

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

кандидата Марине Францишковић

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију Наставно-научно веће Природно-математичког факултета у Новом Саду на својој 35. седници одржаној 28.04.2015. године именовало је комисију за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Марине Францишковић под насловом „Фитохемијска карактеризација и биолошка активност одабраних врста трибуса <i>Urticeae</i> и <i>Parietarieae</i> (<i>Urticaceae</i> Juss.)”</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 Горан Аначков</b>, ванредни професор, ужа научна област ботаника, изабран у звање 01.12.2014. године, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, председник</p> <p>2. <b>др Неда Мимица-Дукић</b>, редовни професор, ужа научна област биохемија, изабрана у звање 01.08.2003. године, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, ментор</p> <p>3. <b>др Биљана Божин</b>, ванредни професор, ужа научна област фармакогнозија са фитотерапијом, изабрана у звање 08.10.2014. године, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, члан</p> <p>4. <b>др Дејан Орчић</b>, доцент, ужа научна област Биохемија, изабран 14.02.2011. године, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, члан</p>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Марина, Мирко, Францишковић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 24.09.1985. године, Врбас, Република Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив: Природно-математички факултет Универзитета у Новом Саду, смер: дипломирани хемичар – биохемија, стечени стручни назив: Дипломирани хемичар – биохемија.</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: Година уписа – 2008. година, студијски програм - докторске студије биохемије.</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>
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
<b>Фитохемијска карактеризација и биолошка активност одабраних врста трибуса <i>Urticeae</i> и <i>Parietarieae</i> (<i>Urticaceae</i> Juss.)</b>

#### IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација Марине Францишковић је написана на 480 страна од којих је 320 у штампаној верзији а 160 у Додатном материјалу приложеном на ЦД-у, садржи: 257 слика (161 у Додатном материјалу на ЦД-у), 80 табела и 452 литературна навода. Текст је подељен у девет поглавља: УВОД (2 стране), ОПШТИ ДЕО (54 стране), ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО (26 страна), РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА (78 страна), ЗАКЉУЧАК (4 стране), SUMMARY (4 стране), ЛИТЕРАТУРА (27 страна), ПРИЛОГ (100 страна), ДОДАТНИ МАТЕРИЈАЛ приложен на ЦД-у (160 страна).

#### V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У УВОДНОМ делу представљен је значај и дугогодишња употреба представника трибуса *Urticeae* и *Parietarieae* (*Urticaceae* Juss.). Прегледом литературних података утврђено је да су досадашња истраживања углавном била фокусирана на две врсте - *Urtica dioica*, и у знатно мањем обиму на врсти *Parietaria officinalis* - те постоји потреба за детаљним хемијским и биохемијским истраживањима и осталих представника ова два трибуса. Пошто је на основу досадашњих истраживања оправдано очекивати да су представници трибуса *Urticeae* и *Parietarieae*, тачније родова *Urtica* и *Parietaria*, значајан извор биоактивних молекула, за истраживања у овој докторској дисертацији одабрани су следећи представници поменутих родова\*: *U. dioica* subsp. *dioica* var. *dioica*, *U. dioica* subsp. *dioica* var. *pubescens*, *U. kioviensis*, *P. officinalis*\*\* , *P. lusitanica* subsp. *lusitanica*, *P. judaica* subsp. *judaica* и *P. serbica*. У складу са тим, као циљеви истраживања су дефинисани:

- Хемијска карактеризација фокусирана на фенолним једињењима која обухвата квалитативну LC-DAD-MS и LC-MS/MS анализу, затим квантитативну LC-MS/MS анализу одабраних фенолних компоненти и спектрофотометријско одређивање укупних фенолних и флавоноидних једињења, као и дефинисање потенцијалних хемотаксономских маркера на основу добијених резултата.

- Биохемијска испитивања су обухватала одређивање антиоксидантног и антиинфламаторног потенцијала екстракта испитиваних врста, њихов утицај на активност ензима ацетилхолинестеразе, утицај одабраних екстракта на имуни одговор и пролиферацију интестиналних епителних ћелија пацова (IEC18) и човека (Caco2), као и корелација биолошке активности са хемијским саставом. Одређивање утицаја ваздушног загађења на акумулацију тешких метала, физиолошке параметре и биолошку активност хербе врсте *U. dioica*.

