

ПРИМЉЕНО: 12.01.2015			
Ор. ред.	Број	ОТВРЕДНОС	
03	50/6	-	-

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

Предмет: Извештај комисије за оцену и одбрану докторске дисертације **Ане Рилак Симовић**

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу, одржаној 24. 12. 2014. године одређени смо у комисију за подношење извештаја о урађеној докторској дисертацији под насловом:

**„ СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И ИСПИТИВАЊЕ МЕХАНИЗМА
СУПСТИТУЦИОНИХ РЕАКЦИЈА РУТЕНИЈУМ(II) КОМПЛЕКСА“**

кандидата **Ане Рилак Симовић**.

Ана Рилак Симовић је поднела рукопис своје докторске дисертације Наставно-научном већу Природно-математичког факултета на оцену. Ми смо прегледали рукопис, дали своје сугестије након чега је **Ана Рилак Симовић** 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

Неорганска једињења имају важну улогу у биолошким и биомедицинским процесима. Познато је да многа једињења која се користе у медицини немају само

органички начин деловања. Неки су активирани или биотрансформисани помоћу јона метала, укључујући металоензиме. Други имају директан или индиректан утицај на метаболизам јона метала. Јони метала су такође веома важни за структуру и функцију нуклеинских киселина. Поред тога, неесенцијални јони метала веома често се користе у биолошким системима у терапеутске и дијагностичке сврхе.

Након великог успеха цисплатине у лечењу канцера, посебна пажња је посвећена развоју рутенијум(II/III) комплекса као потенцијалних антитуморских агенаса. Главне разлике између рутенијума и платине су: опсег доступних оксидационих стања, координациони број и геометрија. Везивање рутенијума за биомолекуле може бити реверзибилно, што може редуковати токсичност метала, за разлику од платине. Рутенијум спада у VIII групу прелазних метала као и гвожђе. Рутенијум може да замени гвожђе при координовању за биомолекуле, а како ћелије тумора имају повећану потребу за гвожђем, то ће омогућити ефикаснију доставу комплекса рутенијума до жељене мете.

Примарни циљ развоја рутенијум антитуморских комплекса је наћи такво једињење које ће имати активност према туморима који су резистентни на лекове платине. Секундарни циљ је да активност не би требало да буде праћена великом токсичношћу, односно да једињења имају добру подношљивост и широк терапеутски опсег (тј. велики опсег ефективне дозе пре појаве штетних ефеката).

Утврђено је да неколико једињења показује активност веома сличну цисплатини, а у неким случајевима чак и бољу. На пример, изоелектронски рутенијум(III) комплекси $[\text{Him}]_{\text{trans}}\text{-}[\text{RuCl}_4(\text{im})_2]$ и $[\text{Hind}]_{\text{trans}}\text{-}[\text{RuCl}_4(\text{ind})_2]$ (im = имидазол, ind = индазол) су показали активност према неколико различитих тумора, нарочито према платина резистентним колоректалним туморима. Такође, рутенијум(III) комплекс, $[\text{Him}]_{\text{trans}}\text{-}[\text{RuCl}_4(\text{im})(\text{dmsO-S})]$ је посебно активан према чврстим метастазирајућим туморима миша. $[\text{Him}]_{\text{trans}}\text{-}[\text{RuCl}_4(\text{im})(\text{dmsO-S})]$ (NAMI-A) и $[\text{Hind}]_{\text{trans}}\text{-}[\text{RuCl}_4(\text{ind})_2]$ (KP1019) комплекси су успешно прошли I фазу испитивања. Постоји повећано интересовање у примени органометалних једињења, комплекса са барем једном метал-угљеник везом, у биологији и медицини. Арена рутенијум(II), органометални комплекси су привукли велику пажњу, с обзиром да је познато да арена лиганди стабилизују рутенијум у +2 оксидационом стању. Комплекси рутенијума(III) су инертнији у односу на одговарајуће комплексе рутенијума(II).² Утврђено је да "half-sandwich" арена рутенијум(II) комплекси, $[(\eta^6\text{-арена})\text{RuX}(\text{N-N})]$ (X је халоген и N-N је бидентатни лиганд) често поседују добру растворљивост у води (предност за клиничку

употребу), као и да су арена лиганди релативно инертни на измене у физиолошким условима. Утицај структурних варијација на антиканцерогену активност арена рутенијум комплекса је интензивно испитиван. Верује се да је главна мета арена рутенијум антиканцерогених комплекса ДНК или РНК, али такође, могу бити и серум протеини.

Последњих неколико деценија, многобројна истраживања су била усмерена на синтезу рутенијум(II) полипиридил комплекса. Проучавана је њихова способност координовања за ДНК, при чему је пронађено да се већина ових комплекса ковалентно везује за N7 атом гуанина, формирајући монофункционалне производе, а неки од њих стопају репликацију ДНК. Већина рутенијум(II) терпиридин комплекса, која има такође и *N-N* полипиридил лиганд (нпр. *bpy*), за последицу има веома ниску растворљивост у воденом раствору, ограничавајући биолошки релевантна истраживања.

Имајући то у виду, било је од значаја усмерити испитивања ка синтези и карактеризацији рутенијум(II) терпиридин комплекса меридијалне геометрије и њиховој интеракцији са ДНК нуклеобазама. У оквиру ове докторске дисертације испитивани су рутенијум(II) арена комплекси, *half-sandwich* Ru-[9]aneS3 комплекси и рутенијум(II) терпиридин комплекси у реакцијама са различитим биомолекулима.

2. Оцена оригиналности научног рада

Предмет ове докторске дисертације је синтеза и карактеризација рутенијум(II) полипиридил комплекса, као и испитивање интеракција новосинтетизованих рутенијум(II)-*trp* комплекса, рутенијум(II) *trita* и рутенијум(II) арена комплекса са дериватима гуанина, аминокиселинама и хетероцикличним једињењима.

На основу ових испитивања утврђено је:

1. У оквиру ове докторске дисертације синтетисано је 8 нових комплекса и одређена је њихова структура применом кристалографске методе. Резултати рендгенске структурне анализе су показали да новосинтетизовани рутенијум(II) терпиридин комплекси имају типичну издужену октаедарску структуру, који садрже тридентатни *Cl-trp* или *trp* лиганд у очекиваном меридијалном положају, *N-N* бидентатни хелатни лиганд и шесто место окупирано је јоном хлора или молекулом *dmsO-S* координованог преко сумпора. Сви новосинтетизовани

комплекси су добро растворни у води ($> 25 \text{ mg/mL}$), осим $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{bpy})(\text{dmsO-S})][\text{Y}]_2$ комплекса ($\text{Y} = \text{CF}_3\text{SO}_3$ или PF_6). Хлоридо деривати хидролизују релативно брзо, док су dmsO деривати инертни у воденом раствору. Ред реактивности испитиваних комплекса за реакцију хидролизе зависи од природе бидентатног хелатног лиганда: **2** (dach) $>$ **1** (en). За одговарајуће рутенијум(II)- tpy комплексе одређене су pK_a вредности: $10,50 \pm 0,03$ за **1aq**, $10,26 \pm 0,02$ за **2aq** и $9,56 \pm 0,01$ за **3aq**. Депротонација аква комплекса зависи од природе $N-N$ хелатног лиганда: присуство ароматичног bpy повећава киселост аква лиганда, док измена en са dach лигандом има веома мали утицај. Ред реактивности испитиваних комплекса за реакцију супституције са 9MeG и $5'\text{-GMP}$ зависи од природе хелатног лиганда **2** (dach) $>$ **1** (en), као и од наелектрисања улазног лиганда ($5'\text{-GMP} > 9\text{-MeG}$). Интеракцијом испитиваних рутенијум- tpy комплекса са дериватима гуанина настаје само један монофункционални производ Ru-(N7)DNA .

2. Резултати испитивања супституционих реакција два рутенијум(II)- tpy комплекса, $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{en})\text{Cl}][\text{Cl}]$ (**1**) и $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{dach})\text{Cl}][\text{Cl}]$ (**2**), са Tu , L-Cys , L-Met , Pz , Tz и Pu јасно показују да брзина реакције зависи од природе хелатног лиганда: en комплекс **1** реагује 2 пута брже у односу на dach комплекс **2**. Реактивност изучаваних лиганда опада у следећем низу: $\text{Tu} > \text{L-Cys} > \text{Pz} > \text{Tz} > \text{Pu} > \text{L-Met}$. Негативне вредности за ΔS^\ddagger указују на асоцијативни механизам супституције. ДФТ израчунавања указују на јасну предност координације гуанина у односу на координацију тиоетра. У складу са NMR резултатима, реакције комплекса **1** и **2** воде ка формирању тиолато комплекса $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{en})(\text{SR})]^+$ (**4**) и $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{dach})(\text{SR})]^+$ (**11**), а затим до оксидације тиолног сумпора везаног за рутенијум(II), формирајући сулфенато комплексе $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{en})(\text{RSO})]^{2+}$ (**5**) и $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{dach})(\text{RSO})]^{2+}$ (**12**). Разлика у стабилности N2 и N4 производа је поред NMR спектроскопије додатно потврђена и помоћу ДФТ израчунавања.
3. Брзина реакције хидролизе $[\text{Ru}([\text{9}]\text{aneS3})(\text{en})\text{Cl}][\text{PF}_6]$ (**1**), $[\text{Ru}([\text{9}]\text{aneS3})(\text{bpy})\text{Cl}][\text{PF}_6]$ (**2**) и $[\text{Ru}([\text{9}]\text{aneS3})(\text{pic})\text{Cl}]$ (**3**) комплекса зависи од природе и наелектрисања бидентатног хелатног лиганда: **1** (en) $>$ **3** (pic) $>$ **2** (bpy). Ред реактивности испитиваних комплекса за интеракције са $5'\text{-GMP}$ зависи такође од природе хелатног лиганда: **3** (pic) $>$ **2** (bpy) $>$ **1** (en). Интеракцијом испитиваних рутенијум-трита комплекса са дериватима гуанина

настаје само један монофункционални производ Ru-(N7)DNA, директно или преко интермедијера. Рендгенска структурна анализа комплекса [Ru([9]aneS3)(en)(9MeG-N7)][PF₆]₂ (**4**) и [Ru([9]aneS3)(pic)(9MeG-N7)][PF₆] (**10**) показује да када хелатни лиганд поседује могућност формирања водоничне везе (chel = en), долази до додатне стабилизације стварањем интрамолекулске водоничне везе између C(6)=O гуанина и NH групе en. Негативне вредности за ΔS^\ddagger указују на асоцијативни механизам супституције.

4. Ред реактивности испитиваних лиганда у реакцији са рутенијум(II) арена комплексом, [Ru^{II}(η^6 -p-cym)(pydc)Cl], је исти на обе рН вредности: Guo > 5'-GMP > L-His. Испитиван рутенијум(II) арена комплекс је показао већу реактивност на рН = 7,2 у односу на реактивност на рН = 2,5. Негативне вредности за ΔS^\ddagger указују да се процес супституције испитиваног комплекса одвија по асоцијативном механизму. Хидролиза [Ru^{II}(η^6 -p-cym)(pydc)Cl] комплекса је веома брза и завршава се за време снимања првог спектра.
5. Цитотоксичност [Ru(Cl-tpy)(en)Cl]Cl комплекса према ћелијској линији тумора дебелог црева (CT26) је значајно већа у односу на [Ru(Cl-tpy)(dach)Cl]Cl и [Ru(Cl-tpy)(pic)Cl] комплексе. [Ru(Cl-tpy)(en)Cl]Cl комплекс је показао скоро идентичан ефекат на CT26 ћелији као и цисплатина.

Оригиналност и актуелност резултата из ове докторске дисертације потврђена је објављивањем четири научна рада у међународним часописима (два рада из категорије **M21** и два рада из категорије **M22**), као и већег броја саопштења на научним конференцијама.

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

Ана Рилак Симовић је до сада постигла значајне резултате у научно-истраживачком раду. Постигнути резултати су штампани у облику 4 рада у научним часописима, 2 саопштења на међународним и 3 саопштења на националним научним конференцијама. Такође, објавила је и један стручни рад.

