

UNIVERZITETA U BEOGRADU- FARMACEUTSKOG FAKULTETA
NASTAVNO-NAUČNO VEĆE
KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKE STUDIJE

Na osnovu člana 94. Statuta Farmaceutskog fakulteta i predloga Komisije za poslediplomske studije, Nastavno-naučno veće Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu na sednici održanoj 20. 10. 2016. godine, donelo je odluku o imenovanju Komisije za ocenu i javnu odbranu završene doktorske disertacije, kandidata magista farmacije Eihab Omer Ahmad Mohamed Yousifa, pod naslovom:

»Uparedna analiza hemijskog sastava, antimikrobne, antioksidantne i spazmolitičke aktivnosti etarskog ulja *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. i *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) iz Sudana«

»Comparative analysis of chemical composition, antimicrobial, antioxidant and spasmolytic activity of essential oils of *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. and *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) from Sudan«

Komisija u sastavu:

1. Dr Nada Kovačević, redovni profesor, mentor

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

2. Dr Milica Drobac, docent, mentor

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

3. Dr Suzana Branković, vanredni profesor/associate professor

Univerzitet u Nišu – Medicinski fakultet

pregledala je priloženu disertaciju i podnosi Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta u Beogradu sledeći

IZVEŠTAJ

A) PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija pod nazivom »Usporedna analiza hemijskog sastava, antimikrobne, antioksidantne i spazmolitičke aktivnosti etarskog ulja *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. i *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) iz Sudana« napisana je na 111 strana, sadrži 30 slika i 10 tabela. Pregled literature sadrži 118 navoda. Disertacija je napisana na engleskom jeziku.

Tekst disertacije podeljen je u sedam poglavlja: Uvodni deo, Cilj rada, Materijal i metode, Rezultati i diskusija, Zaključak, Reference, Dodatak. Na početku rada je priložen Izvod/Abstract. Na kraju rada u okviru Dodatka nalazi se Biografija kandidata, Izjava o autorstvu, Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada, Izjava o korišćenju.

UVODNI DEO napisan je na 28 strana (1-28) i sastoji se iz šest celina. U delu **Rod *Cymbopogon* Spreng.** predstavljeni su botanički podaci i karakteristike roda. Takođe, nabrojane su biljne vrste koje su najrasprostranjenije i imaju najveći botanički značaj, kao i areali njihovog rasprostranjenja. U delu **Hemijski sastojci zastupljeni u vrstama roda *Cymbopogon*,** iznet je detaljniji literaturni pregled podataka o sastavu etarskog ulja biljaka ovog roda. Takođe, posebno su obrađena, komercijalno, najvažnija etarska ulja Lemongrass essential oil, Citronella essenatial oil, Palmarosa essential oil i Gingergrass essential oil. Pored karakteristika sastojaka ovih ulja, date su informacije o *Cymbopogon* vrstama od kojih se dobijaju komercijalna ulja, kao i podaci o njihovoj medicinskoj i industrijskoj primeni. U ovom poglavlju veoma kratko su spomenute i ostale vrste sekundarnih metabolita za koje postoje podaci u literaturi i to: o flavonoidima, fenolnim kiselinama i fenilpropanskim jedinjenjima, o terpenskim sastojcima i taninima. U delu o **Ispitivanju farmakološke aktivnosti *Cymbopogon* vrsta** predstavljeni su podaci iz literature o eksperimentalnim rezultatima ispitivanja citotoksične, antikonvulzivne, antiinflamatorne, antioksidantne hipoglikemijske i hipolipemijske aktivnosti. Takođe, navedeni su i podaci o delovanju etarskih ulja biljnih vrsta ovog roda na insekte. U delu **Upotreba vrsta roda *Cymbopogon*** komentarisana je primena etarskih ulja, ali i ekstrakata vrsta ovog roda u medicini, parfimeriji,

kozmetičkoj, prehrambenoj i drugim industrijama, kao i primena u narodnoj medicini. U naredne dve celine detaljnije su predstavljene dve biljne vrste koje su predmet istraživanja u okviru ove disertacije: ***Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov.** i ***Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng.**

CILJ RADA je napisan na jednoj strani (30-31). Jasno je definisan i podeljen u dve vrste istraživanja:

- analizu sadržaja i sastava etarskog ulja dobijenog destilacijom vodenom parom iz različitih biljnih delova vrsta *C. nervatus* i *C. schoenanthus* sakupljenih iz samoniklih populacija (*C. nervatus*) iz istočnog i zapadnog Sudana, odnosno iz eksperimentalnog zasada Khartoum, Sudan (*C. schoenanthus*)
- farmakološki skrining antimikrobne, antioksidativne i spazmolitičke aktivnosti etarskih ulja ispitivanih *Cymbopogon* vrsta.

