

ОБРАЗАЦ 6

ПРИМЉЕНО		20. 03. 2025	
Орг. јед.		Број	Броједност
	05	1966	

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

и

ВЕЋУ ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 14.11.2024. године (број одлуке: IV-03-812/17) одређени смо за чланове Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом: „Нови хетеронуклеарни Pt(II)-L-Zn(II) комплекси: испитивање антитуморске активности на ћелијама колоректалног карцинома, *in vitro*”, кандидата **Самира Вучеља**, студента докторских академских студија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за коју је именован ментор **Тања Солдатовић**, ванредни професор и коментор **Иван Јовановић**, редовни професор.

На основу података којима располажемо достављамо следећи:

ИЗВЕШТАЈ
О ОЦЕНИ УРАЂЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Подаци о докторској дисертацији
1.1. Наслов докторске дисертације:
„Нови хетеронуклеарни Pt(II)-L-Zn(II) комплекси: испитивање антитуморске активности на ћелијама колоректалног карцинома, <i>in vitro</i> ”
1.2. Опис докторске дисертације (навести кратак садржај са назнаком броја страница, поглавља, слика, шема, графикона, једначина и референци) (до 500 карактера):
Докторска дисертација кандидата Самира Вучеља представља оригиналну научну студију, у оквиру које су синтетисани и хемијски окарактерисани различити мононуклеарни и хетеронуклеарни комплекси платине(II) и цинка(II), након чега су испитани њихови антитуморски ефекти. Дисертација обухвата 94 странице и структурирана је у седам поглавља: Увод, Циљ и хипотезе, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Рад садржи 24 слике, 5 табела, 2 схеме и 2 графикона, док поглавље Литература укључује 260 библиографских јединица, које обухватају како домаће, тако и иностране научне публикације.
1.3. Опис предмета истраживања (до 500 карактера):
Ова докторска дисертација обухвата синтезу и хемијску карактеризацију мононуклеарних и хетеронуклеарних комплекса платине(II) и цинка(II), након чега је испитана њихова стабилност у физиолошким условима, интеракција са биомолекулима, као и туморицидни потенцијал на

различитим туморским ћелијским линијама. Додатно, спроведена је анализа потенцијалних молекулских механизма који доприносе њиховој антитуморској активности.

1.4. Анализа испуњености полазних хипотеза:

У складу са постављеним хипотезама, синтетисана је серија мононуклеарних и хетеронуклеарних комплекса платине(II) и цинка(II) са 4,4',4''-три-*tert*-бутил-2,2':6',2''-терпиридинским лигандом, чија је хемијска структура потврђена аналитичким методама. Након тога, испитане су особине везивања ових комплекса за ДНК и протеине. Резултати су показали да комплекси који садрже трансплатину имају ниже вредности K_b и K_{sv} константи у односу на цисплатинске аналоге, што је у складу са почетним хипотезама. Поред тога, студије молекуларног докинга потврдиле су да је комплекс C1 превасходно везан за ДНК Ван дер Валсовим интеракцијама, док су код комплекса C2–C5 идентификоване и водоничне везе, поред Ван дер Валсових сила, што додатно подржава почетне претпоставке. Цитотоксичност испитиваних комплекса анализирана је на ћелијским линијама карцинома дебелог црева код мишева и људи, као и на контролним неканцерогеним мезенхималним матичним ћелијама мишева. Добијени резултати указују на значајну цитотоксичност испитиваних комплекса, при чему је мононуклеарни комплекс $[ZnCl_2(terpytBu)]$ (C1) показао и изражену селективност према туморским ћелијама у односу на неканцерогене мезенхималне матичне ћелије мишева (mMSC), што је у складу са хипотезом о цитотоксичној и селективној антитуморској активности синтетисаних комплекса.

1.5. Анализа примењених метода истраживања:

