

VIJEĆU PRIRODNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA I SENATU UNIVERZITETA
CRNE GORE

Podgorica,

16.04.2018.

PREDMET: Ocjena doktorske disertacije kandidatkinje mr Ivane Bošković

Na redovnoj sjednici Senata Univerziteta Crne Gore u Podgorici, održanoj 05.03.2018. godine, određena je Komisija za ocjenu doktorske teze i dalji rad na disertaciji "Antimikrobna i antioksidativna svojstva ekstrakata biljaka familije *Boraginaceae*", kandidatkinje mr Ivane Bošković u sastavu: dr Svetlana Perović (vanredni profesor PMF-a Univerziteta Crne Gore), dr Sladana Krivokapić (vanredni profesor PMF-a Univerziteta Crne Gore), dr Biljana Damjanović-Vratnica (redovni profesor MTF-a Univerziteta Crne Gore), dr Dragutin Đukić (redovni profesor Agronomskog fakulteta Univerziteta u Kragujevcu) i dr Pavle Mašković (vanredni profesor Agronomskog fakulteta Univerziteta u Kragujevcu). Komisija je pregledala doktorsku disertaciju i na osnovu pregleda podnosi Vijeću i Senatu Univerziteta sledeći

IZVJEŠTAJ

I Cilj doktorske disertacije

Osnovni cilj doktorske disertacije je ispitivanje hemijske i biološke efikasnosti biljnih ekstrakata iz familije *Boraginaceae*. Ciljevi ove doktorske disertacije bili su ispitivanje ekstrakata biljnih vrsta *Anhusa officinalis* L., *Echium vulgare* L. i *Echium italicum* L. u pogledu sadržaja fenolnih jedinjenja – fenola, flavonoida, ukupnih antocijana, tanina i galotanina; HPLC analiza testiranih ekstrakata; ispitivanje njihove ispravnosti u pogledu sadržaja makroelemenata, mikroelemenata i teških metala; evaluacija antimikrobnog, antioksidativnog i citotoksičnog potencijala ispitivanih ekstrakata.

Prilikom definisanja teme pošlo se od sledećih hipoteza: da je familija *Boraginaceae* sa fitohemijskog aspekta još uvijek nedovoljno istražena i da su ove biljke i njihovi ekstrakti bogati farmakološki aktivnim fenolnim i drugim komponentama, zbog čega bi se mogle primijeniti u poljoprivredi, prehrambenoj industriji i farmaciji.

II Organizacija i sadržaj doktorske disertacije

Doktorska disertacija pod nazivom "Antimikrobna i antioksidativna svojstva ekstrakata biljaka familije *Boraginaceae*", kandidatkinje mr Ivane Bošković je napisana na 132 strane formata A₄. Disertacija je napisana u skladu sa Pravilima doktorskih studija Univerziteta Crne Gore, fontom Times New Roman, veličinom pisma od 12 tipografskih tačaka. Disertacija je podjeljena na uvodni, opšti dio, materijal i metode istraživanja, rezultate i diskusija istraživanja i zaključak, a takode sadrži abstrakt na crnogorskom i engleskom jeziku, predgovor, biografiju i bibliografiju kandidatkinje. Disertacija sadrži 20 tabela i 32 slike koje ilustruju rezultate istraživanja i omogućavaju čitaocu da bolje razumije datu tematiku. Kandidatkinja je pri izradi i pisanju doktorske teze koristila veoma obimnu literaturu od 215 referenci novijeg datuma.

U poglavlju **UVOD** kandidatkinja ukazuje na značaj upotrebe ljekovitih biljaka u profilaksi i liječenju raznih oboljenja, ispravnosti biljnih vrsta, kao i morfologiji biljaka familije *Boraginaceae* koje su u disertaciji istraživane. U opštem dijelu kandidatkinja piše o sekundarnim metabolitima biljaka i njihovim antioksidativnim, antimikrobnim i citotoksičnim svojstvima. Ispitivanje fitohemijskog sastava biljaka, izolovanje bioaktivnih komponenti i testiranje njihovog terapijskog dejstva predstavlja veliki izazov u oblasti hemije i mikrobiologije. Primjena biljaka u profilaksi i liječenju raznih oboljenja stara je koliko i sama civilizacija. Zadnjih godina učinjeni su veliki napor u ispitivanju fitohemijskog sastava biljaka, uspostavljanju nove metodologije kako za izolovanje bioaktivnih komponenti, tako i za njihovu fundamentalnu primjenu. Otpornost mikroorganizma na antimikrobne lijekove je postala tema od globalnog značaja. Zbog sve izraženije pojave rezistencije bakterija na dejstvo velikog broja antibiotika, i sposobnosti biljaka da sintetišu biološki aktivne materije, primjena prirodnih antimikrobnih preparata biljnog porijekla u biološkoj kontroli patogenih bakterija dobija sve veći značaj o čemu kandidatkinja sveobuhvatno piše u uvodnom dijelu.

Bioaktivni sastojci biljnih vrsta u centru su pažnje savremene onkologije. Brojna istraživanja potvrdila su primjenu odabranih biljnih vrsta i njihovih ekstrakata u liječenju karcinoma. Pronalaženje novih antikancerogenih agenasa koji bi ispoljavali izraženo selektivno antitumorsko dejstvo prema malignim ćelijama, kao i minimalno toksično dejstvo prema zdravim netransformisanim ćelijama zadatak je savremene medicine. Prednost jedinjenja biljnog porijekla u odnosu na sintetičke lijekove ogleda se u tome što biljke posjeduju veći farmakološki kompleks te mogu uticati na više različitih oboljenja, za razliku od lijekova koji su dizajnirani tako da inhibiraju ili stimulišu jedan od puteva farmakoloških efekata.

U poglavlju **Cilj rada** dat je jasan prikaz ciljeva eksperimentalnog rada, ispitivanje hemijske i biološke efikasnosti biljnih ekstrakata iz familije *Boraginaceae*.

U poglavlju **Materijal i Metode** objašnjeni su biološki testovi i hemijske metode koje su se koristile u istraživanjima, kao i postavka eksperimentalnog rada.

U testiranim ekstraktima biljnih vrsta *A. officinalis*, *E. vulgare* i *E. italicum* određivan je sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, tanina, galotanina i antocijana standardnim metodama spektrofotometrijom. HPLC analiza polifenolnih komponenata ekstrakata izvršena je na aparatu HPLC Agilentu 1200 serije.

Za testiranje antioksidativne aktivnosti ispitivanih ekstrakata korištene su sledeće metode: određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta vršeno je fosfomolibdenskom metodom, određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH metodom, određivanje inhibicije lipidne peroksidacije amonijum-tiocijanatom metodom i određivanje sposobnosti hvatanja hidroksilnog radikala metodom Halliwela, Gutteridgea i Auroma.

Određivanje antimikrobne aktivnosti ispitivanih ekstrakata vršeno je mikrodilucionom metodom na sedamnaest vrsta bakterija i dvije vrste gljiva.

Određivanje citotoksične aktivnosti biljnih ekstrakata izvršeno je varijabilnim MTT testom u *in vitro* uslovima na humanim ćelijskim linijama (human larynx carcinom, human rhabdomyosarcom) i na mišjoj tumorskoj fibroblastnoj liniji.

Íspitivanje kvaliteta, odnosno ispravnosti biljnih ekstrakata u pogledu sadržaja makroelemenata, mikroelemenata i toksičnih elemenata urađeno je primjenom induktivno-kuplovane plazme sa masenim spektrofotometrom.

U poglavlju **Rezultati i diskusija** prikazani su dobijeni rezultati i njihov značaj. Rezultati istraživanja su pravilno obrađeni i jasno i koncizno predstavljeni tabelama i grafikonima. Dobijeni rezultati obrađeni su pomoću analize varijanse dvofaktorijalnog ogleda. Višestruko poređenje sredina utvrđeno je primjenom testa najmanje značajne razlike (LSD). Vrijednost vjerovatnoće od 0.05 smatrana je značajnom. Sva izračunavanja izvršena su primjenom statističkog programa (SPSS, verzija 11.0). Rezultati antioksidativnih aktivnosti su predstavljeni kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija tri determinacije.

Kroz poglavlje Rezultati istraživanja i diskusija prožimaju se pojedinačni zaključci do kojih je kandidatkinja došla na osnovu dobijenih rezultata, kao i poređenjem sa rezultatima drugih istraživača koji su se bavili istom tematikom, a koji su kasnije objedinjeni u jedan sveobuhvatan zaključak na kraju doktorske disertacije.

U poglavlju **Literatura** dat je prikaz od 215 citirana bibliografska podataka koji su korišćeni u ovom radu.

III Osnovni rezultati doktorske disertacije

Rezultati istraživanja do kojih je kandidatkinja došla potvrdila su da su svi ispitivani biljni ekstrakti bogati u pogledu sadržaja ukupnih fenola, flavonoida, tanina, galotanina i antocijana. HPLC analizom ispitivanih ekstrakata potvrđeno je prisustvo različitih konstituenata od kojih je kod sve tri biljke ruzmarinska kiselina bila najdominantija. Rezultati disertacije su pokazali da su etanolski ekstrakti ispitivanih biljnih vrsta ispoljili najjače antioksidativno dejstvo; Redosled antioksidativne aktivnosti ispitivanih ekstrakata je bio sledeći:

E. vulgare L. > *E. italicum* L. > *A. officinalis* L.

Rezultati istraživanja su potvrdili da svi testirani biljni ekstrakti pokazuju dobru antimikrobnu aktivnost u odnosu na standardne antibiotike - amracin (za bakterije) i ketokonazole - (za gljive). Takođe, ispitivani ekstrakti biljaka posjeduju citotoksično djelovanje na različite ćelije kancera. Rezultati istraživanja su potvrdili da su ekstrakti bogati u pogledu mineralnog sastava i da ne sadrže toksične elemente iznad maksimalno dozvoljenih koncentracija.

Na osnovu rezultata može se zaključiti da su ekstrakti ispitivanih biljaka bogati farmakološki aktivnim fenolnim komponentama sa antimikrobnim, antioksidativnim i citotoksičnim potencijalom, te da kao takvi mogu naći primjenu u farmaciji, kozmetici i medicini, što je ujedno bio i cilj ove doktorske disertacije.

IV Mišljenje i zaključak komisije

Komisija smatra da je doktorska disertacija kandidatkinje mr Ivane Bošković pod nazivom: "Antimikrobna i antioksidativna svojstva ekstrakata biljaka familije *Boraginaceae*", napisana u skladu sa postavljenim ciljevima i hipotezama, što je ujedno i potvrđeno u dobijenim rezultatima istraživanja. Dobijeni rezultati su, od nesumnjivog naučnog značaja. Dio istraživanja je objavljen u jednom naučnom radu, publikovanom u časopisu od međunarodnog značaja u kojem je kandidatkinja prvi autor.

Imajući u vidu značajnost istraživanja i nakon detaljnog pregleda rada Komisija pozitivno ocjenjuje doktorsku disertaciju mr Ivane Bošković i sa zadovoljstvom predlaže Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta i Senatu Univerziteta Crne Gore da prihvati ovaj izvještaj i odobri doktorsku disertaciju pod nazivom: "Antimikrobna i antioksidativna svojstva ekstrakata biljaka familije *Boraginaceae*" za javnu odbranu.

Podgorica, 15.04.2018. godine

KOMISIJA

S. Perović

Dr Svetlana Perović, van. prof. PMF-a UCG, mentor

Sladana Krivokapić

Dr Sladana Krivokapić, van. prof. PMF-a, Podgorica, član

Biljana Damjanović

Dr Biljana Damjanović Vratnica, red. prof. MTF-a, Podgorica, član

Dragutin A. Đukić

Dr Dragutin Đukić, red. prof. Agronomski fakultet u Kragujevcu, član

Pavle Mašković

Dr Pavle Mašković, van. Prof. Agronomski fakultet u Kragujevcu, član