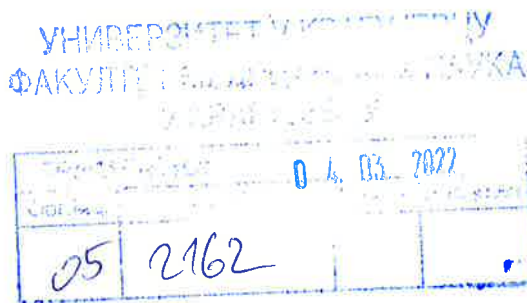


УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ



1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу о формирању Комисије за оцену завршене докторске дисертације

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 19.01.2022. године, одлуком број IV-03-6/22, формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „**Испитивање антимикробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса**“ кандидаткиње др Иване Раковић, у следећем саставу:

1. **Доц. др Ивана Радојевић**, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија*, председник;
2. **Доц. др Јована Богојески**, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Неорганска хемија*, члан;
3. **Проф. др Оливера Милошевић-Ђорђевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Генетика*, члан;
4. **Доц. др Биљана Поповска-Јовичић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Инфективне болести*, члан;
5. **Проф. др Славиша Станковић**, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Биологија микроорганизама*, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидаткиње др Иване Раковић и подноси Наставно-научном већу следећи:

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидаткиње др Иване Раковић под називом „Испитивање антимикуробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса“, урађена је под менторством проф. др Предрага Чановића, редовног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести.

Наведена докторска дисертација представља оригинално истраживање у коме је извршена синтеза комплекса паладијума(II) са различитим азот и селен донорским лигандима и испитивање њихове антимикуробне, антибиофилм, антиоксидативне активности, интеракције са молекулом ДНК, генотоксичне и антитуморске активности.

У ери микробне резистенције, истраживања имају за циљ проналажење антимикуробног лека са ширим спектром деловања који ће имати минимум нежељених ефеката. Развој нових антимикуробних агенаса иде у правцу мултифункционалности а бионеорганска хемија нуди одређена решења у коришћењу једињења метала. Постоји велика разноликост у дизајнирању нових једињења метала јер постоји велики број метала који би имали антимикуробни потенцијал, као и огроман број лиганата који би могли да се комбинују са металима. Најчешће се користе две стратегије, или су познати антибиотици координовани са металом, или су синтетисана потпуно нова једињења. У овој докторској дисертацији за испитивање антимикуробног потенцијала коришћени су четири раније синтетисана и окарактерисана комплекса паладијума(II) са азот донорским лигандима и три ново синтетисана комплекса паладијума(II) са селен донорским лигандима. Синтеза и карактеризација свих комплекса Pd(II) изведена је стандардним аналитичким методама. Антимикуробна активност је испитивана микродилуционом методом са ресазурином, а антибиофилм активност на формираном биофилму, методом са кристал виолетом. Коришћен је широк спектар различитих микроорганизама. За испитивање антиоксидативне активности коришћен је тест капацитета неутралисања DPPH радикала. Интеракције наглађених комплекса са СТ-ДНК праћене су апсорбционом и флуоресцентном методом као и мерењем вискозности

раствора, док су интеракције са BSA испитиване флуоросцентном методом. Извршена је симулација молекула докинг методом. Генотоксична активност комплекса Pd(II) у култивисаним хуманим лимфоцитима испитивана је коришћењем Comet теста. Цитотоксична активност новосинтетисаних једињења је испитивана помоћу МТТ колориметријске технике.

Резултати докторске дисертације показују да испитивани азот-донорски лиганди и одговарајући комплекси Pd(II) имају селективну и ограничену антимикуробну активност. Комплекси Pd(II) са селен доносним лигандима, C5 и C7, показују активности боље од позитивних контрола према *Pseudomonas aeruginosa*. C7 комплекс има значајну антибиофилм активност на истој бактерији. C5 комплекс показује и значајне активности на тестираним филаментозним гљивама. C4 комплекс са азот-донорским лигандима показује значајну антиоксидативну активност, док се од комплекса Pd(II) са селен доносним лигандима истиче C6 комплекс. Испитивани комплекси Pd(II) умерено интерагују са молекулом СТ-ДНК и BSA. Селен доносни комплекси Pd(II) показују већи степен интеракције. Највећи генотоксични ефекат показује комплекс C7, а најмањи C5. Комплекс C6 даје најзначајнију антитуморску активност.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским истраживањем биомедицинских база података „PubMed“, „KoBSON“, уз коришћење одговарајућих кључних речи „комплекси Pd(II)“, „азот и селен доносни лиганди“, „антимикуробна, антибиофилм, антиоксидативна активност“, „СТ-ДНК и BSA“, „генотоксичност“ и „цитотоксичност“ нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидаткиње др Иване Раковић под називом „Испитивање антимикуробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Ивана (Радисав) Раковић је рођена 12. 08. 1983. године у Крагујевцу. Основну школу и Медицинску школу са домом ученика „Сестре Нинковић“ завршила је са одличним успехом. Интегрисане академске студије медицине на Факултету медицинских наука у Крагујевцу уписала је 2002. године, а завршила 2009. године са просечном оценом 8,35 (осам и 35/100). Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Имунологија, инфламација и инфекција уписала је школске 2011/12. Усмени докторски испит је положила у октобру 2013. године. Докторску тезу под називом „Испитивање антимикробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса“, пријавила је маја 2018. год. На Факултету медицинских наука запослена је од 2012. године прво у звању сарадника у настави за ужу научну област Инфективне болести, а од 2019. године као асистент. На Клиници за инфективне болести КЦ Крагујевац запослена је од 2013. године. Марта 2019. године положила је специјалистички испит на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу из области медицине Инфектологија са оценом пет (5). Активно учествује у извођењу практичног дела наставе на свим студијским програмима као и у организацији рада катедре за Инфективне болести. Била је ангажована као истраживач на јуниор пројекту „Анализа фактора значајних у диференцијалној дијагнози узрочника фебрилних стања непознате етиологије“. Активно учествује на симпозијумима, као и домаћим и међународним конгресима са тематиком инфективне патологије. Аутор је и коаутор већег броја научних публикација од којих је 5 радова у научним часописима са SCI листе (M22-1, M23-4) и 8 радова у часописима националног значаја.

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

Кандидаткиња др Ивана Раковић је учествовала на 10 међународних и националних научних скупова, на 5 као први аутор. Кандидаткиња је аутор више научних радова у домаћим и међународним часописима и први аутор у радовима

објављеним у часописима индексираним на SCI листи чији су резултати саставни део докторске дисертације, чиме је испунила услов за одбрану докторске дисертације:

1. **Raković I**, Bogojeski J, Mladenović K, Petrovic A, Divac V, Mihailović K, Popovska-Jovičić B, Kostić M, Čanović P, Milivojević N, Zivanović M, Radojević I. Synthesis, Characterization and Biological Studies of Organoselenium trans-Palladium(II) Complexes. Medicinal Chemistry 2021;17(9):1007-1022. **M22**
2. **Raković RI**, Radojević DI, Mladenović GK, Popovska Jovičić DB, Petrović S, Čanović PP, Čomić RLj, Čanović SP, Bogojeski VJ. Antimicrobial, antioxidant and DNA-binding studies of palladium(II) complexes with different chelate ligands containing nitrogen donor atoms. Journal of the Serbian Chemical Society. 2018;83(11):1229-42. **M23**
3. Radojević ID, Mladenović KG, Čomić LR, **Raković IR**, Milošević-Djordjević OM, Grujičić DV, Marković AM, Vukajlović JT, Djelić G, Topuzović M and Mihailović NR. Unexplored biological properties and phytochemical characterization of methanolic extracts of achillea ageratifolia subsp. serbica (nyman) heimerl. The Journal of Animal and Plant Sciences. 2022;32(2) doi: 10.36899/JAPS.2022.2.0457 **M23**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Сprovedено истраживање је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Наслов докторске дисертације и урађено истраживање се у потпуности поклапају. Циљеви истраживања и примењена методологија поклапају се са одобреним у пријављеној тези. Докторка дисертација Иване Раковић садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви, Материјал и методе, Резултати и Дискусија, Закључци и Литература. Написана је на 156 страна и има 36 слика, 15 табела и 4 схеме. Поглавље Литература

садржи 393 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих стручних публикација.

У уводном делу кандидаткиња је на свеобухватан, јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложила актуелна сазнања о изазовима данашњице везаним за микробну резистенцију и антимикуробну активност различитих једињења са акцентом на различита једињења комплекса метала. Описани су механизми деловања антимикуробних једињења и механизми резистенције микроорганизама. Дат је комплексан преглед литературе која обрађује развој нових антимикуробних једињења на бази једињења комплекса метала. Објашњен је појам биофилма као један од облика резистенције микроорганизама. Такође је дат и преглед литературе који проучава једињења комплекса метала и њихову антиоксидативну активност, интеракцију са молекулом ДНК, као и генотоксичну и антитуморску активност.

Циљеви истраживања су јасно изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Кандидаткиња је у свом раду синтетисала комплексе паладијума(II) са различитим азот и селен донорским лигандима и испитивала њихову антимикуробну, антибиофилм, антиоксидативну активност, интеракцију са молекулом ДНК, генотоксичну и антитуморску активност.

Материјал и методологија рада су детаљно и прецизно формулисани и подударују се са одобреним приликом пријаве тезе. Приказана је синтеза и карактеризација 7 комплекса Pd(II) са различитим азот и селен донорским лигандима, стандардним аналитичким методама. Антимикуробна активност је испитивана микродилуционом методом са ресазурином, а антибиофилм активност на формираном биофилму, методом са кристал виолетом. За испитивање антиоксидативне активности коришћен је тест капацитета неутралисања DPPH радикала. Интеракције наглађених комплекса са СТ-ДНК праћене су апсорбционом и флуоресцентном методом као и мерењем вискозности раствора, док су интеракције са BSA испитиване флуоресцентном методом. Извршена је симулација молекула докинг методом. Генотоксична активност комплекса Pd(II) у култивисаним хуманим лимфоцитима испитивана је коришћењем Комет теста. Цитотоксична активност новосинтетисаних једињења је испитивана помоћу МТТ колориметријске технике.

У поглављу Резултати и дискусија приказани резултати су систематично и добро документовани табелама (укупно 15), сликама (укупно 36) и схемама (укупно 4).

Сви резултати су детаљно продискутовани са доступним литературним изворима у сваком сегменту истраживања. Приказ резултата докторске дисертације је прегледан и разумљив. Резултати показују да тестирани азот-донорски лиганди и одговарајући комплекси Pd(II) имају селективну и ограничену антимикуробну активност. Комплекси Pd(II) са селен доносним лигандима, C5 и C7 показују активности боље од позитивних контрола према бактерији *Pseudomonas aeruginosa*. Активности боље или у рангу позитивних контрола показује комплекс C5, на филаментозним гљивама *Trichoderma viridae* ATCC 13233 и врстама рода *Aspergillus*, као и комплекс C7 на биофилму *P. aeruginosa*. Значајну антиоксидативну активност Pd(II) комплекса са азот-донорским лигандима показује C4, док се од комплекса Pd(II) са селен доносним лигандима истиче C6 комплекс. Испитивани комплекси Pd(II) умерено интерагују са молекулом СТ-ДНК и BSA, нешто већи афинитет показују према молекулу BSA. Селен доносни комплекси Pd(II) су показали већи степен интеракције. Подједнако су заступљени „minor groove“ и интеркалација као начини везивања са молекулом СТ-ДНК. Највећи генотоксични ефекат показује комплекс C7, а најмањи C5. Комплекс C6 показује најзначајнију антитуморску активност.

Дискусија даје детаљну анализу и објашњење резултата у поређењу са доступним литературним подацима из исте области. Резултати су дискутовани у контексту сличних, али и различитих података из доступне литературе. Добијени резултати су дискутовани прегледно и разумљиво.

Закључено је да Pd(II) комплекси са селен доносним лигандима показују значајно већи потенцијал у свим сегментима истраживања ове докторске дисертације што се нарочито истиче у антимикуробним и антитуморским активностима. Издвајају се комплекси C5 и C6 као једињења са потенцијалом, чија су истраживања оправдана и треба их наставити у правцу примене.

Литература је адекватна по обиму, садржају и релевантности. Цитирано је 393 библиографских јединица из домаћих и страних научних публикација.

На основу предходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидаткиње др Иване Раковић под називом „Испитивање антимикуробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса“ по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајни резултати ове докторске дисертације показали су да је састав наглађених комплекса Pd(II) са азот и селен донорским лигандима успешно потврђен на основу резултата елементалне микроанализе при чему је утврђено да су експериментално нађене вредности процентуалне заступљености за угљеник, азот и водоник у сагласности са израчунатим вредностима. Структура синтетисаних комплекса је утврђена на основу нуклеарно-магнетно-резонанције (^1H и ^{13}C NMR), IR спектроскопије, и масене спектрометрије.

Тестирани азот-донорски лиганди и одговарајући комплекси Pd(II) показали су селективну и ограничену антимикуробну активност. Изузетак је комплекс C1 са одговарајућим лигандом L1. Интензитет антимикуробне активности за Pd(II) комплексе са селен донорским лигандима варира, при чему комплекси C5 и C7 показују вишу антимикуробну активност у односу на полазне лиганде. Не постоји разлика у антимикуробној активности тестираних једињења између Грам-позитивних и Грам-негативних бактерија. Комплекси C5 и C7 су показали активности боље од позитивне контроле према *P. aeruginosa*. Комплекс C7 показује значајну активност и према *S. aureus* (стандарду и изолату). Комплекс C5 делује боље или у рангу позитивне контроле и на филаментозним гљивама. Комплекс C1 је показао вишу антибиофилм активност према *S. aureus* ATCC 25923 и *P. mirabilis* ATCC 12453 у поређењу са неким позитивним контролама. Комплекс C7 је показао најбољи ефекат на испитивани биофилм *P. aeruginosa* и тај ефекат је бољи од контроле тетрациклина.

