

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 8. XII 2016. године, изабрани смо за чланове Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације **Бранислава Станковића**, мастер физикохемичара, асистента Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду, под називом:

„Теоријско проучавање молекулских особина изомера нитродибензофурана, нитробензантрона, диметилнафталена и диметилантрацена и утврђивање њихове корелације са мутагеном активношћу и брзином биодеградације ових молекула“

Након прегледа докторске дисертације кандидата **Бранислава Станковића**, подносимо Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације:

Докторска дисертација кандидата **Бранислава Станковића** написана је на 196 страна А4 формата (прореда 1.5) са 44 слике и 42 табеле. Дисертација је написана на српском језику и садржи следећа поглавља: Увод (1 страна), Деривати полицикличних ароматичних угљоводоника као загађивачи (18 страна), Квантно-хемијске методе (24 стране), Циљ рада (2 стране), Резултати и дискусија дати су у четири поглавља (88 страна), Закључак (3 стране), Литература (11 страна) и Додаци (43 стране). Дисертација такође садржи и захвалницу, резиме на српском и енглеском језику, садржај, списак скраћеница, биографију кандидата, списак радова који су део докторске дисертације и изјаве у складу са захтевима за похрањење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду.

У **Уводу** је истакнут значај испитивања молекулских особина полицикличних ароматичних угљоводоника (ПАУ) и њихових деривата као и опште идеје и циљеви дисертације.

Општи део чине две целине: **Деривати полицикличних ароматичних угљоводоника као загађивачи** и **Квантно-хемијске методе**. У првој целини дати су подаци о нафталену и антрацену и њиховим алкил дериватима, о бензантрону и дибензофурану и њиховим нитро дериватима, као и о њиховом утицају на животну средину. Затим је дат осврт на мутагену активност, њено одређивање и факторе, као и на бактеријску разградњу ПАУ и њихових деривата. У другој целини дат је сажет приказ основних метода за решавање електронске Шредингерове једначине, како оних који се заснивају на концепту таласне функције тако и оних који користе Теорију функционала густине (енг. Density Functional Theory, DFT). Тај део обухвата и опис хемијске везе коришћењем анализе декомпозиције енергије (енг. Energy Decomposition Analysis, EDA) и методе која се заснива на проширеном прелазном стању (енг. Extended Transition State, ETS) са природним орбиталама за хемијску валенцу (енг. Natural Orbitals for Chemical Valence, NOCV). Дат је и кратак осврт на локалну реактивност и ароматичност молекулских система.

У делу **Циљ рада** приказани су изомери који су проучавани у раду и циљеви дисертације за сваку од класа загађивача.

Главни део рада чини поглавље **Резултати и дискусија** које се састоји од четири посебна дела. У првом делу представљени су резултати рачунања низа молекулских особина четири изомера нитродибензофурана (1-НДФ, 2-НДФ, 3-НДФ и 4-НДФ) и три изомера динитродибензофурана (1,8-ДНДФ, 2,7-ДНДФ и 2,8-ДНДФ). У циљу проналажења корелације са експериментално одређеним мутагеним активностима у тесту са сојем бактерије *Salmonella typhimurium*, за испитиване изомере приказани су одговарајући равнотежни структурни параметри, релативне енергије кориговане енергијом нултог вибрационог стања (ΔE_{EV}), јонизациони потенцијали (IP), електронски афинитети (EA), хемијске тврдоће (η), индекси електрофилности (κ), средње поларизабилности ($\langle\alpha\rangle$), анизотропије поларизабилности ($\Delta\alpha$), диполни моменти (μ), суме ИЦ интензитета (ΣI_{IR}) и суме Раманских активности (ΣA_{Raman}) по свим вибрационим модовима, изводи компоненти поларизабилности (α' и γ') по одговарајућој нормалној

координати и анализирани су одговарајући спектри. Затим су приказани резултати EDA и ETS-NOCV анализа одговарајућих хемијских веза код изомера нитродибензофурана. Други део поглавља **Резултати и дискусија** посвећен је изомерима нитробензантрона (1-НБА, 2-НБА, 3-НБА, 4-НБА, 5-НБА, 6-НБА, 8-НБА, 9-НБА, 10-НБА и 11-НБА). Дата је анализа корелације молекулских особина (ΔE_{EV} , IP, EA, $\langle \alpha \rangle$, $\Delta \alpha$, μ , ΣI_{IR} , ΣA_{Raman}) и експериментално одређених мутагених активности добијених у различитим тестовима изведеним са сојевима бактерије *Salmonella typhimurium*. Трећи део поглавља **Резултати и дискусија** даје анализу стабилности, конформационе флексибилности ароматичних прстенова, ароматичности и опис веза коришћењем EDA и ETS-NOCV метода код супституисаних (CH_3 -, Cl-, NH_2) нафталена. Завршни, четврти део поглавља **Резултати и дискусија** обухвата испитивање равнотежних структурних параметара свих изомера диметилантрацена (ДМА), коригованих релативних енергија изомера, њихових јонизационих потенцијала, електронских афинитета, средње поларизабилности, анизотропије поларизабилности, диполних момената, суме Раманских активности по свим вибрационим модовима и других величина, као и њихову корелацију са доступним подацима о експерименталној мутагеној активности у тесту са *Salmonella typhimurium* TA100. Тај одељак описује и конформациону флексибилност ароматичних прстенова изомера диметилантрацена као и њихову ароматичност. Представљана је и анализа локалне реактивности свих изомера ДМА, извршена компарација са изомерима диметилнафталена (ДМН), као и анализа на основу димензија активног места ензима нафтален 1,2-диоксигеназе (НДО). Предвиђен тренд у брзинама бактеријске биодеградације изомера ДМА. Детаљнији опис резултата ове дисертације дат је у делу Б овог извештаја.

У поглављу **Закључак** резимирани су најважнији резултати и закључци изведени из резултата добијених у оквиру докторске дисертације.

Одељак **Литература** (317 цитата) укључује класичне и најновије научне радове из области хемије животне средине које су у вези са овом дисертацијом.

У делу **Додаци** приказани су: корелације између логаритама мутагених активности и физичкохемијских параметара изомера нитробензантрона; ИР и Рамански спектри одабраних изомера НБА; конформационе анализе изомера диметилнафталена, тетраметилнафталена, дихлорнафталена, диаминонафталена и диметилантрацена.

Б. Кратак опис постигнутих резултата

У оквиру ове докторске дисертације представљени су резултати теоријског проучавања молекулских особина система који се јављају као загађивачи у животној средини. Рачуни су изведени применом различитих метода, како DFT метода тако и оних које се заснивају на таласној функцији система попут Moller-Pleset пертурбационе теорије другог реда (Second-order Møller-Plesset perturbation theory, MP2) и једне од метода веома високе прецизности као што је метода интерагујућих кластера (CCSD(T)). Сви рачуни изведени су помоћу програмских пакета Gaussian, Molpro и ADF.

У оквиру дела рада у коме су анализиране молекулске особине изомера нитродибензофурана установљено је да су средња поларизабилност, анизотропија поларизабилности и сума Раманских активности по свим вибрационим модовима у врло доброј корелацији са експериментално одређеном директном мутагеном активношћу (*S. typhimurium* TA98 – S9), корелациони коефицијенти су $R=0.99$, $R=0.99$ и $R=0.93$, редом. Резултати показују да редослед изомера НДФ у односу на растуће вредности извода поларизабилности α' и γ' у односу на нормалну координату повезану са вибрационим модом симетричног истезања N-O веза NO₂ групе (као и C-N везе) у потпуности следи редослед ових изомера у односу на растуће вредности директних мутагених активности што имплицира да су интермолекулске интеракције фаворизоване дуж ове координате у процесу мутагене активације. Изведена је анализа везе између нитро групе и остатка молекула и као и веза између кисеоника и угљеника у средњем прстену код изомера НДФ помоћу EDA и ETS-NOCV метода при чему је нађено да је мутагена активност већа код изомера код којих су ове везе слабије.

Посебна пажња била је посвећена изомерима нитробензантрона, јер се међу њима налази један од најпотентнијих мутагена, 3-НБА, чија директна мутагена активност у *Salmonella typhimurium* TA98 соју износи чак 208 400 rev/mol (Takamura-Enya T., Suzuki H., Hisamatsu Y., Mutagenesis 21 (2006) 399-404). Резултати представљени у дисертацији односе се како на изомере за које постоје подаци о мутагености, тако и на оне изомере за које још нема података. Детаљном анализом испитиваних величина утврђено је да за изомере нитробензантрона постоји добра корелација између ΣA_{Raman} вредности и директне мутагене активности у соју *Salmonella typhimurium* TA98. За друге *S.*

typhymurium сојеве нађена је врло добра корелација између ΣA_{Raman} вредности и логаритма мутагене активности изомера НБА и то упућује на закључак да дисперзионе и индукционе интеракције играју важну улогу у процесу мутагене активације ових изомера. На основу добијених резултата, за изомере за које не постоје експериментално одређене мутагене активности, извршено је предвиђање код којих би се изомера могле очекивати ниске мутагене активности. Представљени су ИЦ и Рамански спектри изомера и асигнација најинтензивнијих трака у области $1000\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ што може бити од помоћи за идентификацију и разликовање ових изомера.

У оквиру дела рада који се односи на супституисане нафталене утврђено је да су ароматични прстенови изомера ДМН веома флексибилни – за промену једног од диедарских углова за 20° потребно је уложити енергију од 1,7 до 2,4 kcal/mol. То је посебно значајно за разумевање везивања ових изомера за активно место ензима који катализује диоксигенацију ових изомера као што је 1,2-НДО и који је од велике важности за процес биодеградације помоћу бактерија. Установљено је да постоји линеарна корелација између средњих константи ригидности прстенова и релативних енергија изомера ДМН. EDA и ETS-NOCV методама урађена је анализа формирања веза у дериватима нафталена стварањем веза C4–C4a, C4a–C8a и C8a–C8. Резултати показују да на стабилност ових веза у највећој мери утиче орбитална интеракција. Нађено је да се са променом вредности диедарског угла орбитална енергија централне σ C–C везе мења мало у поређењу са орбиталном енергијом π веза.

Иако су мутагене активности експериментално одређене за врло мали број метилованих антрацена, израчунати параметри повезани са поларизабилношћу изомера ($\langle \alpha \rangle$, $\Delta \alpha$, ΣA_{Raman} , α_{yy} тј. компоненте тензора поларизабилности дуж осе по којој су изомери постављени по дужини) су у корелацији са одређеном мутагеном активношћу. Нађено је да је за промену конформације по најфлексибилнијем диедарском углу ароматичних прстенова ДМА потребно уложити енергију између 1,7 и 2,7 kcal/mol (зависно од изомера). Установљено је да је смањење вредности индекса ароматичности NICS(1)_{zz} веће код изомера ДМА са две метил групе које се налазе на α позицијама једног прстена, него код изомера ДМА код кога су метил групе на β позицијама прстена. Резултати рачуна показали су да код изомера ДМА и ДМН постоје сличне вредности дуалног дескриптора, као и константе ригидности ароматичних прстенова. Узимајући у

обзир анализу активног места ензима нафтален 1,2-диоксигеназе и димензије самих изомера ДМА, као и израчунате вредности $\langle\alpha\rangle$, $\Delta\alpha$, α_{yy} и ΣA_{Raman} и локалну реактивност и флексибилност ароматичних прстенова ДМА, указано је какав би тренд у ефикасности требало очекивати при бактеријској деградацији ових изомера.

Ц. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Објављивање експерименталне студије која се заснивала на лабораторијској ензимској бактеријској деградацији ПАУ (Wammer K.H., Peters C.A., Environ. Sci. Technol. 39 (2005) 2571-2578) као и студије која је експерименталне брзине биодеградације изомера ДМН повезала са поларизабилношћу ових молекула (Librando V. and Alparone A., Environ. Sci. Technol. 41 (2007) 1646-1652) биле су непосредни повод за истраживања која су урађена у оквиру ове тезе. О важности интермолекулских интеракција за интеракцију молекула полутанта и активног места ензима истакнуто је у бројним студијама (Vance W A, Okamoto H S, Wang Y Y. у: Carcinogenic and Mutagenic Responses to Aromatic Amines and Nitroarenes; King C M, Romano L J, Schuetzle D, Eds.; Elsevier: New York, 1988; p. 291). У објављеним студијама посебно је указано на важност поларизабилности (e.g. A.R. Katritzky, L. Pacureanu, D. Dobchev, M. Karelson, QSPR modeling of hyperpolarizabilities, J. Mol. Model. 13 (2007) 951-963). Студије које базирају на коришћењу квантно-хемијских метода за израчунавања молекулских особина полутаната показале су да се оне са успехом могу применити за проучавање њихове испољене мутагене активности (нитрофенантрени и нитроантрацени: A. Alparone, V. Librando, Chemosphere 90 (2013) 158–163; нитронафталени: V. Librando, A. Alparone, J. Hazard. Mater. 154 (2008) 1158–1165; изомери нитро[*a*]бензопирена: V. Librando, A. Alparone, G. Tomaselli, J. Mol. Mod. 14 (2008) 489–497; нитро деривати азабензо[*a*]пирен *N*-оксида: B.D. Ostojić, D.S. Đorđević, J. Hazard. Mater. 285 (2015) 94-102; нитро деривати азафенантрена: B.D. Ostojić, D.S. Đorđević, Chemosphere 135 (2015) 319-324).

Резултати ове дисертације дали су добру корелацију одабраних молекулских особина са објављеним експерименталним резултатима о мутагеној активности за нитродибензофуране (T. Watanabe, H. Kaji, T. Kasai, T. Hirayama, Mutat. Res. 325 (1994) 11–19), нитробензантроне (Takamura-Enya, T., Suzuki, H., Hisamatsu, Y., Mutagenesis 21

(2006) 399–404) и метил деривате антрацена (Madill, R.E.A., Brownlee, B.G., Josephy, P.D., Bunce, N.J., Environ. Sci. Technol. 33 (1999) 2510–2516; La Voie, E.J., Coleman, D.T., Rice, J.E., Geddie, N.G., Hoffmann, D., Carcinogenesis 6 (1985) 1483–1488).

За само неке од проучаваних молекула има експерименталних података о појединим њиховим молекулским особинама и резултати добијени у оквиру ове дисертације показали су добро слагање са подацима који су доступни у литератури (за дибензофуран: В. Ruščić, В. Kovač, L. Klasinc, H. Gusten, Z. Naturforsch. A 33 (1978) 1009–1012; за 2-НБА: К. К. Onchoke , S. N. Chaudhry, J. J. Ojeda, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 153 (2016) 402–414; за антрацен: Hager, J.W., Wallace, S.C., Anal. Chem. 60 (1988) 5–10; Ando, N., Mitsui, M., Nakajima, A., J. Chem. Phys. 127 (2007) 234305; Cheng, C.L., Murthy, D.S.N., Ritchie, G.L.D., Aust. J. Chem. 25 (1972) 1301–1305; Hasanein, A.A., 1993. Modern nonlinear optics; Part 2. In: Evans, M., Kielich, S. (Eds.), Advances in Chemical Physics, LXXXV. Willey, New York.).

Резултати ове докторске дисертације омогућили су увид у молекулске особине полутаната за које досад нема објављених података у литератури и дали низ нових резултата који могу бити од користи за идентификацију и разликовање изомера као и за тумачење будућих експерименталних података о овим молекулима који су од значаја за животну средину.

Д. Научни радови објављени у међународним часописима и саопштења са скупова који су део докторске дисертације

М21а – Рад објављен у међународном часопису изузетних вредности (првих 10% међународних часописа)

1. В. Stanković, В. Ostojić, А. Popović, М. Gruden, D. Đorđević, “Teoretical study of nitrodibenzofurans: A possible relationship between molecular properties and mutagenic activity”, Journal of Hazardous Materials, 318 (2016) 623-630.

М21 – Радови објављени у врхунском међународном часопису (првих 30% међународних часописа)

2. B. Ostojić, B. Stanković, D. Đorđević, “Theoretical study of the molecular properties of dimethylantracenes as properties for the prediction of their biodegradation and mutagenicity”, Chemosphere, 111 (2014) 144-150.

3. B. Ostojić, B. Stanković, D. Đorđević, “The molecular properties of nitrobenzanthrone isomers and their mutagenic activities”, Chemosphere, 104 (2014) 228-236.

M22 Рад објављен у истакнутом међународном часопису

4. B. Stanković, B. Ostojić, A. Popović, M. Gruden, D. Đorđević, “Substituted naphthalenes: Stability, conformational flexibility and description of bonding based on ETS-NOCV method”, Chemical Physics Letters 661 (2016) 136–142.

M23 - Рад објављен у међународном часопису

5. B. Ostojić, B. Stanković, D. Đorđević, “Aromaticity and conformational deformability of some environmental pollutants - methylated anthracenes”, Fresenius Environmental Bulletin, 23 (2014) 3036-3040.

M34 - Саопштења са међународних скупова штампана у изводу

6. Branislav Stanković, Bojana Ostojić, and Dragana Đorđević, “The molecular properties of nitrodibenzofurans and their mutagenic activities”, 18th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediteranean Region; <http://www.mesaep.net>, Crete, Greece, September 26 – 30, 2015, Book of abstracts, page 246.

7. B. Stanković, B. Ostojić, D. Đorđević, “Theoretical investigation of molecular properties of methyl-substituted anthracenes and biodegradation”, 17th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediteranean Region, <http://www.mesaep.net>, Istanbul, Turkey, 2013, Book of abstracts, page 75.

Е. Закључак (објашњење научног доприноса докторске дисертације)

У оквиру своје докторске дисертације, кандидат Бранислав Станковић је користећи методе квантне хемије проучавао молекулске особине изомера нитродибензофурана, нитробензантрона, диметилнафталена и диметилантрацена. На основу добијених резултата добијене су корелације са експерименталним мутагеним активностима и предвиђен је тренд у брзини биодеградације неких од испитиваних молекула. Добијени резултати омогућавају интерпретацију досадашњих експерименталних резултата и могу бити од користи у будућим експерименталним и теоријским студијама на овом молекулима.

Комисија закључује да су научна истраживања приказана у овој дисертацији у складу са савременим трендовима у хемији животне средине (теоријској хемији) и да пружају значајан допринос у анализи и разумевању молекулских особина испитиваних полутаната како са становишта карактеризације и интерпретације њихове структуре, стабилности, спектроскопских и других особина тако и са становишта њихове интеракције са биолошким системима.

Велики део резултата ове докторске дисертације приказан је у 5 научних радова: један рад у часопису категорије M21a, два рада у часопису категорије M21, један рад у часопису категорије M22 и један рад у часопису категорије M23, међу којима је кандидат први аутор на два рада. Поред тога, кандидат је неке резултате своје дисертације изложио на два међународна скупа. На основу чињеница изложених у овом извештају и процењујући резултате докторске дисертације, комисија предлаже Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију **Бранислава Станковића** под наведеном насловом и одобри њену одбрану.

Београд, 18. VII 2018.

Чланови комисије:

др Маја Груден-Павловић, ванредни професор
Хемијски факултет Универзитета у Београду, ментор

др Бојана Остојић, виши научни сарадник

Центар изузетних вредности за хемију и инжењеринг животне средине ИХТМ
Универзитета у Београду, ментор

др Александар Поповић, редовни професор

Хемијски факултет Универзитета у Београду

др Веселин Маслак, ванредни професор

Хемијски факултет Универзитета у Београду

др Драгана Ђорђевић, научни саветник

Центар изузетних вредности за хемију и инжењеринг животне средине ИХТМ
Универзитета у Београду