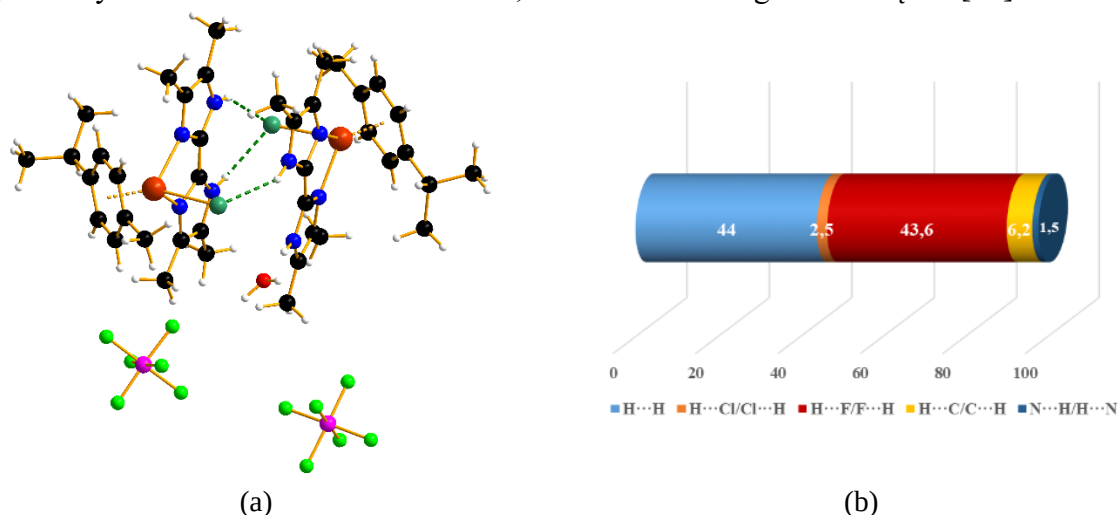
Rys. 21. Schematyczna reprezentacja budowy związków rutenu typu „stołek pianisty”.

na leki przeciwnowotworowe zsyntezowano wiele kompleksów rutenowych, spośród których obiecujące wyniki jakie otrzymano dla KP1019, NAMI-A i NKP1339 [24,28,29] spowodowały, że zostały one dopuszczone do badań klinicznych. Ten fakt zainspirował naukowców skupionych wokół Sadlera i Dysona [30,31] do badań nad związkami metaloorganicznymi rutenu(II) typu „stołek pianisty” (piano-stool) (Rys. 21).

Mając na uwadze aktualne doniesienia literaturowe dotyczące wykorzystania związków metaloorganicznych w chemioterapii moje badania głównie dotyczyły:

- poszukiwania potencjalnego chemioterapeutyku na bazie jonu rutenu(II) o niskiej toksyczności dla organizmu, czyli takiego, który selektywnie działa na komórki zdrowe i nowotworowe [H8],
- opracowania nowej, prostej syntezy potencjalnych chemioterapeutyków o strukturze dimerów na bazie jonów Ru(II) i Rh(II) [H9],
- poszukiwania zależności pomiędzy strukturą otrzymanych połączeń a aktywnością antynowotworową,
- próby określenia modelu oddziaływania otrzymanych związków z wybranymi biocząsteczkami (DNA, BSA).

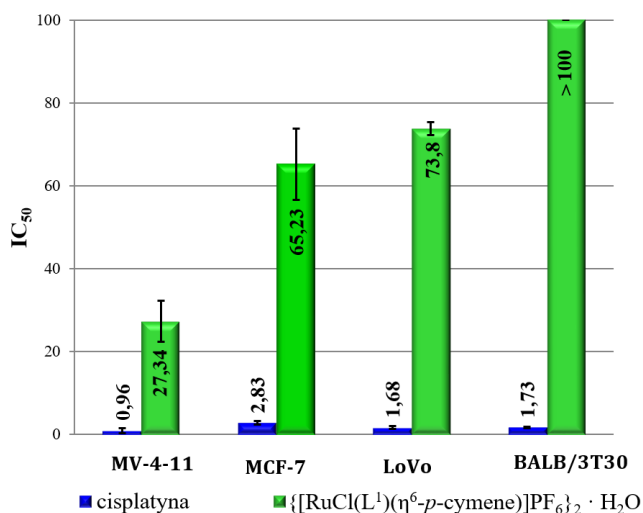
Poszukując potencjalnego chemioterapeutyku o niskiej toksyczności dla organizmu bazowałam na wcześniejszych wynikach badań prowadzonych w Zakładzie Chemii Nieorganicznej UJK nad organometalicznymi kompleksami rutenu(II) typu „stołek pianisty”. Modelowanie aktywności biologicznej tego typu kompleksu jest możliwe m.in. dzięki zmianom w obrębie liganda chelatującego, który wpływa na stabilność i kinetykę wymiany ligandów a nawet może modelować toksyczność względem komórek. Dlatego podczas syntezy nowego związku $\{[\text{RuCl}(\text{L}^1)(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})]\text{PF}_6\}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ użyłam obok prekursora $\{(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Ru}(\mu\text{-Cl})_2\text{Cl}_2\}$ jako liganda chelatowego - 2,2'-bis(4,5-dimetyloimidazol) (L^1). Otrzymany organometaliczny kompleks typu „stołek pianisty” o sumarycznym wzorze $[(\eta^6\text{-arene})\text{Ru}(\text{II})(\text{YZ})\text{X}]$ występuje w formie kationu, który składa się z liganda arenowego - *p*-cymenu (siedzisko), natomiast trzy nogi stołka stanowią: bidentny, N,N-donorowy 2,2'-bis(4,5-dimetyloimidazol) (L^1) oraz anion chlorkowy (Rys. 22). Przedstawiony powyżej kompleks rutenu(II) o sumarycznym wzorze $\{[\text{RuCl}(\text{L}^1)(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})]\text{PF}_6\}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ jest dimerem w wyniku obecności silnych wiązań wodorowych typu N-H $\cdots$ Cl. Fakt występowania oddziaływań niekowalencyjnych ma istotny wpływ nie tylko na właściwości strukturalne, ale również biologiczne związku [32].



