

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ
ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА**

ПРЕДМЕТ: Извештај Комисије за преглед и оцену докторске дисертације **Невене Н. Стевановић**, мастер хемичара.

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 16.06.2022. године (одлука бр. 92/7) изабрани смо за чланове Комисије за преглед и оцену докторске дисертације **Невене Н. Стевановић**, мастер хемичара, асистента Универзитета у Београду – Хемијског факултета, под насловом:

„Синтеза, карактеризација, антимикуробни и цитотоксични ефекти комплекса Mn(II), Cu(II), Zn(II) и Bi(III) са хидразонским дериватима Жираровог П и Т реагенса”

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на својој седници одржаној дана 27.05.2022. године, на захтев Хемијског факултета, дало сагласност на предлог теме докторске дисертације (евиденциони број 61206-1631/2-22).

Комисија је докторску дисертацију прегледала и Наставно-научном већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација Невене Н. Стевановић написана је на 111 страна А4 формата (фонт *Cambria*; величина 12 pt; проред 1,5; маргине 2 cm) и садржи 66 слика (од тога 28 у Прилозима), 4 схеме и 25 табела. Рад обухвата следећа поглавља: Увод (1 страна), Општи део (31 страна), Експериментални део (12 страна), Резултати и дискусија (36 страна), Закључак (2 стране) и Литература (10 страна, 84 цитата). Поред наведеног, дисертација садржи Прилог са 28 слика, Захвалницу, Сажетак на српском и енглеском језику (по 1 страну), Списак објављених и саопштених радова проистеклих из дисертације (2 стране), Изјаву о ауторству (1 страна), Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада (1 страна) и Изјаву о коришћењу (2 стране).

У **УВОДУ** су дефинисани предмет и циљ истраживања и дат је опис и садржај поглавља ове дисертације.

У **ОПШТЕМ ДЕЛУ** дат је преглед литературе у коме су описане основне карактеристике хидразонских лиганата и Жирарових реагенса. Описана је структурна разноврсност комплекса са хидразонским лигандима чије је прекурсорско једињење одређени Жираров реагенс. Описана је и њихова биолошка (атимикробна и цитотоксична) активност.

У **ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ ДЕЛУ** су описане синтезе два хидразонска лиганата и пет комплекса у чијој се структури налазе, као и технике и методе које су коришћене за структурну карактеризацију, прорачуне и испитивање антимикуробне и цитотоксичне активности.

У **РЕЗУЛТАТИМА И ДИСКУСИЈИ** представљени су резултати рендгенске структурне анализе синтетисаних комплекса, рачунарских прорачуна као и резултати испитивања биолошке активности.

У **ЗАКЉУЧКУ** је дат преглед најважнијих резултата остварених током израде докторске дисертације.

У **ЛИТЕРАТУРИ** се налазе 84 референце наведене на основу редоследа појављивања у тексту.

Поред наведеног, дисертација садржи и **ПРИЛОГ** у коме су дате слике UV-Vis, IC и NMR спектра лиганата и комплекса.

Б. Кратак опис постигнутих резултата

У оквиру ове докторске дисертације, кандидаткиња је синтетисала и структурно окарактерисала два лиганата: (*E*)-1-(2-оксо-2-(2-(хиолин-2-илметил)хидразинил)-етил)пиридин-1-ијум хлорид (**HL¹Cl**) и *N,N,N*-триметил-2-оксо-2-(2-(1-(тиазол-2-ил)-етилиден(хидразинил)етан-1-аминијум хлорид (**HL²Cl**). Лиганд **HL¹Cl** добијен је у кондензационој реакцији 2-хиолинкарбоксалдехида и Жираровог П реагенса, а лиганата **HL²Cl** у кондензационој реакцији 2-ацетилтиазола и Жираровог Т реагенса у молском односу 1 : 1. Структурна карактеризација добијених једињења урађена је на основу елементарне анализе, IC и NMR спектроскопије. Са добијеним лигандима синтетисано је пет комплекса: четири мононуклеарна комплекса [Zn**L¹**(NCS)₂] (**1**), [Cu**L²**(N₃)(CH₃OH)]BF₄ (**2**), [Zn**L²**(N₃)₂] (**4**) и [Bi**HL²Cl₄**] \cdot 1/2CH₃OH (**5**) као и један динуклеарни комплекс [Mn₂**L²**₂(μ -1,1-N₃)₂(N₃)₂] \cdot 2CH₃OH (**3**). Сви комплекси су добијени у форми монокристала и стога окарактерисани рендгенском структурном анализом, као и IC спектроскопијом. Комплекси Zn(II) (**1** и **4**) окарактерисани су и NMR спектроскопијом. Стабилност комплекса **1** утврђена је на основу UV-Vis спектроскопије, а комплекса **2**, **3** и **4** на основу DFT прорачуна. На основу резултата NMR спектроскопије, за комплекс **5**, је утврђено да подлеже хидролизи у раствору диметил-сулфоксида. Микродилуционом методом одређена је антимикуробна активност лиганата и комплекса према пет сојева Грам-негативних бактерија (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Proteus*

hauseri (ATCC 13315), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis* (ATCC 13076)), пет сојева Грам-позитивних бактерија (*Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Micrococcus luteus* (ATCC 4698), *Micrococcus luteus* (ATCC 10240)), два соја гљивица (*Candida albicans* (ATCC 10231), *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763)) и једном соју квасца (*Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404)). Цитотоксична активност синтетисаних лиганата и комплекса одређена је МТТ тестом према пет туморских ћелијских линија (ћелијама цервикалног аденокарцинома (HeLa), ћелијама меланома (A375), ћелијама аденокарцинома дојке (MCF7), ћелијама аденокарцинома простате (PC-3) и ћелијама карцинома плућа (A549)), као и према нормалним хуманим ћелијама кератиноцита (HaCaT).

Мононуклеарни комплекс Zn(II) (**1**), [ZnL¹(NCS)₂], добијен је у реакцији лиганда HL¹Cl, Zn(BF₄)₂·6H₂O и NH₄SCN у молском односу 1 : 1 : 2 у смеси растварача метанол/ацетонитрил/вода. На основу ИС и NMR спектроскопије потврђено је да се лиганд у комплексу везује у депротонованом цвтерјонском облику и са два тиоцијанатна анјона формира деформисану тригонално-бипирамидалну геометрију око јона Zn(II).

У реакцијама лиганда HL²Cl са солима метала Cu(BF₄)₂·6H₂O / MnCl₂·4H₂O / Zn(BF₄)₂·6H₂O и NaN₃ у молском односу 1 : 1 : 4 у метанолу, добијени су комплекси: Cu(II) (**2**), [CuL²(N₃)(CH₃OH)]BF₄, динуклеарни комплекс Mn(II) (**3**), [Mn₂L²₂(μ-1,1-N₃)₂(N₃)₂]·2CH₃OH) и мононуклеарни комплекс Zn(II) (**4**), [ZnL²(N₃)₂]. Лиганд HL²Cl је у поменутиим комплексима координован у депротонованом формално неутралном цвтерјонском облику преко NNO дозорског сета атома. Геометрија око централног металног јона у комплексу **2** може се описати као деформисана квадратно-планарна, у комплексу **4** се налази између квадратно-планарне и тригонално-бипирамидалне док је у динуклеарном комплексу **3** око сваког јона Mn(II) деформисана тригонално-призматична.

Реакцијом лиганда HL²Cl са BiCl₃ у молском односу 1 : 1 у смеси растварача метанол/ацетонитрил добијен је мононуклеарни комплекс Bi(III) (**5**, [BiHL²Cl₄]·1/2CH₃OH). У оквиру овог комплекса лиганд HL²Cl се налази у протонованој форми и са четири хлоридна анјона формира пентагонално-бипирамидално окружење око јона Bi(III).

Испитивање антимикробне активности синтетисаних комплекса (**1–5**) показало је да комплекс **1** поседује значајну антибактеријску активност посебно према Грам-негативним бактеријама (при чему је његова активност у неким случајевима слична активности контролног једињења хлорамфеникола), а сви комплекси поседују значајну антифунгалну активност.

Тестом на рачићима *Artemia salina* одређена је летална концентрација, а путем ДПХХ теста антиоксидативна активност комплекса и лиганата.

На основу резултата испитивања цитотоксичне активности утврђено је да комплекси **2** и **3** показују најинтензивније ефекте. За разлику од комплекса **2** комплекс Mn(II) показује одређену дозу селективности и то према ћелијској линији аденокарцинома дојке MCF7.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Лиганди, који припадају класи хидразона, интензивно се проучавају услед њихових разноврсних структурних особина и потенцијалне биолошке примене. Врло једноставан поступак њихове синтезе уз могућност формирања комплекса са великим бројем металних јона различитих геометрија, а самим тим и особина, чини их занимљивим потенцијалним лигандима. Могућност формирања стабилних хелата са прелазним металима у ћелијама, омогућава потенцијалну биолошку примену јер се у њиховом присуству не могу одвијати неке од виталних ензимских реакција ¹. У литератури се могу наћи подаци о различитим биолошким активностима хидразона попут: антиоксидативне ², анипаразитске ³, антимикробне ⁴ и цитотоксичне ⁵. У многим случајевима интензитет њихове активности се увећава након координовања за јоне метала ⁶. Овај ефекат се може објаснити повишењем липофилности металног јона и самим тим олакшане пермеабилности кроз ћелијску мембрану микроорганизама или туморске ћелије.

Увођењем позитивно наелектрисане групе у структуру хидразона повећава се растворљивост једињења у води, а самим тим утиче и на биолошку активност. Жирарови реагенси (П, Т и Д) представљају *N*-супституисане глицинске хидразиде који у својој структури поседују позитивно наелектрисану кватернерну амонијум групу ⁷. Ово их чини интересантним прекурсорским једињењима у синтези хидразона, а касније и комплекса који могу поседовати биолошку активност и самим тим потенцијалну фармаколошку примену ⁸. У литератури су описани комплекси различитих метала са хидразонским лигандима на бази Жираровог П и Т реагенса, а који су показали антимикробну и цитотоксичну активност ^{9,10}.

Литература

- [1] M. M. E. Shakhdofa, M. H. Shtaiwi, N. Morsy, T. M. A. Abdel-rassel, *Main Group Chemistry* **13** (2014) 187–218 (<http://dx.doi.org/10.3233/MGC-140133>)
- [2] N. Belkheiri, B. Bouguerne, F. Bedos-Belval, H. Duran, C. Bernis, R. Salvayre, A. Nègre-Salvayre, M. Baltas, *European Journal of Medicinal Chemistry* **45** (2010) 3019–3026 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.03.031>)
- [3] M. Catto, R. Aliano, A. Carotti, S. Cellamare, F. Palluotto, R. Purgatorio, A. de Stradis, F. Campagna, *European Journal of Medicinal Chemistry* **45** (2010) 1359–1366 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.029>)
- [4] M. D. Altintop, B. Sever, Ö. A. Eklioğlu, M. Baysal, R. Demirel, A. Özdemir, *Letters in Drug Design & Discovery* **17** (2020) 312–322 (<http://dx.doi.org/10.2174/1570180816666190325163948>)

- [5] M. Alam, G. Verma, M. Shaquiquzzaman, A. Marella, M. Akhtar, M. Ali, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* **6** (2014) 69–80 (<http://dx.doi.org/10.4103/0975-7406.129170>)
- [6] F. I. Abouzayed, S. M. Emam, S. A. Abouel-Enein, *Journal of Molecular Structure* **1216** (2020) 128–314 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128314>)
- [7] M. R. Milenković, B. Čobeljić, K. Anđelković, I. Turel, *European Journal of Inorganic Chemistry* **2018** (2018) 838–846 (<http://dx.doi.org/10.1002/ejic.201701387>)
- [8] T. Sedaghat, A. Tarassoli, Z. Ansari-Asl, H. Motamedi, *Journal of Coordination Chemistry* **66** (2013) 2549–2557 (<http://dx.doi.org/10.1080/00958972.2013.809424>)
- [9] K. Anđelković, M. R. Milenković, A. Pevec, I. Turel, I. Z. Matić, M. Vujčić, D. Sladić, D. Radanović, G. Brađan, S. Belošević, B. Čobeljić, *Journal of Inorganic Biochemistry* **174** (2017) 137–149 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.06.011>)
- [10] S. Salah, Z. H. A. El-Wahab, R. S. Farag, M. M. Mostafa, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **124** (2014) 579–587 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.01.082>)

Г. Објављени и саопштени радови који чине део дисертације

Из резултата ове дисертације су проистекла три рада у међународним научним часописима са SCI листе (два рада категорије M21 и један рад категорије M22), као и три саопштења на домаћим и међународним научним скуповима (два саопштења категорије M34 и једно саопштење категорије M64).

M21 – Радови објављени у врхунсим међународним часописима

1. N. Stevanović, P. P. Mazzeo, A. Bacchi, I. Z. Matić, M. Đorđić Crnogorac, T. Stanojković, M. Vujčić, I. Novaković, D. Radanović, M. Šumar-Ristović, D. Sladić, B. Čobeljić, K. Anđelković, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* **26** (2021) 863–880 (<http://dx.doi.org/10.1007/s00775-021-01893-5>)
2. N. Stevanović, M. Zlatar, I. Novaković, A. Pevec, D. Radanović, I. Z. Matić, M. Đorđić Crnogorac, T. Stanojković, M. Vujčić, M. Gruden, D. Sladić, K. Anđelković, I. Turel, B. Čobeljić, *Dalton Transactions* **51** (2022) 185–196 (<http://dx.doi.org/10.1039/D1DT03169D>)

M22 – Радови објављени у истакнутим међународним часописима

1. **N. Stevanović**, M. Jevtović, D. Mitić, I. Matić, M. Djordjić-Crnogorac, M. Vujčić, D. Sladić, B. Čobeljić, K. Andjelković, *Journal of the Serbian Chemical Society* **87** (2022) 181–192 (<http://dx.doi.org/10.2298/JSC211203114S>)

M34 – Саопштења са међународних скупова штампана у изводу

1. **Nevena Stevanović**, Ivana Matic, Dragana Mitić, Božidar Čobeljić, Katarina Anđelković, *Synthesis, characterization and cytotoxicity of Zn(II) complex with N-substituted glycine hydrazone*, 6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, November 1–30, 2020, Online, sciforum-040255 (<https://ecmc2020.sciforum.net> – Sessions/B. General: Posters).
2. **Nevena Stevanović**, Snežana Selaković, Temiloluwa Adejumo, Maja Šumar-Ristović, Božidar Čobeljić, Katarina Anđelković, *Synthesis and characterization of Zn(II) and Bi(III) complexes with N-substituted glycine hydrazones*, Twenty-second Annual Conference “YUCOMAT 2021”, August 30 - September 3, 2021, Herceg Novi, Montenegro, Book of Abstracts P.S.III.17. p 125. (isbn 978-86-919111-6-4)

M64 – Саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу

1. **Nevena N. Stevanović**, Katarina K. Anđelković, Irena T. Novaković, Božidar R. Čobeljić, *Synthesis, characterization and biological activity of square pyramidal isothiocyanato Zn(II) complex with condensation product of 2-quinolinecarboxaldehyde and Girard's P reagent*, Seventh Conference Of the Young Chemists Of Serbia, November 2nd, 2019, Belgrade, Serbia, Book of Abstracts CS PP 07, p 85. (isbn: 978-86-7132-076-4)

Поред наведених публикација и саопштења који су проистекли из ове дисертације, кандидаткиња је коаутор на још три саопштења (једног из категорије М34 и два из категорије М64).

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Оригиналност ове докторске дисертације проверена је 29.06.2022. на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду (Гласник Универзитета у Београду, бр. 204/22.06.2018.). Помоћу програма *iThenticate* је утврђено да количина подударача текста износи 25%. Овај степен подударности је последица цитата, личних имена/звања, библиографских података у коришћеној литератури, тзв. општих места и података, као и претходно публикованих резултата истраживања кандидата који су проистекли из ове дисертације, што је у складу са чланом 9 Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8 Правилника, Комисија сматра да извештај о провери оригиналности докторске дисертације кандидаткиње Невене Н. Стевановић указује на оригиналност докторске дисертације, те да су у потпуности испоштована академска правила цитирања.

Б. Закључак

На основу приказаних резултата, Комисија је закључила да је у поднетој докторској дисертацији под називом „**Синтеза, карактеризација, антимикробни и цитотоксични ефекти комплекса Mn(II), Cu(II), Zn(II) и Bi(III) са хидразонским дериватима Жираровог П и Т реагенса**”, кандидаткиња Невена Н. Стевановић, мастер хемичар, успешно одговорила на задате циљеве у оквиру којих је синтетисала и потпуно окарактерисала пет нових комплексних једињења са хидразонским лигандима са Жираровим реагенсима као прекурсорским једињењима, применом елементарне анализе, ИС и NMR спектроскопије и рендгенске структурне анализе монокристала. Такође, одредила је антимикробне и цитотоксичне ефекте добијених једињења.

Постигнути резултати, у оквиру поднете докторске дисертације, објављени су у три научна рада, на којима је кандидаткиња први аутор (два рада у врхунским међународним часописима категорије M21 и један у истакнутом међународном часопису категорије M23). Такође, кандидаткиња је коаутор на два саопштења са међународних скупова штампаних у изводу (M34) и једном саопштењу са скупа од националног значаја штампаног у изводу (M64) која су проистекла из ове докторске дисертације.

Комисија сматра да постигнути резултати поднети у приложеној докторској дисертацији представљају значајан допринос у области истраживања комплексних једињења и њихове потенцијалне биолошке примене. На основу свега наведеног, а у складу са Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Београду – Хемијског факултета, Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану докторске дисертације и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Хемијског факултета да поднету докторску дисертацију Невене Н. Стевановић, под насловом „**Синтеза, карактеризација, антимикробни и цитотоксични ефекти комплекса Mn(II), Cu(II), Zn(II) и Bi(III) са хидразонским дериватима Жираровог П и Т реагенса**”, прихвати и одобри њену одбрану за стицање академског звања доктора хемијских наука.

У Београду, 13.07.2022.

Комисија:

Др Божидар Чобељић
доцент Универзитета у Београду – Хемијског факултета

Др Маја Шумар-Ристовић
доцент Универзитета у Београду – Хемијског факултета

др Мирослава Вујчић,
научни саветник Института за хемију, технологију и металургију – Центар за хемију
Институт од националног значаја, Универзитет у Београду