

Иксавија ами
Дане

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА
И ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу, одржаној 30.06.2021. године (Одлука бр. 310/XIII-1), предложени смо, а на седници Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 14.07.2021. године (Одлука бр. IV-01-532/17), изабрани смо за чланове Комисије за подношење извештаја за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата за израду докторске дисертације под насловом:

"СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ МОНО- И
ДИНУКЛЕАРНИХ РУТЕНИЈУМ(II/III) КОМПЛЕКСА СА АЗОТ-ДОНОРСКИМ
ЛИГАНДИМА"

кандидата Милице Међедовић, мастер хемичара, студента докторских академских студија. На основу података којима располажемо достављамо следећи

И З В Е Ш Т А Ј

1. Научни приступ проблему предложеног нацрта докторске дисертације и процена научног доприноса крајњег исхода рада

Шездесетих година је случајно откриће антиканцерске активности комплекса цисплатине, једињења једноставне структуре, довело до синтезе нове класе металотерапеутика са неочекиваним спектром активности. Примена антиканцерских лекова на бази платине има своја озбиљна ограничења, због високе токсичности и појаве резистенције. Стога се потрага за антиканцерским лековима на бази јона прелазних метала наставила, а тренутно највише обећавају комплекси рутенијума. Екстремно разноврсна структурна хемија ових комплекса чини их одличним кандидатима за циљано везивање за протеине и ДНК. Упркос интензивним истраживачким напорима, до сада су само два једињења рутенијума доспела у фазу I/II клиничких испитивања [Him]*trans*-[RuCl₄(im)(dmso-S)] (NAMI-A) и [Hind]*trans*-[RuCl₄(ind)₂] (KP1019).

Последњих деценија истраживања су усмерена ка дизајну и синтези рутенијум(II) полипиридијил комплекса који у својој структури садрже хелатне азот-донорске лиганде. Проучаване су DNA (дезоксирибонуклеинска киселина)/протеин интеракције, при чему је утврђено да се ови комплекси могу везати за DNA бифункционално, као и да се комплекси снажно везују за говећи serum албумин (BSA). Поједини рутенијум(II) полипиридијил комплекси су показали одличну антитуморску активност према неколико канцерогених ћелијских линија.

У оквиру ове докторске дисертације биће извршена синтеза нових мононуклеарних и динуклеарних рутенијум(II/III) комплекса са инертним и мостним азот-донорским лигандима, карактеризација новосинтетисаних комплекса, испитивање кинетике и механизма супституционих реакција са биолошки релевантним лигандима, као и испитивање интеракција са DNA и serum албумином. План је осмишљен тако да се прво пронађу идеални

услови за синтезе. Наши досадашњи резултати су показали да су синтезе најуспешније у етанолу уз рефлукс 4 – 5 сати. Дисертацијом ће бити обухваћена потпуна спектроскопска (UV, IR и NMR) и (ако је могуће) кристалографска карактеризација комплекса. Такође, новосинтетисани комплекси ће бити охарактерисани елементалном анализом и ESI-MS спектроскопијом. Један део дисертације усмерен је на кинетичка испитивања у присуству биолошки значајних молекула (као што су гуанозин-5'-монофосфат, глутатион, L-метионин и L-цистеин). На основу добијених резултата биће одређене константе брзине хемијске реакције, активациони параметри, као и механизам супституционих реакција. Даља истраживања у оквиру ове дисертације биће усмерена на интеракције комплекса са DNK и serum албумином, као и испитивање њихове биолошке активности. Интеракције новосинтетисаних рутенијум комплекса са DNA биће испитиване помоћу UV-Vis спектрофотометрије, спектрофлуориметрије и вискозиметрије, где ће се након добијања резултата одредити константе везивања за DNA. Испитиваће су и конкурентне реакције са интеркалирајућим агенсом етидијум бромидом (EB), као и са Hoechst 33258, који се везује за мали жлеб у молекулу DNA. Интеракције са serum албумином биће испитиване спектрофлуориметријски, и након добијених резултата ће се одредити вредности за константе везивања, као и број места везивања. Такође, биће испитиване и конкурентне реакције са одговарајућим маркерима, као што су еозин и ибупрофен. Сви експериментално добијени резултати биће потврђени компјутерском „docking“ и DFT методом. Како су нови рутенијум(II/III) комплекси константно у жижки интересовања многих истраживачких група, ова дисертација би имала значајан допринос у области неорганске хемије. Значајну улогу би могла имати и у области медицинске хемије, будући да су циљни молекули биолошки активна једињења. Добијени резултати биће од великог значаја за разумевање интеракција између комплекса рутенијума и биомолекула, као што су DNA и протеини, а самим тим и за разумевање механизма антитуморске активности комплексних једињења. Крајњи циљ је да се развију антиканцерогени агенси са већом селективношћу према туморским ћелијама и мањом општом цитотоксичношћу, него што је имају платински комплекси који су тренутно у клиничкој употреби.

