

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ -
БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА**

На IX редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 13.07.2021. године, на основу молбе ментора, др Славице Грујић, доценткиње Биолошког факултета Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Ивоне З. Величковић, истраживача сарадника Биолошког факултета Универзитета у Београду под насловом: „Фитохемијска анализа и биолошка активност екстракта *Prunus mahaleb* L., *P. spinosa* L., *Rubus discolor* Weihe & Nees и *R. serpens* Weihe ex Lej & Court (Rosaceae)“, у саставу: др Славица Грујић, доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет, др Жељко Жижак, виши научни сарадник, Институт за онкологију и радиологију Србије, др Наташа Симин, ванредни професор, Универзитет у Новом Саду – Природно-математички факултет, др Марија Иванов, научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију и др Соња Дулетић - Лаушевић, редовни професор, Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Ивоне З. Величковић, под насловом „Фитохемијска анализа и биолошка активност екстракта *Prunus mahaleb* L., *P. spinosa* L., *Rubus discolor* Weihe & Nees и *R. serpens* Weihe ex Lej & Court (Rosaceae)“ садржи 209 страна пагинираног и непагинираног текста написаног према Упутству о облику и садржају докторске дисертације. Пагинирани текст обухвата 194 стране рачунарски обрађеног текста који је заједно са 44 Табеле и 27 Слика уобличен у смислене целине на следећи начин: Увод (46 страна, 1 Табела, 16 Слика), Циљеви истраживања (2 стране), Материјал и методе (18 страна, 2 Табеле), Резултати и дискусија (85 страна, 41 Табела, 11 Слика), Закључци (3 стране), Литература (20 страна), Прилог 1 (1 страна), Прилог 2 (8 страна) и Прилог 3 (11 страна). У поглављу Литература су наведене 344 библиографске јединице распоређене по азбучном реду и правилно цитиране у тексту. Непагинирани текст (15 страна) обухвата насловну страну на српском и енглеском језику, списак ментора и чланова Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, Захвалницу, списак лабораторија и институција у којима је докторска дисертација урађена, сажетак на српском и енглеском језику, садржај докторске дисертације, биографију аутора, као и Изјаву о ауторству, Изјаву о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

Анализа докторске дисертације

У докторској дисертацији кандидаткиња Ивона Величковић је приказала резултате проучавања хемијског састава и биолошке активности екстраката листова и плодова *P. mahaleb*, *P. spinosa*, *R. discolor* и *R. serpens* добијене применом одговарајућих метода.

Прво поглавље **Увод** се састоји из 8 потпоглавља. У првом потпоглављу дат је историјски преглед употребе лековитих биљака. Следи потпоглавље у ком су приказане морфолошке карактеристике представника фамилије Rosaceae, њихова дистрибуција и таксономска класификација. У оквиру овог потпоглавља издвојене су 2 целине у којима су приказане морфолошке карактеристике, распрострањење и инфрагенеричка класификација родова *Prunus* и *Rubus*, која је изузетно сложена, при чему су укратко описани испитивани представници ових родова. У трећем потпоглављу описане су најзначајније лековите биљке фамилије Rosaceae. Следи четврто потпоглавље које је састављено из 6 целина у којима се описују најзаступљеније групе секундарних метаболита биљака фамилије Rosaceae. У наредним потпоглављима су представљени резултати претходних истраживања антиоксидантне, антимицробне, антитуморске и антидијабетичне активности различитих врста фамилије Rosaceae и истраживаних врста.

Испитивање хемијског састава и биолошких активности екстраката листова и плодова *P. mahaleb*, *P. spinosa*, *R. discolor* и *R. serpens* и утврђивање корелација између хемијског састава и биолошке активности испитиваних екстраката, ради потенцијалне примене добијених резултата у прехранбеној индустрији и фармацији, су постављени као научни циљ докторске дисертације и написани у поглављу **Циљеви истраживања**. Потом су дефинисани следећи задаци који су омогућили реализацију научних циљева докторске дисертације: екстракција листова и плодова растварачима различите поларности, квантитативна и квалитативна хемијска анализа екстраката, одређивање антиоксидантне, антимицробне, антитуморске и антидијабетичне активности.

