

Биолошки факултет
Број захтева:50/138-1
Датум: 14. 6. 2024.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно чл. 48 ст. 5 тач. 3) Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“ бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Биолошка активност и хемијска карактеризација одабраних екстраката биљака *Allium scorodoprasum* L., *Ficus carica* L. и *Verbena officinalis* L.”

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биолошке науке.

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног родитеља и презиме кандидата:

Николета Б. Ђорђевић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

3. Година дипломирања: 2016.

4. Година уписа на докторске студије: 2020/2021.

Универзитет у Београду - Биолошки факултет

5. Назив студијског програма докторских студија: Биологија, модул: Биологија микроорганизама.

подношења пријаве теме докторске дисертације: 29. 4. 2024.

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

А:

Име и презиме ментора: **др Дејан Стојковић,**

Звање: виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Živković, J., Ilić, M., Šavikin, K., Zdunić, G., Ilić, A., **Stojković, D.** Traditional Use of Medicinal Plants in South-Eastern Serbia (Pčinja District): Ethnopharmacological Investigation on the Current Status and Comparison With Half a Century Old Data (2020) *Frontiers in Pharmacology*, 11, art. no. 1020,.
2. **Stojković, D.**, Drakulić, D., Gašić, U., Zengin, G., Stevanović, M., Rajčević, N., Soković, M. *Ononis spinosa* L., an edible and medicinal plant: UHPLC-LTQ-Orbitrap/MS chemical profiling and biological activities of the herbal extract (2020) *Food & Function*, 11 (8), pp. 7138-7151.
3. **Stojković, D.**, Gašić, U., Drakulić, D., Zengin, G., Stevanović, M., Rajčević, N., Soković, M. Chemical profiling, antimicrobial, anti-enzymatic, and cytotoxic properties of *Phlomis fruticosa* L. (2021) *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 195, art. no. 113884, .
4. Ivanov, M., Božunović, J., Gašić, U., Drakulić, D., Stevanović, M., Rajčević, N., **Stojković, D.** Bioactivities of *Salvia nemorosa* L. inflorescences are influenced by the extraction solvents (2022) *Industrial Crops and Products*, 175, art. no. 114260,.
5. J. Božunović, M. Ivanov, J. Petrović, U. Gašić, Đ. Nakarada, M. Milutinović, N. Aničić, Z. Giba, D. Mišić, **D. Stojković**, Solvent System-Guided Extraction of *Centaureum spicatum* (L.) Fritch Provides Optimized Conditions for the Biological and Chemical Characteristics of the Herbal Extracts (2023) *Pharmaceuticals*, 16, 245.

Б:

Име и презиме ментора: **др Биљана Николић,**

Звање: редовни професор, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Vasiljević, B., Mitić-Ćulafić, D., Djekić, I., Marković, T., Knežević-Vukčević, J., Tomasević, I., Velebit, B., **Nikolić, B.** (2019). Antibacterial effect of *Juniperus communis* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* in vitro and in wine marinated beef. *Food Control*, 100, 247 - 256.

2. Đukanović, S., Cvetković, S., Lončarević, B., Lješević, M., **Nikolić, B.**, Simin, N., Bekvalac, N., Kekić, D., Mitić-Ćulafić, D. (2020). "Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of Frangula alnus bark ethyl-acetate extract", *Industrial Crops and Products*, 158, 113013.
3. Marinković, J., Bošković, M., Tasić, G., Vasiljević, B., Marković, D., Marković, T., **Nikolić, B.** (2022). Cymbopogon martinii essential oil nanoemulsions: Physico-chemical characterization, antibacterial and antibiofilm potential against Enterococcus faecalis. *Industrial Crops and Products*, 187, 115478.
4. Ganić T, Vuletić S, **Nikolić B**, Stevanović M, Kuzmanović M, Kekić D, Đurović S, Cvetković S and Mitić-Ćulafić D (2022). Cinnamon essential oil and its emulsion as efficient antibiofilm agents to combat Acinetobacter baumannii. *Frontiers in Microbiology*, 13:989667.
5. Cvetković S, Tenji D, Mitić-Ćulafić D, Vuletić S, Ganić T, Djekić I, **Nikolić B.** (2023). Potential of yellow gentian aqueous-ethanolic extracts to prevent Listeria monocytogenes biofilm formation on selected food contact surfaces. *Food Bioscience*, 54, 102857.

Обавештамо вас да је Наставно-научно веће Универзитета у Београду-Биолошког факултета, на седници одржаној 14. 6. 2024. год. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем.
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације.
3. Електронска верзија
4. Потврда Етичке комисије



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

50/138 - 14. 6. 2024.

На основу члана 96. Закона о високом образовању, члана 62. став 1. тачка 12. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета и члана 29. Правилника о докторским студијама на Универзитету у Београду-Биолошком факултету, бр: 15/276 од 07.09.2018; 15/122 од 14.06.2019.; 15/132 од 11.09.2020. године., Наставно-научно веће Факултета, на VIII редовној седници одржаној 14. 6. 2024. године, донело је

О Д Л У К У

о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора

На основу Извештаја Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације прихвата се тема докторске дисертације и одређује ментор кандидату:

Николети Б. Ђорђевић, дипломирани биолог, студијског програма докторских студија: Биологија, модул: Биологија микроорганизама, под називом:

„Биолошка активност и хемијска карактеризација одабраних екстраката биљака *Allium scorodoprasum* L., *Ficus carica* L. и *Verbena officinalis* L.“

За менторе се одређују:

1. др Дејан Стојковић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију,
2. др Биљана Николић, редовни професор, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- ментору;
- Стручној служби Факултета

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На VII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду одржаној 13.05.2024. године, одређени смо у Комисију за оцену испуњености услова и научне заснованости предложене теме за израду докторске дисертације **Николете Б. Ђорђевић**, под насловом: „Биолошка активност и хемијска карактеризација одабраних екстраката биљака *Allium scorodoprasum* L., *Ficus carica* L. и *Verbena officinalis* L.”.

На основу поднете документације и увида у досадашњи рад **Николете Б. Ђорђевић**, Комисија подноси Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографија:

Општи подаци:

Име, средње слово и презиме: Николета Б. Ђорђевић

Датум и место рођења: 02.10.1986., Београд

Образовање:

2005-2017 – Основне академске студије, Биолошки факултет Универзитета у Београду, студијски програм: Биологија, модул: Биологија, диплома изједначена са мастер дипломом

2018-2020 – Специјалистичке академске студије, Биолошки факултет Универзитета у Београду, студијски програм: Биологија, модул: Биологија микроорганизама

2020 – Докторске академске студије, студијски програм Биологија, модул Биологија микроорганизама, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

Запослење: Март 2020 – Истраживач приправник на Војно медицинској академији, Институт за микробиологију, Одељење за микробску генетику и имунологију.

Курсеви и радионице: /

Пројекти: 2022 – 2024. Билатерални пројекат између Србије и Француске (програм билатералне сарадње Павле Савић) под називом „Exploring novel environmentally friendly electrospun nanofibers: Development of medical material against skin infections and for wound healing applications“ Пројекат воде др Дејан Стојковић са српске стране и др Mikhael Bachelary са француске (грант број 337-00-93/2023-05/2 у 2023., траје до 2025. године).

Чланство у научним друштвима:

2022. - Српско биолошко друштво

Страни језици: Енглески

Посебне активности и награде: /

Б) Библиографија:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. Đorđevski, N.; Uba, A.I.; Zengin, G.; Božunović, J.; Gašić, U.; Ristanović, E.; Ćirić, A.; Nikolić, B.; Stojković, D. Chemical and Biological Investigations of *Allium scorodoprasum* L. Flower Extracts. *Pharmaceuticals*, **2023**, *16*, 21.
2. Đorđevski, N.; Stojković, D.; Živković, J.; Pljevljakušić, D.; Ristanović, E.; Nikolić, B.; Ćirić, A. Tamjanika, a Balkan Native Variety of *Vitis vinifera* L.: Chemical Characterization, Antibacterial, and Anti- Dermatomycosis Potential of Seed Oil. *Food Sci. Nutr.*, **2022**, *10*, 1312–1319.

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

/

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у целости

/

Б4. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у изводу

Djordjevski, N., Ćirić, A., Nikolić, B., Stojković, D. (2022): Antifungal potential of *Allium scorodoprasum* flower extracts on human isolates of dermatomycetes. III конгрес биолога Србије, Србија, Златибор 21-25.09.2022. Постер презентација

Б5. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја:

/

В. Тема докторске дисертације:

Наслов дисертације:

„Биолошка активност и хемијска карактеризација одабраних екстраката биљака *Allium scorodoprasum* L., *Ficus carica* L. и *Verbena officinalis* L.”

Полазне основе:

Последњих деценија дошло је до великог пораста у учесталости инфективних болести које се јављају посебно код имунокомпромитованих особа. Међу инфективним обољењима важно место заузимају инфекције коже, која представља прву линију одбране од микроорганизама. Инфекције коже и меких ткива обухватају низ патолошких стања која укључују кожу и поткожно ткиво, фасције и мишиће; крећу се у распону од једноставних површинских до тешких некротизирајућих инфекција које су чест клинички проблем на хируршким одељењима [1]. Могу бити изазване бактеријским и гљивичним

узрочницима, а међу патогенима људи и животиња група дерматомицета представља главни узрок дерматомикоза. Инфекције дерматомицетама јесу хроничне, не и смртоносне, али доводе до значајног морбидитета.

Поред тога што постоји повећана отпорност патогена на постојеће комерцијалне лекове, конвенционални третмани имају и многа нежељена дејства, што може довести до тога да постојећи лекови у једном тренутку постану недовољни за лечење. Тако је током последњих година дошло и до великог пораста броја бактерија које су резистентне на широк спектар антибиотика, а све чешће се појављују и сојеви отпорни на све човеку познате антибиотике. Уз то, резистенција фунгалних патогена, укључујући и дерматомицете, на постојеће антимицотике такође има растући тренд [2]. Због тога је од изузетне важности развијање ефикасних замена постојећим антибиотицима и антимицотицима. У потрази за ефикасним и потенцијално мање штетним агенсима можемо се окренути и народној медицини која још од давнина традиционално користи биљке због њиховог великог терапеутског потенцијала.

У данашње време готово све фармакопеје на свету – Ph Eur 10 (2020), USP XXXI (2008), ВР (2007) – прописују биљне лекове. Постоје земље (Велика Британија, Русија, Немачка) које имају засебне биљне фармакопеје. Међутим, у пракси се често користи доста већи број неслужбених лекова. Њихова примена темељи се на искуствима традиционалне медицине или на новим научним истраживањима и експерименталним резултатима. Како би терапија биљним препаратима била адекватно и успешно примењена неопходно је познавање лековитих биљака, тј. фармаколошко дејство њихових компонената. Као терапијска средства примењују се биљни лекови и фитопрепарати, најчешће са дефинисаним активним компонентама, провереним деловањем и понекад терапијском учинковитошћу. У Немачкој се користи рационална фитотерапија која се темељи на примени препарата чије дејство зависи од примењене дозе и идентификованих активних компонената, а њихова делотворност је потврђена експерименталним и клиничким испитивањима [3].

Имајући у виду значај фитотерапије постоји потреба за даљим продубљивањем знања из области етномедицине и етнофармакологије широм света, па и у нашој земљи. С тим у вези, треба напоменути да постоје етномедицински записи Балканског полуострва који датирају још из средњег века, а капитално дело које се бавило овом тематиком у том периоду је Хиландарски медицински кодекс. Хиландарски медицински кодекс откривен је прилично касно, тек 1952. године, од стране Ђорђа Сп. Радојчића током његовог боравка у манастиру Хиландар. Анализом датирања закључено је да је настао између друге половине XV и прве половине XVI века. Представља јединствени јужнословенски зборник средњевековне медицине. У најзначајније саставе овог кодекса убрајају се и два фармаколошка трактата, један о једноставним, а други о сложеним лековима [4]. У њему се налазе описи дрога биљног („*вегеталиа*“), минералног („*минералиа*“) и животињског („*анималиа*“) порекла.

Биљне дроге представљају целе, фрагментисане или сечене биљке или делове биљака, алге, гљиве, лишајеве, најчешће суве, али понекад и свеже, као и неке ексудате биљака који нису подвргнути специфичном поступку прераде [5]. Међу биљним дрогама наведеним у Хиландарском медицинском кодексу описују се и неке које су недовољно истражене и непознате од стране савремених фармакопеја. Научни приступ у истраживању њихове биолошке активности омогућио би потврду оправданости њихове употребе и евентуално омогућио њихову рехабилитацију, тј. поновно искоришћење у савременим лековитим формулацијама. Сходно томе, у овој дисертацији биће обрађен биолошки потенцијал биљних дрога изабраних из Хиландарског медицинског кодекса, а које су се користиле за лечење различитих повреда коже и рожних творевина. Од бројних издвојених рецепата, ова докторска теза фокусираће се само на једноставне рецепте који се базирају на појединачним врстама биљака. Иако се у Хиландарском медицинском кодексу у њима помињу биљне дроге пореклом од седам врсти биљака, у овој дисертацији истраживаће се само оне биљне дроге чија је биолошка активност фрагментарно истраживана или уопште није истраживана. Имајући у виду ову чињеницу, број биљних дрога чија ће биолошка активност бити обрађена у овој докторској дисертацији сведен је на три: цветови *Allium scorodoprasum* L. (дивљи лук), херба биљке *Verbena officinalis* L. (вербена), и листови *Ficus carica* L. (смоква). Поједини њихови делови/биљни органи се од давнина користе у људској исхрани и/или традиционалној медицини, у виду хране или чајева. *Allium scorodoprasum*, *Ficus carica* и *Verbena officinalis* су медицински значајне биљке, богате биолошки активним једињењима, нарочито флавоноидима.

Оправданост избора управо ових биљних дрога за тестирање лежи не само у чињеници да су оне наведене у рецептима Хиландарског медицинског кодекса, а који су у средњем веку били примењивани за лечење коже и рожних творевина, већ и у чињеници да су и у савременој науци поједине биљне дроге, пореклом од ових или сродних биљака, познате као извори биолошки активних материја са значајним и разноврсним биолошким потенцијалом. Тако је за род *Allium*, најразноврснији род монокотиледоних биљака, утврђено да су многе врсте медицински значајне, са снажним биолошким потенцијалом. Када говоримо о *Allium scorodoprasum*, биљци у народу познатој као дивљи лук или змијин лук, показано је да листови и луковице имају разноврсне биолошке активности, али постојање биолошки активних једињења до сада није идентификовано у њиховим цветовима. Екстракти листова *A. scorodoprasum* снажни су антимицробни агенси. Они показују и хепатопротективно дејство, као и антиоксидантни потенцијал који се огледа у инхибицији формирања реактивних врсти кисеоника (енг. reactive oxygen species, ROS), чиме доводе до смањења оксидативног стреса. За екстракте луковица дивљег лука је такође показана биолошка активност и то антиоксидантни, антимицробни, цитотоксични, антидијабетични и анти-инфламаторни потенцијал [6].

Ficus carica припада реду ружа, породици дудова. Биљке из ове породице одликују се специфичном карактеристиком присуства млечника из којих се излучује млечни сок. Смоква је широко натурализована врста и може се наћи на свим континентима, у

подручјима топле умерене климе. Највећи број биоактивних једињења која утичу на њен биолошки потенцијал налазе се у млечном соку. У литератури је забележено да њена биоактивна једињења показују цитотоксично деловање и инхибирају пролиферацију неких ћелијских линија канцера. Такође је показано и њено хепатопротективно, антидијабетично, антимикубно и антипиретичко деловање. У традиционалној медицини користи се и за ублажавање тегоба услед поремећаја гастроинтестиналног тракта (чир и повраћање), болести јетре, респираторног тракта (помоћно средство у случају астме и прехладе), као и репродуктивног система (за ублажавање менструалног бола код жена) [7].

Verbena officinalis је вишегодишња биљка која припада класи дикотила; једна је од две врсте из рода *Verbena* са космополитским распрострањењем. У народној медицини ова биљка се користи за лечење упала горњих дисајних путева, код проблема са уринарним трактом, а код жена приликом проблема са менструалним циклусом и за подстицање лактације. Такође, користи се код поремећаја нервног система, гастроинтестиналног тракта, као додаток терапији за лечење маларије и реуматизма. Још од давнина ова биљка се користи приликом лечења рана које тешко зарастају, као и упала усне шупљине [8].

Као што је већ истакнуто, и поред чињенице да су бројни и разноврсни биолошки ефекти утврђени за поједине екстракте свих наведених биљака, чињеница је да биолошка активност изабраних биљних дрога – цветова дивљег лука, листа смокве и хербе вербене – није истраживана, или је истраживана фрагментарно. Што се тиче биолошке активности цветова *A. scorodoprasmum*, она до сада уопште није била предмет истраживања. Иако је биолошки потенцијал примене екстракта листа смокве показан, он се односи на антиоксидативни потенцијал и антиканцерски ефекат према појединим ћелијским линијама хепатокарцинома. Важно је напоменути да је антимикубна активност екстракта листова према појединим патогенима идентификована у случају сродне биљке *Ficus hispida* [7]. Када говоримо о биолошкој активности хербе вербене, неоспорно је да је она најбоље изучена, с обзиром да је због примене у традиционалној медицини и доказане активности уведена и у европску (Ph Eur, од 2008) и у кинеску (ChP, од 1995) фармакопеју. Научно је доказано да вербена има веома разноврсне биолошке ефекте, укључујући и антиоксидантни, антимикубни, секретолитички, анти-инфламаторни, аналгетички, кардиопротективни и гастропротективни. Показано је да је вербена корисно средство у ублажавању тегоба код разних неуролошких поремећаја (делује као антиконвулзант/антиепилептик, анксиолитик, као седатив и антидепресив), као и да поседује антипролиферативни и антиканцерски потенцијал. Такође је њена примена у зацељивању рана које тешко зарастају научном доказана [8]. Међутим, иако веома истраживана, постоје области у којима је вербена још увек недовољно истражена; једна од њих је свакако антимикубни ефекат према патогенима коже, а нарочито према дерматомицетама.

Конечно, иако је основни критеријум за избор биљака и биљних дрога које ће бити истраживане у овој докторској дисертацији била одредница Хиландарског медицинског кодекса о биљним лековима за лечење кожних обољења, биолошке активности које ће

бити истражене неће се ограничити на истраживање потенцијала у лечењу антимикубног потенцијала према дерматомицетама и другим патогенима коже. Имајући у виду горе наведене биолошке активности, сматрано је потребним да се истраже и други биолошки ефекти и то ефекат на зарастање рана, као и антиоксидантни, антидијабетични и антинеуродегенеративни потенцијал. Када је у питању ефекат на зарастање рана, повезаност инфекција коже и меких ткива, а тиме и инфекција рана, са проблемом њиховог зарастања је евидентна. Чињеница да антиоксидантни потенцијал лежи у основи разноврсних биолошких активности корисних у лечењу бројних обољења која у основи имају оксидативни стрес, подстакла је потребу да се додатно истражи антиоксидантни ефекат екстракта одабраних биљних дрога.

Када је у питању значај истраживања антидијабетичног ефекта, важно је поменути да су инциденца и преваленца различитих облика дијабетеса у константном порасту, те да се дијабетес типа 2 (*diabetes mellitus*) сматра једним од најчешћих ендокриних поремећаја у свету [9]. Наравно, чињеница да друге биљне дроге добијене од *A. scorodoprasmum* и *F. carica* показују антидијабетична својства охрабрује истраживање потенцијала за тестирање одабраних биљних дрога: цветова дивљег лука и листова смокве. Интересантна је чињеница да антидијабетични потенцијал хербе вербене није евидентиран у научној литератури, што оставља простор за истраживање у оквиру ове докторске дисертације. Затим, одличан потенцијал вербене да ублажи тегобе неких неуролошких поремећаја свакако је усмерио истраживања екстракта одабраних биљних дрога на њихов неуропротективни потенцијал, посебно у стањима повезаним са Алцхајмеровом и Паркинсоновом болешћу. Чињеница да за ова неуродегенеративна обољења која карактерише прогресивни губитак структуре и функције неурона не постоји довољно ефикасна терапија, а актуелни лекови се примењују ради ублажавања симптома [10], указује на потребу за додатним истраживањем и на овом пољу.

Предмет докторске дисертације

Имајући у виду све претходно наведено, у овој дисертацији биће извршена компаративна анализа хемијског профила и биолошких активности екстракта цветова *A. scorodoprasmum*, листова *F. carica* и хербе *V. officinalis*. Ради што потпуније анализе њихове биолошке активности биће припремљено више различитих екстракта поменутих биљних дрога, применом три растварача различите поларности (вода, етанол и бутанол). Добијени екстракти ће бити хемијски окарактерисани, тј. биће идентификоване појединачне фенолне компоненте које могу бити одговорне за биолошку активност.

Предложена докторска теза бавиће се испитивањем антимикуробне способности екстракта наведених биљних дрога према следећим патогенима: дерматомицетама (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Microsporum fulvum*), квасницама (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida*

tropicalis, *Candida kefyr*) и бактеријама (*Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris*). Такође, у оквиру испитивања антимикробне активности пратиће се и ефекат испитиваних екстраката на формирање биофилма, као и ефекат на већ формиран биофилм одабраних патогена.

Предмет ове дисертације биће и статистичка анализа учесталости дерматомицета код пацијената који су у петогодишњем периоду посећивали Војномедицинску академију због тегоба са кожом и рожним творевина. Овакве статистичке анализе је неопходно радити и пратити учесталост појаве патогена како бисмо знали стварно стање међу становништвом, нарочито у руралним крајевима где су ове инфекције и најчешће и најлакше се шире, што може довести до озбиљних проблема за здравствени систем. Међутим, овакве студије се у нашој земљи и региону слабо раде. Постоји неколико скорашњих статистичких анализа о инфекцијама изазваним бактеријама и квасницама, док анализе о инфекцијама изазваним дерматомицетама, које су најчешћи узрочници кожних обољења, није било у нашој земљи још од седамдесетих година прошлог века.

Дисертација ће обухватити и испитивање цитотоксичне активности екстраката у циљу *in vitro* процене безбедности примене, као и потенцијал стимулације зарастања рана. Повољан резултат у току овог испитивања би био јако значајан, нарочито за дијабетичаре. Хронични дијабетес може довести до смањења способности коже да се сама регенерише. Због тога и најмање ране на стопалима могу довести до појаве дијабетичног стопала. То су хроничне ране које тешко зарастају или уопште не зарастају и представљају погодно тле за развој разних инфекција, које могу последично довести до системских инфекција и могу резултирати ампутацијом доњих екстремитета, у неким случајевима и смрћу.

Антиоксидантни потенцијал екстраката изабраних биљних врста, чије је испитивање планирано у оквиру ове докторске дисертације, је од изузетног значаја, с обзиром да у условима оксидативног стреса долази до повећане производње *ROS*, и последично настанка оксидативних оштећења биомолекула. Посебно се може нагласити утицај на ДНК које услед повећања учесталости оксидативне мутагенезе може значајно повећати ризик за развој малигнитета. Антиоксидантна заштита значајна је за превенцију свих обољења које у основи имају оксидативни стрес, укључујући и оне значајне за ово истраживање: упални процес у подручју кожних инфекција и рана, дијабетес и неуродегенеративна обољења.

Истраживање потенцијала инхибиције активности одабраних ензима значајних за терапију дијабетеса типа 2, Алцхајмерове и Паркинсонове болести биће такође обухваћено овом дисертацијом. Гликозидаза и амилаза су ензими карактеристични за дијабетес типа 2. Ацетилхолинестераза и бутирилхолинестераза су ензими чија је експресија измењена код неких неуродегенеративних промена карактеристичних за Алцхајмерову болест. Уз горе поменуте ензиме биће анализиран и ефекат на активност тирозиназе, ензима важног за терапију Паркинсонове болести. Додатно, потенцијални ефекат екстраката на активност тирозиназе може бити значајан и за терапију хиперпигментације, с обзиром на њену укљученост у производњу меланина у кожи.

Научни циљ истраживања

Главни циљ ове докторске дисертације је упоредна анализа биолошке активности одабраних биљних дрога и то цвета *Allium scorodoprasum* L., листа *Ficus carica* L. и хербе *Verbena officinalis* L., наведених у рецептурама за лечење обољења коже и рожних ткива у Хиландарском медицинском кодексу. Како би биљне дроге биле свеобухватно истражене, оне ће бити екстраховане растварачима различите поларности. Како би основни циљ био реализован, постављени су следећи специфични циљеви:

1. Изолација и идентификација патогена коже и рожних творевина;
2. Статистичка анализа учесталости дерматомицета;
3. Припрема и хемијска карактеризација биљних екстраката;
4. Испитивање антимикробне активности екстраката према изолатима са коже и рожних творевина, кроз детерминацију минималних инхибиторних и бактерицидних/фунгицидних концентрација на свим изолатима, као и антибиофилм потенцијала на одабраним микроорганизмима (*S. lugdunensis* и *C. albicans*);
5. Испитивање антиоксидантне активности екстраката;
6. Испитивање антидијабетичне активности екстраката кроз праћење инхибиције активности ензима α -глукозидазе и α -амилазе;
7. Испитивање антинеуродегенеративне активности екстраката кроз праћење инхибиције активности ензима ацетилхолинестеразе, бутирилхолинестеразе и тирозиназе;
8. Испитивање цитотоксичности екстраката;
9. Испитивање ефекта екстраката на зарастање рана.

Материјал и методе који се користе

Полазни материјал за тестирање антимикробне активности екстраката биће клинички изолати патогена коже и рожних творевина сакупљени на Институту за микробиологију и имунологију Војно медицинске академије у Београду, који ће обухватити дерматомицете (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Microsporum fulvum*), кваснице (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida kefyr*) и бактерије (*Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris*). Такође, с обзиром на велики значај и недостатак података, радиће се и статистичка анализа учесталости појављивања појединих дерматомицета током одређеног временског периода. Подаци ће бити прибављени увидом у медицинску документацију пацијената са променама на кожи и рожним творевинама који су у петогодишњем периоду (2017-2021) посећивали Војно медицинску академију у Београду, уз обезбеђивање одговарајуће етичке дозволе. За статистичку обраду података користиће се Mann–Whitney тест и Kruskal–Wallis тест.

Основа истраживања биће екстракти одређених дрога изабраних биљних врста које ће се уситнити, а затим ресуспендовати у различитим односима најчешће коришћених растварача (вода, етанол и бутанол), у циљу припреме екстраката. Након припреме, екстракти ће бити хемијски анализирани течном хроматографијом високих перформанси (HPLC).

Различити аспекти биолошког потенцијала екстраката биће одређени применом адекватне методологије:

- За тестирање антимикуробне активности ће бити коришћени горе набројани клинички изолати дерматомицета, квасница и бактерија. Антимикуробна активност ће се тестирати стандардизованом микродилуционом методом, уз одређивање минималних инхибиторних (МИК) и минималних бактерицидних/фунгицидних (МБК/МФК) концентрација.
- Антибиофилм потенцијал ће се тестирати на одабраним моделима бактеријског и фунгалног биофилма, применом кристал-виолет теста. Тест се заснива на мерењу апсорбанце у колориметријској реакцији, а његовом применом ће бити анализиран ефекат на формирање, као и на пре-формирани биофилм. За анализу ефекта на бактеријски биофилм биће одабран *S. lugdunensis*, а за истраживање потенцијала инхибиције и дисперзије фунгалног биофилма *Candida albicans*.
- Антидијабетична активност свих екстраката биће одређена праћењем потенцијала инхибиције ензимске активности α -глукозидазе и α -амилазе. Ензимска активност биће мерена у одговарајућој колориметријској реакцији, коришћењем одговарајућих супстрата за наведене ензиме, боје и стоп реагенаса. Техника молекуларног моделовања биће примењена на одговарајућим једињењима из одабраних екстраката (дивљи лук). У те сврхе користиће се кристалне структуре циљних ензима добијене X-зрацима из банке података о протеинима (PDB) (<https://www.rcsb.org/>): хумана панкреасна α -амилаза (PDB ID: 1B2Y), и *Mus musculus* α -глукозидаза (PDB ID: 7KBJ). Докинг фајлови ће бити генерисани на основу величине активног места сваког ензима и координата везивања (x, y, z) кокрystalног лиганда у сваком кристалном комплексу, користећи AutoDockTools 1.5.6.
- Инхибиција активности ензима ацетилхолинестераза и бутирилхолинестеразе, карактеристичним за Алцхајмерову болест, као и тирозиназе карактеристичне за Паркинсонову болест и појаву хиперпигментације коже, биће праћена у циљу процене антинеуродегенеративне активности и потенцијала примене на кожним хиперпигментацијама. Слично као и за горе поменуте ензиме, активност ће бити идентификована у одговарајућим колориметријским реакцијама, а за одбарне екстракте (дивљи лук) и техником молекуларног моделовања као што је горе објашњено, коришћењем кристалне структуре циљних ензима добијене X-зрацима: ацетилхолинестераза човека (PDB ID: 6O52), бутирилхолинестераза човека и *Priestia megaterium* тирозиназа (PDB ID: 6QXD).

- Антиоксидантна активност биће одређена применом методе са фосфомолибдатом, DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилхидразил) теста, ABTS (2,2'-азинобис(3-етилбензотиазолин-6-сулфонска киселина) теста, теста способности редукције јона бакра (CUPRAC), теста способности редукције јона гвожђа (FRAP) и теста метал-хелирајуће активности. Сви тестови се заснивају на праћењу колориметријских реакција. Укупни антиоксидантни капацитет ће бити изражен као милимоли еквивалената тролокса по граму екстракта (mmol TE/g екстракта), осим за метал хелирајућу активност која ће бити изражена као милиграми еквивалената EDTA (етилендиаминтетрацетатне киселине) по граму екстракта (mg EDTAE/g екстракта).
- За евалуацију цитотоксичности и потенцијала екстракта да потпомогну зарастање рана биће одабрана ћелијска линија хуманих имортализованих кератиноцита коже HaCaT. На њима ће екстракти бити тестирани на цитотоксичност применом кристал-виолет теста, а резултати ће бити изражени у виду IC50 вредности. Ефекат одабраних екстракта на зарастање рана биће тестиран у *in vitro* условима, тестом на одабраној ћелијској линији који имитира процес зарастања рана. Резултати ће бити представљени као проценат затварања ране током излагања испитиваним екстрактима.

Очекивани резултати и научни допринос

С обзиром да је главна полазна хипотеза ове докторске дисертације постојање биолошке активности одабраних биљних дрога (цветова *A. scorodoprasum*, листова *F. carica* и хербе *V. officinalis*) очекује се њена потврда која би оправдала њихову употребу у приправцима Хиландарског медицинског кодекса. С обзиром да су у питању готово заборављени рецепти традиционалне медицине, научна потврда полазне хипотезе омогућила би потенцијално поновно искоришћење поменутих биљних дрога у савременим формулацијама дијететских суплемената/помоћних лековитих средстава. Ако говоримо о конкретним резултатима који се очекују, они се могу побројати на следећи начин:

1. Биће изоловани и идентификовани патогени са коже инфицираних пацијената и одређена учесталост дерматомицета током анализираног периода (2017-2021) на одабраном узорку пацијената.
2. Екстракти (водени, етанолни и бутанолни) тестираних биљних дрога ће бити хемијски окарактерисани. Очекује се присуство полифенолних једињења, махом фенолних киселина и флавоноида у наведеним екстрактима.
3. Антимикробни потенцијал свих екстракта биљних дрога ће бити окарактерисан кроз детерминацију МИК и МБК/МФК вредности за све тестиране клиничке изолате (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida kefyr*, *Microsporum fulvum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton violaceum*). Очекујемо да ће екстракти показати значајан

антимикробни потенцијал, барем према појединим тестираним клиничким изолатима.

4. Антибиофилм потенцијал ће бити одређен за одабране екстракте, који буду показали најбољи МИК код све три биљне врсте, и то кроз евалуацију инхибиторног ефекта на формирање и преформирани биофилм на одабраним модел микроорганизмима (*S. lugdunensis* и *C. albicans*). Очекује се ефекат како на формирање, тако и на већ формирани биофилм, што је од посебног значаја зато што биофилм представља један од веома озбиљних проблема како у здравственом систему, тако и у прехрамбеној индустрији и технологији хране.
5. Антиоксидантни потенцијал свих екстраката биће дефинисан применом већег броја тестова за одређивање антиоксидативности.
6. Инхибиторни потенцијал екстраката у ензимским реакцијама α -глукозидазе, α -амилазе, ацетилхолинестеразе, бутирилхолинестеразе и тирозиназе омогућиће процену потенцијала примене тестираних екстраката у превенцији и терапији дијабетеса, терапији неуродегенеративних обољења (Алцхајмеровог и Паркинсоновог) и третману хиперпигментисаних региона коже. Очекује се да ће барем неки од тестираних екстраката показати снажан инхибиторни ефекат на поједине наведене ензиме.
7. Када говоримо о испитивању цитотоксичне активности екстраката и ефекту на зарастање рана, очекује се да ће међу тестираним екстрактима бити и оних који су безбедни за употребу и показују позитиван ефекат на зарастање рана.

Научни допринос ове докторске дисертације се огледа у прибављању нових научних информација које се односе на биолошку активност и хемијску карактеризацију биљних дрога *Allium scorodoprasum* L., *Ficus carica* L. и *Verbena officinalis* L. одабраних из припремака Хиландарског медицинског кодекса. Дисертација ће по први пут укључити компаративну анализу њиховог хемијског профила и селектованих биолошких ефеката (антимикробни, антибиофилм, антиоксидантни, антиензиматски, цитотоксични и ефекат на зарастање рана). Када је реч о екстрактима цветова *A. scorodoprasum*, до сада нема доступних литературних података који се односе на њихову хемијску карактеризацију и било коју биолошку активност. С друге стране, иако су екстракти листова смокве и хербе вербене парцијално истраживани, важно је напоменути да ће анализа неких планираних биолошких ефеката бити изведена по први пут, а свакако ће компаративна анализа биолошких активности дрога поменутих биљака сакупљених на нашем подручју имати пионирски карактер. Уз то, чињеница да ће дисертација по први пут у Србији обезбедити податке о учесталости дерматомицета на адекватном узорку из хумане популације, такође доприноси њеном научном значају.

Најважнији литературни подаци који подржавају тему (до 10 референци)

1. Cardona A.F., Wilson S.E. (2015) Skin and Soft-Tissue Infections: A Critical Review and the Role of Telavancin in Their Treatment, *Clinical Infectious Diseases*, 61, S69–

S78.

2. Fisher M.C., Alastruey-Izquierdo A., Berman J., Bicanic T., Bignell E.M., Bowyer P., Bromley M., Brüggemann R., Garber G., Cornely O.A., Gurr S.J., Harrison T.S., Kuijper E., Rhodes J., Sheppard D.C., Warris A., White P.L., Xu J., Zwaan B., Verweij P.E. (2022) Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health, *Nature Reviews Microbiology*, 20, 557-571.
3. Schulz V, Hänsel R, Blumenthal M, Tyler V.E. (2004) *Rational phytotherapy: A reference guide for physicians and pharmacists*. 5th Edition. Springer, Germany.
4. Катић (Ред.) Хиландарски медицински кодекс, 97–157, 293–357 (превод и издање текста М. Миливојевић).
5. Moreira D.D.L., Teixeira S.S., Monteiro M.H.D., De-Oliveira A.C.A., Paumgarten F.J. (2014) Traditional use and safety of herbal medicines. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24, 248-257.
6. Yan J.K., Zhu J., Liu Y., Chen X., Wang W., Zhang H., Li L. (2023) Recent advances in research on *Allium* plants: functional ingredients, physiological activities, and applications in agricultural and food sciences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(26), 8107–8135.
7. Hajam T.A., Saleem H. (2022) Phytochemistry, biological activities, industrial and traditional uses of fig (*Ficus carica*): A review. *Chemico - Biological Interactions*, 368, 110237.
8. Kubica P., Szopa A., Dominiak J., Luczkiewicz M., Ekiert H. (2020) *Verbena officinalis* (common vervain) – a review on the investigations of this medicinally important plant species. *Planta medica*, 86, 1241-1257.
9. Golden S.H., Robinson K.A., Saldanha I., Anton B., Ladenson P.W. (2009) Prevalence and incidence of endocrine and metabolic disorders in the United States: a comprehensive review. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94, 1853-1878.
10. Trompetero A., Gordillo A., Del Pilar M.C., Cristina V.M., Bustos Cruz R.H. (2018) Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: A Review of Current Treatment Adopting a Nanotechnology Approach. *Current Pharmaceutical Design*, 24, 22-45.

