

Милена Д. Вукић
Д. Вукић

**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 **Милене Д. Вукић**

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу одржаној 15. 01. 2020. године (број одлуке 50/XVI-1) и седници Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 12. 02. 2020. године (број одлуке IV-01-90/11) донете су одлуке о именовању Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом:

**„ Биолошка активност изолованих нафтохинона и екстраката ризома биљке
Onosma visianii Clem “**

кандидата **Милене Д. Вукић**, мастер хемичара за истраживање и развој.

Милена Д. Вукић је предала рукопис докторске дисертације Наставно-научном већу Природно-математичког факултета на оцену и проверу. Чланови Комисије су имали детаљан увид у поменути рукопис, пажљиво га прочитали, прегледали и проценили научни квалитет докторске дисертације, при чему су дали сугестије, предложили корекције и на тај начин побољшали квалитет научног материјала и добијених резултата у оквиру докторске дисертације. Кандидат је прихватио све сугестије чланова Комисије, чиме су се стекли услови да Комисија поднесе Наставно-научном већу Природно-математичког факултета следећи

06. 03. 2020			
03	130/4	—	—

ИЗВЕШТАЈ

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

Рак је један од главних узрока смртности према Светској здравственој организацији, а радикални приступи у контроли већине карцинома као што су хируршки захвати, радиотерапија или хемиотерапија у доста случајева се нису показали успешним. Поред тога, развој резистенције према конвенционалним антибиотцима представља један од највећих изазова за фармацеутску индустрију и здравствени сектор. Сходно

томе, тренутни фокус многих научних истраживачких група је усмерен ка откривању нових, ефикаснијих лекова. Као један од кључних аспеката у циљу решавања представљених проблема намеће се и примена изолованих секундарних метаболита и биљних екстраката у третману различитих патофизиолошких стања.

Секундарни метаболити из групе нафтохинона, конкретније изохексенилнафтазарина (шиконина и алканина) су предмет многих истраживања услед тога што поседују различите нивое биолошких активности. Као њихови главни биолошки значајни ефекти наводе се антитуморска, антимикробна и антикоагулантна својства, антиинфламаторни ефекат, као и примена ових једињења у зацељивању рана. У претходних тридесет година нафтохинонима богати екстракти биљака *Lithospermum erythrorhizon* и *Alkanna tintoria*, 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* који садрже ова једињења још од дванаестог века користе у третману канцера.

Корен биљке *O. visianii* Clem је врло слабо проучаван. Осим податка да је у њему констатован шиконин, до сада други литературни подаци о хемијском саставу и фармаколошкој активности ове биљке нису постојали. Стога, резултати постигнути у оквиру ове дисертације представљају пре свега значајан допринос фармаколошком и фитохемијском опису биљке *Onosma visianii* Clem. Поред тога, добијени резултати указују и на могућу примену изолованих нафтохинонских деривата у развоју нових антибактеријских формулација, као и у развоју нових стратегија у борби са раком дебелог црева и дојке.

2. **Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада**

Докторска дисертација под насловом:

„Биолошка активност изолованих нафтохинона и екстраката ризома биљке *Onosma visianii* Clem”

кандидата Милене Д. Вукић, припада научној области Хемија, ужа научна област Биохемија. Предмет изучавања ове докторске дисертације јесте добијање екстраката из ризома биљке *Onosma visianii* Clem, изоловање нафтохинонских деривата из групе шиконина из добијених екстраката, као и одређивање садржаја индивидуалних компоненти у екстрактима добијеним применом различитих растварача. Посебна пажња усмерена је ка испитивању биолошке активности екстраката и изолованих једињења. Испитана је цитотоксична активност екстраката на линијама туморских ћелија. Такође, дефинисана је и активност изолованих једињења према мултирезистентним сојевима бактерија, цитотоксична активност и маркери оксидативног стреса одређени су на

одговарајућим линијама туморских ћелија, а испитан је и начин интеракција изолованих једињења са хуманим серум албумином и молекулом ДНК. У циљу увећања стабилности и биорасположивости, а самим тим и побољшања биолошке потенције изолованих липофилних нафтохинонских деривата, извршена је и енкапсулација изолованог нафтохинона ацетилшиконина у молекул β -циклодекстрина, те је на одговарајућим линијама туморских ћелија детаљно испитана и упоређена цитотоксична активност енкапсулираног и слободног једињења.

У оквиру ове дисертације изоловано је седам једињења из екстракта добијеног применом растварачке смеше петрол етар:метилен хлорид (1:1 v/v) и то:

- деоксишиконин (1)
- изобутирилшиконин (2)
- α -метилбутирилшиконин (3)
- ацетилшиконин (4)
- β -хидроксиизовалерилшиконин (5)
- 5,8-*O*-диметил изобутирилшиконин (6)
- 5,8-*O*-диметил деоксишиконин (7)

при чему је од изолованих деривата нафтохинона, 5,8-*O*-диметил изобутирилшиконин (6) први пут идентификован у природном извору.

Структурна идентификација изолованих једињења извршена је применом савремених спектроскопских метода анализе UV-Vis, IR, ^1H NMR и ^{13}C NMR спектроскопије, као и применом масене спектрометрије високе резолуције.

Садржај индивидуалних компоненти у екстрактима добијеним употребом различитих растварача (ацетон, хлороформ, етил ацетат, метанол и петрол етар) дефинисан је применом течне хроматографије високих перформанси (HPLC). Добијени резултати су указали на то да је корен биљке *O. visianii* веома богат извор деривата шиконина, при чему хлороформ, ацетон и етил ацетат представљају боље раствараче за прелиминарну екстракцију биоактивних деривата нафтохинона изобутирилшиконина, α -метилбутирилшиконина и ацетилшиконина, док је за екстракцију 5,8-*O*-диметил деривата пожељнија употреба растварача ацетона или хлороформа.

У циљу испитивања цитотоксичне активности екстраката (ацетонског, хлороформског, етил ацетатног, метанолног и петрол етарског) примењена је МТТ метода, а активност је испитана на хуманој ћелијској линији канцера дебелог црева (HCT-116) и хуманој ћелијској линији аденокарцинома дојке (MDA-MB-231). Резултати су указали на значајно бољу активност екстраката ацетона, хлороформа и етил ацетата према тестираним ћелијама канцера, па је испитана њихова могућност идукције апоптозе и ефекат на заустављање ћелијског циклуса применом проточне цитометрије на поменутих ћелијама канцера. Анализа резултата је показала да тестирани екстракти на обе ћелијске линије индукују апоптозу са мањим процентом некротичних ћелија, као и да ацетонски и хлороформски екстракт доводе до застоја у митози заустављајући ћелијски циклус у G2/M фази, док етил ацетатни екстракт прекида синтезу ДНК заустављајући ћелијски циклус у S фази.

Цитотоксична активност изолованих једињења и маркери оксидативног стреса одређени су на НСТ-116 и MDA-MB-231 ћелијама канцера. Резултати МТТ теста су показали да сва тестирана једињења временски и дозно зависно смањују вијабилност ћелија обе тест ћелијске линије. Такође, примећена је већа осетљивост НСТ-116 ћелијске линије на третман изолованим једињењима. Проточном цитометријом одређен је тип ћелијске смрти изазван третманом изолованим једињењима, а резултати су показали да је апоптоза примарни начин смрти тестираних ћелија (НСТ-116 и MDA-MB-231) уз мали проценат некрозе. Анализа резултата заустављања ћелијског циклуса указује на то да изоловани нафтохинони заустављају митозу и ћелијски циклус у G0/G1, S или G2/M фазама, што за резултат даје апоптозу у циљаним ћелијама. Како су α -метилбутирилшиконин, ацетилшиконин и β -хидроксиизовалерилшиконин показали најјачи цитотоксични ефекат на НСТ-116 и MDA-MB-231 ћелијским линијама, испитан је њихов ефекат на маркере оксидативног стреса као потенцијалних механизма проапоптотских и антипролиферативних својстава. Добијени резултати указали су да је третман овим једињењима изазвао поремећај оксидативне хомеостазе ћелија рака дебелог црева и дојке, повећавајући ниво супероксид анјон радикала, нитрита, оксидованог и редукованог глутатиона.

У оквиру ове дисертације испитан је и начин интеракција α -метилбутирилшиконина, ацетилшиконина и β -хидроксиизовалерилшиконина са молекулом ДНК и хуманим серум албумином (HSA) применом UV-Vis и FL спектроскопских техника, као и молекулском докинг анализом. Анализа резултата интеракција нафтохинонских деривата са молекулом ДНК показала је да се тестирана једињења везују у жлеб између ланаца молекула ДНК. Резултати интеракција ових једињења са молекулом HSA указала су на њихову могућност да се чврсто вежу за HSA, и сасвим безбедно транспортују до циљних ћелија.

Антибактеријска активност свих седам изолованих шиконинских деривата испитана је применом микродилуционе технике на панелу мултирезистентних бактерија, и то пет грам позитивних (*Bacillus megaterium*, *Enterococcus faecalis*, *Microbacterium arborescens*, *Micrococcus luteus* и *Staphylococcus epidermidis*) и пет грам негативних бактерија (*Citrobacter koseri*, *Hafnia alvei*, *Pseudomonas roteolytica*, *Stenotrophomonas maltophilia* и *Yersinia intermedia*). Тестирана једињења су показала добру антибактеријску активност како према грам позитивним, тако и према грам негативним бактеријским сојевима, при чему су α -метилбутирилшиконин и ацетилшиконин показали најзначајнију активност према свим тест бактеријским сојевима.

Липофилна природа изолованих нафтохинона значајно утиче на њихову биорасположивост и фармацеутску ефикасност. Ту такође треба нагласити и ограничења у погледу стабилности једињења под дејством кисеоника из ваздуха, температуре и UV зрачења, будући да деградациони производи или нису активни, или је пак њихова активност мала. У циљу увећања биолошке активности нафтохинона искоришћена је могућност њихове енкапсулације унутар хидрофобне шупљине молекуле β -CD. Од свих тестираних нафтохинона ацетилшиконин је показао најбољу активност, па је испитана

могућност његове енкапсулације у молекул β -CD. Резултати UV-Vis, IR и ^1H NMR спектроскопије, рендгенске дифрактометрије праха (XPRD), као и скенирајуће електронске микроскопије (SEM) показали су да је добијен бинарни систем ацетилшиконин/ β -CD. Тест фазне растворљивости показао је да је добијен инклузиони систем A_L -типа, као и да је однос субстрат/лиганд 1:1 М/М. У циљу потврде побољшаног терапеутског потенцијала ацетилшиконина енкапсулацијом, испитано је цитотоксично дејство енкапсулираног и слободног ацетилшиконина. На основу МТТ теста утврђено је да је цитотоксичност ацетилшиконина према НТС-116 и MDA-MB-231 ћелијским линијама канцера у дужим треманима значајно повећана енкапсулацијом, односно увећањем биорасположивости активне супстанце. Применом клоногеног теста закључено је да ацетилшиконин из бинарног система показује много јачу способност инхибиције клоногеног преживљавања на обе тест ћелијске линије у поређењу са слободним ацетилшиконом. Анализа ћелијског циклуса показује да третман инклузионим системом у обе тестиране ћелијске линије индукује јачи застој у ћелијском циклусу у поређењу са третманом слободним ацетилшиконом. Испитан је ефекат слободног ацетилшиконина и његовог инклузионог система на продукцију интрацелуларних реактивних кисеоничних врста (ROS) у НТС-116 и MDA-MB-231 ћелијским линијама. Резултати су показали да третман инклузионим системом у поређењу са третманом слободним ацетилшиконом повећава продукцију ROS, при чему је код НТС-116 ћелија продукција 1,3 пута већа, односно код MDA-MB-231 ћелија већа за 1,1 пут. Апоптотски ефекат ацетилшиконина из инклузионог система испитан је анализом експресије кључних апоптотских протеина Bcl-2, Вах и активне каспазе-3, и упоређен са апоптотским ефектом у ћелијама третираним слободним ацетилшиконом. Анализом добијених резултата показано је да у третману НТС-116 ћелија енкапсулираним и слободним ацетилшиконом долази до смањења односа Bcl-2/Вах у поређењу са контролним ћелијама, односно повећава се проценат ћелија код којих долази до експресије активне каспазе-3. Третман MDA-MB-231 ћелија енкапсулираним и слободним ацетилшиконом није показао значајан ефекат на експресију протеина Bcl-2, Вах и активне каспазе-3. На истим ћелијама канцера испитан је и ефекат инклузионог система и слободног нафтохинона на инхибицију аутофагије. Оба третмана, слободним ацетилшиконом и ацетилшиконом из бинарног система доводе до инхибиције аутофагије, с тим да је третман енкапсулираним нафтохиномом значајно ефикаснији у обе ћелијске линије.

3. Преглед остварених резултата рада кандидата

Милена Д. Вукић је у досадашњем научно-истраживачком раду постигла значајне резултате из области хемије, биохемије и медицинске хемије из чега је проистекао већи број научних публикација у научним часописима међународног значаја (категорије M20). Поред тога, кандидат је учествовао на различитим научним конференцијама, како домаћег, тако и међународног карактера. Резултати досадашњег научно-истраживачког рада **Милене Д. Вукић** су публиковани у међународним научним часописима (13 радова), у часописима националног значаја (2 рада), у виду

саопштења на међународним (6 саопштења) и националним (9 саопштења) научним скуповима, и у виду саопштења са међународног скупа штампаног у целини (1 саопштење), што укупно чини 31 библиографску јединицу.

3.1. Научни радови публиковани у међународним часописима

3.1.1. 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 (6), 1404-1412. ISSN: 0972-060X; (IF 0.439 за 2016, **M23**, Plant Sciences 183/211) DOI: 10.1080/0972060X.2016.1211965

3.1.2. Danijela Stojković, Alessia Bacchi, Davide Capucci, Milica R Milenković, Božidar Čobeljić, Srećko Trifunović, Katarina Anđelković, 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. ISSN: 0352-5139; (IF 0.970 за 2016, **M23**, Chemistry, Multidisciplinary, 131/166) DOI: 10.2298/JSC160915087S

3.1.3. D. Lj. Stojković, V. V. Jevtić, N. Vuković, **M. Vukić**, I. Potočnják, 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 derivate. *Journal of Structural Chemistry*, (2017) vol. 58, No. 3, 550-557; ISSN: 0022-2860; (IF 0.472 за 2017, **M23**, Chemistry, Physical, 46/46) DOI: 10.1134/S0022476617030179

3.1.4. **Milena D Vukic**, Nenad L Vukovic, Gorica T Djelic, Suzana Lj Popovic, Milan M Zanic, Dejan D Baskic, Gordana B Krstic, Vele V Tesovic, Miroslava M Kacaniova, Antibacterial and cytotoxic activities of naphthoquinone pigments from *Onosma visianii* Clem. *Excli Journal*, (2017) vol 16, 73-78. ISSN: 1611-2156; (IF 2.424 за 2017, **M21**, Biology 24/85). DOI: 10.17179/excli2016-762

3.1.5. Nenad L. Vukovic, Ana D. Obradovic, **Milena D. Vukic**, Danijela Jovanovic, Predrag M. Djurdjevic, Cytotoxic, proapoptotic and antioxidative potential of flavonoids isolated from propolis against colon (HCT-116) and breast (MDA-MB-231) cancer cell lines. *Food Research International*, (2017) vol 106, 71-80. ISSN: 0963-9969; (IF 4.196 за 2017, **M21a**, Food Science & Technology 11/133) DOI: 10.1016/j.foodres.2017.12.056

3.1.6. 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 Potocnják, Srećko 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. ISSN: 0020-1693; (IF 2.264 za 2017, **M22**, Chemistry, Inorganic and Nuclear 16/45) DOI: 10.1016/j.ica.2017.06.015

3.1.7. Milena D. Vukic, Nenad L. Vukovic, Ana D. Obradovic, Suzana Lj. Popovic, Milan M. Zarić, 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*, (2018) vol 32, br. 22, pp 2712-2716. ISSN: 1478-6419; (IF 1.928 za 2017, **M22**, Chemistry, Applied 33/72) DOI: 10.1080/14786419.2017.1374271

3.1.8. Danijela Lj Stojković, Verica V. Jevtić, Nenad Vuković, Milena Vukić, Petar Čanović, Milan M. Zarić, Milena M. Mišić, Dragče M. Radovanović, Dejan Baskić, Srećko R. Trifunović, Synthesis, characterization, antimicrobial and antitumor reactivity of new palladium(II) complexes with methionine and tryptophane coumarine derivatives. *Journal of Molecular Structure*, (2018) vol. 1157, 425-433. ISSN: 1573-8779; (IF 1.753 za 2017, **M23**, Chemistry, Inorganic & Nuclear, 91/146) DOI: 10.1016/j.molstruc.2017.12.095

3.1.9. Edina H. Avdović, Dejan Milenković, Jasmina M. Dimitrić Marković, Jelena Đorović, Nenad Vuković, **Milena D. Vukić**, Verica V. Jevtić, Srećko R. Trifunović, Ivan Potočnjak, Zoran Marković, Synthesis, spectroscopic characterization (FT-IR, FT-Raman, and NMR), quantum chemical studies and molecular docking of 3-(1-(phenylamino)ethylidene)-chroman-2,4-dione. *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2018) vol 195, 31-40. ISSN: 1386-1425; (IF 2.880 za 2017, **M21**, Spectroscopy 7/43) DOI: 10.1016/j.saa.2018.01.023

3.1.10. Milena D. Vukic, Nenad L. Vukovic, Gorica T. Djelic, Ana Obradovic, Miroslava M. Kacaniova, Snezana Markovic, Suzana Popović, Dejan Baskić, Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxic activity of different plant organs of *Eryngium serbicum* L. *Industrial Crops & Products*, (2018) vol 115, 88-97. ISSN: 0926-6690; (IF 3.849 za 2017, **M21a**, Agronomy 6/87) DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.02.031

3.1.11. Ana Obradović, Miloš Matić, Branka Ognjanović, Nenad Vuković, **Milena Vukić**, Predrag Djurdjevic, Gordana Uščumlić, Bojan Božić, Biljana Božić Nedeljković. Anti-Tumor Mechanisms of Novel 3-(4-Substituted Benzyl)-5-Isopropil-5-Phenylhydantoin Derivatives in Human Colon Cancer Cell Line. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, (2019) vol 19 (12), 1491-1502. ISSN: 1871-5206; (IF 2.556 za 2017, **M22**, Chemistry, Medicinal) DOI: 10.2174/1871520619666190425180610

3.1.12. Milena D. Vukic, Nenad L. Vukovic, Suzana Lj. Popovic, Danijela V. Todorovic, Predrag M. Djurdjevic, Sanja D. Matic, Marina M. Mitrovic, Ana M. Popovic, Miroslava M. Kacaniova, Dejan D.Baskic, Effect of β -cyclodextrin encapsulation on cytotoxic activity of acetylshikonin against HCT-116 and MDA-MB-231 cancer cell lines. *Saudi Pharmaceutical Journal*, (2020), vol 28, br. 1, pp 136-146. ISSN: 1319-0164; (IF 3.643 za 2018, **M21**, Pharmacology & Pharmacy 65/267) DOI: 10.1016/j.jsps.2019.11.015

3.1.13. Milena D. Vukic, Nenad L. Vukovic, Ana Obradovic, Milos Matic, Maja Djukic, Edina Avdovic. Redox status, DNA and HAS binding study of naturally occurring naphthoquinone

derivatives. *Excli Journal*, (2020) vol 19, pp 48-70. ISSN: 1611-2156; (IF 2.112 за 2018, **M22**, *Biology* 31/87) DOI: 10.17179/excli2019-1859

3.2. Научни радови публиковани у националним часописима

3.2.1. Nenad L. Vuković, **Milena D. Vukić**, Gorica T. Đelić, Miroslava M. Kacaniova, Mirjana Cvijović, The investigation of bioactive secondary metabolites of the methanolic extract of *Eryngium amethystinum*. *Kragujevac Journal of Science*, (2018) vol. 40, 113-129; ISSN: 1450-9636; DOI: 10.5937/KgJSci1840113V

3.2.2. Ghania Benaiche, Nouredine 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*. *Oriental journal of chemistry*, (2015) vol. 31, No. 4, 1943-1948; ISSN: 0970-020 X; DOI: 10.13005/ojc/310411

3.3. Саопштења на међународним научним конференцијама штампана у изводу (M34)

3.3.1. 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

3.3.2. 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

3.3.3. **Vukić Milena**, Obradović Ana, Kacaniova Miroslava, Vuković Nenad, Marković Snežana, *Eryngium serbicum* 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

3.3.4. **Milena Vukić**, Ana Obradović, Miloš Matić, Nenad Vuković, Prooxidative effects of shikonin derivatives in human breast cancer cell line MDA-MB-231, Serbian Biochemical Society, Eighth Conference Novi Sad, 2018., p.195-196. ISBN: 978-86-7220-096-6

3.3.5. **Milena Dejan Vukić**, Nenad Vukovic, Dejan Baskic, Miroslava Kacaniova. Examination of Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Naphthoquinone Rich Extracts from the Roots of *Onosma visianii* Clem. 1st Molecules Medicinal Chemistry Symposium. Emerging Drug Discovery Approaches against Infectious Diseases Barcelona, Spain, 8 September 2017. Book of abstract p 96.

3.3.6. Milena Vukic, Ana Obradovic, Milos Matic, Edina Avdovic, Nenad Vukovic. Prooxidative effects, DNA and HSA binding of naphthoquinone derivatives. 6th EFMC Young Medicinal Chemist Symposium. Athens, Greece – September 5-6, 2019. Book of abstract. P097, p 138.

3.4. Саопштења на националним научним конференцијама штампана у изводу (M64)

3.4.1. Gordana P. Radić, Davide Capucci, Alessia Bacchi, Danijela Lj. Stojković, Verica V. Jevtić, Nenad Vuković, **Milena Vukić**, Katarina Anđelković, 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

3.4.2. 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

3.4.3. 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

3.4.4. 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

3.4.5. 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

3.4.6. 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

3.4.7. Filip Vukajlović, Nenad Vuković, **Milena Vukić**, Snežana Pešić, Odbrambeni sekreti vrste *Meloe proscarabaeus* Linnaeus, 1758 (Coleoptera, Meloidae). Rezimej X Simpozijuma entomologa Srbije 2015., pp 39.

3.4.8. M. Vukić, N. Vuković, V. Tešević, G. Krstić, P. Vulić. Synthesis and characterization of inclusion complex of acetyl shikonin and β -cyclodextrin. 25th Conference of the Serbian Crystallographic society, Bajina Bašta, 2018., p. 50. **ISBN:** 978-86-912959-4-3

3.4.9. Marina Radović Jakovljević, Aleksandra Marković, Jovana Tubić, Darko Grujičić, Milan Stanković, Nenad Vuković, **Milena Vukić**, Milena Milutinović, Olivera Milošević-Djordjević. Cytotoxic and genotoxic properties of plant *Artemisia vulgaris*. 6th Congress of the Serbian genetic society, Vrnjačka Banja, 2019., p.123. **ISBN:** 978-86-87109-15-5

3.5. Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33)

3.5.1. Milenković, Dejan, Trifunović, Srećko, Avdović, Edina; Vuković, Nenad; **Vukić, Milena**; Dimitrić-Marković, Jasmina; Marković, Zoran. Experimental and theoretical study of the UV-Vis spectrum of a new coumarine-derived ligand. 2nd EAI International Conference on Future Access Enablers of Ubiquitous and Intelligent Infrastructures (Fabulous 2016), Belgrade 2016

4. Научни резултати докторске дисертације

Резултати научно-истраживачког рада кандидата **Милене Д. Вукић** у оквиру ове докторске дисертације публиковани су у форми четири рада у водећим међународним научним часописима (два рада категорије **M21**, и два рада категорије **M22**), два саопштења на националним научним скуповима (катеорије **M64**) и три саопштења на међународним научним скуповима (катеорије **M34**).

4.1. Научни радови публиковани у међународним часописима у оквиру теме за докторску дисертацију

4.1.1. 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 Kacaniovic, Antibacterial and cytotoxic activities of naphthoquinone pigments from *Onosma visianii* Clem. *Excli Journal*, (2017) vol 16, 73-78. **ISSN:** 1611-2156; (IF 2.424 за 2017, **M21**, Biology 24/85) **DOI:** 10.17179/excli2016-762

4.1.2. Milena D. Vukic, Nenad L. Vukovic, Ana D. Obradovic, Suzana Lj. 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*, (2018) vol 32, br. 22, pp 2712-2716. **ISSN:** 1478-6419; (IF 1.928 за 2017, **M22**, Chemistry, Applied 33/72) **DOI:** 10.1080/14786419.2017.1374271

4.1.3. Milena D. Vukic, Nenad L. Vukovic, Suzana Lj. Popovic, Danijela V. Todorovic, Predrag M. Djurdjevic, Sanja D. Matic, Marina M. Mitrovic, Ana M. Popovic, Miroslava M. Kacaniova, Dejan D. Baskic, Effect of β -cyclodextrin encapsulation on cytotoxic activity of acetylshikonin against HCT-116 and MDA-MB-231 cancer cell lines. *Saudi Pharmaceutical Journal*, (2020), vol 28, br. 1, pp 136-146. ISSN: 1319-0164; (IF 3.643 za 2018, **M21**, Pharmacology & Pharmacy 65/267) DOI: 10.1016/j.jsps.2019.11.015

4.1.4. Milena D. Vukic, Nenad L. Vukovic, Ana Obradovic, Milos Matic, Maja Djukic, Edina Avdovic. Redox status, DNA and HAS binding study of naturally occurring naphthoquinone derivatives. *Excli Journal*, (2020), vol 19, pp 48-70; ISSN: 1611-2156; (IF 2.112 za 2018, **M22**, Biology 31/87) DOI: 10.17179/excli2019-1859

4.2. Саопштења на националним научним конференцијама штампана у изводу (M64) у оквиру теме за докторску дисертацију

4.2.1. 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

4.2.1. M. Vukić, N. Vuković, V. Tešević, G. Krstić, P. Vulić. Synthesis and characterization of inclusion complex of acetyl shikonin and β -cyclodextrin. 25th Conference of the Serbian Crystallographic society, Bajina Bašta, 2018., p. 50; ISBN: 978-86-912959-4-3

4.3. Саопштења на међународним научним конференцијама штампана у изводу (M34) у оквиру теме за докторску дисертацију

4.3.1. Milena Vukić, Ana Obradović, Miloš Matić, Nenad Vuković. Prooxidative effects of shikonin derivatives in human breast cancer cell line MDA-MB-231. Serbian Biochemical Society, Eighth Conference, Novi Sad, 2018., p.195-196. ISBN: 978-86-7220-096-6

4.3.2. Milena Dejan Vukić, Nenad Vukovic, Dejan Baskic, Miroslava Kacaniova. Examination of Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Naphthoquinone Rich Extracts from the Roots of *Onosma visianii* Clem. 1st Molecules Medicinal Chemistry Symposium. Emerging Drug Discovery Approaches against Infectious Diseases. Barcelona, Spain, 8 September 2017. Book of abstract p 96.

4.3.3. Milena Vukic, Ana Obradovic, Milos Matic, Edina Avdovic, Nenad Vukovic. Prooxidative effects, DNA and HSA binding of naphthoquinone derivatives. 6th EFMC Young Medicinal Chemist Symposium. Athens, Greece – September 5-6, 2019. Book of abstract. P097, p 138.

5. Оцена испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Комисија је закључила да су сви задаци који су предвиђени приликом пријаве теме за израду докторске дисертације под насловом „**Биолошка активност изолованих нафтохинона и екстракта ризома биљке *Onosma visianii* Clem**” по обиму и квалитету добијених научних резултата у потпуности остварени, као и да резултати приказани у овој дисертацији представљају оригинални научни допринос.

6. Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси

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 хемиотерапеутика 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 екстракта у третману различитих патофизиолошких стања. Имајући у виду наведене чињенице, добијени резултати у оквиру ове дисертације су од значаја у биохемији и медицинској хемији, и могу се применити у развоју нових стратегија у борби са раком дебелог црева и дојке.

Добијени резултати дају и значајан допринос фармаколошком и фитохемијском опису биљке *Onosma visianii* Clem. Ова дисертација је указала на нов и богат извор нафтохинонских деривата, при чему је приказана бржа и ефикаснија метода за њихово изоловање. Такође, значајно је напоменути да је приликом изоловања, 5,8-*O*-диметил изобутирилшиконин први пут идентификован у природном извору. Поред тога, добијени резултати указују и на могућност примене изолованих нафтохинонских деривата како у развоју нових антибактеријских формулација, тако и у развоју нових стратегија у борби са раком дебелог црева и дојке.

7. Начин презентовања резултата научној јавности

Научни доприноси ове докторске дисертације су потврђени публикавањем научних резултата у облику **четири научна рада** у истакнутим међународним часописима (два категорије **M21** и два категорије **M22**), као и два саопштења на националним научним скуповима (категорије **M64**) и три саопштења на међународним научним скуповима (категорије **M34**).

Докторска дисертација је написана на 208 страна и садржи 106 слика, 16 табела, 7 шема и 213 литературних података. Дисертација је подељена на **Скраћенице, Извод, Summary, Списак слика, Списак шема, Списак табела, Општи део (1-36), Предмет истраживања (37-38), Експериментални део (39-78), Резултате и дискусију (79-184), Закључак (185-190), Литературу (191-206) и Биографију (207-208)**. Поред тога,

дисертација садржи списак радова, као и прилог у коме су наведени и апстракти радова у којима су штампани резултати докторске дисертације.

Такође, резултати ће бити презентовани и на јавној одбрани докторске дисертације, након прихватања овог извештаја од стране Наставно-научног већа Природно-математичког факултета и Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Поднети рукопис докторске дисертације кандидата **Милене Д. Вукић** под насловом: „**Биолошка активност изолованих нафтохинона и екстракта ризома биљке *Onosma visianii* Clem**” представља оригинални научни рад из области биохемије, урађен под менторством др Ненада Л. Вуковића, ванредног професора Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу. Докторска дисертација обухвата добијање екстракта из ризома биљке *Onosma visianii* Clem, изоловање нафтохинонских деривата из групе шиконина и њихову квантификацију применом течне хроматографије високих перформанси купловане са PDA дектектором (HPLC-PDA) у добијеним екстрактима, као и циљано повећање биорасположивости липофилне молекуле ацетилшиконина његовом инклузијом унутар молекуле β -циклодектрина. Такође, испитана је и биолошка активност екстракта, изолованих једињења и енкапсулираног ацетилшиконина. Резултат добијен у оквиру ове дисертације може допринети дизајнирању нових антибактеријских формулација и цитостатика.

Квалитет научних резултата ове докторске дисертације је потврђен њиховом публикацијом у облику **четири научна рада** у часописима са SCI листе (два категорије **M21** и два категорије **M22**, укупан импакт фактор 10,11), два саопштења на националним научним конференцијама (категорије **M64**) и три саопштења на међународним научним скуповима (категорије **M34**). С обзиром на све наведене чињенице, сматрамо да су испуњени сви научни, стручни и административни услови за прихватање наведене докторске дисертације као оригиналног научног рада. Предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета и Већу за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу да кандидату **Милени Д. Вукић** одобри јавну одбрану **докторске дисертације** под наведеним насловом.

У Крагујевцу,

27.02.2020.

КОМИСИЈА

V. Tomic

др Веле Тешевих - редовни професор
Хемијски факултет у Београду, Универзитет у Београду
Ужа научна област: Органска хемија
председник Комисије

[Signature]

др Дејан Баскић - ванредни професор
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Имунологија и микробиологија
члан

M. Mladenovic

др Милан Младеновић - ванредни професор
Институт за хемију, Природно-математички факултет у
Крагујевцу, Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Биохемија
члан

[Signature]

др Владимир Михаиловић - доцент
Институт за хемију, Природно-математички факултет у
Крагујевцу, Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Биохемија
члан

[Signature]

др Марија Анђелковић - доцент
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Биохемија
члан