

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На I редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 14.10.2016. године, прихваћен је извештај ментора др Ане Џамић и проф др Петра Марина о урађеној докторској дисертацији **Ксеније Милески** под насловом „Фитохемијска анализа и биолошка активност *Ferulago macedonica* Micevski et Mayer., *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. и *Angelica panticii* Vandas (Apiaceae)” и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Ана Џамић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Петар Д. Марин, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Снежана Трифуновић, виши научни сарадник Хемијског факултета Универзитета у Београду, др Ана Ћирић, виши научни сарадник Института за Биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација **Ксеније Милески** под насловом „Фитохемијска анализа и биолошка активност *Ferulago macedonica* Micevski et Mayer., *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. и *Angelica panticii* Vandas (Apiaceae)” 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 246 нумерисаних страна. Садржи 41 табелу, 47 слика и 502 литературна навода.

Анализа докторске дисертације:

У овој докторској дисертацији кандидат **Ксенија Милески** је приказала резултате истраживања анализе хемијског састава и биолошке активности етарских уља и различитих екстраката пет врста фамилије Ариасеае (штитонше) које су сакупљене на различитим локалитетима Републике Македоније.

У поглављу **УВОД**, кандидаткиња даје опште податке о морфолошким карактеристикама, лековитим својствима и традиционалној употреби лековитих биљака фамилије Ариасеае. Такође, даје преглед литературе о хемијском саставу и биолошким/фармаколошким активностима екстраката и етарских уља представника ове фамилије. У овом делу дате су опште карактеристике секундарних метаболита који су одговорни за биолошку активност ових врста. Такође је дат и детаљан преглед

литературних података о антиоксидативној, антимикробној и антикворум сензинг активности великог броја врста штитовноша. У посебном одељку приказани су резултати досадашњих истраживања која се односе на хемијски састав, лековита својства и биолошку активност узорака врста из родова *Ferulago*, *Echinophora*, *Laserpitium*, *Heracleum* и *Angelica*.

У оквиру поглавља **ЦИЉЕВИ РАДА** као основне задатке кандидаткиња наводи анализу хемијског састава етарских уља и метанолних екстраката различитих биљних делова испитиваних врста; изоловање и карактеризацију секундарних метаболита екстраката корена врсте *A. pancicii*, затим *in vitro* проучавање антиоксидативног, антимикробног и антикворум сензинг потенцијала етарских уља и екстраката са циљем утврђивања могућег апликативног значаја ових врста.

У поглављу **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** описани су начин сакупљања и припреме биљног материјала као и процедуре за изоловање и екстракцију етарских уља и екстраката. У истом делу дат је приказ коришћених инструмената и метода за: а) анализу хемијског састава етарских уља помоћу гасне хроматографије - масене спектрометрије (GC-MS) и гасне хроматографије - пламено-јонизујуће детекције (GC-FID); б) анализу хемијског састава секундарних метаболита метанолних екстраката течном хроматографијом под високим притиском (HPLC-DAD/ESI-ToF-MS систем); в) хроматографско раздвајање екстраката, изоловање и одређивање структуре секундарних метаболита из групе кумарина и хромона из корена *A. pancicii*. Представљене су методе за спектрофотометријско одређивање укупног садржаја фенола и флавоноида у екстрактима и за одређивање антиоксидативне активности помоћу три теста (DPPH, ABTS и β -каротен/линолна киселина тест). Микродилуциона метода је коришћена за одређивање антимикробне активности и за испитивање антикворум сензинг дејства узорака на тест-организм *Pseudomonas aeruginosa*.

У одељку **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА** приказани подаци су презентовани у две веће целине, свака са одговарајућим потпоглављима. Детаљна анализа добијених резултата представљена је главним текстом, који на адекватан начин допуњују одговарајуће табеле и илустрације. На тај начин омогућава се лако праћење редоследа представљања резултата истраживања. Резултати су тумачени, дискутовани и поређени међусобно, као и са подацима из литературе. Фитохемијске анализе и одређивање биоактивности за поједине врсте су први пут рађене, док је антикворум сензинг активност свих проучаваних врста први пут представљена у оквиру овог рада.

Прво потпоглавље се односи на карактеризацију хемијског састава етарских уља. Једињења која карактеришу етарска уља *Ferulago macedonica*, *Echinophora sibthorpiana*, *Heracleum orphanidis*, *Laserpitium ochridanum*, *Angelica pancicii* су из групе монотерпенских и сесквитерпенских угљоводоника, њихових оксидованих форми, деривата масних киселина (естри, алкохоли, алдехиди и кетони) и фенилпропаноида.

У следећем потпоглављу кандидаткиња истиче да су резултати HPLC-DAD-ESI-ToF анализе екстраката испитиваних биљака први пут представљени у овој дисертацији. Кумарини су најзаступљеније компоненте метанолних екстраката *H. orphanidis* и *A. pancicii*. У надземном делу *H. orphanidis* идентификовано је 18, а у корену 25 једињења, док је у надземном делу *A. pancicii* одређено 52, а у корену 53 компоненте. Из екстраката корена *A. pancicii* изоловано је и идентификовано укупно седам једињења; шест познатих фуранокумарина и једно ново једињење из класе хромона - ацетилкнидимол А

(ацетилкнидимол А- 5,7-дихидрокси-6-(2'-Z-бутенил-5'-ацетокси)-2-метил хромон) који до сада није био изолован.

У другој целини кандидаткиња, у оквиру посебних потпоглавља, приказује и дискутује резултате добијене за различите *in vitro* биолошке активности (антиоксидативну, антимикуробну и антикворум сензинг) одабраних врста. До данас нису објављени подаци ни за једну наведену активност за врсте *F. macedonica*, *H. orphanidis* и *A. pancicii*. У делу текста који се односи на спектрофотометријско одређивање укупаног садржаја полифенолних једињења истакнуто је да је етанолни екстракт надземног дела *A. pancicii* био узорак са највишим измереним укупним садржајем фенола, док је етанолни екстракт надземног дела *L. ochridanum* имао највећу количину флавоноида. У потпоглављу где су представљени резултати антиоксидативне активности етарских уља и екстраката, истиче се дозно-зависна способност неутралисања слободних радикала тестираних узорака, при чему су екстракти врсте *L. ochridanum* били најефикаснији антиоксидативни агенси. На основу резултата добијених коришћењем DPPH теста, метанолни екстракти испитиваних врста су показали најјачи антиоксидативни потенцијал. Кандидаткиња наводи да су екстракти *L. ochridanum* једини имали способност да редукују DPPH радикал ефикасније од антиоксиданса ВНА и ВНТ. Такође, коришћењем ABTS теста, као најснажнији антиоксиданси издвајају се етарско уље *E. sibthorpiana* и водени екстракт *L. ochridanum*. Упоредном анализом резултата теста β -каротен/линолна киселина, кандидаткиња наводи да је етанолни екстракт надземног дела *A. pancicii* био најпотентнији узорак.

У потпоглављу о антимикуробној активности испитиваних врста кандидаткиња представља резултате антибактеријског и антифунгалног деловања етарског уља и екстраката. Етарска уља су се показала као јачи антимикуробни агенси од екстраката. Етарско уље *H. orphanidis* је показало најбољи антибактеријски, а уље *L. ochridanum* антифунгални потенцијал. Добијене вредности за поменуту активност су у рангу вредности добијених применом антибиотика стрептомицина и микотика флуконазола. Сви испитивани узоци су показали јаче антибактеријско него антифунгално дејство.

У потпоглављу о антикворум сензинг активности кандидаткиња наводи да су коришћене минималне инхибиторне и суб-инхибиторне концентрације екстраката и етарских уља биле довољне да испоље антикворум сензинг дејство на одабране вирулентне детерминанте бактерије *P. aeruginosa*. Такође, истакнуто је да су уље *F. macedonica* и етанолни екстракт корена *E. sibthorpiana* били најефикаснији у инхибицији синтезе пигмента пиоцијанина. Етарско уље *E. sibthorpiana* је издвојено као агенс са најизразитијим инхибиторним дејством на кретање и продукцију токсичног пигмента бактерије. У редукцији синтезе биофилма *P. aeruginosa*, најефикаснији је био етанолни екстракт корена *A. pancicii*, чији је потенцијал био већи у односу на стрептомицин и ампицилин.

У сваком потпоглављу резултати су поређени са постојећим литературним подацима добијеним за хемијски састав и биолошку активност врста из одабраних родова из фамилије Ариасеае, а затим су на адекватан начин дискутовани.

За пет горе наведених врста из Македоније извршена је детаљна хемијска анализа етарских уља и екстраката, а затим је урађено испитивање антиоксидативне, антимикуробне, антикворум сензинг активности у циљу налажења узорака са најбољим дејством и повезивања њихових ефеката са једињењима потенцијално одговорним за

њихова биолошка дејства. Поједини узорци су се показали као јаки антиоксидативни и антимикуробни агенси, са испољеном активношћу сличној оној који су показали коришћени синтетички стандарди. Кандидаткиња издваја значајне резултате антиоксидативног дејства појединих екстраката, као и висок антимикуробни потенцијал етарских уља. Посебно истиче способност појединих узорака да смање продукцију биофилма и синтезу токсичног пигмента бактерије *P. aeruginosa*.

Познато је да природни производи имају велики значај у прехранбеној и фармацеутској индустрији. Истраживана етарска уља и екстракти се могу разматрати и са аспекта примене, као потенцијални нови, природни прехранбени агенси и лековите сировине.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ**, кандидаткиња сумира добијене резултате у виду закључака, где су извучене основне информације о хемијским карактеристикама етарских уља и екстраката као и о тестираним биолошким активностима проучаваних врста.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 502 библиографске јединице. 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. **Mileski, K. S., Ćirić, A. D., Trifunović, S. S., Ristić, M. S., Soković, M. D., Matevski, V. S., Tešević, V. V., Jadranin, M. B., Marin P. D., Džamić, A. M. (2016). *Heracleum orphanidis*: chemical characterization, and comparative evaluation of antioxidant and antimicrobial activities with specific interest in the influence on *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Food & Function*, **7**, 4061-4074. (M21)**
2. **Mileski, K., Džamić, A., Ćirić, A., Ristić, M., Grujić, S., Matevski, V., Marin P. D. (2015). Composition, antimicrobial and antioxidant properties of endemic species *Ferulago macedonica* Micevski & E. Mayer. *Records of Natural Products*, **9**(2): 208-223. (M22)**
3. **Mileski, K., Džamić, A., Ćirić, A., Grujić, S., Ristić, M., Matevski, V., Marin, P. D. (2014). Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss. from Macedonia. *Archives of Biological Sciences*, **66**(1): 401-413. (M23)**

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Mileski, K. S., Džamić, A. M., Matevski, V. S., Marin P. D. (2012). Antioxidant activity of *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer extracts, Apiaceae. 7th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Association for Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (AMAPSEEC) and Institute for Medicinal Plant Research "Dr Josif Pančić", May 27-31, Subotica, Serbia, *Book of Abstracts*, 105. (M34)**
2. **Mileski, K., Džamić, A., Matevski, V., Alimpić, A., Marin, P. D. (2013). Phenolic and flavonoid content and antioxidant capacity of extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss. 11th Symposium of the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, June 13-16, Vlasina lake, Serbia. *Book of Abstracts*, 96. (M34)**
3. **Mileski, K., Džamić, A., Matevski, V., Ćirić, A., Marin, P. D. (2013). Antimicrobial activity of essential oil of *Ferulago macedonica* Micevski & Mayer. 4th Croatian Botanical Symposium with International Participation, September 27-29, Split, Croatia. *Book of Abstracts*, 79-80. (M34)**

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација **Ксеније Милески** под насловом: „Фитохемијска анализа и биолошка активност *Ferulago macedonica* Micevski et Mayer., *Echinophora sibthorpiana* Guss., *Laserpitium ochridanum* Micevski, *Heracleum orphanidis* Boiss. и *Angelica pancicii* Vandas (Apiaceae)” представља савремену студију из области фитохемијских анализа и биолошке активности урађену на пет врста фамилије Апицеае пореклом из Републике Македоније. По свом обиму, садржају, оригиналности добијених резултата, начину њиховог представљања и дискутовања у односу на обимну и релевантну литературу, поднети текст има све одлике докторске дисертације. Ксенија Милески 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 истраживања имају добру перспективу, нарочито имајући у виду да постоји значајан број недовољно истражених врста са подручја Балканског полуострва, које би могле бити коришћене у прехранбеној, козметичкој или фармацеутској индустрији. Комисија сматра да докторска дисертација **Ксеније Милески** по свом приступу и интерпретираним резултатима, а узимајући у обзир потенцијалну применљивост резултата истраживања, представља значајан допринос у познавању хемијског састава, као и биолошких активности врста родова *Ferulago*, *Echinophora*, *Laserpitium*, *Heracleum* и *Angelica*. Део резултата проистеклих из докторске дисертације објављен је у врхунским и истакнутим међународним часописима. На основу свега изложеног, комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитиван Извештај комисије и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

У Београду, 30.11.2016. године

КОМИСИЈА:

др Ана Џамић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

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

др Снежана Трифуновић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Ана Ћирић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду – Институт за биолошка
истраживања „Синиша Станковић“