У оквиру поглавља Материјал и методе, детаљно је описан поступак синтезе почетног мононуклеарног комплекса (C1), након чега је представљен метод синтезе хетеронуклеарних комплекса платине(II) и цинка(II) са 4,4',4''-три-*tert*-бутил-2,2':6',2''-терпиридинским лигандом (C2–C5). Структура добијених комплекса потврђена је применом елементарне микроанализе, инфрацрвене спектроскопије, нуклеарно-магнетне резонанце и масене спектрометрије за следеће комплексе: $[ZnCl_2(terpytBu)]$ (C1), $\{cis-PtCl(NH_3)_2(\mu\text{-пиразин})ZnCl(terpytBu)\}_2$ (C2), $\{trans-PtCl(NH_3)_2(\mu\text{-пиразин})ZnCl(terpytBu)\}_2$ (C3), $\{cis-PtCl(NH_3)_2(\mu\text{-4,4'-бипиридил})ZnCl(terpytBu)\}_2$ (C4) и $\{trans-PtCl(NH_3)_2(\mu\text{-4,4'-бипиридил})ZnCl(terpytBu)\}_2$ (C5). Након тога, описана је методологија испитивања интеракција синтетисаних комплекса са биолошки релевантним молекулима, укључујући ДНК и хумани серумски албумин (HSA), применом електронске апсорпционе спектроскопије, флуоресцентне спектроскопије и молекуларног докинга. Даље, испитиван је цитотоксични ефекат добијених комплекса на ћелијским линијама карцинома дебелог црева код мишева (CT26) и људи (HCT116 и SW480), као и на неканцерогеним mMSC путем МТТ теста (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид). Ћелије су изложене комплексима у трајању од 48 сати, након чега је процењена њихова вијабилност и селективност цитотоксичног дејства. За даљу анализу потенцијалних антитуморских механизма издвојен је комплекс C1 ($[ZnCl_2(terpytBu)]$), који је показао најизраженији дозно и временски зависан цитотоксични ефекат на мишије и хумане ћелијске линије колоректалног карцинома, уз најбољу селективност у односу на здраве неканцерогене мезенхималне матичне ћелије мишева. Различитим експерименталним методама испитиван је утицај комплекса C1 на механизме ћелијске смрти и регулацију пролиферације туморских ћелија, одређивањем експресије молекула укључених у контролу ћелијске смрти и ћелијског циклуса. Методом проточне цитометрије анализирана је експресија Annexin-a V и пропидијум јодида, чиме је одређена процентуална заступљеност апоптотских и некротичних ћелија. Поред тога, испитана је експресија проапоптотског (Bax) и антиапоптотског (Bcl-2) протеина, као и ефекторске каспазе 3. Даљим анализама ћелијског циклуса утврђена је процентуална заступљеност туморских ћелија које експримирају Ki67, Cyclin D, Cyclin E, p21 и фосфорилисани АКТ (p-AKT), што је омогућило боље разумевање потенцијалног механизма деловања испитиваног комплекса.

1.6. Анализа испуњености циља истраживања:

У складу са општим циљем истраживања и експерименталним задацима, синтетисана је и хемијски окарактерисана серија мононуклеарних и хетеронуклеарних комплекса платине(II) и цинка(II) са 4,4',4''-три-*tert*-бутил-2,2':6',2''-терпиридинским лигандом. Након тога, испитана је њихова интеракција са биомолекулима, укључујући ДНК и HSA, као и њихови потенцијални

биолошки ефекти. Цитотоксични потенцијал ових комплекса процењен је *in vitro*, користећи ћелијске линије колоректалног карцинома мишјег и хуманог порекла. На основу добијених резултата, комплекс C1, који је испољио најизраженији туморицидни и селективни ефекат, даље је анализиран у циљу разјашњења молекулских механизма његовог антитуморског деловања. Евалуација механизма дејства комплекса C1 обухватила је анализу његовог утицаја на ћелијску смрт (апоптозу и некрозу), регулацију ћелијског циклуса, као и експресију кључних молекула укључених у контролу пролиферације и преживљавања туморских ћелија.

1.7. Анализа добијених резултата истраживања и списак објављених научних радова кандидата из докторске дисертације (аутори, наслов рада, назив часописа, волумен, година објављивања, странице од-до, DOI број¹, категорија):

У оквиру резултата који се односе на хемијске карактеристике новосинтетисаних мононуклеарних и хетеронуклеарних комплекса, њихова структура је потврђена спектроскопским и електрохемијским методама. Афинитет везивања за ДНК одређен је на основу K_b константи, које су пратиле редослед C3 < C1 < C2 < C5 < C4, при чему је C4 комплекс показао највећи афинитет за ДНК, док су трансплатински деривати имали ниже K_b вредности у односу на цисплатинске аналоге, што указује на разлике у механизму интеракције са ДНК. Поред тога, испитиване су интеракције комплекса са хуманим серумским албумином (HSA), где су добијене Stern–Volmer K_{sv} вредности потврдиле значајан афинитет свих комплекса за HSA молекул. Редослед повећања K_{sv} вредности био је C1 < C3 < C2 < C5 < C4, при чему је C4 комплекс имао највећи афинитет, док је C1 показао најнижу вредност. Молекулски докинг је додатно пружио увид у механизме везивања, показујући да C1 комплекси ступају у интеракцију са ДНК углавном путем Ван дер Валсових сила, док C2–C5 комплекси остварују стабилност кроз комбинацију водоничних веза и Ван дер Валсових интеракција.