3.1. Научни радови објављени у међународним научним часописима

3.1.1. **Ana Rilak**, Biljana Petrović, Sanja Grgurić-Šipka, Živoslav Lj. Tešić and Živadin D. Bugarčić,

Kinetics and mechanism of the reactions of Ru(II)-arene complex with some biologically relevant ligands,

Polyhedron, 2011, **30**, 2339-2344

M22

DOI: 10.1016/j.poly.2011.06.019

ISSN: 0277-5387

IF: 2.057

3.1.2 **Ana Rilak**, Ioannis Bratsos, Ennio Zangrando, Jakob Kljun, Iztok Turel, Živadin D. Bugarčić and Enzo Alessio,

Factors that influence the antiproliferative activity of half sandwich Ru^{II}-[9]aneS3 coordination compounds: activation kinetics and interaction with guanine derivatives,

Dalton Transactions, 2012, **41**, 11608-11618

M21

DOI: 10.1039/c2dt31225e

ISSN: 1477-9226

IF: 3.806

3.1.3. **Ana Rilak**, Ioannis Bratsos, Ennio Zangrando, Jakob Kljun, Iztok Turel, Živadin D. Bugarčić and Enzo Alessio,

New water-soluble ruthenium(II) terpyridine complexes for anticancer activity: synthesis, characterization, activation kinetics and interaction with guanine derivatives,

Inorganic Chemistry, 2014, **53**, 6113-6126

M21

DOI: 10.1021/ic5005215

ISSN: 0020-1669

IF: 4.794

3.1.4. **Ana Rilak**, Ralph Puchta and Živadin D. Bugarčić,

Mechanism of the reactions of ruthenium(II)polypyridyl complexes with thiourea, sulfur-containing amino acids and nitrogen-containing heterocycles,

Polyhedron, under review.

M22

3.2. Саопштења на националним научним конференцијама

- 3.2.1. **Ana Rilak**, Biljana Petrović, Sanja Grgurić-Šipka and Ivanka Ivanovic,
Kinetics of the substitution reactions of some Ru(II/III) complexes with N-donor biologically relevant nucleophiles,
48th Meeting of the Serbian Chemical Society,
Novi Sad, Serbia, April 17-18, 2010, NH04.

M64

- 3.2.2. **Ana Rilak**, Živadin D. Bugarčić, Ioannis Bratsos, Enzo Alessio and Ennio Zangrando,
Interaction of half sandwich Ru(II) coordination compounds with guanine derivatives,
Golden Jubilee Meeting of the Serbian Chemical Society,
Belgrade, Serbia, June 14-15, 2012, NH01.

M64

- 3.2.3. **Ana Rilak**, Živadin D. Bugarčić, Ioannis Bratsos, Enzo Alessio and Ennio Zangrando,
New meridional Ru(II) terpyridine complexes: synthesis, characterization, activation kinetics and interaction with guanine derivatives,
First international conference of young chemists of Serbia,
Belgrade, Serbia, October 19-20, 2012, HS PP3.

M62

3.3. Саопштења на међународним научним конференцијама

- 3.3.1. **Ana Rilak** and Živadin D. Bugarčić,
Interaction of Ru(II)-terpyridine complexes with some nitrogen- and sulfur-donor ligands,
8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries,
Belgrade, Serbia, June 27-29, 2013, BS-Sy P08.

M34

- 3.3.2. **Ana Rilak**, Ralph Puchta and Živadin D. Bugarčić,
Interaction of Ru(II)-terpyridine complexes with some sulfur- and nitrogen-containing ligands,
12th European Biological Inorganic Chemistry Conference,
Zurich, Switzerland, August 24-28, 2014, PO49.

M34

3.4. Стручни рад

3.4.1. Ана Рилак и Живадин Д. Бугарчић,

Интеракције комплекса метала платинске групе са биомолекулима. Примена и значај у медицини.

Хемијски преглед, Српско хемијско друштво, 2014, 55, 30-37.

ISSN: 04406826.

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, карактеризација и испитивање механизма супституционих реакција рутенијум(II) комплекса” по обиму и квалитету добијених научних резултата у потпуности остварени, као и да резултати приказани у овој дисертацији представљају оригинални научни допринос.

5. Примењивост 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, и представља допринос дизајнирању нових рутенијум(II) комплекса као потенцијалних антитуморских агенаса. Такође, резултати ове докторске дисертације дају допринос бољем познавању механизма интеракција испитиваних комплекса рутенијума са различитим биомолекулима.

6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Постигнути резултати ове докторске дисертације представљају, пре свега велики научни допринос познавању интеракција новосинтетизованих рутенијум(II) комплекса са различитим биомолекулима. Детаљно разумевање механизма понашања комплекса рутенијума у биолошким условима је основа будућих испитивања и развоја нових антитуморских агенаса, као и проналаска алтернативних третмана у терпији канцера. Ови резултати ће бити веома корисни за истраживаче који се баве бинеорганском или медицинском хемијом.

7. Начин презентирања резултата научној јавности

Научни доприноси ове докторске дисертације су потврђени публикавањем научних резултата у облику **четри научна рада** у познатим међународним часописима (два рада из категорије **M21** и два рада из категорије **M22**), као и већег броја саопштења на научним конференцијама.

Докторска дисертација је написана на 183 стране и садржи 99 слика, 15 табела и 160 литературних података. Дисертација је подељена на **Увод** (1-3), **Општи део** (4-40), **Задатак рада** (41), **Експериментални део** (42-63), **Резултате и дискусију** (64-168), **Закључак** (169-171) и **Литературу** (172-182). Поред тога, дисертација садржи извод на српском и енглеском језику, списак радова и саопштења, скраћенице и ознаке, биографију кандидаткиње и прилог, тј. сепарате 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 Стручног већа за Природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу.

З А К Љ У Ч А К

Поднети рукопис докторске дисертације **Ане Рилак Симовић** под насловом:

„ СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И ИСПИТИВАЊЕ МЕХАНИЗМА СУПСТИТУЦИОНИХ РЕАКЦИЈА РУТЕНИЈУМ(II) КОМПЛЕКСА“

представља оригинални научни допринос изучавању у области неорганске хемије. Резултати из ове докторске дисертације су допринели новим сазнањима о синтези и карактеризацији рутенијум(II) полипиридил комплекса, њиховим кристалним структурама, као и о интеракцијама са дериватима гуанина, сумпор- и азот-донорским биомолекулима. Такође, добијени резултати су допринели познавању механизма супституционих реакција рутенијум-третиа и рутенијум-арена комплекса са различитим биомолекулима. Сматрамо да резултати добијени у оквиру ове тезе могу значајно допринети бољем разумевању карактеристика комплекса рутенијума(II), као и механизма њихових интеракција са биомолекулима који садрже атоме азота и сумпора.

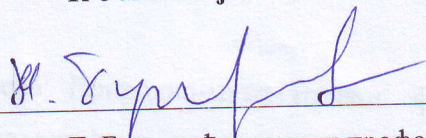
Добијени резултати су објављени у оквиру **четри научна рада** у водећим међународним часописима (два рада из категорије **M21** и два рада из категорије **M22**), као и 5 саопштења на научним конференцијама.

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

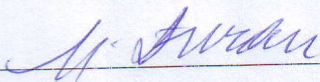
У Крагујевцу,

26. 12. 2014. год.

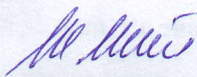
Комисија



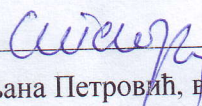
Др Живадин Д. Бугарчић, редовни професор
Природно-математички факултет, Крагујевац,
Ужа научна област: Неорганска хемија,
ментор рада



Др Милош И. Ђуран, редовни професор
Природно-математички факултет, Крагујевац,
Ужа научна област: Неорганска хемија



Др Живослав Љ. Тешић, редовни професор
Хемијски факултет, Београд
Ужа научна област: Аналитичка хемија



Др Биљана Петровић, ванредни професор
Природно-математички факултет, Крагујевац,
Ужа научна област: Неорганска хемија