Poglavlje **MATERIJAL i METODE** napisano je na 13 strana (32-45) - U ovom poglavlju prikazani su podaci o uzorcima biljnog materijala i opisane su sve metode koje su korišćene u eksperimentalnom radu. U delu ovog poglavlja **Biljni materijal** nabrojana su staništa na kojima je prikupljan biljni materijal, metode obrade i način prireme materijala za ispitivanje. U delu **Izolacija i hemijska analiza etarskog ulja** navedene su metode i podaci o opremi koja je korišćena za izolaciju etarskog ulja i kvalitativnu analizu; uslovi GC i GC/MS analize. U nastavku su opisani postupci, procedure i oprema koja je korišćena za **Ispitivanje antimikrobne, antioksidantne i spazmolitičke aktivnosti etarskog ulja.**

Sve predložene i korišćene metode su odgovarajuće i u skladu su sa zahtevima savremenih farmakopejskih propisa i naučnoistraživačkog rada. Korišćene metode su omogućile dobijanje rezultata na osnovu kojih je moguće doneti relevantne zaključke.

REZULTATI I DISKUSIJA su prikazani na 40 stranica teksta (47-87). Sadrže i odabrane hromatograme etarskog ulja. Komentari uz priloge, kao i tekst koji ih prati su jasni i direktno povezani za prikazanim rezultatima. Kroz diskusiju dobijenih rezultata

kandidat je na uporedio svoje rezultate sa rezultatima drugih autora. Na osnovu toga, kandidat je izneo svoje zaključke i hipoteze, koji objašnjavaju rezultate ove doktorske disertacije u skladu sa rezultatima većine drugih autora koji imaju isti naučni interes.

U poglavlju **ZAKLJUČCI** (88-90) navedeni su najznačajniji zaključci koji su u skladu sa dobijenim rezultatima i navedenim ciljevima istraživanja.

U poglavlju **LITERATURA** (91-103) navedeno je 118 referenci koje su citirane vankuverskim stilom.

Poglavlje **DODATAK** (104-111) sadrži administrativne delove: Biografija kandidata, Izjava o autorstvu, Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada, Izjava o korišćenju.

B) OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije je ispitivanje dve biljne vrste koje pripadaju rodu *Cymbopogon* (Poaceae), a koje su zastupljene u flori Sudana.

Prva vrsta je *Cymbopogon nervatus* (Hehst.) Chiov. Ona je najzastupljeniji predstavnik ovog roda koja se javlja u spontanoj flori Sudana. Veoma je popularna u narodnoj medicini i često se koristi. Drugi vrsta, koja je bila predmet ispitivanja u okviru ove disertacije, jeste *Cymbopogon schoenanthus* (L) Spreng. Pošto je veoma cenjena kao lekovita vrsta u Sudanu, ali i u širem region, često se gaji, pa su uzorci za potrebe ovog rada i uzeti iz organizovane proizvodnje.

Istraživanja su podeljena u dve celine. U okviru prvog dela urađena je detaljna hemijska analiza etarskog ulja izolovanog destilacijom vodenom parom iz različitih delova vrste *C. nervatus*, sakupljenih na lokalitetima u istočnom i zapadnom delu Sudana u različitim vegetacionim periodima, kao i iz uzoraka gajenog *C. schoenanthus* (The Medicinal & Aromatic Plants Research Institute - MAPRI, Khartoum state, Shambat, Sudan,).

Drugu celinu je predstavljala farmakološki skrining etarskih ulja dobijenih iz ispitivanih *Cymbopogon* vrsta. U okviru ovog dela, urađeno je ispitivanje antimikrobne, antioksidativne i spazmolitičke aktivnosti.

Dobijeni rezultati hemijskog ispitivanja, kao i rezultati farmakoloških testova upoređivani su međusobno, kao i sa litetraturnim podacima koji su dostupni za obe ispitivane biljne vrste, odnosno za druge vrste roda *Cymbopogon*.

Utvrđeno je da je prinos etarskog ulja u uzorcima vrste *C. nervatus*, koji su prikupljeni u regionu zapadnog i istočnog Sudana u maju 2014. godine (letnji period) i februaru 2015. godine (zimski period), bio veći u cvasti (0,6% -2,1% v/v) nego u stabljici (0,1% -0.2% v/v). Takođe, sadržaj ulja bio je veći u biljnom materijalu prikupljenom tokom zime (februar 2015. godine); sva izračunavanja su rađena na suhu masu.

