

Институт сатиса
Вукович

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

Предмет: Извештај комисије за оцену докторске дисертације **Емине Мркалић**

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу, одржаној 21.09.2016. године (број одлуке: 800/VIII-2) и на седници Већа за природно-математичке науке одржаној 12.10.2016 године (број одлуке: IV-01-956/6) одређени смо у комисију за подношење извештаја о урађеној докторској дисертацији под насловом:

**"Синтеза и антитуморна активност комплекса паладијума(II) са
дериватима диамида оксалне и малонске киселине"**

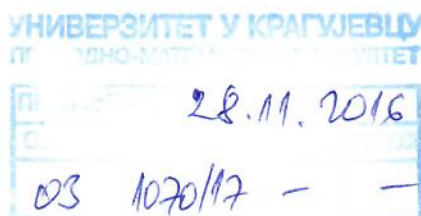
кандидата **Емине Мркалић**.

Емина Мркалић је поднела рукопис своје докторске дисертације Наставно-научном већу Природно-математичког факултета на оцену. Ми смо прегледали рукопис, дали своје сугестије, након чега је **Емина Мркалић** унела све потребне корекције и на основу тога подносимо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Значај и допринос докторске дисертације

Поље истраживања комплекса прелазних метала са потенцијалном антитуморном активношћу велики је изазов већ деценијама. Упркос ранијем мишљењу да комплекси паладијума због термодинамичких особина и мале токсичности не могу наћи своје место у овој области пронађени су начини да се јон паладијума стабилизује



хелатним окружењем. Овде се пре свега мисли на адекватан избор лиганда који имају стабилизирајући ефекат на јон паладијума. Диамиди оксалне и малонске киселине имају значајну улогу у бројним биохемијским процесима. Оно што ограничава њихову примену је веома мала растворљивост у уобичајеним растварачима, слаба киселост и хидролитичко разлагање у алкалном раствору. Ове тешкоће могу се скоро потпуно превазићи увођењем *N,N'*-bis(супституисаних) координационих група, иначе веома популаран предмет истраживања у координационој и супрамолекуларној хемији. Природа ових лиганда је таква да варијацијом координационих супституената омогућава образовање комплекса чије се укупно наелектрисање и поларност могу мењати.

У оквиру дисертације синтетисано је шест нових комплекса паладијума(II), при чему су структуре три комплекса окарактерисане рендгенском структурном анализом. Такође је извршена њихова карактеризација применом савремених спектроскопских метода као што су инфра-црвена, UV и NMR (^1H и ^{13}C) спектрална анализа. Испитана је биолошка активност ових система *in vitro*, утврђен начин инхибиције ћелијске пролиферације, анализиран ћелијски циклус применом проточне цитометрије као и експресија протеина који се детектују у процесу апоптозе ћелија. У циљу одгонетања природе и начина интеракција комплекса са важним биолошким макромолекулима у овој дисертацији су примењене симулационе методе (докинг и молекулска динамика) компјутерске хемије. Коначно је на основу свих резултата и њихове дискусије предложен механизам дејства синтетисаних једињења.

2. Оцена оригиналности научног рада

У оквиру ове дисертације синтетисани су и окарактерисани комплекси паладијума(II) са дериватима диамида оксалне и малонске киселине. Испитана је стабилност ових система у воденом раствору, њихове интеракције са биолошким значајним молекулима попут нуклеозида, DNK и HSA, биолошка активност *in vitro* и коначно, на основу експерименталног и теоријског рада предложен механизам дејства лекова. Добијени резултати су приказани следећим редоследом:

- У оквиру ове дисертације синтетисано је шест лиганда оксамидног то јест маламидног типа (четири N_2O_2 , један N_3O и N_4 хромофоре) као и одговарајући комплекси паладијума(II). Структура лиганда $\text{K}_2\text{H}_2\text{obbz}$ потврђена је

рендгенском структурном анализом. Лиганд H_4obbz кристалише као дикалијумова со $2,2'-[(1,2\text{-диоксоетан-1,2-диил})\text{диимино}]$ дикарбоксилне бензоеве киселине, где је јон калијума координан за карбоксилни атом кисеоника O_2 и амидни атом кисеоника O_3 . Кристалише као стабилнији *trans* конформер у хексагоналној просторној групи $R\bar{3}$, док у комплексу усваја *cis* конформацију. Независна асиметрична јединица лиганда има *Cs* симетрију. Очекивано IR, 1H и ^{13}C NMR и UV спектри награђених лиганда показују сличне карактеристике.

- Рендгенска структурна анализа комплекса $K_2[Pd(mda)] \cdot H_2O$, $KH[Pd(obap)]_2 \cdot 3H_2O$, $K_2[Pd(mdp)] \cdot H_2O$. Резултати су показали да је атом паладијума позициониран у скоро идеалном квадратно-планарном окружењу, формираном од пара азотних донора из депротоноване амидне везе и пара кисеоничних донора из депротоноване карбоксилне киселине и молекула воде ($K_2[Pd(mda)] \cdot H_2O$ и $K_2[Pd(mdp)] \cdot H_2O$), односно пара донора азота из депротоноване амидне везе, кисеоника из депротоноване карбоксилне киселине и атома азота аминок групе бочног ланца ($KH[Pd(obap)]_2 \cdot 3H_2O$). Као што је и очекивано IR, 1H и ^{13}C NMR и UV спектри показују сличне карактеристике.
- Применом потенциометријских метода испитана је стабилност водених раствора самих лиганда, смеше паладијум(II) јона и одговарајућих лиганда у различитим концентрационим односима, као и PdL-A система да би се испитао утицај бинарних комплекса [PdL] на нуклеозиде који улазе у састав DNK. Испитивање интеракција синтетисаних једињења и молекула HSA и DNK вршено је применом флуоресцентне и апсорпционе спектроскопије.
- Биолошка активност ових једињења *in vitro* испитана је применом MTT теста цитотоксичности и метода за детекцију апоптозе. Експериментално добијени резултати су у сагласности са теоријским и указују да биолошка активност комплекса паладијума(II) веома зависи од структуре азот-кисеоник донорских лиганда. Највећу активност показали су деривати малонске киселине, пре свега $K_2[Pd(mdp)] \cdot H_2O$ комплекс.

- За анализу ћелијског циклуса примењене су методе проточне цитометрије и електрофоретска Вестерн-Блот анализа. Резултати су показали да антитуморна активност паладијум(II) комплекса са различитим врстама лиганата на HeLa хуманим ћелијама изазивају апоптозу на каспаза-зависан начин.
- У циљу коначног дефинисања механизма дејства синтетисаних комплекса паладијума(II) примењене су рачунарске симулационе методе, докинг симулација и молекулска динамика.
- На крају, на основу резултата експерименталних и рачунских експеримената предложен је механизам дејства испитиваних система.

Оригиналност и актуелност резултата из ове докторске дисертације потврђена је објављивањем три научна рада у међународним часописима (два рада из категорије **M21** и један рад из категорије **M23** који су проистекли као резултат мултидисциплинарног истраживања). Конкретан допринос ове дисертације када је у питању рад 3.1.3 је синтеза новог комплекса, [Pd(арох)] чија је биолошка активност испитивана. Четврти рад урађен у оквиру ове дисертације је у фази рецензије (*"Chemistry and Biology of palladium(II) complexes with chelate N2O2 framework. Structural, solution and computational study"*). Из свега наведеног може се закључити да је поднета докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидаткиње у области Неорганске хемије.

3. Преглед остварених резултата кандидата у области Неорганске хемије

Емина Мркалић је до сада постигла значајне резултате у научно-истраживачком раду. Постигнути резултати су представљени у облику 4 научна рада и 2 саопштења на међународним научним конференцијама и 1 саопштењем на националној конференцији.

3.1 Научни радови у међународним научним часописима

- 3.1.1. **Emina M. Mrkalić, Ratomir M. Jelić, Olivera R. Klisurić and Zoran D. Matović,**
"Synthesis of novel palladium(II) complexes with oxalic acid diamide derivatives and their interaction with nucleosides and proteins. Structural, solution, and computational study",
Dalton Transactions, **43**, 15126-15137 (2014).
ISSN:1477-9226, IF₂₀₁₄ = 4.197, DOI: 10.1039/C3DT53384K (M21)
- 3.1.2. **Zoran D. Matović, Emina Mrkalić, Gordana Bogdanović, Vesna Kojić, Auke Meetsma and Ratomir Jelić,**
Antitumor effects of a tetradentate amido-carboxylate ligands and corresponding square-planar palladium(II) complexes toward some cancer cells. Crystal structure, DFT modeling and ligand to DNA probe Docking simulation,
Journal of Inorganic Biochemistry, **121**, 134-144 (2013).
ISSN: 0162-0134, IF₂₀₁₃ = 3.274, DOI:10.1016/J.JINORGBIO.2013.01.006 (M21)
- 3.1.3. **Milena G. Ćurčić, Milan S. Stanković, Emina M. Mrkalić, Zoran D. Matović, Dragić D. Banković, Danijela M. Cvetković, Dragana S. Đačić, Snežana D. Marković,**
Antiproliferative and Proapoptotic Activities of Methanolic Extracts from Ligustrum vulgare L. as an Individual Treatment and in Combination with Palladium Complex,
Int. J. Mol. Sci.", **13** (2) 2521-2534 (2012).
ISSN: 1422-0067, IF₂₀₁₂ = 2.464, DOI:10.3390/IJMS13022521 (M23)
- 3.1.4. **Emina Mrkalić, Ariadni Zianna, George Psomas, Maria Gdaniec, Agnieszka Czapik, Evdoxia Coutouli-Argyropoulou, Maria Lalia-Kantouri,**
Synthesis, characterization, thermal and DNA-binding properties of new zinc complexes with 2-hydroxyphenones,
Journal of Inorganic Biochemistry, **134**, 66–75 (2014).
ISSN: 0162-0134, if =3.452, (M21)

3.2 Саопштења на међународним и домаћим научним конференцијама

- 3.2.1. **Z.D. Matović, V.D. Miletić, E.M. Mrkalić, M.S. Ćendić, G. Bogdanović, V. Kojić,**
Molecular Modeling, Structure and Antitumor Activity of Pd(II) complexes with carboxylate derivates of oxalic and malonic acid diamides,
10th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 2010, Thessaloniki, Greece (M34)
- 3.2.2. **Žižić J, Ćurčić M, Obradović A, Mrkalić E, Matović Z, Ćendić M, Djurdjević P, Živić D, Marković S.,**
Evaluation of antiproliferative activity of new palladium complexes and mechanism of cell death on HCT-116 and MDA-MB-231 cell lines,
Scientific Conference with International Participation "Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research", Kragujevac 2011, ISBN 978-86-7760-064-8 (M34)

- 3.2.3. Emina Mrkalić, Giorgio Pelosi, Zoran Matović,**
SYNTHESIS AND CRYSTAL STRUCTURE OF POTASSIUM-(MALAMIDO-N,N'-DIPROPIONATO)PALLADIUM(II)-HYDRATE, C₉H₁₂K₂N₂O₇Pd,
21st CONFERENCE OF THE SERBIAN CRYSTALLOGRAPHIC SOCIETY, 2014.
Uzice, Serbia, (M64)

3.3. Рад у фази рецензије

- 3.3.1. Emina M. Mrkalić, Ratomir Jelić, Giorgio Pelosi, Vesna Kojić, Dimitar Jakimov, Pengfei Li, Suzana Popović, Dejan Baskić, Zoran D. Matović,**
"Chemistry and Biology of palladium(II) complexes with chelate N₂O₂ framework. Structural, solution and computational study" - IC

4. Оцена испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Комисија је закључила да су сви задаци који су предвиђени приликом пријаве теме за израду докторске дисертације под насловом **"Синтеза и антитуморна активност комплекса паладијума(II) са дериватима диамида оксалне и малонске киселине"** по обиму и квалитету добијених научних резултата у потпуности остварени, као и да резултати приказани у овој дисертацији представљају оригинални научни допринос.

5. Применљивост резултата у теорији и пракси

Резултати постигнути у оквиру ове докторске дисертације представљају резултат оригиналног научног рада кандидаткиње у области Неорганске хемије. Ова докторска дисертација има значајан допринос и са теоријског и са практичног становишта. Огледа се кроз допринос у дизајнирању нових комплекса јона прелазних метала, дефинисању њихових интеракција са биомолекулима попут, нуклеозида, DNK и HSA и дефинисању механизма њиховог антитуморног дејства.

6. Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси

Постигнути резултати ове докторске дисертације представљају, пре свега, значајан научни допринос познавању карактеристика новосинтетисаних комплекса паладијума(II) са дериватима диамида оксалне и малонске киселине. Испитивање стабилности ових система у воденом раствору, као и интеракције са важним биомолекулима попут нуклеозида, DNK и HSA је важно ради бољег разумевања многобројних хемијских процеса који се дешавају у растворима при физиолошкој рН. Резултати *in vitro* биолошке активности и анализе ћелијског циклуса који су у сагласности са резултатима добијеним на основу теоријских експеримената указују на примењивост и потенцијални механизам дејства синтетисаних једињења у *in vivo* условима. Сматрамо да ће резултати бити веома корисни за истраживаче који се баве бионеорганском или медицинском хемијом.

7. Начин презентирања резултата научној јавности

Научни доприноси ове докторске дисертације су потврђени публикавањем научних резултата у облику **три научна рада** у познатим међународним часописима (два рада из категорије **M21** и један рад из категорије **M23**), као и већег броја саопштења на научним конференцијама. Четврти рад проистекао из ове дисертације је у фази рецензије ("*Chemistry and Biology of palladium(II) complexes with chelate N2O2 framework. Structural, solution and computational study*" - IC).

Докторска дисертација је написана на 125 страна и садржи 40 слика, 15 табела, 7 шема и 237 литературна податка. Дисертација је подељена на **Скраћенице**, **Списак слика**, **Списак шема**, **Списак табела**, **Извод**, **Summary**, **Општи део** (1-34), **Предмет истраживања** (35), **Експериментални део** (36-56), **Резултате** (57-76), **Дискусију резултата** (77-107), **Закључак** (108-110) и **Литературу** (111-125). Поред тога, дисертација садржи списак радова и биографију кандидата, као и прилог, тј. абстракте радова у којима су штампани резултати докторске дисертације.

Такође, резултати ће бити презентовани и на јавној одбрани докторске дисертације, након прихватања овог извештаја од стране Наставно-научног већа Природно-математичког факултета и Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу.

З А К Л О У Ч А К

Поднети рукопис докторске дисертације **Емине Мркалић** под насловом:

**"Синтеза и антитуморна активност комплекса паладијума(II) са дериватима
диамида оксалне и малонске киселине"**




урађене под менторством проф. др Зорана Д. Матовића, представља оригинални научни допринос изучавању у области неорганске хемије. Докторска дисертација обухвата синтезу и карактеризацију комплекса јона паладијума(II) са дериватима диамида оксалне и малонске киселине, као и резултате испитивања стабилности ових система у воденом раствору, интеракција са значајним биомолекулима (нуклеозидима, DNK и HSA), резултате биолошке активности *in vitro* и теоријских (докинг симулација и молекулска динамика) експеримената. Као резултат свих ових испитивања проистекао је предложени механизам дејства синтетисаних комплекса.

Добијени резултати су објављени у оквиру **три научна рада** (четврти је у фази рецензије) у познатим међународним часописима (два рада из категорије **M21** и један рад из категорије **M23**), као и 2 саопштења на међународним научним конференцијама и 1 саопштење на националној научној конференцији.

Имајући у виду претходно наведене чињенице сматрамо да су испуњени сви услови за прихватање наведене докторске дисертације као оригиналног научног рада. Стога предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета и Већу за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу да кандидату **Емини Мркалић** одобри јавну одбрану *докторске дисертације* под наведеним насловом.

У Крагујевцу,
13.11.2016. год.

К о м и с и ј а

- 
1. др Срећко Трифуновић, редовни професор, председник комисије
Природно-математички факултет, Крагујевац
Ужа научна област: Неогранска хемија
- 
2. др Ратомир Јелић, ванредни професор
Факултет медицинских наука, Крагујевац
Ужа научна област: Фармацеутска хемија
- 
3. др Бранимир Јованчићевић, редовни професор
Хемијски факултет, Универзитет у Београду
Ужа научна област: Примењена хемија