Од тестираних азот-донорских лиганата и њихових комплекса Pd(II) само L4 и C4 показују антиоксидативну активност при чему комплекс C4 има неупоредиво већу активност од лиганата L4. Антиоксидативна активност свих Pd(II) комплекса са селен донорским лигандима (C5, C6 и C7) је значајна при чему се истиче C6 комплекс.

Испитивања интеракције комплекса Pd(II) са молекулом ДНК показују да комплекси поседују добру способност за интеракцију са молекулом СТ-ДНК као и са молекулом BSA. Комплекси са селен донорским лигандима показују већи афинитет за интеракцију са молекулом СТ-ДНК. Докинг студија је показала да је заступљен и minor groove и интеркалација као начин везивања.

Највећи генотоксични ефекат показује комплекс C7, а најмањи C5. Дозно зависни генотоксични ефекти уочавају се код C5 и L5, док се не уочавају код комплекса C6, C7, и лиганда L6, L7 при концентрацијама већим од 1 $\mu\text{g/ml}$.

Комплекси Pd(II) са селен донорским лигандима показују бољу антитуморску активност у поређењу са одговарајућим лигандима. Комплекс C6 је показао најзначајнију антитуморску активност.

2.6. Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан и битан допринос у познавању антимикробне, антибиофилм, антиоксидативне активности, интеракције са молекулом ДНК, генотоксичне и антитуморске активности седам Pd(II) комплекса са различитим азот и селен донорским лигандима.

Показано је да комплекси Pd(II) са селен донорским лигандима имају значајно већи потенцијал у свим сегментима истраживања од Pd(II) комплекса са азот донорским лигандима, што је нарочито изражено за антимикробну и антитуморску активност. Дисертација је обухватила различите аспекте истраживања истих комплекса и ово *in vitro* истраживање издваја комплекс C5 са изразитом антимикробном активношћу према одређеним микроорганизмима а најмањом генотоксичношћу, као и комплекс C6 са изразитом антиоксидативном и цитотоксичном активношћу. Сходно томе, истраживања за ове комплекса су оправдана и подстичу наставак истраживања у области примене комплекса метала као лекова.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часописима индексираним на SCI листи.

1. **Rakovic I**, Bogojeski J, Mladenovic K, Petrovic A, Divac V, Mihailovic K, Popovska-Jovicic B, Kostic M, Canovic P, Milivojevic N, Zivanovic M, Radojevic I. Synthesis,

Characterization and Biological Studies of Organoselenium trans-Palladium(II) Complexes. Medicinal Chemistry 2021; 17 (9):1007-1022.

2. **Raković RI**, Radojević DI, Mladenović GK, Popovska Jovičić DB, Petrović S, Čanović PP, Čomić RLj, Čanović SP, Bogojeski VJ. Antimicrobial, antioxidant and DNA-binding studies of palladium(II) complexes with different chelate ligands containing nitrogen donor atoms. Journal of the Serbian Chemical Society. 2018; 83 (11): 1229-42.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидаткиње др Ивана Раковић под називом „Испитивање антимикуробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса“ сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидаткиње др Иване Раковић, урађена под менторством проф. др Предрага Чановића, редовног професора, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне

болести, представља оригинални научни допринос у испитивању антимикуробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Испитивање антимикуробне и антиоксидативне активности паладијум(II) комплекса“ кандидаткиње др Иване Раковић буде позитивно оцењена и одобрена за јавни одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Др Ивана Радојевић, доцент, Универзитет у Крагујевцу - Природно-математички факултет, за ужу научну област *Микробиологија*, председник



Др Јована Богојески, доцент, Универзитет у Крагујевцу - Природно-математички факултет, за ужу научну област *Неорганска хемија*, члан



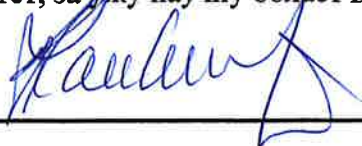
Проф. др Оливера Милошевић-Ђорђевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Генетика*, члан



Др Биљана Поповска-Јовичић, доцент, Универзитет у Крагујевцу - Факултет медицинских наука, за ужу научну област *Инфективне болести*, члан



Проф. др Славиша Станковић, редовни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет, за ужу научну област *Биологија микроорганизама*, члан



У Крагујевцу, 2022. године