

Универзитет СРПСКА
УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

ПРИМЉЕНО: 17.04.2012.

Орг. јед.	Број	ПРИЛОГ	ВРЕДНОСТ
03	320/2	-	-

**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 **мр Марије Д. Живковић**

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу, одржаној 07. 03. 2012. године (број 170/X-3), одређени смо у комисију за подношење извештаја о урађеној докторској дисертацији под насловом:

**„ХИДРОЛИЗА ПЕПТИДА КОЈИ САДРЖЕ L-МЕТИОНИН И
L-ХИСТИДИН ПОМОЋУ РАЗЛИЧИТИХ КОМПЛЕКСА
ПАЛАДИЈУМА(II) И ПЛАТИНЕ(II)“**

кандидата **мр Марије Д. Живковић**.

Мр Марија Д. Живковић је поднела рукопис своје докторске дисертације Наставно-научном већу Природно-математичког факултета на оцену. Ми смо прегледали рукопис, дали своје сугестије након чега је **мр Марија Д. Живковић** 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

Биомедицинска неорганска хемија је важна област бионеорганске хемије која има значајну примену у дизајнирању нових терапеутских и дијагностичких агенаса од значаја у фармацеутској и клиничкој пракси. Прогрес у изналажењу нових антитуморских агенаса је у директној вези са координационом хемијом јона метала. Боље познавање механизма интеракције комплекса јона метала са пептидима и другим биолошки значајним молекулима је од посебног значаја. Комплекси платине(II) и платине(IV) имају значајну примену у медицини, док се комплекси паладијума(II) већ дуже време користе у индустрији. Већина комплекса платине(II) и паладијума(II) су квадратно-планарни и дијамагнетични. Комплекси платине(II) су веома инертни и механизам супституционих реакција ових комплекса је детаљно испитиван. Насупрот овоме, комплекси паладијума(II) су значајно реактивнији од аналогних комплекса платине(II) у лиганд супституционим реакцијама. Брзина реакција у којима долази до супституције лиганда у комплексима паладијума(II) је око $10^3 - 10^5$ пута већа у односу на одговарајуће реакције код комплекса платине(II).

Изучавања реакција комплекса платине(II) и паладијума(II) су показала да ови комплекси интерреагују са пептидном везом у пептидима и протеинима, као и да граде стабилне комплексе координовањем за неку од аминокиселина (L-метионин, L-цистеин, L-хистидин) које се налазе у бочном низу ових биомолекула. Најновија истраживања у овој области су показала да координовање комплекса паладијума(II) и платине(II) за бочни низ наведених аминокиселина доводи до хидролизе пептидне везе која укључује карбоксилну групу координоване аминокиселине. Примена комплекса платине(II) и паладијума(II) у наведеним хидролитичким реакцијама представља веома успешну методу за селективну хидролизу пептидне везе у пептидима и протеинима. Селективно раскидање пептидне везе у пептидима и протеинима је од важности у биоаналитичкој и биохемијској пракси у процесу одређивања структуре ових веома сложених биолошки значајних молекула. Упркос чињеници да су реакције селективне хидролизе пептида у присуству комплекса паладијума(II) и платине(II) интензивно изучаване у току последње три деценије, механизам каталитичког деловања ових комплекса је још увек недовољно разјашњен и представља предмет најновијих испитивања у области бионеорганске хемије.

У оквиру ове теме испитивано је каталитичко деловање комплекса паладијума(II) и платине(II) на селективну хидролизу пептида који садрже аминокиселине L-метионин и L-хистидин. Нађено је да комплекси паладијума(II), који су монодентатно координовани за пептид преко атома сумпора из L-метионина, или преко имидазоловог N3 атома азота из аминокиселине L-хистидина, селективно раскидају пептидне везе које садрже карбоксилну групу поменутих аминокиселина.

Интеракције комплекса платине(II) и паладијума(II) са различитим сумпор и азот доносним лигандима су врло значајна са биолошке и медицинске тачке гледишта. Цисплатина, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] и карбоплатина, [Pt(NH₃)₂(CBDCA)] су комплеси који се већ дуже време користе у медицини као антитуморски агенси. За антитуморско дејство комплекса платине(II) су одговорне интеракције ових комплекса са атомима из ДНК молекула. Међутим, постоји и велики број других биомолекула који могу да реагују са поменутих комплексима платине(II) као што су: L-цистеин, L-метионин, S-метил-L-цистеин, пептиди и протеини.

Од великог значаја је изучавање механизма антитуморског и токсичног деловања различитих комплекса платине(II). Комплекси паладијума(II) служе као модел-молекули за испитивање супституционих реакција комплекса платине(II).

Постигнути резултати у оквиру предложене теме имаће значајан допринос код дефинисања механизма селективног раскидања пептидне везе у пептидима и протеинима, изучавању сложених биохемијских реакција које се одигравају под утицајем различитих металоензима, као и код изналажења нових комплекса метала који ће се користити као синтетички металоензими у реакцијама раскидања пептидне везе у пептидима и протеинима.

2. Оцена оригиналности научног рада

Предмет ове докторске дисертације био је испитивање реакција хидролизе пептида који садрже L-метионин и L-хистидин помоћу различитих комплекса паладијума(II) и платине(II).

На основу ових испитивања утврђено је:

1. У реакцији [Pd(dpa)Cl₂] и [Pd(dpa)(H₂O)₂]²⁺ комплекса са Met-Gly и His-Gly дипептидима, у рН области од 2,0 до 2,5 на собној температури, не долази до хидролизе пептидне везе. Крајњи производ ових реакција је [Pd(dpa)₂]²⁺ комплекс код кога су два дпа лиганда бидентатно координована за Pd(II) јон. Квадратно-планарна структура овог

комплекса је потврђена помоћу рендгеноструктурне анализе. У реакцији ових комплекса са *N*-ацетилованим дериватима ових пептида (MeCOHis-Gly и MeCOMet-Gly) долази до селективне хидролизе Met-Gly пептидне везе. Одсуство хидролизе His-Gly пептидне везе у MeCOHis-Gly пептиду је последица стерног утицаја [Pd(dpa)Cl₂] и [Pd(dpa)(H₂O)₂]²⁺ комплекса.

2. У реакцији [Pd(L)(H₂O)₂]²⁺ комплекса (L је бидентатно координован dpa, pic или en лиганд) са *N*-ацетилованим пептидом MeCOMet-Gly-Gly, у рН области од 2,0 до 2,5 и на температури од 60 °C, долази до селективне хидролизе Met-Gly пептидне везе. Брзина хидролизе ове пептидне везе зависи од природе бидентатно координованог диаминског лиганда (en > pic > dpa). Међутим, испитивана реакција хидролизе MeCOGly-Met-Gly трипептида у присуству поменути три Pd(II) комплекса, при наведеним експерименталним условима, није селективна при чему хидролизују Met-Gly и MeCO-Gly пептидне везе.

3. У реакцијама [M(en)(H₂O)₂]²⁺ комплекса (M = Pd(II) или Pt(II)) са тетрапептидом MeCOMet-Gly-His-GlyNH₂, у рН области од 1,5 до 2,0 и на температури од 60 °C, селективно хидролизује Met-Gly пептидна веза. У реакцији [Pd(L)(H₂O)₂]²⁺ комплекса (L је бидентатно координован dpa, pic или en лиганд) са [Pt(dien)(MeCOMet-Gly-His-GlyNH₂-S)]²⁺ долази до хидролизе His-GlyNH₂ пептидне везе. Брзина хидролизе [Pt(dien)(MeCOMet-Gly-His-GlyNH₂-S)]²⁺ у реакцији са [Pd(en)(H₂O)₂]²⁺ комплексом је већа од брзине хидролизе овог супстрата у реакцији са [Pd(pic)(H₂O)₂]²⁺, док је у случају реакције [Pt(dien)(MeCOMet-Gly-His-GlyNH₂-S)]²⁺ са [Pd(dpa)(H₂O)₂]²⁺ комплексом његова хидролиза потпуно инхибирана.

4. У реакције монофункционалног [Pt(Gly-Gly-*N,N',O*)]⁻ комплекса са MeCOMet-His, при физиолошким условима рН и температуре, настаје [Pt(Gly-Gly-*N,N',O*)(MeCOMet-His-S)]⁻ комплекс. У другој фази ове реакције долази до селективне интрамолекулске миграције [Pt(Gly-Gly-*N,N',O*)]⁻ комплекса са атома сумпора на N3 атом азота имидазоловог прстена из хистидина, при чему настаје [Pt(Gly-Gly-*N,N',O*)(MeCOMet-His-N3)]⁻ комплекс.

5. У реакцији MeCOMet-Gly дипептида са [Pt(L)Cl₂] и [Pt(L)(CBDCA-*O,O'*)] комплексима (L је en, dach и 1,2-pp; CBDCA је анјон 1,1-циклобутандикарбоксилне киселине), при физиолошким условима рН и температуре, долази до веома споре хидролизе Met-Gly пептидне везе. Хидролизи ове везе претходи формирање хидролитички активног [Pt(L)(MeCOMet-Gly-S)(H₂O)]⁺ комплекса. Реакција хидролизе MeCOMet-Gly дипептида је бржа у случају Pt(II) комплекса који садрже хлоридо

лиганд у односу на одговарајуће Pt(II) комплексе са CBDCA лигандом. Брзина хидролизе пептида опада са повећањем стерног ефекта комплекса Pt(II) у низу $en > 1,2-pn > dach$.

