

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

Predmet: Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata Aleksandre Božić

Odlukom (br. 35/39) od 23.02.2017. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Aleksandre Božić, dipl. inž. tehnologije pod naslovom:

„N-HETEROAROMATIČNI HIDRAZONI I DIHIDRAZONI DIHIDRAZIDA UGLJENE I TIUGLJENE KISELINE: KARAKTERIZACIJA, KVANTNOMEHANIČKA STUDIJA I BIOLOŠKA AKTIVNOST“.

Posle pregleda dostavljene disertacije i drugih pratećih materijala i razgovora sa kandidatom, Komisija je sačinila sledeći

REFERAT

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- **2011/2012.** godine Aleksandra Božić, dipl. inž. tehnologije, upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, naučna oblast Hemijske nauke.
- **17.5.2016.** Aleksandra Božić je prijavila temu doktorske disertacije pod naslovom: **„N-Heteroaromatični hidrazoni i dihidrazoni dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline: karakterizacija, kvantnomehanička studija i biološka aktivnost“.**
- **26.05.2016.** Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je Odluka (br.35/264) o imenovanju članova Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Aleksandre Božić, dipl. inž. tehnologije za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme pod nazivom **„N-Heteroaromatični hidrazoni i dihidrazoni dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline: karakterizacija, kvantnomehanička studija i biološka aktivnost“.**
- **15.09.2016.** Nastavno-naučno veće Tehnološko-metalurškog fakulteta je donelo Odluku (br. 35/429) o prihvatanju referata Komisije za ocenu podobnosti teme **„N-Heteroaromatični hidrazoni i dihidrazoni dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline: karakterizacija, kvantnomehanička studija i biološka aktivnost“** i kandidata Aleksandre Božić za izradu doktorske disertacije. Za mentore ove doktorske disertacije imenovani su dr Aleksandar D. Marinković, docent Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i dr Nenad Filipović, docent Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu.
- **24.11.2016.** Na sednici Veća naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu data je saglasnost (Odluka br. 61206-5384/2-16) na predlog teme doktorske disertacije Aleksandre

Božić, dipl. inž. tehnologije, pod nazivom: „**N-Heteroaromatični hidrazoni i dihidrazoni dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline: karakterizacija, kvantnomehanička studija i biološka aktivnost**”.

- **23. 02. 2017.** Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je Odluka (br. 35/39) o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije Aleksandre Božić, dipl. inž. tehnologije, pod nazivom: „**N-Heteroaromatični hidrazoni i dihidrazoni dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline: karakterizacija, kvantnomehanička studija i biološka aktivnost**”.

1.2. Naučna oblast disertacije

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Hemijske nauke, za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Mentori su Aleksandar D. Marinković, docent Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i dr Nenad Filipović, docent Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu, koji su na osnovu dosadašnjih objavljenih publikacija i iskustava kompetentni da rukovode izradom ove disertacije.

1.3. Biografski podaci o kandidatu

Kandidat Aleksandra R. Božić, dipl. inž. tehnologije, rođena je 17.08.1985. godine u Ljuboviji, opština Ljubovija, Republika Srbija gde je završila Osnovnu školu. Srednju Medicinsku školu završila je u Beogradu. Godine 2004. upisala je Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu, studijski program Organska hemijska tehnologija i polimerno inženjerstvo i diplomirala 11.10.2010. godine, sa prosečnom ocenom 8,59. Doktorske studije upisala je školske 2011/2012. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu - smer Hemijske nauke. Ispite na doktorskim studijama je položila sa prosečnom ocenom 9,82. Od 2011. godine zaposlena je na Visokoj školi strukovnih studija Beogradska politehnika kao saradnik na predmetu Hemija koji se sluša na četiri studijska programa odeljenja za tehnologije Beogradske politehnike. Bila je član je organizacionog odbora III naučno stručnog skupa „Politehnika 2015“ u školskoj 2014/2015. godini. Od 2015. godine angažovana je na projektu „WamPPP 2015, Erasmus +“.

Aleksandra Božić je kao koautor i autor do sada učestvovala u izradi i publikaciji ukupno 17 radova u kategorijama: 1 rad kategorije M21, 1 rad kategorije M22, 2 rada kategorije M23, 1 rad kategorije M24, 5 radova kategorije M33 i 7 radova kategorije M63. Iz oblasti istraživanja kojoj pripada predložena tema doktorske disertacije, kandidat je autor 2 naučna rada objavljena u međunarodnom časopisu (oznaka grupe M20: vrsta rezultata M21, M23).

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija Aleksandre Božić, dipl. inž. tehnologije napisana je na 255 strana, u okviru koje se nalazi 155 slika (82 u Prilogu), 43 tabele (10 u Prilogu) i 283 literaturna navoda. Doktorska disertacija sadrži sledeća poglavlja: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, Literatura i Prilog. Na početku disertacije dati su izvodi na

srpskom i engleskom jeziku. Disertacija sadrži i kratku biografiju kandidata i 3 obavezna priloga (izjave). Po svojoj formi i sadržaju, podneti rad zadovoljava sve standarde Univerziteta u Beogradu za doktorsku disertaciju.

2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

U **Uvodnom delu** je dat kratak osvrt na oblast istraživanja i temu rada, kao i osnovni cilj ove doktorske disertacije koji obuhvata sintezu *N*-Heteroaromatičnih hidrazona i njihovu potpunu strukturnu i solvatohromnu karakterizaciju kombinacijom eksperimentalnih tehnika i kvantno-hemijskih proračuna. Pregledno su prikazani principi i metode za određivanje važnih fizičko-hemijskih karakteristika biološki aktivnih jedinjenja. Dat je kratak osvrt na izomeriju hidrazona kao i na biološka ispitivanja koja su izvršena u okviru ove disertacije, uz razmatranje mogućeg uticaja strukture sintetisanih jedinjenja na antikancer, antimikrobnu i antioksidativnu aktivnost, kao i opis metoda korišćenih za analizu odnosa strukture i aktivnosti jedinjenja (QSAR).

Teorijski deo podeljen je u sedam tematskih celina: 1) Struktura i klasifikacija *N*-heteroaromatičnih hidrazona i dihidrazona dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline ((T)CHs); 2) Izomerija (T)CHs; 3) Korelaciona analiza u organskoj hemiji; 4) Linearna korelacija solvatacionih energija (LSER); 5) Teorija funkcionala gustine (DFT); 6) Pročavanje kvantitativne veze između strukture i svojstava molekula; 7) Biološka aktivnost. U prvoj tematskoj celini data je klasifikacija jedinjenja na osnovu hemijske strukture, istaknuta opšta fizička i hemijska svojstva hidrazona uz poseban osvrt na svojstva i sintezu ove vrste jedinjenja. U drugoj celini analizirana je tautomerija i izomerija hidrazona kao i primena FT-IR, UV-Vis, NMR spektroskopije i principa rendgenske strukturne analize u ispitivanju ovog fenomena. U trećem delu opisan je uticaj rastvarača na UV-Vis apsorpcione spektre sa osvrtom na empirijske parametre polarnosti rastvarača, dok su u narednoj, četvrtoj oblasti, opisane linearne zavisnosti slobodnih energija. Teorije funkcionala gustine prikazane su u petoj celini uz literaturni osvrt na primenu kvantno-hemijskih proračuna u ispitivanju izomerije (T)CHs. Pretposlednji deo Teorijskog dela ove disertacije posvećen je opisu metoda za analizu odnosa strukture i aktivnosti jedinjenja (QSAR), uz detaljan opis metoda i metodologije za izračunavanje molekulskih deskriptora izvedenih iz polja molekulskih interakcija. Poslednje celina se odnosi na opis metoda i principa korišćenih za određivanje važnih fizičko-hemijskih karakteristika biološki aktivnih jedinjenja (pK_a vrednosti) kao i korišćenih metoda bioloških ispitivanja jedinjenja uz literaturni pregled biološke aktivnosti do sada poznatih (T)CHs.

Eksperimentalni deo obuhvata prikaz sinteze četrdesetšest (T)CHs kao i njihovu potpunu karakterizaciju (temperatura topljenja, elementalna analiza, FT-IR, 1H NMR, ^{13}C NMR, kao i 2D spektroskopska karakterizacija za nova jedinjenja (COSY (korelaciona spektroskopija), NOESY (dvodimenzionalna NOE spektroskopija), 1H - ^{13}C HSQC (heteronuklearna jednokvantna korelaciona spektroskopija), 1H - ^{13}C HMBC (heteronuklearna korelaciona spektroskopija preko više hemijskih veza) a za pojedina jedinjenja i 1H - ^{15}N HSQC, 1H - ^{15}N HMBC). Takođe, u ovom poglavlju navedene su dodatne metode karakterizacije, rendgenska strukturna analiza i masena spektrometrija, kao i detaljan opis eksperimentalnih i računarskih procedura korišćenih u okviru doktorske disertacije.

Rezultati i diskusija su prikazani u okviru jednog poglavlja, koje se sastoji iz sedam tematskih celina: 1) Strukturna i spektralna analiza hidrazona dihidrazida ugljene kiseline (*m*-CHs); 2) UV-Vis spektralna analiza; 3) Određivanje konstanti kiselosti; 4) Masena

spektrometrija; 5) TD-DFT proračuni: priroda graničnih molekularskih orbitala i kvantifikacija ICT-a (intramolekulski prenosi naelektrisanja, eng. Intramolecular Charge Transfer); 6) Kvantno-hemijsko proučavanje stabilnosti hinolinskih derivata mono- i bis- (T)CHs; 7) Ispitivanje biološke aktivnosti (T)CHs. U okviru prve celine prikazani su i analizirani rezultati karakterizacije sintetisanih *m*-CHs. Na osnovu odgovarajućih korelacija u 2 D NOESY i ¹H-¹⁵N HMBC spektima diskutovano je o mogućim konformacijama tri *m*-CHs u DMSO-u. Prikazani su rezultati rendgenske strukturne analize za dva jedinjenja iz ove serije kao i rezultati optimizacije geometrije ove serije jedinjenja kvantno-hemijskim proračunima. U okviru druge celine ispitan je uticaj rastvarača, kao i uticaj prirode i položaja "aza" azota i hidroksilne grupe u fenilnom/hinolinskom jezgru i prisustva metil grupe na azometinskom ugljeniku na položaj apsorpcionih maksimuma. Uticaj specifičnih i nespecifičnih interakcija rastvarača na apsorpcione maksimume keto tautomera ove serije jedinjenja analiziran je linearnim korelacijama solvatohromnih energija, Kamlet-Taftovom i Catalán-ovom jednačinom. Osim toga prikazani su rezultati ispitivanja uticaja solvatacije i supstituenata na azometinskom ugljeniku na UV-Vis apsorpcione spektre i NMR pomeranja proučavanih jedinjenja. U ovom delu disertacije ispitan je uticaj UV zračenja na odgovarajućim talasnim dužinama i u određenom vremenskom periodu na promenu konformacije odabranih jedinjenja, kao i uticaj rastvarača, položaja atoma azota u piridinskom jezgru i prisustva metil grupe na iminskom atomu ugljeniku na proces izomerizacije. Dodatno je ispitan uticaj mogućnosti formiranja intra- i inter- molekulske vodonične veze na reverzibilnost procesa uz praćenje kinetike reakcije. U okviru treće celine određene su konstante kiselosti (pK_a) serije *m*-CHs *E* oblika, koji u rastvoru mogu postojati u dva različita izomerna oblika, a primenom LFER analize diskutovano je o uticaju strukture jedinjenja na prenošenje elektronskih efekata supstituenata. Višestepenom masenom spektrometrijom (MS-MSⁿ) u četvrtoj celini rezultata i diskusije detaljno su definisani fragmentacioni putevi i strukture fragmenata uz diskusiju o uticaju supstituenata na način fragmentisanja. U petoj tematskoj celini pri analizi uticaja supstituenata na konjugaciju i karakter ICT-a u molekulima, značajna interpretacija eksperimentalnih rezultata izvršena pomoću kvantno-hemijskih metoda, *ab initio* MP2 i DFT metoda. Uticaj efekata supstituenata, solvatohromizam i promene u distribuciji ukupnog naelektrisanja u osnovnom i ekscitovanom stanju na osnovu proračuna HOMO/LUMO energija ($E_{\text{HOMO}}/E_{\text{LUMO}}$) i E_{gap} analiziran je primenom TD-DFT metode. Osim toga kao dodatni rezultati iz proračuna prikazane su vrednosti oscilatorne snage, vertikalne energije ekscitacije i elektronskih prelaza. TD-DFT metoda je korišćen i za kvantifikaciju ICT-a proračunavanjem rastojanja prenosa naelektrisanja (D_{CT}) i količine prenetog naelektrisanja (Q_{CT}). Optimizacija (T)CHs na bazi hinolina i poređenje teorijskih i eksperimentalnih NMR spektara izvršena je u šestoj tematskoj celini ovog poglavlja. U poslednjem delu ovog poglavlja prikazni su rezultati prvog organizovanog ispitivanja antitumorske aktivnosti dvanaest ((T)CHs na bazi hinolina. Ispitivanja su urađena na kulturama humane akutne monocitne leukemije (THP-1) i humanog karcinoma pankreasa (AsPC-1) i analiziran je uticaj strukture jedinjenja na antikancer aktivnost. Takođe su analizirani podaci o vezivanju potencijalno najjaktivnijeg jedinjenja za HSA na osnovu eksperimentalnih, termodinamičkih i doking podataka. Osim antikancer testova na osnovu rezultata sistematskog testiranja antimikrobne i antioksidativne aktivnosti svih sintetisanih jedinjenja diskutovano je o uticaju strukture ispitivanih jedinjenja na dobijene rezultate biološke aktivnosti. Sam kraj ove celine posvećen je primeni QSAR tehnike molekularskog modelovanja u svrhu racionalizacije odnosa između strukture jedinjenja i njihove antimikrobne aktivnosti. Analiziran je odnos između strukture i antimikrobne aktivnosti hidrazona i dihidrazona dihidrazida tiougljene

kiseline uz sistematsko poređenje MIF-ova (polja molekularskih interakcija, eng. Molecular Interaction Fields) aktivnih mesta i predloge o strukturnim promenama potrebnim da bi se poboljšala aktivnost jedinjenja.

U poglavlju **Zaključak** sumirani su najznačajniji zaključci proistekli iz rada na ovoj disertaciji.

Navedena **Literatura** obuhvata radove iz oblasti istraživanja i pokriva sve delove disertacije.

U **Prilogu** su dati dodatni eksperimentalni podaci dobijeni u okviru proučavanja opisanih u poglavlju Rezultati i diskusija, kao i slike NMR spektara odabranih jedinjenja.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost i originalnost

S obzirom da veliki broj biohemijski važnih supstanci i lekova u svojoj strukturi sadrži heterociklični prsten, ispitivanje fizičko-hemijskih i biloških svojstava jedinjenja i određivanja fizioloških aktivnosti baziranih na heterocikličnim strukturama su bitna kako sa stanovišta fundamentalne nauke tako i u cilju njihove eventualne primene kao biološki aktivnih jedinjenja. *N*-Heteroaromatični (tio)semikarbazoni su jedinjenja poznata u medicinskoj hemiji po svojim biološkim aktivnostima. Jedan od predmeta rada ove doktorske disertacije odnosi se na sintezu serije *N*-heteroaromatičnih hidrazona dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline koji se od (tio)semikarbazona razlikuju po tome što imaju jednu -NH₂ grupu vezanu za (tio)amidni atom azota. Ustanovljene mete za ove klase jedinjenja su enzim ribonukleotid reduktaza, mitohondrije i endoplazmatični retikulum. Za očekivati je da će *N*-heteroaromatični monohidrazoni ugljene i tiougljene kiseline i sami pokazati značajnu biološku aktivnost, zbog analogije sa odgovarajućim (tio)semikarbazonom. S druge strane, postojanje dodatne -NH₂ grupe omogućava građenje dihidrazona dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline za razliku od (tio)semikarbazona, i u ovoj disertaciji je izvršeno ispitivanje uticaja prisustva još jednog *N*-heteroaromatičnog prstena na biološku aktivnost.

Primena kvantno-hemijskih izračunavanja u ovoj disertaciji su korisna za predviđanje fizičko-hemijskih i bioloških svojstava tj. određivanje kvantitativne veze između strukture i svojstava jedinjenja. Ispitivanjem uticaja različitih rastvarača može se doći do saznanja o odnosu elektronske strukture i svojstava ispitivanih jedinjenja, dok istraživanje uticaja rastvarača predstavlja osnovu za tumačenje fizičko-hemijskih svojstava ispitivanih jedinjenja i razumevanje elektronske strukture sintetisanih jedinjenja. Primena različitih modela linearnih korelacija slobodnih energija na NMR, UV-Vis hemijska pomeranja i p*K*_a vrednosti (korišćenjem Hammet-ove jednačine) omogućava proučavanje načina prenošenja elektronskih efekata supstituenata.

Do danas, nije objavljena ni jedna komparativna studija biološke i antioksidativne aktivnosti hidrazona i dihidrazona na bazi dihidrazida ugljene/tiougljene kiseline, a gotovo ništa se ne zna o njihovom mehanizmu dejstva. U ovoj disertaciji sprovođenjem sistematskog testiranja biološke aktivnosti na mikroorganizmima i ćelijskim kulturama malignih tkiva izvršena je analiza uticaja tipa supstitucije na heteroaromatičnim prstenovima, kao i prirode halkogenog atoma na biološku aktivnost. Što se tiče ćelijskih kultura malignih tkiva, istraživanja su urađena na kulturama humane akutne monocitne leukemije i humanog karcinoma pankreasa. Od posebnog značaja je ćelijska kultura AsPC-1 koja spada u kategoriju matičnih ćelija malignog tkiva koje su uzrok nastanka metastatskih tumora i povratka bolesti nakon uspešnog lečenja

hirurškim uklanjanjem prvobitnog tumora i citostatskom terapijom. Osim na standardnim 2-D modelima, testiranje na AsPC-1 ćelijama urađeno je i na 3-D modelima koji predstavljaju mikrotkivne tumorske formacije i omogućavaju znatno precizniju procenu antitumorske aktivnosti u odnosu na 2-D kulture. Ispitivanjem povezanosti između svojstava sintetisanih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti dolazi se do značajnih saznanja o delovima molekula koji su zaslužni za aktivnost jedinjenja. U cilju pronalaženja novih lekova iz grupe ispitivanih jedinjenja, testiranjem na vezivanje jedinjenja za humani serum albumin, čija je sposobnost akumulacije u čvrstim tumoriuma izazvala veliko interesovanje medicinskih hemičara, je od velike koristi.

Korišćene tehnike molekuskog modelovanja su vrlo korisne za racionalizaciju i predviđanje fizičko-hemijskih osobina i biološke aktivnosti, čime se olakšava proces otkrića, dizajna i razvoja novih lekova. Što se tiče 3D QSAR modela, korišćenjem GRIND (GRid nezavisni deskriptori, eng. GRid Independent Descriptors) metodologije domen primenljivosti kreiranih modela značajno se proširuje. Na osnovu prikazanih metoda i rezultata u ovoj doktorskoj disertaciji, kao i na osnovu opsežnog pregleda literature, može se zaključiti da se istraživanja u okviru ove doktorske disertacije uklapaju u svetske trendove i ukazuju na značaj i aktuelnost proučavane problematike.

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U okviru doktorske disertacije citirano je ukupno 283 reference, koje ukazuju na aktuelnost istraživanja u ispitivanoj oblasti. Većina referenci je publikovana u poslednje dve decenije i predstavlja naučne radove objavljene u vrhunskim međunarodnim časopisima sa tematikom značajnom za izradu doktorske disertacije. Istraživanja prikazana u navedenim referencama su korišćena za planiranje eksperimentalnog rada, analizu i tumačenje rezultata dobijenih tokom izrade doktorske disertacije i izvođenje zaključaka. Pregledana obimna literatura i priloženi objavljeni radovi ukazuju na adekvatno poznavanje predmetne oblasti istraživanja.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

Sastav svih novo-sintetisanih jedinjenja određen je elementalnom analizom. Karakterizacija je urađena primenom XRD, kao i FT-IR, UV-Vis i heteronuklearne-multidimenzionalne NMR spektroskopije. Na osnovu NMR podataka izvršeno je se dodeljivanje asignacija hemijskih pomeranja odgovarajućih atoma, dok je XRD dao podatke o uglovima i dužinama veza jedinjenja dobijenih u obliku monokristala.

Kvantno-mehanička izračunavanja geometrije ispitivanih jedinjenja izvršena su DFT metodom, sa B3LYP/6-311++G(d,p) bazis setom. Proračun hemijskih pomeranja (^1H i ^{13}C) atoma ugljenika i vodonika izračunat je GIAO/WP04/aug-cc-pVDZ. UV-Vis apsorpcione energije jedinjenja i karakteristike osnovnog i pobuđenog stanja dobijene su pomoću vremenski zavisne DFT metode (TD-DFT) proračunate na MP2/6-31G(d,p) optimizovanim geometrijama. Simulacija TD-DFT proračuna u DMSO-u je izvedena pomoću modela CAM-B3LYP i 6-311G(d,p) bazisnog seta. Kvalitativni indeks transfera naelektrisanja: udaljenost transfera naelektrisanja, količina promenjene energije i vrednosti variranja dipolnog momenta između osnovnog i ekcitanog stanja (μ_{CT}) su izračunate primenom metode predložene od strane Le Bahers i saradnika. Svi hemijski proračuni izvedeni su uz korišćenje Gaussian09 programa.

AIM (atom u molekulu, eng. Atoms-in-Molecules) analize talasne funkcije osnovnog stanja su određene programom Multifwfn. 3D QSAR modeli su napravljeni u programu Pentacle 1.06. koji izračunava deskriptore GRIND-2 iz MIF-ova. Važne pozicije oko molekula (hot spots) ekstrahovane su iz MIF-ova koristeći AMANDA diskretizacioni algoritam. Kodiranje profiliranih MIF-ova u GRIND varijable urađeno je pomoću MACC2 algoritma. PCA je korišćena kao metoda za grupisanje jedinjenja i proučavanje njihove sličnosti, dok je PLS regresija upotrebljena za dobijanje kvantitativne veze između biološke aktivnosti i GRIND-a. 3D strukture jedinjenja generisane su iz SMILES (eng. Simplified Molecular-Input Line System) zapisa u programu OMEGA 2.4.3, koristeći MMFF94s polje sila i predefinisana podešavanja, birajući samo najstabilniju konformaciju. Strukture su dodatno optimizovane koristeći semiempirijski PM6 metod u programu MOPAC 2016 i koristeći VEGA ZZ ZZ 3.1.0 program kao GUI (Grafčki korisnički interfejs, eng. Graphical User Interface).

Elektronska struktura ispitivanih jedinjenja proučavana je primenom principa korelacije slobodnih energija - (LFERs) na NMR i UV-Vis hemijska pomeranja i pK_a vrednosti. U svrhu ispitivanja uticaja rastvarača na sintetisane molekule određeni su UV apsorpcioni maksimumi za jedinjenja u izabranom setu rastvarača različite polarnosti. Efekat rastvarača, kao i uticaj supstancija na solvatomorne karakteristike proučavani su Kamlet-Taftovom solvatomornom jednačinom i modelom koji je predložio Catalan. Intramolekulski prenos naelektrisanja ispitivan je primenom LSER metoda i kvantno-hemijskim metodama izračunavanjem energija prelaza i HOMO-LUMO orbitala.

U cilju povezivanja strukture i aktivnosti za određivanje antioksidativne aktivnosti jedinjenja korišćen je DPPH (sa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazinom) spektrofotometrijski test, dok je antimikrobna aktivnost određivana agar difuzionom i mikrodilucionom metodom. Za ispitivanje vezivanja najaktivnijih jedinjenja za HSA korišćena je metoda fluorescentne spektroskopije.

Za definisanje fragmentacionih puteva korišćen je maseni spektrofotometar LTQ XL linerani jonski trap (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) sa elektrosprej jonizacijom (ESI). Rezultati su obrađivani korišćenjem Xcalibur® 2.3 (Thermo Fisher) softverskog paketa.

Potenciometrijske titracije su izvedene na automatskom titratoru CRISON PH - Burette 24 2S, Version 3.0, sa kombinovanom mikro-elektrodom CRISON 50 29. Za izračunavanje konstanti kiselosti korišćeni su podaci dobijeni kalibracijom sistema Grann-ovom metodom korišćenjem softverskog paketa GLEE. Eksperimentalnih podaci su obrađeni u softverskom paketu HYPERQUAD2008.

Sposobnosti jedinjenja da tretirane ćelije uvedu u proces programirane ćelijske smrti (apoptoza), promene po fazama ćelijske deobe, aktivacija spoljašnjeg i/ili unutrašnjeg kaspaznog puta, utvrđivanje sposobnosti jedinjenja da iniciraju diferencijaciju matičnih ćelija raka i formiranje superoksidnog radikala u mitohondrijama rađene su na protočnom citometru (Guava® easyCyte 12HT Benchtop) korišćenjem kompatibilnog softvera (InCyte® software package). Uticaj na rast 3-D tumorskog modela izveden je na vizuelnom sistemu (Celigo® imaging cytometer) korišćenjem kompatibilnog softvera (Celigo® software). U sklopu svih analiza netretirane ćelije su bojene odgovarajućim fluorescentnim markerima i služile kao negativna kontrola. Sva ispitivanja izvedena su u najmanje dva ili više ponavljanja.

3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Eksperimentalni podaci i istraživanja sprovedena u okviru ove disertacije značajno doprinose boljem razumevanju uticaja strukture jedinjenja na biološku aktivnost. Osim toga,

doprinosu proširenju fundamentalnih znanja iz oblasti organske sinteze i strukture *N*-heterocikličnih ((T)CHs), kao i razvoju novih jedinjenja i povezivanju kvantno-hemijskih proračuna sa eksperimentalnim podacima. Prikazani rezultati daju nova saznanja o uticaju prisustva hidroksilne grupe i položaja "aza" azota u fenilnom jezgru na mogućnost formiranja međumolekulskih veza i mogućnost izomerizacije u rastvoru što je veoma bitan faktor pri ispitivanju biološke aktivnosti jer je ustanovljeno da jedinjenja u različitim konformacijama mogu pokazivati različitu biološku aktivnost. Osim toga dobijene *pKa* vrednosti mogu se koristiti za određivanje i predviđanje ADMET osobina jedinjenja (adsorpcija, distribucija, metabolizam, eliminacija i toksičnost). Takođe, prikazani rezultati doprinose potpunijem sagledavanju uticaja hinolinskog jezgra na antikancer aktivnost jedinjenja, a rezultati QSAR analize iznete u okviru disertacije su značajni za predviđanje fizičko-hemijskih osobina i biološke aktivnosti, čime se olakšava proces otkrića, dizajna i razvoja novih lekova.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

Kandidat Aleksandra Božić, dipl. inž. tehnologije, je tokom izrade doktorske disertacije ispoljila stručnost u pripremi i realizaciji eksperimenata, korišćenju različitih tehnika karakterizacije jedinjenja i analizi rezultata. Komisija smatra da kandidat poseduje sve kvalitete koji su neophodni za samostalan naučni rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

Rezultati istraživanja u okviru ove doktorske disertacije doprineli su:

- proširenju fundamentalnih znanja iz oblasti ispitivanja svojstava *N*-heteroaromatičnih hidrazonskih derivata,
- proširenju broja novih hidrazonskih derivata koji imaju različite *N*-heteroaromatične supstituente,
- analizi prenosa elektronskih efekata supstituenata u okviru serije *N*-heteroaromatičnih hidrazonskih derivata,
- saznanjima o odnosu strukture i svojstava ispitivanih jedinjenja, primenom principa linearnih korelacije slobodnih energija tj. LFER i LSER metoda,
- detaljnoj analizi uticaja supstituenata, (LFER analiza) i efekata rastvarača (LSER analiza) na apsorpcione maksimume i intramolekulski prenos naelektrisanja u ispitivanim jedinjenjima,
- analizi prenosa elektronskih efekata supstituenata primenom LFER principa, primenom Hammett-ove jednačine na NMR hemijska pomeranja i *pKa* vrednosti *m*-CHs,
- novim saznanjima o uticaju prisustva hidroksilne grupe i položaja "aza" atoma azota u fenilnom jezgru na mogućnost formiranja međumolekulskih veza i mogućnost izomerizacije u jedinjenju u rastvoru,
- saznanjima o antitumorskim aktivnostima nosintetisanih hidrazona na ćelijskim kulturama THP-1 i AsPC-1,
- preciznijoj proceni antitumorske aktivnosti testiranjem ćelija AsPC-1 osim na standardnim 2-D modelima i na 3-D modelima koji predstavljaju mikrotivne tumorske formacije,

- uspostavljanju povezanost između strukture uspostavljanju povezanost između strukture *N*-heteroaromatičnih (T)CHs i antioksidativne aktivnosti,
- objašnjenju uticaja halkogenog atoma na biološku aktivnost,
- pravljenju 3D QSAR modela antibakterijske aktivnosti hidrazona i dihidrazona dihidrazida tiougljene kiseline, pomoću koga je moguće dizajnirati nove, aktivnije derivate kao i pronaći nove tipove struktura sa sličnim biološkim dejstvom.

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Sagledavanjem ciljeva i postavljenih hipoteza u odnosu na dobijene rezultate, može se konstatovati da prikazana istraživanja u potpunosti zadovoljavaju kriterijume jedne doktorske disertacije. Uvidom u dostupnu literaturu iz ove oblasti, kao i u rezultate koji su dobijeni primenom adekvatne metodologije, može se konstatovati da su korišćene metode u skladu sa savremenim metodama i da su rezultati u ovoj doktorskoj disertaciji značajni sa naučnog aspekta.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Kandidat Aleksandra Božić, dipl. inž. tehnologije je svoje rezultate potvrdila objavljivanjem radova u međunarodnim časopisima. Iz disertacije su proistekla dva rada objavljena u međunarodnim časopisima.

Kategorija M21:

1. **Aleksandra Božić**, Aleksandar Marinković, Snežana Bjelogrić, Tamara Todorović, Ilija Cvijetić, Irena Novaković, Christian Muller, Nenad Filipović, Quinoline based mono- and bis-(thio)carbohydrazones: synthesis, anticancer activity in 2D and 3D cancer and cancer stem cell models, *RSC Advances*, 6 (2016), 104763–104781. DOI:10.1039/C6RA23940D (IF=3,485). ISSN: 2046-2069.

Kategorija M23:

1. **Aleksandra Božić**, Nenad Filipović, Irena Novaković, Snežana Bjelogrić, Jasmina Nikolic, Saša Drmanic, Aleksandar Marinković, Synthesis, antioxidant and antimicrobial activity of carbohydrazones, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 82 (2017), 1–14. DOI:10.2298/JSC161220045B (IF=0,997). ISSN: 0352-5139.

Kategorija M64:

1. **Aleksandra Božić**, Aleksandar Marinković, Milan Senčanski, Nenad Filipović, Synthesis, characterization and pro-apoptotic activity of thiocarbohydrazones on pancreatic adenocarcinoma stem cells (AsPC-1), Third Conference of Young Chemists of Serbia, Belgrade, Serbia (2015), Book of abstracts p.28, ISBN 978-86-7132-059-7.

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega napred izloženog, Komisija smatra da doktorska disertacija Aleksandre Božić, dipl. inž.tehnologije, pod nazivom „**N-Heteroaromatični hidrazoni i dihidrazoni dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline: karakterizacija, kvantnomehanička studija i biološka aktivnost**“ predstavlja značajan, originalni naučni doprinos u oblasti Hemijskih nauka, što je potvrđeno, između ostalog i objavljivanjem radova u relevantnim časopisima međunarodnog značaja, kao i prezentovanjem rezultata istraživanja na konferenciji.

Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da se doktorska disertacija pod nazivom „**N-Heteroaromatični hidrazoni i dihidrazoni dihidrazida ugljene i tiougljene kiseline: karakterizacija, kvantnomehanička studija i biološka aktivnost**“ kandidata **Aleksandre Božić**, dipl. inž.tehnologije, prihvati, izloži na uvid javnosti i uputi na konačno usvajanje Veću naučnih oblasti prirodnih nauka Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 22. 05. 2017.

ČLANOVI KOMISIJE

Dr Aleksandar D. Marinković, docent Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Nenad Filipović, docent Univerziteta u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Dušan Antonović, redovni profesor Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Suzana Dimitrijević, redovni profesor Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr sc. med. Snežana Bjelogrić, naučni saradnik na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije