

## МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**  
**Бранислава Теофиловић, магистар фармације**

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију 26.10.2016. Наставно-научно веће Медицинског факултета у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>1. <b>др Александар Рашковић</b>, ванредни професор, Катедра за фармакологију, токсикологију и клиничку фармакологију, 08.05.2012., Универзитет у Новом Саду, Медицински факултет Нови Сад;</p> <p>2. <b>др Момир Миков</b>, редовни професор, Катедра за фармакологију, токсикологију и клиничку фармакологију, 05.07.1999., Универзитет у Новом Саду, Медицински факултет;</p> <p>3. <b>др Слободан Гацурић</b>, ванредни професор, Катедра за аналитичку хемију 09.11.2012., Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет.</p>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Бранислава, Душан, Теофиловић</b></p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 10.02.1988, Нови Сад, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, Фармација, магистар фармације</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2012, Докторске академске студије клиничке медицине</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:-</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:-</p>
<p><b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>  <b>Биохемијска и хемијска карактеризација екстракта босиљка и утицај</b></p>

**фармацеутско-технолошке формулације на гликемијски, липидни и оксидо-редукциони статус код огледних животиња**

**IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.

Докторка дисертација маг. фарм Браниславе Теофиловић садржи 7 поглавља: Увод (стр. 1-3); Општи део (стр. 4-39); Циљеви и радне хипотезе (стр. 40); Материјал и методе (стр. 41-66); Резултати и дискусија (стр. 67-131); Закључак (стр. 132-133); Литература (стр. 134-146). Дисертација је написана на 146 страна, А4 формата, садржи 19 слика, 48 графикана, 30 табела и 165 литературна навода. На почетку је дата кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

**V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

**Увод** указује на снажно протективно и антиоксидантно дејство екстракта босиљка. Слободни радикали са кисеоником у центру могу настати услед бројних физиолошких и биохемијских процеса у људском организму. Познато је да нападају незасићене масне киселине мембранског система и изазивају липидну пероксидацију која представља једну од реакција која доводи до оксидативног стреса. Због ових разлога постоји растући интерес за проучавањем природних адитива као потенцијалних антиоксиданаса. Фенолне компоненте су препознате као компоненте са изузетно снажним биолошким деловањем које могу бити искоришћене у превенцији хроничних обољења. Ова јединијења превенирају оксидативни стрес и оксидацију LDL фракција липопротеина. Такође корисна фармакодинамска деловања екстракта босиљка обухватају и снижење нивоа глукозе у крви и хиполипидемијско деловање, што се према тумачењу аутора јавља првенствено као последица израженог антиоксидантног деловања активних супстанци ове биљке, фенола и флавоноида. Генерално посматрано може се констатовати да је у Уводу јасно и концизно дефинисан циљ истраживања који не одступа од формулација датих у пријави докторске дисертације.

Поглавље **Општи део** приказује релевантна научна сазнања у испитиваној области и састоји се из десет целина. Прва и друга целина описују значај лековитог, одосно ароматичног биља и указују на њихови широку примену. Историјска значајност, примена кроз векове, изглед саме биљке, узгајање и начин третирања босиљка описани су у трећој целини. Четврта целина описује најзначајније активности екстракта босиљка. Истакнуто је да показује изразиту антиоксидантну активност као резултат постојања значајних количина фенолних и флавоноидних једињења. Такође, босиљак утиче на гликемију и метаболизам липида у експерименталним моделима дијабетеса. Њихов утицај на метаболизам глукозе првенствено обухвата повећање њене искористљивости у периферним ткивима и спречавање интрахепатичне глукогеногенезе. Пети део показује богат садржај фенолних једињења, највише

фенолних киселина и флавоноида који су одговорни за већину протективних активности самог босиљка. Испитивања фармакодинамских ефеката синтетских деривата жучних киселина, описана је у шестом делу. Делујући на ензиме укључене у метаболизам угљених хидрата и липида, жучне киселине представљају нове, потенцијално корисне антидијабетесне супстанце. Највише података о корисним ефектима жучних киселина на метаболизам глукозе се односи на натријумову со монокетохолне киселине, чије је антидијабетесно деловање потврђено како на здравим, нормогликемичним, тако и на пацовима са алоксаном изазваном хипергликемијом. Седмо и осмо поглавље указује на то да нови системи носача лекова, као и њихове формулације, омогућавају транспорт лека тачно на место деловања, те имају значајне ефекте на њихову ефикасност. Девета и десета целина се тичу екстракције и начина припреме узорака како би се могли применити на најбољи могући начин.

Основни задатак истраживања у оквиру докторске дисертације проистекао на основу прегледа релевантне литературе, изложен је у поглављу **Циљеви и радне хипотезе**. Имајући у виду могућност различите примене екстракта, као и њихову широку примену циљеви су се односили на испитивање квалитативних и квантитативних карактеристика, као и биохемијских активности екстракта босиљка добијених различитим растварачима и испитивање утицаја фармацеутско-технолошке формулације екстракта босиљка на гликемијски, липидни и оксидо-редукциони статус у односу на водени екстракт код огледних животиња. У складу са тим Комисија је мишљења да су циљеви истраживања и хипотезе јасно и прецизно формулисани.

У поглављу **Материјал и методе** дат је план рада и детаљан опис материјала и метода испитивања примењених у експерименталном раду. *In vitro* испитивања су укључивала анализу 100 екстракта добијених различитим растварачима и степеном уситњености. Укупни фенолни и флавоноидни садржај, као и антиоксидативна активност одређена је спектрофотометријском методом. Такође, квантификоване и квалификоване су фенолне компоненте (фенолне киселине и флавоноиди) применом високоефикасне течне хроматографије. *In vivo* испитивање је рађено на 84 албино лабораторијска пацова соја Wistar. *Per os* су примењивани водени екстракт босиљка, раствор натријумове соли монокетохолне киселине, њихове комбинације, као и екстракт у облику микровезикула. После седмодневног третмана, мерене су концентрације глукозе у крви, а након жртвовања у серуму су одређени параметри липидног статуса и антиоксидативног стреса. *Ex vivo* анализе процењивале су ефекат екстракта босиљка на ензимске и неензимске параметре антиоксидативног одбрамбеног система и оксидативне модификације липида. Праћен је и утицај третмана на акутно оштећење јетре услед примене парацетамола. Све изведене експерименталне процедуре су спроведене у складу са етичким принципима рада са лабораторијским животињама и у складу са Законом о добробити животиња и регулативама

Европске Уније (86/609ЕС). Све експерименталне процедуре су одобрене од стране Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Универзитета у Новом Саду, број одобрења 01-90/4-4, од 06.04.2015. Статистичка обрада добијених резултата испитивања је рађена статистичким програмом IBM SPSS Statistics, верзија 21 и применом хеометријских анализа. Изабране методе су адекватне, одговарају постављеним циљевима и омогућавају добијање актуелних научних резултата.

Поглавље **Резултати и дискусија** приказани су на веома прегледан и методолошки разумљив начин. Сви анализирани екстракти босиљка показали су присуство великог броја фенолних једињења из класе фенолних киселина и флавоноида. Детектоване и квантификоване активне компоненте биле су фенолне киселине: хлорогенска, пара-хидроксибензојева, кафена, ванилинска, ферулна, розмаринска и циметна, као и апигенин, кверцетин, нарингенин и рутин као представници флавоноидних једињења. Примена екстракта босиљка и натријумове соли монокетохолне киселине, саме или у комбинацији, а такође и у фармацеутској формулацији показале су смањење оштећења током оксидативног стреса, значајно антидијабетесно деловање, повољан утицај на липидни статус и протективни ефекат на функције јетре и бубрега

У поглављу **Закључак**, на основу добијених резултата и дискусије закључци су јасно и концизно изведени, те се могу сматрати поузданим и научно заснованим и одговарају постављеном циљу дисертације.

Поглавље **Литература**, садржи списак 165 референци цитираних на уобичајен и правилан начин. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је предмет ове дисертације.

## **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01.јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

*Рад објављен у међународном часопису – M23*

Grujić-Letić Nevena, **Rakić Branislava**, Šefer Emilia, Dušica Rakić, Nedeljković Ivan, Kladar Nebojša, Božin Biljana. Determination of 5-caffeoylquinic (5-CQA) as

one of the major classes of chlorogenic acid in commercial tea and coffee samples. *Vojnosant Pregl* 2015;72(11):1018-123.