Потом следи поглавље **Материјал и методе** које је организовано у више целина где су наведене и описане све примењене експерименталне методе коришћене у реализацији постављених циљева. У оквиру овог поглавља су најпре приказани подаци о прикупљеном биљном материјалу испитиваних врста. Наведени су патогени микроорганизми и подлоге за њихово гајење, а потом и ћелијске туморске линије. Следи навођење хемикалија коришћених у експерименталном раду. Потом је дат кратак опис коришћених метода: за припремање екстраката (ултразвучна екстракција), за анализу укупног садржаја секундарних метаболита (TPC, TFC, TAC, TMAC) и квалитативну анализу фенолних киселина и антоцијана (LC-MS/MS), потом за испитивање антиоксидантне (DPPH, ABTS, FRAP, TRC, β -каротен/линолна киселина тестови), антимицробне (миродилуциона метода), антитуморске (МТТ тест за одређивање цитотоксичности екстраката; технике флуоресцентне микроскопије и проточне цитометрије (annexin V-FITC/PI бојење за одређивање проапоптозног ефекта и анализу расподеле ћелија по фазама ћелијског циклуса) и антидијабетичне активности (спектрофотометријски тестови за одређивање инхибиције α -амилазе и α -глукозидазе). У последњем потпоглављу се објашњава на који начин су обрађени и интерпретирани експериментално добијени резултати, као и који тестови су коришћени приликом статистичке анализе.

У поглављу **Резултати и дискусија** наведени су и објашњени добијени резултати, а текстуално презентовани подаци су пропраћени адекватним и правилно нумерисаним табелама и сликама. Резултати интерпретирани у овом поглављу су затим продискутовани

и упоређени међусобно, а потом и са претходно публикованим резултатима других аутора за испитиване или њима сродне врсте.

У оквиру првог потпоглавља издвојене су две целине од којих је у првој приказан квантитативни, а у другој квалитативни састав испитиваних екстраката. Укупан садржај фенола и флавоноида је био статистички значајно већи у екстрактима листова свих испитиваних врста у односу на плодове при чему је водени екстракт листа *R. discolor* био најбогатији фенолима, док је ацетонски екстракт *P. mahaleb* био најбогатији флавоноидима. Укупан садржај антоцијана и њихових мономера је био већи у екстрактима листова врста рода *Prunus*, док је обрнути тренд уочен међу екстрактима врста рода *Rubus*. Фенолне киселине су биле заступљеније у екстрактима листова свих испитиваних биљних врста, осим врсте *P. mahaleb*. Антоцијани су семиквантификовани искључиво у екстрактима плодова врста рода *Rubus*.

Следи друго потпоглавље у ком су приказани резултати *in vitro* испитивања биолошких активности, а које је структурирано у четири целине. У првој целини су приказани резултати антиоксидантне активности који указују на бољи антиоксидантни потенцијал екстраката листова у односу на екстракте плодова свих испитиваних биљних врста, при чему су се као посебно добри антиоксиданти истакли екстракти листова *R. discolor* и *R. serpens*, а нарочито водени екстракт листа *R. serpens*. Резултати антибактеријске и антифунгалне активности указују на израженија антимикуробна својства екстраката врста рода *Rubus*. Резултати МТТ теста указују на значајан цитотоксични ефекат екстраката врста рода *Rubus*, при чему су се посебно истакли екстракти листова због чега су одабрани за даља испитивања антитуморске активности. Морфолошка анализа ћелијске смрти и Annexin V-FITC/PI методе бојења су указали да екстракти листова *R. discolor* и *R. serpens* испољавају проапоптотски ефекат на циљне малигне ћелије, као и да наведени екстракти повећавају удео subG1 и G1 ћелија у популацији HeLa ћелија. У последњој целини другог потпоглавља су интерпретирани резултати потенцијалне антидијабетичне активности екстраката посредством њихове способности да инхибирају хидролитичке ензиме угљених хидрата, α -амилазу и α -глукозидазу. Резултати приказани у наведеној целини указују на израженија антидијабетична својства екстраката испитиваних врста рода *Rubus*. Посебно добрим антидијабетичним ефектом су се истакли етанолни екстракти листова *R. discolor* и *R. serpens* који су знатно израженије инхибирали α -глукозидазу, него позитивна контрола (Glucobay).

У оквиру поглавља **Резултати и дискусија** приказани су и резултати проучавања корелација између хемијског састава и биолошких активности који су указали да хемијски профил испитиваних екстраката утиче на испољене биолошке активности, чему највероватније додатно доприноси синергизам међу фенолним компонентама.

У оквиру ове докторске дисертације по први пут су испитани хемијски састав фенолних киселина и антоцијана екстраката листова *P. mahaleb* и њихова антидијабетична својства, затим антимикуробна, антитуморска и антидијабетична својства екстраката листова *P. spinosa*, као и антитуморски и антидијабетички ефекти екстраката *R. discolor*. Такође, опсежним прегледом доступних литературних података је установљено да хемијски састав и биолошке активности биљне врсте *R. serpens* претходно нису проучавани. Због свега наведеног резултати приказани у оквиру овог поглавља и њихово тумачење представљају изузетан научни допринос ове докторске дисертације посебно ако се има у виду њихов апликативни потенцијал.

У поглављу **Закључци** кандидаткиња на основу презентованих резултата и литературних података изводи јасне и прецизне закључке о хемијском саставу екстраката листова и плодова испитиваних врста добијених помоћу екстрагенаса различите поларности, затим о њиховој антиоксидантној, антимикробној (антибактеријској и антифунгалној), антитуморској и антидијабетичној активности. Такође износе се закључци о утицају хемијског састава на испољену биолошку активност.

У поглављу **Литература**, азбучним редом су наведене 344 библиографске јединице, које су коришћене на одговарајућим местима у тексту и јасно назначене приликом писања текста докторске дисертације. Наведена литература се односи на област истраживања од значаја за докторску дисертацију, довољно је широка да покрива све аспекте истраживања, и доприноси објашњењу добијених резултата.

Последња три поглавља су Прилози у којима су приказани LC-MS/MS оптимизовани параметри специфични за анализирана референтна једињења (**Прилог 1**), затим DAD хроматограми и ESI(+) MS^1 и UV спектри идентификованих фенолних једињења (**Прилог 2**) и спискови коришћених скраћеница, затим спискови табела и слика наведених у складу са нумерацијом (**Прилог 3**).

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Кандидаткиња Ивона Величковић је до сада из докторске дисертације публиковала 4 рада, од којих су три објављена у међународним и истакнутим часописима, а 1 у водећем часопису националног значаја, као и 3 саопштења на скуповима међународног значаја.

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Veličković I**, Žižak Ž, Rajčević N, Ivanov M, Soković M, Marin P, Grujić S (2020). Examination of the polyphenol content and bioactivities of *Prunus spinosa* L. fruit extracts. Archives of Biological Sciences, 72(1): 105-115, doi:10.2298/ABS191217004V (**M23**)
<http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0354-4664/2020/0354-46642000004V.pdf>
2. **Veličković I**, Žižak Ž, Rajčević N, Ivanov M, Soković M, Marin PD, Grujić S (2021). *Prunus spinosa* L. leaf extracts: polyphenol profile and bioactivities. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 49(1): 12137, doi:10.15835/nbha49112137 (**M22**)
<https://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/12137/9133>
3. **Veličković I**, Živković J, Stojković D, Soković M, Marin PD, Grujić S (2021). Evaluation of antioxidant, antimicrobial and potential food preserving properties of *Rubus discolor* (Rosaceae) fruit extracts. Natural Product Communications, 16(4): 1-9, doi: 10.1177/1934578X211009692 (**M23**)
<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X211009692>
4. **Veličković I**, Grujić S, Marin PD (2016). Antioxidant properties of *Rubus discolor* leaf extracts. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 131: 189-196, doi:10.2298/ZMSPN1631189V (**M51**)

<http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?id=0352-49061631189V#.YOb4V5gzbIU>

