

Upotreba UV/VIS spektroskopije za kvantifikaciju trifenilfosfonijevih kvaternih soli

Serdar, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:948973>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za kemiju

Sara Serdar

**Upotreba UV/VIS spektroskopije za
kvantifikaciju trifenilfosfonijevih kvaternih soli**

Završni rad

Split, 2024.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Renate Odžak, predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnika biologije i kemije.

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. dc. Renati Odžak i asistentici Doris Crnčević, mag. educ. biol. et chem. na njihovoj pristupačnosti, otvorenosti i pomoći tijekom izrade ovog rada, no i tokom sve tri godine studiranja. Hvala Vam i na pruženoj prilici da naučim nešto novo i sudjelujem u eksperimentalnom radu.

Posebice se zahvaljujem svojoj obitelji koja mi je velika podrška u svemu, te njihovim savjetima i stalnoj potpori kroz ove tri godine.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu

Završni rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

UPOTREBA UV/VIS SPEKTROSKOPIJE ZA KVANTIFIKACIJU TRIFENILFOSFONIJEVIH KVATERNIH SOLI

Sara Serdar

Kvaterni fosfonijevi spojevi su amfifilni spojevi, izuzetnih svojstava i širokog raspona primjene. Unatoč dugoj povijesti primjene u organskoj sintezi i katalizi, odlikuju se antimikrobnom aktivnosti širokog spektra. Zbog razvoja nepoželjne bakterijske rezistencije na komercijalne antiseptike, ovi spojevi se razmatraju kao potencijalna sljedeća generacija antiseptika. Trifenilfosfonijeve kvaterni soli su izrazito stabilni kvaterni fosfonijevi spojevi, s antimikrobnom aktivnosti koja nadmašuje njihove komercijalne analoge. U ovom radu su novosintetizirane trifenilfosfonijeve soli analizirane UV/VIS spektrofotometrijom, u svrhu određivanja koncentracije istih u nepoznatom uzorku. Dobiveni apsorpcijski spektri i baždarne krivulje poštuju očekivane zakonitosti čime je potvrđena i efikasnost UV/VIS spektroskopije za određivanje ovih spojeva.

Ključne riječi: kvaterni fosfonijeve soli, trifenilfosfonijeve soli, UV/VIS spektroskopija

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

Rad sadrži: 27 stranica, 15 grafičkih prikaza i 52 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Mentor: dr. sc. Renata Odžak, izvanredni profesor

Neposredni voditelj: Doris Crnčević, mag. educ. biol. et chem.

Ocjenjivači: dr. sc. Renata Odžak, izvanredni profesor

dr. sc. Matilda Šprung, izvanredni profesor

Doris Crnčević, mag. educ. biol. et chem.

Rad prihvaćen: 14.09.2024.

Basic documentation card

University of Split

B. Sc. Thesis

Faculty of Science

Department of Chemistry

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

THE USE OF UV/VIS SPECTROSCOPY FOR QUANTIFICATION OF TRIPHENYLPHOSPHONIUM QUATERNARY SALTS

Sara Serdar

Quaternary phosphonium compounds are amphiphilic compounds with exceptional properties and a wide range of applications. Despite their long history of application in organic synthesis and catalysis, they are characterized by broad-spectrum antimicrobial activity. Due to the development of bacterial resistance to commercial antiseptics, these compounds are being considered as potential next generation antiseptics. Triphenylphosphonium quaternary salts are extremely stable quaternary phosphonium compounds, with antimicrobial activity that surpasses their commercial analogues. In this study, newly synthesized triphenylphosphonium salts were analyzed by UV/VIS spectrophotometry, in order to determine their concentrations in an unknown sample. The obtained absorption spectra and calibration curves respect the expected regularities, thus confirming the effectiveness of UV/VIS spectroscopy for the determination of these compounds.

Keywords: quaternary phosphonium compounds, triphenylphosphonium salts, UV/VIS spectroscopy

Thesis deposited in the library of Faculty of Science, University of Split

Thesis consists of: 27 pages, 15 figures and 52 references, original in: Croatian

Mentor: Renata Odžak, Ph.D. Associate Professor

Assistant Supervisor: Doris Crnčević, mag. educ. biol. et chem.

Professor Reviewers: Renata Odžak, Ph.D. Associate Professor

Matilda Šprung, Ph.D. Associate Professor

Doris Crnčević, mag. educ. biol. et chem.

Thesis accepted: 14.09.2024.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. Kvaterni fosfonijevi spojevi	2
2.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva kvaternih fosfonijevih spojeva	3
2.1.2. Primjena kvaternih fosfonijevih spojeva	3
2.1.3. Antimikrobna aktivnost kvaternih fosfonijevih spojeva	4
2.2. Trifenilfosfonijeve soli	9
2.2.1. TPP spojevi u ciljanoj mitohondrijskoj terapiji.....	10
2.2.2. Antibakterijska aktivnost TPP spojeva	10
2.2.3. Antimikrobno djelovanje TPP derivata	12
2.3. UV/Vis spektroskopija	15
3. MATERIJALI I METODE	17
3.1. Kemikalije i potrošni materijal.....	17
3.2. Opis metode.....	17
4. REZULTATI I RASPRAVA	19
4.1. UV spektri istraženih spojeva.....	19
5. ZAKLJUČAK	22
6. LITERATURA	23

1. UVOD

Kvaterne fosfonijeve soli su značajna kategorija organofosfornih spojeva zbog njihovog širokog spektra primjene u različitim područjima. Ove soli se dugotrajno koriste u izradi materijala, medicinskoj kemiji, organskoj sintezi, katalizi i koordinacijskoj kemiji [1]. No primjenjuju se i kao poljoprivredni dezinficijensi te inhibitori korozije, a njihova biološka aktivnost je osebujna te se još uvijek istražuje [2] [3].

Ove organske soli karakterizira laka dostupnost, jednostavnost sinteze, visoka toplinska i elektrokemijska stabilnost, a time i visoka pouzdanost. Također djeluju u širokom rasponu pH vrijednosti, imaju poželjne ekološke značajke, te su fleksibilne u polarnim medijima [3]. Zbog svega navedenog dobivaju sve veću pozornost u organskoj kemiji.

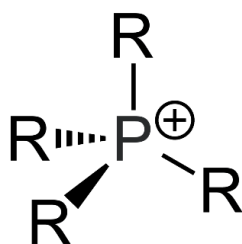
Od raznih oblika ovih soli, trifenilfosfonijeve (TPP) soli su zbog njihove sveprisutnosti u organskoj sintezi i relativnoj stabilnosti na zraku, primarne teme istraživanja [4]. Osim primjene u medicinskoj kemiji, ove soli u novije vrijeme predstavljaju moguću sljedeću generaciju antiseptika.

Ovaj rad iznosi biološku važnost ovih spojeva, s naglaskom na njihovu antimikrobnu aktivnost. Cilj ovog rada je snimiti apsorpcijske spektre odabranih trifenilfosfonijevih kvaternih soli u svrhu određivanja koncentracije istih u nepoznatom uzorku.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Kvaterni fosfonijevi spojevi

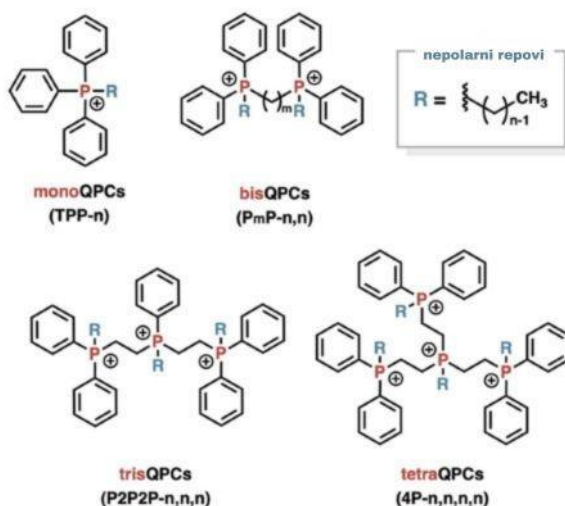
Kvaterni fosfonijevi spojevi ili kvaterni fosfonijevi kationi (eng. *quaternary phosphonium cations* - QPCs) su spojevi građeni od pozitivno nabijenog atoma fosfora i četiri supstituenta. Na Slici 1 prikazana je opća struktura kvaternog fosfonijevog kationa. Oznake R predstavljaju supstituente koji mogu strukturno varirati, a najčešće je riječ o alkilnim ili arilnim supstutentima.



Slika 1. Opća struktura kvaternog fosfonijevog kationa

Izvor: https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Quart._Phosphonium_Cation_Structural_Formulae_V.1.png

Kvaterni fosfonijevi spojevi su elektrostatskim silama vezani na odgovarajući anion, čineći kvaternerne soli. QPCs također mogu sadržavati i više od jednog pozitivno nabijenog atoma fosfora pa ih se dijeli na mono-, bis- i multi- kvaternerne fosfonijeve spojeve (Slika 2).



Slika 2. Opći oblici različitih kvaternih fosfonijevih kationa

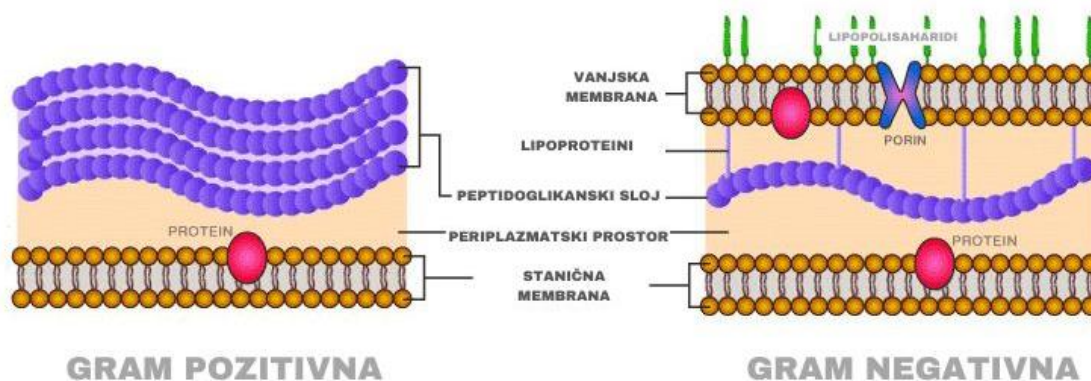
Izvor: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8996050/>

2.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva kvaternih fosfonijevih spojeva

Kvaterni fosfonijevi spojevi su lipofilni kationi te je njihov pozitivni naboj delokaliziran na velikoj i hidrofobnoj površini [4]. Fizikalna svojstva kvaternih fosfonijevih spojeva uvelike ovise o prirodi bočnih lanaca koji su supstituirani na pozitivno nabijeni fosforov atom. Spojevi sa supstituiranim alkilnim, nepolarnim lancima topljivi su u nepolarnim otapalima te se ponašaju kao izvrsni emulgatori. Tako se za kvaterne fosfonijeve spojeve koji imaju dugački alkilni lanac može reći da imaju hidrofobni “rep” i hidrofilnu “glavu” što ih čini površinski aktivnim spojevima ili surfaktantima. Surfaktanti su spojevi koji, kada su prisutni u niskoj koncentraciji u sustavu, imaju svojstvo adsorbiranja na površine ili sučelja sustava čime u znatnoj mjeri mijenjaju površinske ili međupovršinske slobodne energije tih površina (ili sučelja) [5]. U otopinama, molekule ovih spojeva formiraju nakupine micela pa im se može odrediti i kritična micelarna koncentracija (cmc) [6].

2.1.2. Primjena kvaternih fosfonijevih spojeva

Utvrđeno je da kvaterne fosfonijeve soli pokazuju visoko učinkovit i širok spektar biološke aktivnosti kao antitumorska, antivirusna, analgetska, antifungalna, antibakterijska i antiparazitska svojstva [3]. QPC spojevi većinom djeluju protiv Gram-pozitivnih bakterija, dok je djelovanje protiv Gram-negativnih bakterija manje zabilježeno. To se može pripisati činjenici da Gram-negativne bakterije imaju niži negativni membranski potencijal (-100 mV) od Gram-pozitivnih bakterija (-125 do -160 mV), kao i razlikama u sastavu membrana ovih dviju vrsta bakterija (Slika 3) [8] [9].

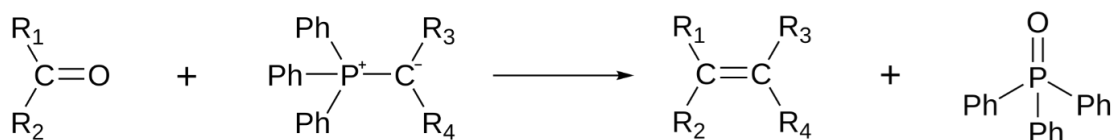


Slika 3. Usporedba Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija

Izvor: <https://byjus.com/biology/difference-between-gram-positive-and-gram-negative-bacteria/>

Međutim, unatoč korisnim biološkim i farmakološkim aktivnostima kvaternih fosfonijevih soli, one imaju vrlo široku primjenu u drugim područjima.

Najpoznatije, kvaterne fosfonijeve soli se već desetljećima koriste kao katalizatori Wittigove reakcije (Slika 4) [4]. Ildi fosfora su po svojoj strukturi kvaterni fosfonijevi spojevi, supstituirani s tri benzenska prstena te jednim ugljikovim atomom koji nosi varijabilne supstituente. Njihovom reakcijom s aldehidima ili ketonima nastaje odgovarajući alken i fosfin-oksid [10].



Slika 4. Shema Wittigove reakcije

Također se primjenjuju kao katalizatori reakcija prijenosa faza te se proučava njihova učinkovitost kao aktivnih katalizatora Brønsted kiseline za Friedel-Craftsove reakcije [11], [12].

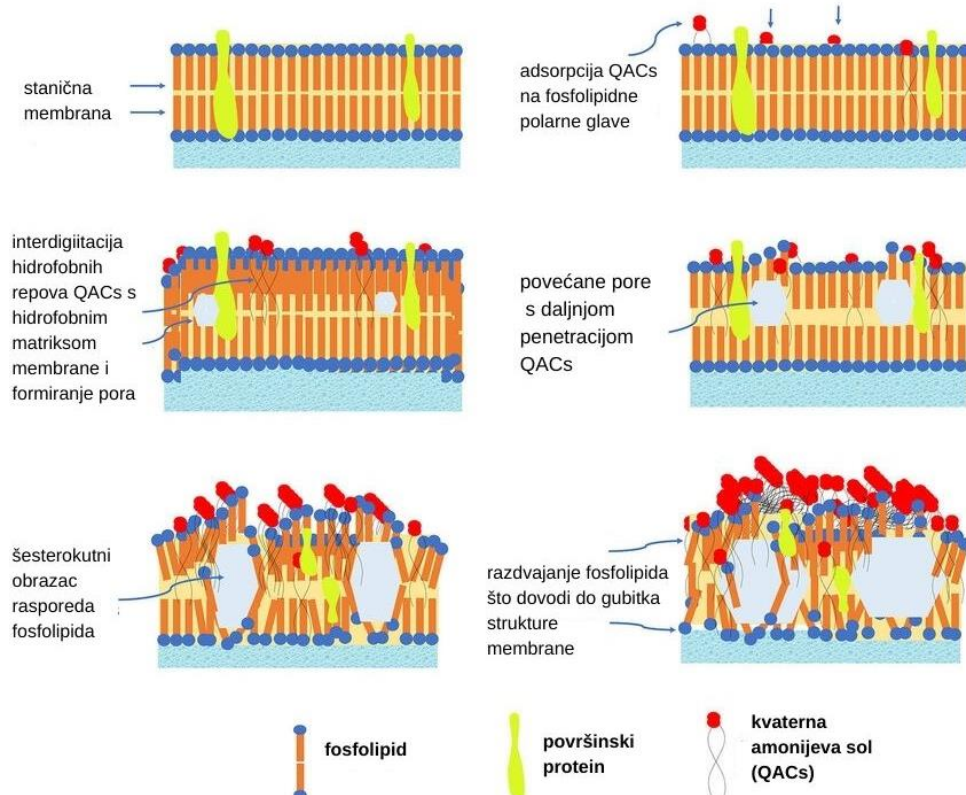
Ovi spojevi se primjenjuju i kao usporivači plamena. Usporivači plamena (eng. *flame retardants*) sprječavaju ili usporavaju daljnji razvoj plamena nizom različitih fizikalnih i kemijskih mehanizama. Općenito se dodaju proizvedenim materijalima, kao što su plastika i tekstil. Usporivači plamena raznolika su skupina kemikalija, a organofosforni spojevi zauzimaju značajan položaj unutar ove skupine [13]. Poznat je tetrakis(hidroksimetil)fosfonijev klorid (THPC), koji nakon tretiranja ureom, služi kao zaštita pamučnom tekstilu i drugim celuloznim tkaninama [14].

2.1.3. Antimikrobna aktivnost kvaternih fosfonijevih spojeva

Antimikrobna aktivnost je karakteristika većine kvaternih heteroatomske soli, te se smatra da ovisi o gustoći kationskog naboja i hidrofobnosti aktivne molekule. U novije vrijeme QPCs se sve više istražuju kao mogući odgovor problema antimikrobne rezistencije na poznate dezinficijense. U formulaciji dezinficijensa i antiseptika se koriste pretežito kvaterne amonijeve soli (eng. *quaternary ammonium cations* - QACs) kao aktivni dodatci. Nekoliko kvaternih fosfonijevih soli, koje pokazuju strukturne i biološke sličnosti s QACs, razvijeno je već sredinom 20. stoljeća [15]. Nedavni pregledi istaknuli su potencijal ovih kationskih amfifila

kao rješenje za otpornost i toksičnost povezanu s QACs [16]. Istraživanja su čak utvrdila superiornu toplinsku stabilnost [17] i antibakterijsku aktivnost QPCs u usporedbi s QACs.

Što se tiče njihova mehanizma djelovanja, QPCs kao i QACs, djeluju kao membranski disruptori [18]. Usprkos brojnim istraživanjima, potpun mehanizam djelovanja još uvijek nije potpuno razjašnjen [19]. No poznato je da kationska glava spoja ostvaruje elektrostatske interakcije s negativno nabijenom staničnom stijenkom patogena, nakon čega slijedi prodiranje hidrofobnog lanca u staničnu stijenku te interakcija sa staničnom membranom. Spojevi u interakciji s lipidima i proteinima stanične membrane uzrokuju dezorganizaciju u strukturi membrane, stvaranje pora, a time i gubitak osmoregulatora, istjecanje niskomolekularnih komponenata te konačno razgradnju proteina i nukleinskih kiselina. Ovo rezultira oslobađanjem autolitičkih enzima, lizom preostalih komponenata te staničnom smrću. Na Slici 5 je prikazana interakcija spojeva sa staničnom membranom. Zbog jačeg polarizacijskog efekta atoma fosfora u usporedbi s atomom dušika, QPCs se lakše adsorbiraju na negativno nabijene bakterijske membrane od QACs i obično imaju veću aktivnost, stabilnost i širi raspon primjenjivih pH (pH = 2-12) [20].*



Slika 5. Shema djelovanja kvaternih amonijevih i fosfonijevih spojeva

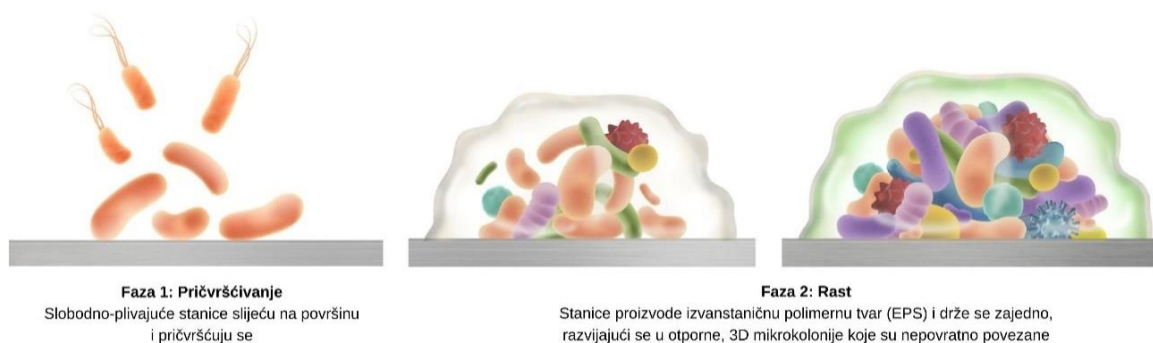
Izvor: <https://www.researchgate.net/publication/363805607>

Nedavno je dokazano da neki predstavnici ove klase, uključujući alkil-TPP i alkil tributil fosfonijeve soli, također pokazuju antioksidativnu aktivnost, čime su sposobni smanjiti oksidativni stres koji pokreću bakterije, pomažući ljudskom tijelu u borbi protiv njih i blokirajući replikaciju mikrobnih patogena [21]. Keasler i sur. (2010) su izvijestili o antioksidativnim svojstvima tetrakis(hidroksimetil)fosfonij sulfata (THPS) i njegovoj biocidnoj aktivnosti narušavanjem disulfidnih veza u bakterijskim stanicama [22].

Ove soli su također primjenjivane kao ionske tekućine. Ionske tekućine (eng. *ionic liquids* - IL) su organske soli koje postoje u tekućem obliku u širokom rasponu temperatura. Najčešće IL sastoje se od imidazolijevih, piridinijevih i amonijevih kvaternih soli [23]. IL na bazi fosfonijevih kvaternih soli (PIL) pokazuju visoku toplinsku stabilnost u usporedbi s ionskim tekućinama na bazi dušika [23]. Antimikrobne učinke PIL-a izvijestili su Brunel i sur. (2018), kao i Das i sur. (2021), čije je istraživanje iznijelo da PIL pokazuju selektivnu bakterijsku toksičnost prema Gram-pozitivnoj *Staphylococcus aureus* i Gram-negativnoj *Escherichia coli*, ovisno o broju fosfonijevih iona prisutnih u soli [24] [25].

Fosfonijeve soli s jednostrukim i dvostrukim alkilnim lancima istražili su Kanazawa i sur. (1994) [26]. Ovdje je ispitan utjecaj duljine lanca (C10-C18) na antibakterijsko djelovanje protiv širokog spektra patogena, uključujući *Staphylococcus aureus* rezistentnog na meticilin (eng. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – MRSA). Studija je iznijela izravnu korelaciju između molekularne strukture i antibakterijskog djelovanja. Primijećeno je da veće duljine alkilnog lanca i prisutnost arilnih skupina poboljšavaju antimikrobnu aktivnost.

No osim studija o njihovom biocidnom djelovanju, QPCs su također proučavane kao inhibitori biofilma, čime se uvodi pojam anti-vegetativnih svojstava ovih soli. Biofilmovi (Slika 6) su organizirane heterogene zajednice mikroorganizama, pričvršćenih jedna za drugu i za površinu, koje su zatvorene u samostalno proizvedenoj izvanstaničnoj polimernoj tvari (eng. *extracellular polymeric substances* - EPS). EPS ih štiti od stresora iz okoliša, uključujući ekstremne uvjete pH, kisika, temperature, UV zračenja, dezinficijensa i antibiotika [27]. U studiji iz 2015.g. Kim i sur. su pokazali potencijal tributil(tetradecil)fosfonijeva klorida (TTPC) kao biocida koji kontrolira obraštanje na membranama korištenima u procesima reverzne osmoze tijekom obrade vode. TTPC je pokazao sposobnost smanjivanja debljine i volumena biofilma *Pseudomonas aeruginosa* [28].

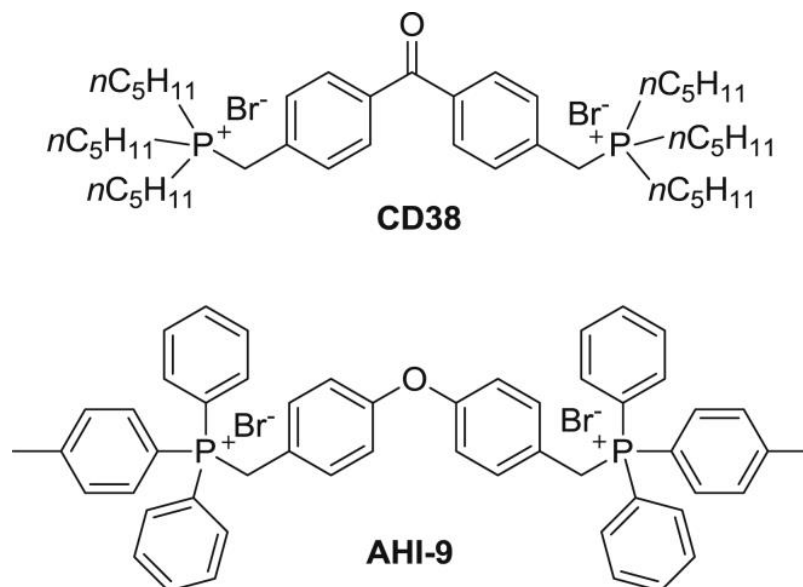


Slika 6. Shema stvaranja biofilma

Izvor: <https://quiplabs.com/understanding-the-effects-of-biofilm-on-your-research/>

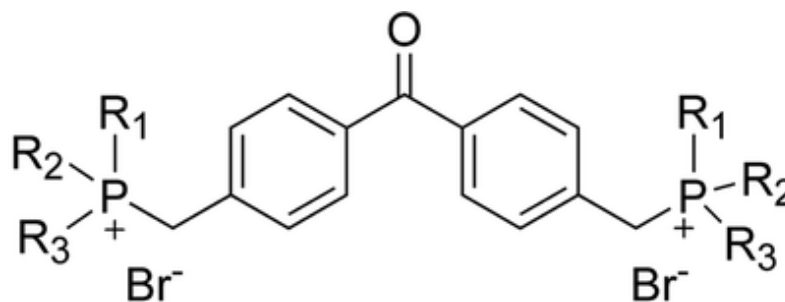
Alkil-TPP spojevi su godinama poznati kao kemijski međuprodukti Wittigove reakcije, lako se sintetiziraju jeftinom reakcijom u jednom koraku i lako pročišćavaju kristalizacijom, te su također proučavani kao inhibitori bakterijskih biofilмова. Istraživanje Fernández i sur. (2015) opisalo je nekoliko bioučinkovita brojnih alkil-TPP soli, uključujući biocidno djelovanje širokog spektra spojeva s alkilnim lancima $> C7$, anti-vegetativna svojstva nekih od njih i sposobnost drugih da djeluju kao nebiocidni, netoksični kvorum (QS) disruptori, dakle bez tendencije razvoja rezistencije u mikroorganizmima [29]. Bakterijski kvorum podrazumijeva minimalnu, kritičnu koncentraciju bakterijskih stanica u populaciji potrebnih da se dogodi zajednička genska ekspresija i koordinirani odgovor na promjene u njihovu okolišu [30]. Što znači da osim uništavanja već stvorenih biofilмова, ovi spojevi imaju sposobnost sprječavanja njihova nastanka. Slična saznanja su iznijeli Joseph i sur. (2016), pripremom QACs i QPCs, koji su pokazali slična svojstva protiv biofilma [31].

Osim navedene anti-bakterijske aktivnosti, benzil-TPP derivati kao i određene bis-QPCs su pokazale anti-tripanosomsku aktivnost protiv *Trypanosoma brucei* (Slika 7) [32]. Derivat benzofenona, bis-QPC sol, pokazao je izvanrednu toksičnost za ljudskog parazita *Leishmania* (Slika 8) [33].



Slika 7. Strukture bis-QPCs koje pokazuju anti-tripanosomsku aktivnost

Izvor: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4805778>



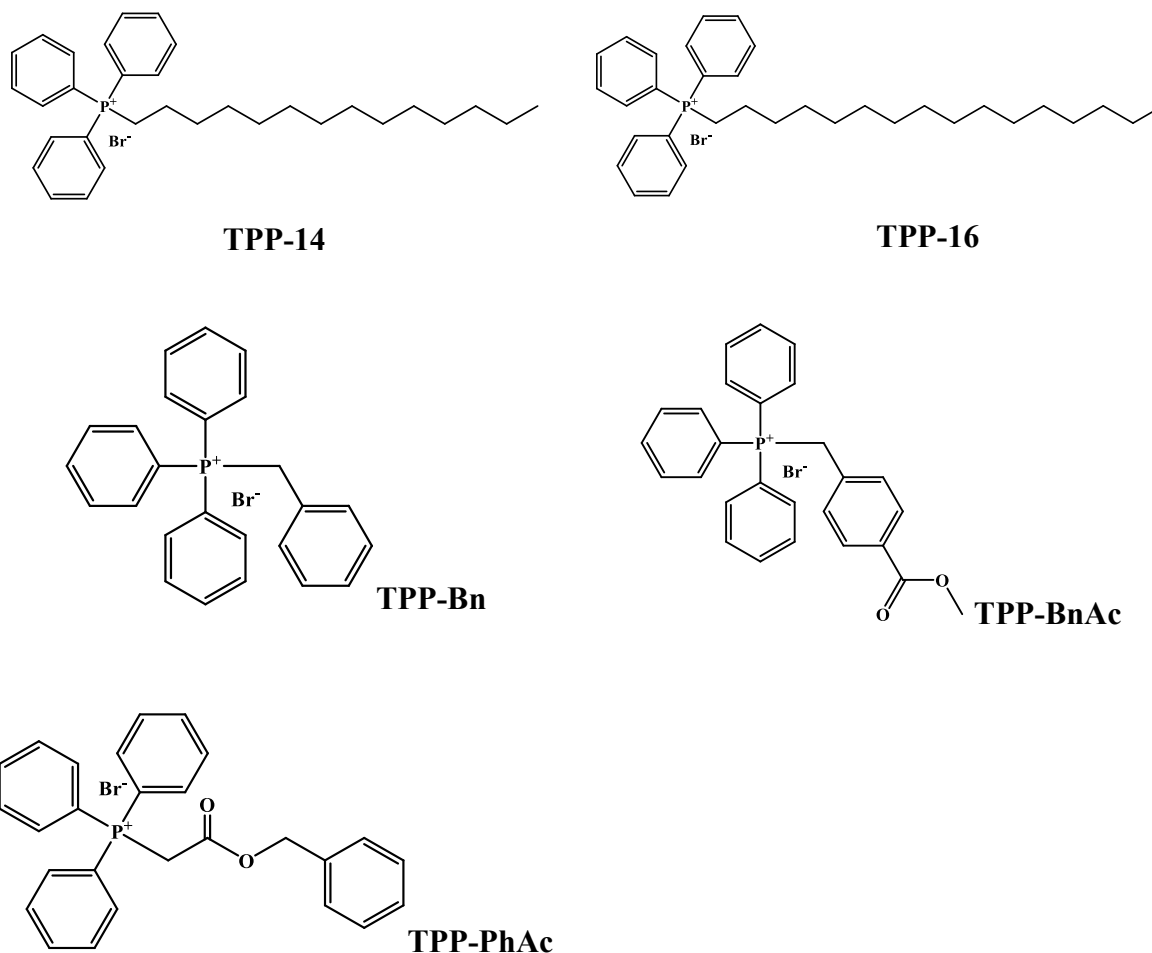
Slika 8. Opća struktura bis-QPC soli koje pokazuju toksičnost protiv *Leishmania* sp.

Izvor: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm901677h>

2.2. Trifenilfosfonijeve soli

Trifenilfosfonijeve (TPP) soli su kvaterni fosfonijevi spojevi gdje je centralni fosforov atom supstituiran s tri benzenska prstena, te varijabilnim četvrtim supstituentom, a elektrostatskim silama vezan na odgovarajući anion.

Tema ovog rada su pet bromidnih soli; (1-tetradecil)trifenilfosfonijev bromid (TPP-14), (1-heksadecil)trifenilfosfonijev bromid (TPP-16), benziltrifenilfosfonijev bromid (TPP-Bn), (4-metoksikarbonilbenzil)trifenilfosfonij bromid (TPP-BnAc) i (benziloksikarbonilmetil)trifenilfosfonijev bromid (TPP-PhAc), čije su strukture prikazane na Slici 9.



Slika 9. Trifenilfosfonijeve soli analizirane u radu

TPP-14 se koristi kao važna sirovina i međuprodukt u organskoj sintezi, farmaceutskim proizvodima, agrokemikalijama i bojilima [34]. TPP-16 se široko koristi kao konzervans, te za pročišćavanje vode u poljoprivredi. Također se koristi kao antistatičko sredstvo u tekstilu, vlaknima, koži, kao flokulant, u dezodoransima i kao katalizator za prijenos faze [35]. S druge strane, TPP-Bn se koristi kao reaktant za sintezu različitih spojeva [36]. TPP-BnAc i TPP-PhAc spadaju u manje korištene spojeve te se njihova biološka svojstva treba više istražiti.

2.2.1. TPP spojevi u ciljanoj mitohondrijskoj terapiji

Već je navedeno da su QPCs lipofilni kationi te površinski aktivni spojevi, no to je svojstvo posebno izraženo kod trifenilfosfonijevih kationa (TPP⁺). Ovi spojevi imaju snažnu tendenciju vezanja za površinu fosfolipidnih dvoslojeva zbog potencijalne energije blizu površine membrane, pri čemu se četvrti varijabilni supstituent označavan kao "teret" (eng. *cargo*) vezan za kation TPP-a uranja u membranu. Povećanje hidrofobnosti pojačava ovu tendenciju vezanja za unutaraju membranu, pa je prolaz kroz fosfolipidni dvosloj olakšan. Upravo ovo ih čini izvrsnim za ciljane mitohondrijske terapije, jer se nakupljaju u mitohondrijskom matriksu. Iako postoji niz lipofilnih kationa koji se mogu odabrati; TPP⁺ posebno je jedinstven zbog svoje jednostavnosti u strukturi i lakoće povezivanja s ciljnim molekulama. Dokazano je da je TPP⁺ vrlo svestrana platforma i korištena je za isporuku širokog spektra tereta, kao što su spin-zamke, antioksidansi, prolijekovi, protonofori, fluorofori, fotodinamički senzibilizatori te pozitronski emiteri [37].

Tipična strategija za poboljšanje lipofilnosti za TPP⁺ konjugirane spojeve je odabir molekularnog fragmenta s većom lipofilnošću kao linkera, obično duljeg alkilnog lanca, između TPP⁺ dijela i tereta, što povećava brzinu propuštanja kroz membranu, a time i brzinu nakupljanja u mitohondriju [38]. Međutim, modulacija duljine linkera ima svoja ograničenja. Izazovnije je modificirati linkere s određenom funkcijom, kao što su linkeri koji se mogu cijepati i koji se koriste u svrhu oslobađanja lijeka, gdje modifikacija može dovesti do promjene funkcije [39].

2.2.2. Antibakterijska aktivnost TPP spojeva

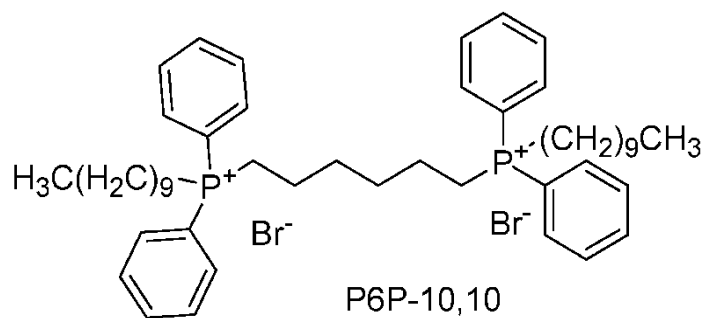
U svrhu istraživanja antimikrobnog djelovanja ovih spojeva, istraživane su i mono- i multi- TPP soli. Različita istraživanja su sugerirala da čimbenici kao što su zasićenost i broj

hidrofobnih repova mogu igrati važnu ulogu u snazi ovih spojeva, dodatno potvrđujući ideju da je optimizacija omjera polarnog i nepolarnog karaktera glavna odrednica njihove antimikrobne aktivnosti.

Isti čimbenici su proučavani u radu Sommers et. al (2022), gdje je karakterizirano djelovanje više tipova TPP [40]. Alkil-TPP soli su proučavane kao mono-QPCs predstavnici. Istraživanje je pokazalo da su TPP soli s alkilnim repom od 12 i 14 ugljika idealni za poremećaj međumolekularnih sila lipidnog dvosloja u Gram-pozitivnim bakterijama. Na većim duljinama lanaca, aktivnost protiv *Enterococcus faecalis* i *P. aeruginosa* nastavila se povećavati, te je TPP-16 rezultirao čak ~63-strukim i ~16-strukim poboljšanjem aktivnosti u usporedbi s komercijalno korištenim cetilpiridinijevim kloridom (CPC). Optimalna aktivnost protiv *Staphylococcus aureus* osjetljivog na meticilin (eng. *methicillin-susceptible S. aureus* – MSSA), kao i protiv izvanbolničkog (eng. *community acquired CA-*) i bolničkog (eng. *Hospital acquired HA-*) *S. aureus* rezistentnog na meticilin (eng. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – MRSA; CA-MRSA i HA-MRSA) primijećena je za spojeve koji imaju duljinu repa od 11 do 13 ugljika.

U usporedbi s mono-QPCs, bis-QPCs su slijedili drugačiji obrazac u bioaktivnosti, pri čemu su spojevi s kraćim duljinama repa pokazivali optimalne aktivnosti u svim sojevima. Spojevi s 8-ugljičnim duljinama repa pokazali su najbolje aktivnosti protiv MSSA i CA-MRSA. No protiv *E. faecalis*, *E. coli* i *P. aeruginosa*, soli s alkilnim repovima od 10 i 11 ugljika rezultirale su >četverostrukim povećanjem aktivnosti u usporedbi s onima od 8 ugljika. Međutim, kako se duljina repa ugljikovodika povećavala iznad 11 ugljika, aktivnost u svim sojevima počela je opadati.

Osim utjecaja duljine alkilnih repova, proučavan je i utjecaj duljine linkera između dva fosforova atoma. Modificiranje duljine linkera je rezultiralo u blagom poboljšanju kod svih sojeva, naročito kod *E. faecalis*, gdje je povećanje duljine alkil linkera dovelo je do značajnog povećanja aktivnosti. Unutar ovog istraživanja, P6P-10,10 (Slika 10), je pokazao najveću aktivnost širokog spektra od svih pripremljenih QPCs. Čak pokazivajući poboljšanu aktivnost u usporedbi s dva komercijalna QACs, benzalkonijev klorid (BAC) i CPC.



Slika 10. Struktura P6P-10,10

Izvor: <https://www.mdpi.com/1999-4923/16/1/80>

2.2.3. Antimikrobno djelovanje TPP derivata

Konjugacija TPP⁺ na druge molekule je već spomenuta u odjeljku 2.2.1., no moguća je i konjugacija u drugačije svrhe. Naime osim antimikrobne aktivnosti samih TPP soli, razne studije su pokazale da TPP konjugacija bioaktivnih molekula, prirodnih i sintetičkih, značajno poboljšava njihovu antimikrobnu aktivnost. Ova se strategija pokazala korisnom protiv Gram-pozitivnih bakterija i mikobakterija, no i protiv gljivica, protozoa i parazita, uključujući *Candida albicans*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania donovani* i *Trypanosoma cruzi*.

Ovakvi konjugirani spojevi se sastoje od tri dijela: matične molekule, alkilnog linkera i kvaternog fosfonijevog kationa. Ovom modifikacijom lipofilni TPP⁺ elektrostatskim privlačenjem vodi matičnu molekulu kroz lipidni dvosloj, što dovodi do povećane koncentracije matičnih molekula. No neka istraživanja su pokazala da i sama struktura TPP dijela ovih spojeva utječe na cjelokupnu aktivnost analoga. Primjer je antimalarična aktivnost analoga ftalimida, koju su istražili Long i sur. (2012), čime je ona u potpunosti ovisila o fosfonijevom dijelu molekule, povećavajući se zajedno s duljinom alkilnih lanaca [41].

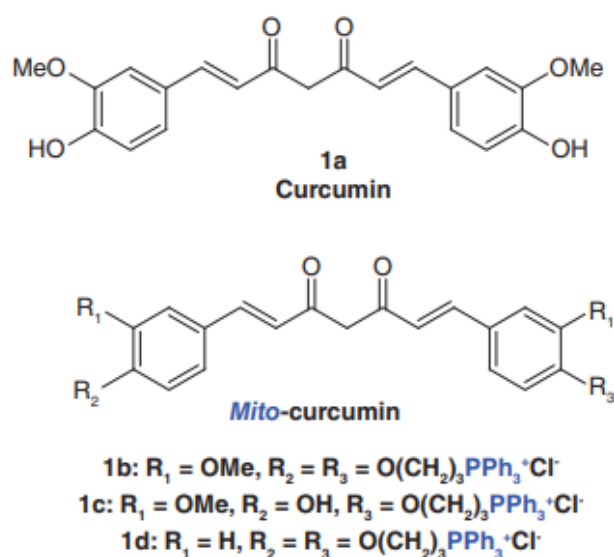
Kod nekih derivata, TPP⁺ se zajedno s linkerom odvoji od matične molekule, čime djeluju odvojeno. Smatra se da je poboljšana antimikrobna aktivnost QPC spojeva s linkerima koji imaju deset ili više ugljika može biti posljedica slobodnih alkil-TPP fragmenata koji nastaju tijekom metabolizma QPC spojeva. No u slučaju derivata CHL-TPP, netaknuta molekula veže se za ciljno mjesto u bakterijskom ribosomu [42]. Naime riječ je o antibiotiku kloramfenikolu (CHL), koji cilja ribosome i veže se na centar peptidil transferaze (PTC) bakterijskog ribosoma te inhibira stvaranje peptidne veze. Podatci istraživanja Chen i sur. (2021) pokazuju da ovaj

CHL-TPP analog pokazuje ~5 puta jači afinitet za bakterijski ribosom i veću potenciju kao *in vitro* inhibitor sinteze proteina u usporedbi s CHL-om.

Konkretni primjeri konjugacije TPP-a na prirodne bioaktivne molekule uključuju analoge kurkumina, galne kiseline te ružmarinske kiseline.

2.2.3.1. Konjugacija TPP na kurkumin

Kurkumin, prvotno izoliran iz kurkume, *Curcuma longa*, prepoznat je kao spoj širokih svojstava, uključujući antimikrobne, antioksidativne, antitumorske i protuupalne aktivnosti [43]. Međutim, kurkumin pokazuje lošu farmakokinetiku, uključujući nisku bioraspodivnost, topljivost, stabilnost i brzo izlučivanje, što ograničava njegovu upotrebu. U svrhu rješavanja ovog problema, Reddy i sur. (2014) sintetizirali su analoge kurkumina konjugirajući jednu ili obje hidroksilne skupine kurkumina s alkil-TPP molekulama kako bi dobili mito-kurkumin (MC) (Slika 11) [44].



Slika 11. Struktura kurkumina (1a) i njegovih TPP derivata

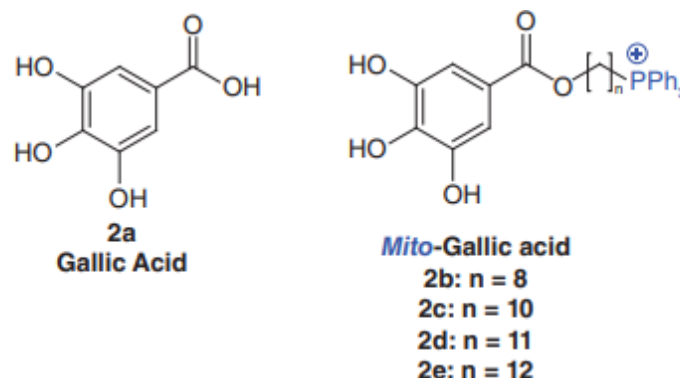
Izvor: https://www.researchgate.net/publication/375414416_Antimicrobial_potential_of_quaternary_phosphonium_salt_compounds_a_review

Analizu ovih spojeva su nastavili Kumari i sur. (2019), s naglaskom na antimikrobnu aktivnost mito-kurkumina [45]. Utvrđeno je da MC posjeduje baktericidno djelovanje širokog spektra protiv Gram-pozitivnih (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus carnosus*) bakterija i Gram-negativnih bakterija (*Escherichia coli*). MC je pokazao jačinu djelovanja sličnu uobičajeno

korištenim antibioticima kao što su vankomicin i ciprofloksacin. Daljnja istraživanja iste skupine znanstvenika su otkrila da je MC također aktivan protiv multirezistentnih bakterija kao što je *Streptococcus pneumoniae*, s time da je minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) bila pet puta niža od prethodno utvrđene toksične koncentracije za ljudske stanice, što pokazuje njegovu visoku sigurnost [46]. Uz to je zabilježeno i da se MC veže s većim afinitetom od svoje matične molekule, kurkumina.

2.2.3.2. Konjugacija TPP na galnu kiselinu

Galna kiselina (GA) je taninski polifenol s antioksidativnim i antikancerogenim svojstvima. Antitripanosomska aktivnost GA i njenih estera prvi put je zabilježena 1990. godine [47]. Od tada je izdano nekoliko istraživanja usmjereno na korištenje GA i njenih analoga za liječenje Chagasove bolesti uzrokovane *Trypanosoma cruzi*. Cortes i sur. (2015) pokazali su in vitro tripanocidni učinak niza TPP-konjugiranih GA derivata s različitim duljinama alkil linkera (Slika 12) [48]. Svi derivati pokazali su izvrsnu potenciju i selektivnost, no analozi 2c i 2e pokazali su veću potenciju od standardnog lijeka, nifurtimoksa. Ova studija je dokazala i selektivnost ovih spojeva. Naime, drugi kationi se neselektivno vežu za bilo koju komponentu mitohondrijskog respiracijskog lanca i induciraju proizvodnju mitohondrijskih reaktivnih kisikovih vrsta (ROS), što ih čini manje sigurnima.



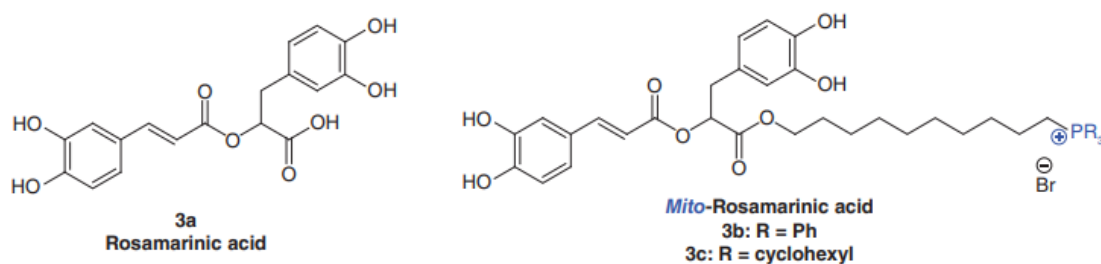
Slika 12. Struktura galne kiseline (2a) i njenih TPP analoga

Izvor: https://www.researchgate.net/publication/375414416_Antimicrobial_potential_of_quaternary_phosphonium_salt_compounds_a_review

2.2.3.3. Konjugacija TPP na ružmarinsku kiselinu

Ružmarinska kiselina (RA) je sekundarni metabolit ružmarina, *Rosmarinus officinalis*, te se pokazalo da ima protuupalno, antimikrobno, kardioprotektivno i antitumorsko djelovanje [49]. U svrhu povećanja permeacije RA, Bittner Fialová i sur. (2019) su sintetizirali i testirali

antimikrobna svojstva dva QPC-RA derivata, jedan TPP-RA, drugi cikloheksil-RA (Slika 13) [50].



Slika 13. Struktura ružmarinske kiseline (3a) i njenih QPC analoga

Izvor: https://www.researchgate.net/publication/375414416_Antimicrobial_potential_of_quaternary_phosphonium_salt_compounds_a_review

Zabilježeno je značajno veće antimikrobno djelovanje sintetiziranih derivata u usporedbi sa samom ružmarinskom kiselinom. Protiv *Staphylococcus aureus* je određena minimalna inhibitorna koncentracija, MIC = 0,05-0,19 μM , koji za ružmarinsku kiselinu iznosi MIC = 3,47. Također je zabilježeno trostruko povećanje aktivnosti protiv amebe *Acanthamoeba quina* i >osmerostruko povećanje aktivnosti protiv *Staphylococcus lugdunensis* u usporedbi s ružmarinskom kiselinom (MIC = 1,14-1,32 μM , u odnosu na MIC >10 μM ružmarinske kiseline). Zanimljivo je da je antifungalno djelovanje novo sintetiziranih analoga (MIC = 0,012 μM) protiv *Candida albicans* bilo gotovo 144 puta veće u usporedbi s ružmarinskom kiselinom (MIC = 1,73 μM).

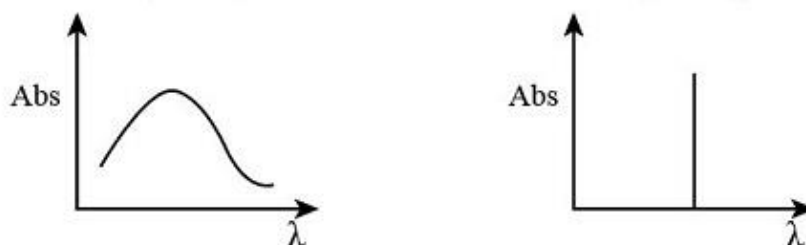
2.3. UV/Vis spektroskopija

Spektroskopija proučava međusobno djelovanje elektromagnetskog zračenja i tvari. Na nju se nadovezuje spektrometrija, kao tehnika kojom se mjeri koncentracija ili količina tvari (atom, molekula, ion) kao funkcija intenziteta zračenja. No također se definiraju i spektrokemijske metode, kao široko korištene tehnike za razrješenje strukture molekulskih vrsta, kao i kvalitativno i kvantitativno određivanje i ispitivanje anorganskih i organskih vrsta. Apsorpcija elektromagnetskog zračenja (pobuđivanje elektrona) može se detektirati i mjeriti instrumentom koji se naziva spektrometar ili spektrofotometar.

UV/VIS (eng. *ultra violet/visible* – ultra ljubičasto/vidljivo) apsorpcijska spektroskopija se koristi elektromagnetskim zračenjem u UV i vidljivom području kako bi izazvala vibracije

veza unutar ispitivane molekule. Valne duljine u UV području su u rasponu od 190 do 400 nm, dok se vidljivo područje nastavlja do 760 nm. Ova tehnika je najčešće primjenjivana metoda u kemijskim i biokemijskim laboratorijima za kvalitativnu i kvantitativnu analizu.

Apsorpcija u UV/VIS području izaziva pobuđivanje elektrona u vanjskim veznim ljuskama molekula. Kada molekula apsorbira kvant energije elektroni iz svojih osnovnih stanja prelaze u viša pobuđena stanja. Time energije u UV/VIS području odgovaraju energijama potrebnim da se elektroni iz stacionarnog u pobuđeno stanje, što je predstavljeno apsorpcijskom krivuljom na grafikonu intenziteta zračenja u ovisnosti valne duljine (Slika 14). Molarni elektronski prijelazi nisu tako uski kao atomski prijelazi. Razlog tome je preklapanje energije osnovnog stanja, energije oscilacije i rotacijske energije molekula, kao i interakcija molekula tvari s otapalom [51].



Slika 14. Usporedba apsorpcijskih spektara molekula (lijevo) i atoma (desno)

Izvor: <https://homework.study.com/explanation/what-is-the-difference-in-absorbance-spectra-observed-for-molecules-compared-to-atoms.html>

Intenzitet signala u UV/VIS spektru ovisi o tri bitna faktora: koncentraciji analita (c), duljini puta zrake kroz otopinu (širina kivete; l) te mogućnosti analita da apsorbira svjetlost koja se propušta (ϵ). Ova zakonitost je opisana Lambert-Beerovim zakonom, koji tvrdi da je intenzitet apsorpcije (A) direktno proporcionalan prethodno navedenim stavkama.

$$A = \epsilon cl$$

Lambert-Beerov zakon vrijedi samo za zračenje određene valne duljine (monokromatsko zračenje). Moguća su odstupanja od navedene zakonitosti zbog indeksa prelamanja (refrakcije), ali i odstupanja pri višim koncentracijama zbog međusobnog djelovanja tvari.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Kemikalije i potrošni materijal

Kemikalije:

- Dimetilsulfoksid (DMSO) (Sigma Aldrich)

Potrošni materijal:

- Eppendorf tubice (500 μ L)
- Kvarcne kivete za spektrofotometriju
- Jednokratne rukavice
- Nastavci za mikropipete

Laboratorijski uređaji i instrumenti:

- UV/VIS spektrofotometar Lambda Bio 40 (PerkinElmer)
- Mikropipete (IKA PETTE vario)
 - 0,5-10 μ L
 - 10-100 μ L
 - 100-1000 μ L
- Ultrazvučna kupelj (Bandelin Sonorex)
- Analitička vaga (Mettler Toledo)

3.2. Opis metode

U Eppendorf tubice odvagano je 10 mg svakog od novosintetiziranih fosfonijevih kvaternih spojeva (TPP-14, TPP-16, TPP-Bn, TPP-BnAc i TPP-PhAc). Spojevi su otopljeni u 4%-tnom dimetilsulfoksidu (DMSO) u ultrazvučnoj kupelji na temperaturi od 70 °C. Ovako pripremljene standardne otopine dalje su razrijeđene u istom otapalu na željene koncentracije kojima su spektrofotometrijski snimani apsorpcijski spektri.

Prije snimanja apsorpcijskih spektara spojeva, snimljena je slijepa proba koja je sadržavala filtriranu i deioniziranu vodu (pročišćena Milipore Mili-Q sistemom). Nakon slijepe probe snimljeni su apsorpcijski spektri čistog otapala te potom zadanih koncentracija svakog

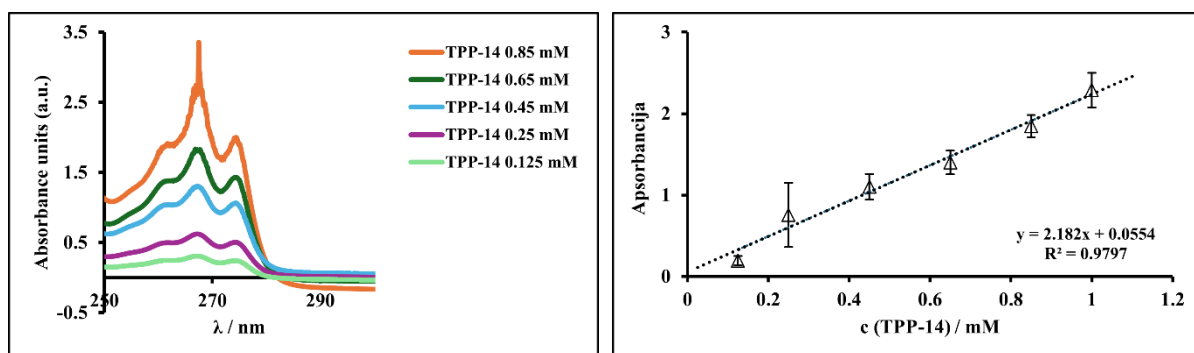
od kvaternih fosfonijevih spojeva. Svi apsorpcijski spektri su snimljeni u rasponu 190 – 400 nm, u UV području, s obzirom da su svi spojevi neobojani, čime se zaključuje da ne apsorbiraju u vidljivom području. Od svakog apsorpcijskog spektra pripadajućeg spoja oduzet je spektar 4%-tnog DMSO-a (UV WinLab) te su datoteke pohranjene u .txt formatu koji je dalje poslužio za obradu rezultata.

Apsorpcijski spektri spojeva grafički su prikazani programom Microsoft Excel. Iz istih je očitana vrijednost apsorbanije pri 260 – 265 nm te nacrtana baždarna krivulja ovisnosti apsorbanije o koncentraciji spoja.

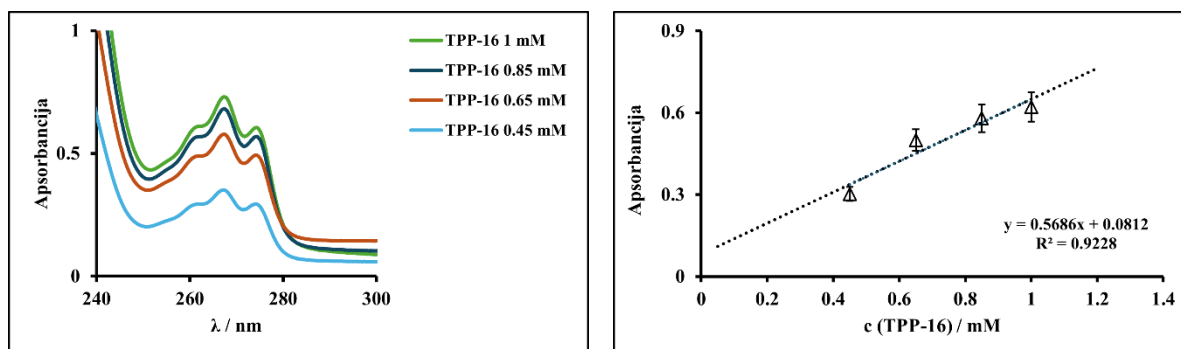
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. UV spektri istraženih spojeva

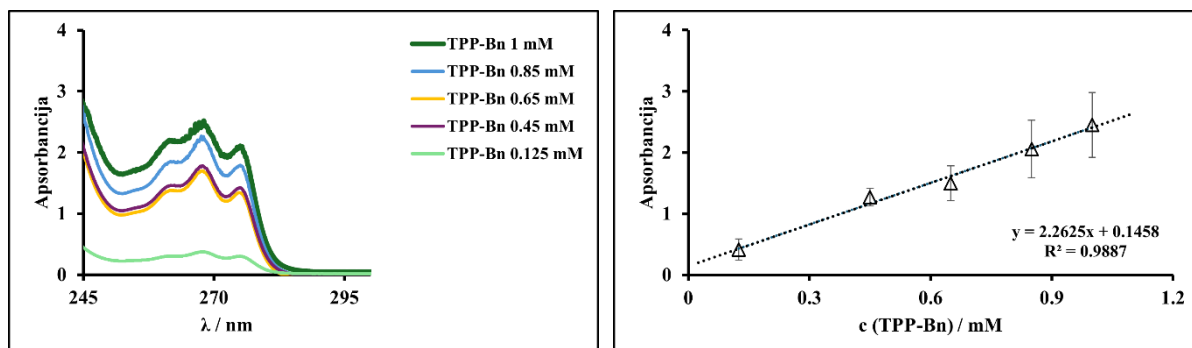
Apsorpcijski spektri svakog od uzoraka snimani su u tri nezavisna mjerenja. Dobiveni apsorpcijski spektri koncentracijske ovisnosti spojeva, kao i baždarna krivulja ovisnosti apsorpcije o koncentraciji s pripadajućim standardnim devijacijama prikazani su na Slici 15.



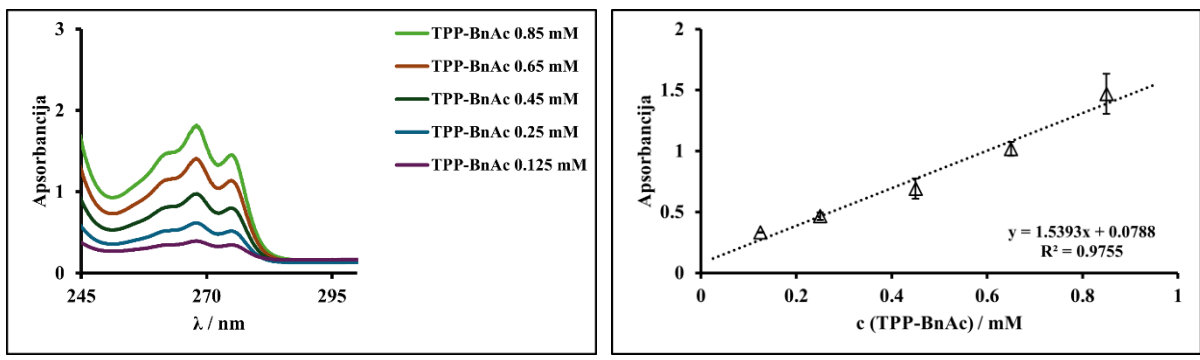
Apsorpcijski spektar i baždarna krivulja spoja TPP-14



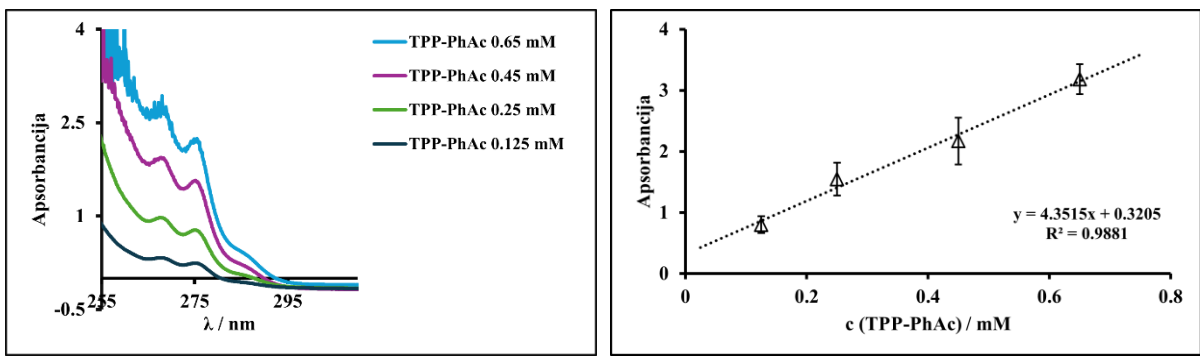
Apsorpcijski spektar i baždarna krivulja spoja TPP-16



Apsorpcijski spektar i baždarna krivulja spoja TPP-Bn



Apsorpcijski spektar i baždarna krivulja spoja TPP-BnAc



Apsorpcijski spektar i baždarna krivulja spoja TPP-PhAc

Slika 15. Apsorpcijski spektri i baždarne krivulje analiziranih soli

Kod svih spojeva su vidljiva tri pika u području od 260 do 280 nm. Riječ je izraženomj apsorpciji benzenskih prstenova. Naime izolirani benzen pokazuje dva intenzivna apsorpcijska pojasa na 180 nm i 200 nm i slabu apsorpcijsku traku na 260 nm [52]. No zbog strukture TPP kationa, točnije zbog utjecaja delokalizacije elektrona i pozitivnog naboja fosforova atoma, prisutan je batokroman pomak ovih apsorpcijskih pojaseva. Batokromni pomak (eng. *red shift*) je pomak prema većim valnim duljinama (λ), što odgovara nižoj energiji te ukazuje na stabilnost ovih spojeva.

Od ovog trenda jedino odstupa TPP-PhAc, na čijem je apsorpcijskom spektru vidljivo izrazito povećanje intenziteta apsorpcije na 245 nm, što se može pripisati činjenici da je benzenski prsten četvrtog supstituenta udaljen od glavnog TPP dijela molekule, čime njegova apsorpcija dolazi do izražaja. Također, dok je maksimum apsorpcije ostalih spojeva očit na valnoj duljini $\lambda_{\max} = 260$ nm, očitani apsorpcijski maksimum za TPP-PhAc je $\lambda_{\max} = 265$ nm.

Iz svega navedenog je vidljivo da četvrti varijabilni supstituent kod TPP-PhAc uzrokuje i hiperkromni pomak (veću apsorpciju), no i batokromni pomak.

Uz baždarne pravce spojeva je također priložena R^2 vrijednost. Idealna R^2 vrijednost je jednaka 1. S obzirom da je vrijednost približno jednaka 1 ($R^2 > 0,9200$) za sve spojeve, zaključuje se da su mjerenja pouzdana te poštuju očekivane zakonitosti. Niža vrijednost od očekivane je posljedica manje osjetljivosti instrumenta, kao i jake apsorpcije benzenskih prstenova što je otežalo očitavanje apsorpcijskog maksimuma.

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bila je spektrofotometrijska karakterizacija trifenilfosfonijevih kvaternih spojeva snimanjem apsorpcijskih spektara u UV području svjetlosti. Ovakva karakterizacija omogućila je izradu baždarnih dijagrama ovisnosti apsorbancije o koncentraciji spoja, što omogućava kvantitativnu analizu ispitivanog spoja u uzorku nepoznate koncentracije.

Ovim radom potvrđena je i efikasnost UV/VIS spektroskopije, kao jednostavnom i brzom spektrokemijskom metodom, za određivanje ovih spojeva.

S obzirom da rezultati poštuju zakonitost linearnog odnosa između povećanja apsorbancije i koncentracije, s minimalnim odstupanjem, može se potvrditi da je cilj postignut.

6. LITERATURA

- [1] Xue, Y.; Xiao, H.; Zhang, Y. (2015) Antimicrobial Polymeric Materials with Quaternary Ammonium and Phosphonium Salts. *International Journal of Molecular Sciences*, **16** (2): 3626 – 3655.
- [2] Mansouri, K. et al. (2016) A Comparative Electrochemical Study on Corrosion Inhibition of Iron by Synthesized Tetraphenylphosphonium Iodide in Acid Media. *Oriental Journal of Chemistry*, **32** (4): 2015 – 2025.
- [3] Noroozi-Shad, N., Gholizadeh, M., Sabet-Sarvestani, H. (2022) Quaternary phosphonium salts in the synthetic chemistry: Recent progress, development, and future perspectives. *Journal of Molecular Structure*, **1257**: 0022 – 2860.
- [4] Lao, Z., & Toy, P. H. (2016). Catalytic Wittig and aza-Wittig reactions. *Beilstein journal of organic chemistry*, **12**: 2577 – 2587
- [5] Onal, E. et al. (2022) Development of AB 3 -Type Novel Phthalocyanine and Porphyrin Photosensitizers Conjugated with Triphenylphosphonium for Higher Photodynamic Efficacy. *ACS Omega*. **7** (43): 39404 – 39416
- [6] Rosen, M. J., Kunjappu, J. T. (2012). Surfactants and Interfacial Phenomena. 4. izd. New Jersey: John Wiley & Sons., pp 1
- [7] Kresheck, G.C. (1975). Surfactants. In: Franks, F. (ur.) Water A Comprehensive Treatise. Water. Springer, Boston, MA., pp 96 – 167
- [8] Gálvez, A. et al. (1991) Permeation of bacterial cells, permeation of cytoplasmic and artificial membrane vesicles, and channel formation on lipid bilayers by peptide antibiotic AS-48. *Journal of bacteriology*. **173** (2): 886 – 892
- [9] Alborn, W. E., Jr, Allen, N. E., Preston, D. A. (1991) Daptomycin disrupts membrane potential in growing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **35** (11), 2282 – 2287
- [10] UCLA - Chemistry and Biochemistry, *Illustrated Glossary of Organic Chemistry*, URL: https://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/W/wittig_reaction.html, Pristupljeno 04.09.2024.
- [11] Chen, L. et al. (2024) Asymmetric Nucleophilic Additions Promoted by Quaternary Phosphonium Ion-Pair Catalysts. *CCS Chemistry*, **6** (9): 2110 – 2130
- [12] Chen, L. et al. (2019) Quaternary Phosphonium Salts as Active Brønsted Acid Catalysts for Friedel–Crafts Reactions, *Organic Letter*, **21** (14): 5733 – 5736

- [13] Weil, E. D., Levchik, S. V. (2008) Flame Retardants in Commercial Use or Development for Textiles. *Journal of Fire Sciences*, **26** (3): 243 – 281
- [14] Ataman chemicals, THPC, URL: https://www.atamanchemicals.com/thpc_u24878/ ,
Pristupljeno 04.09.2024.
- [15] Kimmig, J., Jerchel, D. (1950) Die Wirkung von Invertseifen auf die durch Pilze und Kokken bedingten Hautkrankheiten. *Klin. Wochenschr*, **28**: 429 – 431
- [16] Nunes, B. et al. (2024) Antimicrobial activity and cytotoxicity of novel quaternary ammonium and phosphonium salts. *Journal of Molecular Liquids*, **401**: 124616
- [17] Zeng, W., He, J., Liu, F. (2019) Preparation and properties of antibacterial ABS plastics based on polymeric quaternary phosphonium salts antibacterial agents. *Polymers for Advanced Technology*, **30** (19): 2515 – 2522
- [18] Alfei, S. (2024) Shifting from Ammonium to Phosphonium Salts: A Promising Strategy to Develop Next-Generation Weapons against Biofilms, *Pharmaceutics* **16** (1): 80
- [19] Kwaśniewska, D., Chen, Y., Wieczorek, D. (2020) Biological Activity of Quaternary Ammonium Salts and Their Derivatives. *Pathogens*, **9** (6): 459
- [20] Lei, Q. et al. (2020) PEGylated Bis-Quaternary Triphenyl-Phosphonium Tosylate Allows for Balanced Antibacterial Activity and Cytotoxicity. *ACS Appl Bio Mater*, **3** (9): 6400 – 6407
- [21] Metelytsia, L.O. et al. (2022) Theoretical and Experimental Studies of Phosphonium Ionic Liquids as Potential Antibacterials of MDR *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics*, **11** (4): 491
- [22] Keasler, V., Bennett, B., McGinley, H. (2010) Analysis of Bacterial Kill Versus Corrosion from Use of Common Oilfield Biocides. *8th International Pipeline Conference*, **1**: 935 – 944
- [23] Vereshchagin, A. N. et al. (2021) Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials". *International Journal of Molecular Sciences* **22** (13): 6793
- [24] Brunel, F. et al. (2018) Antibacterial Activities of Mono-, Di- and Tri-Substituted Triphenylamine-Based Phosphonium Ionic Liquids. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **28** (5): 926 – 929
- [25] Das, S. et al. (2021) Design, Development and Mechanistic Insights into the Enhanced Antibacterial Activity of Mono and Bis-Phosphonium Fluoresceinate Ionic Liquids. *Mater. Today Commun.*, **28**: 102672

- [26] Kanazawa, A., Ikeda, T., Endo, T. (1994) Synthesis and Antimicrobial Activity of Dimethyl- and Trimethyl-Substituted Phosphonium Salts with Alkyl Chains of Various Lengths. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38** (5): 945 – 952
- [27] Santos, A.L.S. et al. (2018) What Are the Advantages of Living in a Community? A Microbial Biofilm Perspective! *Memórias Do Inst. Oswaldo Cruz*, **113** (9): e180212
- [28] Kim, T.-S., Park, H.-D. (2015) Tributyl Tetradecyl Phosphonium Chloride for Biofouling Control in Reverse Osmosis Processes. *Desalination*, **372**: 39 – 46
- [29] Martín-Rodríguez, A.J. et al. (2015) From Broad-Spectrum Biocides to Quorum Sensing Disruptors and Mussel Repellents: Antifouling Profile of Alkyl Triphenylphosphonium Salts. *PLoS ONE* **10** (4): e0123652
- [30] Plančak, D., Musić, L., Puhar, I. (2015) Međustanična komunikacija parodontopatogenih bakterija, *Acta stomatologica Croatica : International journal of oral sciences and dental medicine*, **49** (3): 234 – 241
- [31] Joseph, R. et al. (2016) Phosphonium Pillar [5]Arenes as a New Class of Efficient Biofilm Inhibitors: Importance of Charge Cooperativity and the Pillar Platform. *Chem. Commun.* **52**: 10656 – 10659
- [32] Alkhalidi, Abdulsalam A. M. et al. (2016) Trypanocidal action of bisphosphonium salts through a mitochondrial target in bloodstream form *Trypanosoma brucei*. *International journal for parasitology. Drugs and drug resistance*, **6** (1) 23 – 34
- [33] Luque-Ortega, J.R. et al. (2010) New Benzophenone-Derived Bisphosphonium Salts as Leishmanicidal Leads Targeting Mitochondria through Inhibition of Respiratory Complex II. *J. Med. Chem.*, **53** (4): 1788 – 1798
- [34] Thermo Scientific Chemicals, (1-Tetradecyl)triphenylphosphonium bromide, 97%, URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/L04311.22>, Pristupljeno 10.8.2024.
- [35] Thermo Scientific Chemicals, (1-Hexadecyl)triphenylphosphonium bromide, 98+%, URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A15180.22> , Pristupljeno 10.8.2024.
- [36] Thermo Scientific Chemicals, Benzyltriphenylphosphonium bromide, 98%, URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/B24567.09>, Pristupljeno 10.8.2024.
- [37] Ong, H. C. et al. (2021) Alkyl vs. aryl modifications: a comparative study on modular modifications of triphenylphosphonium mitochondrial vectors, *RSC Chemical Biology*, **2** (6): 1643 – 1650

- [38] Ross, M. F. et al. (2008) Rapid and extensive uptake and activation of hydrophobic triphenylphosphonium cations within cells. *The Biochemical journal*, **411** (3), 633–645
- [39] Lu, J. et al. (2016). Linkers Having a Crucial Role in Antibody-Drug Conjugates. *International journal of molecular sciences*, **17** (4): 561
- [40] Sommers, K. J. (2022). Quaternary Phosphonium Compounds: An Examination of Non-Nitrogenous Cationic Amphiphiles That Evade Disinfectant Resistance. *ACS infectious diseases*, **8** (2), 387 – 397
- [41] Long, T. E. et al. (2012). Phosphonium lipocations as antiparasitic agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, **22** (8): 2976 – 2979
- [42] Chen, C. W. et al. (2021) Binding and Action of Triphenylphosphonium Analog of Chloramphenicol upon the Bacterial Ribosome. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, **10** (4): 390
- [43] Gupta, S. C., Patchva, S., & Aggarwal, B. B. (2013). Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *The AAPS journal*, **15** (1), 195 – 218
- [44] Reddy, C. A. et al. (2014) Mitochondrial-Targeted Curcuminoids: A Strategy to Enhance Bioavailability and Anticancer Efficacy of Curcumin. *PLoS ONE* **9** (3): e89351
- [45] Kumari, S. et al. (2019) Antibacterial activity of new structural class of semisynthetic molecule, triphenyl-phosphonium conjugated diarylheptanoid. *Free Radical Biology and Medicine*, **143**: 140 – 145
- [46] Kumari, S. et al. (2020). Pharmacological characterization of a structurally new class of antibacterial compound, triphenyl-phosphonium conjugated diarylheptanoid: Antibacterial activity and molecular mechanism. *Journal of biosciences*, **45**: 147
- [47] Letelier, M. E. et al. (1990) Trypanosoma cruzi: a possible control of transfusion-induced Chagas' disease by phenolic antioxidants. *Experimental parasitology*, **71** (4): 357 – 363
- [48] Cortes, L. A. et al. (2015) Novel Gallate Triphenylphosphonium Derivatives with Potent Antichagasic Activity. *PLoS ONE* **10** (8): e0136852
- [49] Moreno, S. et al. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free radical research*, **40** (2): 223 – 231
- [50] Bittner Fialová, S. et al. (2019) Derivatization of Rosmarinic Acid Enhances its in vitro Antitumor, Antimicrobial and Antiprotozoal Properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, **24** (6): 1078

- [51] Kus, S., Marczenko, Z., Obarski, N. et al. (1996) Derivative UV-VIS Spectrophotometry in Analytical Chemistry. *Chern. Anal. (Warsaw)*, **41**: 899
- [52] D. L., Lampman, G. M., Kritz, G. S. (2001) Introduction to Spectroscopy, A guide for students of organic chemistry, 3. izd., Harcourt College Publishers, pp 267 – 293