

**Наставно-научном већу
Хемијског факултета
Универзитета у Београду**

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета одржаној 8. јануара 2018. године одређени смо за чланове Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Соње З. Милић Комић, мастер хемичара, под називом:

„Редокс својства слободних аминокиселина и индола као модел-једињења у Фентоновом систему“.

Пошто смо поднету дисертацију прегледали, подносимо Наставно-научном већу Хемијског факултета следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација Соње З. Милић Комић, написана је на 95 страна А4 формата (проред 1,5) и садржи 30 слика (од тога 3 у Прилозима) и 8 табела. Рад обухвата следећа поглавља: Увод (2 стране), Општи део (14 страна), Материјал и методе (20 страна), Резултати и дискусија (41 страна), Закључак (2 стране), Литература (13 стране, 115 цитата) и Прилози (3 стране). Поред наведеног, дисертација садржи Извод на српском и енглеском језику (по две стране), Листу скраћеница, Захвалницу, Садржај и Биографију кандидата (1 страна).

У **Уводу** је описан предмет истраживања и истакнути су циљеви докторске дисертације, који се пре свега односе на одређивање антиоксидативне активности аминокиселина у Фентоновом систему, као и изучавање интеракција индола као модел-једињења са јонима гвожђа.

Општи део обухвата две целине. У првој целини је дат детаљан приказ особина аминокиселина коришћених у истраживању, као и функција које могу обављати у организму. Дат је преглед редокс особина аминокиселина и индола као одабраног модел-једињења. Истраживања која су доступна у литератури везана за повезаност структуре и активности аминокиселина су такође представљена у овом делу, као и концентрације аминокиселина присутних у природним и отпадним водама. У другој целини кандидаткиња је описала улогу и значај гвожђа за биолошке системе у животној средини. Детаљно је описана Фентонова реакција, као и интеракције гвожђа са органским лигандима у природним водама.

Материјали и методе садрже кратак опис експерименталних метода и детаљан приказ процедура коришћених у оквиру докторске дисертације. У овом делу су приказани и параметри који описују особине аминокиселина (хидрофобност, дужина бочног ланца, стерни фактори) коришћени за корелациону анализу.

У делу **Резултати и дискусија** кандидаткиња је приказала и детаљно продискутовала добијене резултате у три целине. Најпре су приказани резултати за антиоксидативну активност аминокиселина у реакцији са хидроксил-радикалом у Фентоновом систему и урађена анализа о повезаности структуре и активности аминокиселина. Резултати везани за аминокиселине које садрже сумпор су описани одвојено од осталих. У другој целини приказана је корелациона анализа резултата добијених за активност аминокиселина са параметрима који описују особине аминокиселина (хидрофобност/хидрофилност, дужина бочног ланца, стерни фактори и поларност). Такође, описана је и промена антиоксидативне активности одређених аминокиселина са снижавањем температуре и упоређене су вредности антиоксидативне активности са хидратационим бројем. У трећој целини приказане су интеракције индола као модел-једињења са гвожђем под утицајем UV-озрачивања. Механизми редукције гвожђа са индолом у присуству/одсуству UV-зрачења су описани и дискутовани. На крају овог поглавља анализиран је комплекс који настаје између јона гвожђа и индола.

У **Закључку** кандидаткиња је сумирала добијене резултате до којих се дошло у току израде докторске дисертације.

У поглављу **Литература** (116 цитата) су обухваћене књиге и радови из области које дисертација садржи. У **Прилозима** су дате слике додатних резултата.

Б. Кратак приказ резултата

У овој дисертацији описане су антиоксидативне активности (АА) слободних аминокиселина (глицин, аланин, пролин, валин, изолеуцин, леуцин, фенилаланин, триптофан, тирозин, серин, треонин, аспарагин, глутамин, хистидин, аспарагинска киселина, глутаминска киселина, лизин, аргинин, цистеин, метионин, хомоцистеин, хидроксипролин, норлеуцин, 2-аминобутанска киселина и 3,4-дихидроксифенилаланин) у Фентоновом систему. Аминокиселина са највећом вредношћу за антиоксидативну активност је триптофан, па следе норлеуцин > Phe, Leu > Ile > His > 3,4-дихидроксифенилаланин, Arg > Val > Lys, Tyr, Pro > хидроксипролин > α-аминобутанска киселина > Gln, Thr, Ser > Glu, Ala, Gly, Asn, Asp. Аминокиселине које садрже сумпор (цистеин, хомоцистеин и метионин) нису укључене у поређење, јер су давале различите радикалске врсте са хидроксил-радикалом, те антиоксидативна активност није могла квантитативно да се одреди. Порекло тих радикалских врста је изучено електрон-парамагнетном резонанцијом са спинским хватачима. Компјутерском симулацијом добијених спектра нађена су три различита спин-адукта за цистеин, један за хомоцистеин и пет различитих за метионин. Константе брзине реакције су израчунате и упоређене са вредностима које су доступне у литератури за реакцију са хидроксил-радикалом добијеним радиолизом воде.

Корелациона анализа примењена је на добијене резултате за антиоксидативну активност и параметре који дефинишу особине аминокиселина, као што су хидрофобност, стерни фактори, поларност и дужина бочног ланца. Позитивна корелација је уочена између хидрофобности и антиоксидативне активности анализираних аминокиселина. Када се све анализиране аминокиселине поделе у групе по структури бочног ланца, корелациони коефицијент је повећан за групу ненаелектрисаних аминокиселина. Висока вредност за негативну корелацију је нађена између АА и поларности. Стерни параметри и хидратациони бројеви су показали

позитивну корелацију са групом аминокиселина са неполарним бочним ланцем. Снижавање температуре, које подстиче хидрофобну хидратацију, проузроковало је повећане вредности антиоксидативне активности, што указује да хидрофобна хидратација утиче на оксидацију аминокиселина са хидроксил-радикалом.

У овој тези испитиване су редокс реакције гвожђа и индола, модел-једињења, у води у присуству UV-зрачења. При UV-B озрачивању долази до смањења концентрације индола услед деградације индола, док UV-A озрачивање не утиче на концентрацију индола. Директна фотолиза гвожђа(III) је анализирана током примене UV-A и UV-B озрачивања, са Fe(II) и хидроксил-радикалом као производима реакције. Када је у систему заступљен и индол, присуство једног молекула индола довело је до редукције осам јона гвожђа(III), без доприноса директне фотолизе Fe са оба типа примењеног зрачења. Показано је да су главни механизми редукције гвожђа(III) у датом систему у присуству индола, тј. акумулације гвожђа (II): хватање слободног хидроксил-радикала, што спречава повратну оксидацију гвожђа(II) са хидроксил-радикалом; оксидација индола и његових деривата са ексцитованим гвожђем; редукција гвожђа са ексцитованим индолом (код UV-A зрачења није присутна). Експериментално је потврђено да хидратисани електрони који настају као производ ексцитације индола применом UV- B озрачивања немају велику улогу у редукцији гвожђа. Слаб допринос ове реакције у укупној редукцији гвожђа потврђен је мерењем потрошње кисеоника у реакцији O₂ са хидратисаним електроном. Применом ЕПР методе на ниским температурама опажено је присуство индол-катјон-радикала, при чему се сигнал радикала значајно увећава у присуству гвожђа.

Комплекс ниске симетрије индола и гвожђа (III) је потврђен применом ЕПР методе. Формирање комплекса потпомаже трансфер електрона са ексцитованог индола на Fe(III).

Ц. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Аминокиселине са својим бројним функцијама изазивају интересовање у научној заједници већ дуги временски период. Реакције аминокиселина са хидроксил-радикалом који је генерисан радиолизом воде су описане претходно у литератури [1–3]. Константе брзине реакције аминокиселина у Фентоновом систему су показале уопштено веће вредности у односу на оне добијене са хидроксил-радикалом добијеним радиолизом воде, што указује на више чинилаца који утичу на антиоксидативност аминокиселина, али коефицијент корелације између резултата ова два експеримента показује позитивну корелацију. Вредности за одређене аминокиселине, тирозин и 3,4-дихидроксифенилаланин, значајно одступају од осталих вредности због могућности повратне редукције гвожђа са тим аминокиселинама [4,5]. Студије повезаности структуре и антиоксидативне активности за слободне аминокиселине у Фентоновом систему нису рађене, већ су у литератури доступне студије везане за аминокиселине у другим системима где се користе различите методе за мерење антиоксидативности [6,7]. У овој тези описан је појединачан допринос функционалних група укупној антиоксидативној активности у реакцији са хидроксил-радикалом. Оксидациони производи реакција аминокиселина које садрже сумпор са слободним радикалским врстама су описани у литератури [4,8]. Овде су по први пут представљени производи реакције хидроксил-радикала и аминокиселина у присуству спинског хватача ДЕМРМО-а са испитивањем утицаја присуства кисеоника на реакцију. Корелациона анализа поређења параметара који описују особине аминокиселина (хидрофобност, стерни фактори, поларност и дужина бочног ланца) са антиоксидативном активношћу аминокиселина је први пут овде описана.

Индол као модел-једињење има примену у многим областима фармације, деривати индола се користе у разним лековима [9] и интересовање за његову примену не јењава. Интеракције органских молекула са гвожђем су значајне због повећавања доступности дефицитарног гвожђа у природним водама [10]. Примена UV озрачивања са гвожђем је поступак за пречишћавање природног органског материјала из вода, фото-Фентонов процес [11]. Комплекси деривата индола (индол-3-сирћетне киселине)

са гвожђем су објављени у литератури У овој тези показано је да се доступност гвожђа може увећати интеракцијом са индолом, као и да се деградација индола подстиче у присуству гвожђа и UV-B зрачења [12].

Литература:

1. Sueishi, Y., Takemoto, T., 2015. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **25**, 1808–1810.
2. Buxton, G. V., Greenstock, C. L., Helman, W. P., Ross, B., 1988. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, **17**, 513–866.
3. Xu, G., Chance, M., R. *Chemical Reviews*. 2007, **107**, 3514–3543.
4. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*; Clarendon Press: Oxford, U.K., 2007.
5. Linert, W., Jameson, R.F., Herlinger, E., 1991. *Inorganica Chimica Acta*, **187**, 239–247.
6. Udenigwe, C.C., Aluko, R.E., 2011. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**(5), 3148–3161.
7. Garrett, A.R., Weagel, E.G., Martinez, A.D., Heaton, M., Robison, R.A., O'Neill, K.L., 2014. *Food Chemistry*, **158**, 490–496.
8. Stadtman, E.R., Levine, R.L., 2003. *Amino Acids*, **25**, 207–218.
9. Sharma, V., Kumar, P., Pathak, D., 2010. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **47**(3), 491–502.
10. Barbeau, K., Rue, E.L., Bruland, K.W., Butler, A., 2001. *Nature*, **413**, p.409.
11. Babuponnusami, A., Muthukumar, K., 2014. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **2**, 557–572.
12. Kamnev, A.A., Shchelochkov, A.G., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G., Perfiliev, Y.D., 2001. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, **132**(6), 675–681.

Д. Објављени радови и саопштења који чине део дисертације

Резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације објављени су у два рада штампана у међународним часописима изузетних вредности (M21a) и једном саопштењу штампаном у изводу на скупу међународног значаја (M34).

Радови објављени у врхунским часописима међународног значаја (M21a)

1. Milić, S., Bogdanović Pristov, J., Mutavdžić, D., Savić, A., Spasić, M., Spasojević, I., 2015 The relationship of physicochemical properties to the antioxidative activity of free amino acids in Fenton system. *Environmental Science and Technology*, **49** (7), 4245–4254.
2. Milić Komić, S., Bogdanović Pristov, J., Popović-Bijelić, A., Zakrzewska, J., Stanić, M., Kalauzi, A., Spasojević, I., 2016. Photo-redox reactions of indole and ferric iron in water. *Applied Catalysis B: Environmental*, **185**, 174–180.

Саопштења на скуповима међународног значаја објављена у изводу (M34)

1. Milić, S., Bogdanović Pristov, J., Mutavdžić, D., Savić, A., Spasić, M., Spasojević, I., 2015. The relationship of physicochemical properties and structure to the antioxidative activity of free amino acids in the aqueous Fenton system, 2nd International Conference on Plant Biology 21st Symposium of the Serbian Plant Society, 17–20 June 2015. Petnica, Serbia, 106.

Е. Закључак

На основу свега изложеног, може се закључити да је у поднетој дисертацији под насловом „Редокс својства слободних аминокиселина и индола као модел-једињења у Фентоновом систему“, кандидаткиња Соња З. Милић Комић, успешно одговорила на постављене задатке везане за испитивање антиоксидативних особина аминокиселина и индола. Показано је да је хидрофобност аминокиселине најзначајнији параметар за предвиђање брзине реакције одређене аминокиселине са хидроксил-радикалом у

Фентоновом систему. Такође, показано је да испитивани системи модел-једињења индола и гвожђа под утицајем UV-зрачења доприносе већој концентрацији доступног гвожђа у природним водама.

Резултати истраживања, проистекли из ове докторске дисертације, објављени су у два рада штампана у врхунским међународним часописима категорије M_{21a}. Поред тога, резултате из тезе кандидаткиња је приказала на скупу међународног значаја у виду једног саопштења. Објављени резултати имају фундаментални значај.

На основу свега изложеног Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду, да поднету докторску дисертацију Соње З. Милић Комић под насловом **„Редокс својства слободних аминокиселина и индола као модел-једињења у Фентоновом систему”** прихвати и одобри њену одбрану за стицање академског звања доктора хемијских наука.

У Београду,
14.06.2018.

Комисија:

др Катарина Анђелковић,
редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду

др Јелена Богдановић Пристов,
виши научни сарадник Института за мултидисциплинарна истраживања
Универзитета у Београду

др Душан Сладић,
редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду