

Универзитет у Београду – Хемијски факултет

Наставно-научном већу

Предмет: Образложење теме докторске дисертације докторанта Данице Савић, мастер хемичара, пријављене под насловом „Фитохемијско испитивање и процена биолошке активности специјализованих метаболита врста *Euphorbia cyparissias*, *Euphorbia spinosa* и *Euphorbia amygdaloides*“.

1. Научна област: Хемија

Ужа научна област: Органска хемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет истраживања ове докторске дисертације је испитивања хемијског састава специјализованих метаболита одабраних биљних врста рода *Euphorbia*, као и испитивање њихових биолошких активности. За потребе овог истраживања одабрана је до сада неиспитана врста *Euphorbia spinosa*, као и врсте *Euphorbia cyparissias* и *Euphorbia amygdaloides*. У оквиру ове докторске дисертације биће по први пут код нас коришћена метода *molecular networking* ради брзог детектовања класе специјализованих метаболита у припремљеним екстрактима. На основу добијених резултата и доступних литературних података за присутне специјализоване метаболите у екстрактима биће израчунате потенцијалне биолошке активности применом рачунарских *molecular docking* метода. Након изоловања и карактеризације, за изоловане метаболите биће спроведени биолошки тестови за проверу резултата добијених *molecular docking* прорачунима, а све у циљу проналаска метаболита који имају потенцијал за даљу практичну примену, као и развој будућих лекова.

Израда докторске дисертације започиће прикупљањем биљног материјала, затим оптимизацијом услова за екстракцију и након тога фракционисањем припремљеног екстракта у циљу добијања чистих једињења која ће бити подвргнута биолошким тестовима. Почетни екстракти биће анализирани *molecular networking*-ом ради добијања информација о класи специјализованих метаболита који се налазе у екстракту. На основу ових података биће одабране погодне класичне и модерне хроматографске технике за даље фракционисање у циљу изоловања чистих једињења. Такође, на основу резултата добијених *molecular networking*-ом и већ постојећих података у литератури о биолошким активностима класа специјализованих метаболита присутних у екстрактима биће урађен *molecular docking* и предвиђене могуће биолошке активности присутних метаболита. Протонска нуклеарна магнетно резонантна спектроскопија (^1H NMR) и течна хроматографија повезана са масеном спектрометријом биће коришћена за праћење процеса хроматографисања. За финална пречишћавања биће коришћена високоефикасна течна

хроматографија на нормалној или реверзној фази (NP или RP HPLC). Структурна карактеризација изолованих једињења биће урађена применом NMR спектроскопије (^1H , ^{13}C , COSY, NOESY/ROESY, HSQC, HMBC, DEPT), масене спектрометрије (LC-MS) и инфрацрвене спектроскопије (IR). На крају експерименталног дела, када су специјализовани метаболити изоловани и потпуно хемијски окарактерисани биће спроведени биолошки тестови за које су приликом прорачуна *molecular docking*-ом добијени позитивни резултати. У зависности од класе специјализованих метаболита који се налазе у екстрактима одабраних биљних врста биће испитиване антимикробне и/или антиканцер активности.

3. Основне хипотезе

Преко 2000 биљних врста рода *Euphorbia* распрострањено је у скоро свим деловима света и у свим климатским зонама. Врсте овог рода убрајају се међу најразноврсније које постоје у биљном царству. Многе од њих су вековима коришћене у традиционалној медицини и опште су познате у народу по имену млечике. Подаци доступни у литератури указују на разноврсност њихове примене у зависности од врсте и географског подручја. Врсте рода *Euphorbia* успешно се користе за лечење респираторних инфекција (*E. hirta*), хематолошких поремећаја (*E. thymifolia* и *E. maculata*), иритација коже, дигестивних тегоба, инфламаторних процеса, тегоба изазваних микробима, уједа змија и шкорпија, поремећаја везаних за трудноћу као и многих других обољења.^{1,2} *E. amygdaloides*, једна од 36 биљних врста овог рода које расту у Србији, коришћена је у традиционалној медицини –латекс као пургатив, корен као антипиретик, уље из семена као лаксатив, док се чај од надземног дела примењивао за лечење тифуса.^{3,4}

Интересовање научника за испитивање овог рода је изузетно, што се може видети по великом броју научних референци (од 2020. године до данас објављено је 2196 радова и 1007 патената) у којима су описани састави екстракта ових биљака, као и биолошке активности изолованих специјализованих метаболита. Један од метаболита изолован из рода *Euphorbia* који је прошао клиничка испитивања и налази се у практичној употреби је ингенол-мебутат, по први пут изолован из *Euphorbia peplus*. Овај метаболит је комерцијално доступан у форми гела под називом Picato®, а користио се за локални третман актиничне кератозе.^{5,6} Такође, резиниферотоксин, аналог капсаицина, први пут изолован из *Euphorbia resinifera*, тренутно се налази у више различитих фаза клиничких испитивања, претежно за ублажавање болова услед различитих обољења^{7,8,9}. Широки опсег биолошке активности које ове биљке испољавају потичу од разноликости њихових специјализованих метаболита, као што су дитерпенски деривати, стероли, флавоноиди, феноли, танини, гликозиди и др. Досадашње студије су потврдиле да ови природни производи показују неуропротективна, цитотоксична, антитуморска, антиоксидативна, антивирусна и антиинфламаторна дејства.^{1,2}