Оригиналност и актуелност резултата из ове докторске дисертације верификована је објављивањем пет научних радова у водећим међународним часописима (три M21 и два M22) и већег броја саопштења на домаћим и међународним конференцијама.

Из свега наведеног се може закључити да је поднета докторска дисертација комисија је закључила да је докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у области Неорганске хемије.

3. Преглед остварених резултата кандидата у области Неорганске хемије

Мр Марија Д. Живковић је до сада постигла запажене резултате из области Неорганске хемије. Постигнути резултати штампани су у облику већег броја научних радова и саопштења саопштених на међународним и домаћим конференцијама.

3.1. Магистарска теза

Марија Д. Живковић

”Испитивање реакција метионил-глицина и хистидил-глицина са неким паладијум(II) комплексима”, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац, 2007. M72

3.2. Списак радова

3.2.1 M. D. Živković, S. Rajković, U. Rychlewska, B. Warzajtis and M I. Djuran

Study of the reactions of methionine- and histidine-containing peptides with palladium(II) complexes: Key role of steric crowding on palladium(II) in selective cleavage of the peptide bond

Polyhedron, **26** (2007) 1541-1549. M21

ISSN: 0277-5387

3.2.2 M. D. Živković, S. Rajković, M. I. Djuran

Reaction of $[Pt(Gly-Gly-N,N',O)]$ with the N-acetylated dipeptide L-methionyl-L-histidine: Selective platination of the histidine side chain by intramolecular migration of the platinum(II) complex

Bioorganic Chemistry, **36(3)** (2008) 161-164. M22

ISSN: 0045-2068

- 3.2.3 S. Rajkovic, B. D. Glisic, M. D. Živković, M. I. Djuran,
Hydrolysis of the amide bond in methionine-containing peptides catalyzed by various palladium(II) complexes: Dependence of the hydrolysis rate on the steric bulk of the catalyst
Bioorganic Chemistry, **37(5)** (2009) 173-179. **M22**
ISSN: 0045-2068
- 3.2.4 S. Rajković, M. D. Živković, C. Kállay, I. Sóvágó, M. I. Djuran,
A study of the reactions of a methionine- and histidine-containing tetrapeptide with different Pd(II) and Pt(II) complexes: The selective cleavage of the amide bond by platination of the peptide and steric modification of the catalyst
Dalton Transactions, 2009, 8370-8377. **M21**
ISSN: 1477-9226
- 3.2.5 B. Đ. Glišić, S. Rajković, M. D. Živković, M. I. Djuran
A comparative study of complex formation in the reactions of gold(III) with Gly-Gly, Gly-L-Ala and Gly-L-His dipeptides
Bioorganic Chemistry, **38** (2010) 144-148 **M23**
ISSN: 0045-2068
- 3.2.6 U. Rychlewska, B. Warzajtis, B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković, M. I. Djuran
Monocationic gold(III) Gly-L-His and L-Ala-L-His dipeptide complexes: crystal structures arising from solvent free and solvent-containing crystal formation and structural modifications tuned by counter-anions
Dalton Transactions, **39** (2010) 8906-8913. **M21**
ISSN: 1477-9226
- 3.2.7 M. D. Živković, D. P. Ašanin, S. Rajković and M. I. Djuran
Hydrolysis of the amide bond in *N*-acetylated L-methionylglycine catalyzed by various platinum(II) complexes under physiologically relevant conditions
Polyhedron, **30(6)** (2011) 947-952. **M21**
ISSN: 0277-5387
- 3.3 Списак саопштења на међународним и националним научним конференцијама
штампана у изводу
- 3.3.1 Marija D. Živkovic, Snežana Rajković, Miloš I. Djuran, Urszula Rychlewska
Studies of the interactions of palladium(II) complexes with histidine- and methionine-containing peptides: effects of the mode of coordination on hydrolytic reactions
5th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, Ohrid, Vol. 1, September 10-14, 2006, BCH51 **M34**