*Саопштење са међународног скупа штампано у целини - M33*

**Branislava Rakić**, Nevena Grujić-Letić, Svetlana Goločorbin-Kon, Zorica Mrkonjić, Jovana Drljača, Aleksandar Rašković. Chemical characterization and determination of antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) extracts using different types of *in vitro* tests. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 2016;62:481-482.

Nevena Grujić-Letić, **Branislava Rakić**, Emilia Šefer, Maja Milanović, Nataša Milić. High-performance liquid chromatography method for determination of caffeine from different matrices. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 2016;62:139-140.

*Саопштење са међународног скупа штампано у изводу - M34*

**Branislava Rakić**, Nevena Grujić-Letić Svetlana Goločorbin-Kon, Slobodan Gadžurić, Gyongyi Vastag. Sweet basi as functional food. III International Congress "Food Technology, Quality and Safety". 25-27<sup>th</sup> October 2016. Novi Sad, Serbia. Abstract book p:88.

**Branislava Rakić**, Nevena Grujić-Letić Svetlana Goločorbin-Kon, Aleksandra Rašković, Zorica Mrkonjić, Srđan Stojanović. Chemical composition and free radical scavenging activity of non-polar basil extracts. The International Bioscience Conference, 19-21<sup>st</sup> September 2016. Novi sad, Serbia. Book of abstract: p174.

**Branislava Rakić**, Nevena Grujić-Letić Svetlana Goločorbin-Kon, Aleksandra Rašković, Zorica Mrkonjić. Chemometric approach of antioxidant profile of sweet basil. The International Bioscience Conference, 19-21<sup>st</sup> September 2016. Novi sad, Serbia. Book of abstract: p173.

**Rakić Branislava**, Goločorbin-Kon Svetlana, Grujić Nevena, Rašković Aleksandar, Stilinović Nebojša, Mikov Momir. Effects of a water extract of *Ocimum basilicum* on glycemia in normoglycemic and alloxan-induced diabetic rats. 21<sup>st</sup> Scientific Symposium of the Austrian Pharmacological Society. 16<sup>th</sup>-18<sup>th</sup> September 2015. Graz, Austria. Book of abstract: 2015;3(suppl.2):A1.22.

**Rakić Branislava**, Grujić-Letić Nevena. Extraction methods and operational conditions on antioxidant activity of basil extract (*Ocimum basilicum* L.). Interdisciplinary conference on Modeling in Life Sciences, 3<sup>rd</sup> November, 2014. Szeged, Hungary. Books of abstracts: 6-7.

**Rakić Branislava**, Grujić-Letić Nevena. Determination of antioxidant activity of sweet basil using different *in vitro* methods. Interdisciplinary conference on Modeling in Life Sciences, 3<sup>rd</sup> November, 2014. Szeged, Hungary. Books of abstracts: 10.

*Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу - M64*

**Branislava D. Rakić**, Nevena N. Grujić-Letić, Svetlana Goločorbin-Kon,

Aleksandar L. Rašković, Nebojša Stilinović, Momir M. Mikov. Antihiperглиkemijsko dejstvo vodenog ekstrakta bosiljka (*Ocimum basilicum*). VII nedelja bolničke i kliničke farmakologije. 28-29. novenbar 2015. Beograd, Srbija. **Rakić Branislava**, Grujić-Letić Nevena, Goločorbin-Kon Svetlana, Mikov Momir, Rašković Aleksandar. Uticaj metoda ekstrakcije i operativnih uslova na antioksidantnu aktivnost ekstrakta bosiljka (*Ocimum basilicum* L.). VI kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, 15-19 October, 2014. Beograd, Zbornik sažetaka: 328-329.

