

Универзитет у Београду - Хемијски факултет
Наставно - научном већу Хемијског факултета

Универзитет у Београду
ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

| | |
|----------------------|-------|
| ПРИМЉЕНО: 22-02-2019 | |
| Датум: | Број: |
| | 682/6 |

Предмет: Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Стефана Николића, истраживача сарадника Иновационог центра Хемијског факултета, Универзитета у Београду.

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 14. септембар 2017. године смо одређени за чланове комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Стефана Николића, истраживача сарадника Иновационог центра Хемијског факултета, Универзитета у Београду, под насловом:

„Синтеза и карактеризација рутенијум-аренских комплекса са N, S или O доворским лигандима“

Након што смо поднели дисертацију прегледали, подносимо Већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација Стефана Николића под наведеним насловом написана је на 155 страна А4 формата (проред 1,5), садржи 89 слика (од тога 60 у Прилогу), 11 табела (од тога 2 у Прилогу) и 8 шема. Рад обухвата следећа поглавља: 1. Увод (1 страна), 2. Општи део (25 стране), 3. Експериментални део (15 страна), 4. Резултати и дискусија (36 стране), 5. Закључак (2 стране), 6. Литература (9 страна, 124 цитата) и 7. Прилог (64 стране). Поред наведеног, докторска дисертација садржи: Захвалницу (1 страна), Садржај (2 стране), Извод на српском и енглеском језику (по две стране), Листу скраћеница (2 стране) и Биографију кандидата са листом радова и саопштења.

У **Уводу** је описана улога комплексних једињења у области бионеорганске и медицинске хемије. Акцент је стављен на примену ових једињења за лечење малигну обольења. Најзначајније једињење које је у примени за лечење тумора је цисплатина, која поред успеха у лечењу обольења показују и доста нежељених дејстава на здраве ћелије. Велики потенцијал у превазилажењу ових недостатака имају комплекси рутенијума. Они су показали веома добру активност као антитуморски агенси, селективност према ћелијама тумора и мање нежељених ефеката према здравим ћелијама. Из тих разлога циљ ове докторске дисертације био је да се синтетишу и окарактеришу нови лиганди и њихови одоварајући рутенијумски комплекси и испита њихова антитуморска активност.

У Општем делу описана је цисплатина, механизам дејства у малигним ћелијама и недостаци током терапије овим леком. Такође, описан је механизам резистенције туморских ћелија на овај лек и начини за превазилажење резистенције. Поред цисплатине, описани су аналози овог комплекса који су показали боља својства у лечењу тумора. У наставку описано је откриће комплекса рутенијума(III) као антитуморског агенса, даљи развој ове групе комплексних једињења, као и откриће комплекса рутенијума(II), механизам њиховог дејства и предности у односу на комплексе платине. Детаљно је објашњен утицај разноврсних лиганата у рутенијумским комплексима, на антитуморско дејство комплекса и каталитичко дејство у различитим реакцијама. Описани су комплекси рутенијума(II) и рутенијума(III) са планарним ароматичним лигандима, који могу бити веома добри антитуморски агенси као и њихове интеркалирајуће особине које се могу користити у дијагностичке сврхе или за лечење светлосном терапијом. Истакнуто је да липофилнији комплекси рутенијума показују боље карактеристике и већи потенцијал да буду антитуморски агенси.

У наставку текста описани су главни механизми ћелијске смрти, апоптоза и некроза. Указано је на начине препознавања ових типова ћелијске смрти и значај апоптозе у односу на некрозу. На основу тога истакнут је значај испитивања механизма деловања сваког новог једињења, које показује добру антитуморску активност, и утврђивања типа ћелијске смрти коју изазива.

У поглављу **Експериментални део** јасно, детаљно и прегледно су описане синтезе нових лиганата (укупно 2) и већ познатих (укупно 4) и одговарајућих нових органорутенијум(II) комплекса (укупно 9). Подаци у вези са карактеризацијом синтетисаних једињења (елементални састав, хемијска померања сигнала у NMR спектрима, апсорпционе траке у инфрацрвеним спектрима и сигнали у масеним спектрима) јасно и прегледно су написани. У наставку текста наведене су хемикалије и прибор који су коришћени у синтезама ових једињења, као и карактеристике инструмената коришћених за структурну карактеризацију једињења. Наведене су ћелијске линије, поступци и методе коришћене за испитивање биолошке активности, тип ћелијске смрти, мерење акумулације јона платине и рутенијума у ћелијама и везаних за ДНК.

Поглавље **Резултати и дискусија** садржи преглед и анализу резултата истраживачког рада кандидата. У овом поглављу детаљно су описане синтезе свих синтетисаних једињења. У посебним одељцима анализирани су резултати добијени спектралном анализом синтетисаних једињења. За карактеризацију појединих једињења кандидат је користио и дводименционалне NMR методе (^1H , ^{13}C , ^{15}N) COSY, HSQC, HMBC). Један комплекс је добијен у кристалној форми, погодној за анализу X-зрацима, чиме је омогућено прецизно одређивање структуре комплекса. На основу резултата коришћених спектроскопских метода, предложене су структуре синтетисаних лиганата и њихових комплекса. У наставку поглавља представљени су резултати до којих је кандидат дошао испитивањем антитуморске активности синтетисаних једињења. Одређиване су IC_{50} вредности за лиганде, комплексе рутенијума и цисплатине на ћелијским линијама хуманог тумора и резултати су дискутовани у складу са подацима из литературе, који се односе на структурно слична једињења. Осим тога, приказани су

результати добијени испитивањем механизма смрти ћелија третираних комплексима рутенијума и цисплатине. У наставку овог поглавља представљени су резултати испитивања утицаја синтетисаних комплекса који показују најбољу активност на дистрибуцију у ћелијама. Такође, анализирана је акумулација комплекса рутенијума и платине, у зависности од времена, у малигним ћелијама. На тај начин је направљена корелација са везивањем ових комплексних јона за ланце ДНК.

Б. Кратак опис постигнутих резултата

У оквиру овог рада синтетисано је укупно шест лиганда 7-хлорхинолинског, полипиридинског и хидразидског типа и девет њима одговарајућих аренских комплекса рутенијума(II). Синтетисани су 1-(7-хлорхинолин-4-ил)тиоуреа, као представник 7-хлорхинолина, 11,12-диметилдипиридо[3,2-а:2',3'-с]феназин, 2-(9-антрил)-1Н-имидазо[4,5-*f*] [1,10]фенантролин и пиридо[2',3':5,6]пиразино[2,3-*f*][1,10]фенантролин из групе полипиридинских једињења и N^1, N^2 -дипропионилхидразин. Једињења су синтетисана по процедурама описаним у литератури. Комплекси рутенијума(II) добијени су у реакцији полазног димерног комплекса рутенијума са аренским лигандима (бензен, толуен и *p*-цимен) и одговарајућих лиганда, у молском односу 1:2, на собној температури.

За карактеризацију синтетисаних једињења коришћене су стандардне спектроскопске методе: NMR, инфрацрвена спектроскопија, масена спектрометрија, и дифракција X-зрака, док је њихов састав потврђен елементалном анализом. За сва комплексна једињења испитан је антитуморски ефекат на панелу ћелијских линија хуманог карцинома. У ове сврхе коришћени су стандардни тестови вијабилитета (MTT и кристал-виолет) након истека 24, 48 и 72 сата третмана. Затим су израчунате IC₅₀ вредности, односно концентрације испитиваних једињења које доводе до смрти половине броја живих ћелија. На овај начин утврђено је да су лиганд **L5**, комплекси **C3** и **C5** показали најснажније цитотоксично дејство, снажније од цисплатина.

Новосинтетисан комплекс **C3**, искоришћен је за анализу параметара ћелијске смрти и апоптозе на ћелијској линији карцинома материце - HeLa. Акумулација јона рутенијума и платине рађена је са комплексима **C1** – **C3** и цисплатином, на ћелијама мијелогене еритролеукемије и карцинома материце. Такође, ове ћелије су фракционисане, како би се одредио проценат везивања јона метала за ланце ДНК.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Откриће изузетног антитуморског дејства цисплатине, привукло је пажњу истраживача и покренуло даље унапређење. Због нежељених дејстава које поседује цисплатина, јавила се потреба за антитуморским агенсима који показују бољу активност са мање споредних нежељених ефеката. Дуги низ година развијају се нова једињења у циљу проналажења још бољег и ефикаснијег хемиотерапеутика од цисплатине. Као веома добра замена цисплатине показали су се комплекси рутенијума. У те сврхе синтетишу се и испитују многобројни и разноврсни комплекси овог метала. Последњих година

велику пажњу привлаче аренски комплекси рутенијума, јер поседују добре антитуморске карактеристике, са много мање нежељених дејстава.

У дисертацији су детаљно описане синтезе шест лиганата и девет одговарајућих аренских комплекса рутенијума(II). Новосинтетисана једињења потпуно су окарактерисана стандардним спектроскопским методама. На основу тих података недвосмислено је утврђена састав и структура синтетисаних једињења. Добијени резултати о структури и геометрији синтетисаних комплекса у потпуности су у складу са литературним подацима о до сада синтетисаним аналогним једињењима рутенијума. Поједини комплекси и лиганди показали су бољу цитотоксичну активност према свим испитиваним ћелијским линијама хуманог канцера од цисплатине. Утврђени су могући путеви којима комплекси рутенијума долазе у ћелију и испољавају своју антитуморску активност.

Г. Објављени и саопштени радови који чине део дисертације

Радови у врхунским међународним часописима M₂₁

1. **Stefan Nikolić**, Dejan M. Opsenica, Vuk Filipović, Biljana Dojčinović, Sandra Arandelović, Siniša Radulović, Sanja Grgurić-Šipka, Strong in Vitro Cytotoxic Potential of New Ruthenium–Cymene Complexes, *Organometallics*, 34, **2015**, 3464–3473; (M=21, IF 2015. - 4.186)
<http://doi.org/10.1021/acs.organomet.5b00041>
2. **Stefan Nikolić**, Loganathan Rangasamy, Nevenka Gligorijević, Sandra Arandelović, Siniša Radulović, Gilles Gasser, Sanja Grgurić-Šipka, Synthesis, characterization and biological evaluation of novel Ru(II)–arene complexes containing intercalating ligands, *J. Inorg. Biochem.* 160, **2016**, 156–165; (M=21, IF 2016. - 3.348)
<http://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.01.005>
3. Marijana Pavlović, **Stefan Nikolić**, Nevenka Gligorijević, Biljana Dojčinović, Sandra Arandelović, Sanja Grgurić-Šipka, Siniša Radulović, New organoruthenium compounds with pyrido[2',3':5,6]pyrazino[2,3-f][1,10]phenanthroline: synthesis, characterization, cytotoxicity and investigation of mechanism of action, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2019**, (M=21, IF 2018. - 2.952)
<http://doi.org/10.1007/s00775-019-01647-4>

Рад у истакнутим међународном часопису M₂₂

1. **Stefan Nikolić**, Ivanka Ćirić, Alexander Roller, Vladimir Lukeš, Vladimir B. Arion, Sanja Grgurić-Šipka, Conversion of hydrazides into *N,N'*-diacylhydrazines in the presence of a ruthenium(II)–arene complex, *New J. Chem.* 41, **2017**, 6857-6865, (M=22, IF 2017. - 3.201)
<http://doi.org/10.1039/c7nj00965h>

Саопштења са међународног скупа штампана у изводу М₃₄

1. **Stefan Nikolić**, Ivanka Ivanović, Darko Pantić, Vuk Filipović, Dejan Opsenica, Siniša Radulović, Tibor Sabo, Sanja Grgurić-Šipka, New ruthenium(II)-arene complexes with N, O or S containing ligands, ISBOMC14: 7th International Symposium on Bioorganometallic Chemistry, Vienna, Austria, 22 – 25. jul, 2014, P15 Book of abstracts pp 63.
2. Aleksandar Savić, **Stefan Nikolić**, Ivanka Ivanović, Siniša Radulović, Tibor Sabo, Sanja Grgurić-Šipka, New Platinum(II) Iodido and Ruthenium(II) Arene Complexes with different Types of N,O, or S Containing Ligands, 2nd International Symposium on Functional Metal Complexes that Bind to Biomolecules, Zurich, Switzerland, 22. i 23. avgust, 2014, WG5-07.
3. Jelena M. Poljarević, Ana Tadić, Milena Krstić, Ljiljana Mihajlović-Lalić, Aleksandar Savić, **Stefan Nikolić**, Marijana Kajzgergerber, Sandra Arandelović, Sanja Grgurić-Šipka, Novel ruthenium–arene complexes with antiinflammatory drugs, 55. Meeting of the Serbian Chemical Society, Novi Sad, Serbia, 8. i 9. jun 2018, p. 44.

Саопштења са скупа националног значаја штампано у изводу М₆₄

1. **Stefan Nikolić**, Marijana Pavlović, Synthesis, characterization and biological activity in melanoma cells of novel ruthenium(II)-arene complexes containing intercalating ligands, Sixth Conference of the Young Chemists of Serbia, Beograd, 27. oktobar 2018. HS14 PE 12.

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Оригиналност ове докторске дисертације проверена је 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*, утврђено је да количина подударарања текста износи 14%. Овај степен подударности последица је цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података у вези са темом дисертације, као и претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из дисертације, што је у складу са чланом 9. овог Правилника.

Стога сматрамо да је утврђено да је докторска дисертација **Стефана Николића** у потпуности оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања.

Ђ. Закључак

У приложеној докторској дисертацији под насловом „Синтеза и карактеризација рутенијум-аренских комплекса са N, S или O донорским лигандима“ Стефан Николић, дипломирани хемичар, успешно је одговорио на све постављене

задатке који се односе на синтезу и карактеризацију лиганата (укупно шест) и одговарајућих аренских комплекса рутенијума(II) (укупно девет). Испитано је и упоређено цитотоксично дејство синтетисаних лиганата и комплекса. Утврђено је да лиганди и комплекси показују значајну антитуморску активност и то неки од њих доста бољу од цисплатине, тренутно најефикаснијег хемиотерапеутика.

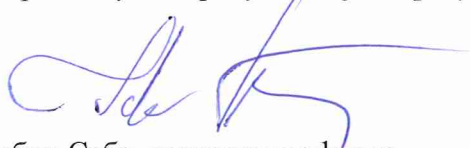
Научно-истраживачки рад кандидата је публикован у оквиру 4 научна рада, која су директно проистекла из докторске дисертације (три рада категорије M₂₁ и један рад категорије M₂₂). Додатно су резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације саопштени на три научна скупа од међународног значаја и једном скупу од националног значаја. Комисија је мишљења да резултати објављени у поднетој докторској дисертацији представљају значајан допринос у области рутенијумских комплексних једињења. Поред тога, Комисија сматра да се истраживања у спроведена у оквиру ове дисертације уклапају у савремене трендове неорганске, односно биомедицинске и координационе хемије.

У складу с тим предлажемо Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да поднету докторску дисертацију Стефана Николића прихвати и одобри њену одбрану.

Комисија референата:



др Сања Гргурић-Шипка, редовни професор, ментор
Универзитет у Београду-Хемијски факултет



др Тибор Сабо, редовни професор
Универзитет у Београду-Хемијски факултет



др Дејан Опсеница, научни саветник
Универзитет у Београду-НУ ИХТМ



др Сандра Аранђеловић, виши научни сарадник
Институт за онкологију и радиологију Србије

У Београду, 20.02.2019.