- 3.3.2 Marija D. Živković, Snežana Rajković, Miloš I. Djuran
Reactions of platinum(II) complexes with sulfur- and nitrogen-containing biomolecules: selective intra- and intermolecular migration of *S*-bound platinum(II) complex to imidazole and guanine nitrogen atoms
13th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, Vienna, Austria, July 15-20, 2007, P041. **M34**
- 3.3.3 Snežana Rajković, Marija D. Živković, Imre Sóvágó, Miloš I. Djuran
Selective hydrolysis of the unactivated peptide bond in *N*-acetylated methionyl-glycyl-histidyl-glycineamide by promoted by various palladium(II) complexes
6st International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries, Sofia, September 10-14, 2008, 3-P36. **M34**
- 3.3.4 Marija D. Živković, Biljana Glišić, Snežana Rajković, Miloš I. Djuran
Gold(III) complexes with histidine- and methionine containing peptides: The reactions studies and complexes characterization
6st International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries, Sofia, September 10-14, 2008, 3-P34. **M34**
- 3.3.5 S. Rajković, B. Đ. Glišić, M. D. Živković, M. I. Djuran
Hydrolysis of the amide bond in methionine-containing peptides catalyzed by various palladium(II) complexes: Dependence of the hydrolysis rate on the steric bulk of the catalyst
10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry, Debrecen, September 25-28, 2009, P41. **M34**
- 3.3.6 B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković, M. I. Djuran, B. Warzajtis, U. Rychlewska
Gold(III) complexes of the histidine-containing peptides: syntheses, spectroscopic and structural characterization
10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry, Debrecen, September 25-28, 2009, P42. **M34**
- 3.3.7 M. D. Živković, D. P. Ašanin, S. Rajković, M. I. Djuran
Selective hydrolysis of the amide bond in *N*-acetylated L-methionylglycine catalyzed by various platinum(II) complexes under physiological conditions
10th European Biological Inorganic Chemistry Conference, Thessaloniki, Greece, June 22-26, 2010. PO 282 **M34**

3.3.8 B. Đ. Glišić, M. D. Živković, S. Rajković, M. I. Djuran

¹H NMR characterization of gold(III) and platinum(II) complexes with tripeptide glycyl-glycyl-L-methionine

XLVII savetovanje srpskog hemijskog društva, Beograd, 21. mart 2009. godine, NH-04. **M64**

3.3.9 M. D. Živković, B. Đ. Glišić, S. Rajković and M. I. Djuran

¹H NMR study of the reactions of a methionine-containing peptides with different Pd(II) complexes: the selective cleavage of the amide bond and steric effects on the catalyst

XLVII savetovanje srpskog hemijskog društva, Beograd, 21. mart 2009. godine, NH-09. **M64**

3.3.10 N. Drašković, D. Ašanin, M. D. Živković, S. Rajković

¹H NMR study of the reactions of a methionine- and histidine-containing peptides with different antitumor active platinum(II) complexes

Scientific conference with international participation. Preclinical testing of active substances and cancer research, Kragujevac, Serbia, March 16-19, 2011, P6 **M64**

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

Обзиром на задатке који су предвиђени при предлагању теме ове докторске дисертације комисија је закључила да је докторска дисертација **мр Марије Д. Живковић** по обиму и квалитету добијених научних резултата, у потпуности испунила предвиђене задатке у оквиру пријављене теме под насловом “**Хидролиза пептида који садрже L-метионин и L-хистидин помоћу различитих комплекса паладијума(II) и платине(II)**“, као и да резултати приказани у овом раду представљају оригинални научни допринос.

5. Научни резултати поднете докторске дисертације

Научни резултати из ове докторске дисертације публиковани су у оквиру 5 (пет) научних радова:

1. **M. D. Živković, S. Rajković, U. Rychlewska, B. Warzajtis and M. I. Djuran**

Study of the reactions of methionine- and histidine-containing peptides with palladium(II) complexes: Key role of steric crowding on palladium(II) in selective cleavage of the peptide bond

Polyhedron, **26** (2007) 1541-1549.

M21

ISSN: 0277-5387

2. **M. D. Živković**, S. Rajković, M. I. Djuran
 Reaction of $[Pt(Gly-Gly-N,N',O)]^+$ with the N-acetylated dipeptide L-methionyl-L-histidine: Selective platination of the histidine side chain by intramolecular migration of the platinum(II) complex
Bioorganic Chemistry, **36(3)** (2008) 161-164. M22
ISSN: 0045-2068
3. S. Rajkovic, B. D. Glisic, **M. D. Živković**, M. I. Djuran,
 Hydrolysis of the amide bond in methionine-containing peptides catalyzed by various palladium(II) complexes: Dependence of the hydrolysis rate on the steric bulk of the catalyst
Bioorganic Chemistry, **37(5)** (2009) 173-179. M22
ISSN: 0045-2068
4. S. Rajković, **M. D. Živković**, C. Kállay, I. Sóvágó, M. I. Djuran,
 A study of the reactions of a methionine- and histidine-containing tetrapeptide with different Pd(II) and Pt(II) complexes: The selective cleavage of the amide bond by platination of the peptide and steric modification of the catalyst
Dalton Transactions, 2009, 8370-8377. M21
ISSN: 1477-9226
5. **M. D. Živković**, D. P. Ašanin, S. Rajković and M. I. Djuran
 Hydrolysis of the amide bond in N-acetylated L-methionylglycine catalyzed by various platinum(II) complexes under physiologically relevant conditions
Polyhedron, **30(6)** (2011) 947-952. M21
ISSN: 0277-5387

6. Примењивост резултата у теорији и пракси

Резултати постигнути у оквиру ове докторске дисертације представљају резултат оригиналног научног рада кандидата у области Неорганске хемије. Сматрамо да ова докторска дисертација има значајан допринос код дефинисања механизма селективног раскидања пептидне везе у пептидима и протеинима, изучавања сложених биохемијских реакција које се одигравају под утицајем различитих металоензима, као и код изналажења нових комплекса метала који ће се користити као синтетички металоензими у реакцијама раскидања пептидне везе у пептидима и протеинима.

7. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Постигнути резултати ове докторске дисертације представљају, пре свега велики научни допринос детаљном испитивању и карактеризацији хемијских реакција пептида

који садрже L-метионин и L-хистидин са Pt(II) и Pd(II) комплексима. Поред тога, резултати су од значаја за синтезу нових комплекса прелазних метала који се потенцијално могу применити као синтетичке металопептидазе за селективну хидролизу пептида и протеина у циљу одређивања њихове сложене структуре, као и за објашњење механизма токсичног деловања антитуморских комплекса платине.

8. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове докторске дисертације су верификовани објављивањем у облику пет научних радова у међународним часописима (три M21 и два M22) и већег броја саопштења на домаћим и међународним конференцијама.

Докторска дисертација написана је на 126 страна и садржи 49 слика, 11 табела и 136 литературних података. Дисертација је подељена на **Општи део** (1-53), **Предмет истраживања** (54-55), **Експериментални део** (56-65), **Резултате и дискусију** (66-117), **Закључак** (118-119) и **Литературу** (120-125). Поред тога, дисертација садржи **Извод** на српском и енглеском језику, списак радова и саопштења, биографију кандидата и прилог у облику извода 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.

ЗАКЉУЧАК

Поднети рукопис докторске дисертације **мр Марије Д. Живковић** под насловом:

„ХИДРОЛИЗА ПЕПТИДА КОЈИ САДРЖЕ L-МЕТИОНИН И L-ХИСТИДИН ПОМОЋУ РАЗЛИЧИТИХ КОМПЛЕКСА ПАЛАДИЈУМА(II) И ПЛАТИНЕ(II)“

представља оригинални научни допринос изучавању у области бионеорганске хемије. Резултати из ове докторске дисертације су допринели новим сазнањима о примени комплекса паладијума(II) и платине(II) као каталитичких реагенса за селективно хидролитичко раскидање пептидних веза у пептидима који садрже L-метионин и L-хистидин. Поред тога, резултати су од значаја за синтезу нових комплекса прелазних метала који се потенцијално могу применити као синтетичке металопептидазе за

селективну хидролизу пептида и протеина у циљу одређивања њихове сложене структуре, као и за објашњење механизма токсичног деловања антитуморских комплекса платине. Добијени резултати су објављени у оквиру пет научних радова у водећим међународним часописима, и то три рада из категорије **M21** и два рада из категорије **M22**, као и већег броја саопштења на домаћим и међународним конференцијама.

Из свега наведеног се може закључити да је поднета докторска дисертација **мр Марије Д. Живковић** резултат оригиналног научног рада кандидата у области Неорганске хемије чиме су испуњени сви услови за прихватање наведене докторске дисертације и одобравање њене одбране. Стога предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета и Стручном већу за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу да кандидату **мр Марији Д. Живковић** одобри јавну одбрану *докторске дисертације* под наведеним насловом.

У Крагујевцу,
05. 04. 2012. год.

К о м и с и ј а



Др Милош И. Ђуран, редовни професор
- **Ментор докторске дисертације** -
Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија



Др Живадин Д. Бугарчић, редовни професор
Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија



Др Катарина Анђелковић, редовни професор
Хемијски факултет, Београд
Научна област: Неорганска хемија



Др Снежана Рајковић, доцент
Природно-математички факултет, Крагујевац
Научна област: Неорганска хемија