B2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Veličković I**, Grujić S, Džamić A, Marin PD (2015). *Rubus discolor* Weihe & Nees – antioxidant activity, total phenol and flavonoid contents. Joint meeting of 2nd International conference on Plant Biology, 21st Symposium of the Serbian Plant Physiology Society and COST ACTION FA1106 QUALITYFRUIT Workshop, June 17-20, Petnica, Serbia, Book of Abstracts, 90, (M34)

https://scholar.google.com/scholar?cluster=15632510530937114029&hl=sr&as_sdt=0,5

2. **Veličković I**, Soković M, Stojković D, Marin P D, Grujić S (2018). Antimicrobial properties of *Rubus discolor* extracts and their potential use in food preservation. UNIFood Conference, October 5-6, Belgrade, Serbia, Book of abstracts, Posterska prezentacija u okviru sekcija / Poster presentation within sections ODRŽIVOST HRANE / FOOD CHAIN SUSTAINABILITY OHP46/FCHP46. ISBN 978-86-7522-060-2 (M34)

https://www.researchgate.net/profile/Bojana-Vidovic-2/publication/334307859_Application_of_scientific_research_in_the_development_of_the_functional_foods_concept/links/5d23af41458515c11c1f393b/Application-of-scientific-research-in-the-development-of-the-functional-foods-concept.pdf

3. **Veličković I**, Grujić S, Žižak Ž, Marin PD (2019). Total phenol and flavonoid content, antioxidant and antitumor activity of *Rubus serpens* extracts. 13th Symposium on the Flora Southeastern Serbia and Neighboring Regions, June 20-23, Stara Planina Mt., Serbia, Book of Abstracts 174 (M34)

<http://www.sfses.com/docs/Book-of-Abstracts.pdf>

Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације ”Фитохемијска анализа и биолошка активност екстракта *Prunus mahaleb* L., *P. spinosa* L., *Rubus discolor* Weihe & Nees и *R. serpens* Weihe ex Lej & Court (Rosaceae)“, кандидаткиње Ивоне Величковић, утврђено је подударање текста од 18% што је највећим делом последица подударности библиографских података из литературе, затим употребе стручних назива биљака, микроорганизама и уобичајених израза, а незнатним делом и препознавања делова реченица који евидентно нису преузети из других извора, као и навођења података о члановима комисије и институцијама у којима је докторска дисертација урађена.

Мишљење и предлог Комисије

На основу изложене анализе Комисија сматра да је докторска дисертација кандидаткиње Ивоне Величковић под насловом „Фитохемијска анализа и биолошка активност екстраката *Prunus mahaleb* L., *P. spinosa* L., *Rubus discolor* Weihe & Nees и *R. serpens* Weihe ex Lej & Court (Rosaceae)“ савремена и оригинална научно-истраживачка студија из области фитохемије и биолошке активности до сада недовољно испитаних или потпуно неиспитаних врста родова *Prunus* (*P. mahaleb* и *P. spinosa*) и *Rubus* (*R. discolor* и *R. serpens*).

Текст докторске дисертације је одговарајућег обима и садржине, а резултати су оригинални, адекватно интерпретирани, тумачени и критички дискутовани са доступним литературним подацима на основу чега се стиче утисак да је кандидаткиња оспособљена за даљи самостални истраживачки рад у овој научној области.

Имајући у виду да су у оквиру ове дисертације по први пут проучавани хемијски састав и биолошка активност појединих делова биљке, као и да су по први пут овом врстом истраживања обухваћени екстракти врсте *R. serpens*, као и да добијени резултати указују на изузетан потенцијал испитиваних биљних врста, очигледан је њен изузетна научни допринос у области фитохемије и биолошке активности истраживаних биљака.

На основу свега изложеног, комисија позитивно оцењује докторску дисертацију „Фитохемијска анализа и биолошка активност екстраката *Prunus mahaleb* L., *P. spinosa* L., *Rubus discolor* Weihe & Nees и *R. serpens* Weihe ex Lej & Court (Rosaceae)“ кандидаткиње Ивоне Величковић и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

КОМИСИЈА:

У Београду, 15.07.2021. године

др Славица Грујић, доцент
Универзитет у Београду – Биолошки факултет

др Жељко Жижак, виши научни сарадник
Институт за онкологију и радиологију Србије

др Наташа Симин, ванредни професор
Универзитет у Новом Саду – Природно-математички факултет

др Марија Иванов, научни сарадник
Универзитет у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“,
Институт од националног значаја за Републику Србију

др Соња Дулетић - Лаушевић, редовни професор
Универзитет у Београду – Биолошки факултет