Rys. 22. (a) Struktura molekularna kompleksu $\{[\text{RuCl}(\text{L}^1)(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})]\text{PF}_6\}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, (b) udział procentowy oddziaływań niekowalencyjnych w strukturze (HS). Kolory atomów: Ru - brązowy, N - niebieski, Cl - zielony ciemny, P - różowy, F - zielony jasny, C - czarny, H - biały.

Dlatego do szczegółowej interpretacji występujących oddziaływań wykorzystano analizę powierzchni Hirshfelda, która potwierdziła: i) obecność silnych wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami użytego liganda (N-H $\cdots$ Cl) oraz tych powstałych przy udziale wody krystalizacyjnej (N-H $\cdots$ O), ii) obecność szeregu oddziaływań pomiędzy pierścieniami aromatycznymi imidazolu typu $\pi\cdots\pi$ stacking oraz oddziaływań typu C-H $\cdots$ F z udziałem jonów PF_6^- , bilansujących ładunek kompleksu. Dodatkowo powstałe dimery łączą się za pomocą licznych wiązań C-H $\cdots$ F (PF_6^-)

tworząc kolejne jednostki tetramerów. Stwierdzono ponadto, że występowanie powyższych oddziaływań niekowalencyjnych warunkuje również stabilność kompleksu w roztworze, co jest istotne w przypadku badań biologicznych. Badania *in vitro* cytotoksyczności wykazały, że założony cel został zrealizowany, gdyż otrzymany związek nie jest toksyczny dla komórek zdrowych, natomiast w stosunku do badanych komórek nowotworowych (LoVo (gruczolak jelita

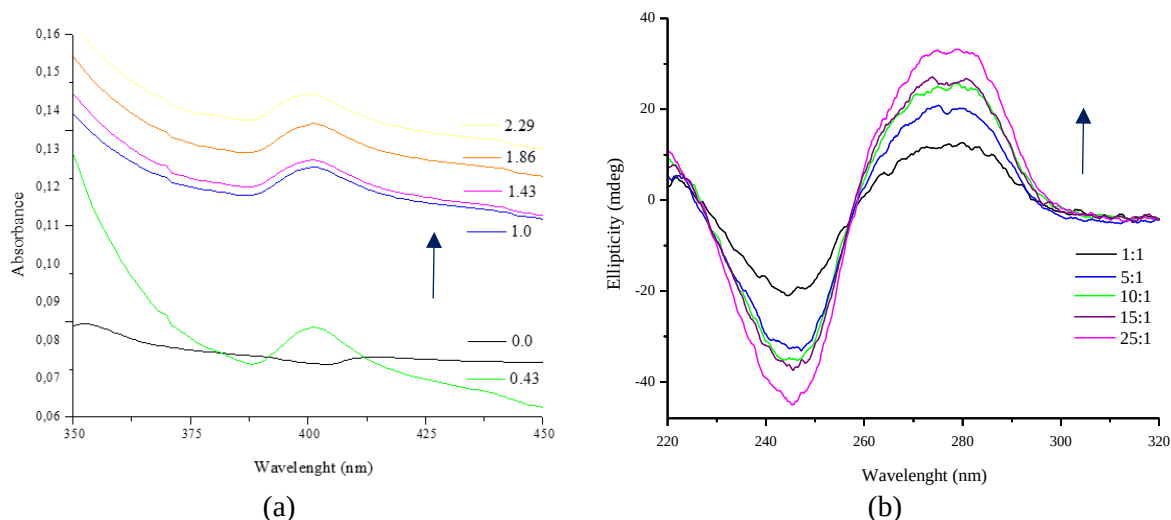


Rys. 23. Wykres stężeń badanego kompleksu i cisplatyny inhibitujących namnażanie komórek w 50% - IC₅₀ [μM].

grubego), MV-4-11 (białaczka mielomonocytoza), MCF-7 (gruczolak piersi)) wykazuje cytotoksyczność na średnim poziomie, przy czym najlepiej działa wobec komórek białaczki mielomonocytozowej (IC₅₀ = 27,34±4,95 μM) (Rys. 23). Należy podkreślić, że cisplatyna stosowana jako odnośnik w badaniach wykazała znacznie lepszą cytotoksyczność w stosunku do MV-4-11, ale jednocześnie jest związkiem silnie toksycznym dla komórek zdrowych (IC₅₀ = 1,73±0,23 μM).

Następnie, próbowałam ustalić podstawę cytotoksyczności, czyli prawdopodobny sposób oddziaływania z DNA. Techniki spektroskopowe stosowane

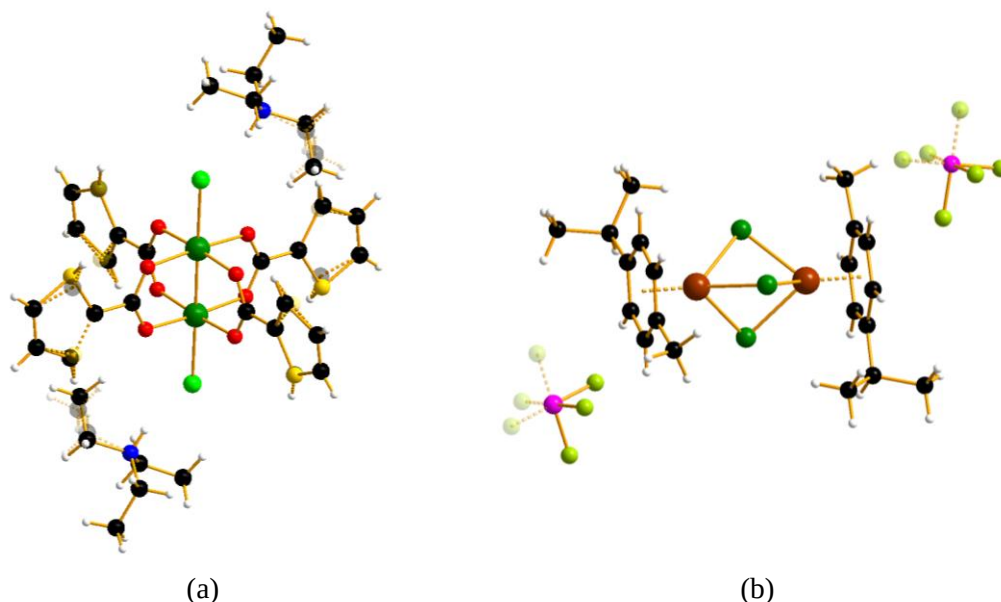
do tego celu pozwalają na określenie kowalencyjnego lub niekowalencyjnego modelu wiązania kompleks-DNA. Badania przeprowadziłam z wykorzystaniem metod UV-Vis i CD. Wyniki badań przedstawione na Rysunku 24 wskazują na występowanie zarówno w widmie UV-Vis (Rys. 24a) jak i CD (Rys. 24b) efektu hiperchromowego, któremu nie towarzyszą zmiany położenia maksimów. Taki obraz spektralny jest charakterystyczny dla niekowalencyjnego modelu wiązania kompleks-DNA. Prawdopodobnie związek oddziałuje na zasadzie elektrostatycznego przyciągania pomiędzy naładowanymi dodatnio fragmentami [RuCl(L¹)(η⁶-p-cymene)]⁺ i ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi kwasu DNA. Jednocześnie widma CD wskazują na brak zmian konformacyjnych DNA i potwierdzają stabilizację prawdopodobnie prawoskrętnej formy CT-DNA.



Rys. 24. (a) Widmo UV-Vis miareczkowania kompleksu [RuCl(L¹)(η⁶-p-cymene)]PF₆₂ · H₂O roztworem CT-DNA o zwiększającym się stężeniu, (b) widmo CD bez i w obecności kompleksu; strzałki pokazują kierunek zmian hiperchromowych w widmach.

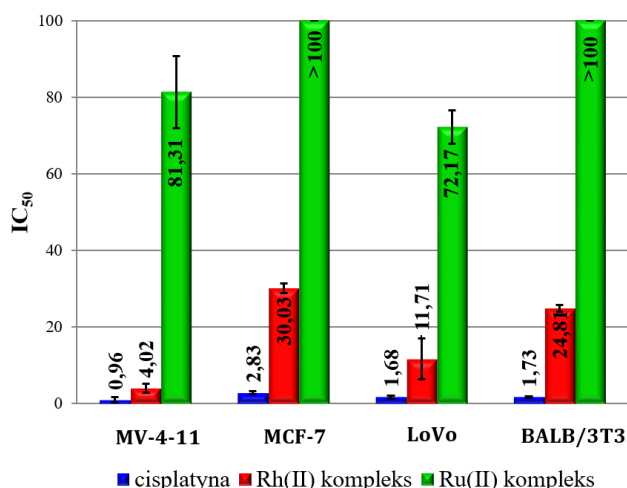
Kolejny aspekt badawczy w tym obszarze dotyczył otrzymania potencjalnych chemioterapeutyków rutenu(II) i rodu(II) o strukturze dimerów [H9]. Inspiracją do podjęcia tego typu badań były dane literaturowe na temat polirdzeniowych cytostatyków aktywnych w stosunku do nowotworów opornych na cisplatynę, które dzięki swojej budowie prawdopodobnie oddziałują na komórki nowotworowe według innego mechanizmu.

W wyniku licznych prób syntezowych opracowałam nową procedurę preparatyki dimerów rodu typu paddlewheel (Rys. 25a). Wykorzystując do syntezy prostą metodę samoskładania zastosowałam do redukcji RhCl_3 sproszkowany rod metaliczny. Dodatkowo, biorąc pod uwagę inertne właściwości jonów rodu zaplanowałam, że w reakcji kompleksowania wezmą udział karboksylany, jako bardziej efektywne ligandy. W celu odprotonowania kwasu tiofeno-2-karboksylowego (L) użyłam trietyloaminy. W ten sposób otrzymałam unikalny dimer Rh(II) typu paddlewheel w postaci anionu $[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]^{2-}$. Opisane dotychczas w literaturze metody syntezy tego typu związków wymagały zastosowania drastycznych warunków prowadzenia reakcji w atmosferze suchego azotu oraz użycia wymagającej techniki Schlenka.



Rys. 25. Struktura molekularna dimerów: (a) $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$, (b) $[(\eta^6\text{-p-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]\text{PF}_6$. Kolory atomów: Rh - zielony ciemny, Ru - brązowy, N - niebieski, Cl, F - zielony jasny, P - różowy, S - żółty, C - czarny, H - biały.

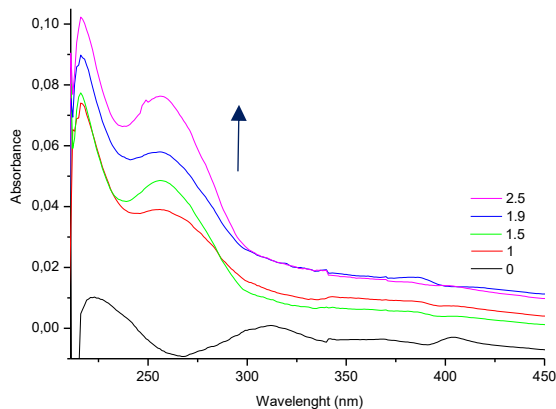
Struktura otrzymanego dimeru charakteryzuje się ułożeniem syn-syn grup karboksylanowych mostkujących jony rodu ($\mu\text{-}\kappa^2\text{O:O}$), co stwarza możliwość interakcji rod-rod, którą potwierdziły badania strukturalne (krótka odległość Rh-Rh 2,406 Å), obliczenia DFT dla zarejestrowanych widm UV-Vis oraz wartość pomiaru momentu magnetycznego ($\mu_{\text{eff}} = 0 \text{ MB}$). Co ciekawe związek okazał się mieć unikalną strukturę ze względu na: liniową geometrię Cl-Rh(1)-Rh(1')-Cl(1'), anionową postać $[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]^{2-}$ oraz szereg wiązań wodorowych, w które zaangażowane były sprotonowane kationy trietyloamoniowe (Et_3NH^+) usytuowane poza sferą koordynacyjną. Natomiast w przypadku rutenu, otrzymano dimer innego typu $[(\eta^6\text{-p-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]\text{PF}_6$ (Rys. 25b), gdyż w zaplanowanych warunkach reakcji nie nastąpiła koordynacja liganda organicznego (kwas tiofeno-2-karboksylowy, L) do jonu centralnego. W otrzymanym związku dwie części kationowe dimeru łączą się za pomocą trzech mostków chlorkowych. Otoczenie każdego z jonów rutenu przedstawia geometrię typu „stołek pianisty”, która może być uważana za



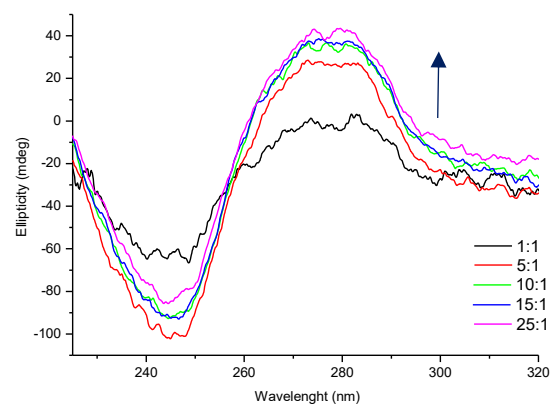
Rys. 26. Wykres stężeń badanych kompleksów i cisplatyny inhibitujących namnażanie komórek w 50% - IC_{50} [μM].

na elektrostatyczne oddziaływanie kationu $[(\eta^6-p\text{-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]^+$ z ujemnie naładowanymi grupami PO_4^{3-} otaczającymi nici kwasu, co przypomina typ oddziaływań notowany dla omawianego wcześniej kompleksu $\{[RuCl(L^1)(\eta^6-p\text{-cymene})]PF_6\}_2 \cdot H_2O$.

Ponadto ocena interakcji związku z albuminą (BSA), a tym samym transportu substancji w organizmie dowiodła słabszego wiązania kompleksu z białkiem ($K_{b\text{ BSA}} = 2,94 \cdot 10^4 M^{-1}$), co mogło również wpływać na właściwości cytotoksyczne *in vitro*.



(a)



(b)

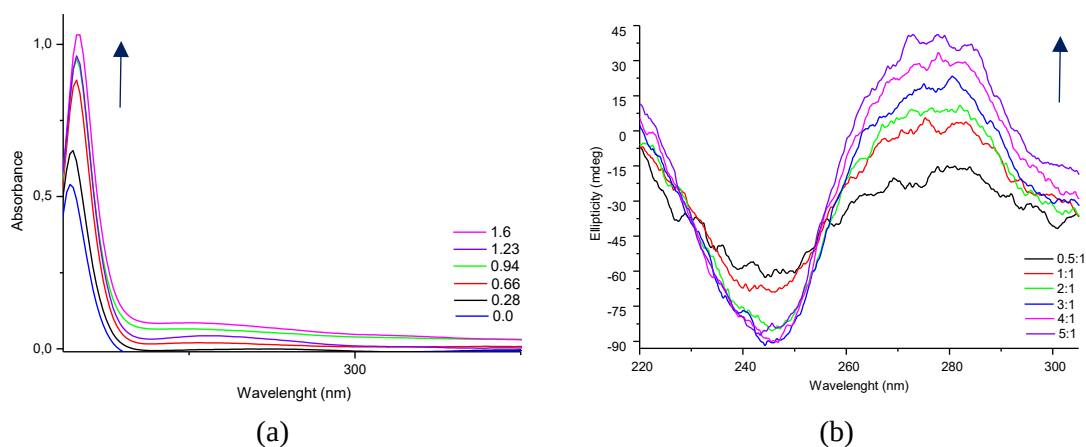
Rys. 27. (a) Widmo UV-Vis miareczkowania kompleksu $[(\eta^6-p\text{-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]PF_6$ roztworem CT-DNA o zwiększającym się stężeniu, (b) widmo CD bez i w obecności kompleksu; strzałki pokazują kierunek zmian hiperchromowych w widmach.

Znacznie skuteczniejszym cytostatykiem *in vitro* wobec wszystkich badanych linii nowotworowych (Rys. 26) okazał się dimeryczny związek rodzaju $(Et_3NH)_2[Rh_2(\mu_2-L)_4Cl_2]$. Kompleks rodzaju najskuteczniej oddziaływał wobec komórek białaczki mielomonocytovej (MV-4-11) ($IC_{50} = 4,02 \pm 1,08 \mu M$). Niestety okazało się, że związek również cechuje się umiarkowaną aktywnością w stosunku do komórek zdrowych ($IC_{50} = 24,81 \pm 0,86 \mu M$), ale w porównaniu do cisplatyny ($IC_{50} = 1,73 \pm 0,22 \mu M$) jest około 14 razy mniej toksyczny. Rezultaty szeregu przeprowadzonych przez mnie badań dowiodły, że na właściwości cytotoksyczne *in vitro* potencjalnego chemioterapeutyku wpływa:

zniekształconą strukturę oktaedryczną, uwzględniając trójdonorową koordynację pierścieni *p*-cymenowych.

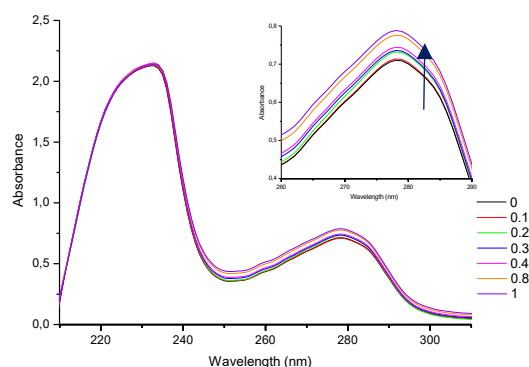
Otrzymane dimery $(Et_3NH)_2[Rh_2(\mu_2-L)_4Cl_2]$ i $[(\eta^6-p\text{-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]PF_6$ znacznie różnią się strukturą, a tym samym właściwościami biologicznymi. Dimer $[(\eta^6-p\text{-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]PF_6$ charakteryzował się: i) dużo słabszą cytotoksycznością *in vitro* ($IC_{50} = 72\text{--}100 \mu M$) (Rys. 26), ii) lipofilowością, $\log P > 0$ sugerującą akumulację w mitochondrium i/lub retikulum endoplazmatycznym, iii) efektem hiperchromowym w widmach UV-Vis i CD obrazujących oddziaływanie z DNA (Rys. 27). Powyższe dane wskazują

- stabilność związku w roztworze buforowym,
- lipofilowość na poziomie $-0,76 \pm 0,03$ co sugeruje, że jądro komórkowe i/lub lizosomy są możliwymi miejscami docelowej migracji związku,
- rodzaj oddziaływań z DNA. Badania metodą UV-Vis wykazały, że pod wpływem dodawania CT-DNA do kompleksu następuje stopniowy wzrost intensywności absorpcji a jednocześnie obserwuje się przesunięcie typu redshift (3 nm) (Rys. 28a). Zgodnie z danymi literaturowymi obserwowany efekt hiperchromowy wskazuje na słabe oddziaływanie kompleksu z CT-DNA za pomocą wiązań wodorowych ($K_{b \text{ DNA}} = 4,23 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$). Dodatkowo, przeprowadzona przeze mnie analiza zarejestrowanych widm CD roztworów CT-DNA w obecności lub braku badanego kompleksu wykazała jedynie wzrost intensywności pasma przy $\lambda_{\text{max}} = 278 \text{ nm}$ bez widocznego przesunięcia maksimum (Rys. 28b). Taki obraz spektralny sugeruje niekowalencyjne oddziaływanie kompleks-DNA, prawdopodobnie w rowku helisy, co koreluje ze wspomnianą powyżej liniową budową dimeru.



Rys. 28. (a) Widmo UV-Vis miareczkowania kompleksu $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$ roztworem CT-DNA o zwiększającym się stężeniu, (b) widmo CD bez i w obecności kompleksu; strzałki pokazują kierunek zmian hiperchromowych w widmiach.

- silne powinowactwo w stosunku do albuminy (Rys. 29). Wartość stałej wiązania $K_{b \text{ BSA}} = 5,88 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ wskazuje na możliwość wykorzystania albuminy jako efektywnego transportera kompleksu do komórek. Kompleks następnie dzięki właściwościom lipofilnym transportowany jest przez błony komórki jak i błony jądra, celem akumulacji, głównie w lizosomach i jądrze komórkowym ($\log P = -0,76$).



Rys. 29. Widmo UV-Vis miareczkowania BSA roztworem kompleksu $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$; strzałka pokazuje kierunek zmian w widmie.

Reasumując, do najważniejszych osiągnięć naukowych tego etapu badań należą:

- zakończone powodzeniem badania nad poszukiwaniem potencjalnego chemioterapeutyku, który nie wykazuje *in vitro* toksyczności względem komórek zdrowych. Związkiem o cechach potencjalnego chemioterapeutyku okazał się organometaliczny kompleks rutenu(II) typu

„stołek pianisty” $\{[\text{RuCl}(\text{L}^1)(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})]\text{PF}_6\}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (gdzie $\text{L}^1 = 2,2'$ -bis(4,5-dimetyloimidazol).

- opracowanie przeze mnie nowej, prostej metody syntezy dimerów o strukturze paddlewheel na bazie jonów Rh(II) o potencjalnych właściwościach cytotoksycznych. Dimer $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$ (gdzie L = anion kwasu tiofeno-2-karboksylowego) otrzymałam dzięki zastosowaniu w procesie redukcji RhCl_3 (substratu) sproszkowanego rodu jako reduktora i katalizatora. Opracowana procedura pozwoliła na prowadzenie syntezy w łagodnych warunkach oraz bez konieczności wykorzystania skomplikowanej techniki preparatywnej Schlenka.
- zbadanie, jak różnice w strukturze otrzymanych dimerów $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]\text{PF}_6$ i $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$ wpływają na aktywność antynowotworową biorąc również pod uwagę: i) występowanie stabilizujących wiązań wodorowych, ii) różnice w lipofilowości, iii) powinowactwo do białek transportujących (BSA) oraz iv) model interakcji z DNA. Znacznie skuteczniejszym cytostatykiem *in vitro* wobec wszystkich badanych linii nowotworowych okazał się dimer rodu, który dodatkowo najbardziej efektywnie hamuje wzrost komórek białaczki mielomonocytowej (MV-4-11) ($\text{IC}_{50} = 4,02 \pm 1,08 \mu\text{M}$).
- Wykazanie przeze mnie, że omawiane kompleksy należą do związków, które oddziałują z DNA w sposób niekowalencyjny: i) na zasadzie elektrostatycznego przyciągania pomiędzy kationami koordynacyjnymi a ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi DNA ($\{[\text{RuCl}(\text{L}^1)(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})]\text{PF}_6\}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ i $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]\text{PF}_6$), ii) w rowku helisy przy udziale wiązań wodorowych na co wskazuje również liniowa budowa przypisana dimerowi rodu $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$.

6. Podsumowanie osiągnięcia naukowego będącego podstawą postępowania habilitacyjnego

W niniejszym opracowaniu przedstawiłam interdyscyplinarne badania z zakresu chemii koordynacyjnej, bionieorganicznej i medycznej, dotyczące 18 nowych związków koordynacyjnych Cd(II), Cu(II), Mn(II), Zn(II), Pb(II), Ru(II) i Rh(II). Zgodnie z postawionym celem prezentowanego osiągnięcia przeprowadziłam syntezę nowych związków koordynacyjnych oraz dokonałam analizy wpływu różnych czynników, w tym ligandów, na strukturę otrzymanych kompleksów. Dodatkowo, wskazałam na zależności pomiędzy strukturą a właściwościami związków i ich możliwościami aplikacyjnymi. Postawiony cel zrealizowałam w oparciu o wymienione i szczegółowo opisane we wstępie projekty badawcze, które składają się na prezentowane osiągnięcie naukowe. Za najważniejsze osiągnięcia, które wynikają z przeprowadzonych przeze mnie badań, uważam:

- opracowanie przeze mnie sześciu nowych procedur syntezy metodą one pot pozwalających na otrzymywanie *in situ* skorpionowych (tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]amina, L^1) lub pincerowych (bis[1-(3,5-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]amina, L^2) ligandów N-donorowych, a w rezultacie wyizolowanie z układów reakcyjnych 9 nowych połączeń koordynacyjnych z następującymi jonami metali: Cd(II), Cu(II), Mn(II) i Zn(II),
- opatentowanie (**PL393842**) nowej procedury syntezy kompleksu kadmu $[CdI_2L^1]$ z ligandem skorpionowym $L^1 =$ tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]amina, pozwalającej na przeprowadzenie syntezy metodą one pot w jednym etapie i jednym naczyniu. Opatentowana preparatyka wpisuje się w zakres syntez prowadzonych zgodnie z zasadami zielonej chemii, co pozwala na zaoszczędzenie czasu i rozpuszczalników niezbędnych do oczyszczenia produktów pośrednich przez krystalizację.
- wykazanie, że testowane *in vitro* kompleksy skorpionowe kadmu wobec wybranych linii komórek nowotworowych A549, K562, HT-29 oraz w stosunku do komórek prawidłowych BALB/3T3 charakteryzowały się niższą aktywnością cytotoksyczną (IC_{50} w zakresie od 21,92 do 30,70 $\mu g/ml$) w porównaniu z badanymi solami kadmu ($IC_{50} = 1,98-31,69 \mu g/ml$). Najefektywniejszym cytostatykiem jest polimer $[Cd_2(L^2)_2(SCN)_4(MeOH)_2]_n$, względem linii komórkowej białaczki (K562) ($IC_{50} = 3,85 \mu g/ml$), co sugeruje przyszłe kierunki poszukiwań związków antynowotworowych.
- podjęcie próby ustalenia zależności pomiędzy strukturą a cytotoksycznością *in vitro*. Wykazałam, że izostrukuralne kompleksy $[CdBr_2L^1]$, $[CdI_2L^1]$, $[Cd(NCS)_2L^1]$ z ligandem skorpionowym tris[1-(3,5-dimetylopirazol-1-ylo)metylo]aminą (L^1), wykazywały podobną cytotoksyczność (IC_{50} w zakresie od 21,92 do 30,70 $\mu g/ml$). Porównanie cytotoksyczności wyżej wymienionych związków z cisplatyną wykazało, że badane kompleksy były prawie 10 razy mniej cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych niż cisplatyna ($IC_{50} = 0,95-3,27 \mu g/ml$), ale jednocześnie są od 3,5 do 10 razy mniej toksyczne dla komórek prawidłowych.
- zbadanie pod kątem właściwości fotoluminescencyjnych dwóch kompleksów $[Cd(NCS)_2L^1]$, $[Cd_2(L^2)_2(SCN)_4(MeOH)_2]_n$. Zaproponowałam, że powyższe kompleksy mogą być brane pod uwagę, jako potencjalne rdzenie przy syntezie kadmowych kropek kwantowych.

PROJEKT (2)	- otrzymanie <i>in situ</i> metodą one pot 4 nowych kompleksów miedzi(II), manganu(II) i cynku(II) z polidentnymi N-donorowymi ligandami oraz przedstawienie ich pełnej charakterystyki fizykochemicznej, - wykazanie, że otrzymane związki Cu(II) i Zn(II) mogą zostać wykorzystane, jako modele inhibitorów oksydazy ksantynowej odpowiedzialnej za transformację produktów rozkładu białka do kwasu moczowego. Różnice we właściwościach inhibicyjnych kompleksów $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}^3]$ i $[\text{Zn}(\text{NCS})\text{L}^1]_2[\text{Zn}(\text{NCS})_4]$ potwierdziłam metodą dokowania molekularnego.
PROJEKT (3)	- otrzymanie ciekawych strukturalnie polimerów koordynacyjnych ołowiu(II) przy użyciu następujących ligandów: 4-metylo-5-karbaldehydoimidazol, kwas pirazyno-2-karboksylowy, kwas tiofeno-2-karboksylowy, tiofeno-3-karboksylowy, kwas imidazolo-4-karboksylowy, kwas pirazolo-3-karboksylowy, - wykazanie jak niewielkie zmiany w budowie ligandów (izomery) wpływają na intensywność emisji promieniowania (luminescencja). Zróżnicowanie emisji pomiędzy związkami przypisałam różnym sposobom koordynacji izomerów, sztywności struktur krystalicznych oraz możliwości tworzenia układów sprzężonych poprzez oddziaływania $\pi \cdots \pi$ pomiędzy pierścieniami heteroaromatycznymi. Ciekawe właściwości fotoluminescencyjne polimeru $[\text{Pb}_2(3\text{pyrCOO})_4]_n$ sugerują kontynuację badań w kierunku zastosowania związku jako materiału optycznego typu LED.
PROJEKT (4)	- otrzymanie związku o wzorze $\{[\text{RuCl}(\text{L}^1)(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})]\text{PF}_6\}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, który nie jest toksyczny w stosunku do komórek zdrowych a wykazuje właściwości antyproliferacyjne na średnim poziomie ($\text{IC}_{50} = 27,34\text{-}73,80 \mu\text{M}$) wobec badanych linii nowotworowych, - opracowanie nowej, nie opisanej w literaturze, prostej procedury syntezy kompleksów dirodru(II) o strukturze paddlewheel $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$, - przedyskutowanie na przykładzie różnych strukturalnie dimerów $(\text{Et}_3\text{NH})_2[\text{Rh}_2(\mu_2\text{-L})_4\text{Cl}_2]$ i $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene-Ru})_2(\mu\text{-Cl})_3]\text{PF}_6$ zależności pomiędzy strukturą na właściwościami cytotoksycznymi. Wykazałam, że dimer rodu(II) najskuteczniej oddziałuje wobec komórek białaczki mielomonocytovej (MV-4-11) ($\text{IC}_{50} = 4,02 \pm 1,08 \mu\text{M}$), - zastosowanie technik spektroskopowych (UV-Vis i CD) do określenia modelu oddziaływania kompleksu z DNA. Wszystkie badane kompleksy Ru(II) i Rh(II) wykazują niekowalencyjny model wiązania z DNA na zasadzie elektrostatycznego oddziaływania (kompleksy kationowe) z grupami fosforanowymi DNA i/lub na zasadzie wiązań wodorowych w rowku helisy.

7. Perspektywy badawcze

Jak wspomniałam powyżej, jednym z najważniejszych problemów do rozwiązania jaki stoi przed współczesną nauką jest podniesienie efektywności oraz innowacyjności leczenia chorób nowotworowych. Do tego problemu nawiązuje również przyjęta w 2019 roku Narodowa Strategia Onkologiczna dla Polski. Mając to na uwadze chciałabym zintensyfikować prowadzone przeze mnie badania w tym właśnie kierunku. Uważam, że w pierwszej kolejności należałoby rozszerzyć badania nad potencjalnymi chemioterapeutykami rutenu i rodu o analogiczne związki irydu, aby ocenić wpływ jonu centralnego na właściwości cytotoksyczne kompleksów. Dodatkowo, aby prześledzić drogę migracji związku w komórce chciałabym podjąć próbę wykorzystania takich technik obrazowania, jak fluorescencyjna analiza mikroskopowa czy mikroskopia konfokalna. Ponadto niezwykle ciekawym zagadnieniem, którego chciałabym się podjąć jest wyjaśnienie mechanizmu apoptozy komórek po ekspozycji na badane związki poprzez analizę: rozkładu cyklu komórkowego, indukcji ROS i integralności błony mitochondrialnej komórek nowotworowych za pomocą cytometrii przepływowej.

Wyniki przeprowadzonych badań nad właściwościami cytotoksycznymi kompleksów kadmu wykazały, że są to związki o znacznym stopniu toksyczności nie tylko wobec komórek nowotworowych, ale również prawidłowych, przez co swoim działaniem terapeutycznym przypominają cisplatynę. Uważam, że w przypadku związków tego metalu dobrym rozwiązaniem byłoby dostarczanie ich bezpośrednio do guza nowotworowego (terapia celowana) z wykorzystaniem tzw. kadmowych kropek kwantowych (CdQDs). Aktualnie kadmowe QDs są wysoce toksyczne dla organizmu ze względu na możliwość uwalniania do medium komórkowego jonów Cd(II) poprzez uszkodzone lub rozpuszczone osłonki. Dlatego prowadzone są prace nad biokoniugowanymi QDs ze stabilną powłoką polimerową, które mają na celu ukierunkowanie kropek na określony cel w komórce tak, aby związek mógł być dostarczany selektywnie. Ze swojej strony chciałabym zaproponować inne rozwiązanie, polegające na wypełnieniu CdQDs kompleksem kadmu, który będzie wykazywał właściwości cytotoksyczne, ale jednocześnie nie będzie działał na komórki zdrowe, a więc w przypadku uszkodzenia osłonki polimerowej nie byłby trujący dla organizmu.

8. Literatura

- [1] L. Bogani, W. Wernsdorfer, Molecular spintronics using SMMs. *Nat. Mater.*, 7 (2008) 179–186.
- [2] IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, 58 (1993) 119–130.
- [3] <https://www.atsdr.cdc.gov/SPL/>.
- [4] M. Remelli, V.M. Nurchi, J.I. Lachowicz, S. Medici, M.A. Zoroddu, M. Peana, Competition between Cd(II) and other divalent transition metal ions during complex formation with amino acids, peptides, and chelating agents, *Coord. Chem. Rev.* 327-328 (2016) 55–69.
- [5] L. Ronconi, P.J. Sadler, Using coordination chemistry to design new medicines, *Coord. Chem. Rev.* 251 (2007) 1633–1648.
- [6] Y. Xu, L. Feng, P.D. Jeffrey, Y. Shi, F.M.M. Morel, Structure and metal exchange in the cadmium carbonic anhydrase of marine diatoms, *Nature* 452 (2008) 56–61.
- [7] E.Z. Jahromi, J. Gailer, *In vitro* assessment of chelating agents with regard to their abstraction efficiency of Cd²⁺ bound to plasma proteins, *Metallomics* 4 (2012) 995–1003.
- [8] O. Andersen, Chemical and biological considerations in the treatment of metal intoxications by chelating agents, *Mini-Reviews Med. Chem.* 4 (2004) 11–21.
- [9] D.S. Nesterov, O.V. Nesterova, V.N. Kokozay, A.J.L. Pombeiro, Polynuclear heterometallic

- complexes from metal powders: the "direct synthesis" approach, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2014) 4496–4517.
- [10] Y. Hayashi, Pot economy and one-pot synthesis, *Chem. Sci.* 7 (2016) 866–880.
- [11] S. Trofimenko, Scorpionates: Genesis, milestones, prognosis, *Polyhedron* 23 (2004) 197–203.
- [12] S.G. Subramaniapillai, Mannich reaction: a versatile and convenient approach to bioactive skeletons, *J. Chem. Sci.* 125 (2013) 467–482.
- [13] P. Juzenas, W. Chen, Y.P. Sun, M.A.N. Coelho, R. Generalov, N. Generalova, I.L. Christensen, Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60 (2008) 1600–1614.
- [14] R. Ojha, J. Singh, A. Ojha, H. Singh, S. Sharma, K. Nepali, An updated patent review: xanthine oxidase inhibitors for the treatment of hyperuricemia and gout (2011-2015), *Expert Opin. Ther. Pat.* 27 (2017) 311–345.
- [15] Z.L. You, D.H. Shi, C. Xu, Q. Zhang, H.L. Zhu, Schiff base transition metal complexes as novel inhibitors of xanthine oxidase, *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 862–871.
- [16] R.C. Gracia, W.R. Snodgrass, Lead toxicity and chelation therapy, *Am. J. Health. Syst. Pharm.* 64 (2007) 45–63.
- [17] R.H. Kretsinger, V.N. Uversky, E.A. Permyakov, Pb(II)-RNA coordination, *Encycl. Met.*, Springer, 2013.
- [18] H. Zhang, K. Wei, M. Zhang, R. Liu, Y. Chen, Assessing the mechanism of DNA damage induced by lead through direct and indirect interactions, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 136 (2014) 46–53.
- [19] L. Shimoni-Livny, J.P. Glusker, C.W. Bock, Lone pair functionality in divalent lead compounds, *Inorg. Chem.* 37 (1998) 1853–1867.
- [20] B. Rosenberg, Platinum complexes for the treatment of cancer, *Interdiscip. Sci. Rev.* 3 (1978) 134–147.
- [21] R.A. Alderden, M.D. Hall, T.W. Hambley, Products of chemistry the discovery and development of cisplatin, *J. Chem. Edu.* 83 (2006) 728–734.
- [22] N. Graf, S.J. Lippard, Redox activation of metal-based prodrugs as a strategy for drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64 (2012) 993–1004.
- [23] R.E. Morris, R.E. Aird, P. Murdoch, H. Chen, J. Cummings, N.D. Hughes, S. Parsons, A. Parkin, A. Boyd, D.I. Jodrell, P.J. Sadler, Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) arene complexes, *J. Med. Chem.* 44 (2001) 3616–3621.
- [24] C.G. Hartinger, M.A. Jakupec, S. Zorbas-Seifried, M. Groessl, A. Egger, W. Berger, H. Zorbas, P.J. Dyson, B.K. Keppler, KP1019 a new redox-active anticancer agent- preclinical development and results of a clinical phase I study in tumor patients, *Chem. Biodivers.* 5 (2017) 2140–2155.
- [25] A.C.G. Hotze, M. Bacac, A.H. Velders, B.A.J. Jansen, H. Kooijman, A.L. Spek, J.G. Haasnoot, J. Reedijk, New cytotoxic and water-soluble bis(2-phenylazopyridine) ruthenium(II) complexes, 2 (2003) 1743–1750.
- [26] E. Alessio, Thirty years of the drug candidate NAMI-A and the myths in the field of ruthenium anticancer compounds: A personal perspective, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2017) 1549–1560.
- [27] E.S. Antonarakis, E. Ashkan, Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time?, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 66 (2010) 1–9.
- [28] P.S. Kuhn, V. Pichler, A. Roller, M. Hejl, M.A. Jakupec, W. Kandioller, B.K. Keppler, Improved reaction conditions for the synthesis of new NKP-1339 derivatives and preliminary investigations on their anticancer potential, *Dalton Trans.* 44 (2015) 659–668.
- [29] G. Sava, S. Zorzet, C. Turrin, F. Vita, M. Soranzo, G. Zabucchi, M. Cocchiello, A. Bergamo, S. DiGiovine, G. Pezzoni, L. Sartor, S. Garbisa, Dual action of NAMI-A in inhibition of solid tumor metastasis, *Clin. Cancer Res.* 9 (2003) 1898–1905.
- [30] S.J. Dougan, P.J. Sadler, The design of organometallic ruthenium arene anticancer agents, *Chim. Int. J. Chem.* 61 (2007) 704–715.

- [31] P.J. Dyson, Systematic design of a targeted organometallic antitumour drug in preclinical development, *Chim. Int. J. Chem.* 61 (2007) 698–703.
- [32] R. Mitra, S. Das, S.V. Shinde, S. Sinha, K. Somasundaram, A.G. Samuelson, Anticancer activity of hydrogen-bond-stabilized half-sandwich Ru^{II} complexes with heterocycles, *Chem. Eur. J.* 18 (2012) 12278–12291.

d) omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

W trakcie realizacji głównych założeń rozprawy doktorskiej mój warsztat badawczy został wzbogacony o umiejętność posługiwania się dodatkowymi technikami badawczymi, których znajomość jest niezbędna do pełnej charakterystyki fizykochemicznej związków koordynacyjnych. W tym celu pod kierunkiem profesor Ewy Matczak-Jon odbyłam staż na Politechnice Wrocławskiej w zakresie pomiarów i interpretacji widm NMR (załącznik 4, III l). Natomiast staż odbyty na Uniwersytecie Wrocławskim pod kierunkiem profesor Julii Jezierskiej (załącznik 4, III l) pozwolił mi na poznanie praktyczne metodyki pomiarów EPR w roztworze i ciecie stałym - metody niezbędnej do pełnej charakterystyki kompleksów z jonami paramagnetycznymi. Po doktoracie odbyłam również staż w grupie profesor Amelii Santos i profesor Sylwii Chaves na Universidade de Lisboa, Instituto Superior Técnico, Portugalia, gdzie badałam zachodzące w roztworze reakcje koordynacyjne pomiędzy jonami miedzi(II) i cynku oraz ligandami z grupy hydroksyalkilopirydyn (załącznik 4, III l). Badania były prowadzone pod kątem ustalenia struktury kompleksów w roztworze za pomocą metod potencjometrycznych i spektroskopowych (UV-Vis, NMR).

Problemy naukowe, które obejmowały program badawczy Zakładu Chemii Nieorganicznej UJK, umiejscowione są na pograniczu chemii koordynacyjnej, biologii i medycyny. Włączenie się do tego typu badań wymagało ode mnie poznania właściwych technik badawczych stosowanych również w analizach biologicznych a mianowicie, metod spektrofotometrycznych CD i/lub UV-Vis do oceny: a) oddziaływań badanych związków z CT-DNA i białkami transportującymi, b) aktywności przeciwutleniającej otrzymywanych związków koordynacyjnych wykorzystując rodniki DPPH i ABTS (załącznik 4, II a - 7). Zapoznanie się z wyżej wymienionymi metodami zaowocowało udziałem w projekcie realizowanym w latach 2015-16 w zakresie oceny statusu antyoksydacyjnego pacjentek po leczeniu onkologicznym (mastektomii i chemio- lub radioterapii) (załącznik 4, III f). Badania aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx) w próbkach krwi badanych pacjentów realizowano w ramach współpracy z Wojewódzkim Szpitalem Zespolonym w Kielcach.

Jednocześnie kontynuowałam współpracę z dr Małgorzatą Zienkiewicz-Machnik, z Zespołu Nowoczesnej Katalizy Heterogenicznej PAN w Warszawie, prowadząc badania spektroskopowe metodą transmisyjną oraz osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia (ATR) i termogravimetryczne żywic polimerowych modyfikowanych nanocząstkami wybranych metali (np. Pd, Ni), które pełnią funkcje efektywnych i zielonochemicznych katalizatorów reakcji chemoselektywnego uwodornienia związków organicznych (wyniki opublikowano w pracach z załącznika 4, II a – 8, 9). W ostatnim czasie w ramach inicjatywy Kierownika Zakładu prof. UJK dr hab. Barbary Barszcz, jako promotor pomocniczy w przewodzie mgr Mateusza Kowalika uczestniczyłam w przygotowaniu pracy przeglądowej dotyczącej związków bizmutu. Powyższa tematyka badań wchodzi w zakres przygotowywanej przez Doktoranta rozprawy (załącznik 4, II a - 10).