## **VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА**

Сви анализирани екстракти босилјка показали су присуство великог броја фенолних једињења из класе фенолних киселина и флавоноида. Током ове студије утврђено је да услови (време, поларност растварача) као и техника екстракције показују значајан утицај на укупни принос екстракције, антиоксидативну активност и садржај укупних фенола/флавоноида у екстрактима босилјка. Са порастом времена екстракције расте укупан принос екстракције, антиоксидативна активност и садржај укупних фенола/флавоноида. Примењени код животиња са алоксаном изазваним дијабетесом, водени екстракт босилјка и натријумова со монокетохолне киселине испољили су значајно антидијабетесно деловање. Водени екстракт босилјка довео је до значајног повећања концентрације HDL холестерола и снижења триглицерида у серуму дијабетичних животиња. Иако је натријумова со монокетохолне киселине изазвала значајно повећање HDL холестерола у серуму дијабетичних животиња, третман овом супстанцом је довео и до пораста концентрације укупног и LDL холестерола. Због тога су неопходна додатна испитивања и ендогених и синтетских деривата жучних киселина која би прецизно одговорила на питање њиховог ефекта липидни статус лабораторијских животиња. На основу резултата истраживања може се закључити да седмодневна третман воденим екстрактом босилјка штити експерименталне животиње од реактивних кисеоничних врста, односно умањује последице изложености оксидативном стресу. Такође, седмодневни третман воденим екстрактом босилјка показује хепатопротективно деловање, јер смањује активност ензима показатеља акутног оштећења јетре након примене парацетамола. Добијени резултати садржаја фенолних компоненти упућују на то да се босилјак може користити као богат извор поменутих активних састојака заслужних у великој мери за његово антиоксидантно деловање и да је оправдана његова употреба у фитопрепаратима, као допунској терапији конвенционалној.

**VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА** Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Кандидат Бранислава Теофиловић, маг. фарм., успешно је у потпуности

<p>обавила истраживања која су била предвиђена планом у пријави докторске дисертације. Добијени резултати истраживања проистекли су из оригинално постављених лабораторијских експеримената у циљу утврђивања антиоксидативне активности екстракта босиљка, као и његовог дејства на ниво гликемије и липидни статус. Добијени резултати истраживања су систематично и прегледно приказани, логичним редоследом. Дискусија је заснована на добром познавању истраживане научне области и метода одређивања. Интерпретирани резултати и тумачења су у складу са релевантним литературним наводима, повезани су у целину са теоријским поставкама рада, те се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује позитивно.</p>
<p><b>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>  Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:</p>
<p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме</p> <p>Дисертација је написана у потпуности у складу са предложеним испитивањима и образложењем наведеним у пријави теме.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе</p> <p>Дисертација садржи све битне елементе оригиналног научног рада неопходне за разумевање обрађене теме и добијених резултата.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци</p> <p>У оквиру докторске дисертације је урађена биохемијска и хемијска анализа различитих екстраката босиљка, као и њихово међусобно поређење у виду састава фенолних киселина, флавоноида и антиоксидативне активности. Фенолне киселине и флавоноиди присутни у екстракту босиљка су носиоци антиоксидантног дејства испитиване биљне врсте чиме је потврђена оправданост њене широке примене у прехранбеној, фармацеутској и козметичкој индустрији. На лабораторијским животињама су утврђена фармакодинамска својства воденог екстракта босиљка која обухватају хипогликемијско, антихипергликемијско и хиполипидемијско деловање, као и хепатопротективно и антиоксидантно деловање након излагања животиња оксидативном стресу који је изазван токсичним дозама парацетамола. Потврда оригиналности докторске дисертације је и публикавање резултата истраживања у научном раду у међународном часопису са СЦИ листе.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања</p> <p>Недостаци дисертације нису уочени.</p>

<b>X ПРЕДЛОГ:</b>
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
<b>Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Браниславе Теофиловић, магистра фармације, под називом <i>Биохемијска и хемијска карактеризација екстракта босиљка и утицај фармацеутско-технолошке формулације на гликемијски, липидни и оксидо-редукциони статус код огледних животиња</i> и предлаже да се ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ прихвати, а кандидату одобри одбрана рада.</b>

17.11.2016.

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ  
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

---

**др Александар Рашковић, ванредни професор**  
Медицински факултет  
Универзитет у Новом Саду  
Председник

---

**др Момир Миков, редовни професор**  
Медицински факултет  
Универзитет у Новом Саду  
Члан

---

**др Слободан Гацурић, ванредни професор**  
Природно-математички факултет  
Универзитет у Новом Саду  
члан