Svi uzorci etarskog ulja *C. nervatus* bili su slični u pogledu kvalitativnog sastava uz postojanje razlika u odnosu sastojaka. Glavni sastojci ulja pripadaju grupi oksidovanih monoterpena (81.1-94.6%), dok su aciklični i biciklični monoterpeni skoro potpuno odsutni.

Dominantni sastojci etarskog ulja *C. nervatus* su p-mentadienoli (64.0-80.3%): trans-p-menta-1(7),8-dien-2-ol (19.5-32.6%), cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol (18.9-23.3%) i trans-p-menta-2,8-dien-1-ol (10.6-21.0%).

Rezultati hemijske analize uzoraka sa različitih lokaliteta i sakupljenih u različitim periodima, kao i poređenje sa podacima iz literature ukazuju na to da je, suštinski, sastav etarskog ulja biljne vrste *C. nervatus* prilično stabilna, odnosno da deo biljke, poreklo i vreme sakupljanja ne utiču značajno na sastav ovog etarskog ulja.

Cvast vrste *C. schoenanthus* bogata je etarskim uljem (1.9-2.0%, v/v), dok je sadržaj etarskog ulja u uzorcima stabljika manji (0.2-0.6%; v/v); izračunavanja su rađena na suhu masu. Etarska ulja dobijena iz različitih delova biljke (stabljike i cvasti), odnosno iz uzoraka sakupljenih u različitom periodu, bila su slična po kvalitativnom sastavu uz postojanje određenih razlika u odnosu između sastojaka.

I uzorke etarskog ulja vrste *C. schoenanthus* karakteriše visok sadržaj oksidovanih monoterpena (50.8-75.5%). Dominantan sastojak ovog ulja je piperiton (47.7-71.5%). Drugi sastojak po zastupljenosti je intermedeol (6.1-17.3%), a zatim slede

d-2-Edson (4.5-10.0%) i elemol (5.2-9.0%). Samo etarsko ulje dobijeno iz stabljike prikupljene u novembru 2013. godine, odstupa od ovakvog odnosa sastojaka.

Ispitivanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja *C. nervatus* i *C. schoenanthus* rađeno je mikrodilucionom metodom na šest standardnih sojeva bakterija (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K.pneumoniae*, *P. aeruginosa*) i na dva soja gljive *C. albicans*. Osetljivost testiranih mikroorganizama na ispitivana etarska ulja je bila slična. U ispitivanim koncentracijama, etarska ulja su pokazala aktivnost protiv sojeva *S. aureus*, *S. epidermidis* i *C. albicans*, a nisu inhibirala rast Gram (-) bakterije. Generalni zaključak je da je antimikrobna aktivnost uzoraka etarskih ulja *C. nervatus* i *C. schoenanthus*, testiran u ovoj studiji, bila slaba.

Antioksidativna aktivnost etarskih ulja izolovanih iz cvasti vrsta *C. nervatus* i *C. schoenanthus*, procenjivana je primenom FRAP testa za određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta i DPPH testa za određivanje sposobnosti neutralizacije slobodnih radikala.

Ukupni antioksidativni kapacitet etarskih ulja obe ispitivane vrste bio je slabiji od kapaciteta rutina i askorbinska kiselina, supstanci koje su korišćene kao referentni antioksidanti. U DPPH testu etarsko ulja cvasti *C. nervatus* pokazalo je umerenu aktivnost, dok je etarsko ulje *C. schoenanthus* ispoljilo slabu aktivnost.

Etarska ulja cvasti *C. nervatus* i *C. schoenanthus* su testirana na spazmolitičku aktivnost korišćenjem tri različita eksperimentalna modela: model spontanih kontrakcija i model kontrakcija indukovanih dodatkom Ach i KCl. Oba ispitivana etarska ulja ispoljila su jaku, signifikantnu i dozno zavisnu spazmolitičku aktivnost u svim eksperimentalnim modelima.

Kada su etarska ulja primenjena u koncentraciji od 200 ug/ml, ispitivani uzorak ulja *C. nervatus* ispoljio je $88.44 \pm 16.78\%$ maksimalnog spazmolitičkog efekta atropina (6.4 uM) kod spontanih kontrakcija. Etarsko ulje (90 ug/mL) inhibira kontrakcije indukovane Ach i umanjuje efekat najviše primenjene koncentracije Ach do $37.29 \pm 16.16\%$. Takođe, ulje ispoljava snažno dejstvo na kontrakcije koje su indukovane KCl (80 mM) i u koncentraciji od 200 ug/ml u potpunosti otklanja kontrakcije izazvane KCl.

Etarsko ulja cvasti *C. schoenanthus* pokazalo je jaku, signifikantnu i doze zavisnu spazmolitičku aktivnost. Primenjeno u koncentraciji od 130 ug/ml, ulje je ispoljilo $105.23 \pm 29.56\%$ maksimalnog spazmolitičkog efekta atropina (6.4 uM) protiv spontanijh kontrakcija. Takođe, etarsko ulje (90 ug/mL) inhibira kontrakcije indukovane Ach i umanjuje efekat najviše primenjene koncentracije Ach do $62.76 \pm 21.00\%$; u koncentraciji od 120 ug/ml ulje u potpunosti otklanja kontrakcije izazvane Ach. Takođe, ulje ispoljava snažno dejstvo na kontrakcija koje su indukovane KCl (80 mM) i u koncentraciji od 30 ug/ml umanjuje kontrakcije izazvane KCl do $19.67 \pm 20.26\%$.

Rezultati dobijeni i prezentovani u ovoj doktorskoj disertaciji pokazali su da cvasti obe ispitivane biljne vrste, *C. nervatus* i *C. schoenanthus* koje su uzorkovane u Sudanu, sadrže značajnu količinu etarskog ulja i da ova ulja imaju stabilan i ujednačen sastav. Etarska ulja cvasti su ispoljila i značajnu spazmolitičku aktivnost, što se može smatrati korisnim svojstvom i osnovom za njihovu primenu kod gastrointestinalnih problema.

Podaci dobijeni u okviru ove disertacije mogu predstavljati dobru osnovu za dalja istraživanja ovih etarskih ulja za medicinsku upotrebu, kao i za primenu u prehrambenoj industriji. Pored toga, velika koncentracija etarskog ulja i njegov prilično stabilan sastav čini *C. schoenanthus* iz Sudana vrednim izvorom komercijalno važnog monoterpena piperitona.

C) UPOREDNA ANALIZA REZULTATA KANDIATA SA PODACIMA IZ LITERATURE

Kako je u prijavi teme doktorske disertacije i navedeno, rod *Cymbopogon* predstavlja bogati izvor aromatičnih biljnih vrsta od kojih neke imaju značajnu primenu za proizvodnju etarskog ulja. Sama biljna sirovina, kao i etarsko ulje, imaju značajnu komercijalnu vrednost. Prema podacima iz literature, u okviru vrsta roda *Cymbopogon* definisani su određeni hemotipovi u zavisnosti od dominantnih sastojaka, odnosno kombinacije sastojaka etarskog ulja. Glavni sastojci etarskih ulja *C. citratus* i *C. flexuosus* su geranial i neral, u ulju *C. parkeri* i *C. olivieri* to je piperiton, delta-2-karen u *C. proximus*, linalol u *C. nardus*, limonen u *C. giganteus* i *C. schoenanthus* iz Burkinie

Faso ili elemicin u ulju *C. pendulus*. Poznato je, i eksperimentalno dokazano, da poreklo *Cymbopogon* vrsta ima uticaj na glavne sastojke etarskog ulja (Avoseh et al., 2015).

Ispitivanjem uzoraka vrste *C. nervatus* u okviru ove disertacije, potvrđeno je da cvast (1,2 %, v/w) sadrži više ulja u odnosu na stabljiku (0,6 %; v/w). Sadržaj etarskog ulja je veći tokom zimskih meseci (februar 2015), a stanište nema značajan uticaj na sadržaj i sastav etarskog ulja. GC, GC/MS analiza svih ispitivanih uzoraka etarskog ulja dobijenog iz stabljike ili cvasti, potvrdila je da su dominantni sastojci oksidovani monoterpeni (81.1-94.6%) i da u okviru ove grupe preovlađuju *p*-mentadienoli (64.0-80.3%).

Rezultati analize sastava, koji su dobijeni u okviru ove doktorske disertacije su u korelaciji sa podacima dobijenim za etarsko ulje *C. nervatus* poreklom iz Sudana (Butana, Eastern Sudan); postoje razlike u odnosu pojedinih komponenata u okviru kompleksa mentadienola (Abushama et al., 2013; Banthorpe et al., 1976, El-Kamali et al., 2005).

Po dominaciji sastojaka sa osnovnom *p*-mentadienskog strukturom (*cis*- and *trans-p*-mentha-2,8-dien-1-ol) etarsko ulja *C. nervatus* je veoma slično onom koje sadrži *C. giganteus* (Boti et al., 2006; Jirovetz et al., 2007; Kpoviessi et al., 2014).

Rezultati dobijeni za uzorke *C. Nervatus*, urađeni u okviru ove disertacije, potvrđuju da je ova biljna vrsta relativno stabilna u produkciji etarskog ulja u smislu male varijabilnosti sastojaka u odnosu na deo biljke iz koga je ulje destilovano, vremena i mesta uzorkovanja.

Kada se radi o uzorcima vrste *C. schoenanthus*, oni su uzorkovani iz eksperimentalnih zasada (The Medicinal & Aromatic Plants Research Institute - MAPRI, Khartoum, Sudan). I kod ove vrste, cvasti su sadržale veću količinu etarskog ulja; 1.9-2.0% (v/w). Sadržaj u stabljikama se kretao u opsegu 0.2-0.6% (v/w),

GC i GC/MS analizom je utvrđeno da svi uzorci etarskog ulja *C. schoenanthus*, bez obzira na deo biljke iz koga su predestilisani ili vreme uzorkovanja, imaju veoma sličan sastav. I u ovom etarskom ulju dominirali su sastojci iz grupe oksidovanih monoterpena (50.8-75.5%). Najviše zastupljeni sastojak bio je piperiton (47.7-71.5%).

Interesantno, u ispitivanim uljima po prvi put identifikovan i seskviterpen intermedeol (6.1-17.3%).

Rezultati analize etarskog ulja *C. schoenanthus* dobijeni u okviru ove disertacije slični su onima koji su objavljeni u literaturi. Ova biljna vrsta, bez obzira na poreklo biljnog materijala, pripada grupi etarskih ulja u kojoj je piperiton dominantan sastojak (Ketoh et al., 2005; Kpoviessi et al., 2014; Yentéma et al., 2007). Na osnovu ovoga, *C. schoenanthus*, može biti svrstan u istu grupu piperitom bogatih ulja zajedno sa *C. parkeri* (80.8%), *C. olivieri* (72.8%) i *C. jawarancusa* (79.0%) (Avoseh et al., 2015; Dhar et al., 1981).

Piperiton se može koristiti za suzbijanje određenih insekata (*Callosobruchus maculatus*) (Ketoh et al., 2006). Takođe, piperiton predstavlja osnovu za sintezu mentola i timola, supstanci koje se koriste u terapijske svrhe, ali značajnije količine se upotrebe u industriji aditiva (Dhar et al., 1981). Sve ovo je važno i sa aspekta korišćenja biljne sirovine dobijene od *C. schoenanthus* za potrebe izolacije piperitona, njegovu direktnu primenu ili prevođenje u druge terpene.

Ispitivanje antimikrobne aktivnosti etarskog ulja *C. nervatus* i *C. schoenanthus* rađeno je primenom mikrodilucione metode na standardne sojeve *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. Aeruginosa* i *C. albicans*. Ispitivana ulja su ispoljila aktivnost na *S. aureus* (MIC 857 – 1060 µg/ml), *S. epidermidis* (MIC 783 – 1060 µg/ml) i na dva testirana soja *C. albicans* strains (MIC 783-907 µg/ml). Ipak, ovo je veoma slaba aktivnost (Rios and Recio, 2005) što je donekle različito u odnosu na neke literaturne navode za ove i druge *Cymbopogon* vrste (Pandey, 2010; Ahmad and Viljoen, 2015; Hellali et al., 2016; El-Kamali et al., 2005; Khadri et al., 2011)

Antioksidantna aktivnost etarskih ulja *C. nervatus* i *C. schoenanthus* ispitivana je primenom FRAP I DPPH testa. Oba test su potvrdila da ispitivana ulja imaju veoma slabu aktivnost. I ovi rezultati su slični podacima iz literature za iste vrste (Hellali et al., 2016; Khadri et al., 2008), odnosno za etarska ulja drugih *Cymbopogon* vrsta; *C. giganteus* (Alitonou et al., 2006); *C. proximus* (Selim, 2011), *C. citratus* (Adesegun et al., 2013).

Ispitivanje spazmolitičke aktivnosti, urađena je sa izabranim uzorcima ispitivanih etarskih ulja: sa etarskim uljem dobijenim iz cvasti *C. nervatus* koje su sakupljene u

Zapadnom Sudanu februara 2015 (sample WF-2) i sa uzorkom etarskog ulja cvasti *C. schoenanthus* koje su sakupljene u februaru February 2015 (sample CI-2). Spazmolitička aktivnost je testirana na izolovanom tankom crevu pacova u tri model sistema: modeli spontanijh kontrakcija, **ku** modelu kontrakcija izazvanih dodatkom acetilholina (Ach) i modelu kontrakcija izazvanih kalijum hloridom (KCl). Oba uzorka ispitivanih etarskih ulja, primenjena u dozi 10-200 µg/ml, ispoljila su snažnu, dozno zavisnu spazmolitičku aktivnost u sva tri ispitivana modela.

Dobijeni rezultati su nešto slabiji, ali u saglasnosti sa ranije dobijenim rezultatima za ulje *C. citratus* i njegov efekat na kontrakcije izazvane Ach, kod tankog creva zeca i zamorca (Devi et al., 2011). Isti autor je potvrdio i aktivnost metanolnog ekstrakta listova *C. citratus* i relaksaciju kontrakcija izazvanih KCl.

Poznato je da limonen pokazuje spazmolitičku aktivnost, a ovaj monoterpen je zastupljen u etarskom ulju *C. nervatus* u koncentraciji od 5.7%, (Cardoso Lima et al., 2012). Dokazano je da i neki drugi monoterpeni (limonen oksid i karvon), koji su u ispitivanom uzorku ulja *C. nervatus* zastupljeni u manjoj količini, ispoljavaju spasmolitičku aktivnost kod kontrakcija indukovanih KCl (De Sousa et al., 2008). U literaturi nisu pronađeni navodi i komentari koji povezuju spazmolitičku aktivnost sa p-mentadienolima koji su dominantni sastojci etarskog ulja *C. nervatus*. Istina, za neke biljne vrste kao što je *Artemisia sieberi* Besser, koje sadrže i ove oksidovane monoterpene, slično kao i za *Cymbopogon* svrste, spominje se u literaturi da se tradicionalno koriste za relaksaciju muskulature (Yousefzadeh et al., 2012).

Kada se radi o etarskom ulju *C. schoenanthus*, piperiton je dominantni sastojak. Poznato je da ovo jedinjenje ispoljava spazmolitičku aktivnost kada se primeni u koncentraciji od 1-100 µg/ml; kontrakcije uterusa pacova koje su izazvane KCl relaksirane su dodatkom pipetitona ($EC_{50}=10.73\pm 1.27$ µg/ml) (Ponce-Monter et al., 2008). I za druge sastojke ovog ulja, kao što je limonen; δ-3-carene ili β-eudesmol potvrđena je spazmolitička aktivnost (Cardoso Lima et al., 2012; Morita et al., 1996, Shah et al., 2013). Tako, dobijena spazmolitička aktivnost etarskog ulja aktivnost *C. schoenanthus* može se, bar teorijski objasniti prisustvom piperitona i drugih terpenskih sastojaka.

Literatura

Abushama MF, Hassan A, Abdelgadir H, Khalid H. The chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Cymbopogon nervatus* Hochst. Chiov.. *International Journal of research in pharmacy and chemistry* 2013; 3: 730–738.

Adesegun AS, Samuel FO, Olawale RG, Funmilola SA. Antioxidant activity of the volatile oil of *Cymbopogon citratus* and its inhibition of the partially purified and characterized extracellular protease of *Shigella sonnei*. *American Journal of Research Communication* 2013; 1:31-45.

Ahmad A, Viljoen A. The *invitro* antimicrobial activity of *Cymbopogon* essential oil (lemongrass) and its interaction with silver ions. *Phytomedicine* 2015; 22:657-665.

Alitonou GA, Avlessi F, Sohounhloue DK, Agnani H, Bessiere JM, Menut C. Investigations on the essential oil of *Cymbopogon giganteus* from Benin for its potential use as an anti-inflammatory agent. *The International Journal of Aromatherapy* 2006; 16:37-41.

Avoseh, O., Oyedeji, O., Rungqu, P., Nkeh-Chungag, B., Oyedeji A. (2015). *Cymbopogon* Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. *Molecules*, 20, 7438-7453.

Banthorpe DV, Duprey RJH, Hassan M, Janes JF, Modawi BM. Chemistry of the Sudanese Flora I: Essential oils of some *Cymbopogon* species. *Planta Medica* 1976; 29:10–19.

Boti JB, Muselli A, Tomi F, Koukoua G, N'Guessan TY, Costa J, Casanova J.. Combined analysis of *Cymbopogon giganteus* Chiov. leaf oil from Ivory Coast by GC/RI, GC/MS and ¹³C-NMR. *Comptes Rendus Chimie* 2006; 9:164-168.

Cardoso Lima T, Mota MM, Barbosa-Filho JM, Viana Dos Santos MR, De Sousa DP. Structural relationships and vasorelaxant activity of monoterpenes. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 2012; 20(1): 23. doi:10.1186/2008-2231-20-23.

De Sousa DP, Júnior GAS, Andrade LN, Calasans FR, Nunes XP, Barbosa-Filho JM, Batista JS. Structure and spasmolytic activity relationships of monoterpene analogues found in many aromatic plants. *Zeitschrift für Naturforschung C* 2008; 63: 808-812.

Devi RC, Sim SM, Ismail R. Spasmolytic effect of citral and extracts of *Cymbopogon citratus* on isolated rabbit ileum. *Journal of Smooth Muscle Research* 2011; 47:143-156.

Dhar AK, Thappa RK, Atal CK. Variability in yield and composition of essential oil in *Cymbopogon jawarancusa*. *Planta Medica* 1981; 41:386-388.

El-Kamali HH, Hamza MA, El-Amir MY. Antibacterial activity of the essential oil from *Cymbopogon nervatus* inflorescence. *Fitoterapia* 2005; 76: 446-449.

Hellali N, Mahammed MH, Ramdane F, Talli A. Antimicrobial and antioxidant activities of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) spreng. essential oil, growing in Illizi – Algeria. *Journal of Medicinal Plant Research* 2016; 10:188-194.

Jirovetz L, Buchbauer G, Eller G, Ngassoum MB, Maponmetsem PM. Composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon giganteus* (Hochst.) Chiov. essential flower, leaf and stems oils from Cameroon. *Journal of Essential Oil Research* 2007; 19:485-489.

Ketoh GK, Koumaglo HK, Glitho IA, Huignard J. Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitoterapia* 2006; 77:506–510.

Khadri A, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Neffati M, Smiti S, Araújo MEM. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. determination of chemical composition by GC-mass spectrometry and ¹³C NMR. *Food Chemistry* 2008; 109:630-637.

Khadri A, Mokni REI, Araújo MEM. Screening of the antimicrobial properties of the essential oils of *Cymbopogon schoenanthus*. *Tropical Journal of Medical Research* 2011; 15:32-34.

Kpoviessi S, Bero J, Agbani P, Gbaguidi F, Kpadonou-Kpoviessi B, Sinsin B, Accrombessi G, Frédéric M, Moudachirou M, Quetin-Leclercq J. Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *Journal of Ethnopharmacology* 2014; 151:652-659.

Morita M, Nakanishi H, Morita H, Mihashi S, Itokawa H. Structures and spasmolytic activities of derivatives from sesquiterpenes of *Alpinia speciosa* and *Alpinia japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1996; 44:1603-1606.

Pandey, A. K. (2010). The *Cymbopogons*. Harvest and Postharvest Management. In A. Akhila (Ed.), *Essential Oil- Bearing Grasses. The genus Cymbopogon* (pp. 108-129). Boca Raton: CRC Press.

Ponce-Monter H, Campos MG, Pérez S, Pérez C, Zavala M, Macías A, Oropeza M, Cárdenas N. Chemical composition and antispasmodic effect of *Casimiroa pringlei* essential oil on rat uterus. *Fitoterapia* 2008; 79:446-50.

Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 100:80-84.

Selim S. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extract of the Egyptian lemongrass *Cymbopogon proximus* Stapf. *Grasas y aceites* 2011; 62(1):55-61.

Shah AJ, Gilani AH, Jabeen Q, Nadir M, Rasheed M, Ahmed A, Tareen RB, Ahmad VU. Chemical analysis and calcium channel blocking activity of the essential oil of *Perovskia abrotanoides*. *Natural Product Communications* 2013; 8:1633-1636.

Yentéma O, Alioune O, Dorosso SA. Chemical composition and physical characteristics of the essential oil of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng of Burkina Faso. *Journal of Applied Sciences* 2007; 7:503-506.

Yousefzadeh N, Zeinivand J, Meshkatsadat MH. Quantitative and Qualitative Study of Bioactive Compounds of Essential Oils of the Medicinal Plant *Artemisia sieberi* Grown in Lorestan (Iran) by use of GC-MS Technique. *Organic Chemistry: Current Research* 2012, DOI: 10.4172/2161-0401.1000109.

D) OBJAVLJENI I SAOPŠTENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DOKTORSKE DISERTACIJE

Rad objavljen u časopisu kategorije M20

1. Omar Eihab, Pavlović Ivan, Drobac Milica, Branković Suzana, Stojanović Mirjana, Kovačević Nada
Chemical composition and spasmolytic activity of *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. (Poaceae) essential oil
Industrial Crops and Products, 2016, 91: 249-254; M21A

2. Pavlović Ivan, Omar Eihab, Drobac Milica, Branković Suzana, Stojanović Mirjana, Kovačević Nada
Chemical composition and spasmolytic activity of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (Poaceae) essential oil from Sudan
Archive of Biological Sciences, 2016 OnLine-First (00):113-113; M23
DOI:10.2298/ABS160506113P; M23

Rad prezentovan na nacionalnom skupu sa međunarodnim učešćem

1. Omar E., Drobac M., Milenković M., Kovačević N.
Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. and *C. proximus* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf (Poaceae).

E) ZAKLJUČAK – OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DOKTORSKE DISERTACIJE

Organizacija istraživanja u okviru ove doktorske disertacije i dobijeni rezultati, omogućili su da se izvede zaključak da biljna vrsta *C. nervatus* sakupljena na dva različita lokaliteta u istočnom i zapadnom Sudanu sintetiše etarsko ulje u kome dominiraju oksidovani monoterpeni (81.1-94.6%), sa *p*-mentadienolima kao najzastupljenijim sastojcima. Takođe, utvrđeno je da je količina ulja veća u cvastima nego u stabljici, kao i to da ulja ima više tokom zimskog perioda (februar). S druge strane, utvrđeno je da deo biljke, poreklo i vreme uzorkovanje ne menjaju, suštinski, kompoziciju i odnos sastojaka etarskog ulja ove biljne vrste.

Vrsta *C. schoenanthus* uzorkovana je iz eksperimentalnih ogleda, pošto se ova vrsta gaji zbog velike potražnje na tržištu. Bogatija je etarskim uljem; u cvastima ima 1.9-2.0% (v/w) ulja, a u stabljikama 0.2-0.6% (v/w), računato na suhu masu. Po dominantnim sastojcima, ova vrsta i njeno etarsko ulje pripada grupi *Cymbopogon* vrsta kod kojih dominira piperiton (47.7-71.5%).

Potvrđeno je da uzorci etarskog ulja dobijenog iz cvasti obe ispitivane vrste, *C. nervatus* i *C. schoenanthus*, ispoljavaju spazmolitičku aktivnost protiv spontanijih kontrakcije, kao i kontrakcija izolovanog tankog creva pacova koje su indukovane Ach i KCl. Ispoljena aktivnost je snažna, statistički značajna i zavisna od primenjene koncentracije. Ovakva aktivnost, verovatno, doprinosi i efikasnosti tradicionalne primene ovih biljnih vrsta kod oboljenja gastrointestinalnog trakta.

Rezultati prezentovani u okviru doktorske disertacije opravdavaju da se nastavi ipitivanje tradicionalne primene ove dve *Cymbopogon* vrste. Takođe, određena preliminarna ispitivanja ukazuju na potrebu nastavka rada i proučavanje mogućnosti primene etarskih ulja *Cymbopogon* vrsta u tretmanu skladišnih insekata. I na kraju, treba spomenuti i mogućnost da se nastave ispitivanja na mogućnosti korišćenja etarskog ulja *C. schoenanthus* kao sirovine za industrijsku proizvodnju/izolaciju piperitona i njegovu dalju primenu i preradu.

Na osnovu svega iznetog, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta u Beogradu da prihvati pozitivan izveštaj o završenoj doktorskoj disertaciji pod naslovom:

»Uporedna analiza hemijskog sastava, antimikrobne, antioksidantne i spazmolitičke aktivnosti etarskog ulja *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. i *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) iz Sudana«

»Comparative analysis of chemical composition, antimicrobial, antioxidant and spasmolytic activity of essential oils of *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. and *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) from Sudan«

Takođe, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću da, po dobijanju saglasnosti Veća naučne oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu kandidatu Eihabu Omer Ahmad Mohamed Yousifa odobri javnu doktorske disertacije.

Komisija:

1. Dr Nada Kovačević, redovni profesor, mentor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

2. Dr Milica Drobac, docent, mentor

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

3. Dr Suzana Branković, vanredni profesor

Univerzitet u Nišu – Medicinski fakultet