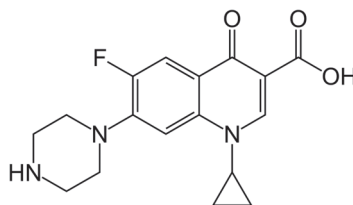


## Sinteza i antibakterijska aktivnost kompleksa prelaznih metala sa ciprofloksacinom kao ligandom

Opisana je sinteza kompleksa prelaznih metala sa ligandom ciprofloksacinom (cpl), koji pripada klasi fluorohinolinskih antibiotika, kao i njihova karakterizacija i biološka aktivnost. Uspešno je sintetisan kompleks  $[Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl$  (kompleks 1) sa ciprofloksacinom koji u svojoj strukturi sadrži i ligande dimetil-sulfoksid (DMSO) i hlorid, dok je u slučaju sintetisanog kompleksa  $[Cu(cpl)_2]Cl_2$  (kompleks 2), jedini koordinovani ligand ciprofloksacin. Sintetisani kompleksi su okarakterisani pomoću infracrvene spektroskopije (FTIR) i merenjem njihove temperature topljenja. Kirbi-Bauerovom metodom utvrđeno je da kompleksi ispoljavaju antibakterijsko dejstvo kod *E. coli*. Mikrodilucionom metodom je ispitano da li su sintetisani kompleksi efektivniji od ciprofloksacina u smanjenju bakterijske vijabilnosti. Supstance su rastvorene u DMSO u rasponu koncentracija od 10 do 0.08  $\mu\text{g/mL}$ . Kompleks 1 je pri koncentracijama iznad 0.62  $\mu\text{g/mL}$  ispoljio veći efekat na smanjenje bakterijske vijabilnosti soja *E. coli*, u poređenju sa ciprofloksacinom, a kompleks 2 samo pri koncentraciji od 10  $\mu\text{g/mL}$ . Smeša sintetisanih kompleksa je pri svim koncentracijama pokazala izraženiji efekat na smanjenje bakterijske vijabilnosti od ciprofloksacina, a pri koncentracijama nižim od 1.25  $\mu\text{g/mL}$  i od oba kompleksa pojedinačno. Zaključeno je da sintetisani kompleksi ispoljavaju antibakterijsko dejstvo, i da njihova smeša ispoljava sinergistički efekat pri niskim koncentracijama. U daljem istraživanju trebalo bi ispitati antifungalno i antitumorsko dejstvo kompleksa i njihove smeše.

## Uvod

Ciprofloksacin (cpl, slika 1) je jedan od antibiotika iz klase fluoro-hinolona kao što su i ofloksacin i sparfloksacin. Oni se najčešće koriste za lečenje respiratornih, urinarnih i kožnih infekcija. Ciprofloksacin je antibakterijski aktivan prema gram-pozitivnim i gram-negativnim bakterijama, ali je dejstvo efektivnije na gram-negativne bakterije (Davis *et al.* 1996). Međutim, vremenom one postaju rezistentne na njegov uticaj (*ibid.*).



Slika 1. Strukturna formula ciprofloksacina

Figure 1. Structural formula of ciprofloxacin

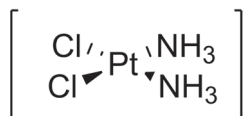
Još sredinom dvadesetog veka otkrivena je antitumorska aktivnost kompleksa platine. Naime američki naučnik Barnet Rozenberg je tada otkrio uticaj cisplatina (slika 2) na rast i razvoj bakterije *E. coli* (Rosenberg *et al.* 1965). Utvrdio je da je proces deobe bio zaustavljen, dok se proces rasta i dalje odvijao normalno. Kasnije, nakon daljih istraživanja i odobrenja od strane FDA (Food and Drug Administration),

Stefan Radojičić (2001), Beograd, učenik 3. razreda Matematičke gimnazije u Beogradu

MENTORI:

Uroš Stojiljković, student Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Aleksa Mičić, student Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu



Slika 2. Strukturna formula cisplatina

Figure 2. Structural formula of cisplatin

cisplatin je pušten na tržište kao lek za neke vrste tumora (Wang i Lippard 2005). Trans-izomer ovog jedinjenja ne pokazuje antitumorsku aktivnost (Rosenberg 1965).

