

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На VIII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 10.6.2016. године, прихваћен је извештај ментора др Соње Дулетић-Лаушевић о урађеној докторској дисертацији **Ане Алимпић** под насловом **“Микроморфолошке карактеристике *Salvia amplexicaulis* Lam., *S. jurisicii* Košanin и *S. ringens* Sibth. & Sm. (Lamiaceae), хемијски састав и биолошка активност њихових етарских уља и екстраката”** и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Соња Дулетић-Лаушевић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Петар Д. Марин, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Душица Јаношевић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Мирјана Стајић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду и др Катарина Шавикин, научни саветник Института за проучавање лековитог биља "Др Јосиф Панчић".

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација **Ане Алимпић** под насловом **“Микроморфолошке карактеристике *Salvia amplexicaulis* Lam., *S. jurisicii* Košanin и *S. ringens* Sibth. & Sm. (Lamiaceae), хемијски састав и биолошка активност њихових етарских уља и екстраката”** је написана према Упутствима за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду. Дисертација обухвата уобичајена поглавља, у оквиру којих су на одговарајућим местима приказане табеле и илустрације. На крају је наведена листа литературних навода који су цитирани у оквиру дисертације. Дисертација је написана на 224 нумерисане стране. Садржи 22 табеле, 162 слике и 430 литературних навода.

Анализа докторске дисертације:

У докторској дисертацији кандидаткиња **Ана Алимпић** је приказала резултате истраживања анатомије вегетативних и репродуктивних органа, микроморфологије орашица и полена, микроморфологије и ултраструктуре glandularних трихома, као и хемијског састава и биолошке активности екстраката и етарских уља три врсте рода *Salvia* (жалфија) које су сакупљене на локалитетима у Македонији.

У првом, уводном делу, дати су општи подаци о карактеристикама и коришћењу лековитих биљака, а затим о анатомским и микроморфолошким карактеристикама, лековитим својствима и биолошким активностима уснатица (Lamiaceae). Дат је преглед

литературе о анатомским, микроморфолошким, цитолошким испитивањима, као и лековитим својствима и биолошким активностима врста рода *Salvia*. Кроз неколико одељака даје се преглед литературних података о антиоксидативној, антимикуробној, цитотоксичној и антинеуродегенеративној активности етарских уља и екстраката врста рода *Salvia*, као и о секундарним метаболитима који доприносе биолошким дејствима ових биљака. Затим се описују одабране врсте жалфија и даје преглед литературних података о претходним истраживањима биолошких ефеката њихових етарских уља и екстраката. Анатомска, микроморфолошка и цитолошка истраживања до сада нису рађена на овим врстама.

После Увода формулисани су научни циљеви дисертације који су обухватили: анатомску, микроморфолошку и цитолошку анализу биљних органа, посебно лисних трихома одабраних врста; хемијску анализу етарских уља и дихлорметанских, етил ацетатних, хексанских, етанолних, метанолних и водених екстраката испитиваних врста; проучавање антиоксидативног, антимикуробног, цитотоксичног и антинеуродегенеративног дејства екстраката и уља са циљем утврђивања потенцијалног апликативног значаја.

Поглавље Материјал и методе је организовано у више потпоглавља. Дат је опис поступка сакупљања и обраде биљног материјала; описане су методе светлосне и електронске микроскопије; методе за изоловање и анализу састава етарских уља помоћу гасне хроматографије - пламено-јонизујуће детекције (GC-FID) и гасне хроматографије - масене спектрометрије (GC-MS); припрема екстраката и анализа њихових фенолних компоненти течном хроматографијом под високим притиском (HPLC); спектрофотометријско одређивање садржаја фенола и флавоноида; одређивање антиоксидативне активности помоћу четири спектрофотометријска теста (DPPH, ABTS, FRAP и β -каротен/линолна киселина тест); одређивање цитотоксичне активности применом МТТ теста; одређивање антибактеријске и антифунгалне активности коришћењем микродилуционе методе и одређивање нивоа инхибиције ензима повезаних са неуродегенеративним променама.

