

SREBROWE KOMPLEKSY ORGANICZNE Z LIGANDAMI CYKLICZNYMI – NOWE PERSPEKTYWY BIOPOTENCJAŁU

**SILVER ORGANIC COMPLEXES WITH CYCLIC
LIGANDS – NEW BIOPOTENTIAL PERSPECTIVES**

**Piotr Michałowski¹, Oliwier Rozalik¹,
Wiktoria Majewska¹,
Katarzyna Bielicka-Daszkiewicz^{1,*}**

*¹Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska,
Berdychowo 4, 60-965 Poznań*

**e-mail: katarzyna.bielicka-daszkiewicz@put.poznan.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Kompleksy srebrów związków cyklicznych

1.1. Przegląd symetrycznych kompleksów srebrów

1.2. Przegląd asymetrycznych kompleksów srebrów

1.3. Kompleksy srebra z ligandami pochodzenia naturalnego

1.4. Nanomateriały srebrów

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Mgr inż. Piotr Michałowski ukończył Politechnikę Poznańską, uzyskując w 2022 roku tytuł inżyniera w zakresie inżynierii chemicznej, a w 2023 roku tytuł magistra inżyniera w dyscyplinie nauk chemicznych. Od 2023 roku jest doktorantem Politechniki Poznańskiej w tej samej dyscyplinie. Od 2022 roku aktywnie działa naukowo w Pracowni Chemii Medycznej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN obecnie w roli specjalisty ds. rozwoju produktów. Brał udział w licznych krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych, a także współorganizował trzy edycje Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej PUTChemikon. Jest autorem dwóch publikacji naukowych z zakresu chemii organicznej i medycznej oraz uczestnikiem programu mentorskiego ACS MEDI YMCC 2024–2025. Obecnie realizuje czynną współpracę naukową z ośrodkami z Włoch, Indii, Hiszpanii oraz Stanów Zjednoczonych. Za swoje osiągnięcia został uhonorowany tytułem Wybitnego Absolwenta Politechniki Poznańskiej w 2023 roku.



ORCID: 0009-0004-3187-9174

Oliwier Rozalik jest studentem trzeciego roku Wydziału Technologii Chemicznej na Politechnice Poznańskiej. Jego zainteresowania naukowe skupiają się na chemii organicznej, a w szczególności na tematyce farmakologicznej. Aktywnie udziela się w ramach rozwijania aktywności biologicznej aromatycznych kompleksów srebrowych.



ORCID: 0009-0009-3365-1698

Wiktoria Majewska jest studentką trzeciego roku Wydziału Technologii Chemicznej na Politechnice Poznańskiej. Swoje zainteresowania naukowe rozwijała na kierunku Chemical Technology oraz w ramach projektu, pracując nad analizą aromatycznych kompleksów i nanocząstek srebra. Chętnie angażuje się w uczelniane inicjatywy naukowych.



ORCID: 0009-0009-0557-4031

Dr hab. inż. Katarzyna Bielicka-Daszkiewicz jest absolwentką Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, gdzie w 1995 roku uzyskała tytuł magistra inżyniera. W 2001 roku obroniła doktorat na tej samej uczelni, przedstawiając rozprawę dotyczącą zastosowania ekstrakcji do fazy stałej i chromatografii gazowej w badaniach produktów biodegradacji. W 2013 roku na Politechnice Gdańskiej uzyskała stopień doktora habilitowanego nauk chemicznych. Od 1995 roku jest związana zawodowo z Politechniką Poznańską, gdzie prowadzi działalność dydaktyczną i naukową. Jest autorką artykułów naukowych oraz licznych wystąpień konferencyjnych, jest współautorką dwóch patentów z zakresu technik ekstrakcyjnych. Otrzymała wielokrotnie nagrody Rektora Politechniki Poznańskiej za osiągnięcia naukowe.



ORCID: 0000-0002-8280-3311

ABSTRACT

Srebro od wieków znane jest ze swoich właściwości antyseptycznych i znalazło szerokie zastosowanie w medycynie, przemyśle i technologii. Współcześnie szczególne znaczenie zyskały nanocząstki srebra (AgNPs) oraz kompleksy tego metalu, których unikalne właściwości fizykochemiczne przekładają się na wyjątkową aktywność biologiczną. AgNPs charakteryzują się dużą powierzchnią właściwą, zdolnością do generowania reaktywnych form tlenu oraz interakcji z błonami komórkowymi, co skutkuje silnym działaniem przeciwdrobnoustrojowym, przeciwwirusowym i przeciwnowotworowym. Syntezę nanocząstek prowadzi się metodami chemicznymi, fizycznymi i biologicznymi, przy czym szczególne zainteresowanie budzą strategie zielonej chemii wykorzystujące ekstrakty roślinne lub mikroorganizmy, zapewniające biokompatybilność i kontrolę nad kształtem cząstek. Kompleksy srebra, zwłaszcza z ligandami heterocyklicznymi i siarkowymi, wykazują często wyższą aktywność niż sole tego metalu, a ich strukturalna modyfikacja umożliwia dostosowanie rozpuszczalności, biodostępności i selektywności działania. Liczne badania wskazują na synergizm AgNPs z antybiotykami wobec szczepów wieloopornych, co otwiera nowe możliwości w walce z narastającą opornością mikroorganizmów. Zastosowania srebra obejmują m.in. opatrunki i implanty medyczne, systemy dostarczania leków, kosmetyki, konserwację żywności oraz oczyszczanie środowiska. Mimo szerokiego potencjału konieczne są dalsze badania nad toksycznością, bioakumulacją i wpływem na organizmy wyższe. Rozwój metod syntezy zgodnych z zasadami zrównoważonego rozwoju oraz lepsze poznanie mechanizmów działania mogą pozwolić na pełne wykorzystanie potencjału srebra i jego nanostruktur w medycynie i technologii przyszłości.

Keywords: silver complex, cyclic ligands, natural products, nanomedicine, bacteriicidal activity

Słowa kluczowe: kompleks srebrowy, cykliczne ligandy, produkty naturalne, nanomedycyna, bakteriobójczość

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AgNPs	– nanocząstki srebra
ATP	– adenozynotrifosforan
EC ₅₀	– połowa maksymalnego stężenia efektywnego
EDX/EDS	– spektroskopia dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego
ESKAPE	– grupa wieloopornych patogenów klinicznych
FTIR	– spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
IC ₅₀	– dawka powodująca zahamowanie procesów życiowych 50% badanej populacji
LD ₅₀	– dawka śmiertelna dla 50% badanych organizmów
MBC	– minimalne stężenie bakteriobójcze
MIC	– minimalne stężenie hamujące
MTT	– test cytotoksyczności oparty na soli tetrazoliowej
OMC	– metoksycynamonian etyloheksylu
PVP	– poliwinylpirolidon
ROS	– reaktywne formy tlenu
SBT	– test bakteriobójczy surowicy
SEM	– skaningowa mikroskopia elektronowa
TEM	– transmisyjna mikroskopia elektronowa
WHO	– Światowa Organizacja Zdrowia
XRD	– dyfrakcja promieni rentgenowskich

WPROWADZENIE

Srebro (ang. *silver*) jest metalem przejściowym naturalnie występującym na powierzchni Ziemi. Jest miękkim, ciągliwym i kowalnym ciałem stałym, które charakteryzuje się silnym metalicznym połyskiem oraz wykazuje wysokie przewodnictwo cieplne. Jony srebra mogą przyjmować różny stopień utlenienia w przedziale od +1 do +3, jednak najczęściej występuje w postaci Ag^+ . Jest to spowodowane rozbudowanym systemem podpowłokowym. W szczególności rozkład elektronów walencyjnych na podpowłoki 5s oraz 4d bezpośrednio przekłada się na wysoki potencjał do kompleksowania [1]. Ponadto srebro ze względu na swoje właściwości bakteriobójcze znajduje zastosowanie w produkcji nanoantybiotyków i szerokiego przekroju leków antybakteryjnych, bazujących na strukturze nanocząstek srebra.

Od tysięcy lat ludzkość używa srebra ze względu na jego różnorodne właściwości i potencjał aplikacyjny. Już 3000 lat p.n.e. potrafiono oddzielać i ekstrahować srebro z rud metalicznych. Z początku srebro używane było do wyrabiania monet, wytwarzania biżuterii i naczyń oraz oczyszczania wody [2], a zapiski Hipokratesa mówią o jego zastosowaniu w medycynie już w IV wieku p.n.e. [3]. W latach 60-tych XX wieku srebro w postaci roztworu azotanu(V) srebra(I) (AgNO_3) zaczęto używać do tworzenia opatrunków ran po oparzeniach. Azotan(V) srebra(I) mieszano z sulfadiazyną sodu, by wytworzyć krem antybakteryjny, który do teraz pozostaje w powszechnym użyciu [4]. Ponadto, dzięki światłoczułym właściwościom związków srebra, pierwiastek ten znalazł szerokie zastosowanie w fotografii analogowej, gdzie halogenki srebra stanowiły podstawowy składnik materiałów światłoczułych wykorzystywanych do rejestracji obrazu [3].

Srebro, jak i jego związki, są powszechnie używane jako katalizatory w wielu reakcjach chemicznych. Głównym przeznaczeniem jest produkcja tlenku etylenu. Katalizator stosowany jest w procesie utleniania etenu do tlenku etylenu i metanolu w fazie gazowej w 250°C [5]. Przykładem przemysłowego wykorzystania srebra jako katalizatora jest synteza metoksycynamonianu etyloheksylu (ang. *octyl methoxycinnamate*, OMC), związku powszechnie stosowanego jako składnik filtrów przeciwsłonecznych. Dzięki zdolności srebra do katalizowania wybranych reakcji organicznych możliwe jest efektywne otrzymywanie tego związku, który znajduje szerokie zastosowanie w produktach kosmetycznych przeznaczonych do ochrony skóry przed promieniowaniem UV [6]. Wraz z rozwojem nanotechnologii, nanocząsteczki srebra (AgNPs) znalazły swoje zastosowanie w przeciwbakteryjnych żelach leczniczych, opatrunkach, implantach, a także jako powłoki zewnętrzne w soczewkach [4]. Nanocząsteczki, ze względu na swoją budowę, mogą wnikać do ciała ludzkiego drogą kropelkową, przez skórę, przez układ trawienny lub nawet przez łożysko, przez co łatwo się wchłaniają i są coraz częściej stosowane w medycynie, a przez to system celowanego dostarczania związków srebra jest łatwiejszy i skuteczniejszy [7].

Według dostępnych badań nanocząstki srebra (AgNPs) wykazują potencjał zastosowania w terapii nowotworów. Ich aktywność biologiczna związana jest między innymi ze zdolnością do indukowania stresu oksydacyjnego, zaburzania funkcji mitochondriów oraz inicjowania procesów prowadzących do śmierci komórek nowotworowych. Ponadto wskazuje się, że AgNPs mogą stanowić obiecujący element terapii wspomagającej, jednak ich skuteczność i bezpieczeństwo wymagają dalszych badań przed wdrożeniem do rutynowej praktyki klinicznej [9].

Do syntezy nanocząstek srebra (AgNPs) wykorzystuje się szereg metod fizycznych, chemicznych oraz biologicznych, które różnią się stopniem skomplikowania, wydajnością procesu oraz właściwościami otrzymywanych nanocząstek (Tab. 1). Wśród najczęściej stosowanych technik znajdują się metody chemiczne, umożliwiające uzyskanie nanocząstek o kontrolowanym rozmiarze i kształcie. Jedną z najpopularniejszych metod jest redukcja chemiczna, w której jony srebra (Ag^+), pochodzące zazwyczaj z azotanu srebra (AgNO_3), ulegają redukcji do srebra metalicznego (Ag^0) pod wpływem odpowiednich czynników redukujących, takich jak borowodorek sodu, cytrynian sodu czy kwas askorbinowy. Powstałe atomy srebra tworzą zarodki krystalizacji, które następnie ulegają wzrostowi i agregacji, prowadząc do powstania nanocząstek koloidalnych. W celu zapobiegania nadmiernej aglomeracji stosuje się dodatkowo związki stabilizujące, takie jak polimer poliwinylpirolidon (PVP) czy surfaktanty, które zwiększają stabilność układu koloidalnego.

Tabela 1. Zestawienie metod wytwarzania nanocząstek [8]

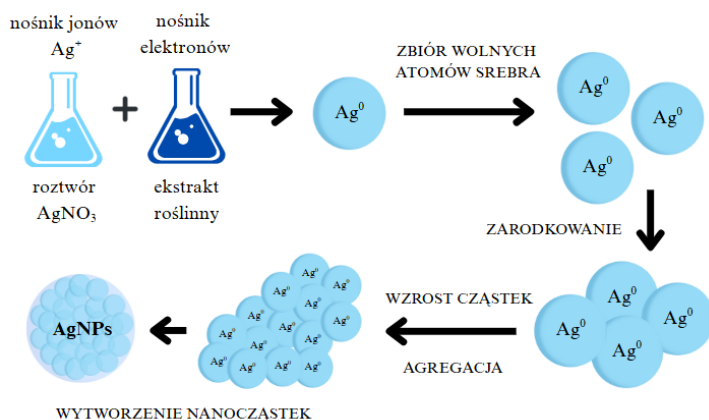
Table 1. Summary of producing nanoparticles methods [8]

Nazwa metody	Rodzaj prekursora srebra	Rozmiar cząsteczek [nm]
Redukcja chemiczna	AgNO_3	2-650 (w zależności od użytych środków stabilizujących i redukujących)
Metoda elektrochemiczna	AgNO_3	~11
Synteza fizyczna	Przewody srebrowe	~10
Synteza fizyczna	AgNO_3	14-27

Inną szeroko stosowaną metodą jest synteza elektrochemiczna, oparta na procesach zachodzących na elektrodach zanurzonych w roztworze elektrolitu zawierającym jony srebra. W trakcie elektrolizy dochodzi do utleniania srebra na anodzie i jego redukcji na katodzie, co prowadzi do powstawania nanocząstek w środowisku reakcyjnym. Istotną zaletą tej metody jest możliwość precyzyjnej kontroli parametrów procesu, takich jak natężenie prądu, napięcie, czas elektrolizy, temperatura oraz skład elektrolitu. Parametry te wpływają bezpośrednio na wielkość, morfologię oraz stopień dyspersji otrzymywanych nanocząstek.

Dzięki temu możliwe jest uzyskanie AgNPs o wysokiej jednorodności i powtarzalnych właściwościach fizykochemicznych, co ma szczególne znaczenie w zastosowaniach biomedycznych i farmaceutycznych.

Metody fizyczne syntezy nanocząstek srebra obejmują między innymi odparowanie i kondensację, ablację laserową, pirolizę oraz techniki wykorzystujące ceramiczne elementy grzejne. W porównaniu z metodami chemicznymi pozwalają one na otrzymywanie nanocząstek o wysokiej czystości, ponieważ nie wymagają stosowania chemicznych czynników redukujących ani stabilizatorów, które mogłyby pozostawiać jako zanieczyszczenia produktu końcowego. Ich wadą jest jednak zwykle większe zapotrzebowanie energetyczne oraz konieczność stosowania specjalistycznej aparatury. W trakcie procesu syntezy powstające atomy srebra ulegają zderzeniom i agregacji, inicjując proces zarodkowania (nukleacji), prowadzący do tworzenia stabilnych jąder krystalizacji. W kolejnych etapach do utworzonych zarodków przyłączają się następne atomy oraz klastry srebra, co skutkuje wzrostem nanocząstek i kształtowaniem ich końcowych właściwości fizykochemicznych.



Rysunek 1. Mechanizm zielonej syntezy nanocząstek

Figure 1. Mechanism of green nanoparticles synthesis

Odrębną grupę stanowią metody biologiczne, określane jako zielona synteza (ang. *green synthesis*, Rys. 1), wykorzystujące ekstrakty roślinne, mikroorganizmy lub biomolekuły jako naturalne czynniki redukujące i stabilizujące. Metoda ta jest uznawana za bardziej przyjazną środowisku i ekonomiczną ze względu na ograniczenie stosowania toksycznych odczynników chemicznych oraz niższe zapotrzebowanie energetyczne. W przypadku syntezy z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych proces rozpoczyna się od przygotowania roztworu azotanu srebra (AgNO_3) oraz ekstraktu zawierającego związki biologicznie czynne. Po zmieszanii reagentów związki obecne w ekstrakcie, takie jak polifenole, flawonoidy, terpenoidy, białka czy cukry redukują jony Ag^+ do srebra metalicznego (Ag^0).

Powstałe atomy srebra tworzą zarodki krystalizacji, które następnie ulegają wzrostowi, prowadząc do formowania nanocząstek. Jednocześnie obecne w ekstrakcie grupy funkcyjne, zwłaszcza hydroksylowe, karbonylowe i aminowe, adsorbują się na powierzchni nanocząstek, zapobiegając ich nadmiernej agregacji i zwiększając stabilność koloidalną układu. Dzięki temu możliwe jest uzyskanie stabilnych AgNPs o pożądanych właściwościach fizykochemicznych [9].

Bakteriobójczość polega na bezpośredniej terminacji bakterii przy użyciu czynnika chemicznego, fizycznego i/lub biologicznego. Proces ten zachodzi m.in. poprzez uszkodzenie błony komórkowej, destabilizację struktur wewnętrznych komórki i/lub degradację materiału genetycznego [10]. W efekcie dochodzi do utraty integralności komórki, zaburzeń metabolicznych i ostatecznie śmierci bakteryjnej. W niektórych przypadkach środki bakteriobójcze mogą również hamować tworzenie biofilmu, co dodatkowo osłabia odporność bakterii na leczenie [11]. Warto zauważyć, że wszystkie te degradujące czy inhibujące rozrost mechanizmy mogą występować jednocześnie, intensyfikując biobójczość wobec mikroorganizmów. Istnieje również sposób hamowania rozwoju bakterii, zwany bakteriostatycznością. Polega on na zatrzymaniu rozmnażania się bakterii przy użyciu wybranego, selektywnego czynnika. W przypadku działania bakteriostatycznego bakterie pozostają żywe, ale nie mogą się dzielić, co pozwala na ostateczną eliminację drobnoustrojów z poziomu układu odpornościowego gospodarza.

Badania bakteriobójczości można realizować różnymi metodami. Jedną z nich jest określanie minimalnego stężenia hamującego (MIC) wzrost danego szczepu bakterii [12]. W badaniu przygotowywana jest seria rozcieńczeń badanego środka, kolejno podaje się standardową liczbę komórek bakteryjnych. Następnie przeprowadza się inkubację szczepów przy jednoczesnej kontroli najniższego stężenia przy jakim zauważalne jest zatrzymanie lub spadek wzrostu [13]. Istnieje również podobna technika działająca w analogiczny sposób, czyli analiza minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC).

Różni się ona jedynie końcowym etapem, gdzie szukany jest skuteczny zakres dawek powodujących bakteriobójczość.

Ponadto wyróżnia się także test bakteriobójczy surowicy (SBT), który służy do monitorowania skuteczności leczenia antybiotykami podczas terapii. W odróżnieniu od wcześniej opisanych metod laboratoryjnych, SBT uwzględnia stężenie leku osiągnięte w organizmie pacjenta oraz aktywność składników surowicy. Test ten opiera się na badaniu funkcjonalnym, oceniającym zdolność surowicy do eliminacji bakterii, z udziałem zarówno antybiotyków, jak i układu odpornościowego (uwzględniając przeciwciała oraz dopełniacze) [14].

Bakteriobójczość może zależeć od kilku czynników. Jednym z nich jest czas kontaktu substancji/preparatu z bakterią. Zbyt krótki czas działania czynnika może jedynie spowolnić rozmnażanie bakterii, nie prowadząc do ich eliminacji [15]. Dlatego kluczowe jest dobranie odpowiedniego czasu ekspozycji. Kolejnym istotnym czynnikiem jest zmiana wartości pH.

Dla niektórych bakterii zmiana kwasowości lub zasadowości środowiska, jak również stężenie badanej substancji, może zwiększać skuteczność działania substancji bakteriobójczych. Zbyt duże rozcieńczenie może sprawić, że środek nie będzie w stanie skutecznie eliminować bakterii.

1. KOMPLEKSY SREBROWE ZWIĄZKÓW CYKLICZNYCH

Jony srebra(I) charakteryzują się znaczną zdolnością do tworzenia kompleksów koordynacyjnych z ligandami o zróżnicowanej budowie chemicznej, co umożliwia otrzymywanie związków o odmiennych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych. Kompleksy przedstawione na rysunku 2 ilustrują różnorodność architektur molekularnych osiąganą poprzez modyfikację liczby oraz rozmieszczenia aromatycznych fragmentów ligandów, a także zmianę liczby atomów donorowych uczestniczących w koordynacji jonu Ag(I) . Większość zaprezentowanych struktur zawiera liczne układy aromatyczne i heteroaromatyczne, jednak różnią się one zarówno stopniem sprzężenia elektronowego, jak i położeniem względem centrum metalicznego. W konsekwencji kompleksy te wykazują zróżnicowaną geometrię koordynacyjną oraz odmienną stabilność termodynamiczną i kinetyczną.

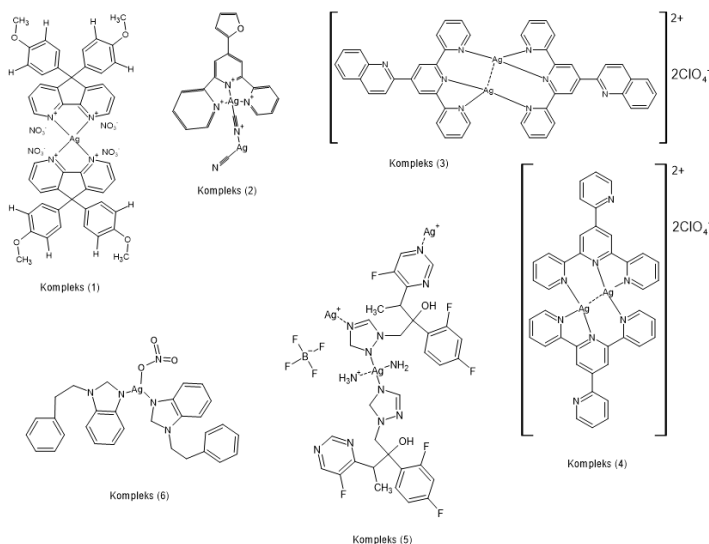
Na uwagę zasługuje również zróżnicowanie liczby segmentów ligandowych otaczających jon srebra. W niektórych strukturach centrum Ag(I) koordynowane jest przez pojedynczy ligand wielodentny, podczas gdy w innych występują rozbudowane układy zawierające kilka aromatycznych fragmentów zdolnych do jednoczesnego oddziaływania z jonem metalu. Takie modyfikacje strukturalne wpływają na lipofilowość, rozpuszczalność oraz zdolność kompleksów do oddziaływań z biomolekułami, w tym białkami, błonami komórkowymi i kwasami nukleinowymi.

Przedstawione na rysunku związki zostały wybrane jako reprezentatywne przykłady ukazujące zależność pomiędzy budową chemiczną a aktywnością biologiczną kompleksów srebra. Dotychczasowe badania wskazują, że zarówno liczba i rozmieszczenie układów aromatycznych, jak i charakter ligandów koordynujących mogą istotnie wpływać na aktywność przeciwdrobnoustrojową, przeciwwirusową oraz cytotoksyczną tych związków. Zależność struktura–aktywność stanowi obecnie jeden z głównych kierunków badań nad projektowaniem nowych kompleksów srebra o potencjalnych zastosowaniach biomedycznych.

1.1. PRZEGLĄD SYMETRYCZNYCH KOMPLEKSÓW SREBROWYCH

Kompleks srebrowy $[\text{Ag}(9,9\text{-di-(4-metoksyfenylo)-4,5-diazafluoren})_2]\text{NO}_3$ ((1); Rys. 2) składa się z centralnie usytuowanego jonu srebra otoczonego 8 pierścieniami aromatycznymi, z czego cztery najbliższe mu sąsiadujące, to stabilizujące strukturę odmiany pierścieni pirydynowych. Cząsteczka jest osiowo symetryczna, a otaczające atom srebra pierścienie aromatyczne zawierają podstawione grupy alkoksylowe.

Obecność tych ugrupowań wpływa na właściwości fizykochemiczne kompleksu, w szczególności jego lipofilowość, rozpuszczalność oraz zdolność do oddziaływania z układami biologicznymi. Zmiany te mogą przekładać się na korzystniejsze parametry farmakokinetyczne, w tym zwiększoną biodostępność i efektywniejszy transport przez bariery biologiczne. Ponadto grupy alkoksylowe mogą wzmacniać oddziaływania kompleksu z błonami komórkowymi mikroorganizmów, co może przyczyniać się do zwiększenia jego aktywności przeciwdrobnoustrojowej. W literaturze opisano również związki zawierające tego typu ugrupowania jako wykazujące podwyższoną aktywność cytotoksyczną wobec wybranych linii komórkowych [1,2].



Rysunek 2. Przykłady bioaktywnych kompleksów srebra (I) reprezentujących różne typy ligandów i architektur koordynacyjnych [1-6]

Figure 2. Representative bioactive silver(I) complexes illustrating diverse ligand classes and coordination architectures [1-6]

Otrzymywanie kompleksu (1) zachodzi wieloetapowo, zaczynając od zasadowej dekarboksylacji fendionu (1,10-fenantroliny-5,6-dionu) do uzyskania 4,5-diazafluoren-9-onu, który poddawany jest substytucji elektrofilowej w obecności kwasu siarkowego (VI) (Rys. 3). W temperaturze 65°C przyłączany jest anizol z podłączonymi grupami alkoksylowymi, co stanowi podstawę do kontaktowania z azotanem(V) srebra(I) w stosunku molowym 2:1 [3].

Kompleks (1) należy do szerokiej grupy związków srebra(I) zawierających ligandy diazafluorenowe, które są uznawane za strukturalne analogi układów fenantrolinowych i bipyrydynowych. W porównaniu z klasycznymi ligandami azotowymi pochodne 4,5-diazafluorenu charakteryzują się większą sztywnością konformacyjną wynikającą z obecności mostka w pozycji 9, co sprzyja tworzeniu stabilnych układów koordynacyjnych.

Szczególne znaczenie ma możliwość funkcjonalizacji tej pozycji różnymi podstawnikami aromatycznymi, umożliwiającą precyzyjne kształtowanie właściwości elektronowych i sterycznych ligandów. W przypadku kompleksu $[Ag(9,9\text{-di-(4-metoksyfenylo)-4,5\text{-diazafluoreny})_2]NO_3$ obecność grup metoksyfenylowych prowadzi do rozszerzenia układu sprzężonych elektronów π oraz zwiększenia możliwości występowania oddziaływań π - π . Analogiczne kompleksy diazafluorenowe wykazują często wysoką trwałość termodynamiczną i korzystne właściwości fotofizyczne, a ich aktywność biologiczna jest związana zarówno z obecnością jonu srebra(I), jak i specyficzną architekturą liganda [3].

W obrębie rodziny ligandów 4,5-diazafluorenowych najczęściej modyfikowanym elementem struktury jest atom węgla w pozycji 9, który umożliwia wprowadzanie podstawników alkilowych, arylowych oraz heteroaromatycznych. Szczególną popularnością cieszą się pochodne 9,9-dimetylo-4,5-diazafluorenu, 9-fenyl-4,5-diazafluorenu oraz układy zawierające podstawione pierścienie metoksyfenylowe, fluorofenylowe lub pirydylowe. Oprócz modyfikacji pozycji 9 stosowane są również zmiany w obrębie samych pierścieni diazafluorenowych poprzez wprowadzanie grup elektronodonorowych lub elektronoakceptorowych. Modyfikacje te wpływają na gęstość elektronową liganda, siłę wiązania z jonem metalu, geometrię kompleksu oraz jego stabilność. W przypadku kompleksów srebra(I) rozbudowane układy aromatyczne sprzyjają oddziaływaniom z biomolekułami i mogą zwiększać zdolność kompleksów do penetracji środowiska komórkowego. Dzięki dużej podatności na modyfikacje strukturalne ligandy diazafluorenowe pozostają jedną z najbardziej perspektywicznych platform do projektowania nowych kompleksów srebra o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i przeciwnowotworowych [3,4].

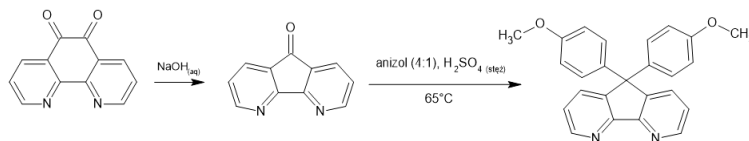
Bioaktywność kompleksu (1) (Rys. 2) została przetestowana na liniach komórkowych ludzkiego raka nabłonka pęcherzykowego (A-549), czerniaka (HBT70) i raka szyjki macicy (HeLa). Dodatkowo został wykazany wpływ substancji aktywnych na normalne ludzkie fibroblasty (HDFn) oraz nieczłośliwe fibroblasty płuc (MRC-5). Została zauważona aktywność przeciwnowotworowa oraz duża aktywność antyproliferacyjna dla komórek A549 oraz HeLa. Kompleks wykazuje także wyższą selektywność wiązania w stosunku do komórek raka płuc. Wobec degradacji nowotworowej glikoproteiny P, znajdującej się głównie w przewodach żółciowych i trzustkowych, a także kanalikach nerkowych, związek może zostać zastosowany w chemioterapii. Ponadto sugeruje się rozpoczęcie badań w kierunku wykorzystania kompleksu w terapiach nowotworów lekoopornych [4]. Otrzymane wyniki sugerują, że badane kompleksy mogą stanowić obiecującą grupę związków do dalszych badań nad terapią raka szyjki macicy, ze względu na obserwowaną aktywność przeciwnowotworową porównywalną z aktywnością wykazaną wobec komórek raka płuc. Jednocześnie analiza współczynnika selektywności wskazuje na mniej korzystny profil działania w przypadku czerniaka.

Wartości SI poniżej 1 (Tab. 2) świadczą o większej wrażliwości prawidłowych fibroblastów skóry właściwej na działanie badanych kompleksów niż komórek czerniaka, co może wskazywać na podwyższone ryzyko działań niepożądanych i ograniczoną przydatność terapeutyczną w tym przypadku.

Tabela 2. Porównanie działanie kompleksu (1) na zahamowanie żywotności komórki na 50% na różnych liniach komórkowych i wskaźnikach selektywności (SI_L - wskaźnik selektywności dla raka płuca, SI_M - wskaźnik selektywności dla czerniaka)

Table 2. A comparison of the effect of complex (1) on the 50% inhibition of cell viability in different cell lines, alongside selectivity indices (SI_L for lung cancer and SI_M for melanoma)

Wartości IC ₅₀ [μM] wobec wybranych linii komórkowych					SI_L	SI_M
<i>A549</i>	<i>MRC-5</i>	<i>HeLa</i>	<i>HTB70</i>	<i>HDFn</i>		
1,43	23,04	1,44	19,78	12,14	16,1	0,6



Rysunek 3. Etapowy schemat syntezy składowych kompleksu diazafluorenowego [1]

Figure 3. Stepwise synthesis scheme of diazafluorene complex components [1]

Kompleksy (3) i (4) (Rys. 1) należą do grupy dinuklearnych układów koordynacyjnych opartych na ligandach terpirydynowych modyfikowanych ugrupowaniami heteroaromatycznymi (chinoliną lub pirydyną). Cechą wspólną tych związków jest wykorzystanie trójskładnikowych ligandów, które umożliwiają utworzenie stabilnych struktur z dwoma centrami srebra(I), dzięki zdolności do koordynacji przez trzy atomy azotu, z czego dwa należą do jednego ligandu, a trzeci pochodzi z sąsiedniej cząsteczki. W przypadku kompleksu (3), ligandem jest 4'-(izochinolilo)-2,2':6',2''-terpirydyna, natomiast w kompleksie (4) zastosowano analogiczną strukturę, w której zamiast grupy izochinolilowej obecna jest grupa pirydylowa przyłączona w pozycji 2.

Oba kompleksy otrzymano w dwóch etapach. Pierwszym było utworzenie ligandu przez reakcję 2-acetylpirydyny z izochinolino-3-karboaldehydem (dla kompleksu (3)) lub pirydyno-2-karboaldehydem (dla kompleksu (4)) w środowisku zasadowym. Reakcja ta prowadzi do kondensacji trzech jednostek pirydynowych w układ terpirydynowy z podstawieniem aromatycznym. Taka struktura umożliwia silną, wielocentrową koordynację jonów metalu, co ma kluczowe znaczenie dla formowania się struktur supramolekularnych i właściwości biologicznych.

Drugim etapem była reakcja ligandów z AgClO_4 w stosunku molowym 1:1 w środowisku obojętnym. Powstające kompleksy są kationami dwudodatnimi, których ładunek neutralizowany jest przez jedną (kompleks (3)) lub dwie (kompleks (4)) anionowe reszty nadchloranowe [7,8].

Kompleksy (3) i (4) należą do szerokiej grupy układów koordynacyjnych opartych na ligandach terpirydynowych, które stanowią jedną z najważniejszych klas ligandów polipirydynowych wykorzystywanych w chemii koordynacyjnej. Kompleksy te można uznać za reprezentatywnych przedstawicieli funkcjonalizowanych pochodnych terpirydyny, stanowiących modelowe układy do badania zależności pomiędzy budową liganda a właściwościami koordynacyjnymi i biologicznymi kompleksów srebra(I). Ich popularność wynika z obecności trzech atomów azotu zdolnych do jednoczesnej koordynacji centrum metalicznego, co umożliwia tworzenie trwałych kompleksów jedno- i wielojądrowych. Szczególne znaczenie ma możliwość łatwej funkcjonalizacji pozycji 4' centralnego pierścienia pirydynowego, która pozwala na wprowadzanie różnorodnych ugrupowań aromatycznych i heteroaromatycznych bez zaburzania podstawowego układu koordynacyjnego.

Najczęściej spotykane modyfikacje obejmują przyłączanie grup fenylowych, pirydylowych, chinolinowych, izochinolinowych oraz innych układów heteroaromatycznych rozszerzających sprzężenie elektronowe liganda. Wprowadzenie takich podstawników wpływa na właściwości elektronowe i steryczne kompleksów, a także na ich zdolność do tworzenia oddziaływań π - π oraz struktur supramolekularnych. W przypadku kompleksów (3) i (4) różnice wynikają z obecności ugrupowania izochinolinowego lub pirydylowego, które modyfikują zarówno powierzchnię aromatyczną cząsteczki, jak i jej polarność. Zmiany te mogą wpływać na stabilność kompleksów, ich rozpuszczalność oraz charakter oddziaływań z biomolekułami. Dzięki dużej podatności na modyfikacje strukturalne ligandy terpirydynowe są obecnie wykorzystywane jako uniwersalna platforma do projektowania nowych kompleksów srebra o kontrolowanych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych.

Kompleksy te zostały poddane testom biologicznym w celu oceny ich działania przeciwdrobnoustrojowego wobec wybranych ludzkich patogenów, w tym bakterii Gram-ujemnych (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*), Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus*, w tym szczep MRSA) oraz grzybów (*Candida albicans*). Kompleks (3), zawierający grupę izochinolinową, wykazał umiarkowaną aktywność wobec *E. coli* oraz *S. typhi*, a także wobec drożdżaka *C. albicans*. Brak aktywności zaobserwowano wobec szczepu MRSA, co może sugerować ograniczoną zdolność kompleksu do interakcji z błoną komórkową bakterii Gram-dodatnich lub działanie mechanizmów oporności typowych dla tego szczepu. Z kolei kompleks (4), zawierający jako podstawnik pierścień pirydylowy, wykazywał szersze spektrum działania. Wyniki badań *in vitro* wykazały skuteczność wobec wszystkich badanych mikroorganizmów, w tym zarówno bakterii Gram-ujemnych jak i MRSA oraz *C. albicans*. Największą wrażliwość obserwowano w przypadku *E. coli*, co może wynikać z lepszej penetracji błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych przez bardziej hydrofilowy kompleks.

Działanie wobec *C. albicans* jest również istotne z punktu widzenia potencjalnych zastosowań w terapii infekcji grzybiczych, szczególnie w kontekście narastającej oporności na standardowe leki przeciwgrzybiczne [9].

Zaobserwowana różnica w aktywności biologicznej między kompleksami może wynikać z obecności różnych ugrupowań przyłączonych do pierścienia centralnego terpirydyny [10]. Grupa pirydylowa w kompleksie (4) jest bardziej hydrofilowa niż izochinolina obecna w kompleksie (3), co może sprzyjać lepszej rozpuszczalności kompleksu oraz efektywniejszej dyfuzji przez błony komórkowe mikroorganizmów. Ponadto, różnice w liczbie reszt anionowych (ClO_4^-) wpływają na ogólny ładunek i stabilność układu w środowisku biologicznym. Wspólną cechą obu kompleksów jest to, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa ligandów wolnych (niezwiązanych z jonem srebra) była znacznie niższa niż kompleksów srebra (I). Wynika to z synergistycznego efektu połączenia układu aromatycznego ligandu z właściwościami biobójczymi jonów srebra(I), co jest zgodne z literaturą wskazującą na większą skuteczność związków kompleksowych niż składników indywidualnych [7-11].

Kompleks (6) to mononuklearny układ koordynacyjny zawierający jeden atom srebra(I), dwa ligandy N-(2-feniloetylo)benzimidazolowe oraz anion azotanowy stabilizujący ładunek. Ligandy benzimidazolowe stanowią kluczowy element warunkujący właściwości biologiczne kompleksu. Syntezę kompleksu przeprowadzono w środowisku etanolowym poprzez reakcję N-alkilowanych benzimidazoli z azotanem srebra(I), z zachowaniem warunków ochronnych przed światłem przez 4 godziny. Obecność ugrupowań benzimidazolowych oraz styrylowych zwiększa rozpuszczalność i lipofilowość kompleksu, co przekłada się na efektywną penetrację błon komórkowych. Koordynacja przez atomy azotu benzimidazolu zapewnia stabilność kompleksu, a styrylowe fragmenty przyczyniają się do wzmocnienia oddziaływań hydrofobowych z lipidowymi komponentami błon biologicznych, co ułatwia transport jonów srebra do wnętrza komórek patogenów.

Testy biologiczne kompleksu obejmowały szerokie spektrum drobnoustrojów: bakterie Gram-dodatnie (*Enterococcus faecalis*, MRSA), Gram-ujemne (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) oraz grzyb *Candida albicans* [18]. Kompleks wykazał silną aktywność przeciwdrobnoustrojową, szczególnie wobec szczepów Gram-ujemnych oraz grzybiczych. Działanie to wynika z synergii mechanizmów: benzimidazol oddziałuje z materiałem genetycznym i białkami patogenów, powodując zahamowanie ich funkcji metabolicznych, podczas gdy jony srebra(I) indukują niszczenie struktur błonowych oraz generację ROS, co prowadzi do depolaryzacji błony i śmierci komórki. Badania nad hamowaniem wzrostu biofilmów wykazały, że kompleks (6) skutecznie redukuje tworzenie się biofilmów oraz kolonii opornych na antybiotyki, co jest kluczowe w zwalczaniu infekcji przewlekłych i odpornych na leczenie [19]. Jego potencjał w walce z drobnoustrojami wieloopornymi sprawia, że jest obiecującym kandydatem do dalszych badań preklinicznych.

1.2. PRZEGLĄD ASYMETRYCZNYCH KOMPLEKSÓW SREBROWYCH

Kompleks (2), o wzorze sumarycznym $[\text{Ag}_2(\text{CN})_2(\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O})]$, został otrzymany jako trwały w temperaturze pokojowej, stały kompleks o masie molowej 567,10 g/mol. Struktura zawiera dwa atomy srebra(I), pięć atomów azotu, jeden atom tlenu oraz trójpierścieniowy ligand aromatyczny - 4'-furanylo-2,2':6',2"-terpirydynę. W cząsteczce występują trzy skondensowane pierścienie aromatyczne, z których dwa zawierają atomy azotu zdolne do koordynacji z jonem metalu. Ligand ten pełni rolę trójpodzielnej chelatora, tworząc stabilne wiązania koordynacyjne z jonem srebra(I), przy czym dodatkowa koordynacja zachodzi poprzez grupę cyjankową, tworząc mostek między centrami metalicznymi. Zgodnie z wynikami analizy rentgenostrukturalnej kompleks tworzy układ dinuklearny, w którym dwa jony srebra(I) są połączone za pośrednictwem mostka cyjankowego. Otoczenie koordynacyjne atomów srebra wykazuje geometrię zasadniczo liniową, charakterystyczną dla jonów Ag(I) , jednak obecność dodatkowych oddziaływań koordynacyjnych powoduje odchylenia od idealnej geometrii i prowadzi do powstania zniekształconego układu tetraedrycznego.

Syntezę kompleksu rozpoczęto od przygotowania ligandu terpirydynowego. Proces ten oparto na zmodyfikowanej procedurze Kröhnkego, w której rozpuszczano wodorotlenek sodu w wodzie, a następnie dodawano absolutny etanol. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej do 0 °C wprowadzano 2-acetylopirydynę oraz odpowiedni aldehyd (pochodną furanu). Mieszaninę utrzymywano w tej temperaturze przez 2-4 godziny, a następnie doprowadzano do temperatury pokojowej i dodawano 25% roztwór amoniaku. Otrzymany ligand został oczyszczany przez krystalizację z acetonitrylu i acetonu. Ligand rozpuszczano w wysuszonym acetonitrylu i mieszało ze stechiometryczną ilością cyjanku srebra(I) (AgCN) w stosunku molowym 1:1, uzyskując końcową strukturę kompleksu.

Kompleks (2) został poddany ocenie aktywności biologicznej wobec wybranych szczepów bakteryjnych, obejmujących zarówno bakterie Gram-dodatnie (*Staphylococcus aureus*, *MRSA*), jak i Gram-ujemne (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*). Testy przeprowadzono metodą oznaczania minimalnego stężenia hamującego (MIC), w zakresie 0.006–1000 µg/ml, z zastosowaniem agarów Mueller-Hinton i inokulacją zawiesin bakteryjnych skalibrowanych do 0.5 skali McFarlanda. Sam ligand, zawierający ugrupowanie furanylowe, wykazywał niską aktywność przeciwdrobnoustrojową, ograniczoną głównie do pojedynczych szczepów (*MRSA*, *E. coli*), co potwierdza hipotezę, że kompleksowanie z jonem metalu zwiększa skuteczność biologiczną. W przypadku kompleksu (2) zaobserwowano znaczną poprawę aktywności przeciwbakteryjnej, zwłaszcza wobec *E. coli* oraz *P. aeruginosa*, dla których wartość MIC wynosiła odpowiednio 0.2 i 0.4 µg/ml, co stanowi porównywalną lub lepszą skuteczność niż referencyjnej ciprofloksacyny. Prawdopodobną przyczyną podwyższonej aktywności kompleksu jest obecność furanu, który wykazuje właściwości lipofilowe oraz zdolność do oddawania elektronów. Może to zwiększać powinowactwo kompleksu do błon komórkowych bakterii, ułatwiając jego penetrację.

Chelatacja jonów srebra(I) przez terpirydynowy ligand powoduje częściową delokalizację ładunku i zmniejszenie polarności centrum metalicznego, co z kolei sprzyja interakcji z błoną lipidową mikroorganizmów, zgodnie z teorią chelatacji według Tweedy'ego. Aktywność wobec szczepu *Salmonella typhimurium* była znikoma, co można tłumaczyć charakterystyką ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych oraz ich zdolnością do wydajnego usuwania związków ksenobiotycznych. Wskazuje to, że skuteczność terapeutyczna kompleksów srebra(I) może być szczepozależna i wymaga dalszych badań z wykorzystaniem szerokiego panelu bakterii i metod komplementarnych [5,6].

Tabela 3. Porównanie minimalnego stężenia hamującego kompleksów srebrowych (2) – (4) [2-4]

Table 3. A comparison of the minimum inhibitory concentrations of silver complexes (2) – (4) [2-4]

Numer kompleksu srebrowego	Wartości MIC [$\mu\text{g/ml}$] wobec wybranych szczepów bakterii					
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Gronkowiec złocisty</i>	MRSA
(2)	3,1	brak	nie badano	12,5	25	25
(3)	30	35	55	nie badano	nie badano	nie badano
(4)	25	30	55	nie badano	nie badano	nie badano

Kompleks (5) (Rys. 2), $[\text{Ag}(5\text{-fluoro-4-[2-hydroksy-3-metylo-2-(2,4-difluorofenylo)propylo]-1,3-diazyna)}]^+$, to kationowy system koordynacyjny oparty na strukturze pochodnej worykonazolu zawierającym trzy atomy srebra(I), z anionem tetrafluoroboranowym jako przeciwwagą ładunku. Koordynacja srebra zachodzi głównie przez atomy azotu w układzie triazolowym i diazynowym, co umożliwia tworzenie trwałych, polikoordynacyjnych struktur. Proces syntezy kompleksu obejmował reakcję worykonazolu z solą srebra(I) w środowisku etanolowym, prowadzoną przez 3 godziny w temperaturze pokojowej i przy ograniczonym dostępie światła. Struktura worykonazolu zawiera liczne fragmenty fluoroaromatyczne, które po włączeniu do kompleksu determinują jego geometrię koordynacyjną oraz właściwości fizykochemiczne. Obecność fluorowanych pierścieni aromatycznych nadaje związkowi bardziej lipofilowy charakter, co może ułatwiać oddziaływania z błonami biologicznymi. Jednocześnie rozbudowany układ sprzężonych elektronów sprzyja stabilizacji całej struktury kompleksu. Dodatkowo heterocykliczne ugrupowania triazolowe i diazynowe, zawierające donorowe atomy azotu, zapewniają efektywną koordynację jonu srebra(I), zwiększając trwałość kompleksu. Obecność tych fragmentów może również wpływać na interakcje z lipidowymi składnikami błon komórkowych, potencjalnie ułatwiając transport związku przez bariery biologiczne. Właściwości te mogą odgrywać istotną rolę w obserwowanej aktywności biologicznej badanego kompleksu [12-14].

Testy biologiczne wskazały na wyróżniającą aktywność przeciwgrzybiczą kompleksu (5) wobec klinicznych szczepów *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* oraz *C. glabrata* (kolekcja ATCC).

Minimalne stężenia hamujące (MIC) wynosiły odpowiednio 0.18; 0.02; 0.13 oraz 0.06 $\mu\text{g/ml}$, co przewyższa efektywność samego worykonazolu. Badania oparte na metodach mikrodyfuzji i oznaczaniu MIC wykazały, że kompleks wykazuje silniejszy efekt fungistatyczny, co jest powiązane z synergistycznym działaniem jonów srebra(I), które indukują stres oksydacyjny w komórkach grzybów, zaburzając integralność błon i hamując funkcje mitochondrialne. Ponadto, obecność fluoru w ligandzie zwiększa oddziaływanie na enzymy biosyntezy ergosterolu, co prowadzi do zaburzeń metabolizmu lipidów w patogenach. Analizy cytotoksyczności kompleksu przeprowadzono także na ludzkiej linii fibroblastów płucnych (MRC-5). Zaobserwowano, że kompleks wywołuje cytotoksyczne efekty przy stężeniach niższych niż wolny worykonazol, co wskazuje na zwiększoną aktywność biologiczną, ale jednocześnie podkreśla konieczność precyzyjnego określenia okna terapeutycznego. Badania mechanistyczne sugerują, że toksyczność ta jest związana z indukcją apoptozy poprzez generację reaktywnych form tlenu (ROS) i zaburzenia homeostazy jonowej w komórkach ssaków (Tab. 4) [15-16].

Tabela 4. Porównanie aktywności biologicznej kompleksów (5) i (6) [12-15,18]

Table 4. A comparison of complexes (5) and (6) biological activity [12-15,18]

Patogen/Szczep	Kompleks (5) (MIC $\mu\text{g/ml}$)	Kompleks (6) (aktywność)
<i>Candida albicans</i>	0,18	aktywny (wysoki potencjał fungistatyczny)
<i>Candida parapsilosis</i>	0,02	brak danych
<i>Candida krusei</i>	0,13	brak danych
<i>Candida glabrata</i>	0,06	brak danych
<i>Escherichia coli</i>	brak danych	wysoka aktywność
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	brak danych	wysoka aktywność
MRSA (<i>Staphylococcus aureus</i> oporny)	brak danych	potwierdzona aktywność
<i>Enterococcus faecalis</i>	brak danych	potwierdzona aktywność
MRC-5 (linia komórkowa człowieka)	cytotoksyczny	nie oceniano

1.3. KOMPLEKSY SREBRA Z LIGANDAMI POCHODZENIA NATURALNEGO

W ostatnich latach obserwuje się znaczący wzrost zainteresowania kompleksami srebra(I) zawierającymi ligandy pochodzenia naturalnego. Kierunek ten stanowi połączenie chemii koordynacyjnej z chemią produktów naturalnych i wpisuje się w trend poszukiwania nowych związków biologicznie aktywnych o ograniczonej toksyczności względem zdrowych komórek. W przeciwieństwie do klasycznych ligandów syntetycznych związki pochodzenia naturalnego charakteryzują się dużą różnorodnością strukturalną oraz obecnością licznych grup funkcyjnych zdolnych do koordynacji jonów metali. Szczególne znaczenie mają grupy hydroksylowe, karbonylowe, aminowe i karboksylowe, które umożliwiają tworzenie trwałych układów chelatowych z jonami srebra(I) [20-22].

Wśród naturalnych ligandów najczęściej wykorzystywanych do syntezy kompleksów srebra znajdują się flawonoidy (Tab. 5). Związki te należą do grupy polifenoli szeroko występujących w roślinach i wykazujących właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne oraz przeciwnowotworowe. Szczególnie intensywnie badane są pochodne kwercetyny, chryzyny, luteoliny oraz kemferolu. Struktury te zawierają układy hydroksylowo-karbonylowe zdolne do tworzenia stabilnych kompleksów z jonami metali. Badania wykazały, że proces kompleksowania prowadzi do modyfikacji rozkładu gęstości elektronowej w obrębie cząsteczki oraz zwiększenia stabilności chemicznej liganda. W wielu przypadkach obserwowano również wzrost aktywności przeciwdrobnoustrojowej i przeciwnowotworowej w porównaniu z wolnymi flawonoidami, co tłumaczone jest efektem synergistycznym pomiędzy ligandem, a centrum metalicznym [21-25].

Z punktu widzenia chemii koordynacyjnej szczególnie istotna jest możliwość modyfikacji strukturalnej flawonoidów. Zmiana liczby i położenia grup hydroksylowych wpływa bezpośrednio na siłę koordynacji oraz geometrię powstających kompleksów. Wprowadzenie grup metoksyowych zwiększa natomiast lipofilowość cząsteczki i może wpływać na jej zdolność do przenikania przez błony biologiczne. Dzięki temu flawonoidy stanowią uniwersalną platformę do projektowania nowych ligandów o regulowanych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych [21,23].

Drugą ważną grupą naturalnych ligandów są kurkuminoidy (Tab. 5), których najbardziej znanym przedstawicielem jest kurkumina. Związek ten zawiera charakterystyczny układ β -diketonowy zdolny do efektywnej chelatacji jonów metali. Kompleksowanie kurkuminy prowadzi do zwiększenia jej stabilności chemicznej, ponieważ wolna kurkumina ulega stosunkowo łatwej degradacji w środowisku fizjologicznym. Wykazano ponadto, że kompleksy metali zawierające kurkuminę wykazują zwiększoną aktywność przeciwdrobnoustrojową, przeciwzapalną oraz przeciwnowotworową. Istotnym elementem projektowania takich układów jest możliwość modyfikowania pierścieni aromatycznych przez wprowadzanie podstawników elektronodonorowych lub elektronoakceptorowych, co pozwala regulować właściwości elektronowe i reaktywność całego kompleksu [20,24].

Coraz większą uwagę poświęca się również alkaloidom jako potencjalnym ligandom dla jonów srebra. Szczególnie interesujące są pochodne berberyny, sangwinaryny oraz innych alkaloidów heterocyklicznych zawierających atomy azotu uczestniczące w procesie koordynacji. W przeciwieństwie do flawonoidów, które koordynują metale głównie poprzez atomy tlenu, alkaloidy wykorzystują donorowe atomy azotu, prowadząc do powstawania odmiennych środowisk koordynacyjnych. Rozbudowane układy aromatyczne tych związków sprzyjają oddziaływaniom z kwasami nukleinowymi oraz białkami komórkowymi, co może zwiększać ich aktywność biologiczną [20,26].

Z punktu widzenia chemii koordynacyjnej istotne znaczenie ma sposób wiązania naturalnych ligandów z jonem srebra(I). W przypadku flawonoidów koordynacja zachodzi najczęściej poprzez układy hydroksylowo-karbonylowe, prowadząc do powsta-

nia pięcio- lub sześcioczłonowych pierścieni chelatowych. Powstanie takich struktur zwiększa stabilność termodynamiczną kompleksów oraz modyfikuje rozkład gęstości elektronowej w obrębie liganda. W rezultacie obserwuje się zmniejszenie polarności wybranych fragmentów cząsteczki i wzrost jej charakteru lipofilowego, co może sprzyjać łatwieszemu przenikaniu przez błony biologiczne. Efekt ten jest szczególnie widoczny w przypadku flawonoidów zawierających większą liczbę pierścieni aromatycznych oraz grup metoksyowych, które dodatkowo zwiększają powierzchnię oddziaływań hydrofobowych [21,22,25].

Analiza porównawcza poszczególnych klas naturalnych ligandów wskazuje, że ich właściwości koordynacyjne są silnie uzależnione od rodzaju atomów donorowych. Flawonoidy i kurkuminoidy koordynują jony srebra głównie poprzez atomy tlenu, natomiast alkaloidy wykorzystują przede wszystkim donorowe atomy azotu. Powoduje to powstawanie odmiennych środowisk koordynacyjnych wokół centrum metalicznego, co przekłada się na różnice w stabilności i reaktywności otrzymywanych kompleksów. Kompleksy zawierające ligandy azotowe często wykazują większą trwałość w roztworach wodnych, podczas gdy układy oparte na ligandach tlenowych charakteryzują się większą labilnością, ułatwiającą stopniowe uwalnianie jonów Ag(I) odpowiedzialnych za aktywność biologiczną [20,22,26].

Tabela 5. Charakterystyka strukturalna, właściwości koordynacyjne oraz aktywność biologiczna naturalnych ligandów wykorzystywanych do syntezy kompleksów srebra(I) [20-26]

Table 5. Structural characteristics, coordination properties, and biological activities of natural ligands employed in the synthesis of silver(I) complexes [20-26]

Klasa liganda	Główne atomy donorowe	Typ koordynacji	Najczęstsze modyfikacje	Główne efekty biologiczne
Flawonoidy	O,O	chelatowe 5- i 6-członowe	-OH, -OCH ₃	antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe
Kurkuminoidy	O,O	β -diketon	podstawienie pierścieni aromatycznych	przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe
Alkaloidy	N,N lub N,O	koordynacja przez N heterocykliczny	modyfikacje układów aromatycznych	interakcje z DNA, cytotoksyczność

Istotną rolę odgrywa również stopień aromatyczności liganda. Rozbudowane układy π -elektronowe obecne we flawonoidach, alkaloidach i kurkuminoidach sprzyjają oddziaływaniom π - π z biomolekułami, w szczególności z zasadami azotowymi DNA oraz aromatycznymi fragmentami białek. Zwiększenie liczby sprzężonych pierścieni aromatycznych prowadzi zwykle do wzrostu stabilności kompleksów oraz ich zdolności do tworzenia struktur supramolekularnych. Jednocześnie nadmierne zwiększenie hydrofobowości może ograniczać rozpuszczalność w środowisku wodnym, dlatego projektowanie nowych kompleksów opiera się na zachowaniu równowagi pomiędzy stabilnością koordynacyjną, lipofilowością oraz biodostępnością [21,23,24].

Wspólną cechą większości kompleksów srebra z ligandami pochodzenia naturalnego jest obserwowany efekt synergistyczny wynikający z połączenia aktywności biologicznej liganda z właściwościami biobójczymi jonu Ag(I). Kompleksowanie wpływa na rozpuszczalność, stabilność oraz zdolność transportu związków przez bariery biologiczne, a także może modyfikować ich oddziaływania z biomolekułami. Dzięki dużej różnorodności strukturalnej naturalnych metabolitów oraz możliwości ich dalszej funkcjonalizacji, związki te stanowią obecnie jedną z najbardziej perspektywicznych grup badanych w chemii medycznej srebra. W literaturze podkreśla się, że dalszy rozwój tej dziedziny może doprowadzić do opracowania nowych kompleksów o wysokiej selektywności działania, zdolnych do zwalczania drobnoustrojów wieloopornych oraz wspomagania terapii przeciwnowotworowych [20-26].

1.4. NANOMATERIAŁY SREBROWE

Nanocząstki srebra biosyntetyzowane przy użyciu ekstraktów roślinnych stanowią nowoczesne rozwiązanie, które łączy efektywność działania z minimalnym wpływem na środowisko naturalne. Proces ten jest nie tylko ekonomiczny, ale również eliminuje potrzebę stosowania niebezpiecznych substancji chemicznych, co ma istotne znaczenie w kontekście produkcji przemysłowej oraz szerokiego zastosowania w medycynie. Wykorzystanie ekstraktów roślinnych takich jak *Salvia sclarea* umożliwia kontrolę nad wielkością, kształtem i morfologią nanocząstek, co z kolei wpływa na ich właściwości fizykochemiczne i biologiczne.

Z punktu widzenia właściwości fizycznych, nanocząstki srebra charakteryzują się wysokim stosunkiem powierzchni do objętości, co sprawia, że ich powierzchnia aktywna jest znacznie większa niż w przypadku konwencjonalnych cząstek o większych rozmiarach. Dzięki temu nanocząstki wykazują zwiększoną reaktywność i zdolność do interakcji z komórkami mikroorganizmów. Ponadto, dzięki charakterystycznym właściwościom optycznym wynikającym z powierzchniowego rezonansu plazmonowego oraz korzystnym właściwościom elektrycznym, AgNPs znajdują zastosowanie w zaawansowanych systemach biosensorycznych, gdzie służą jako elementy wzmacniające sygnał detekcyjny. Nanocząstki te wykazują również aktywność katalityczną, przyspieszając przebieg wybranych reakcji chemicznych i procesów degradacji zanieczyszczeń. Dodatkowo są powszechnie stosowane jako składnik materiałów tekstylnych i opakowań aktywnych, którym nadają właściwości antybakteryjne i przeciugrzybicze, zwiększając bezpieczeństwo użytkowania oraz trwałość produktów.

Z biologicznego punktu widzenia, mechanizmy działania nanocząstek srebra wobec drobnoustrojów są wieloaspektowe i wciąż stanowią przedmiot intensywnych badań. Uważa się, że AgNPs mogą przenikać przez błony komórkowe bakterii, powodując zakłócenia w strukturze błony, co prowadzi do jej uszkodzenia i w konsekwencji do śmierci komórki.

Dodatkowo, nanocząstki srebra mogą generować reaktywne formy tlenu (ROS), które wywołują stres oksydacyjny w komórkach drobnoustrojów, prowadząc do uszkodzenia DNA, białek oraz lipidów błonowych. Tego rodzaju mechanizmy łączą się tworząc silne

działanie przeciwdrobnoustrojowe, które jest trudne do pokonania przez rozwijające się mechanizmy oporności.

Kolejnym istotnym aspektem, który wyróżnia biosyntetyzowane nanocząstki srebra, jest ich biokompatybilność i niska toksyczność względem komórek ludzkich. W przeciwieństwie do nanomateriałów produkowanych metodami chemicznymi, zielona synteza pozwala na uzyskanie nanocząstek pokrytych naturalnymi związkami pochodzącymi z ekstraktów roślinnych, które działają stabilizująco i mogą zmniejszać potencjalne skutki uboczne. To sprawia, że takie nanomateriały są bardziej perspektywiczne w zastosowaniach klinicznych, zwłaszcza w terapii miejscowej infekcji, powłok antybakteryjnych implantów czy w produkcji opatrunków medycznych.

W odniesieniu do aktywności przeciwrzybiczej, nanocząstki srebra wykazują unikalną zdolność do oddziaływania na ścianę komórkową i błonę cytoplazmatyczną grzybów, a także do zakłócania funkcji enzymatycznych, co prowadzi do zahamowania wzrostu i rozwoju patogenów grzybiczych. Jest to szczególnie istotne w przypadku drożdżaków z rodzaju *Candida*, które są głównymi czynnikami infekcji oportunistycznych u pacjentów z osłabioną odpornością. W obliczu narastającej oporności na klasyczne leki przeciwrzybicze, biosyntetyzowane AgNPs oferują alternatywę o szerokim spektrum działania i potencjale synergii z istniejącymi terapiami.

W kontekście przyszłych zastosowań, biosyntetyzowane nanocząstki srebra mogą znaleźć miejsce nie tylko w medycynie, ale również w ochronie środowiska, np. jako środki dezynfekujące w wodzie użytkowej, a także w rolnictwie, gdzie mogą być wykorzystywane do zwalczania fitopatogenów bez szkodliwego wpływu na ekosystem. Ponadto, dzięki możliwości modyfikacji powierzchni nanocząstek poprzez adsorpcję różnych biomolekuł, możliwe jest dostosowanie ich właściwości do specyficznych potrzeb aplikacyjnych, co otwiera szerokie pole do dalszych badań i innowacji.

Zielona synteza nanocząstek srebra z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych stanowi obiecującą i zrównoważoną strategię produkcji nanomateriałów o szerokim spektrum zastosowań. Wysoka aktywność przeciwdrobnoustrojowa, niska toksyczność i ekologiczny charakter procesu produkcji czynią te nanocząstki atrakcyjnym materiałem w dobie rosnących wyzwań związanych z opornością drobnoustrojów i potrzebą zrównoważonego rozwoju technologii. Dalsze badania nad mechanizmami działania, optymalizacją procesu syntezy oraz testami aplikacyjnymi pozwolą na pełne wykorzystanie potencjału tych innowacyjnych nanomateriałów [27-31].

UWAGI KOŃCOWE

Kompleksy srebra z ligandami aromatycznymi wykazują znaczący potencjał jako środki przeciwdrobnoustrojowe oraz przeciwnowotworowe, co czyni je obiecującymi kandydatami w medycynie nowoczesnej. Obecność pierścieni aromatycznych i heteroatomów w strukturze ligandów sprzyja stabilizacji jonów srebra, a różnorodność chemiczna ligandów, obejmująca m.in. ugrupowania pirydynowe, benzimidazolowe oraz furany; wpływa korzystnie na selektywność i zakres aktywności biologicznej badanych związków. Kompleksowe badania obejmujące syntezę,

charakterystykę strukturalną oraz ocenę aktywności biologicznej na różnych modelach komórkowych i mikroorganizmach stanowią mocny fundament dla dalszego rozwoju tych związków. Szczególnie obiecujące są doniesienia dotyczące kompleksów zawierających 9,9-di-(4-metoksyfenylo)-4,5-diazafluoren, które wykazują selektywność wobec komórek raka płuc, wskazując na potencjał terapii ukierunkowanej.

Niemniej jednak obecne badania cechuje kilka istotnych ograniczeń. Przeważająca część analiz opiera się na modelach *in vitro*, co podkreśla pilną potrzebę przeprowadzenia badań *in vivo* w celu weryfikacji toksyczności, biodostępności oraz skuteczności terapeutycznej w warunkach organizmu żywego. Ponadto, ograniczony zakres testowanych patogenów sugeruje konieczność rozszerzenia badań mikrobiologicznych w celu lepszego określenia spektrum działania kompleksów.

Na szczególną uwagę zasługują również kompleksy srebra zawierające ligandy pochodzenia naturalnego, które stanowią obiecujące połączenie właściwości biologicznych naturalnych metabolitów z aktywnością charakterystyczną dla jonów srebra(I). Flawonoidy, kurkuminoidy oraz alkaloidy wykazują dużą różnorodność strukturalną i obecność licznych grup donorowych umożliwiających efektywną koordynację centrum metalicznego. Dotychczasowe badania wskazują, że kompleksowanie tych związków może prowadzić do zwiększenia stabilności chemicznej, poprawy biodostępności oraz nasilenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej i przeciwnowotworowej względem wolnych ligandów. Jednocześnie szerokie możliwości modyfikacji strukturalnych tych ligandów stwarzają perspektywy racjonalnego projektowania nowych kompleksów srebra o kontrolowanych właściwościach fizykochemicznych, zwiększonej selektywności działania i ograniczonej toksyczności.

W kontekście nanocząstek srebra, biosynteza przy użyciu ekstraktów roślinnych stanowi istotną zaletę ze względu na zredukowanie stosowania toksycznych substancji i zmniejszenie negatywnego wpływu na środowisko. Jednakże brak standaryzacji w kontrolowaniu wielkości, kształtu oraz właściwości fizykochemicznych tych nanocząstek utrudnia ocenę ich potencjału terapeutycznego oraz bezpieczeństwa, co wymaga dalszych, szczegółowych badań farmakokinetycznych i toksykologicznych.

Dodatkowo, obecność atomów fluoru w kompleksach worykonazolu znacząco zwiększa ich aktywność przeciwgrzybiczą, ale jednocześnie wiąże się z podwyższoną toksycznością, co wymaga dokładnej optymalizacji dawkowania i ustalenia profilu bezpieczeństwa. Taka korelacja pomiędzy wzrostem efektywności biologicznej a ryzykiem cytotoksyczności jest charakterystyczna dla leków metalicznych i stanowi jedno z głównych wyzwań w ich rozwoju.

Podsumowując, kompleksy srebra z ligandami aromatycznymi oraz nanocząstki srebra stanowią obiecującą grupę związków do dalszych badań, jednak niezbędne są rozbudowane badania *in vivo*, optymalizacja stabilności i selektywności działania oraz szczegółowa analiza toksyczności. Kluczowe jest pogłębienie zrozumienia mechanizmów działania tych kompleksów oraz interakcji z organizmem, aby umożliwić bezpieczne i skuteczne wykorzystanie tych związków w terapii.

Praca finansowana z subwencji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Wesołowska, O., Duda-Madej, A., Błaszczuk, M., Środa-Pomianek, K., Kozłowska, J., & Anioł, M. (2024). Interaction of selected alkoxy naringenin oximes with model and bacterial membranes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 174, 116581.
- [2] Yang, Z.-Y., Zhao, S.-D., Wu, Y.-R., Zhou, Q., Wang, W., Zhou, Y.-B., & Liu, K. (2025). Comparison of hydroxylated flavonoids and their interaction with protein-based carriers. *Food Chemistry*, 487, 144716.
- [3] Njogu, E. M., Martincigh, B. S., Omondi, B., & Nyamori, V. O. (2018). Synthesis, characterization, antimicrobial screening and DNA binding of novel silver(I)–thienylterpyridine and silver(I)–furylterpyridine complexes. *Applied Organometallic Chemistry*, 32(12).
- [4] Sandin-Mazzondo, L., Trejo, A., Mammone, M., Perrone, M. G., Contino, M., Rico-Martínez, S., Alonso, C., & Bartolomé, C. (2025). 4,5-Diazafluorene derivatives and their silver(I) complexes: Synthesis and biological evaluation as antiproliferative agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 292, 117680.
- [5] Gil-Moles, M., Olmos, M. E., Monge, M., Beltrán-Visiedo, M., Marzo, I., López-de-Luzuriaga, J. M., & Concepción Gimeno, M. (2023). Silver-Based Terpyridine Complexes as Antitumor Agents. *Chemistry – A European Journal*, 29(37).
- [6] Pillay, M. L., Omondi, B., Adeleke, A. A., Jonnalaggada, S., & Mocktar, C. (2024). Synthesis, characterization, and antibacterial activity of functionalized terpyridine silver(I) complexes. *Results in Chemistry*, 10, 101735.
- [7] Njogu, E. M., Zamisa, S. J., Nyamori, V. O., & Omondi, B. (2025). Silver(I) complexes with quinolyl and pyridyl terpyridines: Synthesis, structural evaluation and antimicrobial activity. *Journal of Molecular Structure*, 1338, 142341.
- [8] Smith, C. B., Raston, C. L., & Sobolev, A. N. (2005). Poly(ethyleneglycol)(PEG): a versatile reaction medium in gaining access to 4'-(pyridyl)-terpyridines. *Green Chemistry*, 7(9), 650.
- [9] Njogu, E. M., Zamisa, S. J., Nyamori, V. O., & Omondi, B. (2025). Silver(I) complexes with quinolyl and pyridyl terpyridines: Synthesis, structural evaluation and antimicrobial activity. *Journal of Molecular Structure*, 1338, 142341.
- [10] Constable, E. C., & Thompson, A. M. W. C. (1992). Ligand reactivity in iron(II) complexes of 4'-(4"-pyridyl)-2,2': 6',2"-terpyridine. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 20, 2947–2950.
- [11] Creaven, B. S., Egan, D. A., Kavanagh, K., McCann, M., Noble, A., Thati, B., & Walsh, M. (2006). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a series of substituted coumarin-3-carboxylatosilver(I) complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 359(12), 3976–3984.
- [12] Stanković, M., Skaro Bogojevic, S., Kljun, J., Milanović, Ž., Stevanović, N. Lj., Lazic, J., Vojnovic, S., Turel, I., Djuran, M. I., & Glišić, B. Đ. (2024). Silver(I) complexes with voriconazole as promising anti-Candida agents. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 256, 112572.
- [13] Ou, Y.-H., Du, R.-K., Zhang, S.-P., Ling, Y., Li, S., Zhao, C.-J., Zhang, W.-Z., & Zhang, L. (2020). Synthesis, crystal structure and in vitro antifungal activity of two-dimensional silver(I)-voriconazole coordination complexes. *Journal of Molecular Structure*, 1215, 128229.
- [14] Stanković, M., Kljun, J., Stevanović, N. Lj., Lazic, J., Skaro Bogojevic, S., Vojnovic, S., Zlatar, M., Nikodinovic-Runic, J., Turel, I., Djuran, M. I., & Glišić, B. Đ. (2024). Silver(I) complexes containing antifungal azoles: significant improvement of the anti- *Candida* potential of the azole drug after its coordination to the silver(I) ion. *Dalton Transactions*, 53(5), 2218–2230.
- [15] Şahin, N., Mosrati, M. A., Merghni, A., Özdemir, İ., Sellami, H., Bedchiche, K., Krayiem, S., Aïfa, S., Abdelmalek, D., & Sémeril, D. (2025). Synthesis, antimicrobial and antibiofilm activities of silver(I) complexes with N-alkylbenzimidazole derivatives and their protein interaction modelling study. *Journal of Molecular Structure*, 1322, 140440.

- [16] Afhami, S., Borumand, M. A., Esmailpour Bazzaz, N., Saffar, H., Hadadi, A., Jafary Nezhad, M., & Mirzaei Tirabadi, N. (2020). Antimicrobial resistance pattern of *Acinetobacter*; a multicenter study, comparing European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); evaluation of susceptibility testing methods for polymyxin. *Immunopathologia Persa*, 7(1), e04–e04.
- [17] Üstün, E., Şahin, N., Özdemir, İ., Günel, S., Gürbüz, N., Özdemir, İ., & Sémeril, D. (2023). Design, synthesis, antimicrobial activity and molecular docking study of cationic bis-benzimidazole-silver(I) complexes. *Archiv Der Pharmazie*, 356(10).
- [18] Horta-Piñeres, S., Cortez-Valadez, M., Avila, D. A., Leal-Perez, J. E., Hurtado-Macias, A., Flores-Acosta, M., & Torres, C. O. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles via Bougainvillea Spectabilis (leaves and stem) for pyridoxine SERS sensing. *Applied Physics A*, 128(12), 1090.
- [19] Oves, M., Rauf, M. A., & Qari, H. A. (2023). Therapeutic Applications of Biogenic Silver Nanomaterial Synthesized from the Paper Flower of Bougainvillea glabra (Miami, Pink). *Nanomaterials*, 13(3), 615.
- [20] Las Heras, B., Amesty, A., Estevez-Braun, A., Hortelano, S. (2019). Metal Complexes of Natural Product Like-compounds with Antitumor Activity. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 19(1), 48.
- [21] Walencik, P., Choińska, R., Gołębiewska, E., Kalinowska, M. (2024). Metal-Flavonoid Interactions – From Simple Complexes to Advanced Systems. *Molecules*, 29(11), 2573.
- [22] Kasprzak, M., Erxleben, A., Ochocki, J. (2015). Properties and applications of flavonoid metal complexes. *RSC Advances*, 5(1), 45853.
- [23] Symonowicz, M., Kolanek, M. (2012). Flavonoids and their properties to form chelate complexes. *Biotechnology and Food Science*, 76(1), 35.
- [24] Uivarosi, V., Munteanu, A. (2017). Flavonoid Complexes as Promising Anticancer Metallo drugs. In *Flavonoids – From Biosynthesis to Human Health*. IntechOpen.
- [25] Zangade, S., Dhulshette, B., Patil, P. (2024). Flavonoid-metal ion Complexes as Potent Anticancer Metallo drugs: A Comprehensive Review. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 24(10), 1046.
- [26] Raju, S., Karunakaran, A., Kumar, S., Sekar, P., Murugesan, M., Karthikeyan, M. (2022). Silver Complexes as Anticancer Agents: A Perspective Review. *German Journal of Pharmaceuticals and Biomaterials*, 1(1), 6.
- [27] Zarei, Z., Razmjoue, D., Moazeni, M., Azarnivand, H., & Oroojalian, F. (2024). Salvia sclarea L. (Clary Sage) flower extract-mediated green synthesis of silver nanoparticles and their characterization, antibacterial, antifungal, and scolicidal activities against Echinococcus granulosus. *The Microbe*, 5, 100216.
- [28] Salam, Md. A., Al-Amin, Md. Y., Salam, M. T., Pawar, J. S., Akhter, N., Rabaan, A. A., & Alqumber, M. A. A. (2023). Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare*, 11(13), 1946.
- [29] Alharbi, N. S., Alsubhi, N. S., & Felimban, A. I. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plants: Characterization and application. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 15(3), 109–124.
- [30] Mohammadi, M., Shahisaraee, S. A., Tavajjohi, A., Pournoori, N., Muhammadnejad, S., Mohammadi, S. R., Poursalehi, R., & Delavari H, H. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using *Zingiber officinale* and *Thymus vulgaris* extracts: characterisation, cell cytotoxicity, and its antifungal activity against *Candida albicans* in comparison to fluconazole. *IET Nanobiotechnology*, 13(2), 114–119.
- [31] Zarei, Z., Razmjoue, D., & Karimi, J. (2020). Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Caralluma tuberculata Extract and its Antibacterial Activity. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(11), 4606–4614.

- [32] Rajeshkumar, S., Bharath, L. V., & Geetha, R. (2019). Broad spectrum antibacterial silver nanoparticle green synthesis: Characterization, and mechanism of action. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 429–444). Elsevier.

Praca wpłynęła do Redakcji 6 maja 2026 r.