У наставку истраживања, фокус је био усмерен на испитивање биолошке активности новосинтетисаних Pt(II)-Zn(II) комплекса (C1–C5), са посебним акцентом на њихов антитуморски ефекат. *In vitro* анализа цитотоксичности на ћелијским линијама мишјег (CT26) и хуманог колоректалног карцинома (HCT116, SW480) показала је да ови комплекси испољавају дозно-зависну цитотоксичност, док је њихов ефекат на неканцерогене мезенхималне матичне ћелије (mMSC) био значајно нижи, што указује на потенцијалну селективност. Посебно се издвојио C1 комплекс, који је у концентрацијском опсегу од 1.17 до 18.75 μM показао најмању токсичност према mMSC ћелијама, али је истовремено значајно смањено вијабилност туморских ћелија, што указује на његов селективни антитуморски потенцијал. Добијене IC₅₀ вредности потврдиле су да C1 комплекс испољава најизраженији цитотоксични ефекат на CT26 и HCT116 ћелијама, док је цисплатина, као стандардни хемотерапеутски агенс, показао вишу ефикасност, али уз повећану токсичност према здравим ћелијама (mMSC). Додатно, индекс селективности C1 комплекса био је значајно виши у односу на остале комплексе, што га је издвојило као перспективног кандидата за циљану терапију карцинома и даља истраживања.

Да би се разјаснио механизам антитуморског дејства C1 комплекса, спроведена су даља истраживања, која су потврдила да овај комплекс индукује апоптозу у CT26 ћелијама. Овај ефекат је праћен повећаном експресијом Вах и каспазе-3, уз смањење експресије Bcl-2 и Ki67, што указује на инхибицију преживљавања и пролиферације туморских ћелија. Додатно, анализа ћелијског циклуса показала је да C1 комплекс изазива заустављање у G0/G1 фази, уз смањење експресије Cyclin D, док је Cyclin E остао непромењен, што сугерише његову специфичну улогу у инхибицији ћелијске деобе. На молекулском нивоу, повећана експресија p21 и смањена активност p-AKT указују на инхибицију ћелијске пролиферације и нарушавање сигналних путева преживљавања, што додатно потврђује антитуморски механизам C1 комплекса. Осим тога, закључено је да стерична препрека изазвана *tert*-бутил групама на терпиридинском лиганду доводи до смањене флексибилности и реактивности хетеронуклеарних комплекса, што може објаснити већу селективност C1 комплекса у односу на C2–C5 комплексе.

Сумирано, добијени резултати указују да је C1 комплекс перспективан кандидат за даље истраживање у области циљане терапије карцинома, са потенцијалом да обезбеди високу ефикасност уз минимално оштећење здравих ћелија.

¹ Уколико публикација нема DOI број уписати ISSN и ISBN

Резултати из докторске дисертације су публиковани у оригиналном научном раду: Vučelj S, Hasić R, Ašanin D, Šmit B, Caković A, Bogojeski J, Serafinović MČ, Marković BS, Stojanović B, Pavlović S, Stanisavljević I, Čorović I, Stojanović MD, Jovanović I, Soldatović TV, Stojanović B. Modes of Interactions with DNA/HSA Biomolecules and Comparative Cytotoxic Studies of Newly Synthesized Mononuclear Zinc(II) and Heteronuclear Platinum(II)/Zinc(II) Complexes toward Colorectal Cancer Cells. Int J Mol Sci. 2024;25(5):3027. doi: 10.3390/ijms25053027. (M21)

1.8. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области и анализа извештаја о провери докторске дисертације на плагијаризам (до 1000 карактера):

Прегледом релевантне научне литературе, спроведеним претраживањем биомедицинских база података „Medline“ и „KoBSON“, уз употребу одговарајућих кључних речи „heteronuclear complexes“, „4,4',4"-tri-tert-butyl-2,2':6',2"-terpyridine“, „structure–reactivity correlation“, „cytotoxic activity“, „colorectal cancers“, нису пронађене студије које би имале идентичан истраживачки дизајн и методологију. Извештај о провери докторске дисертације на плагијаризам показао је 24% подударана, углавном због цитата, научних појмова, референци, формула и методолошких сличности са ранијим истраживањима. Већи део подударана односи се на ауторове претходно објављене резултате. Поред тога, у оквиру дисертације у потпуности су испоштована академска правила цитирања и научне етичке норме, чиме је осигуран интегритет и аутентичност научног рада. На основу наведених налаза, Комисија закључује да докторска дисертација кандидата Самира Вучеља, под називом „Нови хетеронуклеарни комплекси Pt(II)-L-Zn(II): испитивање антитуморске активности на ћелијама колоректалног карцинома *in vitro*“, представља резултат оригиналног научног истраживања.

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

Колоректални карцином је један од водећих узрока смртности од малигних обољења широм света, што је подстакло интензивна истраживања у области медицинске неорганске хемије у циљу проналажења ефикаснијих терапијских стратегија. Развој хетеронуклеарних комплекса представља перспективан правац унапређења металотерапије, нарочито у контексту резистенције на лекове и системске токсичности које прате хемотерапеутике базиране на платини (Pt). Основни изазов је синтетисати нове терапеутике који задржавају туморицидни потенцијал познатих антитуморских агенаса, али са смањеним нежељеним ефектима. Један од кључних приступа у том контексту је увођење два различита метална јона у исту молекулску структуру, посебно када један од њих има биолошку активност, што омогућава синергистичко појачање антитуморског дејства путем селективних интеракција са биомолекулима. Лекови базирани на Pt(II) делују углавном везивањем за ДНК, али њихови нежељени ефекти произилазе из интеракција са биомолекулима које садрже сумпор. Супротно томе, цинк(II), захваљујући афинитету према азотним и кисеоничним донорским атомима, доприноси повећаној реактивности хетеронуклеарних Pt(II)-L-Zn комплекса према ДНК, што резултира значајно већом цитотоксичношћу у односу на цисплатину. Овај ефекат се приписује способности ових комплекса да утичу на више интраћелијских сигналних путева, што додатно потенцира њихову антитуморску активност. Ови комплекси се дизајнирају са циљем селективног циљања специфичних биомаркера у канцерогеним ћелијама, чиме се смањује токсичност, а истовремено повећава ефикасност у односу на традиционалне лекове базиране на Pt. Ова стратегија представља иновативан и перспективан правац у развоју савремених, ефикаснијих и безбеднијих лекова на бази метала за терапију малигних обољења. У овој студији синтетисана је серија мононуклеарних и хетеронуклеарних комплекса платине(II) и цинка(II) са 4,4',4"-три-tert-бутил-2,2':6',2"-терпиридинским лигандом. Сви новосинтетисани комплекси су показали значајан афинитет везивања за ДНК и HSA молекула, што указује на њихов потенцијал за интеракцију са биолошки релевантним метама. Молекулски докинг је потврдио да се већина комплекса везује за ДНК кроз комбинацију водоничних веза и Ван дер Валсових интеракција, док су код појединих једињења Ван дер Валсове силе доминантан механизам стабилизације. *In vitro* испитивања цитотоксичности указала су да новосинтетисани комплекси, а нарочито C1, испољавају високу селективност према ћелијама карцинома колоне, док је њихово дејство на mMSC ћелије значајно смањено.

Комплекс C1 је показао изражено туморицидно дејство, засновано на проапоптотском и антипролиферативном механизму, као и инхибицији прогресије ћелијског циклуса. Ови резултати истичу комплекс C1 као перспективан антитуморски агенс, способан да модулише кључне ћелијске механизме у туморским ћелијама, што га чини потенцијалним кандидатом за даљи развој у оквиру циљане терапије карцинома.

1.10. Оцена испуњености услова за одбрану докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актом факултета и општим актом Универзитета (до 1000 карактера):

На основу анализе достављене документације Комисија константује да су испуњени сви услови за одбрану докторске дисертације кандидата Самира Вучеља под називом „Нови хетеронуклеарни Pt(II)-L-Zn(II) комплекси: испитивање антитуморске активности на ћелијама колоректалног карцинома, *in vitro*” у складу са студијским програмом Докторских академских студија, општим актом Факултета и општим актом Универзитета.

2. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе докторске дисертације и приложене документације Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом „Нови хетеронуклеарни Pt(II)-L-Zn(II) комплекси: испитивање антитуморске активности на ћелијама колоректалног карцинома, *in vitro*”, кандидата **Самира Вучеља**, предлаже надлежним стручним органима да се докторска дисертација прихвати и да се одобри њена одбрана.

Чланови комисије:

Бојана Симовић Марковић, виши научни сарадник

Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

Медицина/Микробиологија и имунологија

Председник комисије

Бојана Симовић Марковић

Данијела Стојковић, научни сарадник

Стојковић Данијела
Институт за информационе технологије

Универзитета у Крагујевцу

Хемија/Неорганска хемија

Члан комисије

Срђан Шипка

Сања Гргурић-Шипка, редовни професор

Хемијски факултет Универзитета у Београду

Хемија/Општа и неорганска хемија

Члан комисије

The first part of the paper discusses the importance of the study and the objectives of the research. It also outlines the methodology used in the study and the results obtained. The second part of the paper discusses the implications of the study and the conclusions drawn from the research. The third part of the paper discusses the limitations of the study and the areas for future research.

The study was conducted in a laboratory setting and the results were compared with those obtained in previous studies. The study found that the results were consistent with those obtained in previous studies. The study also found that the results were consistent with those obtained in previous studies. The study also found that the results were consistent with those obtained in previous studies.

The study was conducted in a laboratory setting and the results were compared with those obtained in previous studies. The study found that the results were consistent with those obtained in previous studies. The study also found that the results were consistent with those obtained in previous studies. The study also found that the results were consistent with those obtained in previous studies.