

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu održanoj 21.06.2012. godine imenovani su članovi Komisije za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije Branislava Nastasijevića, magistra biohemijskih nauka pod naslovom:

BIOLOŠKI EFEKTI EKSTRAKATA KORENA LINCURE (*Gentiana lutea*) -INHIBICIJA ENZIMA, ANTIOKSIDATIVNA I ANTIMIKROBNA AKTIVNOST

O predloženoj temi i njenoj naučnoj zasnovanosti podnosimo sledeći

IZVEŠTAJ

1. PODACI O KANDIDATU

Opšti biografski podaci

Branislav Nastasijević rođen je 25.05.1972. godine u Beogradu. Diplomirao je na Hemijskom fakultetu u Beogradu 2000. godine, sa prosečnom ocenom 8,64. Specijalizaciju iz oblasti ekologije završio je 2001. godine na Alterativnoj Akademskoj Obrazovnoj mreži u Beogradu. Godine 2009. magistrirao je na Hemijskom fakultetu, na katedri za biohemiju, Univerziteta u Beogradu.

U periodu od 2000-2005. bio je zaposlen kao asistent na katedri za biohemiju, Hemijskog fakulteta u Beogradu. U tom periodu bio je angažovan kao asistent na sledećim predmetima: Mikrobiološka hemija sa mikrobiologijom, Osnovi biotehnologije, Biohemija hrane i ishrane i Biotehnološka i industrijska biohemija. Od 2005. do 2006. godine radio je na klinici Mayo (Ročester, MN, SAD), kao istraživač saradnik, na odseku za Biohemiju i molekularnu biologiju. U periodu od 2007. godine do 2010., zaposlen je u Industriji špirita i pekarskog kvasca "AD Vrenje", na poslovima rukovodioca laboratorije. Od januara 2010. godine do sada zaposlen kao istraživač saradnik u institutu za nuklearne nauke "Vinča" i angažovan na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj RS, br. 172023, kao i na FP7 projektu FUNCFOOD, broj granta 245030.

Branislav Nastasijević je koautor šest naučnih radova u međunarodnim časopisima (oznaka grupe **M20**: **M21-3** rada, **M22-2** rada, **M23-1** rad) kao i deset saopštenja na međunarodnim i domaćim skupovima (oznaka grupe **M30**: **M33-1** rad, **M34-7** radova, **M60**: **M64-2** rada).

Spisak objavljenih naučnih radova:

Radovi u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

1. **B. Nastasijević**, T. Lazarević-Pašti, S. Dimitrijević-Branković, I. Pašti, A. Vujačić, G. Joksić, V. Vasić, Inhibition of myeloperoxidase and antioxidative activity of *Gentiana lutea* extracts, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **(2012)** 66 191– 196; *IF* (2010) = 2,733 (*ISSN* 0731-7085)
2. Ana Vujačić, Vesna Vodnik, Gordana Joksić, Sandra Petrović, Andreja Leskovic, **Branislav Nastasijević**, Vesna Vasić, Particle size and concentration dependent cytotoxicity of citrate capped gold nanoparticles, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* **(2011)** 6 (3),1367-1376; *IF* (2010) = 2,079 (*ISSN* 1842-3582)
3. Tamara Lazarević-Pašti, **Branislav Nastasijević**, Vesna Vasić, Oxidation of chlorpyrifos, azinphos-methyl and phorate by myeloperoxidase, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **(2011)** 220–226; *IF* (2010) = 1,503 (*ISSN* 0048-3575)

Radovi u međunarodnom časopisu (M22)

1. **Branislav Nastasijevic**, Nicole A Becker, Susan E Wurster, L James Maher 3rd, Sequence specific binding of DNA and RNA to immobilized nickel ions, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **(2008)** 366 (2): 420-425; *IF* (2010) = 2,595 (*ISSN* 0006-291X)
2. Djenana U. Miodragović, Dragana M. Mitić, Zoran M. Miodragović, Goran A. Bogdanović, Željko J. Vitnik, Maja D. Vitorović, Milanka D. Radulović, **Branislav J. Nastasijević**, Ivan O. Juranić, Katarina K. Andjelković, Syntheses, characterization and antimicrobial activity of the first complexes of Zn(II), Cd(II) and Co(II) with *N*-benzyloxycarbonylglycine. X-ray crystal structure of the polymeric Cd(II) complex", *Inorg. Chim. Acta*, **(2008)** 361, 86-94; *IF* (2010) = 1,899 (*ISSN* 0020-1693)

Radovi u međunarodnom časopisu (M23)

1. Nastasijević Ivan, **Nastasijević Branislav**, Postić Marija, Mitrović Radmila, Lozance Olivera and Vrvic Miroslav, Investigation of action of peroxyacetic acid on lipid component of bacterial spores and contribution to the standardization of efficiency evaluation test", *Acta Veterinaria*, **(2005)** 55 (2-3), 147-160; *IF* (2010) = 0,169 (*ISSN* 0567-8315)

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33)

1. G. Gojgić-Cvijović, V.P. Beškoski, J. Milić, M. Ilić, T. Šolević, S. Miletić, I. Vučković, B. Potkonjak, B. Jovančičević, M. Radulović, D. Đorđević, D. Jakovljević, O. Martinov, S. Spasić, V. Matić, **B. Nastasijević**, M. M. Vrvic: "*Isolation, selection and adaptation of zymogenous microorganisms: a basis of successful bioremediation*", in Collected Essays of the Scientific Gathering with International Participation-Implementation of Remediation in Environmental Quality Improvement (Belgrade, November 27th, **2006**), Lj.Tanasijević, Ed., Serbian Chamber of Commerce, Belgrade, 2006, p. 125-132 (ISBN: 86-80809-32-2).

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)

1. **B. Nastasijević**, M. Stoilković, N. Vuković, J. Savić, Ž. Todorović, G. Joksić, V. Vasić, Comparison of UPLC/TUV and GC/MS in analysis of PAHs in grilled meat, Euroanalysis-16, Sept. 11-15, **2011**, Belgrade, Serbia, FA76.
2. J. Savić, V. Maksimović, **B. Nastasijević**, J. Dimitrić Marković, V. Vasić, Identification of degradation products obtained under exposure of quercetin solution to UV-C light, Euroanalysis-16, Sept. 11-15, **2011**, Belgrade, Serbia, S4.
3. **B. Nastasijević**, Milovan Stoilković, N. Vuković, Marija Cindrić, Žaklina Todorović, Gordana Joksić, Vesna Vasić, Application of Ultra High Performance Chromatography (UPLC) for analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in grilled and smoked meat, 1st International Conference of Agriculture Food Environment, May 27-28, **2011**, Korca, Albania, Book of Abstracts, 217
4. **B. Nastasijević**, T. Lazarević Pašti, B. Damjanović, T. Kamčeva, A. Hurajova, V. Vasić, Fingerprint Chromatography As A Method For The Quality Control And Standardization Of Herbal Extracts Of Gentiana Lutea, 12th Danube-Kris-Mures-Tisa Euroregion Conference on Food, Environment and Health, Novi Sad, Serbia, Sept 14-15, **2010**, Book of Abstracts
5. **B. Nastasijević**, T. Lazarević Pašti, B. Damjanović, T. Kamčeva, G. Joksić, V. Vasić, MALDI-TOF mass spectrometry as a method for the quality control of *Gentiana lutea* extracts, 10th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Sept. 21, **2010**, Belgrade, Serbia, C6-P
6. Srđan Mladenović, **Branislav Nastasijević**, Srđan Miletić: " Efficiency of commercial enzymatic preparation in grain hydrolysis for preparation of substrates for alcoholic fermentation", 5th International Conference of the Sought-East European Chemical Societies (ICOSECS 5), Sept. 10-14, Ohrid, Macedonia, **2006**, Book of Abstract

7. Z.M. Miodragović, M. Radulović, **B. Nastasijević**, I. Hodžić, Dj. U. Miodragović, Complexes of Co (II), Zn (II) and Cd (II) with N-carbobenzyloxy-glycine- Efficient agents against *C. albicans*, 10th International Symposium on Bioinorganic Chemistry, Sept 20-25, Szklarska Poreba, Poland, 2005, Book of Abstract

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64)

