

Predmet: Izveštaj Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije Afya A. Baroud

Na redovnoj sednici Nastavno-naučnog veća Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, održanoj 19.01.2017. određeni smo za članove komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije Afya-e A. Baroud, pod naslovom:

„Sinteza, karakterizacija i citotoksičnost bis(bipiridin)rutenijum(II) kompleksa sa derivatima pikolinske kiseline“

„Synthesis, characterization and cytotoxicity of bis(bipyridine)ruthenium(II) complexes with picolinic acid derivatives“

Pošto smo podnetu disertaciju pregledali, podnosimo Veću sledeći

I Z V E Š T A J

A. Prikaz sadržaja disertacije

Doktorska disertacija **Baroud Afya-e**, dipl. hemičara, mastera hemije, pod navedenim naslovom sadrži ukupno 100 strana formata A4, od čega 85 strana teksta podeljenog u sedam odeljaka: **Uvod** (3 strane), **Opšti deo** (17 strana), **Eksperimentalni deo** (17 strana), **Rezultati i diskusija** (23 strane), **Zaključak** (1 strana), **Prilog** (22 strane) i **Biografiju** (2 strane). Pored navedenog, disertacija sadrži Rezime na srpskom i engleskom jeziku, Sadržaj, Listu skraćenica i Zahvalnicu. U tekstu disertacije se nalazi 21 slika (+ 19 slika u Prilogu), 15 tabela i 1 shema.

Uvod na jasan način prikazuje značaj ove oblasti istraživanja. Posebno ističe komplekse platine i rutenijuma kao jedinjenja koja ispoljavaju biološku aktivnost u okviru antitumorskog delovanja. S tim u vezi, cilj ove disertacije je sinteza novih bis(bipiridinskih) kompleksa rutenijuma(II) sa ligandima koji predstavljaju derivate pikolinske kiseline i ispitivanje njihove *in vitro* antitumorske aktivnosti.

U **Opštem delu** dat je pregled literature o tipovima kompleksnih jedinjenja koja ispoljavaju antitumorski potencijal. Detaljno je prikazan prepostavljeni mehanizam delovanja prvog kompleksa koji se koristio u ove svrhe, *cisplatin*, a zatim je dat prikaz ostalih kompleksa platine koji se danas koriste u kliničkoj praksi. Kako je cilj i predmet ove disertacije sinteza novih kompleksa rutenijuma, dat je hronološki pregled sintetisanih i ispitivanih kompleksa rutenijuma, od strukturnih analoga *cisplatin* do danas najaktuelnijih organorutenijumskih jedinjenja sa interkalirajućim ligandima. Istaknute su prednosti, ali i mane do sada korišćenih jedinjenja, koje su bile podsticaj za sinteze novih jedinjenja sa što manje neželjenih dejstava. Dat je pregled liganada koji su upotrebljeni za sinteze kompleksa rutenijuma i istaknute njihove biološke osobine.

U poglavlju **Eksperimentalni deo** kandidat je detaljno i pregledno opisao sintezu novih kompleksa. Takođe su sistematično navedeni podaci koji su dobijeni karakterizacijom sintetisanih jedinjenja (tačka topljenja, elementalna analiza, IC, NMR, X-ray i masena spektrometrija). U okviru ovog poglavlja navedene su i hemikalije, reagensi, ćelijske linije kao i postupci i metode koje su korišćene u sintezi, karakterizaciji i ispitivanju biološke aktivnosti.

U okviru poglavlja **Rezultati i diskusija** kandidat je prezentovao rezultate svojih istraživanja. Dat je pregled novosintetisanih kompleksa rutenijuma(II) sa derivatima pikolinske kiseline. Svi rezultati dobijeni standardnim metodama karakterizacije su detaljno prodiskutovani. Za karakterizaciju, pored tačke topljenja, elementalne analize, IC spektroskopije, kandidat je primenio i (^1H , ^{13}C) NMR spektroskopiju. Za komplekse koji su dobijeni u obliku monokristala, za karakterizaciju je bila primenjena i rendgenska strukturna analiza. Takođe je dat pregled rezultata dobijen elektrohemijskom karakterizacijom svih kompleksa. Sve pomenute metode su nedvosmisleno potvrdile prepostavljenju strukturu i sastav novosintetisanih jedinjenja. Poseban deo ovog poglavlja zauzimaju rezultati koji se odnose na ispitivanje citotoksičnosti sintetisanih jedinjenja na paleti tumorskih ćelijskih linija.

Za sva jedinjenja određene su IC_{50} vrednosti na svim ispitivanim ćelijskim linijama i prodiskutovane u odnosu na podatke iz literature za slične strukture tj. za neke komplekse u odnosu na *cisplatin* kao zlatni standard u hemioterapiji tumora. Za jedan kompleks je UV-vis spektroskopijom i cikličnom voltametrijom praćeno vezivanje za DNK što je takođe opisano u ovom poglavlju.

U poglavlju **Zaključak**, sumirani su taksativno rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije.

Literatura je navođena posle svakog poglavlja i obuhvata knjige i radove iz oblasti istraživanja koji pokrivaju opšti deo doktorske disertacije, diskusiju rezultata i uobičajene eksperimentalne procedure korišćene u doktorskoj disertaciji.

U **Prilogu** su u okviru 19 slika predstavljeni spektroskopski podaci, infracrveni, maseni i nuklearno-magnetno rezonantni spektri, koji su korišćeni za karakterizaciju sintetisanih jedinjenja i čiji su karakteristični signali diskutovani u okviru poglavlja Rezultati i diskusija.

B. Kratak opis postignutih rezultata

U okviru svoje doktorske disertacije kandidatkinja je sintetisala bis(bipiridin)rutenijum(II) komplekse sa ligandima koji predstavljaju derivate pikolinske kiseline. Kompleksi su dobijeni u reakciji polaznog bis(bipiridinskog) kompleksa rutenijuma(II) i odgovarajućeg liganda u molskom odnosu 1:1 u etanolu, uz dodatak amonijum-heksafluorofosfata, uz blago zagrevanje. Strukture sintetisanih kompleksa u čvrstom stanju određene su na osnovu rezultata elementalne analize, IC spektroskopije i rendgenske strukturne analize, dok su strukture kompleksa u rastvoru određene NMR spektroskopijom i masenom spektrometrijom. Sintetisani kompleksi se sastoje iz kompleksnog katjona i heksafluorofosfatnog anjona. U kompleksnom katjonu bidentatni ligand, derivat pikolinske kiseline, je koordinovan za centralni atom rutenijuma preko piridinskog azota i karboksilatnog kiseonika. Ostala koordinaciona mesta zauzimaju po dva molekula bipiridina koja su koordinovana za rutenijumski centar preko azotovih atoma. Elektrohemijski karakter kompleksa je ispitivan cikličnom voltametrijom, ukazujući na Ru(II)/Ru(III) transfer elektrona, u opsegu pozitivnih potencijala. Sa druge strane, u opsegu negativnih potencijala, zapaženi su višestruki reverzibilni pikovi koji predstavljaju sukcesivne redukcije bipiridinskog dela.

Citotoksični (antitumorski) efekat sintetisanih jedinjenja ispitan je na paleti različitih ćelijskih linija, primenom odgovarajućeg testa vijabiliteta (MTT test) po isteku 72 sata od tretmana. Na osnovu dobijenih podataka, određene su IC_{50} vrednosti tj. koncentracije jedinjenja koje dovodi do inhibicije preživljavanja tj. vijabilnosti ćelija za 50% u odnosu na netretirane kontrolne ćelije. Dobijene vrednosti su upoređene sa literaturnim IC_{50} vrednostima za *cisplatinu* na datim ćelijskim linijama.

Pored ispitivanja citotoksičnosti, UV-vis spektroskopijom i cikličnom voltametrijom ispitivano je vezivanje jednog kompleksa za DNK. Dobijeni su rezultati koji sugerišu na interkalaciju kompleksa sa DNK.

C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Veliki broj kompleksnih jedinjenja koja sadrže metal je sintetisan od otkrića *cisplatine* u nameri da se dobije jedinjenje sa boljim antitumorskim svojstvima, a sa manjim sporednim efektima. U toku poslednjih 20 godina posebna pažnja je posvećena bipiridinskim rutenijum(II) kompleksima u oblasti bioneorganske i medicinske hemije, a naročito u ispitivanju njihovog antitumorskog delovanja.

U ovoj doktorskoj disertaciji su opisani postupci za sintezu novih bis(bipiridinskih)rutenijumskih kompleksa sa derivatima pikolinske kiseline. Ligandi korišćeni za sintezu pomenutih kompleksa su komercijalno dostupne supstance. U literaturi nisu pronađeni podaci o bis(bipiridinskim) kompleksima rutenijuma sa tipom liganda koji su u ovom radu korišćeni. S obzirom na to, da se radi o novosintetisanim jedinjenjima, njihova detaljna karakterizacija je bila preduslov za ispitivanje citotoksičnosti. Rezultati ispitivanja *in vitro* antitumorske aktivnosti sintetisanih kompleksa ukazali su na umerenu citotoksičnost. Rutenijum(III) komplekse (poput NAMI-A i KP1019), karakteriše niska opšta toksičnost, koja je pripisana sposobnosti ovih jedinjenja da se akumuliraju u tumorskim ćelijama, mehanizmom vezivanja za transferin. Takođe, dosadašnja brojna biološka istraživanja strukturno različitih rutenijumskih kompleksa, ukazuju da oni mogu da ispoljavaju niz *in vitro* antikancerskih svojstava (kao što su antiangiogenetsko i antimetastatsko), čak i u odsustvu značajnog antiproliferativnog potencijala. Mehanizam *in vitro* biološkog delovanja, pre svega efekat na signalne puteve i redoks-balans u ćeliji, ove široke klase ruthenium(II) bipiridil kompleksa, nije u potpunosti ispitan. Dobijeni rezultati ističu potrebu daljeg istraživanja molekularnog mehanizma delovanja novosintetisanih supstanci.

G. Objavljeni i saopštteni radovi koji čine deo ove disertacije

Rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. **A. A. Baroud**, Lj. E. Mihajlović-Lalić, N. Gligorijević, S. Arandelović, D. Stanković, S. Radulović, K. V. Hecke, A. Savić, S. Grgurić-Šipka: Ruthenium(II) bipyridyl complexes: from synthesis and crystal structures to electrochemical and cytotoxicity investigation, *J. Coord. Chem.*, 70 (2017) 831-847.

Rad u međunarodnom časopisu (M23)

2. **A. A. Baroud**, Lj. E. Mihajlović-Lalić, D. Stanković, Marijana Kajzerberger, K. V. Hecke, S. Grgurić-Šipka, A. Savić: New ruthenium(II) bipyridyl complex: synthesis, crystal structure and cytotoxicity, *J. Serb. Chem. Soc.*, (2017) DOI: 10.2298/JSC170109025B.

D. Zaključak

U podnetoj doktorskoj disertaciji pod naslovom „Sinteza, karakterizacija i citotoksičnost bis(bipiridin)rutenijum(II) kompleksa sa derivatima pikolinske kiseline“ „Synthesis, characterization and cytotoxicity of bis(bipyridine)ruthenium(II) complexes with picolinic acid derivatives“ Afya-e A. Baroud, diplomiranog master hemičara, uspešno je odgovorila na sve postavljene zadatke koji se odnose na sintezu i karakterizaciju novih bis(bipiridin)rutenijum(II) kompleksa. Ispitana je *in vitro* antitumorska aktivnosti sintetisanih kompleksa koja je ukazala na umerenu citotoksičnost prema tumorskim ćelijskim linijama. Kandidatkinja je objavila ukupno 3 naučna rada, od kojih su 2 direktno proistekla iz doktorske disertacije (jedan kategorije M22 i jedan rad iz kategorije M23). Komisija smatra da rezultati objavljeni u podnetoj doktorskoj disertaciji predstavljaju značajan doprinos u oblasti bipyridinskih rutenijumskih kompleksa. Pored toga, Komisija je mišljenja da se istraživanja sprovedena u okviru ove disertacije, uklapaju u savremene trendove opšte i neorganske, odnosno bioneorganske i koordinacione hemije.

Zbog toga predlažemo Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, da podnetu doktorsku disertaciju Afya-e A. Baroud prihvati i odobri njenu odbranu.

Komisija:

dr Sanja Grgurić-Šipka, redovni profesor Hemijskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu

dr Sandra Arandelović, viši naučni saradnik Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije

dr Aleksandar Savić, docent Hemijskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu

dr Ljiljana Mihajlović-Lalić, naučni saradnik Inovacionog centra Hemijskog fakulteta u Beogradu d.o.o.

Beograd, 09.03.2017.