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

Циљ истраживања ове докторске дисертације је фитохемијско испитивање до сада потпуно неиспитане врсте *E. spinosa*, као и врсте *E. cyparissias* и *E. amygdaloides*, с циљем проналаска нових, биолошки активних специјализованих метаболита. Такође, увођењем новог приступа, *molecular networking*-а осавремењавају се фитохемијска истраживања, док се применом *molecular docking*-а боље разумеју механизми деловања активних супстанци. Очекивани резултати су:

- Изоловање и структурна карактеризација до сада неописних специјализованих метаболита испитиваних биљних врста рода *Euphorbia*;
- Приказивање хемијског састава специјализованих метаболита врсте *E. spinosa* широј научној јавности, као и састава специјализованих метаболита врсте и *E. cyparissias* и *E. amygdaloides* са подручја Републике Србије;
- Одређивање биолошких активности изолованих специјализованих метаболита и проучавање механизма њиховог деловања.

5. Методе истраживања

Прикупљање биљног материјала биће спроведено на различитим локалитетима у Републици Србији. Обрада биљног материјала, као и изоловање и структурна одређивања биће урађена на Универзитету у Београду – Хемијском факултету. У процесу израде ове докторске дисертације биће коришћене следеће методе у складу са циљевима рада:

- Класичне (гравитациона и „dry-flash“ хроматографија, танкослојна хроматографија (TLC)) и модерне хроматографске технике (високоефикасна течна хроматографија на нормалној и реверзној фази (RP и NP HPLC)) биће коришћене за изоловање специјализованих метаболита испитиваних врста.
- Нуклеарна магнетно резонантна спектроскопија (NMR) 1D (^1H , ^{13}C и DEPT) и 2D (COSY, NOESY/ROESY, TOCSY, HSQC, HMBC) биће коришћена за структурну карактеризацију изолованих метаболита.
- Течна хроматографија спрегнута са масеном спектрометријом (LC-MS) биће коришћена за израчунавање и потврду молекулских формула изолованих метаболита.

6. Литература

1. Kemboi, Douglas, Xolani Peter, Moses Langat, and Jacqueline Tembu. 2020. “A Review of the Ethnomedicinal Uses, Biological Activities, and Triterpenoids of Euphorbia Species.” *Molecules* 25 (17): 4019. <https://doi.org/10.3390/molecules25174019>.
2. Olounlade, Pascal & Azando, Erick & Bertrand, Virgyle & Attakpa, Eloi & Tchetan, Esaïe & Mawulé, Hounzangbé-Adoté. 2017. “A review of the ethnomedical uses, phytochemistry and pharmacology of the Euphorbia genus. ” *The Pharma Innovation Journal*, 6 (1): 34–39.

3. Đurović, Sanja, Milana Ranimirović, Gordana Tomović, Gorana Petkovski, and Marjan Niketić. 2022. “Genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae Juss.) in Serbia Based on Herbarium Data from the Collections BEO and BEOU.” *Bulletin of the Natural History Museum*, 15, 97–120. <https://doi.org/10.5937/bnhmb2215097D>.
4. Papp, N. 2004. “Antimicrobial Activity of Extracts of Five Hungarian *Euphorbia* Species and Some Plant Metabolites.” *Acta Botanica Hungarica* 46 (3–4): 363–371. <https://doi.org/10.1556/ABot.46.2004.3-4.8>.
5. Ernst, Madeleine, Olwen M. Grace, C. Haris Saslis-Lagoudakis, Niclas Nilsson, Henrik Toft Simonsen, and Nina Rønsted. 2015. “Global Medicinal Uses of *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae).” *Journal of Ethnopharmacology* 176: 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.10.025>.
6. [Drugs@FDA: FDA-Approved Drugs](#)
7. [Study Details | Resiniferatoxin for the Management of Refractory Morton s Neuroma Pain | ClinicalTrials.gov](#)
8. [Study Details | Periganglionic Resiniferatoxin for the Treatment of Intractable Pain Due to Cancer-induced Bone Pain | ClinicalTrials.gov](#)
9. [Study Details | Study to Assess Epidural Resiniferatoxin for the Treatment of Intractable Pain Associated With Advanced Cancer | ClinicalTrials.gov](#)