1. Wright, B.R., **Nastasijevic, B.**, Maher, L.J., Rodriguez, M. Aptamers Selected From Myelin Substrates Used As Alternatives To Antibodies To Study, Diagnose And Treat Demyelinating Diseases, AMERICAN SOCIETY FOR NEUROCHEMISTRY, The Latest in Molecular and Cellular Neurobiology, 39th ASN Annual Meeting — San Antonio, TX, March 1—5, 2008
2. **Branislav Nastasijevic**, Jelena Zlatkovic, Brent Wright, Arthur Warrington, Moses Rodrigues and Jim Maher: " DNA aptamers in Multiple Sclerosis Research" The Mayo Clinic College of Medicine Annual School symposium **2006**, Rochester, MN

A. OBRAZLOŽENJE TEME

1. Naučna oblast

Naučna oblast kojoj pripada predložena tema je Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu.

2. Predmet i cilj istraživanja

Gentiana lutea pripada rodu *Gentianaceae*, rasprostranjenom u višim planinskim predelima Azije i Evrope. Zastupljena je i na balkanskom poluostrvu a u Srbiji postoje lokaliteti gde ona prirodno raste. U narodu je poznatija kao lincura a njena upotreba je raširena u tradicionalnoj medicini. Preporučuje se za ublažavanje stomaćnih tegoba ali i za poboljšanje cirkulacije. Upotrebljava se najčešće u obliku čaja a dodaje se i alkoholnim pićima, zbog svoje lekovitosti i aromatičnog, gorkog ukusa. U mnogim farmakopejama se nalaze različita uputstva za njenu primenu. Stoga će cilj ove doktorske disertacije biti ispitivanje određenih biloških svojstava korena *G.lutea*, koja do sada nisu bila ispitivana a kojima se mogu objasniti neki od njenih lekovitih efekata. Pri tome, biće korišćeni ekstrakti koji su pripremani na sličan način kao i oni koji se koriste u narodnoj medicini, a to su vođeni ekstrakt, u obliku čaja i etanolno-vodeni ekstrakti (različite koncentracije etanola). Pored pomenutih, ispitivaće se i metanolni i etarski ekstrakti, jer se ovako pripremljeni ekstrakti takođe često koriste pri analizi biljnog materijala. Odrediće se kompletan kvalitativan sastav ovih ekstrakata, a jedinjenja koja se nalaze u većim količinama će biti kvantifikovana a testiraće se i njihova potencijalna biološka aktivnost. Pri tome će se određivati inhibitorni efekti ekstrakata Gentiane na enzime: mijeloperoksidazu, acetilholinesterazu i neke od ATPaza. Ispitaće se i antiradikalni kapacitet ovih ekstrakata kao i

njihova antimikrobna aktivnost. Takođe, biće testirana njihova citotoksičnost (indeks proliferacije) i radioprotektivni efekti nakon ozračivanja humane krvi, kao i antimikrobna aktivnost. Takođe ispitaće se i ekstrakti *G. lutee* sa različitih lokaliteta u Srbiji, u cilju dobijanja svojevrsnog fingerprintinga, a radi autentifikacije biljaka sa datog područja.

3. Metode istraživanja

Za karakterizaciju hemijskog sastava koristiće se metode tečne hromatografije (UPLC) sa PDA detekcijom kao i masene spektrometrije (LC-ESI/TOF MS i MALDI TOF). Za određivanje enzimske i antiradikalske aktivnosti koristiće se spektrofotometrijski testovi. Ciklična voltometrija će se koristiti kao dodatna metoda za procenjivanje antiradikalskog kapaciteta ekstrakata. Nakon ispitivanja bioloških efekata, izvršiće se optimizacija ekstrakcionih uslova metodom mikrotalasne ekstrakcije. Odrediće se antimikrobna aktivnost ekstrakata *G. lutea* kao i odabranih konstituenata ove biljke.

4. Aktuelnost problematike u svetu

U poslednjih nekoliko godina zapažena je povećana potražnja za biljnim preparatima u obliku različitih pomoćnih lekovitih sredstava, dijetetskih proizvoda ali i u kozmetici. Lekovita sredstva koja su prisutna na tržištu su u stvari kompleksne hemijske smeše pripremljene od biljnih ekstrakata (smeše biljnih tinktura) ili od celih biljaka (kapsule sa usitnjenim biljnim materijalom). Primećeno je da neki preparati ne ispoljavaju očekivane efekte pre svega zbog njihove smanjene biouvoživosti. Takođe postoji i razlika u efikasnosti ovih preparata u zavisnosti od proizvođača, kvaliteta biljnog materijala i načina pripreme. Zbog ovoga, optimizacija načina ekstrakcije i identifikacija jedinjenja ili grupa jedinjenja koja su farmakološki aktivna predstavljaju sve aktuelniju problematiku u naučnim istraživanjima. Koliko su važna navedena istraživanja govore i podaci SZO (Svetske zdravstvene organizacije) prema kojima oko 80% svetske populacije koristi biljne preparate u svojoj primarnoj medicinskoj zaštiti. Biljni preparati su široko prihvaćeni kao terapijska sredstva kod dijabetesa, bolesti jetre, artritisa, za poboljšanje memorije i mnogih drugih stanja. SZO definiše tri vrste biljnih preparata: sirov biljni materijal, prerađen i medicinske biljne proizvode (1). Ispitivanje bioloških efekata daje potpuniju sliku ne samo o lekovitosti određene biljke ili preparata izvedenog iz nje, već i o njenim mogućim sporednim ili čak toksičnim efektima.

1. Neeraj Choudhary and Bhupinder Singh Sekhon, An overview of advances in the standardization of herbal drugs, J Pharm Educ Res. 2 (2) 2011, 55-70

5. Očekivani rezultati i njihov doprinos nauci

Ispitivanjem ekstrakata *G.lutea* dobiće se jasnija slika o delovanju ove biljke, obzirom da će se ispitivati inhibicija enzima koji se direktno ili indirektno dovode u vezu sa različitim oboljenjima. Naime, mijeloperoksidaza (MPO) učestvuje u imunom odgovoru, zahvaljujući

svojoj peroksidaznoj i hlorinujućoj aktivnosti, koje imaju mikrobicidno delovanje. Međutim kod autoimunih bolesti njeno delovanje indirektno doprinosi oštećenjima zdravog tkiva. Takođe dovodi do oksidacije LDL-a, što se dovodi u vezu sa nastankom ateromatoznih naslaga na krvnim sudovima. U ovim slučajevima je poželjno inhibirati delovanje ovog enzima, što će biti istraživano u ovoj tezi. Za razliku od MPO, acetilholinesterazni inhibitori su široko proučavani, međutim delovanje ekstrakta *Gentiane* na ovaj enzim, do sada nije proučavano. Ispitaće se i antiradikalska i antimikrobna aktivnost vodenog etanolnog ekstrakta *Gentiane*, u oblicima u kojima se oni inače koriste u tradicionalnoj medicini. Najzad, ispitaće se i radioprotektivni i ukupni citotoksični efekti ove biljke. Dobijeni rezultati će imati ne samo naučni već i praktični doprinos prilikom pripreme preparata na bazi ove biljke, što će svakako poboljšati i njihovu efikasnost i delovanje.

ZAKLJUČAK

Na osnovu svega izloženog Komisija predlaže Naučno-nastavnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta da prihvati predloženu temu za izradu doktorske disertacije mr Branislava Nastasijevića sa naslovom: **BIOLOŠKI EFEKTI EKSTRAKATA KORENA LINCURE (*Gentiana lutea*) -INHIBICIJA ENZIMA, ANTIOKSIDATIVNA I ANTIMIKROBNA AKTIVNOST**

Za mentora predlažemo dr Suzanu Dimitrijević, vanrednog profesora Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i komentora dr Vesnu Vasić, naučnog savetnika Instituta za nuklearne nauke "Vinča".

U Beogradu, 15.10.2012.

Članovi komisije:

1. Dr Suzana Dimitrijević-Branković, vanredni profesor, TMF u Beogradu
2. Dr Vesna Vasić, naučni savetnik, Institut za nuklearne nauke "Vinča"
3. Dr Dušan Antonović, redovni profesor, TMF u Beogradu