

Универзитет у Београду – Хемијски факултет

Студентски трг 12-16

11000 Београд, Србија

Наставно-научном већу

Предмет: Извештај о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације кандидата **Стефана Г. Ивановића**, мастер хемичара.

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 11. фебруара 2021. године, изабрани смо за чланове Комисије за подношење извештаја о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације кандидата **Стефана Г. Ивановића**, мастер хемичара, студента докторских студија и истраживача-приправника Универзитета у Београду Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију, пријављене под насловом:

„Метаболомички приступ у контроли квалитета производа биљног порекла”

На основу увида у поднету документацију и досадашњи рад кандидата, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографски подаци о кандидату

Стефан Ивановић је рођен 19. августа 1994. године у Крагујевцу. Основну школу и средњу школу (Средња школа „Краљ Петар I“) завршио је у Тополи. Школске 2013/14. године је уписан на основне академске студије Универзитета у Београду - Хемијског факултета (смер: хемија животне средине; просечна оцена у току основних студија: 9,44). Завршни рад на основним академским студијама под насловом „Испитивање хемијског састава љуске семена лешника“ одбранио је у септембру 2017. године са оценом 10. Кандидату је додељена диплома за најбољег студента на студијском програму „Хемија животне средине“ у школској 2016/2017.

Мастер академске студије при Катедри за органску хемију Универзитета у Београду - Хемијског факултета уписао је школске 2017/18. године код ментора проф. Љубодрага Вујисића (смер: хемија; просечна оцена у току мастер студија: 9,75). Мастер рад под насловом „Изоловање и одређивање структуре тритерпенских киселина из гљиве *Fomitopsis betulina*“ одбранио је у септембру 2018. године са оценом 10. Током основних академских студија, кандидат је учествовао у бројним манифестацијама са циљем промовисања науке. Школске 2018/19. године уписао је докторске академске студије (смер: хемија) при Катедри за органску хемију Хемијског факултета у Београду, код ментора др Љубодрага Вујисића.

Од 2018. године до данас запослен је као истраживач-приправник на Универзитету у Београду - ИХТМ, Центар за хемију. Од 2018. до 2019. године ангажован је на пројекту „Биоактивни природни производи самониклих, гајених и јестивих биљака: одређивање и структура активности“, пројекат број 172053 (руководилац др Дејан Гођевац, научни саветник Универзитета у Београду - ИХТМ, Центар за хемију). Кандидат је ангажован као сарадник на пословима аналитичара на GC-FID-MS, Акредитоване лабораторије Центра за хемију од 2020. године. Члан је Српског хемијског друштва.

Паралелно са научно-истраживачким радом, од школске 2020/21. године укључен је у извођење вежби на Катедри за органску хемију Хемијског факултета из предмета: Структурне инструменталне методе (221Б2) за студенте основних академских студија студијског програма Биохемија.

Б. Објављени научни радови и саопштења

Кандидат се бави развојем нових аналитичких метода за контролу квалитета производа биљног порекла, користећи инструменталне технике као што су IC, NMR, GC-MS, такође се бави и мултиварјантном обрадом добијених резултата.

Стефан Г. Ивановић је аутор једног рада у врхунском међународном часопису (M21) и коаутор једног рада у истакнутом међународном часопису (M22). Кандидат је коаутор два саопштења, штампана у изводу на скуповима од међународног значаја.

Библиографија кандидата, категорисана према Правилнику о стицању истраживачких и научних звања (Сл. гласник РС, бр. 159/2020-82), дата је у **Прилогу 1**.

V. Образложење теме

1. Научна област: Хемија

Ужа научна област: Органска хемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет научног истраживања предложене докторске дисертације обухвата метаболомичко испитивање одабраних врста лековитог биља и биљних препарата. Током истраживања идентификоваће се биљни метаболити као потенцијални биомаркери аутентичности биљних препарата, на основу чега ће се оптимизовати и развити нове спектроскопске и спектрометријске методе за контролу квалитета лековитог биља и биљних препарата.

3. Циљ научног истраживања

Циљ истраживања предложене докторске дисертације је проналажење нових аналитичких метода за контролу квалитета лековитог биља и биљних препарата заснованих на метаболомичком приступу.

У циљу откривања фалсификованих производа биљног порекла, савремене спектроскопске и спектрометријске методе у комбинацији са биоинформатичким алатима високих перформанси биће примењене за откривање најширег могућег спектра биљних метаболита коришћењем интактних или минимално третираних узорака.

На фундаменталном нивоу циљ ове докторске дисертације биће додатно разумевање значаја биљних метаболита у побољшању квалитета биљних производа.

4. Методе истраживања

Метаболомика која не користи приступ циљаних анализа подразумева истовремено мерење што више метаболита из сваког узорка, пружајући тако холистички, општи преглед састава узорка. Ова стратегија анализирања метаболомичког профила генерише велике количине података које је потребно

обрадити помоћу биоинформатичких алата високих перформанси. У циљу откривања фалсификованих производа, набавиће се три типа узорака: аутентични, припремљени од познатог прикупљеног биљног материјала (*Aronia melanocarpa*, *Tribulus terrestris*, *Hypericum perforatum*, *Origanum vulgare*, *Equisetum arvense*, *Crataegus monogyna*); симулирани фалсификовани производи, који ће бити припремљени од прикупљеног биљног материјала помешаног са познатим адултерантима из литературе да би имитирали фалсификовање; комерцијални производи, који ће се купити са тржишта, где може доћи до неочекиваних превара [1]. Одабир биљног материјала је заснован на неколико критеријума: да се обухвате различити облици биљних препарата, очекивања да такви производи на тржишту могу бити извор превара, да се одговарајуће биљне врсте могу прикупити на подручју Балкана.

Пре било какве анализе, обрада узорака игра главну улогу [2-4]. Велика опасност приликом тражења адултераната у сложеном систему као што су производи биљног порекла је да се аналит изгуби током одвајања од матрикса и нежељених компоненти. Инструменталне методе биће постављене за откривање најширег могућег спектра метаболита коришћењем интактних или минимално третираних узорака. На тај начин ће губитак информација о саставу узорка бити минималан, а с друге стране ће се максимално повећати ефикасност методе. Избор одговарајуће методе зависиће од врсте узорака (течни, полуцврсти/чврсти).

Највише ће бити коришћене различите технике 1D и 2D NMR спектроскопије за течне узорке и HR MAS (High Resolution Magic Angle Spinning) NMR спектроскопије за узорке у полу-чврстом стању [COSY (^1H - ^1H Correlation Spectroscopy), HSQC (^1H - ^{13}C Heteronuclear Single Quantum Coherence), HMBC (^1H - ^{13}C Heteronuclear Multiple Bond Correlation), TOCSY (^1H - ^1H Total Correlation Spectroscopy), 2DJ разложена ^1H NMR спектроскопија и супресија нежељених сигнала помоћу ^1H PSYCHE (Pure Shift Yielded by Chirp Excitation) NMR спектроскопије].

Поред NMR спектроскопије за идентификацију биомаркера примењиваће се и GC-MS анализа претходно дериватизованих узорака лековитог биља и биљних препарата. Дериватизација биљних метаболита ће се вршити помоћу метоксиамин хидрохлорида и N,O - бис (триметилсилил)трифлуороацетамида.

Високоефикасна танкослојна хроматографија HPTLC (High-Performance Thin-Layer Chromatography) ће се користити за брзу идентификацију биомаркера преваре тако што ће се развијене плоче аутентичних и симулирано-фалсификованих

производа дигитализовати и подвргнути метаболомичкој анализи.

Будући да се метаболомички састав може разликовати у зависности од географских и еколошких фактора, варијација у саставу ткива, потребно је обезбедити више биолошких репликата које обухватају различите ботаничке популације. Огромни скупови података добијени на такав начин обрађиваће се кроз препознавање образаца, класификацију (аутентично насупрот фалсификованом) и регресију (ниво фалсификовања) мултиваријантних модела као што су анализа главних компонената (PCA), меко независно моделирање аналогичности класа (SIMCA) и парцијална регресија најмањих квадрата (PLS). Анализом добијених података доћи ће се до биомаркера квалитета и/или адултерације производа биљног порекла [5]. Након чега ће се приступити изоловању и потпуној хемијској карактеризацији тако откривених биомаркера.

5. Актуелности проблематике у свету

Употреба лековитог биља и биљних препарата за спречавање или лечење болести популарна је широм света. Уврежено је мишљење да се многи биљни препарати промовишу као „природни“, што се изједначава са „безбедним“. У литератури су објављивани резултати аналитичких студија о фалсификатима и контаминацији производа биљног порекла, постављајући питање да ли су они увек заиста оригинални како су означени и могу ли наштетити људском здрављу [6-9]? Због свега наведеног важно је саставити стратешки добру комбинацију ефикасних аналитичких алата који су у стању да открију неочекиване биолошке и хемијске фалсификате. Основни проблем традиционалних метода за откривање превара у производима биљног порекла је тај што се оне заснивају на приступу „циљане листе“, где се развија методологија за скуп молекула који су унапред познати пре анализе. Иако су такве методе погодне за рутински мониторинг, често не успевају да открију поједине фалсификате. Основна хипотеза предложене докторске дисертације је да ако се уместо стратегије коришћења циљаних анализа, користи стратегија заснована на метаболомичком приступу, забележиће се више неочекиваних случајева превара које су често и највећа претња по здравствену безбедност.

6. Очекивани резултати

Кандидат Стефан Г. Ивановић у току израде докторске дисертације оптимизоваће инструменталне технике за метаболомичку анализу производа биљног порекла, као и оптимизацију техника мултиварјантне анализе података. Такође, очекује се проналазак биомаркера квалитета и/или адултерације лековитог биља и биљних препарата, као и њихова потпуна хемијска карактеризација. Развојем нових метода омогућиће се брза претрага нових биљних препарата у утврђивању квалитета и оригиналности лековитог биља и биљних препарата. Резултати ове докторске дисертације ће допринети додатном разумевању хемије неколико веома важних врста лековитог биља које се због своје економске вредности често налазе на мети несавесних произвођача. С друге стране, за очекивати је да ће ова докторска дисертација имати позитиван утицај на одговорне произвођаче и да ће помоћи развоју добре произвођачке праксе на тржишту лековитог биља и биљних препарата.

7. Литература

- [1] Shabnum, S., Sehrish, R., Farah, K., Mushtaq, A., Adulteration in Herbal Drugs: A Burning Issue. Springer Nature AG Online 2019, ISBN 978-3-030-28034-5, 1-179.
- [2] T. Kowalska, M. Sajewicz, J. Sherma (Eds.) Chromatographic Techniques in the Forensic Analysis of Designer Drugs. CRC Press, Taylor & Francis Group 2018, ISBN 9780367572280
- [3] Simmler, C., Graham, J.G., Chen, S.-N., Pauli, G.F. Integrated analytical assets aid botanical authenticity and adulteration management. *Fitoterapia* 2018, 129, 401–414, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.11.017>
- [4] Wielogorska, E., Chevallier, O., Black, C., Galvin-King, P., Delêtre, M., Kelleher, C.T., Haughey, S.A., Elliott, C.T. Development of a comprehensive analytical platform for the detection and quantitation of food fraud using a biomarker approach. The oregano adulteration case study. *Food Chem.* 2018, 239, 32–39, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.083>
- [5] Wolfender, J.-L., Rudaz, S., Choi, Y.H., Kim, H.K. Plant metabolomics: from holistic data to relevant biomarkers. *Curr. Med. Chem.* 2013, 20, 1056–1090. <https://doi.org/10.2174/0929867311320080009>