Cisplatin je našao primenu kao lek u hemoterapiji. Hemoterapijski lekovi ispoljavaju svoju citotoksičnu aktivnost na ćelijama raka (koje se brzo dele), pri čemu sprečavaju razmnožavanje ćelija raka (Wang i Lippard 2005). Cisplatin deluje na ćelije tumora tako što se vezuje za DNK (najčešće za guanin), i zbog toga dolazi do njene apoptoze (programirane smrti ćelije) (Dasari i Tchounwou 2014). Međutim, veliki problem korišćenja kompleksa platine(II) su negativni efekti koje ona prouzrokuje. Pre svega ovi kompleksi će interagovati i sa DNK molekulima zdravih ćelija koje se brže razmnožavaju (dlaka, crevo itd.) u kojima će doći do koordinovanja cisplatina za N7 atom guanina, zbog čega će doći do stvaranja defekata i onemogućavanja transkripcije, i na kraju apoptoze ćelije (Dasari i Tchounwou 2014). Pri tome takođe dolazi i do stvaranja rezistencije na cisplatin od strane ćelije, jer cisplatin ima relativno slabo koordinovane hloride, zbog čega dolazi do koordinovanja cisplatina za jedinjenja u citoplazmi sa tiolatnom

funkcionalnom grupom, što sprečava interakciju cisplatina sa DNK.

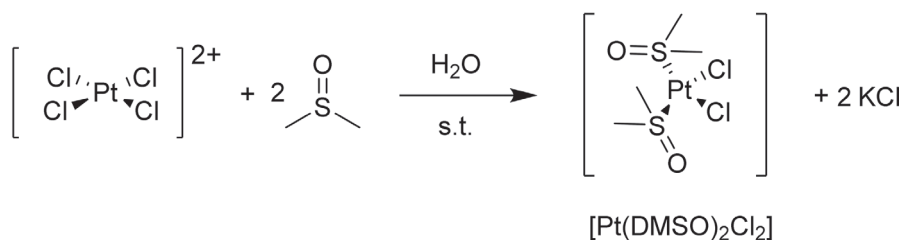
Mnogi kompleksi prelaznih metala su jedinjenja sa antivirusnom, antimikrobnom i antifungalnom aktivnošću. Često su u upotrebi kompleksi platine(II), ali postoje i kompleksna jedinjenja bakra, cinka, nikla i kobalta koja su jako zastupljena (Barry i Sadler 2013).

Cilj ovog rada je sinteza četiri kompleksa prelaznih metala: Pt, Cu, Ni, Co sa ciprofloksacinom kao ligandom, njihova karakterizacija i ispitivanje njihovog antibakterijskog dejstva kod bakterijskog soja *Escherichia coli*.

## Materijal i metode

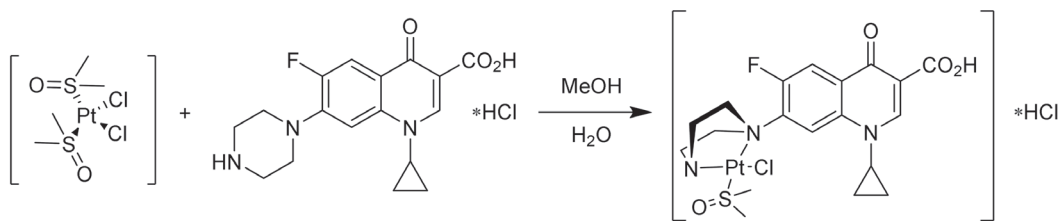
**Sinteza cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>].** Kompleks cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] je sintetisan prema jednačini prikazanoj na slici 3: odmereno je 0.1245 g (0.3 mmol, 1 eq, preparat) kalijum-tetrahlоролатinata(II) koji je prenet u vijalicu zapremine 1.5 mL, gde je rastvoren u 1 mL dejonizovane vode. Odmereno je 64 μL (0.9 mmol, 3 eq, Fisher Science UK) DMSO-a i preneto u vijalicu (slika 3), (Dodoff *et al.* 2006), (Price *et al.* 1972). Vijalica je postavljena na magnetnu mešalicu i reakciona smeša je mešana tokom 4 h. Čvrsti ostatak je u balonu sušen pod visokim vakuumom.

**Sinteza [Pt(DMSO)(cp)Cl]Cl.** Kompleks [Pt(DMSO)(cp)Cl]Cl je sintetisan iz prethodno sintetisanog kompleksa cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] i ciprofloksacin-hidrohlорida prema reakciji prikazanoj na slici 4. Odmereno je 82.1 mg (0.194 mmol, 1 eq, preparat) cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] i rastvoreno u 3.9 mL vode, prethodno zagrejane na 70°C, u balonu zapremine



Slika 3. Sinteza kompleksa cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>]

Figure 3. Synthesis of the complex cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>]



Slika 4. Sinteza kompleksa [Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl

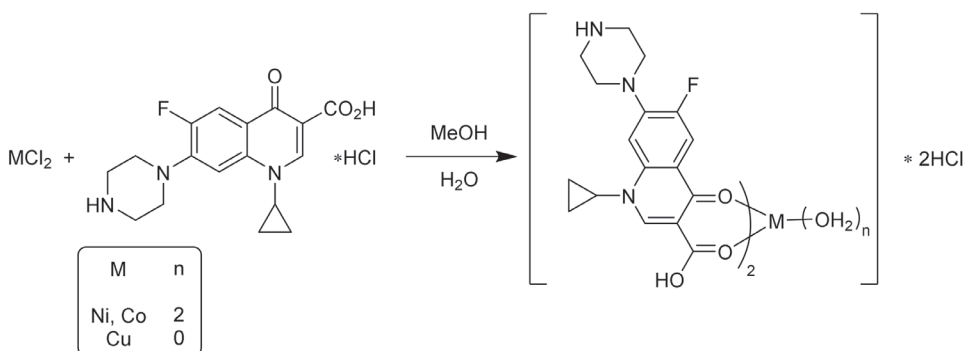
Figure 4. Synthesis of the complex [Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl

10 mL. Masa ciprofloksacin-hidrohlorida od 0.0715g (0.194 mmol, 1 eq, apoteka) je potom rastvorena u minimalnoj količini metanola (J. T. Baker) i taj rastvor je prenet u balon i pomešan sa rastvorom kompleksa (slika 4), (Oliveira *et al.* 2018). Potom je reakciona smeša mešana tokom 48 h na temperaturi od 65°C uz reflux. Čvrsti ostatak reakcione smeše je proceden i prvo sušen iznad SiO<sub>2</sub>, a nakon toga i na visokom vakuumu.

**Sinteza kompleksa Ni(II), Cu(II) i Co(II) sa ciprofloksacinom.** Odmereno je 0.15 mmol (1 eq) hlorida metala (0.0361 g NiCl<sub>2</sub> × 6H<sub>2</sub>O, Kemika; 0.0257 g CuCl<sub>2</sub> × 2H<sub>2</sub>O, Zorka Šabac; 0.0357 g CoCl<sub>2</sub> × 6H<sub>2</sub>O, Centrohema) i rastvoreno u 2 mL dejonizovane vode (Chohan *et al.* 2005). Ovom rastvoru je dodat metanolni rastvor cpl × HCl (apoteka) (J. T. Baker). Smeša je refluksirana tokom 1 h, a zatim ohlađena u frižideru i nakon toga tokom 24 h ostavljena da se

meša na sobnoj temperaturi. Čvrsta faza je profiltrirana, isprana sa 10 ml etanola i 10 mL dietil-etra, sušena iznad SiO<sub>2</sub>, a nakon toga sušena i na visokom vakuumu.

**Biološka aktivnost.** Kirbi-Bauerovom metodom (Kirby-Bauer test) ispitana je osetljivost bakterijskih sojeva *E. coli* i *S. aureus* na sintetične supstance (Santos *et al.* 2014). Pripremljen je komercijalni Miler-Hinton (Mueller Hinton) agar koji je zatim izliven u sterilne Petrijeve šolje i ostavljen do stvrdnjavanja. U svaku od šolja naneto je po 100 μL odgovarajuće bakterijske suspenzije koncentracije 1.5 × 10<sup>8</sup> CFU/mL (CFU – colony forming unit, jedinica za formiranje kolonije, predstavlja procenu broja održivih bakterija u uzorku). Staklenim štapićem su suspenzije bakterija ravnomerno raspoređene po agaru. Na diskove od filter papira je naneto po 3 μL rastvora ispitivanih supstanci koncentracije



Slika 5. Sinteza kompleksa [M(cpl)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>]Cl<sub>2</sub> (M – određeni metal, n – broj koordinovanih molekula vode)

Figure 5. Synthesis of the complex [Ni(cpl)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> (M – a specific metal, n – number of coordinated water molecules)



Slika 6. Prikaz popunjene mikrotitarske ploče:

K1 –  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$  (kompleks 1),  
 K2 –  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$  (kompleks 2),  
 S – smeša kompleksa,  
 A – antibiotik (ciprofloksacin),  
 LB – medijum, K+ pozitivna kontrola, K- – negativna kontrola, R – kontrola rastvarača.

Figure 6. Diagram of filled microwell plate:

K1 –  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$ ,  
 K2 –  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ ,  
 S – mixture of K1 and K2,  
 A – antibiotic (ciprofloxacin),  
 LB – medium, K+ positive control, K- – negative control, R – solvent control.

1.667 (mg)/mL:  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$ ,  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ ,  $\text{Cpl}\times\text{HCl}$ ,  $\text{CuCl}_2\times 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{PtCl}_4$ , kao i kombinacija  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$  i  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$  u odnosu 1:1 u cilju ispitivanja njihovog međusobnog dejstva. Kao pozitivna kontrola korišćen je komercijalni disk impregniran ciprofloksacinom koncentracije 5  $\mu\text{g}$ , a kao kontrola rastvarača 100% rastvor DMSO-a. Diskovi su pincetom postavljeni na obeležena mesta u Petrijevim šoljama. Nakon toga, Petrijeve šolje su inkubirane 24 h na temperaturi od 37°C, nakon čega su u programu za analizu slika FIJI izmerene zone inhibicije bakterijskog rasta. Dobijeni podaci za ciprofloksacin upoređeni su sa podacima u standardizovanim CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tablicama.

**Mikrodilucionom metodom** ispitivane su minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) sintetisanih kompleksa kod bakterijskog soja *E. coli* i upoređen je njihov antibakterijski efekat pri različitim koncentracijama. Eksperiment je vršen u komercijalnim mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića (slika 6). Koncentracija bakterija u svakom bunariću iznosila je  $1.5\times 10^8$  CFU/mL. Kao pozitivna kontrola korišćen je rastvor ciprofloksacina koncentracije 0.2 mg/mL, a kao negativna kontrola bakterijska suspenzija u LB medijumu koncentracije  $1.5\times 10^8$  CFU/mL. Za kontrolu rastvarača korišćen je rastvor DMSO-a pri odgovarajućim koncentracijama.

Eksperiment je izvršen u dve ploče, od koje je svaka sadržala je određenu kombinaciju serijskih razblaženja ispitivanih supstanci, ploča 1: 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  i 1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , ploča 2: 0.62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 0.31  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 0.16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  i 0.08  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

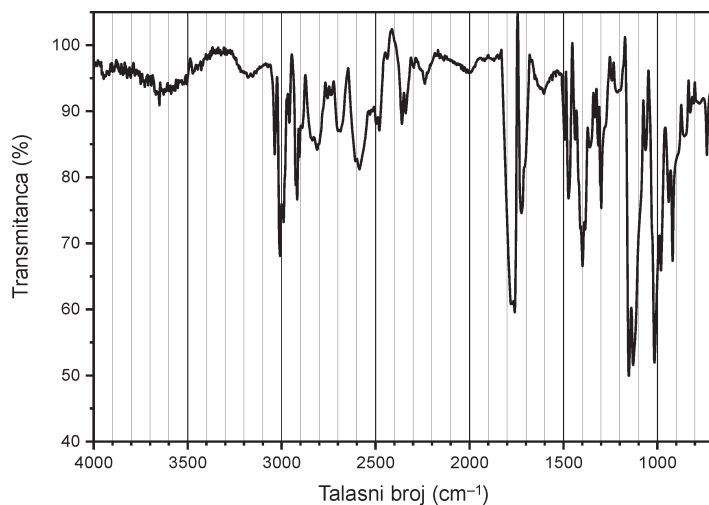
Ploče su inkubirane 16 h na temperaturi od 37°C nakon čega je određena optička gustina (O.D. 600) rastvora pomoću ELISA reader-a. Očitane vrednosti apsorbanci rastvora ispitivanih uzoraka oduzete su od vrednosti apsorbanci hranljivog medijuma u kome su uzorci bili rastvoreni. Oduzet je učinak rastvarača (DMSO) i dobijene vrednosti su predstavljene u vidu relativne bakterijske vijabilnosti. Analiza podataka izvršena je u programu Excel.

Po očitavanju apsorbanci rastvora u svaki bunarić je dodato 30  $\mu\text{L}$  rezazurina, a potom su ploče inkubirane još 3 h radi vizuelnog očitavanja MIC (minimalna inhibitorna koncentracija) vrednosti.

## Rezultati i diskusija

### Karakterizacija dobijenih kompleksa

**Cis- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$ .** Rezultati FTIR analize ukazuju na to da je uspešno sintetisan kompleks cis- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$ . Trake na 1157  $\text{cm}^{-1}$  i 1134  $\text{cm}^{-1}$  potiču od valencionih S=O vibracija,



Slika 7. FTIR spektar  
cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>]

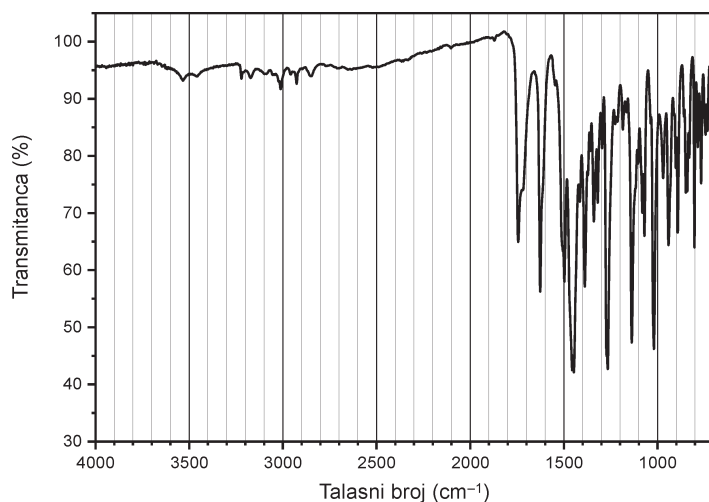
Figure 7. FTIR spectrum of  
cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>]

što je u skladu sa literaturnim podacima (Dodoff *et al.* 2006). Takođe se i eksperimentalno dobijena temperatura topljenja sintetisanog kompleksa kretala u opsegu od 211-214°C, što je približno opsegu iz literaturnih podataka za temperaturu topljenja kompleksa u opsegu od 218-224°C (Dodoff *et al.* 2006). Na slici 7 prikazan je FTIR spektar kompleksa cis-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>].

**[Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl.** Proizvod reakcije sinteze analiziran je na FTIR uređaju, i spektar se poklapa sa literaturnim podacima, na šta ukazuje prisustvo traka na segmentu od 1700 cm<sup>-1</sup> do 1600 cm<sup>-1</sup> koje predstavljaju prisustvo C=O karboksilne grupe i C=O karbonilne grupe

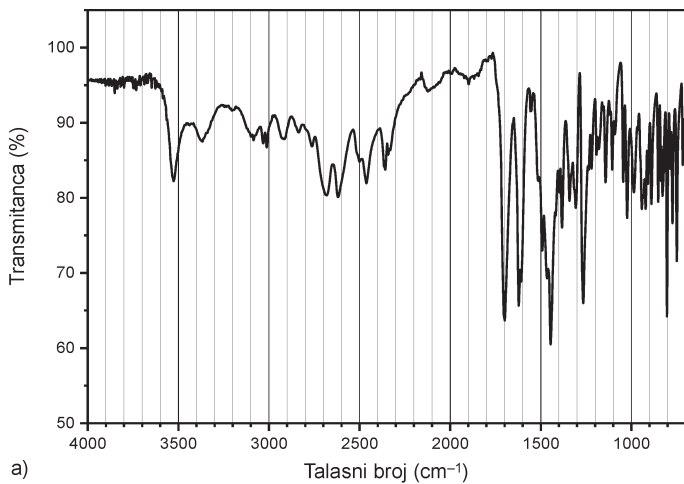
(Oliveira *et al.* 2018). Na slici 8 prikazan je FTIR spektar kompleksa [Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl.

**[Ni(cpl)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> i [Co(cpl)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>.** Dobijeni proizvodi reakcija su karakterisani FTIR spektroskopijom, ali se spektri nisu poklapali sa teorijskim vrednostima karakterističnih traka za ove komplekse. Trake sa talasnim brojevima 1725 cm<sup>-1</sup> i 1630 cm<sup>-1</sup> koje odgovaraju karboksilnoj (COOH) i karbonilnoj (C=O) grupi respektivno, poklapaju se sa odgovarajućim trakama u spektru ciprofloksacina, dok literaturni podaci nalažu pomeranje ovih traka pri građenju kompleksnih jedinjenja (Chohan *et al.* 2005). Ovo ukazuje da sinteza ova dva kompleksa nije bila uspešna, odnosno da su dobijene kristalne



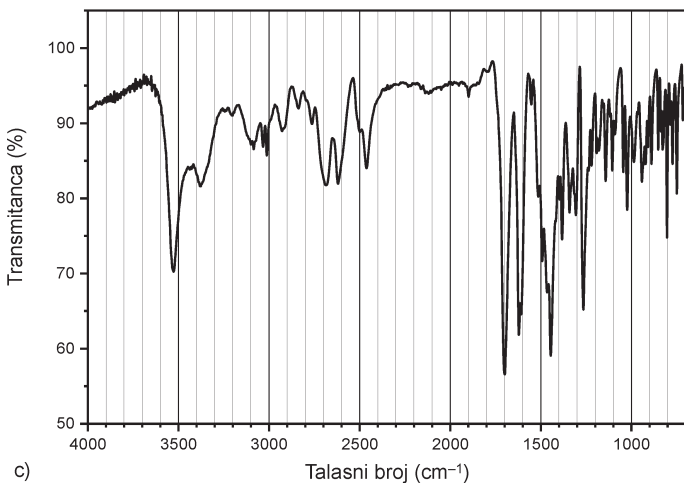
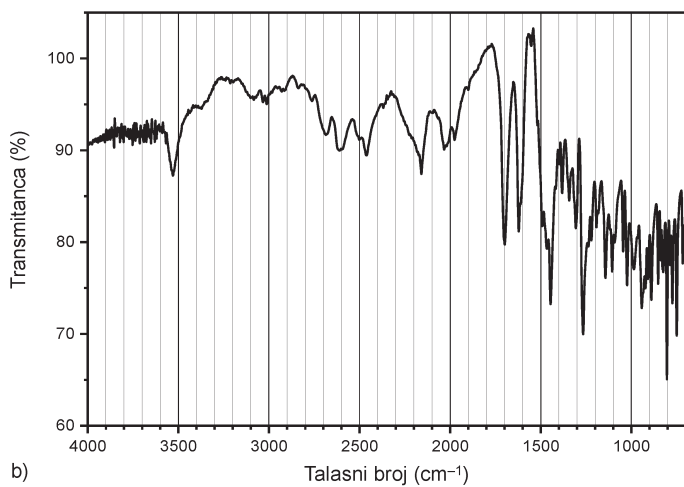
Slika 8. FTIR spektar  
[Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl

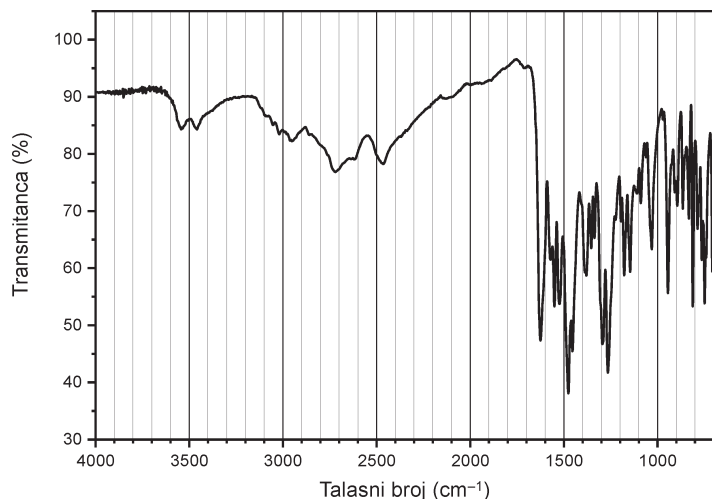
Figure 8. FTIR spectrum of  
[Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl



Slika 9. FTIR spektri:  
 a) ciprofloksacin-hidrohlorida,  
 b)  $[\text{Ni}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ ,  
 c)  $[\text{Co}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ .

Figure 9. FTIR spectra of:  
 a)  $\text{cpl} \times \text{HCl}$ ,  
 b)  $[\text{Ni}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ ,  
 c)  $[\text{Co}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ .





Slika 10. FTIR spektar  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$

Figure 10. FTIR spectrum of  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$

supstance bile kristali ciprofloksacina. Spektar proizvoda sinteze  $[\text{Ni}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ , prikazan je na slici 9a, na slici 9b je prikazan spektar kompleksa  $[\text{Co}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ , dok je na slici 9c prikazan FTIR spektar ciprofloksacina.

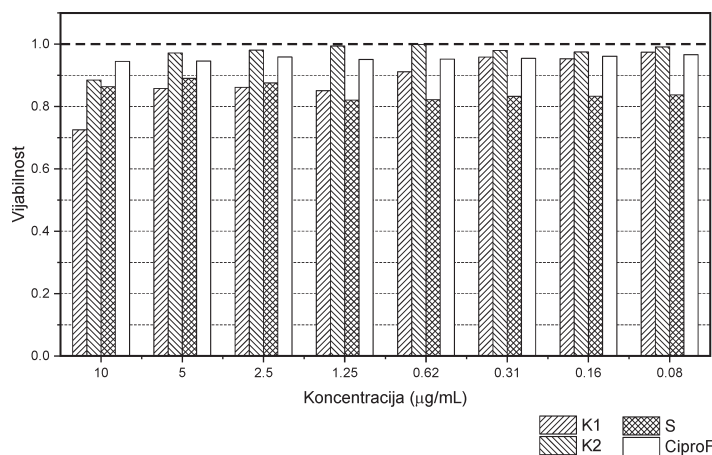
#### Proizvod reakcije sinteze $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ .

Uzorak je analiziran FTIR spektroskopijom i eksperimentalno dobijeni spektar se poklapao sa teorijskim vrednostima karakterističnih traka za kompleks. Na ovaj zaključak ukazuje činjenica da je za razliku od kompleksa nikla i kobalta došlo do pomeraja odgovarajućih vrednosti traka COOH grupe sa  $1725\text{ cm}^{-1}$  na  $1580$  i  $1350\text{ cm}^{-1}$  kao i C=O grupe sa  $1630\text{ cm}^{-1}$  na oko  $1600\text{ cm}^{-1}$ , što se poklapa sa literaturnim podacima (Chohan

*et al.* 2005). Na slici 10 prikazan je FTIR spektar kompleksa  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ .

## Bakterijska osetljivost i bakterijska vijabilnost

**Bakterijska osetljivost.** Analizom podataka dobijenih merenjem prečnika zone inhibicije bakterijskog rasta pokazalo se da je bakterijski soj *E. coli* soj senzitivniji na sintetisane komplekse i ciprofloksacin od soja *S. aureus*. Prečnici zone inhibicije bakterijskog rasta kod *S. aureus* iznosili su za  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$  (kompleks 1) 24.29 mm, za  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$  (kompleks 2)



Slika 11. Vijabilnost bakterijskog soja *E. coli*:

K1 –  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$ ,  
K2 –  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ ,  
S – smeša K1 i K2,  
CiproF – ciprofloksacin.

Figure 11. Viability of the bacterial culture *E. coli*:

K1 –  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$ ,  
K2 –  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ ,  
S – mixture of the complexes K1 and K2,  
CiproF – ciprofloxacin.

27.38 mm, za smešu ova dva kompleksa 26.68 mm, a za ciprofloksacin 24.01 mm.

**Bakterijska vijabilnost.** Analizom podataka dobijenih ispitivanjem bakterijske vijabilnosti *E. coli* (slika 11) ispitana je antibakterijska aktivnost kompleksa i njihove smeše, i upoređena sa antibakterijskom aktivnošću ciprofloksacina. MIC za kompleks 1 ([Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl), smešu dva kompleksa i ciprofloksacin iznosila je ispod 0.08 µg/mL, dok je MIC za kompleks 2 ([Cu(cpl)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>) iznosila 0.16 µg/mL. Kompleks 1 je pri svim koncentracijama većim od 0.62 µg/mL ispoljio veći efekat na smanjenje bakterijske vijabilnosti *E. coli* od ciprofloksacina, a kompleks 2 jedino pri koncentraciji od 10 µg/mL. Smeša kompleksa 1 i 2 je pri svim koncentracijama ostvarila izraženiji efekat na smanjenje bakterijske vijabilnosti *E. coli* u poređenju sa ciprofloksacinom, a pri koncentracijama nižim od 1.25 µg/mL od oba kompleksa pojedinačno. Ovim je pokazano da smeša kompleksa 1 i kompleksa 2, odnosno [Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl i [Cu(cpl)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, ispoljava sinergistički efekat pri koncentracijama nižim od od 1.25 µg/mL.

## Zaključak

Kompleksi Pt i Cu sa ciprofloksacinom, [Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl i [Cu(cpl)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, su uspešno sintetisani. Pokušalo se i sa sintezom kompleksa [Ni(cpl)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> i [Co(cpl)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> istom procedurom, kao i sa sintezom kompleksa [Cu(cpl)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, ali nije došlo do njihovog formiranja, što bi moglo predstavljati predmet budućeg istraživanja

Sintetisani kompleksi [Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl i [Cu(cpl)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> ispoljili su antibakterijsku aktivnost prema bakterijskom soju *E. coli*, kao i njihova smeša. Kompleks 1 je pri svim koncentracijama iznad 0.62 µg/mL ispoljio veće antibakterijsko dejstvo od ciprofloksacina, dok je kompleks 2 veće antibakterijsko dejstvo od ciprofloksacina ispoljio samo pri najvišoj ispitivanoj koncentraciji – 10 µg/mL. Njihova smeša je pri svim koncentracijama ostvarila izraženiji efekat na smanjenje bakterijske vijabilnosti *E. coli* u poređenju sa ciprofloksacinom, a pri koncentracijama nižim od 1.25 µg/mL, i od oba kompleksa pojedinačno. Na osnovu ovoga može se

zaključiti da smeša kompleksa [Pt(DMSO)(cpl)Cl]Cl i [Cu(cpl)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> ispoljava sinergistički efekat pri niskim koncentracijama, i da bi upotreba ciprofloksacina kao liganda u sintezi kompleksa sa prelaznim metalima mogla da nađe primenu u borbi protiv bakterijskih sojeva rezistentnih na ciprofloksacin.

**Zahvalnost.** Želeo bih da se zahvalim svojim mentorima Urošu Stojiljkoviću i Aleksi Mičiću na njihovoj pomoći i predanosti pri izradi i pisanju ovog rada, kao i dr Biljani Đ. Glišić, docentu na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Kragujevcu, na polaznim informacijama.

## Literatura

Barry P. E. N., Sadler J. P. 2013. Exploration of the medicinal periodic table: towards new targets. *Chemical Communications*, **45**: 5093.

Chohan Z. H., Supuran C. T., Scozzafava A. 2005. Metal binding and antibacterial activity of ciprofloxacin complexes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **20** (3): 303.

Dasari S., Tchounwou P. B., 2014. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, **740**: 364.

Davis R., Markham A., Balfour J. A. 1996. Ciprofloxacin. *Drugs*, **51**: 1019.

Dodoff N. I., Kovala-Demertzi D., Kubiak M., Kuduk-Jaworska J., Kochel A., Gorneva G. A. 2006. Dimethyl Sulfoxide Containing Platinum(II) and Palladium(II) Chelate Complexes of Glyoxylic and Pyruvic Acid Thiosemicarbazones. A New Class of Cytotoxic Metal Complexes. *Zeitschrift für Naturforschung B*, **61** (9): 1110.

Oliveira L. P., Carneiro Y. A., Ribeiro C. M., Lima M. F., Paixao D. A., *et al.* 2018. Three new platinum complexes containing fluoroquinolones and DMSO: Cytotoxicity and evaluation against drug-resistant tuberculosis. *Journal of inorganic biochemistry*, **183**: 77.

Price J. H., Williamson A. N., Schramm R. F., Wayland B. B. 1972. Palladium(II) and Platinum(II) Alkyl Sulfoxide Complexes of Sulfur-Bonded, Mixed Sulfur- and Oxygen-Bonded, and Totally Oxygen-Bonded Complexes Examples. *Inorganic Chemistry*, **11** (6): 1280.



Rosenberg B., Van Camp L., Krigas T. 1965. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, **205**: 698.

Santos A. F., Brotto D. F., Favarin L. R. V., Gabeza N. A., Andrade G. R. et al. 2014. Study of the antimicrobial activity of metal complexes and their ligands through bioassays applied to plant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **24** (3): 309.

Wang D., Lippard S. 2005. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, **4**: 307.

---

*Stefan Radojčić*

## Synthesis and Antibacterial Activity of Transition Metal Complexes with Ciprofloxacin used as the Ligand

In this paper we described the synthesis of transition metal complexes with ciprofloxacin, a kind of antibiotic from the fluoroquinolone class, as a ligand and their characterization and biological activity. The complex  $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{cpl})\text{Cl}]\text{Cl}$ , which has DMSO (dimethyl-sulfoxide) as a ligand besides ciprofloxacin, and the complex  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ , which only has ciprofloxacin as a ligand, were successfully synthesized. Synthesis for the complexes  $[\text{Ni}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$  and  $[\text{Co}(\text{cpl})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$  were attempted following the same procedure as the one used for the complex  $[\text{Cu}(\text{cpl})_2]\text{Cl}_2$ , but they did not result in the formation of the desired complexes. Determining the cause of this could be used for future research. The synthesized complexes were characterized using FTIR spectroscopy and by

measuring their melting point. By using the Kirby-Bauer disk diffusion method it was determined that the complexes showed antibacterial activity in *E. coli*. Afterwards, by using the microdilution method, it was determined if the complexes are more effective than ciprofloxacin in reducing bacterial viability of *E. coli*. All of the compounds were dissolved in DMSO and their concentrations were in the range of 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  to 0.08  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . A solution of ciprofloxacin at a concentration of 0.2  $\text{mg}/\text{mL}$  was used as the positive control and a bacterial suspension in LB medium at a concentration of  $1.5 \times 10^8 \text{ CFU}/\text{mL}$  was used as the negative control. DMSO at the corresponding concentrations was used as the solvent control. After the incubation of the plates, the absorbances of the wells were read using the ELISA reader. When the absorbances were read, the wells were colored with resazurin so that the MIC value could be visually determined. It was concluded that complex 1 showed a great effect in reducing *E. coli* bacterial viability at concentrations greater than 0.62  $\mu\text{g}/\text{mL}$  compared to ciprofloxacin, while complex 2 showed a greater effect than ciprofloxacin in reducing *E. coli* bacterial growth only at the concentration of 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The mixture of the synthesized complexes exhibited a more significant antibacterial effect than ciprofloxacin at all tested concentrations. Further more, at concentrations lower than 1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  the antibacterial effect of the mixture is greater than the antibacterial effect of both of the complexes individually, and therefore showcases a synergistic effect at these concentrations. In future research we could also test the antifungal and antitumor activity of the complexes and their synergistic solution. 