

Исправљен
Милановић



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

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу, одржаној 30. 08. 2017. године (број одлуке: 630/XIX-1), предложени смо, а на седници Већа за природно-математичке науке одржаној 13. 09. 2017. године (број одлуке: IV-01-827/15), изабрани смо за чланове Комисије за подношење извештаја за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата за израду докторске дисертације под насловом: "**Биолошка активност изолованих нафтохинона и екстраката ризома биљке *Onosma visianii Clem***" кандидата Милена Вукић, мастер хемичара, студента докторских академских студија. На основу података којима располажемо достављамо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Научни приступ проблему предложеног нацрта докторске дисертације и процена научног доприноса крајњег исхода рада

Биљке фамилије *Boraginaceae*, рода *Onosma*, са нешто више од 150 врста насељавају области медитерана, централне и источне Европе, као и централне Азије. Ризоми многих биљака овог рода, као на пример *Onosma sericeum* Willd., *Onosma microcarpum* DC., *Onosma argentata* Hub.-Mor., *Onosma armeniaca* Klokov и *Onosma visianii* Clem, имају значајну етнофармаколошку вредност у третману површинских рана, псоријазе, опекотина, хемороида, болова у stomaku и улицера желудца. Литературни подаци такође показују да екстракти ових биљака поседују јаку антимикробну и цитотоксичну активност. Фитохемијска испитивања су показала да калус ризома ових биљака садржи велики број јединења класе нафтохинона (шиконин/алканин аналога), која показују широк спектар биолошких активности (антиинфламаторна, антимикробна, антикоагулантна и антитуморска активност).

Предложена докторска дисертација би се осим хемотаксономског проучавања, бавила и испитивањем биолошке активности биљке *Onosma visianii* Clem. Осим оптимизације

хроматографских услова везаних за изоловање нафтохинонских деривата, изолована једињења и добијени екстракти биће испитивани на активност према мултирезистентним бактеријама, цитотоксичној активности на одговарајућим линијама туморских ћелија и индуковању продукције радикалских честица као узрока ћелијске смрти, као и интеракцији изолованих једињења са хуманим serum албумином и ДНА. Сходно томе, добијени резултати би могли наћи значајну улогу у областима фармацеутске и медицинске хемије.

Веза са досадашњим истраживањима

Милена Вукић се бави изоловањем биолошки активних природних производа из класе флавоноида и нафтохинона из биљног материјала, дефинисањем структуре изолованих једињења, структурном модификацијом природних производа, као и проучавањем антибактеријске и цитотоксичне активности екстраката, изолованих једињења и њихових семисинтетичких аналога. Ова истраживања су саставни део пројекта ОИ 172016 финансираног од стране Владе Републике Србије, а чији је руководилац проф. др. Срећко Трифуновић. Из обрађеног материјала биљке *Onosma visianii* Clem је изолована серија шиконинских деривата који су се показали као јаки антибактеријски и цитотоксични супстрати, а применом модерних хроматографских техника је констатовано да испитивана биљка представља изузетно богат извор ове класе једињења. Рад у оквиру ове тезе ће омогућити кандидату контитуитет у раду, и даље допринети проучавању биолошке активности изохексенил нафтазаринских деривата, као и екстраката испитиване биљке.

2. Образложение предмета, метода и циља који уверљиво упућује да је предложена тема од значаја за развој науке

Предмет, циљеви и хипотезе ове дисертације обухватају следеће:

- Ризом биљке *Onosma visianii* представља богат извор шиконинских деривата.
- Шиконин и његови деривати се употребљавају у традиционалној медицини.
- Шиконински деривати и екстракти ризома биљака фамилије *Boraginaceae* су се показали као јаки антибактеријски и цитотоксични супстрати.
- Применом конвенционалних хроматографских техника (стубне хроматографије, препартивне танкослојне хроматографије), хроматографије на колони Sephadex-LH20, препартивне течне хроматографије изводиће се изоловање нафтохинонских деривата.
- Испитивања структура добијених једињења ће се изводити применом ултраљубичасте-видљиве спектроскопије (УВ/ВИС), инфрацрвене спектроскопије

(ИР), нуклеарно магнетно резонантне спектроскопије (НМР), као и применом масене спектроскопије ниске и високе резолуције.

- Садржај индивидуалних компоненти у различитим екстрактима ће се дефинисати течном хроматографијом под високим притиском (ХПЛЦ).
- Изолована једињења биће подвргнута испитивању антибактеријске активности на мултирезистентним бактеријама.
- Изолована једињења и екстракти ће се испитивати као потенцијални цитотоксични супстрати, уз дефинисање продукције радикалских врста као узрочника ћелијске смрти.
- Применом улатраљубичасте-видљиве спектроскопије (УВ/ВИС), инфрацрвене спектроскопије (ИР), спектрофлуорометрије и циркуларног дихроизма биће испитивана интеракција изолованих једињења са хуманим серум албумином и ДНА.

Методе истраживања

Основне методе истраживања обухватају примену класичних и модерних хроматографских техника у циљу изоловања изохексенил нафтазаринских деривата из испитиваног биљног материјала (стубна хроматографија-силика гел као адсорбенс, препарativна танкослојна хроматографија-силика гел као адсорбенс, хроматографија на колони Sephadex-LH20 и препарativна течна хроматографија). Структуре изолованих једињења биће охарактерисане применом улатраљубичасте-видљиве спектроскопије (УВ/ВИС), инфрацрвене спектроскопије (ИР), нуклеарно магнетно резонантне спектроскопије (НМР), као и применом масене спектроскопије ниске и високе резолуције. Изоловани нафтохинонски деривати ће микродилуционом техником бити подвргнути испитивању антибактеријске активности на панелу мултирезистентних бактерија, као и испитивању цитотоксичне активности на туморским ћелијама. Такође, добијени екстракти ризома ће бити испитивани на садржај биоактивних молекула и ниво цитотоксичне активности на НСТ-116 и МДА-МВ-231 ћелијама. Везивање изолованих једињења за хумани серум албумин и ДНА ће се испитивати применом улатраљубичасте-видљиве спектроскопије (УВ/ВИС), инфрацрвене спектроскопије (ИР), спектрофлуорометрије и циркуларног дихроизма.

Оквирни садржај докторске дисертације

У оквиру ове дисертације биће представљени до сада публиковани резултати из ове области, као и значај испитивања. У општем делу ће бити представљене све примене методе коришћене у оквиру израде дисертације. У експерименталном делу ће се приказати детаљан

опис изоловања биолошки активних једињења, спектроскопски подаци којима су та једињења охарактерисана, као и резултати испитиваних нивоа активности. Такође, сви добијени резултати ће бити детаљно дискутовани.

3. Образложение теме за израду докторске дисертације које омогућава закључак да је у питању оригинална идеја или оригиналан начин анализирања проблема

Комисија закључује да је предложена тема докторске дисертације "Биолошка активност изолованих нафтохинона и екстраката ризома биљке *Onosma visianii Clem*" кандидата **Милене Вукић** оригинална идеја.

4. Усклађеност дефиниције предмета истраживања, основних појмова, предложене хипотезе, извора података, метода анализе са критеријумима науке уз поштовање научних принципа у изради коначне верзије докторске дисертације

Развој резистенције према конвенционалним антибиотицима услед неадекватне и прекомерне употребе представља један од највећих изазова за фармацеутску индустрију и здравствени сектор, не само у земљама у развоју, већ и у високо развијеним земљама. Такође, употреба конвенционалних хемотерапеутика у третману различитих тумора изазива низ нежељених дејстава по људски организам. Сходно томе, зарад избегавања резистенције на конвенционалне лекове, њихову токсичност и неселективност, намеће се примена изолованих секундарних метаболита и биљних екстраката у третману различитих патофизиолошких стања. Разлог томе је што одговарајући секундарни метаболити не изазивају резистенцију, као што и не испољавају нусефекте. У претходних 30 година нафтохинонима богати екстракти биљака *Lithospermum erythrorhizon* и *Arnebia nobilis*, као и изоловани шиконин и алканин су екстензивно испитивани на различитим линијама бактерија, при чему је констатована јака антибактеријска активност. Такође, шиконин и алканин, као и њихови деривати представљају потенцијалне кандидате у третману различитих тумора, док се екстракти различитих биљака рода *Anchusa*, *Lithospermum* и *Onosma* које садрже ова једињења још од дванаестог века користе у третману канцера. До сада је неколико истраживачких група изучавало механизам цитотоксичног дејства хинона, и од многобројних механизама активности се истиче индуковање оксидативног стреса и даље изазивање ћелијске смрти на тестираним туморским линијама.

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације се састоји у проналажењу приступачног, новог и богатог извора нафтохинонских деривата, оптимизације хроматографских услова у циљу ефикаснијег изоловања биолошки активних секундарних метаболита, дефинисању структуре добијених једињења применом спектроскопских метода, изучавању потенцијалне примене изолованих једињења као антибактеријских супстрата према мултирезистентним бактеријама, као и испитивању њихове цитотоксичне активности. Добијени екстракти ће такође бити охарактерисани са аспекта нивоа цитотоксичне активности, уз дефинисање садржаја индивидуалних биоактивних компоненти у сваком од њих применом течне хроматографије под високим притиском. Применом модерних спектроскопских метода испитаће се начин везивања за хумани serum албумин и ДНК. Ова докторска дисертација ће својим оквиром допринети бољем разумевању хемије и биохемије изохексенил нафтазаринских деривата.

5. Предложени ментор израде докторске дисертације

Институт за хемију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу је за ментора ове докторске дисертације предложио др Ненада Вуковића, доцента на Институту за хемију, Природно-математичког факултета у Крагујевцу. Образложение: др Ненад Вуковић се бави истраживањима из уже научне области Биохемија и до сада има публиковане радове у научним часописима са SCI листе, као и велики број саопштења на међународним и националним конференцијама. Др Ненад Вуковић се бави изоловањем биолошки активних молекула из биљног материјала, структурном карактеризацијом изолованих једињења, структурном модификацијом природних производа као и проучавању биолошке активности испитиваних једињења. На основу горе наведеног, а имајући у виду циљеве и очекиване резултате ове дисертације, сматрамо да др Ненад Вуковић испуњава све услове за ментора ове докторске дисертације.

Научна област дисертације

Предложена докторска дисертација припада ужој научној области Биохемија.

Научна област чланова комисије

Чланови комисије се баве истраживањем у области Биохемије, Физиологија животиња и човека и молекуларне биологије и Органске хемије. Др Ненад Вуковић је доцент Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Биохемија. Два члана комисије са Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Универзитета у Крагујевцу, др Владимира Михаиловић, ужа научна област Биохемија, и др Снежана Марковић, ужа научна област Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија, су у звању доцента. Један члан комисије, др Тешевић Веле, ужа научна област Органска хемија, је ванредни професор на Хемијском факултету, Универзитета у Београду, и један члан комисије др Орчић Дејан, ужа научна област Биохемија, је ванредни професор на Департману за хемију, биохемију и заштиту животне средине, Природно-математичког факултета у Новом Саду, Универзитета у Новом Саду. Сви чланови комисије су аутори већег броја радова у часописима са SCI листе.

6. Кратка биографија кандидата

Милена Вукић је рођена 23. 03. 1990. године у Крагујевцу. Основну школу „21. октобар“ и средњу школу „Прва крагујевачка гимназија“ завршила је у Крагујевцу. Природно-математички факултет у Крагујевцу је уписала 2009. године, група хемија, смер истраживање и развој. Основне академске студије је завршила у октобру 2013. године, са просечном оценом у току студија 8,92, стекавши звање дипломирани хемичар. Мастер студије, смер истраживање и развој, уписала је исте године на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу, које је завршила у октобру 2014. године са просечном оценом 9,67 стекавши звање мастер хемичар. Школовање је наставила уписавши докторске академске студије 2014/15. Изабрана је у звање истраживач-приправник (Одлука бр. 80/IX-6) 28. јануара 2015. године. Од 29.05.2015. године до 01.11.2016. укључена је на изради пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије – „Синтезе, моделовање, физичко-хемијске и биолошке особине органских једињења и одговарајућих комплекса метала“, бр.172016, руководилац проф. др. Срећко Трифуновић, као стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије. Од 01.11.2016. на истом пројекту учествује као запослени истраживач приправник. Милена Вукић се бави истраживачким радом из области биохемије. Предмет њеног истраживања су састав биљних екстраката и етарских уља, као и изоловање флавоноида и нафтохинонских деривата, њихова идентификација, структурна модификација као и испитивање различитих нивоа биолошке активности истих. До сада има шест објављених научних радова у

часописима од међународног значаја (три рада из категорије M22 и три рада из категорије M23), и један рад у научном часопису (M53 категорије), три рада саопштена на интернационалним конференцијама и шест радова саопштених на националним конференцијама. Као студент докторских студија, од октобра 2015. године ангажована сам и у извођењу практичне наставе, из предмета Основи органске и биохемијске спектроскопије 1, Основи органске и биохемијске спектроскопије 2 и Методе анализе токсичних супстанци, а од октобра 2016. и у извођењу практичне наставе из предмета Основи токсиколошке анализе 1 и Основи токсиколошке анализе 2.

7. Преглед научно-истраживачког рада кандидата

На основу података датих у оквиру тачке 6, као и на основу личног познавања кандидата сматрамо да је кандидат Миlena Вукић у досадашњем раду показала интересовање, способност и самосталност за научно-истраживачки рад. Кандидат говори и пише на енглеском језику, што је неопходно за научни рад.

Објављени радови кандидата:

1. Категорија M22

- 1.1. **Milena D Vukic**, Nenad L Vukovic, Gorica T Djelic, Suzana Lj Popovic, Milan M Zaric, Dejan D Baskic, Gordana B Krstic, Vele V Tesevic, Miroslava M Kacaniova, Antibacterial and cytotoxic activities of naphthoquinone pigments from *Onosma visianii* Clem.
Excli Journal,
(2017) vol 16, 73-78
DOI: 10.17179/excli2016-762
ISSN: 1611-2156
(IF 1.462 за 2016, M22, Biology 45/84)
- 1.2. Edina H. Avdovic , Danijela L.J. Stojkovic, Verica V. Jevtic, Milica Kosic Biljana Ristic, Ljubica Harhaji-Trajkovic, **Milena Vukic**, Nenad Vukovic, Zoran S. Markovic, Ivan Potocnjak, Srecko R.Trifunovic, Synthesis, characterization and cytotoxicity of a new palladium(II) complex with a coumarin-derived ligand 3-(1-(3-hydroxypropylamino) ethylidene)chroman-2,4-dione. Crystal structure of the 3-(1-(3- hydroxypropylamino)ethylidene)-chroman-2,4-dione. *Inorganica Chimica Acta*,
(2017) vol 466, 188-196
DOI: 10.1016/j.ica.2017.06.015
ISSN: 0020-1693
(IF 2.002 за 2016, M22, Chemistry, Inorganic and Nuclear 20/46)

1.3. **Milena D. Vukic**, Nenad L. Vukovic, Ana D. Obradovic, Suzana I.j. Popovic, Milan M. Zaric, Predrag M. Djurdjevic, Snezana D. Markovic, Dejan D. Baskic,
Naphthoquinone rich *Onosma visianii* Clem (*Boraginaceae*) root extracts induce apoptosis and cell cycle arrest in HCT-116 and MDA-MB-231 cancer cell lines.
Natural Product Research
(2017) vol XXX, pp XXX
DOI: 10.1080/14786419.2017.1374271
ISSN: 1478-6419
(IF 1.828 за 2016, M22, Chemistry, Applied 29/72)

2. Категорија M23

- 2.1. Nenad Vukovic, **Milena Vukic**, Gorica Djelic, Jana Hutkova and Miroslava Kacaniova, Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Various Plant Organs of Wild Growing *Nepeta cataria* from Serbia.
Journal of Essential Oil Bearing Plants
(2016) vol. 19, No 4,
DOI: 10.1080/0972060X.2016.1211965
ISSN: 0972-060X
(IF 0.439 за 2016, M23, Plant Sciences 183/211)
- 2.2. Danijela Stojković, Alessia Bacchi, Davide Capucci, Milica R Milenković, Božidar Čobeljić, Srećko Trifunović, Katarina Andelković, Verica V Jevtić, Nenad Vuković, **Milena Vukić**, Dušan Sladić,
Synthesis and characterization of palladium(II) complexes with glycine coumarin derivatives.
Journal of Serbian Chemical Society
(2016) vol 81, No 12, 1383–1392,
DOI: 10.2298/JSC160915087S
ISSN: 0352-5139
(IF 0.970 за 2016, M23, Chemistry, Multidisciplinary, 131/166)
- 2.3. D. Lj. Stojković, V. V. Jevtić, N. Vuković, **M. Vukić**, I. Potočnák, I. R. Zelen, M. M. Zarić, M. M. Mišić, D. Baskić, G. N. Kaluđerović, S. R. Trifunović,
Crystal and molecular structure of a new palladium(II) complex with a coumarin-valine derivatate.
Journal of Structural Chemistry
(2017) vol. 58, No. 3, 550-557;
DOI: 10.1134/S0022476617030179
ISSN: 1573-8779
(IF 0.472 за 2017, M23, Chemistry, Inorganic & Nuclear, 46/46)

3. Категорија M53

- 3.1. Ghania Benaiche, Noureddine Belattar, Srećko Trifunović, Nenad Vuković, D. Todorović, Milos Todorović, Dejan Baskic and **Milena Vukic**,
Isolation of Alkaloids and Anti-tumor Activity of the Crude Methanolic Extract of Algerian *Cytisus purgans*.

4. Katergorija M34

- 4.1. N. Vuković, **M. Vukić**, D. Stojković, V. Jevtić and Miroslava Kacainova,
Seasonal variation in chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of
essential oils of various plant organs of wild growing *Nepeta cataria* from Serbia.
11th International Scientific Conference of Biotechnology and quality of raw materials and
foodstuffs, Nitra, Slovakia, 2016, p. 79;
ISBN: 978-80-552-1452-8
- 4.2. Srećko R. Trifunović, Nenad Vuković, **Milena D. Vukić**, Danijela Lj. Stojković,
Dragoslav R. Ilić, Miroslava Kacainova,
Antibacterial activity of structurally modified butyrolactones with amino acids.
International Scientific Symposium Bioengineering of animal resources 2016, Temišvar,
Rumunija, 2016, p. 48;
ISSN: 2501-725X; ISSN-L: 2501725X
- 4.3. **Vukić Milena**, Obradović Ana, Kacaniova Miroslava, Vuković Nenad, Marković
Snežana,
Eryngium sericum as new source of cytotoxic and antibacterial agents.
Serbian Biochemical Society, Sixth Conference
Biochemistry and Interdisciplinarity: Transcending the Limits of Field, 18. november, Belgrade,
Serbia, proceedings, 2016., p.161-163.
ISBN: 978-86-7220-081-2

5. Kategorija M64

- 5.1. Gordana P. Radić, Davide Capucci, Alessia Bacchi, Danijela Lj. Stojković, Verica V.
Jevtić, Nenad Vuković, **Milena Vukić**, Katarina Andelković, Srećko R. Trifunović,
Synthesis and crystal structure of palladium (II) complex with methyl 2-(1-(2,4-
dioxochroman-3-ylidene)ethylamino)acetate.
22nd Conference of the serbian crystallographic society, Smederevo, Srbija, 2015, p. 43
ISBN: 978-86-912959-2-9
- 5.2. Danijela Lj. Stojković, Verica V. Jevtić, Nenad Vuković, **Milena Vukić**, Gordana P.
Radić, Ivan Potočnak, Srećko R. Trifunović,
Synthesis and crystal structure of 2-acetylbutyrolactone with methyl ester of l-tyrosine
22nd Conference of the serbian crystallographic society, Smederevo, Srbija, 2015, p. 43
ISBN: 978-86-912959-2-9
- 5.3. D. Stojković, V. Jevtić, S. Trifunović, N. Vuković, **M. Vukić**, I. Potočnak, E. Avdović, S.
Jovičić,
Synthesis and crystal structure of 3-(1-(3- hydroxypropylamino)ethylidene)chroman-2,4-
dione.
23rd Conference of the Serbian Crystallographic society, Andrevlje, 2016., p.85;

ISBN: 978-86-912959-3-6

5.4. D. Stojković, V. Jevtić, S. Trifunović, N. Vuković, **M. Vukić**, O. Klisurić, E. Avdović, S. Jovičić,

Synthesis and crystal structure of methyl ester of phenylalanine ammonium-thiocyanate.
24th Conference of the Serbian Crystallographic society, Vranje, 2017., p.27; 43
ISBN: 978-86-912959-3-6

5.5. E. H. Avdović, V. V. Jevtić, N. Vuković, **M. Vukić**, Z. Marković, I. Potočnjak, S. R. Trifunović,

Synthesis and crystal structure of 3-(1-O-toluidine-ethylidene)-chroman-2,4-dione.
24th Conference of the Serbian Crystallographic society, Vranje, 2017., p.31;
ISBN: 978-86-912959-3-6

5.6. **Milena D. Vukić**, Nenad L. Vuković, Danijela Lj. Stojković, Srećko R. Trifunović,
Antibacterial and cytotoxic activities of naphthoquinone pigments from *Onosma visianii* Clem.

Fourth conference of young chemists of Serbia, Beograd, Srbija, 2016, p. 67;
ISBN: 978-86-7132-064-1

ЗАКЉУЧАК

На основу свега изложеног комисија закључује да је предложена тема докторске дисертације „Биолошка активност изолованих нафтохинона и екстраката ризома биљке *Onosma visianii Clem*“ оригинална и значајна са научне тачке гледишта. Такође, сматрамо да кандидат **Милена Вукић** испуњава све услове за успешан рад и реализацију наведене теме. У Крагујевцу, Београду и Новом Саду,

20. 09. 2017. год.

Комисија

др Вуковић Ненад, доцент, ментор рада
Институт за хемију, ПМФ Крагујевац,
Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Биохемија

др Михаиловић Владимира, доцент,
председник комисије
Институт за хемију, ПМФ Крагујевац,
Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Биохемија

др Веле Тешевић, ванредни професор,
члан комисије
Хемијски факултет у Београду,
Универзитет у Београду
ужа научна област: Органска хемија

департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине, ПМФ Нови Сад, Универзитет
у Новом саду
ужа научна област: Биохемија

др Марковић Снежана, доцент,
члан комисије
Институт за биологију и екологију, ПМФ Крагујевац,
Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија