

Универзитет саопшћен
Станковић

ПРИМЉЕНО	21.02.2018			
Орг. јед.	03	150/1	-	-

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА
У КРАГУЈЕВЦУ
ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У
КРАГУЈЕВЦУ**

Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације **Невене Станковић**

На редовној седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу одржаној 31.01.2018. године (број одлуке 70/XI-1) и седници Већа за природно-математичке науке одржаној 14.02.2018. године (број одлуке IV-01-102/9) донете су одлуке о именовању Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом:

„Фармакологија и токсиколошки профил новосинтетисаних деривата хроман-2,4-диона у функцији антикоагулативне активности *in vivo*“

кандидата **Невене Станковић**, дипломираног хемичара за истраживање и развој.

Невена Станковић поднела је рукопис своје докторске дисертације Наставно-научном већу Природно-математичког факултета на оцену. Чланови Комисије имали су детаљан увид у поменути рукопис, пажљиво га прегледали, проценили научни квалитет дисертације и указали на потребне корекције у сврху побољшања квалитета презентације научног материјала и добијених резултата. Кандидат је усвојио све сугестије Комисије чиме су се стекли услови да Комисија поднесе Наставно-научном већу Природно-математичког факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

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

Научни садржај предложене докторске дисертације кандидата Невене Станковић јесте синтеза, фармаколошки и токсиколошки профил нових деривата хроман-2,4-диона и 4-хидроксикумарина (таутомерних облика хроман-2,4-диона) као антагониста витамина К и антикоагуланата *in vivo*. Антагонисти витамина К јесу клинички медикаменти у третману атријалне фибрилације срчане преткоморе, венске тромбозе, зачепљења крвних судова, док се превентивно примењују код пацијената са клиничком сликом претрпљеног срчаног удара и шлога. Витамин К јесте кофактор фактора коагулације II, VII, IX и X, односно протеина C и S, те стога представља атрактивну молекулску мету у дизајну лекова. Своју физиолошку улогу испољава као коензим витамин К-зависне карбоксилазе која катализује активацију витамин К-зависних фактора коагулације γ -карбоксилацијом остатака глутаминске киселине. Као коензим, витамин К током карбоксилације прелази из хидрохинонске у форму витамин К-2,3-

епоксида. Реакцију редукције витамин К-2,3-епоксида у хидрохинонску форму катализује витамин К-2,3-епоксид редуктаза субјединица 1 (VKORC1), трансмембрански рецептор ендоплазматичног ретикулума јетре. Антикоагулативна активност антагониста витамина К управо се одвија на нивоу превенције редукције витамин К-2,3-епоксида катализоване са VKORC1. Сходно томе, већина клинички употребљаваних антикоагуланата јесу антагонисти VKORC1.

Најпознатији клинички антикоагуланти антагонисти витамина К (енг. Vitamin K Antagonists, VKAs) јесу деривати 4-хидроксикумарина: варфарин (Farin®), аценокумарол, дикумарол, маркумар и циклокумарол. Иако се већ више од пола века ови лекови користе у клиничкој хематологији, њихова изразита нежељена дејства пружају могућност сталног развоја нових VKA.

Прогрес у разумевању топологије и фармакологије VKORC1 омогућио је развој нових VKAs. Са помаком у разумевању механизма антагонистичког дејства варфарина, нови VKAs постали су предмет научне дебате у оквиру биохемије, медицинске хемије и хематологије. Предложена докторска дисертација управо се бави синтезом нових деривата хроман-2,4-диона и 4-хидроксикумарина, те њиховим потенцијалом за примену у клиничкој хематологији.

2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у области Биохемије

Докторска дисертација под насловом „Фармакологија и токсиколошки профил новосинтетисаних деривата хроман-2,4-диона у функцији антикоагулативне активности *in vivo*” кандидата Невене Станковић, припада научној области Хемија, ужа научна област Биохемија. Предмет изучавања ове докторске дисертације је дефинисање антикоагулативне активности осам новосинтетисаних деривата хроман-2,4-диона и 4-хидроксикумарина, означених са **2a-h**. На основу добијених резултата примењених анализа, могу се извести следећи закључци:

Сходно експерименталним резултатима, закључено је да антикоагулативна активност тестираних антагониста витамина К у многоме зависи од фармакокинетичких особина антагониста, проистеклих из интеракције са серумским албумином. Од свих тестираних једињења, једино су за деривате **2a** и **2f** израчунате вредности тачака независних концентрација приближне варфарину, што је указало да се везивање антикоагуланта и деривата **2a** и **2f** за серумски албумин одвија на сличан начин, те да се ова два једињења могу издвојити од осталих као потенцијални антикоагуланти *in vivo*. Ови нови антикоагуланти, након транспорта серумским албумином до ендоплазматичног ретикулима јетре, антагонирају VKORC1. Транспорт једињења **2a** и **2f** помоћу албумина врши се на идентичан начин као и код варфарина, што је потврђено упоређивањем апсорпционих максимума UV-Vis спектра и конформација молекула у ПА субдомену серумског албумина. Ипак, **2a** и **2f** су јаче везани за транспортни протеин него варфарин, што се може закључити на основу израчунате константе дисоцијације и афинитета везивања. Јаче везивање тестираних антикоагуланата за крвни носач јесте предулсов смањења концентрације слободних антикоагуланта у крвној плазми и значајно се смањује ризик од унутрашњег крварења.

Након основне евалуације ADMETоx особина, констатовано је да **2a** и **2f** поседују повољна претклиничка својства да би се користили као лекови.

Испитивањем антикоагулативне активности у *in vivo* условима, након интраперитонеалног третмана лабораторијских животиња из Wistar соја једињењима **2a-h**, у три различите концентрације (0,5, 1 и 2 mg/kg телесне масе), као потенцијални антикоагуланти *in vivo* издвојили су се деривати **2a** и **2f**, обзиром на висок ниво показане активности у концентрацији од 2 mg/kg телесне масе. Протромбинско време за ове деривате износило је 90 секунди, за **2a**, односно 130 секунди, за **2f**. Издвојени деривати потом су тестирани и као орални антикоагуланти на лабораторијским животињама, у концентрацији од 20 mg/kg телесне тежине, када је третман изведен седам дана узаступно. На основу измерених вредности за протромбинско време, оба једињења показала су добар потенцијал у антагонирању циклуса коагулације крви. Протромбинско време једињења **2a** било је 56,63 секунди, док је за **2f** измерено 60,08 секунди. Добијене INR вредности у распону од 2 до 3 јесу клинички прихватљиве и препоручују испитивана једињења као лекове приликом лечења атријалне фибрилације, венске тромбозе и механичких срчаних залистака.

Студијама молекулског моделирања на нивоу хомологог модела *Rattus norvegicus* VKORC1 (*rVKORC1*) расветљен је механизам антикоагулативне активности деривата **2a** и **2f**. Тако, молекулским доковањем деривата у активном центру *rVKORC1* омогућен је јасан увид у структурне аспекте неопходне за активност који су касније потврђени генерисањем CoMFA и CoMSIA 3-D QSAR студија, те 3-D фармакофорним моделом. Сходно експерименталним резултатима, деривати **2a** и **2f** испољавају антикоагулативну активност као реверзибилни антагонисти *rVKORC1*. Из дефинисаних биоактивних конформација може се закључити да **2a** и **2f** своју антикоагулативну активност испољавају након кључне интеракције са аминокиселином из активног центра *rVKORC1*, *rCys135*, као акцептори водоничне везе, прихватањем протона са сулфхидрилне групе са *rCys135*. Као акцептор водоничне везе нотиран је карбонилни кисеоник на положају C4 хроман-2,4-дионског језгра деривата. Трансфер протона са *rCys135* на C4 карбонилни кисеоник хроман-2,4-дионског језгра потврђен је молекулским доковањем, формирањем одговарајуће водоничне везе, затим CoMFA и CoMSIA PLS-кофицијентима, НВА особиним унутар 3-D фармакофорног модела и молекулском динамиком. По редукцији положаја C4 хроман-2,4-дионског језгра, могућа је спонтана интрамолекулска таутомерија до 4-хидроксикумарина и екскреција деривата путем урина већ утврђеним фазама метаболизма. Остала једињења не могу да се редукују овим механизмом, те стога не испољавају антикоагулативну активност. Поред тога, заједнички хроман-2,4-дионски прстен деривата **2f** и **2a** успоставља јаке хидрофобне интеракције са ароматичним језгром *rTyr139*. Додатна стабилизација деривата **2f** у активном центру се огледа у томе што је *rTyr139* позициониран између два хроман-2,4-дионска језгра услед повољног просторног распореда етилендиаминског моста. Ове хидрофобне интеракције такође су потврђене и CoMFA и CoMSIA PLS-кофицијентима, Ну особиним унутар 3-D фармакофорног модела и молекулском динамиком. Додатно, студијама молекулске динамике симулиран је процес генерисања комплекса између деривата **2f** и **2a** и *rVKORC1* у хелијској мембрани ендоплазматског ретикулума јетре. Оваквим видом конформационе анализе потврђено је присуство

водоничне везе са *rCys135* која је кључна за антикоагулативну активност **2f** и **2a**, али је констатовано и формирање веома стабилне водоничне везе између амидног азота *rAsn142* и карбонилног кисеоника другог језгра хроман-2,4-диона деривата **2f**. Формирање ове водоничне везе може допринети разумевању бољег антикоагулативног потенцијала **2f** у односу на **2a**.

По дефинисању фармакологије испитиваних деривата као антикоагуланата *in vivo*, процењена је токсичност након интраперитонеалног и оралног третмана дериватима **2a-h**, одређивањем степена оштећења јетре и бубрега. Процена оштећења виталних органа извршена је испитивањем биохемијских параметара из серума, попут каталитичке активности ензима аспартат трансминазе (AST), аланин трансминазе (ALT) и алкалне фосфатазе (ALP), концентрације укупних билирубина, и антиоксидативних параметара, концентрације редукованог глутатиона, каталитичких активности каталазе и супероксид дисмутазе, и концентрације малондиалдехида. Токсиколошке анализе, након интраперитонеалног и оралног третмана лабораторијских животиња потврдиле су да једињења у клиничким условима не изазивају оштећења ткива.

Одсуство значајнијег оштећења на узорцима ткива јетре и бубрега третираним дериватима **2a** и **2f** потврђено је и хистопатолошким анализама. У односу на варфарин, промене на ткивима третираним **2a** и **2f** знатно су мањег интензитета, и огледају се у виду инфилтрације лимфоцита, леукоцита и макрофага и минималне фокалне некрозе.

Финална процена токсиколошког профила деривата извршена је на нивоу генома јетре и бубрега, применом комет теста. Од свих тестираних деривата, издвојили су се **2a**, **2b** и **2f** као агенси који нису изазвали оштећења ДНК. Они су даље подвргнути испитивањима антигенотоксичног потенцијала у односу на ЕМС, као доказани мутаген. Како је претретманом дериватима **2a**, **2b** и **2f** дошло до редукције укупног скорa комета насталих дејством ЕМС-а, тако се ови деривати могу сматрати антигенотоксичним агенсима. Ови деривати испољавају свој антигенотоксични ефекат као инхибитори АТРаза субдомена унутар *Rattus norvegicus* Топоизомеразе IIа (*rTopIIa*). Механизам антигенотоксичности потврђен је студијама молекулског доковања и молекулске динамике, те израчунавањем слободне енергије везивања деривата **2a-h** за *rАТРа*зу. Сходно испољеној антигенотоксичној активности, доказано је да се једињења **2a** и **2f** могу подвргнути даљим клиничким испитивањима без опасности да ће изазвати оштећења ДНК. Са друге стране, **2b** као једињење без антикоагулативне активности, али са антигенотоксичним ефектом може се користити у анти-канцер терапији алкилирајућим агенсима као контролор степена алкилације. Остала једињења са генотоксичним ефектом **2c**, **2d**, **2e**, **2g** и **2h** такође се могу користити у анти-канцер терапији као агенси који активирају цитотоксично деловање ензима *rTopIIa*, и на тај начин спречавају репликацију, транскрипцију и транслацију, односно последичну биосинтезу протеина ћелија тумора.

Оригиналност и актуелност резултата ове докторске дисертације потврђена је публикавањем три научна рада у међународним часописима са SCI листе (један из категорије M21a, један M21 и један M22 рад). На основу свега наведеног, може се закључити да је поднет рукопис резултат оригиналног научног рада кандидата у области Биохемије.

3. Преглед остварених резултата рада кандидата у области Биохемије

Невена Станковић је у досадашњем научно-истраживачком раду постигла значајне резултате из области хемије природних производа, биохемије, медицинске хемије, хематологије и хемоинформатике из чега је проистекао већи број научних публикација, у реномираним научним часописима међународног значаја (категорије M20). Поред тога, кандидат је учествовао на бројним научним конференцијама, како домаћег, тако и међународног карактера. Резултати досадашњег истраживачког рада Невене Станковић објављени су у међународним научним часописима (укупно 17), у виду саопштења на међународним (укупно 29) и домаћим (укупно 5) научним скуповима, што збирно чини 51 библиографских јединица.

Радови објављени у научним часописима међународног значаја (M20):

1. S. Radenkovic, S. Markovic, R. Kuc, N. **Stanković**, The diradical character of polyacenequinododimethides, *Monatshefte Fur Chemie* 142 (2011) 1013-1019. DOI: 10.1007/s00706-011-0557-8
IF₂₀₁₁=1.532; **M22** (Chemistry, Multidisciplinary 69/154); ISSN: 0026-9247
2. M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, S. Solujić, V. Mihailović, N. **Stanković**, J. Katanić, Combining molecular docking and 3-D pharmacophore generation to enclose the *in vivo* antigenotoxic activity of naturally occurring aromatic compounds: myricetin, quercetin, rutin, and rosmarinic acid, *Biochemical Pharmacology* 86 (2013) 1376-1396. DOI:10.1016/j.bcp.2013.08.018
IF₂₀₁₃ = 4.650; **M21a** (Pharmacology & Pharmacy 25/256); ISSN: 0006-2952
3. V. Mihailović, S. Matić, D. Mišić, S. Solujić, S. Stanić, J. Katanić, M. Mladenović, N. **Stanković**, Chemical composition, antioxidant and antigenotoxic activities of different fractions of *Gentiana asclepiadea* L. roots extract, *EXCLI Journal* 12 (2013) 807-823.
IF₂₀₁₃ = 0.728; **M23** (Biology 63/85); ISSN: 1611-2156
4. S. Matić, S. Stanić, D. Bogojević, M. Vidaković, N. Grdović, S. Dinić, S. Solujić, M. Mladenović, N. **Stanković**, M. Mihailović, Methanol extract from the stem of *Cotinus coggygria* Scop., and its major bioactive phytochemical constituent myricetin modulate pyrogallol-induced DNA damage and liver injury, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 755 (2013) 81-89. DOI:10.1016/j.mrgentox.2013.03.011
IF₂₀₁₃ = 2.481; **M22** (Toxicology 42/87); ISSN: 1383-5718
5. S. Matić, S. Stanić, S. Solujić, N. **Stanković**, M. Mladenović, V. Mihailović, Protective role of methanol extracts of *Gentiana asclepiadea* L. and *G-cruciata* L. against genotoxic damage induced by ethyl methanesulfonate, *Genetika* 45 (2013) 329-340. DOI: 10.2298/GENSR1302329M
IF₂₀₁₃ = 0.492; **M23** (Genetics & Heredity 156/165); ISSN: 0534-0012

6. **N. Stanković**, M. Mladenović, M. Mihailović, J. Arambašić, A. Uskoković, V. Stanković, V. Mihailović, J. Katanić, S. Matić, S. Solujić, N. Vuković, S. Sukdolak, Synthesis and toxicological studies of *in vivo* anticoagulant activity of novel 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4-diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2*H*-chromen-2-ones combined with a structure-based 3-D pharmacophore model, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 55 (2014) 20-35. DOI: 10.1016/j.ejps.2014.01.004
IF₂₀₁₄=3.350; **M21**(Pharmacology & Pharmacy 66/255); ISSN: 0928-0987
7. V. Mihailović, J. Katanić, D. Mišić, V. Stanković, M. Mihailović, A. Uskoković, J. Arambašić, S. Solujić, M. Mladenović, **N. Stanković**, Hepatoprotective effects of secoiridoid-rich extracts from *Gentiana cruciata* L. against carbon tetrachloride induced liver damage in rats, *Food & Function* 5 (2014) 1795-1803. DOI: 10.1039/c4fo00088a
IF₂₀₁₄ = 2.791; **M21** (Food Science & Technology 17/122); ISSN: 2042-6496
8. **N. Stanković**, M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, V. Stanković, M. Mihailović, V. Mihailović, J. Katanić, T. Boroja, N. Vuković, S. Sukdolak, Serum albumin binding analysis and toxicological screening of novel chroman-2,4-diones as oral anticoagulants, *Chemico-Biological Interactions* 227 (2015) 18-31. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.12.005
IF₂₀₁₅ = 2.618; **M22** (Biochemistry & Molecular Biology 148/289); ISSN 0009-2797
9. V. Mihailović, D. Mišić, S. Matić, M. Mihailović, S. Stanić, M. Vrvić, J. Katanić, M. Mladenović, **N. Stanković**, T. Boroja, M. Stanković, Comparative phytochemical analysis of *Gentiana cruciata* L. roots and aerial parts, and their biological activities, *Industrial Crops and Products* 73 (2015) 49-62. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.04.013
IF₂₀₁₅ = 3.449; **M21a** (Agronomy 6/83); ISSN: 0926-6690
10. J. Katanić, T. Boroja, **N. Stanković**, V. Mihailović, M. Mladenović, Samo Kreft, M. Vrvić, Bioactivity, stability and phenolic characterization of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim, *Food & Function* 6 (2015) 1164-1175. DOI: 10.1039/c4fo01208a
IF₂₀₁₅ = 2.686; **M21** (Food Science & Technology 25/125); ISSN: 2042-6496
11. J. Katanić, V. Mihailović, **N. Stanković**, T. Boroja, M. Mladenović, S. Solujić, M. Stanković, M. Vrvić, Dropwort (*Filipendula hexapetala* Gilib.): Potential role as antioxidant and antimicrobial agent, *EXCLI Journal* 14 (2015) 1-20. DOI: 10.17179/excli2014-479
IF₂₀₁₅ = 1.292; **M22** (Biology 46/86); ISSN: 1611-2156
12. M. Mladenović, **N. Stanković**, S. Matić, S. Stanić, M. Mihailović, V. Mihailović, J. Katanić, T. Boroja, N. Vuković, Newly discovered chroman-2,4-diones neutralize the *in vivo* DNA damage induced by alkylation through the inhibition of Topoisomerase II α : A story behind the molecular modeling approach, *Biochemical Pharmacology* 98 (2015) 243-266. DOI: 10.1016/j.bcp.2015.08.106
IF₂₀₁₅ = 5.091; **M21a** (Pharmacology & Pharmacy, 18/255); ISSN: 0006-2952

13. J. Katanić, V. Mihailović, S. Matić, V. Stanković, **N. Stanković**, T. Boroja, M. Mladenović, S. Stanić, S. Kreft, M. Mihailović, The ameliorating effect of *Filipendula hexapetala* extracts on hepatorenal toxicity of cisplatin, *Journal of Functional Foods* 18 (2015) 198-212. DOI: 10.1016/j.jff.2015.07.004

IF₂₀₁₅ = 3.973; **M21a** (Food Science & Technology 8/125); ISSN: 1756-4646

14. S. Matić, J. Katanić, S. Stanić, M. Mladenović, **N. Stanković**, V. Mihailović, T. Boroja, *In vitro* and *in vivo* assessment of the genotoxicity and antigenotoxicity of the *Filipendula hexapetala* and *Filipendula ulmaria* methanol extracts, *Journal of Ethnopharmacology* 174 (2015) 287-292. DOI: 10.1016/j.jep.2015.08.025

IF₂₀₁₅ = 3.055; **M21** (Plant Sciences 36/209); ISSN: 0378-8741

15. N. Đorđević, S. Matić, S. Simić, S. Stanić, V. Mihailović, **N. Stanković**, V. Stanković, A. Ćirić, Impact of the toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju on laboratory rats *in vivo*, *Environmental Science and Pollution Research* 24 (2017) 14259–14272. DOI: 10.1007/s11356-017-8940-6

IF₂₀₁₆ = 2.741; **M22** (Environmental Sciences 79/229); ISSN: 0944-1344

16. B. Arsic, J. Barber, A. Ćikoš, M. Mladenovic, N. Stankovic, P. Novak, 16-Membered Macrolide Antibiotics: A Review, *International Journal of Antimicrobial Agents*, Accepted manuscript (2017). DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.05.020

IF₂₀₁₆ = 4.307; **M21** (Pharmacology & Pharmacy 35/257); ISSN: 0944-1344

17. J. Katanić, S. Matić, Eva-Maria Pferschy-Wenzig, N. Kretschmer, T. Boroja, V. Mihailović, V. Stanković, **N. Stanković**, M. Mladenović, S. Stanić, M. Mihailović, R. Bauer, *Filipendula ulmaria* extracts attenuate cisplatin-induced liver and kidney oxidative stress in rats: *In vivo* investigation and LC-MS analysis, *Food and Chemical Toxicology* 99 (2017) 86-102. DOI: 10.1016/j.fct.2016.11.018

IF₂₀₁₆ = 3.778; **M21a** (Food Science & Technology 8/130); ISSN: 0278-6915

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M₃₄):

1. S. Matić, S. Stanić, S. Solujić, **N. Stanković**, M. Mladenović, V. Mihailović, Comparative analysis of the antigenotoxicity of five selected 4-hydroxy-2H-chromen-2-one derivatives: possible mechanism of action, *32nd Balkan Medical Week*, Niš, Serbia (2012) p. 65.

2. S. Matić, S. Stanić, S. Solujić, **N. Stanković**, M. Mladenović, J. Katanić, V. Mihailović, Antigenotoxic and antioxidant properties of the methanolic extract obtained from the underground parts of *Gentiana cruciata*, *32nd Balkan Medical Week*, Niš, Serbia (2012) p. 80.

3. V. Mihailović, J. Katanić, M. Mihailović, K. Šipovac, V. Stanković, S. Solujić, M. Mladenović, **N. Stanković**, S. Matić, Hepatoprotective activity of methanolic extract of root of *Gentiana asclepiadea* L. in carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats, *32nd Balkan Medical Week*, Niš, Serbia (2012) p. 81.

4. S. Matić, S. Stanić, D. Bogojević, S. Solujić, M. Mladenović, **N. Stanković**, V. Mihailović, J. Katanić, M. Mihailović, Chemical composition, antioxidant and antigenotoxic activities of *Cotinus coggyria* stem extract, *1st International Conference on Plant Biology*, Subotica, Serbia (2013) p. 90-91. (ISBN 978-86-912591-2-9)
5. V. Mihailović, J. Katanić, M. Mihailović, D. Mišić, S. Solujić, K. Šipovac, V. Stanković, M. Mladenović, **N. Stanković**, Secoiridoid content and hepatoprotective activity of *Gentiana cruciata* L. root extract, *1st International Conference on Plant Biology*, Subotica, Serbia (2013) p. 91-92. (ISBN 978-86-912591-2-9)
6. J. Katanić, V. Mihailović, S. Solujić, M. Stanković, **N. Stanković**, S. Matić, M. Mladenović, Radical scavenger activity and chelating ability of *Filipendula hexapetala* Gilib. root extract, *1st International Conference on Plant Biology*, Subotica, Serbia, (2013) p. 93. (ISBN 978-86-912591-2-9)
7. M. Mladenović, **N. Stanković**, V. Mihailović, J. Katanić, S. Matić, S. Stanić, S. Solujić, Toxicological and receptor-based 3-D QSAR studies of *in vivo* anticoagulant activity of novel 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4-diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2*H*-chromen-2-ones, *8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS 8)*, Belgrade, Serbia (2013) p. 107. (ISBN 978-86-7132-053-5)
8. M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, S. Solujić, V. Mihailović, **N. Stanković**, J. Katanić, Molecular docking provides understanding of the *in vivo* antigenotoxic activity of naturally occurring aromatic compounds: myrcetin, quercetin, rutin, and rosmarinic acid against ethyl methanesulfonate, *8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS 8)*, Belgrade, Serbia (2013) p. 114. (ISBN 978-86-7132-053-5)
9. V. Mihailović, D. Mišić, J. Katanić, M. Mihailović, S. Solujić, V. Stanković, M. Mladenović, **N. Stanković**, Phytochemical profiling by UHPLC-DAD/+HESI-MS/MS analyzes and hepatoprotective activity of *Gentiana cruciata* L. against CCl₄ induced liver injury in Wistar rats, *8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS 8)*, Belgrade, Serbia (2013) p. 220. (ISBN 978-86-7132-053-5)
10. J. Katanić, V. Mihailović, S. Solujić, **N. Stanković**, M. Mladenović, Protective effect of *Filipendula hexapetala* Gilib. root extract on lipid oxidation in different model systems, *8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS 8)*, Belgrade, Serbia (2013) p. 234. (ISBN 978-86-7132-053-5)
11. S. Matić, N. Đorđević, S. Stanić, S. Simić, **N. Stanković**, V. Mihailović, First report on genotoxicological assessment of the *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) from lake Aleksandrovac in Serbia, *V Congress of the Serbian Genetic Society*, Kladovo, Serbia (2014) p. 145. (ISBN: 978-86-87109-10-0)

12. S. Matić, S. Stanić, **N. Stanković**, M. Mladenović, Genotoxic effect of (E)-3-(1-(2-aminoethylamino)ethylidene)chroman-2,4-dione (2a) and (3E,3'E)-3,3'-(1,1'-(ethane-1,2-diylbis(azanediyl))bis(ethan-1-yl-1-ylidene))dichroman-2,4-dione (2f) exerted through the oral route, *V Congress of the Serbian Genetic Society*, Kladovo, Serbia (2014) p. 146. (ISBN: 978-86-87109-10-0)
13. **N. Stanković**, M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, J. Katanić, V. Mihailović, T. Boroja, Assessment of genotoxicity of eight novel 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4- diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2H-chromen-2-ones, *V Congress of the Serbian Genetic Society*, Kladovo, Serbia (2014) p. 149. (ISBN: 978-86-87109-10-0)
14. **N. Stanković**, S. Matić, S. Stanić, M. Mladenović, J. Katanić, V. Mihailović, T. Boroja, *In vivo* antigenotoxic role of three selected 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4- diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2H-chromen-2-ones on EMS-induced DNA damages in rat liver and kidneys, *V Congress of the Serbian Genetic Society*, Kladovo, Serbia (2014) p. 150. (ISBN: 978-86-87109-10-0)
15. T. Boroja, V. Mihailović, J. Katanić, **N. Stanković**, M. Mladenović, Phenolic profile and antioxidant activity of *Alchemilla vulgaris* L., *XXIII Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, Ohrid, Republic of Macedonia (2014) p. 70. (ISBN: 978-9989-668-99-9)
16. J. Katanić, V. Mihailović, T. Boroja, **N. Stanković**, M. Mladenović, Meadowsweet as underestimated food additive against lipid oxidation, *XXIII Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, Ohrid, Republic of Macedonia (2014) p. 71. (ISBN: 978-9989-668-99-9)
17. T. Boroja, V. Mihailović, J. Katanić, M. Stanković, **N. Stanković**, M. Mladenović, Antibacterial activity of Lady's Mantle, *2st International Conference on Plant Biology, 21th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society*, Petnica Science Center 17-20 June (2015) pp 3-3. (ISBN: 978-86-912591-3-6)
18. J. Katanić, S. Matić, S. Stanić, M. Mladenović, **N. Stanković**, V. Mihailović, T. Boroja, V. Maksimović, HPLC analysis and *in vivo* assessment of the genotoxicity and antigenotoxicity of the *Filipendula ulmaria* methanol extract, *2st International Conference on Plant Biology, 21th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society*, Petnica Science Center 17-20 June (2015) pp 4-9. (ISBN: 978-86-912591-3-6)
19. J. Katanić, V. Mihailović, S. Matić, E. Pferschy-Wenzig, R. Bauer, **N. Stanković**, T. Boroja, Nephroprotective effect of dropwort (*Filipendula hexapetala* Gilib.) on cisplatin-induced toxicity in rats, *63rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research* Budapest, Hungary (2015) p. 250.

20. T. Boroja, V. Mihailović, J. Katanić, M. Mladenović, **N. Stanković**, *Satureja hortensis* L. as a potential antimicrobial agent, *2nd International Conference on Natural Products Utilization: from Plant to Pharmacy Shelf* (ICNPU 2015) Plovdiv, Bulgaria (2015) p. 123.
21. J. Katanić, S Nikles, San-Po Pan, R. Bauer, V. Mihailović, T. Boroja, **N. Stanković**, M. Mladenović, Phenolic content and anti-inflammatory activity of uninvestigated *Stellaria holostea* methanolic extract, *III Symposium of biologists and ecologists of Republic of Srpska* (SBERS 2015), 12-14. November 2015, Banja Luka, Republic of Srpska, p. 115. (ISBN 978-99955-21-43-1)
22. J. Katanić, S. Matić, S. Stanić, M. Mladenović, **N. Stanković**, V. Mihailović, T. Boroja, *In vitro* protective effect of methanol extracts of *Filipendula hexapetala* and *Filipendula ulmaria* against hydroxyl radical-induced DNA damage, *III Symposium of biologists and ecologists of Republic of Srpska* (SBERS 2015), 12-14. November 2015, Banja Luka, Republic of Srpska, p. 116. (ISBN 978-99955-21-43-1)
23. **N. Stanković**, M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, M. Mihailović, V. Mihailović, J. Katanić, T. Boroja, N. Vuković, Newly discovered chroman-2,4-diones neutralize DNA alkylation damage *in vivo* on topIIa level: A story behind the molecular modeling approach, *III Symposium of biologists and ecologists of Republic of Srpska* (SBERS 2015), 12-14. November 2015, Banja Luka, Republic of Srpska, p. 118. (ISBN 978-99955-21-43-1)
24. V. Mihailović, M. Koraćević-Maslak, J. Katanić, V. Maksimović, T. Boroja, M. Mladenović, **N. Stanković**, Phytochemical and antimicrobial activity evaluations of *Bergenia cordifolia* root extract, *III Symposium of biologists and ecologists of Republic of Srpska* (SBERS 2015), 12-14. November 2015, Banja Luka, Republic of Srpska, p. 119. (ISBN 978-99955-21-43-1)
25. J. Katanić, T. Boroja, V. Mihailović, S. Matić, **N. Stanković**, N. Mihović, M. Mladenović, V. Stanković, Protective effects of *Filipendula ulmaria* extracts on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats, *The International Bioscience Conference and the 6th International PSU-UNS Conference-IBSC 2016*, 19-21 September 2016, Novi Sad, Serbia, p. 256-257.
26. T. Boroja, V. Mihailović, J. Katanić, G. Rosić, D. Selaković, J. Joksimović, V. Stanković, M. Mladenović, **N. Stanković**, N. Mihović, Nephroprotective effects of *Satureja hortensis* L. against cisplatin-induced toxicity, *The International Bioscience Conference and the 6th International PSU-UNS Conference-IBSC 2016*, 19-21 September 2016, Novi Sad, Serbia, p. 268-269.
27. J. Katanić, T. Boroja, San-Po Pan, S. Nikles, R. Bauer, V. Mihailović, M. Mladenović, **N. Stanković**, N. Mihović, *Lunnaria annua* L. (annual honesty) as a new antioxidant and anti-inflammatory agent, *XXIV Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, 11-14 September 2016, Ohrid, Republic of Macedonia, p. 82. (ISBN 978-9989-760-13-6)

28. T. Boroja, V. Mihailović, J. Katanić, G. Rosić, D. Selaković, J. Joksimović, M. Mladenović, **N. Stanković**, N. Mihović, Hepatoprotective efficacy of summer savory against cisplatin-induced oxidative damage in rats, *XXIV Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, 11-14 September 2016, Ohrid, Republic of Macedonia, p. 84. (ISBN 978-9989-760-13-6)

29. N. Mihović, S. Matić, S. Stanić, **N. Stanković**, M. Mladenović, DNA conservation by hesteretin: the mechanism of inhibition of EMS-induced alkylation, *1st Congress of Molecular Biologist of Serbia (CoMBoS)*, Belgrade 2017, p. 59. (ISBN:978-86-7078-136-8c)

Саопштења са скупова националног значаја штампана у целини (M₆₃):

1. J. Katanić, V. Mihailović, **N. Stanković**, M. Mladenović, S. Solujić, M. Stanković, Antioksidativna aktivnost metanolskog ekstrakta korena biljke *Filipendula hexapetala* Gilib., *Zbornik radova XVIII savetovanja o biotehnologiji* (Agronomski fakultet, Čačak, 15-16. mart 2013.), Čačak, 2013, p. 471-476. (ISBN 978-86-87611-29-0)

2. T. Boroja, V. Mihailović, J. Katanić, **N. Stanković**, M. Mladenović, *Alchemilla vulgaris* L. as a potential source of natural antioxidants, *Zbornik radova XIX savetovanja o biotehnologiji* (Agronomski fakultet, Čačak, 7-8. mart 2014.), Čačak, 2014, p. 233-237, on Serbian. (ISBN: 978-86-87611-31-3)

3. J. Katanić, V. Mihailović, M. Koraćević-Maslak, **N. Stanković**, T. Boroja, M. Mladenović, Stability of dropwort root extract and its effect on lipid oxidation in meat, *Zbornik radova XIX savetovanja o biotehnologiji* (Agronomski fakultet, Čačak, 7-8. mart 2014.), Čačak, 2014, p. 239-244, on Serbian. (ISBN: 978-86-87611-31-3)

4. S. Matić, S. Stanić, M. Mladenović, **N. Stanković**, Genotoxic effect of the *Cotinus coggygria* Scop. methanol extract on *Drosophila melanogaster*, *Zbornik radova XX savetovanja o biotehnologiji*, Agronomski fakultet, Čačak (2015) p. 353-358. (ISBN: 978-86-87611-35-1)

Саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу (M₆₄):

1. V. Mihailović, M. Arsić, M. Stojadinović, S. Stajić, T. Boroja, J. Katanić, M. Mladenović, **N. Stanković**, Plodovi trnjine (*Prunus spinosa*) i gloга (*Crataegus laevigata*) kao potencijalni antioksidanti i njihova stabilnost u uslovima in vitro digestije, *53. Savetovanje Srpskog hemijskog društva*, 10-11. jun 2016, Kragujevac, str. 84. (ISBN 978-86-7132-061-0)

Дидактичка средства:

др М. Младеновић, **Н. Станковић**, Практични проблеми хемије природних производа, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, 2016. (ISBN: 978-86-6009-041-8; COBISS.SR-ID 227682572)

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

Планирани обим експерименталног рада, научни и стручни садржај рада, као и методолошки приступи у реализацији наведених задатака, који су јасно прецизирани у оквиру поступка предлагања теме ове докторске дисертације, реализовани су у комплетном обиму.

5. Научни резултати докторске дисертације

Научне публикације проистекле из докторске дисертације кандидата Невене Станковић, укупно **3** научне публикације објављене су у међународним часописима, и то: **1** рад у часопису изузетне вредности – категорија **M21a**, **1** рада у врхунском међународном часопису – категорија **M21** и **1** рад у истакнутом међународном часопису – категорија **M22**. Укупан импакт фактор публикација јесте 11,059. Такође, кандидат је презентовао и 5 конференцијских саопштења која су садржала резултате њене дисертације.

Радови објављени у научним часописима међународног значаја (M20) у којима су публиковани резултати предложене докторске дисертације:

1. **N. Stanković**, M. Mladenović, M. Mihailović, J. Arambašić, A. Uskoković, V. Stanković, V. Mihailović, J. Katanić, S. Matić, S. Solujić, N. Vuković, S. Sukdolak, Synthesis and toxicological studies of *in vivo* anticoagulant activity of novel 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4-diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2*H*-chromen-2-ones combined with a structure-based 3-D pharmacophore model, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 55 (2014) 20-35. DOI: 10.1016/j.ejps.2014.01.004

IF₂₀₁₄=3.350; **M21**(Pharmacology & Pharmacy 66/255); ISSN: 0928-0987

2. **N. Stanković**, M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, V. Stanković, M. Mihailović, V. Mihailović, J. Katanić, T. Boroja, N. Vuković, S. Sukdolak, Serum albumin binding analysis and toxicological screening of novel chroman-2,4-diones as oral anticoagulants, *Chemico-Biological Interactions* 227 (2015) 18-31. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.12.005

IF₂₀₁₅ = 2.618; **M22** (Biochemistry & Molecular Biology 148/289); ISSN 0009-2797

3. M. Mladenović, **N. Stanković**, S. Matić, S. Stanić, M. Mihailović, V. Mihailović, J. Katanić, T. Boroja, N. Vuković, Newly discovered chroman-2,4-diones neutralize the *in vivo* DNA damage induced by alkylation through the inhibition of Topoisomerase II α : A story behind the molecular modeling approach, *Biochemical Pharmacology* 98 (2015) 243-266. DOI: 10.1016/j.bcp.2015.08.106

IF₂₀₁₅ = 5.091; **M21a** (Pharmacology & Pharmacy, 18/255); ISSN: 0006-2952

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M₃₄) у којима су представљени резултати предложене докторске дисертације:

1. M. Mladenović, N. Stanković, V. Mihailović, J. Katanić, S. Matić, S. Stanić, S. Solujić, Toxicological and receptor-based 3-D QSAR studies of *in vivo* anticoagulant activity of novel 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4-diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2H-chromen-2-ones, *8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS 8)*, Belgrade, Serbia (2013) p. 107. (ISBN 978-86-7132-053-5)
2. S. Matić, S. Stanić, N. Stanković, M. Mladenović, Genotoxic effect of (E)-3-(1-(2-aminoethylamino)ethylidene)chroman-2,4-dione (2a) and (3E,3'E)-3,3'-(1,1'-(ethane-1,2-diylbis(azanediyl))bis(ethan-1-yl-1-ylidene))dichroman-2,4-dione (2f) exerted through the oral route, *V Congress of the Serbian Genetic Society*, Kladovo, Serbia (2014) p. 146. (ISBN: 978-86-87109-10-0)
3. N. Stanković, M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, J. Katanić, V. Mihailović, T. Boroja, Assessment of genotoxicity of eight novel 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4-diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2H-chromen-2-ones, *V Congress of the Serbian Genetic Society*, Kladovo, Serbia (2014) p. 149. (ISBN: 978-86-87109-10-0)
4. N. Stanković, S. Matić, S. Stanić, M. Mladenović, J. Katanić, V. Mihailović, T. Boroja, *In vivo* antigenotoxic role of three selected 3-(1-aminoethylidene)chroman-2,4-diones and 4-hydroxy-3-(1-iminoethyl)-2H-chromen-2-ones on EMS-induced DNA damages in rat liver and kidneys, *V Congress of the Serbian Genetic Society*, Kladovo, Serbia (2014) p. 150. (ISBN: 978-86-87109-10-0)
5. N. Stanković, M. Mladenović, S. Matić, S. Stanić, M. Mihailović, V. Mihailović, J. Katanić, T. Boroja, N. Vuković, Newly discovered chroman-2,4-diones neutralize DNA alkylation damage *in vivo* on topIIa level: A story behind the molecular modeling approach, *III Symposium of biologists and ecologists of Republic of Srpska (SBERS 2015)*, 12-14. November 2015, Banja Luka, Republic of Srpska, p. 118. (ISBN 978-99955-21-43-1)

6. Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси

На основу добијених резултата, може се закључити да ова докторска дисертација, по први пут, научној јавности представља синтезу, фармаколошки и токсиколошки профил нових деривата хроман-2,4-диона и 4-хидроксикумарина (таутомерних облика хроман-2,4-диона) као антагониста витамина К и антикоагуланата *in vivo*.

Најпознатији клинички антикоагуланти антагонисти витамина К, деривати 4-хидроксикумарина, попут варфарина, аценокумарола, дикумарола, маркумара и циклокумарола испољавају изразита нежељена дејства. Тако, уколико се терапија антикоагулантима дериватима 4-хидроксикумарина примењује у трудноћи она може изазвати спонтани побачај, прерано рођење или смрт фетуса, код новорођенчета урођене деформитете коштаног система попут носне хипоплазије, сужења носног моста,

сколиозе, калцификације кичме, бедрене кости и костију пете, абнормалност удова, брахикардију, сметње средишњег нерног система и дефекте ока. Пацијенти старије доби подобни су унутрашњем крварењу. Скорије су развијени и селективни инхибитори тромбина (дабигатран) односно фактора X (ривароксабан, апиксабан и едоксабан). Као нови медикаменти, ови лекови несумњиво представљају помак у клиничкој хепатологији али нису поштеђени изразитих нежељених ефеката: тегобе код пацијената са лошим варењем, крварење код пацијената који пате од хроничне болести бубрега, неповољне интеракције са СУР3А4 или Р-гликопротеин инхибиторима.

Услед низа наведених нежељених дејстава које испољавају клинички антикоагуланти, деривати 4-хидроксикумарина, постоји стална потреба за развојем нових антагониста витамина К. Предложена докторска дисертација управо се бави синтезом нових деривата хроман-2,4-диона и 4-хидроксикумарина, те њиховим потенцијалом за примену у клиничкој хематологији.

7. Начин презентовања резултата научној јавности

Докторска дисертација написана је на 383 стране и садржи 135 слика, 26 табела и 65 шема, уз коришћење 195 литературна извора. Дисертација је подељена на следеће сегменте: Увод (1-97. стр.), Експериментални део (98-205. стр.), Резултати и дискусија (206-328. стр.), Закључак (329-333. стр.) и Литература (334-346. стр.). Поред тога, дисертација садржи Резиме на српском и енглеском језику, листе коришћених скраћеница, листе слика, табела и шема (I-XXXIII стр.), Биографију са библиографијом (347-357. стр.) кандидата, као и Прилог (358-386. стр.) у коме су презентовани спектрални подаци синтетисаних једињења, филмови симулација молекулске динамике, као и сви научни радови проистекли из ове дисертације. Резултати дисертације, након прихватања овог Извештаја од стране Наставно-научног већа Природно-математичког факултета и Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу, биће презентовани и на јавној одбрани докторске дисертације.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Поднети рукопис докторске дисертације кандидата **Невене Станковић** под насловом:

„Фармакологија и токсиколошки профил новосинтетисаних деривата хроман-2,4-диона у функцији антикоагулативне активности *in vivo*“

представља оригинални научни рад из области хемије природних производа, биохемије, медицинске хемије, хематологије и хемоинформатике, урађен под менторством доц. др Милана Младеновића. Приказани резултати ове докторске дисертације, осим очекиваног теоријског помака у дизајну, синтези и активности секундарних биомолекула, односно у клиничкој хематологији и фармакологији, имају и доказану практичну вредност која потврђује да се новосинтетисани антагонисти витамина К могу подврнути претклиничким фармакокинетичким и фармакодинамичким, односно клиничким испитивањима као антикоагуланти.

Квалитет научних резултата ове докторске дисертације верификован је њиховом публикацијом у облику **три научна рада** у часописима са SCI листе (**1** из категорије **M21a**, **1** из категорије **M21** и **1** из категорије **M22**, укупан импакт фактор 11,059) и већег броја саопштења на домаћим и међународним конференцијама. У светлу наведених чињеница, сматрамо да су испуњени сви научни, стручни и административни услови за прихватање наведене докторске дисертације као оригиналног научног рада. У том смислу, предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета и Већу за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу да кандидату Невени Станковић одобри јавну одбрану **докторске дисертације** под наведеним насловом.

У Нишу, Београду и Крагујевцу,
19.02.2018. године

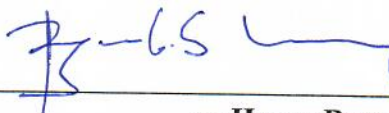
КОМИСИЈА



др Данијела А. Костић, председник Комисије
редовни професор
Природно-математички факултет у Нишу,
ужа научна област: Органска хемија и биохемија



др Мирјана Михаиловић, научни саветник
Институт за биолошка истраживања
„Синиша Станковић” у Београду,
научна област: Биологија



др Ненад Вуковић, доцент
Природно-математички факултет у Крагујевцу
ужа научна област: Биохемија



др Владимир Михаиловић, доцент
Природно-математички факултет у Крагујевцу
ужа научна област: Биохемија



др Сања Матић, научни сарадник
Природно-математички факултет у Крагујевцу
научна област: Биологија