Веза са досадашњим истраживањима

Милица Међедовић је члан групе која се дуги низ година бави синтезом нових комплексних једињења са различитим јонима прелазних метала, као и испитивањем интеракција новосинтетисаних комплекса са важним биомолекулима. Ова докторска дисертација једним делом представља наставак истраживања у области синтезе нових комплексних једињења рутенијум(II) и рутенијум(III) јона. За разлику од ранијих истраживања, ова истраживања се посебно заснивају на синтези мононуклеарних и динуклеарних рутенијума(II/III) комплекса са азот-донорским инертним и мостним лигандима. Рад у оквиру ове дисертације ће омогућити кандидату континуитет у истраживању, а добијени резултати ће омогућити боље разумевање интеракција између комплекса рутенијума и биомолекула,

2. Образложение предмета, метода и циља који уверљиво упућује да је предложена тема од значаја за развој науке

Предмет, циљеви и хипотезе ове дисертације обухватају следеће:

- Потрага за антиканцерским лековима на бази јона платине је у току. У овом контексту највише обећавају комплекси на бази рутенијума из више разлога.
- Комплекси рутенијума најчешће граде октаедарске комплексе, што омогућава фино подешавање њихових електронских и просторних особина. Наиме, комплекс са шест различитих лиганада око јона рутенијума може постојати у 30 различитих стереоизомерних облика. Ово их чини одличним кандидатима за циљано везивање на одговарајућим местима унутар биомакромолекулима, као што су то протеини и нуклеинске киселине.
- У воденим растворима је кинетика измене лиганада (која је кључна за њихову антиканцерогену активност) веома слична за комплексе платине(II) и рутенијум(II) јона.
- Комплекси рутенијума се могу наћи у различитим оксидационим стањима (II, III, IV), а енергија прелаза између ових стања је релативно мала, што олакшава интерконверзију у физиолошким условима.
- Неки комплекси рутенијума су прилично селективни према канцерогеним ћелијама.
- Предвиђено је да се синтетишу нови моно- и динуклеарни комплекси рутенијума, да се испитају њихове структуре, као и механизам деловања на туморске ћелије. Планирана је детаљна студија везивања комплекса за протеине из хумане плазме и за DNA.
- Спектроскопска карактеризација базирана је на одређивању и анализи резултата добијених применом техника, као што су елементална анализа, IR, NMR, UV-Vis, масена спектроскопија, а где је могуће и рендгенска структурна анализа.
- Испитивање интеракција са DNA и serum албумином се врши помоћу UV-Vis спектрофотометрије, спектрофлуориметрије и вискозиметрије, а кинетика супституционих реакција са биомолекулима (због брзине реаговања рутенијума) се изучава помоћу UV-Vis спектрофотометрије.

