

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На IX редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Биолошког факултета, одржаној 14.07.2023. године, на основу молбе ментора, проф. др Бранке Вуковић-Гачић, редовног професора Универзитета у Београду – Биолошког факултета, и др Ирене Новаковић, вишег научног сарадника, Универзитета у Београду – Института за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију, Центар за хемију одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Јелене З. Ђорђевић Алексић, истраживача сарадника Универзитета у Београду, Института за мултидисциплинарна истраживања, под насловом: „**Биолошка активност алкилтио и арилтио деривата 2-терц-бутил-1,4-бензохинона**“, у саставу:

1. др Стефана Цветковић, доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет, члан
2. др Стоимир Коларевић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију, члан
3. др Александра Маргетић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију, Центар за хемију, члан

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Јелене З. Ђорђевић Алексић под називом „**Биолошка активност алкилтио и арилтио деривата 2-терц-бутил-1,4-бензохинона**“ представља оригинално истраживање, написано у складу са Упутствима за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду. Највећи део докторске дисертације урађен је на Катедри за микробиологију, Центру за генотоксикологију и екогенотоксикологију Биолошког факултета, Универзитета у Београду. Одређени делови рађени су на Хемијском факултету у сарадњи са Центром за хемију Института за хемију, технологију и металургију, Универзитета у Београду; на Катедри за морфологију и систематику биљака Института за ботанику и Ботаничку башту „Јевремовац“ Биолошког факултета,

Универзитета у Београду, као и на Одсеку за генетичку токсикологију и биологију рака на Националном институту за биологију, Љубљана, Словенија.

Докторска дисертација садржи: насловну страну на српском и енглеском језику, податке о менторима и члановима комисије, изјаву захвалности, резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, садржај, текст по поглављима, списак литературе и прилоге. Пагинирани текст (120 страна) подељен је у 8 поглавља: Увод (33 стране), Циљеви рада (1 страна), Материјал и методе (21 страна), Резултати и дискусија (23 стране), Генерална дискусија (5 страна), Закључци (2 стране), Литература (16 страна) и Прилози (19 страна). У оквиру дисертације налазе се 72 слике (30 у Прилозима), 7 табела и 252 литературна цитата. Поред наведеног, докторска теза садржи и Биографију аутора, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјаву о коришћењу.

Анализа докторске дисертације

Докторска дисертација Јелене З. Ђорђевић Алексић бави се испитивањем биолошке активности једињења 2-терц-бутил-1,4-бензохинона (ТВQ) и његових алкилтио и арилтио деривата: 2-терц-бутил-5-(изопропилтио)-1,4-бензохинона (2), 2-терц-бутил-5-(пропилтио)-1,4-бензохинона (3), 2-терц-бутил-5,6-(етиленедитио)-1,4-бензохинона (4), 2-терц-бутил-5-(фенилтио)-1,4-бензохинона (5) и 2-терц-бутил-6-(фенилтио)-1,4-бензохинона (6), креираних по узору на природна биолошки активна једињења.

Као извори инспирације, биолошки активна једињења пореклом из природних производа представљају потенцијалне сировине за производњу нових лекова, нарочито у терапији малигних болести. Међутим, највеће проблеме за њихову примену представљају слаб принос и цена експлоатације. Једно од решења овог проблема је синтеза једињења са фармакофором сличном биолошки активним једињењима природног порекла. Тако су у овој дисертацији, као економски исплатљивији и еколошки модел замене за биолошки активна једињења пореклом из моринских организама (аварол/аварон), синтетисани алкилтио и арилтио деривати ТВQ и испитана је њихова биолошка активност. Испитивање њихове активности урађено је на више различитих модел система, применом разноврсних биохемијских и биолошких тестова.

Поглавље „УВОД“ подељено је у десет потпоглавља и садржи релевантне литературне податке који су од значаја за разумевање теме докторске дисертације. У првом потпоглављу „Биолошки активни производи природног порекла“ кандидаткиња даје увид у порекло и значај биолошки активних производа природног порекла и истиче њихову примену у медицини. Потпоглавље „Биолошки активни производи синтетичког порекла“ приказује ограничења у примени биолошки активних производа природног порекла и указује на висок потенцијал примене њихових структурно сличних синтетичких аналога који постају све више заступљени у процесу развоја модерних лекова. У потпоглављу „Хинони“ представљени су хинони, као вишеструко активна класа

органичних једињења, заступљена у великом броју организама, док су у потпоглављу **„Механизми деловања хинона“** концизно објашњени механизми биолошког деловања хинона који укључују продукцију реактивних кисеоничних врста (РОС); алкиловање/ариловање протеина, липида и нуклеинских киселина као и интеракције хинона са ДНК молекулом. Потпоглавље **„Биолошка активност хинона и њихова примена у медицинској хемији“** даје детаљан, јасан увид у најзначајније биолошке активности хинона (антимикробну, антиоксидативну, антинеуродегенеративну, цитотоксичну и генотоксичну активност) и досадашњу примену хинона у медицинској хемији.

Наредна два потпоглавља: **„Малигне болести“** и **„Хинони као антитуморски агенси“** дају увид у статистичку заступљеност малигну болести, како у свету тако и у Републици Србији, недовољно ефикасне терапије и примену хинона као антитуморских агенаса. Потпоглавље **„Марински организми као извор нових хинонских антитуморских агенаса“** даје осврт на хиноне пореклом из маринских организама као извор нових антитуморских агенаса, укључујући и редокс пар аварол/аварон који су послужили као инспирација за креирање хинонских миметика чију је биолошку активност кандидаткиња испитивала у овој дисертацији. У потпоглављу **„2-мерц-бутил-1,4-бензохинон (ТВQ)“** јасно је представљено једињење 2-мерц-бутил-1,4-бензохинон, карактеристике које га чине добрим моделом за дизајн синтетичких једињења по узору на аварон, као и алкилтио и арилтио деривати ТВQ којима се, додатним хемијским модификацијама, може појачати биолошка активност ТВQ и смањити нежељени ефекти. Потпоглавље **„Испитивање биолошке активности“** даје јасан увид у методологију утврђивања биолошке активности природних и синтетичких једињења.

У другом поглављу, **„ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА“**, представљени су општи и специфични циљеви ове дисертације. Општи циљ докторске дисертације кандидаткиње јесте испитивање биолошке активности 2-мерц-бутил-1,4-бензохинона (ТВQ) и његових алкилтио и арилтио деривата применом разноврсних метода тестирања у различитим модел системима. За остваривање општег циља, постављени су специфични задаци:

1. Синтеза алкилтио и арилтио деривата ТВQ.
2. Испитивање антиоксидативне активности ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата DPPH тестом.
3. Одређивање продукције реактивних кисеоничних врста ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата NBT тестом.
4. Испитивање антинеурогенетивне активности ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата.
5. Испитивање антимикробне активности ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата према изабраним грам-позитивним (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) и грам-негативним бактерија (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442).

6. Испитивање утицаја ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата на адхезију и инвазију *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 соја (ATCC 15693) при инфекцији MRC-5 ћелијске линије.

7. Испитивање токсичности ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата на модел организму *Artemia salina*.

8. Испитивање цитотоксичне активности ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата према хуманим туморским ћелијским линијама (A549, Hs 294T, HepG2, HCT 116) и здравој (MRC-5) ћелијској линији.

9. Испитивање утицаја ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата на миграторни потенцијал MRC-5 и A549 ћелијских линија *in vitro*.

10. Испитивање интеракција ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата са молекулом ДНК на ацелуларном модел систему, плазмидној ДНК pUC19 плазида *E. coli*.

11. Испитивање генотоксичног ефекта ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата на прокариотском модел систему SOS/*umuC* тестом на *Salmonella typhimurium* TA1535 psK1002 соју.

12. Испитивање генотоксичног ефекта ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата на еукариотским модел системима према здравој (MRC-5) и туморској (HepG2) ћелијској линији.

13. Испитивање утицаја ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата на стварање дволанчаних прекида на ДНК молекулу на HepG2 ћелијама тестом детекције хистонског протеина γ H2AX.

14. Испитивање утицаја ТВQ и његових алкилтио и арилтио деривата на ћелијски циклус применом проточне цитометрије на HepG2 ћелијској линији.

Поглавље „МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ“ обухвата два потпоглавља. У првом потпоглављу „Материјал“, кандидаткиња даје преглед материјала коришћеног при изради ове дисертације, који укључује биолошки материјал, цитостатике, модел мутаген, антибиотике, остале лекове, растворе и хемикалије и хранљиве подлоге. Друго потпоглавље „Методe“ даје информације о поступцима за синтезу деривата ТВQ и методама којима је испитана биолошка активност једињења. Алкилтио и арилтио деривати ТВQ синтетисани су нуклеофилном адицијом тиола на ТВQ. Комерцијално доступан ТВHQ је оксидован коришћењем сребро-оксида у одговарајући хинон (потпоглавље „Синтеза алкилтио и арилтио деривата ТВQ“). У потпоглављима „Испитивање антиоксидативне активности применом DPPH теста“ и „Одређивање утицаја на продукцију реактивних кисеоничних врста (NBT тест)“ описане су спектрофотометријске методе за испитивање антиоксидативне и прооксидативне активности ТВQ и његових деривата. У наредном потпоглављу („Испитивање антинеуродегенеративне активности тестом инхибиције ензима AchE“) описан је поступак примене колориметријског теста за испитивање антинеуродегенеративне активности ТВQ и његових деривата преко инхибиције ензима ацетилхолин-естеразе. У следећем потпоглављу „Испитивање антимикробне активности“ описане су методе за

утврђивање антимикуробног потенцијала ТВQ и његових деривата. Антимикуробна активност је испитана дифузионом методом у бунару и микродилуционом методом према четири грам-позитивне (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633) и три грам-негативне бактерије (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442). Додатно, кандидаткиња је испитала утицај ТВQ и његових деривата на адхезију и инвазију *P. aeruginosa* PAO1 (ATCC 15693) бактеријског соја при инфекцији хумане ћелијске линије MRC-5. У наредном потпоглављу **„Испитивање токсичности на модел организму *Artemia salina*“** описан је поступак за утврђивање токсичне активности једињења на модел организму *Artemia salina* утврђивањем концентрације једињења која доводи до смрти 50% јединки (LC₅₀ вредност). У оквиру потпоглавља **„Култивација сисарских ћелија“** представљени су поступци за гајење, припрему и одређивање броја ћелија. Кандидаткиња је послупак за испитивање цитотоксичне активности једињења МТТ тестом према здравој ћелијској линији феталних, хуманих фибробласта плућа - MRC-5 и три хумане туморске ћелијске линије: меланома - Hs 294T, аденокарцинома плућа - A549 и колоректалног карцинома - HCT 116, као и МТС тестом на ћелијама хепатоцелуларног карцинома - HepG2 описала у потпоглављу **„Испитивање цитотоксичне активности“**. У наредном потпоглављу (**„Испитивање утицаја на миграторни потенцијал ћелија MRC-5 и A549 линија *in vitro* (Wound healing или Scratch assay“**) описана је метода за испитивање утицаја једињења на миграторни потенцијал ћелија MRC-5 и A549 линија *in vitro*. Следеће потпоглавље (**„Испитивање интеракције са ДНК молекулом“**) описује методе за испитивање интеракције тест супстанци са ДНК молекулом. Интеракције са ДНК молекулом испитане су на ацелуларном (плазмидна ДНК, плаزمида pUC19), целуларном прокариотском (SOS/*umuC* тест на *Salmonella typhimurium* TA1535 pSK1002 соју) и целуларном еукариотском (комет тест на хуманој здравој – MRC-5 ћелијској линији и туморској HepG2 ћелијској линији) модел систему. На крају овог потпоглавља описана је и метода за детекцију дволанчаних оштећења ДНК молекула након третмана ТВQ-ом и његовим дериватима применом γ H2AX теста на HepG2 ћелијској линији. У последњем потпоглављу (**„Анализа ћелијског циклуса проточном цитометријом“**) описан је протокол за испитивање утицаја тест супстанци на заустављање ћелијског циклуса HepG2 ћелија.

Поглавље **„РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА“** подељено је у девет потпоглавља на основу биолошке активности која је испитивана. У потпоглављу **„Антиоксидативна активност ТВQ и његових деривата“** кандидаткиња је доказала да деривати показују сличну антиоксидативну активност у односу ТВQ, док сва тестирана једињења показују бољу антиоксидативну активност од аскорбинске киселине која је коришћена као позитивна контрола. У потпоглављу **„Утицај ТВQ и његових деривата на продукцију реактивних кисеоничних врста“** приказани су резултати утицаја ТВQ и његових деривата на продукцију РОС-а, што је један од механизма деловања хинонских једињења.

Кандидаткиња је показала да су сва испитивана једињења утицала на продукцију РОС-а у НСТ 116 ћелијској линији при чему су највећу продукцију, статистички значајно већу од ТВQ, показали деривати **3** и **4**.

У потпоглављу „**Антинеуродегенеративна активност ТВQ и његових деривата**“ представљени су резултати испитивања антинеуродегенеративне активности једињења преко концентрације која доводи до инхибиције 50% ензима ацетилхолин-естеразе, што је уобичајен вид испитивања антинеуродегенеративне активности у научној пракси. У поређењу са ТВQ, статистички значајно јачу антинеуродегенеративну активност су показали деривати **3** и **4**, двоструко слабију од комерцијалног лека у терапији Алцхајмерове болести, галантамина. Додатно, у овом потпоглављу је истакнуто да добијени резултати указују на добар потенцијал наведених једињења у терапији Алцхајмерове болести, будући да је уочена јака позитивна Пирсонова корелација између антиоксидативне и антинеуродегенеративне активности. Кандидаткиња истиче да антинеуродегенеративни потенцијал деривата **3** и **4** може бити последица „хватања“ РОС-а који су један од главних претпостављених узрока Алцхајмерове болести.

У потпоглављу „**Антимикробна активност ТВQ и његових деривата**“ приказани су резултати испитивања антимикробне активности једињења дифузионом методом у бунару и микродилуционом методом. Дифузионом методом у бунару није утврђена антимикробна активност једињења, будући да су једињења слабо дифундовала кроз чврсту агарозну подлогу, што је једна од мана наведеног теста, због чега је додатно испитана антимикробну активност на истим бактеријским сојевима применом микродилуционог теста у течном медијуму. Резултати су представљени преко минималне инхибиторне концентрације (МИК). ТВQ и његови деривати су показали јачу антимикробну активност према грам-позитивним бактеријама, при чему су најјачу активност показали према бактеријским сојевима *B. subtilis* и *S. aureus*. На основу МИК вредности наведена антимикробна активност се може класификовати као снажна. Кандидаткиња је затим упоредила МИК вредности добијене за деривате на испитиваним бактеријским сојевима са резултатима добијеним за основно једињење - ТВQ и показала да хемијске модификације појачавају антимикробни ефекат. Највећу активност, 8 пута јачу од ТВQ, показали су: дериват **4** (према *E. faecalis*) и дериват **5** (према *S. aureus*). У оквиру истог потпоглавља приказани су и резултати утицаја тест супстанци на адхезију и инвазију *P. aeruginosa* РАО1 бактеријског соја при инфекцији МРС-5 ћелијске линије. Једињења нису показала ефекат на адхезију *P. aeruginosa*, док је статистички значајно повећање инвазије истог соја детектовано само при третману дериватом **3** на највишој тестираној концентрацији.

У потпоглављу „**Токсичност ТВQ и његових деривата на модел организму *Artemia salina***“ показано је да хемијске модификације смањују токсичност, изузев деривата **6** који је испољио јачу токсичност од основног једињења – ТВQ, али и од осталих деривата. Кандидаткиња у овом делу објашњава и да је већа токсичност једињења

повезана са формирањем РОС-а, односно, у случају деривата **6**, формирањем РОС-а и алкиловањем ћелијских нуклеофила.

У потпоглављу **„Цитотоксична активност ТВQ и његових деривата“** кандидаткиња је резултате цитотоксичног ефекта једињења према пет хуманих ћелијских линија представила преко IC₅₀ вредности и показала да једињења имају генерално умерен цитотоксични потенцијал и да хемијске модификације појачавају цитотоксичност која је израженија након дужег периода инкубације. Деривати су показали најјачу цитотоксичност према MRC-5 ћелијама, при чему је дериват **4** испољио најјачи ефекат. Цитотоксичност овог деривата окарактерисан је као задовољавајући према MRC-5 и НСТ 116 ћелијама и умерени према НерG2 ћелијској линији. Кандидаткиња објашњава да су добијени резултати цитотоксичности деривата **4** највероватније последица продукције РОС-а, будући да комбиновани механизам деловања који укључује нуклеофилну адисију на хинонско језгро није могућ. Деривати **3** и **5** показали су најјачи цитотоксични ефекат према ћелијама Нs 294Т и А549 линија, респективно. У односу на тестиране цитостатике (етопозид и цисплатин), ТВQ и његови деривати показали су јачу цитотоксичност од етопозида према ћелијама MRC-5 линије (7 пута јачу у случају деривата **4**). Међутим, упоређивањем резултата добијених на туморским ћелијским линијама са здравом ћелијском линијом, ни једно од тестираних једињења није показало задовољавајући селективни ефекат. Као могуће објашњење мање цитотоксичности једињења према туморским у односу на здраву ћелијску линију, кандидаткиња наводи активност различитих унутарћелијских ензима који су присутни у већој количини у туморским ћелијама испитиваних ћелијских линија. Ови ензими доводе до хемијске модификације једињења у једињења са мањим цитотоксичним потенцијалом.

Ефекат једињења на миграцију здравих MRC-5 и туморских А549 ћелија је представљен у потпоглављу под називом: **„Утицај ТВQ и његових деривата на миграторни потенцијал ћелија MRC-5 и А549 линија *in vitro*“**. Показано је да деривати доводе до инхибиције миграције што није уочено за основно једињење ТВQ. Применом овог теста, кандидаткиња је показала и селективни ефекат према А549 ћелијској линији деривата **5** и деривата **6**.

Интеракције једињења са ДНК молекулом на ацелуларном и целуларним модел системима су приказане у потпоглављу под називом: **„Интеракције ТВQ и његових деривата са ДНК молекулом“**. На ацелуларном модел систему, плазмидној ДНК и на целуларном, прокариотском модел систему, бактеријском соју *Salmonella typhimurium* TA1535 рSK1002, SOS/*umuC*, кандидаткиња је доказала да ТВQ и његови деривати нису показали генотоксични потенцијал, што је у складу са ранијим судијама. Резултати интеракција једињења са ДНК молекулом на целуларном еукариотском модел систему добијени су комет тестом. ТВQ није показао статистички значајан генотоксични потенцијал према ћелијама MRC-5 линије док је на НерG2 линији генотоксичан ефекат уочен при концентрацији од 3,7 µM. Када су у питању деривати, резултати указују на јачи генотоксични ефекат према здравом ћелијској линији (MRC-5) у односу на туморску

(HerG2). Предложено је објашњење да јача генотоксичност на MRC-5 настаје због хемијске модификације ТВQ и његових деривата у мање потентна једињења посредством ензима ДТ-дијафоре, присутног у HerG2 ћелијској линији, што је уједно и разлог уочене слабије цитотоксичности према овој ћелијској линији. У односу на сва испитивана једињења, најјачи генотоксични ефекат показао је дериват **4** према ћелијама обе ћелијске линије, али не јачи од цитостатика етопозида и мутагена бензо[*a*]пирена. Кандидаткиња је на основу резултата γ H2AX теста на HerG2 ћелијској линији показала да дериват **4** доводи до дволанчаних оштећења ДНК, док остали деривати доводе или до једноланчаних прекида или до прекида на алкално лабилним местима.

У последњем потпоглављу „Анализа утицаја ТВQ и његових деривата на заустављање ћелијског циклуса“, показано је да једино дериват **4** изазива значајно заустављање ћелијског циклуса у G₂/M фази ћелијског циклуса HerG2 ћелија што се објашњава као последица настанка дволанчаних прекида ДНК молекула.

„ГЕНЕРАЛНА ДИСКУСИЈА“ је представљена у петом поглављу. Кандидаткиња је издвојила три најзначајније биолошке активности које је испитала у овој дисертацији – антимикробну, цитотоксичну и генотоксичну активност, објединила добијене резултате и дала смернице за даља истраживања.

На основу добијених резултата антимикробне активности деривата, кандидаткиња издваја дериват **5** као једињење са највећим антимикробним потенцијалом према *S. aureus* у односу на све друге деривате. С обзиром на то да је наведена бактерија чест узрочник опортунистичких бактеријских инфекција људи и да је брзо стекла резистенцију на различите антибиотике, проналазак нових антимикробних агенаса који делују према *S. aureus* представља велики изазов савременој медицини. Кандидаткиња указује да се одговарајућим хемијским модификацијама може појачати активност деривата **5**, и то нарочито према ензиму Сортази А која овом соју омогућава формирање биофилма, што је на основу литературних података један од претпостављених механизма антимикробног деловања хинона према *S. aureus*.

На основу резултата анализе цитотоксичне активности деривата, кандидаткиња сматра да би деривати **4**, **5** и **6** због антиоксидативног и прооксидативног деловања, снажног цитотоксичног деловања (дериват **4**) и израженог селективног ефекта на инхибицију миграције туморских ћелија (деривати **5** и **6**) били најбољи кандидати за евентуална даља истраживања као потенцијални хемиотерапеутици. Кандидаткиња истиче да би се њиховим комбинованим деловањем са антиоксидантима повећао селективни ефекат и смањила нежељена дејства, нарочито висока токсичност уочена за дериват **6**.

Неселективни генотоксични ефекат деривата представља велику препреку за њихову евентуалну хемиотерапеутску примену због тога што би оштећења ДНК здравих ћелија могла довести до секундарних малигнитета. Међутим, истакнуто је да генотоксичност алкилтио и арилтио деривата није била већа од генотоксичности хемиотерапеутика етопозида. Други хемиотерапеутици, такође, изазивају висок ниво оштећења ДНК. Кандидаткиња наводи да би комбинован третман са антиоксидантима

могао превентивно деловати на повећану генотоксичност која настаје као последица ROS-а, једног од механизма деловања једињења.

На самом крају поглавља, кандидаткиња је упоредила биолошки потенцијал деривата у односу на ТВQ. Деривати су показали јачу биолошку активност у односу на ТВQ због чега се указује да је наведено једињење добар модел за синтезу деривата са јачим биолошким потенцијалом. Упоредном анализом на основу свих добијених резултата кандидаткиња истиче да дериват **4** има највећи биолошки потенцијал, нарочито као потенцијални хемиотерапеутски агенс. Кандидаткиња закључује да се додатним хемијским модификацијама или у комбинацији са другим једињењима могу умањити нежељени ефекти и појачати његов биолошки потенцијал.

Шесто поглавље, „**ЗАКЉУЧЦИ**“, приказује 15 концизних закључака проистеклих из резултата дисертације, наглашавајући најјачу биолошку активност остварену за дериват **4** у поређењу са ТВQ. Седмо поглавље, „**ЛИТЕРАТУРА**“, обједињује 252 библиографске јединице које су коришћене у овој дисертацији. Сви коришћени литературни извори су актуелни и омогућили су лакше разумевање добијених резултата.

Последње, осмо поглавље, „**ПРИЛОЗИ**“, обухвата ^1H и ^{13}C NMR спектре, EI MS спектре и UV/Vis спектре алкилтио и арилтио деривата ТВQ, вијабилност MRC-5, НСТ 116, Нs 294Т, А549 и НерG2 ћелија у односу на тестиране концентрације једињења добијене применом МТТ и МТS тестова и дијаграме анализе ћелијског циклуса на НерG2 ћелијској линији.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Đorđević, J.**, Kolarević, S., Jovanović, J., Kostić-Vuković, J., Novaković, I., Jeremić, M., Sladić, D., Vuković-Gačić, B. (2020). Evaluation of genotoxic potential of *tert*-butylquinone and its derivatives in prokaryotic and eukaryotic test models, *Drug and Chemical Toxicology*, 43, pp. 522 – 530. (**M22; IF: 2,405**)
<https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1514043>
2. **Đorđević, J.**, Kolarević, S., Jovanović Marić, J., Oalđe Pavlović, M., Sladić, D., Novakovic, I., & Vuković-Gačić, B. (2022). Synthesis and biological activity of alkylthio and arylthio derivatives of *tert*-butylquinone: Scientific paper. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 87(11), 1245–1258. (**M23; IF: 1,100**)
<https://doi.org/10.2298/JSC220304044D>

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. Vuković Gačić, B., **Djordjević, J.**, Kolarević, S., Jovanović, J., Novaković, I. Evaluation of biological activity of selected *tert*-butylquinone derivatives as potential antitumor

drugs. 47th Annual Meeting of EEMGS, Rennes, France, 19-23 May 2019. Book of Abstracts, P72. (M34)

2. **Đorđević, J.**, Kolarević, S., Jovanović, J., Novaković, I., Sladić, D., Vuković-Gačić, B. Antimicrobial activity of 2-*tert*-butyl-1,4-benzoquinone and its selected alkylthio and arylthio derivatives. (2020). Federation of European Microbiological Societies FEMS 2020, October 2020, Virtual conference. Book of Abstracts, P223. (M34)
3. **Đorđević Aleksić, J.**, Kolarević, S., Jovanović Marić, J., Novaković, I., Žegura, B., Vuković-Gačić, B. Detection of double-strand breaks in DNA molecules by the γ H2AX assay and analysis of the cell cycle after treatment with potential antitumor agents TBQ and its alkylthio and arylthio derivatives. International Congress of the Serbian Society of Toxicology & 1. TOXSEE Regional Conference, Belgrade, Serbia, 2023. Book of abstracts, P137. (M34)

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **Đorđević, J.**, Kolarević, S., Novaković, I., Vuković-Gačić, B. Ispitivanje mutagenog i genotoksičnog potencijala derivata *tert*-butilhinona SOS/*umuC* testom i alkalnim komet testom na MRC-5 i HepG2 ćelijskim linijama. Drugi kongres biologa Srbije, Kladovo, Republika Srbija, 25-30 septembar 2018. Knjiga sažetaka, P133. (M64)
2. **Đorđević, J.**, Kolarević, S., Jovanović Marić, J., Oalđe Pavlović, M., Sladić, D., Novaković, I., Vuković-Gačić, B. Usporedni prikaz biološke aktivnosti potencijalnih antitumorskih agenasa: *terc*-butilhinona i njegovih alkiltio i ariltio derivata. Treći kongres biologa Srbije, Srpsko biološko društvo, 21-25 September 2022, Zlatibor, Serbia, Knjiga sažetaka, P251. (M64)

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата Јелене Ђорђевић Алексић Б3013/2017 послата је 3. јула 2023. на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио истог дана, 3. јула 2023.

На основу извештаја који је добијен коришћењем програма iThenticate утврђено је да подударање текста износи 1%. Овај степен подударања је последица навођења библиографских података из литературе и претходно публикованих резултата истраживања кандидаткиње проистеклих из докторске дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата Јелене Ђорђевић Алексић, под насловом **„Биолошка активност алкилтио и арилтио деривата 2-тери-бутил-1,4-бензохинона“**, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидаткиње Јелене З. Ђорђевић Алексић представља комплексно и савремено истраживање који се бави испитивањем биолошке активности 2-терци-бутил-1,4-бензохинона и његових алкилтио и арилтио деривата, креираних по узору на природна, биолошки активна једињења. Дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме и садржи све релевантне елементе докторске дисертације у погледу своје обимности, садржаја, јасно дефинисаних циљева, адекватних метода, оригиналности резултата и начина њиховог представљања, као и укључености релевантне литературе.

Комисија је уверена да докторска дисертација Јелене З. Ђорђевић Алексић пружа допринос у разумевању биолошке активности представљених једињења, наглашава важност мултидисциплинарног приступа у истраживању биолошке активности нових терапеутских агенса и представља основу за будућа истраживања. Комисија истиче задовољство што је кандидаткиња у међународним научним часописима већ публиковала два рада који представљају део докторске дисертације, један у категорији М22 и један у категорији М23. Такође, резултате које је представила у докторској дисертацији, презентовала је на пет научних скупова, од којих су три међународна. На основу свега изложеног, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета да прихвати позитиван Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

КОМИСИЈА:

У Београду, 17.07.2023. године

др Стефана Цветковић, доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет

др Стоимир Коларевић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију

др Александра Маргетић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију, Центар за хемију