- [6] Muschietti, L., Redko, F., Ulloa, J. Adulterants in selected dietary supplements and their detection methods. *Drug Test. Anal.* 2020, 12, 861–886, <https://doi.org/10.1002/dta.2806>
- [7] Posadzki, P., Watson, L., Ernst, E. Contamination and adulteration of herbal medicinal products (HMPs): an overview of systematic reviews. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2013, 69, 295–307, <https://doi.org/10.1007/s00228-012-1353-z>
- [8] Hachem, R., Assemat, G., Martins, N., Balayssac, S., Gilard, V., Martino, R., Malet-Martino, M. Proton NMR for detection, identification and quantification of adulterants in 160 herbal food supplements marketed for weight loss. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016, 124, 34–47, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.02.022>
- [9] Ellis, D.I., Muhamadali, H., Allen, D.P., Elliott, C.T., Goodacre, R. A flavour of omics approaches for the detection of food fraud. *Curr. Opin. Food Sci.* 2016, 10, 7–15, <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.07.002>

Г. Закључак

На основу свега изложеног у овом извештају, сматрамо да је предложена тема актуелна и научно заснована и да одговара савременим трендовима биљне метаболомике. Резултати ове докторске дисертације, добијени применом оптимизованих инструменталних и мултиварјантних техника, могли би да допринесу дефинисању нових критеријума аутентичности одабраног лековитог биља и биљних препарата и откривању нових биомаркера аутентичности, све у циљу побољшања контроле квалитета, а самим тим и њихове безбедности. Стога предлажемо Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Хемијског факултета да кандидату **Стефану Г. Ивановићу**, мастер хемичару, одобри израду докторске дисертације под измењеним насловом:

**„Метаболомички приступ у контроли квалитета лековитог биља и биљних
препарата”**

Комисија за менторе предлаже др Љубодрага В. Вујисића, ванредног професора Универзитета у Београду - Хемијског факултета и др Дејана М. Гођеца, научног саветника Центра за хемију, ИХТМ - Универзитета у Београду. Списак радова предложених ментора који квалификују ментора за вођење докторске дисертације дат је у **Прилогу 2** овог извештаја.

У Београду, 26.2.2021.

Комисија:

др Љубодраг Вујисић, ванредни професор,
Универзитет у Београду – Хемијски факултет

др Дејан Гођецац, научни саветник,
Универзитет у Београду – ИХТМ - Центар за хемију

др Веле Тешевић, редовни професор,
Универзитет у Београду – Хемијски факултет

др Бобан Анђелковић, научни сарадник,
Универзитет у Београду – Хемијски факултет

др Горица Вуковић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет

Прилог 1: Библиографија кандидата, категорисана према Правилнику о стицању истраживачких и научних звања (Сл. Гласник РС, бр 169/2020-82)

M21 – Рад објављен у врхунском међународном часопису

[1] **Ivanović, S.**; Avramović, N.; Dojčinović, B.; Trifunović, S.; Novaković, M.; Tešević, V.; Mandić, B. Chemical Composition, Total Phenols and Flavonoids Contents and Antioxidant Activity as Nutritive Potential of Roasted Hazelnut Skins (*Corylus avellana* L.), *Foods* (9) (2020). IF (2019) 4.092

M22 – Рад објављен у истакнутом међународном часопису

[2] Novaković, M., Ilić-Tomić, T., Tešević, V., Simić, K., **Ivanović, S.**, Simić, S., Opsenica, I., Nikodinović-Runić, J. Bisaurones – enzymatic production and biological evaluation, *New Journal of Chemistry*, 44(23), (2020) 9647–9655. IF (2019) 3.288

M34 – Саопштења са међународних скупова штампана у изводу

[1] Gođevac, D., Simić, K., **Ivanović, S.**, Anđelković, B., Jovanović, Ž., & Rakić, T., The 4th International Conference on Natural Products Utilization: from Plants to Pharmacy Shelf (ICNPU- 2019). GC-MS based metabolomics study of the resurrection plant ramonda serbica, May 2019, Albena, Bugarska.

[2] Simić, K., Todorović, N., Miladinović, Z., **Ivanović, S.**, Trifunović, S., Vujisić, Lj., Tešević, V., Jovanović, V., Avramović, N., Gavrilović, A., Jovanović, S., Costa, T., Huan Liu, L., Barros, P., Stanišić, D., Mandić, B., Tasić, Lj. Evaluation of the universality of NMR metabolic fingerprints of schizophrenia. 21th Annual Central European NMR Symposium & Bruker users meeting, September 4-5, 2019, Belgrade, Serbia.

Прилог 2: Подаци о менторима

Име и презиме ментора: **др Љубодраг В. Вујисић**

Звање: **ванредни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације

1. Vais, V., Djordjević, I., **Vujić, Lj.**, Milosavljević, S. (2018) NMR Spectroscopy in the Analysis of Illegal Drugs, in Chromatographic Techniques in the Forensic Analysis of Designer Drugs, Editors Teresa Kowalska, Mięczyślaw Sajewicz, and Joseph Sherma, CRC Press Taylor & Francis Group, 177-197, ISBN: 978-1-138-03328-3, <https://doi.org/10.1201/9781315313177>
2. Sofrenić I., Andjelković B., Todorović N., Stanojković T., **Vujić Lj.**, Novaković M., Milosavljević S., Tešević V. Cytotoxic triterpenoids and triterpene sugar esters from the medicinal mushroom *Fomitopsis betulina*. Phytochemistry, 2021, 181, 112580, <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112580>
3. Cvetković M., Djordjevic I., Jadranin M., Stanković M., Mandić B., Milosavljević S., **Vujić Lj.** Leaf-surface guaianolides from *Amphoricarpos neumaeyri* showing protective effect on human lymphocytes DNA. Natural Product Research, 2019, Published online: 11 Nov 2019, тренутни статус на дан 25. фебруар 2021. *in press*, <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1687470>
4. Dodoš T., Rajčević N., Janačković P., **Vujić Lj.**, Marin P. Essential oil profile in relation to geographic origin and plant organ of *Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. Industrial Crops and Products, 2019, 139, 111549, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111549>
5. Anđelković, B., **Vujić, Lj.**, Vučković, I., Tešević, V., Vajs, V., Gođevac, D. Metabolomics study of *Populus* type propolis Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 135, 217-226, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.12.003>

Име и презиме ментора: **др Дејан М. Гођевац**

Звање: **научни саветник**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације

1. **Gođevac, D.**, Jadranin, M., Aljančić, I., Vajs, V., Tešević, V., Milosavljević, S., (2015) Application of Spectroscopic Methods and Hyphenated Techniques to the Analysis of Complex Plant Extracts. In: Máthé Á. (eds) Medicinal and Aromatic Plants of the World.

- Medicinal and Aromatic Plants of the World, vol 1. Springer, Dordrecht. Online ISBN 978-94-017-9810-5, https://doi.org/10.1007/978-94-017-9810-5_4
2. Cvetković, M., Damjanović, A., Stanojković, T.P., Đorđević, I., Tešević, V., Milosavljević, S., **Gođevac, D.** Integration of dry-column flash chromatography with NMR and FTIR metabolomics to reveal cytotoxic metabolites from *Amphoricarpos autariatus*. *Talanta*, 2020, 206, 120248, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120248>
 3. Ge, Y., Chen, X., **Gođevac, D.**, Bueno, P.C.P., Salomé Abarca, L.F., Jang, Y.P., Wang, M., Choi, Y.H. Metabolic Profiling of Saponin-Rich *Ophiopogon japonicus* Roots Based on ¹H NMR and HPTLC Platforms. *Planta Med* 2019, 85, 917–924, <https://doi.org/10.1055/a-0947-5797>
 4. **Gođevac, D.**, Damjanović, A., Stanojković, T.P., Anđelković, B., Zdunić, G. Identification of cytotoxic metabolites from *Mahonia aquifolium* using ¹H NMR-based metabolomics approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 150, 9-14, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.075>
 5. Krstić, G., Anđelković, B., Choi, Y.H., Vajs, V., Stević, T., Tešević, V., **Gođevac, D.** Metabolic changes in *Euphorbia palustris* latex after fungal infection. *Phytochemistry*, 2016, 131, 17-25, <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.08.005>