Методе истраживања

Основне методе истраживања које ће се користити у оквиру ове докторске дисертације обухватају технике класичне синтезе комбиноване са актуелним методама испитивања карактеристика добијених продуката. Дисертацијом ће бити обухваћена потпуна спектроскопска (UV, IR и NMR) и (ако је могуће) кристалографска карактеризација комплекса. Даља истраживања у оквиру ове дисертације биће усмерена ка испитивању интеракција и биолошке активности комплекса. Интеракције новосинтетисаних комплекса са DNA биће испитиване помоћу UV-Vis спектрофотометра, спектрофлуориметра и вискозиметра. Интеракције са serum албумином биће испитиване помоћу спектрофлуориметра. Кинетичка испитивања у присуству малих биомолекула (као што су гуанозин-5'-монофосфат, глутатион, L-метионин, L-цистеин) ће се вршити помоћу UV-Vis спектрофотометра.

Оквирни садржај докторске дисертације

У оквиру ове дисертације биће представљени до сада публиковани резултати из ове области, као и значај испитивања. У општем делу ће бити представљена досадашња истраживања повезана са синтезом, карактеризацијом и интеракцијама мононуклеарних и полинуклеарних рутенијум(II/III) комплекса са важним биомолекулима. Такође, биће описана и антитуморска активност комплекса. У експерименталном делу ће бити детаљно описане методе синтезе нових мононуклеарних и динуклеарних рутенијум(II/III) комплекса са азот-донорским лигандима, као и методе коришћене за испитивање њихових интеракција са малим биомолекулима (амино киселинама, пептидима, нуклеотидима), DNA, говејим серум албумином (BSA) и хуманим серум албумином (HSA). Интеракције комплекса са DNA биће испитиване коришћењем различитих техника, као што су UV-Vis спектрофотометрија, спектрофлуориметрија и вискозиметрија. Након добијених резултата биће одређене константе везивања за DNA и детаљно описане за сваку методу. Интеракције са BSA/HSA биће испитиване коришћењем флуориметра и након добијених спектара ће се одредити константе везивања и број места везивања за протеине. Због брзине реаговања комплекса рутенијума са биомолекулима (као што су гуанозин-5'-монофосфат, глутатион, L-метионин, L-цистеин) за кинетичка испитивања биће коришћен UV-Vis спектрофотометар. Сва кинетичка мерења биће испитивана на три различите температуре како би се одредили термодинамички активациони параметри. На основу добијених вредности ових параметара биће објашњен механизам супституционих реакција. Даља истраживања у оквиру ове дисертације биће усмерена ка испитивању цитотоксичности новосинтетисаних комплекса. Сви добијени резултати ће бити детаљно дискутовани.

3. Образложение теме за израду докторске дисертације које омогућава закључак да је у питању оригинална идеја или оригиналан начин анализирања проблема

Увидом у истраживања и резултате кандидата, Комисија закључује да је предложена тема докторске дисертације "**СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ МОНО- И ДИНУКЛЕАРНИХ РУТЕНИЈУМ(II/III) КОМПЛЕКСА СА АЗОТ-ДОНОРСКИМ ЛИГАНДИМА**" кандидата Милице Међедовић оригинална идеја.

4. Усклађеност дефиниције предмета истраживања, основних појмова, предложене хипотезе, извора података, метода анализе са критеријумима науке уз поштовање научних принципа у изради коначне верзије докторске дисертације

Комплекси рутенијума се у медицини и фармацији користе дуги низ година, најчешће за лечење колоректалних тумора резистентних на комплексе платине. Њихова широка употреба у разним пољима доприноси све већем интересовању за синтезом нових рутенијум(II/III) комплекса. Детаљно је проучаван начин везивања комплекса рутенијума за DNA и утврђено је ковалентно везивање за N7 атом гуанина уз формирање монофункционалих продуката, од којих су неки одговорни за спречавање репликације канцерогених ћелија. Због тога је веома важно испитивање интеракције комплекса са молекулом DNA, као потврда њихових антиканцерогених својстава. Како би се откриле неке нове и специфичне особине ових комплекса неопходно је детаљно испитати њихове карактеристике. Савремена детаљна карактеризација једињења подразумева анализу података који се добијају применом

спектроскопских (NMR, IR, UV, ESI-MS) техника, а у појединим случајевима (када је то могуће учинити) до потврде структуре комплекса се може доћи применом рендгенске структурне анализе.

Овом докторском дисертацијом биће обухваћена синтеза нових мононуклеарних и динуклеарних рутенијум(II/III) комплекса са азот-донорским лигандима, детаљна карактеризација, као и испитивање њихових интеракција са DNA, BSA/HSA и малим биомолекулима. Интеракције са DNA биће испитиване методама, као што су UV-Vis спектрофотометрија, спектрофлуориметрија и вискозиметрија, где ће сви резултати бити сумирани и одредиће се константе везивања за DNA. Флуориметрија ће бити коришћена за испитивање интеракција са говеђим или хуманим серум албумином и након добијених резултата биће одређене константе везивања за BSA/HSA, као и број места везивања. Због брзине интеракција комплекса рутенијума са малим биомолекулима (као што су гуанозин-5'-монофосфат, глутатион, L-метионин, L-цистеина), кинетичка испитивања ће се одређивати помоћу UV-Vis спектрофотометра. Кинетичка мерења ће се вршити на три различите температуре, како би се одредиле ентропија и енталпија активирања, помоћу којих ће бити дефинисан механизам супституционих реакција.

5. Предложени коментори израде докторске дисертације

Институт за хемију Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу, је за коменторе ове докторске дисертације предложио др Биљану Петровић, редовног професора Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, и др Ану Рилак Симовић, вишег научног сарадника Института за информационе технологије, Универзитета у Крагујевцу. Образложение: др Биљана Петровић и др Ана Рилак Симовић се баве истраживањима из уже научне области Неорганска хемија и до сада имају публиковане радове уrenomiranim научним часописима са SCI листе, као и велики број саопштења на међународним и националним конференцијама. Др Биљана Петровић и др Ана Рилак Симовић се баве синтезом комплексних једињења различитих јона прелазних метала, од интереса за неорганску, бионеорганску и медицинску хемију. На основу наведеног, а имајући у виду циљеве и очекиване резултате ове дисертације, сматрамо да др Биљана Петровић и др Ана Рилак Симовић испуњавају све услове за коменторе ове докторске дисертације.

Научна област дисертације

Предложена докторска дисертација припада ужој научној области *Неорганска хемија*.

Научна област чланова комисије

Чланови комисије се баве истраживањем у области неорганске хемије. Др Биљана Петровић је редовни професор Природно-математичког факултета у Крагујевцу. Др Ана Рилак Симовић је виши научни сарадник на Инсититуту за информационе технологије у Крагујевцу. Председник комисије, др Сања Гргурић Шипка, је редовни професор Хемијског факултета, Универзитета у Београду. Чланови комисије су објавили већи број научних радова у најпознатијим часописима са SCI листе из уже научне области *Неорганска хемија*.

6. Кратка биографија кандидата

Милица Г. Међедовић је рођена 23.04.1993. године у Бору, где је завршила Основну школу „Бранко Радичевић“ као носилац Вукове дипломе. Школовање је наставила у Медицинској школи у Зајечару, смер фармацеутски техничар. Природно-математички факултет у Крагујевцу уписала је 2012. године, на Институту за хемију, где завршава основне академске студије хемије, смер истраживање и развој, са просечном оценом 8,92. Мастер академске студије хемије уписала је на истом факултету 2017. године, смер истраживање и развој. Поменути ниво студија завршила је 2018. године са просечном оценом 10,00, а њен мастер рад добио је награду Костић фондације 2018. године.

Докторске академске студије Милица Међедовић уписала је 2019. године на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, смер - неорганска хемија, а као наставника саветника изабрала је проф. др Биљану Петровић. Своја истраживања усмерава на синтезу нових комплекса рутенијума(II/III) и њихову карактеризацију. Тренутно је на трећој години докторских студија на којима је положила све планом и програмом предвиђене испите са просечном оценом 10,00. Од јануара 2019. године запослена је на Природно-математичком факултету у Крагујевцу као истраживач-приправник на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја бр. ОН 172011 од 2019-2020. године („Испитивање механизма реакција комплекса јона прелазних метала са биолошки значајним молекулима”, руководилац пројекта: проф. др Зорица Бугарчић), а од 2020. запослена је по уговору поменутог Министарства (број: 451-03-68/2020-14/200122 за 2020. годину и 451-03-9/2021-14/200122 за 2021. годину).

Као истраживач-приправник ангажована је у настави, учествовала је у извођењу вежби из предмета Неорганска хемија 2 (школска година 2019/2020 и 2020/2021.). Од стране студената оцењена је оценом 5 у студентској анкети. Похађала је CPD курс (School of practical application of high performance liquid chromatography, School of gas chromatography/mass spectrometry). Члан је Српског хемијског друштва. Поред матерњег, говори и енглески језик (напредни ниво). Милица Међедовић се бави научно-истраживачким радом из области неорганске хемије. Предмет научних истраживања на којима је ангажована у Институту за хемију у Крагујевцу је синтеза комплекса рутенијума, њихова карактеризација, интеракције са DNA и BSA/HSA, као и интеракције са важним биомолекулима. До сада има 2 објављена научна рада у часописима међународног значаја (један из категорије M22 из теме докторске дисертације и један из категорије M23), један рад у часопису националног значаја (категорија M53), два саопштења на међународним конференцијима (категорија M34) и два саопштења на националним конференцијима (категорија M64).

7. Преглед научно-истраживачког рада кандидата

На основу података датих у оквиру тачке 6, као и на основу личног познавања кандидата сматрамо да је кандидат Милица Међедовић у досадашњем раду показала интересовање, способност и самосталност за научно-истраживачки рад. Кандидат говори и пише на енглеском језику, што је неопходно за научни рад.

Објављени радови кандидата:

Научни радови публиковани у врхунским часописима међународног значаја (M22):

1. **Milica Međedović**, Ana Rilak-Simović, Dušan Čočić, Milan Milutinović, Laura Senft, Stefan Blagojević, Nevena Milivojević, Biljana Petrović, Dinuclear ruthenium(II) polypyridyl complexes: Mechanistic study with biomolecules, DNA/BSA interactions and cytotoxic activity, *Polyhedron*, 2020, **178**, 114334, DOI: 10.1016/j.poly.2019.114334, ISSN: 0277-5387 (IF = 2.343 za 2019. godinu; 18/45; M22; oblast: Chemistry, Inorganic & Nuclear)

Научни радови публиковани у часописима међународног значаја (M23):

1. Ana Popović, Miloš V. Nikolić, Marina Ž. Mijajlović, Zoran Ratković, Verica V. Jevtić, Srećko R. Trifunović, Gordana P. Radić, Milan Zarić, Petar Čanović, Marija Milovanović, Snežana Radisavljević, **Milica Međedović**, Biljana Petrović, Ivan Jovanović, DNA binding and antitumor activities of zinc(II) complexes with some S-alkenyl derivatives of thiosalicylic acid, *Transition Metal Chemistry*, 2019, **44**, 219-228, DOI: 10.1007/s11243-018-0285-6, ISSN: 0340-4285 (IF = 1.016 za 2018. godinu; 34/45; M23; oblast: Chemistry, Inorganic & Nuclear)

Научни радови публиковани у часописима националног значаја (M53):

1. **Milica Međedović**, Biljana Petrović (2019), Litijum- Opste karakteristike i primena u industriji, medicini i farmaciji; *Heminski pregled*, 60 br. 6, 139-145

Научна саопштења на међународним конференцијама штампана у изводу (M34):

1. **Milica Međedović**, Ana Rilak Simović, Biljana Petrović, Synthesis and characterization of new bifunctional ruthenium(II) polypyridyl complexes; 9th International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries, Targoviste, Romania, 8-11 May 2019, S2_P_02
2. Ana Rilak Simović, **Milica Međedović**, Dušan Čočić, Biljana Petrović, Synthesis and biological activity of the new heteronuclear ruthenium(II)/ferrocene complexes, 18th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry, 25-27 February 2021, Online Symposium

Научна саопштења на националним конференцијама штампана у изводу (M64):

1. **Milica Međedović**, Dušan Čočić, Snežana Radisavljević, Biljana Petrović, Investigation of the type of interactions between novel platinum(II) and palladium(II) complexes and DNA, Sixth Conference of the Young Chemists of Serbia, Belgrade, Serbia, 27. October 2018., MH10 PE8
2. **Milica Međedović**, Dušan Čočić, Ana Rilak Simović, Biljana Petrović, Interakcije novosintetisanih rutenijum-tpy kompleksa sa DNK i HSA, 57. Savetovanje Srpskog hemijskog društva, 18. i 19. jun 2021, Kragujevac

ЗАКЉУЧАК

Милица Међедовић има звање мастер хемичар за истраживање и развој. Школске 2018/19. године уписала је докторске студије на Природно-математичком факултету у Крагујевцу на студијској групи хемија (ужа научна област: неорганска хемија) и до сада је са успехом положила све програмом предвиђене испите са просечном оценом 10. Активно ради на експерименталној изради докторске дисертације и до сада је објавила два научна рада у међународним часописима са импакт фактором, од којих је на једном научном раду кандидат први аутор, а који се директно односи на тему докторске дисертације (рад из категорије М22).

На основу наведених чињеница, комисија закључује да је предложена тема докторске дисертације „**СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ МОНО-И ДИНУКЛЕАРНИХ РУТЕНИЈУМ(ІІІ) КОМПЛЕКСА СА АЗОТ-ДОНОРСКИМ ЛИГАНДИМА**“ оригинална и значајна са научне тачке гледишта. Такође, комисија сматра да Милица Међедовић испуњава све услове за пријаву теме за израду докторске дисертације и да ће са успехом реализовати сва предложена истраживања у оквиру наведене теме. За коменторе докторске дисертације предлажу се др Биљана Петровић, редовни професор Природно-математичког факултета у Крагујевцу, и др Ана Рилак Симовић, виши научни сарадник Института за информационе технологије у Крагујевцу.

У Крагујевцу,
16.08.2021. год.

Комисија

(Печат)

1. Проф. др Биљана Петровић, редовни професор
- коментор рада,
Природно-математички факултет,
Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Неорганска хемија

(Печат)

2. др Ана Рилак Симовић, виши научни сарадник
- коментор рада,
Институт за информационе технологије,
Универзитет у Крагујевцу
Научна област: Хемија

(Печат)

3. Проф. др Сања Гргурић Шипка, редовни професор
- председник комисије
Хемијски факултет,
Универзитет у Београду
Ужа научна област: Неорганска хемија



Милош
Милић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

И

ВЕЋУ КАТЕДРЕ ИНСТИТУТА ЗА ХЕМИЈУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

Извештај о оцени научне заснованости теме и испуњености услова кандидата за израду докторске дисертације са темом: „СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ МОНО- И ДИНУКЛЕАРНИХ РУТЕНИЈУМ(ІІІ) КОМПЛЕКСА СА АЗОТ-ДОНОРСКИМ ЛИГАНДИМА“ кандидата Милице Међедовић задовољава критеријуме прописане Законом о високом образовању, Правилником о пријави, изради и одбрани докторске дисертације Универзитета у Крагујевцу, Правилником о докторским академским студијама на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу и Правилником о пријави, изради и одбрани докторске дисертације на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу.

У Крагујевцу,

19.08.2021. године

Руководилац докторских студија
на Институту за хемију

Биљана Петровић
Проф. др Биљана Петровић