У поглављу Резултати и дискусија, добијени резултати су груписани у одговарајуће целине у оквиру посебних потпоглавља, у којима се представљају добијени резултати микроскопских анализа, анализа хемијског састава уља и екстраката, као и антиоксидативног, антимикуробног, цитотоксичног и антинеуродегенеративног потенцијала етарског уља и екстраката испитиваних врста. Резултати су, поред текстуалног дела, приказани у облику адекватних илустрација и табела. У сваком потпоглављу добијени резултати су тумачени, дискутовани и упоређивани са научним сазнањима у овим областима, кроз анализу резултата добијених у оквиру дисертације и досадашњих резултата добијених код врста рода *Salvia* пореклом из различитих региона. Табеле и илустрације адекватно допуњавају главни текст и презентовани су на начин који омогућује лако праћење тока и редоследа добијених резултата истраживања.

У три одељка приказани су резултати који се односе на анатомске, микроморфолошке и цитолошке карактеристике три врсте жалфија, укључујући и дискусију тих резултата. Представљени су резултати анатомске структуре листова и стабла, микроморфологије и миксокарпије орашица, као и микроморфологије поленових зрна. Констатовано је присуство негландуларних, као и пелтатних и капитатних гландуларних трихома на листовима, стаблима и цветовима. Пелтатне трихоме са различитим бројем ћелија секреторне главице, као и ниске капитатне трихоме су биле присутне код свих врста, док је пет морфолошких подтипова високих капитатних трихома

запажено само на деловима цвета *S. ringens*. Дигитиформне трихоме су уочене на листовима *S. ringens* и *S. jurisicii*.

У потпоглављу о хемијском саставу етарских уља испитиваних врста представљени резултати показују да су етарска уља *S. amplexicaulis* и *S. jurisicii* углавном састављена од оксидованих сесквитерпена, док у уљу *S. ringens* доминирају оксидовани монотерпени.

У потпоглављу које се односи на принос и садржај фенола и флавоноида у екстрактима, наводи се да водени и алкохолни екстракти свих врста показују највиши принос, као и спектрофотометријски измерени садржај укупних фенола, а етил ацетатни екстракти показују највиши садржај флавоноида. Садржај укупних фенола је био највиши у екстрактима *S. ringens*, а флавоноида у екстрактима *S. amplexicaulis*.

Резултати HPLC-DAD анализе су представљени у посебном потпоглављу и показују да је највећи број фенолних компоненти идентификован у метанолним екстрактима за којима следе етанолни и водени екстракти. Кафена и рузмаринска киселина су у највећем проценту биле присутне у екстрактима *S. ringens*. Међу флавоноидима су најзаступљенији били гликозиди кемпферола.

У потпоглављу које представља резултате антиоксидативне активности етарског уља и екстракта, наводи се да су поједини водени и алкохолни екстракти *S. amplexicaulis* и *S. ringens* редуковали DPPH радикал ефикасније од комерцијалног антиоксиданса BHT. Најснажнију активност у ABTS тесту су испољили екстракти *S. ringens*, док су у FRAP тесту активнији били екстракти *S. amplexicaulis*. Етанолни и водени екстракти *S. ringens* су се показали ефикаснијим од ВНА и ВНТ у β -каротен/линолна киселина тесту.

У следећем потпоглављу је приказана корелација садржаја фенолних компоненти и/или група компоненти и антиоксидативних активности екстракта. Антиоксидативна активност је јаче корелисана са спектрофотометријски измереним садржајем укупних фенола, док је корелација са резултатима HPLC анализе била јача у случају флавоноида, посебно гликозида кемпферола.

У потпоглављу о антимикробној активности испитиваних врста представљени су резултати антибактеријског и антифунгалног дејства етарског уља и екстракта. Екстракти, а посебно етарско уље *S. ringens*, су били ефикасни антибактеријски агенси, док су етарско уље *S. ringens* и екстракти *S. amplexicaulis* инхибирали раст тестираних микромицета. Етанолни екстракти свих врста су испољили јаче антибактеријско, а водени нешто изразитије антифунгално дејство.

У потпоглављу о цитотоксичној активности саопштава се да су етанолни и посебно водени екстракт *S. ringens* деловали цитотоксично на HCT-116 ћелијску линију колоректалног карцинома, док је водени екстракт *S. amplexicaulis* испољио најснажнију цитотоксичност у случају K562 линије мијелоидне леукемије.

У потпоглављу о антинеуродегенеративној активности наводи се да етанолни екстракти тестираних врста ефикасније инхибирају активности ацетилхолинестеразе и тирозиназе у односу на водене екстракте. Екстракти тестираних врста су слабији инхибитори ацетилхолинестеразе у односу на галантамин, али јачи инхибитори тирозиназе у односу на којичну киселину, посебно у случају *S. amplexicaulis*.

Резултати у сваком од потпоглавља су адекватно дискутовани, кроз поређење са литературним подацима о микроскопским и хемијским карактеристикама и биоактивностима добијеним за врсте жалфија.

Треба посебно нагласити да су микроморфолошка, структурна и цитолошка истраживања први пут рађена на овим врстама. Извршено је свеобухватно испитивање антиоксидативне, антимикробне, цитотоксичне и антинеуродегенеративне активности узорака ових врста из Македоније, а затим је спроведена детаљна хемијска анализа у циљу налажења компонената етарских уља и екстраката одговорних за различита биолошка дејства. Испитивања биолошке активности су показала значајне резултате антиоксидативног дејства појединих екстраката, као и инхибиције активности ензима повезаних са неуродегенерацијом, посебно тирозиназе.

С обзиром на значај употребе природних продуката за исхрану и лечење, неки екстракти би могли имати потенцијалну примену у прехранбеној и/или фармацеутској индустрији, после даљих хемијских анализа и провере у *in vivo* експериментима.

На крају су сумирани резултати добијени током израде докторске дисертације и изведени закључци о анатомским, микроморфолошким, цитолошким и хемијским карактеристикама, као и биолошким активностима екстраката и етарских уља проучаваних врста.

Поглавље Литература садржи 430 библиографских јединица. Литературни извори су адекватно цитирани на одговарајућим местима у тексту докторске дисертације.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Alimpić, A.**, Pljevljakušić, D., Šavikin, K., Knežević, A., Ćurčić, M., Veličković, D., Stević, T., Petrović, G., Matevski, V., Vukojević, J., Marković, S., Marin, P. D., Duletić-Laušević, S. (2015). Composition and biological effects of *Salvia ringens* (Lamiaceae) essential oil and extracts. *Industrial Crops and Products*, 76: 702-709. **(M21)**
2. **Alimpić, A.**, Oaldje, M., Matevski, V., Marin, P.D., Duletić-Laušević, S. (2014): Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Salvia amplexicaulis* Lam. extracts. *Archives of Biological Sciences*, 66(1): 307-316. **(M23)**
3. **Alimpić, A.**, Kotur, N., Stanković, B., Marin, P. D., Matevski, V., Al Sheef, N. B., Duletić-Laušević, S. (2015). The *in vitro* antioxidative and cytotoxic effects of selected *Salvia* species water extracts. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88: 115-119. **(M23)**
4. **Alimpić, A.**, Pljevljakušić, D., Šavikin, K., Matevski, V., Marin, P.D., Duletić-Laušević, S. (2015). *Salvia jurisicii* Košanin and *Salvia amplexicaulis* Lam.- chemical composition of the essential oils. *Agro Food Industry Hi Tech*, 26(5): 64-67. **(M23)**
5. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Matevski, V., Marin, P.D. (2015). Antioxidant activity of *Salvia jurisicii* Košanin ethanol extracts. *Botanica Serbica*, 39(1): 53-58. **(M24)**

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Janošević, D., Budimir, S., Matevski, V., Marin, P. (2012). Anatomical and micromorphological characteristics of endemic *Salvia jurisicii* Košanin, Lamiaceae. 7th CMAPSEEC, 27th-31st May Subotica, Serbia. Book of abstracts, 13. **(M34)**

2. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Marin, P.D., Mileski, K., Matevski, V. (2013). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidative activity of *Salvia ringens* Sibth. & Sm. extracts. Eurofoodchem XVII, May 7-10, Istanbul, Turkey. Book of abstracts, 689. **(M34)**
3. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Matevski, V., Mileski, K., Marin, P.D. (2013). Antioxidant activity and total phenolic content of *Salvia jurisicii* Košanin. 11th Symposium of the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, June 13-16, Vlasina lake, Serbia. Book of abstracts, 87. **(M34)**
4. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Janošević, D., Budimir, S., Matevski, V., Marin, P. (2013). *Salvia ringens* Sibth. & Sm. (Lamiaceae) stem: structure and antioxidant activity. 4th Croatian Botanical Symposium with International Participation, September 27-29, Split, Croatia. Book of abstracts, 71. **(M34)**
5. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Marin, P., Matevski, V. (2013): Antioxidative activity of ethanol extracts of *Salvia ringens* plant parts. International Conference on Natural Products Utilization, November 3-6, Bansko, Bulgaria. Book of Abstracts, 81. **(M34)**
6. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Veličković, D., Matevski, V., Mileski, K., Marin, P. (2014). Composition of methanol extract of *Salvia jurisicii* - rare and endemic Balkan species. 8th CMAPSEEC, 19th-22st May, Durres, Albania, Book of abstracts, 121. **(M34)**
7. **Alimpić, A.**, Duletić-Laušević, S., Knežević, A., Oalđe, M., Marin, P. D. (2015). Acetylcholinesterase inhibitory activity of selected *Salvia* species. 2nd International Conference on Natural Products Utilization, October 14-17, Plovdiv, Bulgaria. Book of abstracts, 97. **(M34)**

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација **Ане Алимпић** под насловом: **“Микроморфолошке карактеристике *Salvia amplexicaulis* Lam., *S. jurisicii* Košanin и *S. ringens* Sibth. & Sm. (Lamiaceae), хемијски састав и биолошка активност њихових етарских уља и екстраката”** представља савремено урађену студију из области микроморфологије и биолошке активности врста рода *Salvia* пореклом из Републике Македоније. По свом обиму, садржају, оригиналности резултата, облику њиховог представљања и интерпретацији, као и начину дискутовања у односу на обимну и релевантну литературу, поднети текст има све одлике докторске дисертације. Кандидаткиња је на адекватан начин представила истраживачку област у којој је радила и резултате до којих је дошла. На основу резултата сопствених истраживања и прегледа обимне литературе, показала је да је оспособљена да у овој области креира и изводи експерименте на другим потенцијално економски значајним врстама биљака. Добијени резултати указују да истраживања са ових аспеката имају добру перспективу, нарочито имајући у виду да постоји значајан број

научно недовољно истражених врста са подручја Медитерана које потенцијално могу бити коришћене у прехранбеној, козметичкој или фармацеутској индустрији.

Комисија сматра да докторска дисертација **Ане Алимпић** по свом приступу и интерпретираним резултатима, а нарочито узимајући у обзир могућу примену резултата истраживања, представља значајан допринос у познавању микроморфолошких и цитолошких одлика, као и биолошких активности врста рода *Salvia*. Добијени резултати у оквиру докторске дисертације објављени су у међународним и врхунским међународним часописима.

На основу свега изложеног, комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

У Београду, 11.07.2016. године

КОМИСИЈА:

др Соња Дулетић-Лаушевић, ванредни професор,
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Петар Марин, редовни професор,
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Душица Јаношевић, ванредни професор,
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Мирјана Стајић, редовни професор,
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Катарина Шавикин, научни саветник,
Институт за проучавање лековитог биља
"Др Јосиф Панчић"