

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Гр. бр.	27.05.2022
Орг. бр.	6349
Бр. бр.	
Својеручно	

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 12.04.2022. године у Крагујевцу, одлуком бр. IV-03-273/23 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом “Хемијска карактеризација, антиоксидациона и антимикуробна активност екстраката и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor L.*” кандидата Тијане Кокерић, у следећем саставу:

1. **Проф. др Милица Нинковић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Физиологија, председник;
2. **Проф. др Весна Станков – Јовановић**, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Аналитичка хемија, члан;
3. **Доц. др Јована Брадић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска технологија, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидата Тијане Кокерић и подноси Научно-наставном већу следећи

2. ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ О ОЦЕНИ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Опис докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата Тијане Кокерић под називом “Хемијска карактеризација, антиоксидациона и антимикуробна активност екстраката и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor* L.” урађена је под менторством доц. др Ане Барјактаревих, доцента Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска технологија.

Наведена докторска дисертација представља оригиналну научну студију чији је предмет испитивања хемијска карактеризација екстраката и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor* која расте на територији Републике Србије, као и испитивање антиоксидационе, антимикуробне и антиинфламацијске активности екстраката *S. minor*. Мотив за постављање истраживачког питања заснован је на употреби ове лековите биљке у традиционалној медицини, као и на проналажењу потенцијално нових терапијских могућности.

S. minor је вишегодишња зељаста биљка која припада породици ружа (Rosaceae) из рода *Sanguisorba*. Досадашња истраживања биљака наведеног рода највише су била фокусирана на врсту *Sanguisorba officinalis*, док је литературних података о врсти *S. minor* знатно мање. *S. minor* је распрострањена у различитим деловима Републике Србије и позната је под народним називима дињица или мала крвара. Биљна врста *S. minor* има своју примену у традиционалној медицини у олакшању симптома коњујктивитиса, грознице, дијареје и абдоминалних тегоба. Испитивана подврста *S. minor* subsp. *muricata* се традиционално користи и у терапији рана и опекотина. Ипак, ограничен је обим истраживања спроведених у циљу хемијске карактеризације екстраката и етарског уља ове биљне врсте као и у циљу сагледавања њених терапијских потенцијала. Доступна фитохемијска истраживања екстраката врсте *S. minor* указују на присуство флавоноида, фенолних киселина и танина, као и њихових деривата.

2.2. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у научној области

Допринос ове докторске дисертације огледа се у допуни постојећих сазнања о хемијском саставу биљне врсте *S. minor* с’ обзиром да је у испитиваним екстрактима у овој студији идентификовано седам једињења чије присуство није раније детектовано у екстрактима *S. minor*. Такође, литературни подаци о хемијском саставу етарског уља *S. minor* су оскудни, па је један од циљева ове дисертације била управо хемијска карактеризација етарског уља корена и хербе испитиване биљке, при чему је идентификован велики број једињења која раније нису детектована у етарском уљу *S.*

minor. “Head-space“ анализа испарљивих компоненти корена и хербе *S. minor* први пут је представљена у овом истраживању.

Како је поларност растварача кључан фактор који утиче на способност растварања биљних полифенолних компоненти од чега даље зависи биолошка активност екстракта, за хемијску анализу и испитивање утицаја растварача на биолошку активност екстракта *S. minor* одабрани су екстракти добијени помоћу растварача различите поларности тј. метанола, етанола, хлороформа, ацетона и хексана.

Досадашња истраживања су показала да су екстракти *S. minor* богати полифенолним једињењима која значајно доприносе њиховој биолошкој активности, посебно антиоксидационој, антимикумној и антиинфламацијској активности. Антиоксидациона активност подврсте *S. minor* subsp. *muricata* први пут је презентована у овој докторској дисертацији. За процену антиоксидационе активности метанолног, ацетонског, хлороформског и хексанског екстракта коришћено је пет различитих техника *in vitro*, док је у претходним студијама коришћен мањи број.

Обим истраживања чији је предмет била антиоксидациона активност *S. minor* у *in vivo* условима знатно је мањи. Антиоксидациони ефекти биљних екстракта *in vivo* процењују се, између осталог, и на различитим анималним моделима сепсе у чијој патогенези значајну улогу има оксидациони стрес. Сепса представља глобални здравствени проблем због чега је пажња савремених научних истраживања усмерена ка антиоксидационој терапији која би могла успешно да прати конвенционалну терапију сепсе. Биљни екстракти представљају богати извор једињења са антиоксидационим и антиинфламацијским својствима па сходно томе могу имати потенцијално место у терапији сепсе. Како *S. minor* има већ потврђена антиоксидациона својства *in vitro* а обзиром на преваленцу сепсе и висок степен смртности од исте, од значаја је испитати ефекте ове биљне врсте на параметре оксидационог стреса у стању сепсе. Допринос ове дисертације огледа се у позитивним резултатима које испитивани екстракти испољавају на параметре оксидационог стреса у стању сепсе.

Растући број резистентних бактеријских сојева, бројни нежељени ефекти доступних антибиотика и све мањи број новооткривених синтетичких антибиотика указују на изразиту потребу за новим ефикасним антимикубним агенсима. Антимикубни агенси биљног порекла могу представљати терапијску алтернативу у третману инфекција што указује на потребу за даљим истраживањима. Антимикубна ефикасност *S. minor* је потврђена у неколико истраживања, али њен антимикубни потенцијал још увек није довољно испитан. Екстракти *S. minor* испољили су антибактеријску и антифунгалну активност у претходно спроведеним студијама при чему је интензитет активности варирао у зависности од врсте микроорганизма и типа екстракта. Према досадашњим сазнањима, доступни су једино подаци о антимикубној ефикасности метанолних екстракта корена и лишћа *S. minor*, док су у овој докторској дисертацији први пут испитивани етанолни, ацетонски, хлороформски и хексански екстракти испитиване биљке

Ургентна потреба за новим, ефикасним и безбедним антиинфламацијским лековима усмерила је истраживања ка новим терапијским приступима. Биљке могу представљати ризницу за откриће и развој нових антиинфламацијских агенаса услед присуства широког спектра фитоконституената са доказаним антиинфламацијским ефектима. Доступна је само једна студија која се бавила проценом антиинфламацијске активности *S. minor* subsp. *muricata*. Доказан је антиинфламацијски ефекат воденог екстракта хербе *S. minor* на анималном моделу инфламације индукване карагенином. Инхибиција активности ензима циклооксигеназе - 1 од стране екстракта *S. minor* subsp. *muricata* први пут је описана у овој докторској дисертацији.

Обећавајући фармаколошки ефекти *S. minor* комплементирају постојећа сазнања, а како је врста *S. minor* недовољно проучена, резултати ове дисертације би могли бити основа за будућа испитивања.

2.3. Оцена да је урађена дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података "*PubMed*" и "*KoBSON*", уз коришћење одговарајућих кључних речи: "*Sanguisorba minor*", "*antioxidant effects*", "*antimicrobial effects*", "*antiinflammatory effects*", "*oxidative stress*", "*sepsis*" и "*chemical characterizaton*", нису пронађене сличне студије по питању дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Тијане Кокерић под називом „Хемијска карактеризација, антиоксидациона и антимикуробна активност екстракта и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor* L.“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.4. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

Тијана Р. Кокерић (рођена Ћировић) је Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу уписала школске 2016/2017. године. Усмени докторски испит положила је 30.10.2018. са оценом 9.

Докторску дисертацију на тему „Хемијска карактеризација, антиоксидациона и антимикуробна активност екстракта и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor* L.“ пријавила је 09.10.2019. Позитиван извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације усвојен је на Наставно – научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу 29.01.2020., а Веће за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу дало је сагласност за израду докторске дисертације 19.02.2020.

Тијана Кокерић је аутор више оригиналних научних радова објављених у часописима индексираним на *SCI* листи: 2 публикације категорије М23 и једна публикација категорије М51. Резултати радова наведених под бројевима 1 и 3 саставни су део докторске дисертације чиме је кандидат и формално испунио захтев за одбрану дисертације.

1. **Cirovic T**, Barjaktarevic A, Ninkovic M, Bauer R, Nikles S, Brankovic S, Markovic M, Jovanovic SV, Ilic M, Milovanovic O, Kojicic K, Cupara S. Biological activities of *Sanguisorba minor* L. extracts - in vitro and in vivo evaluations. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. 2020; 77: 745-758. **M23**
2. Barjaktarevic A, **Cirovic T**, Arsenijevic N, Volarevic V, Markovic B, Mitic V, Jovanovic SV, Cupara S. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Salvia verticillata* L. extracts. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021; 83(6): 1280-1287. **M23**
3. **Cirovic T**, Barjaktarevic A, Cupara S, Mitic V, Nikolic J, Jovanovic SV. Antioxidant and antimicrobial activity of *Sanguisorba minor* L. extracts. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*; 2019. 10.2478/sjecr-2019-0044. **M51**

2.5. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Спроведено истраживање је реализовано у потпуности у складу са пријавом теме докторске дисертације. Наслов тезе, циљеви истраживања и примењена методологија су идентични наведеним подацима у пријави тезе.

Докторска дисертација Тијане Кокерић садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви и хипотезе истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Теза је написана је на 90 страна и садржи 17 табела, 16 графикона и пет слика. Поглавље Литература садржи 220 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих научних/стручних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидаткиња је на свеобухватан, јасан и прецизан начин, уз цитирање релевантне литературе, изложила актуелна сазнања о ботаничким карактеристикама, хемијском саставу и традиционалној употреби биљне врсте *S. minor*. Истакнута су и доступна сазнања о фармаколошком деловању *S. minor* и предочен је значај испитивања антиоксидационих, антимикробних и антиинфламацијских својстава ове врсте, као и хемијске карактеризације екстраката и етарског уља корена и хербе *S. minor*.

Циљеви истраживања су јасно изложени и дефинисани у складу са одобреним, приликом пријаве тезе. Кандидаткиња је у свом раду извршила хемијску карактеризацију различитих екстраката и етарског уља корена и хербе биљне врсте *S. minor* subsp. *muricata* и испитала антиоксидациону, антимикробну и антиинфламацијску активност екстраката испитиване биљке.

Материјал и методологија рада су детаљно и прецизно формулисани и подударaju се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је дизајнирано као експериментална студија *in vitro* и на материјалу анималног порекла *in vivo*. Експериментални протокол *in vivo* студије је одобрен од стране Етичког одбора за добробит експерименталних животиња Војномедицинске академије и Министарства за пољопривреду и заштиту животне средине Републике Србије (број 323-07-7363/2014-05), а у складу са прописаним актима Директиве 2010/63/EU Европског Парламента о заштити животиња које се користе

у научне сврхе. У поглављу Материјал и методе детаљно су описане све коришћене технике у истраживању. Одређивани су параметри- укупни садржај фенола и флавоноида у испитиваним екстрактима као и *HPLC* профили одабраних екстраката корена и хербе *S. minor*. Одређен је хемијски састав етарског уља корена и хербе *S. minor* *GC-MS* и *HS/GC-MS* техником. Антиоксидациона активност екстраката је процењена помоћу пет различитих тестова *in vitro* (*DPPH*, *ABTS*, *FRAP* и *CUPRAC*), као и *in vivo* на анималном моделу сепсе. Антимикробна активност екстраката је испитана против Грам-позитивних бактерија, Грам-негативних бактерија и против једне гљивице микродилуционом методом. Антиинфламацијски ефекат етанолног екстракта корена *S. minor* је процењен *in vitro* на основу инхибиције ензима циклооксигеназа-1 у присуству индометацина.

Резултати истраживања су систематично конципирани и приказани у табелама (укупно 17), графиконима (укупно 16) и сликама (укупно 5). Приказ резултата је логичан, прегледан и разумљив. Показано је да су метанолни, етанолни и ацетонски екстракти били супериорнији у односу на хлороформске и хексанске екстракте по питању антиоксидационих параметара *in vitro*. Етанолни екстракт корена *S. minor* имао је позитиван утицај на оксидациони стрес у сепси у смислу умањења нивоа прооксидационих параметара и повећања антиоксидационе активности супероксид дисмутазе. Исти екстракт је довео до значајне инхибиције активности ензима циклооксигеназа-1 при чему је показао знатно бољи антиинфламацијски ефекат у поређењу са индометацином. Екстракти *S. minor* испољили су антимикробну активност према свим испитиваним сојевима, при чему је интензитет активности варирао у зависности од врсте микроорганизама и типа екстракта.

У поглављу Дискусија детаљно су анализирани и објашњени резултати истраживања уз поређење са доступним и релевантним литературним подацима. Дискусија добијених резултата наговештава значајан потенцијал фармаколошких ефеката *S. minor* који допуњују постојећа сазнања и представљају основу за будућа истраживања испитиване биљне врсте.

У поглављу Закључци сажето и систематично су дефинисани закључци истраживања који се својим оквиром базирају на постављеним циљевима истраживања.

На основу детаљне анализе достављеног рукописа тезе и пријављене теме дисертације, а ценећи проистекле публикације из области тезе, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидаткиње Тијане Кокерић под називом „Хемијска карактеризација, антиоксидациона и антимикробна активност екстраката и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor* L.“ по обиму и квалитету у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.6. Научни резултати докторске дисертације

Научни резултати докторске дисертације показали су да је применом течне хроматографије високих перформанси (*HPLC*), у етанолном и ацетонском екстракту хербе

S. minor идентификовано осам фенолних једињења, док су у етанолном и ацетонском екстракту корена *S. minor* идентификована три једињења. Идентификована једињења су већином била присутна у мањој количини у ацетонском у односу на етанолни екстракт. Доминантна фенолна једињења у испитиваним екстрактима како корена тако и хербе били су кверцетин-3-рутинозид и кверцетин-3-софорозид. Концентрација свих идентификованих једињења зависила је од поларности екстракционог растварача. У етарском уљу хербе *S. minor* GC-MS техником је идентификовано 67 једињења (81,72%), док је HS/GC-MS техником идентификовано 12 компоненти (100%). У етарском уљу корена *S. minor* регистроване су 62 компоненте (80,79%) GC-MS техником и 8 компоненти (100%) применом HS/GC-MS технике.

Резултати су показали да се укупни садржај фенола и флавоноида у испитиваним екстрактима *S. minor* разликују у зависности од типа екстракта и коришћеног дела биљке. Метанолни и етанолни екстракти корена *S. minor* били су најбогатији фенолним једињењима док је најмања количина укупних фенолних једињења забележена у хексанским екстрактима хербе и корена. Укупни садржај фенола био је виши у екстрактима корена у односу на екстракте хербе *S. minor*.

Метанолни, етанолни, хлороформски и ацетонски екстракти *S. minor* су садржали значајну количину флавоноида, а изузетак су хексански екстракти корена и хербе *S. minor* код којих су забележене најниже вредности. Највећа количина флавоноида откривена је у метанолном екстракту хербе *S. minor*.

У резултатима је евидентирана јака позитивна корелација између индекса антиоксидационог потенцијала испитиваних екстраката и њиховог укупног садржаја фенола и флавоноида. Метанолни, етанолни и ацетонски екстракти су били супериорнији у односу на хлороформске и хексанске екстракте по питању испитиваних антиоксидационих параметара *in vitro*, што је у функцији поларности растварача.

Етанолни екстракт корена *S. minor* испољио је позитиван утицај на настанак оксидационог стреса у сепси кроз редукцију нивоа прооксидационих параметара - TBARS, NOx, O₂⁻ и повећање активности SOD код пацова са индукованом сепсом. Утицај етанолног екстракта корена *S. minor* на испитиване параметре оксидационог стреса зависио је од примењене концентрације екстракта и пута примене екстракта (орални и интраперитонеални).

Резултати су показали да екстракти *S. minor* испољавају антимикробну активност према свим испитиваним сојевима, при чему је интензитет активности варирао у зависности од врсте микроорганизама и типа екстракта. Када је реч о антибактеријској активности, испитивани екстракти корена и хербе су били најефикаснији против стандардних сојева Грам-позитивних бактерија *B. cereus* и *S. aureus*. Хлороформски, ацетонски и метанолни екстракти су генерално били ефикаснији у односу на етанолне и хексанске екстракте корена и хербе *S. minor*.

Екстракти *S. minor* испољили су антифунгалну активност на сој *C. albicans* при чему су највећи потенцијал показали ацетонски и хексански екстракт хербе *S. minor*, док су остали екстракти имали слабу антифунгалну активност.

Резултати су такође показали да етанолни екстракт корена *S. minor* у високом степену инхибира активност ензима циклооксигеназа-1 *in vitro*, при чему је испољио бољи антиинфламацијски ефекат у поређењу са стандардним инхибитором индометацином.

2.7. Примењивост резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан допринос постојећим теоријским сазнањима о хемијском саставу биљне врсте *S. minor*, као и о потенцијалима њеног антиоксидационог и антимикуробног деловања. Документовани фармаколошки потенцијал екстраката биљне врсте *S. minor* значајно подстиче и проширује применљивост добијених резултата, посебно имајући у виду примену испитиване биљке у традиционалној медицини.

2.8. Начин презентовања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на *SCI* листи категоријом М23 и у часопису категорије М51.

1. **Cirovic T**, Barjaktarevic A, Ninkovic M, Bauer R, Nikles S, Brankovic S, Markovic M, Jovanovic SV, Ilic M, Milovanovic O, Kojicic K, Cupara S. Biological activities of *Sanguisorba minor* L. extracts - *in vitro* and *in vivo* evaluations. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. 2020; 77: 745-758.
2. **Cirovic T**, Barjaktarevic A, Cupara S, Mitic V, Nikolic J, Jovanovic SV. Antioxidant and antimicrobial activity of *Sanguisorba minor* L. extracts. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*; 2019. 10.2478/sjecr-2019-0044.

ЗАКЉУЧАК

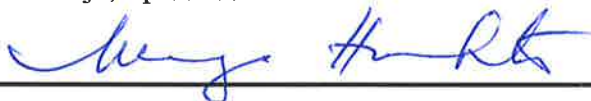
Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Тијане Кокерић под називом „Хемијска карактеризација, антиоксидациона и антимиљробна активност екстраката и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor L.*“ сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија је мишљења да докторска дисертација кандидата Тијане Кокерић под менторством доц. др Ане Барјактаревић, доцента Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска технологија, представља оригинални научни допринос у испитивању хемијских и фармаколошких ефеката екстраката и етарског уља биљне врсте *S. minor subs. muricata*.

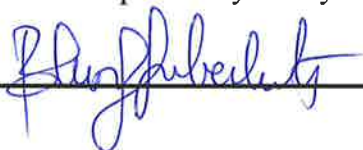
Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Хемијска карактеризација, антиоксидациона и антимиљробна активност екстраката и етарског уља корена и хербе биљне врсте *Sanguisorba minor L.*“ кандидата Тијане Кокерић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

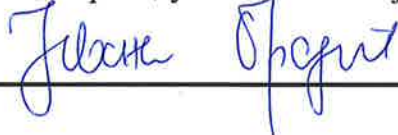
Проф. Др Милица Нинковић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Физиологија, председник



Проф. др Весна Станков-Јовановић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Аналитичка хемија, члан



Доц. др Јована Брадић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска технологија, члан



У Крагујевцу, април 2022. године