Г. Закључак и предлог:

На основу увида у документацију за пријаву теме докторске дисертације **Николете Б. Ђорђевић**, као и анализе цитиране литературе која је подржава, Комисија сматра да су предложена истраживања научно заснована, циљеви јасно дефинисани, а експериментални приступ и методологија адекватни. Имајући увид у досадашњи рад кандидата, Комисија је мишљења да се ради о перспективном младом истраживачу који ће истраживањем у оквирима ове докторске дисертације дати одговоре на питања о хемијском профилу и постојању биолошке активности екстракта одабраних биљних дрога *Allium scorodoprasum* L., *Ficus carica* L. и *Verbena officinalis* L.

Комисија за оцену испуњености услова и научне заснованости предложене теме докторске дисертације **Николете Б. Ђорђевић** сматра да кандидат испуњава све услове да приступи изради докторске дисертације под насловом: „**Биолошка активност и хемијска карактеризација одабраних екстракта биљака *Allium scorodoprasum* L., *Ficus carica* L. и *Verbena officinalis* L.**“.

За менторе се предлажу др **Дејан Стојковић**, виши научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од Националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, и др **Биљана Николић**, редовни професор Универзитета у Београду – Биолошког факултета.

Београд, 29. 05. 2024.

Комисија:

др Биљана Николић, редовни професор,
Универзитет у Београду – Биолошки факултет

др Дејан Стојковић, виши научни сарадник
Институт за биолошка истраживања „Синиша
Станковић“, Институт од Националног значаја
за Републику Србију, Универзитет у Београду

др Урош Гашић, научни саветник,
Институт за биолошка истраживања „Синиша
Станковић“ Институт од националног значаја
за Републику Србију, Универзитет у Београду



ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА

ЕТИЧКИ ОДБОР

23 APR 2021

Одлука Етичког одбора
Бр.4/2021

Чланови Етичког одбора ВМА, на својој седници од 15.04.2021. године, размотрили су захтев шефа Катедре за превентивно-медицинске науке МФ ВМА, пк проф. др Срђана Лазића за оцену етичности поступака и процедура у идејном пројекту докторске тезе под називом: „Савремено испитивање антимикуробне ефикасности одабраних препарата на бази традиционалних лекова против кожних инфекција“. Кандидат је ВС Николета Ђорђевић, биолог-специјалиста из Института за микробиологију СПМ ВМА, а похађа наставу на докторским академским студијама на Биолошком факултету у Београду. Ментор за израду докторске тезе је проф. др Елизабета Ристановић из Института за микробиологију СПМ ВМА.

После детаљног упознавања са предметом, описом и значајем истраживања, циљевима, методологијом рада, очекиваним резултатима и др., закључено је да су испоштовани сви стручни и етички критеријуми, као и да планирана истраживања не одступају од принципа наведених у Хелсиншкој декларацији и њеним накнадним ревизијама. С тим у вези ВС Николета Ђорђевић, биолог-специјалиста и њен ментор проф. др Елизабета Ристановић дужне су да спроведу све планиране активности и да припреме и уредно воде сва документа (протокол истраживања, писану информацију за испитанике, образац писаног пристанка испитаника, тест листу итд.), предвиђена опште прихваћеним стручним и етичким нормативима.

Етички одбор ће спроводити континуирани надзор поштовања протокола, методологије рада и етичности у вези реализације докторске тезе и има право да трајно или привремено стави ван снаге своју претходно издату сагласност.

Под наведеним условима ДАЈЕ СЕ САГЛАСНОСТ за извођење планираних истраживања у ВМА,

Чланови Етичког одбора ВМА који су гласали: пп проф. др Бобан Ђорђевић, пк проф. др Милан Петронијевић, проф. др Драгана Стаматовић, пк проф. др Ненад Перишић, пк проф. др Срђан Лазић, проф. др Душан Вучетић и в. н. сарадник др Бојана Цикота Алексић, биолог – генетичар.

Етички одбор ВМА је организован и функционише у складу са смерницама *ICH GCP* и важећом законском регулативом.

Прилог: списак чланова Етичког одбора ВМА

нч



ПРЕДСЕДНИК
ЕТИЧКОГ ОДБОРА ВМА

пп проф. др Бобан Ђорђевић

Умножено у 4 примерка и достављено:

- ВС Николета Ђорђевић, Институт за микробиологију СПМ ВМА: два примерка
- проф. др Елизабета Ристановић, Институт за микробиологију СПМ ВМА: један примерак
- Етичком одбору: два примерка