\* Напомена: Из разлога што је последњих година драстичним променама режима падавина, појава и вегетацијски период појединих врста знатно измењен, није сакупљен репрезентативан узорак врсте *Urtica urens* L., те је изостала из даљих истраживања, у којима је, уместо тога, обухваћен још један варијетет подврсте *U. dioica* subsp. *dioica* (поред типичног варијетета *dioica*, испитан је и варијетет *pubescens*).

\*\* Напомена: Анализом номенклатурног статуса таксона рода *Parietaria* које су заступљене у Србији и околним земљама, констатован је статус синонима *P. vulgaris* Hill. и *P. officinalis* L. а резултати добијени за ову врсту су, у овом раду, представљени под једним, актуелним, називом – *P. officinalis* L.

У ОПШТЕМ ДЕЛУ дисертације дат је детаљан опис испитиваних врста и преглед литературних података везаних за хемијски састав, фармаколошке активности и примену врста које припадају родовима *Urtica* и *Parietaria*. У оквиру прегледа фитохемијског састава детаљно су дати подаци о класама фенолних једињења до сада идентификованих у овим врстама, путевима њихове биосинтезе и њиховој биолошкој активности. У оквиру поглавља молекулске основе болести, описано је стање оксидативног стреса и оштећења која настају у људском организму као његова последица. Објашњена је функција и механизам деловања ензима ацетилхолинестеразе и његова улога у неуродегенеративним поремећајима. Сажето је описан појам неспецифичног имуног одговора и дат преглед медијатора инфламације. Дат је преглед имуног одговора интестиналних епителних ћелија (IEC18 и Caco2) са акцентом на рецепторе и сигналне путеве који се активирају у том процесу, као и цитокинима које ове ћелије продукују као одговор на проинфламаторне стимулусе. У поглављу

фармаколошког деловања и примене испитиваних врста дат је преглед модерних научних истраживања и примена претежно хербе и корена коприве (*U. dioica*) уз напомену да су подаци о осталим врстама испитиваним у овом раду веома оскудни.

У ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ ДЕЛУ дат је преглед коришћених хемикалија и детаљан опис припреме метанолних и водених екстраката. Описане су инструменталне методе примењене у анализи хемијског састава испитиваних биљака: квалитативна LC-DAD-MS и LC-MS/MS анализа, затим квантитативна LC-MS/MS анализа одабраних фенолних компоненти и спектрофотометријско одређивање укупних фенолних и флавоноидних једињења. Детаљно су описани биохемијски тестови: *in vitro* тестови за одређивање антиоксидантног капацитета екстраката, *ex vivo* тест за утврђивање антиинфламаторне активности испитиваних узорака и тест одређивања активности ацетилхолинестеразе. Дати су детаљни описи метода одређивања нивоа цитокина (ELISA методом) и експресије протеина (Western blot метода), као и ефекта епителизације. Описано је одређивање садржаја тешких метала ICP-MS техником и одређивање физиолошких параметара (интензитет фотосинтезе и транспирације, ефикасност коришћења воде, проводљивост стома и садржај фотосинтетичких пигмената).

У поглављу РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА приказани су и дискутовани добијени резултати, подељени у две области: хемијски састав и биолошке активности.

У оквиру резултата везаних за хемијски састав испитиваних врста резултати квалитативне LC-DAD-MS и LC-MS/MS анализе су подељени према идентификованим групама једињења: фенолне киселине, флавоноиди и њихови гликозиди, лигнани, аминокиселине-коњугати, једињења молекулске масе 310 – 330 и масне киселине. Приказани су резултати квантитативне LC-MS/MS анализе одабраних фенолних компоненти и резултати анализе главних компоненти (PCA - *Principal component analysis*) са добијеним резултатима, у циљу издвајања сличног или засебног модела варијабилности фенолних компоненти појединих таксона на нивоу врста унутар једног рода, као и између родова обострано те представљају потенцијалне хемотаксономске маркере. Дати су резултати спектрофотометријског одређивања укупних фенолних и флавоноидних једињења.

У делу биолошке активности, приказани су резултати *in vitro* испитивања антиоксидантног потенцијала метанолних и водених екстраката испитиваних биљака, на основу њихове способности да неутралишу реактивне радикалске врсте: 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH•), азот-моноксид (NO•), супероксид анјон (SOA) и хидроксил (•OH) радикал као и тестом инхибиције липидне пероксидације, а FRAP (*ferric reducing ability of plasma*) тестом је процењена редукциона способност екстраката. Урађена је корелација резултата антиоксидантне активности са хемијским саставом испитиваних екстраката. Антиинфламаторни потенцијал одређен је применом *ex vivo* методе за одређивање потенцијала инхибиције продукције 12-ННТ, TXB<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> и 12-НЕТЕ метаболита, као показатеља инхибиције циклооксигеназног и липоксигеназног пута метаболизма арахидонске киселине. Утицај испитиваних екстраката на активност ензима ацетилхолинестеразе урађена је према модификованој Ellman-овој методи. Утицај одабраних екстраката на имуни одговор интестиналних епителних ћелија пацова (IEC18) и човека (Caco2) одређен је њиховим утицајем на продукцију цитокина (rat MCP1, GRO $\alpha$ , human MCP1 и IL-8) и ензима COX-2 у базалним и условима инфламације изазване липополисахардима (LPS). Пролиферативни ефекат одабраних екстраката на IEC18 и Caco2 ћелије је испитан квантификацијом протеина PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*) и вилина. Додатно, пролиферативни ефекат екстракта хербе и корена врсте *P. officinalis* тестиран је у експерименту епителизације „ране“ на IEC18 ћелијама. На крају, у циљу сагледавања квалитета и исправности херби коприве (*Urticae herba*), дати су резултати испитивања садржаја 14 тешких метала (Al, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Sn, Sb, Hg и Pb), физиолошких параметара (интензитет фотосинтезе и транспирације, ефикасност коришћења воде, проводљивост стома и садржај фотосинтетичких пигмената) и биолошког потенцијала (садржај фенолних једињења, антиоксидантна и антиинфламаторна активност) херби коприве са незагађеног и загађеног локалитета.

У ЗАКЉУЧКУ су сумирани и истакнути најзначајнији резултати дисертације.

Поглавље SUMMARY обухвата сажет преглед ове дисертације на енглеском језику.

ЛИТЕРАТУРА цитирана у овој докторској тези обухвата 452 библиографске јединице и указује на значај и актуелност предузетих истраживања, али и одсуство резултата везаних за већину врста обухваћених овом тезом.

У ПРИЛОГУ су дати бројни експериментални резултати у облику табела са подацима, калибрационе криве и криве зависности доза-одговор, који допуњују поглавље РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.

У ДОДАТНОМ МАТЕРИЈАЛУ датом у електронској форми на ЦД-у, приложене су слике UV, MS<sup>1</sup> и MS<sup>2</sup> спектра добијених квалитативноом LC-DAD-MS и LC-MS/MS анализом, слике Western blot гелова и слике IEC18 ћелија из експеримента епителизације. Ови подаци допуњују поглавља РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА и ПРИЛОГ.

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

### **Рад у међународном часопису (M21 i M23):**

1. Orčić D, Francišković M, Bekvalac K, Svirčev E, Beara I, Lesjak M, Mimica-Dukić N. (2014) Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection, *Food Chemistry*, 143: 48-53. **M21**
2. Orčić D, Mimica-Dukić N, Francišković M, Petrović S, Jovin E. (2011) Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L., *Chemistry Central Journal*, 5 (34): 1-8. **M21**
3. Lesjak M, Beara I, Orčić D, Anačkov G, Balog K, Francišković M, Mimica-Dukić. (2011) *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents, *Food Chemistry*, 124: 850-856. **M21**
4. Petrović S.S, Ristić M, Babović N, Lazić M, Francišković M, Petrović S.D. (2014) Chemical composition and antioxidative activity of essential oil of *Thymus serpyllum* L., *Hemijska industrija*, 68(3): 389-397. **M23**

### **Саопштења на међународним научним скуповима (M34):**

1. Francišković M, Gonzalez Perez R, Sanchez de Medina F, Mimica-Dukić N: Selected Urticaceae family extracts exert distinct modulatory effects on intestinal epithelial cells enhancing the immune response; VI Serbian congress of pharmacy with international participations, 15.-19. Oktobar 2014, Belgrade, Serbia; 144-145.
2. Francišković M, Orčić D, Svirčev E, Lesjak M, Šibul F, Beara I, Mimica Dukić N: Urticaceae family herbal teas as anti-inflammatory agents; 20th International Congress of Nutrition, Granada; septembar 2013.
3. Francišković M, Orčić D, Nikolić N, Beara I, Mimica-Dukić N: Impact of pollution on physiological parameters, phenolic profile and antioxidant activity of *Urtica dioica* L.; The sixth scientific-technical meeting „InterRegioSci 2013“, Novi Sad, maj 2013, 76.
4. Francišković M, Orčić D, Svirčev E, Simin N, Balog K, Lesjak M, Mimica-Dukić N: Phenolic content and antioxidant properties of two *Urtica dioica* (stinging nettle) specimens depending on level of the air pollution exposure; XXVIth International Conference on Polyphenols, Polyphenols Communications 2012, Florence, Italy, July 23rd-26th, 2012, 381-382.
5. Francišković M, Orčić D, Jovin E, Simin N, Balog K, Beara I, Mimica-Dukić N: Determination of plant phenolic profile and antioxidant activity of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) extracts; 6th Central European Congress on Food, Novi Sad, R. Serbia, May 23-26, 2012, 122.
6. Francišković M, Orčić D, Jovin E, Mimica-Dukić N: LC-MS-MS quantification of phenolics in stinging nettle; 18th young investigators seminar on analytical chemistry, Novi Sad, Serbia, June 28th - July 1st, 2011; Book of Abstracts, 51.

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

У оквиру ове докторске дисертације изведена су детаљна фитохемијска и биохемијска испитивања екстраката одабраних представника трибуса *Urticeae* и *Parietarieae*, тачније родова *Urtica* и *Parietaria*. Из дисертације су проистекли следећи резултати и закључци:

- Квалитативном LC-DAD-MS и LC-MS/MS анализом метанолних екстраката херби и корена испитиваних врста детектовано је 164 једињења од којих је 65 прелиминарно идентификовано и то: шест фенолних киселина, један флавоноид, 12 флавоноидних гликозида, четири лигнана, 18 аминоксил-коњугата и 24 једињења окарактерисана као једињења молекулске масе 310 – 330. Фенолне киселине су заступљеније у хербама *Urtica* врста, док је у корену врсте *U. dioica* идентификован, по први пут, дериват кафење киселине – кловамид (*N*-кафеоил-*L*-ДОПА). Флавоноидни гликозиди су били заступљенији у хербама код свих испитиваних врста, док је једини агликон – епикатехин – детектован у корењу *Parietaria* врста. Идентификовани су гликозиди кверцетина, кемферола, лутеолина и изорамнетина. Врста *U. kioviensis* се издваја од осталих испитиваних по томе што су једино у њеном екстракту хербе идентификована чак три *C*-гликозида, док је рутин, веома заступљен у другим хербама, у овој врсти потпуно одсутан. Лигнани су идентификовани једино у корену врсте *U. dioica* и то деривати секоизоларицирезинола и неооливила. Велики број једињења назван аминоксил-коњугатима идентификован је искључиво у *Parietaria* врстама, претежно у екстрактима корена.
- Применом LC-MS/MS технике одређен је садржај 44 фенолна једињења и хинске киселине у метанолним екстрактима херби, корена, листа, стабљике и цвета, као и воденим екстрактима херби, корена и листа. Дистрибуција фенолних компоненти у метанолним екстрактима врста рода *Urtica* је била следећа: највећи садржај одређиваних једињења је био у екстрактима цвета (до 9,5 % СЕ – сувог екстракта), затим у екстрактима херби и листа (3,73 % и 3,60 % СЕ), стабљике (1,39 % СЕ) а као најсиромашнији се издвоио екстракт корена са свега 0,05 % СЕ. Код *Parietaria* врста, неочекивано, екстракти стабљике имају висок садржај фенола – до 2,73 % СЕ. Следе екстракти херби (до 2,46 % СЕ), цвета (до 2,46 % СЕ) и листа (до 1,75 % СЕ). Такође, необично висок садржај фенола је квантификован у екстрактима корена *Parietaria* врста – до 1,44 % СЕ, са највећим уделом флаван-3-ола. Сви испитивани водени екстракти су имали знатно мањи садржај фенола (у опсегу од 0,03 – 0,38 % СЕ) у односу на одговарајуће метанолне екстракте. На основу урађене РСА анализе издвојило се неколико једињења који својом квантитативном варијабилношћу показују засебност и на тај начин описују карактеристику појединих таксона на нивоу врста унутра једног рода, као и између родова обострано те представљају потенцијалне таксономске маркере. Висок садржај 5-*O*-кафеоилхинске киселине је карактеристичан за хербе *Urtica* врста док је присуство флаван-3-ола – епикатехина – регистровано само у корењу *Parietaria* врста. Лигнан секоизоларицирезинол је карактеристичан за корен врсте *U. dioica* (у оба испитивана варијетета), док су витексин, лутеолин-7-*O*-глукозид и хиперозид идентификовани искључиво у херби врсте *U. kioviensis*. Рутин је доминантна компонента у хербама *Parietaria* врста, друга по садржају у хербама оба варијетета подврсте *U. dioica* subsp. *dioica* а представља негативни таксономски маркер за врсту *U. kioviensis* јер није детектован у њеним екстрактима. Између два испитивана варијетета подврсте *U. dioica* subsp. *dioica*: *U. dioica* subsp. *dioica* var. *pubescens* и *U. dioica* subsp. *dioica* var. *dioica* не постоје квалитативне, ни значајније квантитативне разлике у садржају испитиваних фенолних једињења.
- Од свих испитиваних екстраката, метанолни екстракти корена *Parietaria* врста су показали најбољи антиоксидантни потенцијал у тестовима неутрализације DPPH• и SOA радикала, инхибиције липидне пероксидације и у FRAP тесту. Поређењем активности екстраката *Urtica* врста, као активнија се показала мање испитивана врста *U. kioviensis*. Интересантно је да су водени екстракти надземних органа (хербе и листа), и поред ниског садржаја фенолних једињења, показали веома сличну или само мало мању антиоксидантну активност у односу на одговарајуће метанолне екстракте, чак су у тесту неутрализације OH• радикала били 2,7 – 9,3 пута успешнији.
- Већина испитиваних метанолних и водених екстраката је показала дозно-зависну

инхибицију продукције четири праћена метаболита: 12-ННТ,  $\text{TXB}_2$  и  $\text{PGE}_2$  за COX грану 12-НЕТЕ за LOX грану. Снажну антиинфламаторну активност испољили су метанолни екстракти корена *Parietaria* врста и врсте *U. kioviensis*, нарочито на COX метаболички пут. Као селективни 12-LOX инхибитори се издвајају метанолни екстракти херби врста *U. kioviensis* и *P. lusitanica*. Водени екстракти хербе коприве, припремљени по рецептури за чајеве, су знатно смањили продукцију сва четири праћена метаболита, чиме је, још једном, оправдана дугогодишња употреба чајева од коприве у терапији упалних процеса.

- Сви испитивани екстракти су инхибирали активност ензима ацетилхолинестеразе – опсег инхибиција 36 – 95 %, при радним концентрацијама екстракта од 1 mg/mL. Као најбољи инхибитори издвајају се екстракти корена *Parietaria* врста (инхибиције 77 – 95 %) и врсте *U. kioviensis* (92 %).
- Метанолни екстракти корена врста *P. officinalis* и *P. judaica* повећали су секрецију цитокина  $\text{rat MCP1}$  и  $\text{GRO}\alpha$  из IEC18 ћелија и у базалним и у условима LPS-стимулације и утврђено је да испољавају синергистички ефекат са LPS-ом, повећавајући секрецију знатно изнад суме индивидуалних ефеката. Супротно томе, екстракти коприве су повећали базалну а смањили LPS -ом индуковану секрецију цитокина  $\text{rat MCP1}$ . Према томе, екстракти коприве повећавају степен одбране организма у нормалним условима али и спречавају прекомерну продукцију проинфламаторних агенаса и оштећења која могу настати као последица хроничних упала. Утврђено је да поменути екстракти мењају образац секреције ова два цитокина преко адаптерног протеина MyD88 (али не и рецептора TLR4) као и преко NF- $\kappa$ B сигналног пута.
- Екстракти корена врста *P. officinalis* и *U. dioica* испољили су снажан утицај на LPS-ом индуковану експресију ензима циклооксигеназе 2. Први је повећао експресију овог ензима и то 145 % у односу на сам LPS а други је смањio његову експресију на 57% од ефекта самог LPS-а. Овим резултатима је потврђено проинфламаторно дејство првог и антиинфламаторно својство другог екстракта.
- Најизраженији пролиферативни ефекат су испољили екстракти хербе, а нарочито корена врсте *P. officinalis* који су дозно-зависно повећали експресију пролиферативног антигена (PCNA). Пролиферативни ефекат ова два екстракта је додатно потврђен у експерименту епителизације тј. поновног успостављања нарушеног монослоја IEC18 ћелија. Дејством екстракта корена дошло је до брже епителизације и то 26,4 %, а дејством екстракта хербе 22,5 % у односу на контролу. Пролиферативни ефекат или ефекат зарастања ране (*wound healing*) ових екстраката се може искористити у терапијама опоравка слузнице интестинума.
- Екстракти хербе и корена врсте *P. officinalis* нису испољили пролиферативни ефекат на Caco2 ћелије, односно нису утицали на експресију пролиферативног антигена. Екстракт корена је повећао експресију протеина вилина што указује да је дошло до реорганизације ћелијског скелета, те се може закључити да је овај екстракт стимулисао ћелијску миграцију али не и пролиферацију.
- Секрецију цитокина hMCP1 у Caco2 ћелијама повећали су екстракти херби врста *U. dioica*, *P. judaica* и *P. lusitanica* и то у дозно-зависном маниру, а екстракт хербе коприве је дозно-зависно смањio секрецију цитокина IL-8. Остали испитивани екстракти нису значајно мењали образац секреције ова два цитокина.
- Коприва не представља погодан био-индикатор ваздушног загађења јер не врши акумулацију тешких метала те је њена употреба безбедна без обзира у каквој средини расте. Међутим, испитивани физиолошки параметри су били знатно лошији код биљака изложеним ваздушном загађењу (смањен интензитет фотосинтезе и ефикасност коришћења воде, нижи садржај фотосинтетичких пигмената). Поред тога биљке које су расле у загађеној средини имале су и лошије хемијске и биохемијске карактеристике (нижи садржај фенолних једињења, нижа антиоксидантна и антиинфламаторна активност) што треба имати у виду приликом одабира биљног материјала за примену у исхрани или фитотерапији.
- Сумирањем резултата ове докторске дисертације може се закључити да, поред добро познате коприве, и остали испитивани представници трибуса Urticeae и Parietarieae, тачније родова *Urtica* и *Parietaria* представљају богат извор биолошки активних једињења која

<p>испољавају широк спектар биолошких активности те имају висок потенцијал примене у исхрани и фитофармацији.</p> <p>Закључци представљени у дисертацији су произашли из добијених резултата и указују на значај и научни допринос спроведеног истраживања.</p>
<p><b>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА</b>  Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.</p>
<p>Кандидат је веома рационално приступио обради и анализи великог броја експерименталних података који су успешно подељени у логичке целине. Резултати истраживања су аналитички представљени, статистички обрађени, детаљно дискутовани и критички поређени са резултатима из цитиране литературе. Прегледности резултата значајно су допринели графички прикази (хистограми и шеме) и систематичне табеле. На основу резултата и дискусије изведени су закључци који дају одговоре на постављене циљеве у овој докторској дисертацији.</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  Комисија оцењује да је докторска дисертација урађена потпуно у складу са образложењима наведеним у пријави теме.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе  Дисертација садржи све битне елементе - дефинисање теме истраживања, преглед постојећих истраживања, детаљан приказ експерименталних метода и техника, јасан и прегледан приказ резултата и њихову дискусију, списак литературе и закључак.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци  На основу комплетног увида у докторску дисертацију, постављене циљеве истраживања, прегледа литературе, добијених резултата и њиховог тумачења, Комисија закључује да ова докторска дисертација има све елементе оригиналног научног рада, који карактерише висок степен интердисциплинарности. Првенствено ова докторска дисертација задире у области фитохемије и биохемије секундарних биомолекула биљака. Коришћењем савремених инструментаних метода које су прилагођене и модификоване за примењена истраживања, добијени су научни резултати, из којих је било могуће извести поуздане и валидне закључке. Иако произишли из веома комплексних истраживања резултати тезе су представљени јасно и груписани у логичке целине. Чињеница да су по први пут изведена систематична, упоредна, хемијска и биохемијска истраживања одабраних представника трибуса <i>Urticeae</i> и <i>Parietarieae</i>, односно родова <i>Urtica</i> и <i>Parietaria</i>, од посебног је научног значаја и интереса. Треба истаћи да су истраживања ове докторске тезе у складу са савременим трендовима у модерној фитофармацији, у изналажењу нових природних производа са израженим антиоксидантним, антиинфламаторним, антиацетилхолинестеразним и имуномодулаторним дејством.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања  По мишљењу комисије ова докторска дисертација нема значајнијих недостатака.</p>

**X ПРЕДЛОГ:**

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже да се докторска дисертација под називом: „**Фитохемијска карактеризација и биолошка активност одабраних врста трибуса Urticeae и Parietarieae (Urticaceae Juss.)**“, прихвати, а кандидату **Марини Францишковић** одобри одбрана.

У Новом Саду, 25.05.2015.

**ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ**

---

др Горан Аначков, ванредни професор,  
Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду,  
председник

---

др Неда Мимица-Дукић, редовни професор,  
Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду,  
ментор

---

др Биљана Божин, ванредни професор,  
Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду,  
члан

---

др Дејан Орчић, доцент,  
Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду,  
члан