

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

На V редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 10.03.2017. године, прихваћен је извештај ментора др Славише Станковића и др Бориса Пејина о урађеној докторској дисертацији кандидата Александре Т. Талевске под насловом "**Хемијски састав и биолошка активност екстраката слатководног сунђера *Ochridaspongia rotunda* (Arndt, 1937)**", и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Славиша Станковић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, др Борис Пејин, научни сарадник, Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду, др Тања Берић, ванредни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, др Ана Ћирић, виши научни сарадник, Институт за биолошка истраживања "Синиша Станковић" Универзитет у Београду и др Марина Соковић, научни саветник, Институт за биолошка истраживања "Синиша Станковић", Универзитет у Београду. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**Општи подаци о докторској дисертацији:**

Докторска дисертација Александре Т. Талевске под насловом "**Хемијски састав и биолошка активност екстраката слатководног сунђера *Ochridaspongia rotunda* (Arndt, 1937)**" написана је на 70 страна и садржи 7 поглавља: **Увод** (15 страна), **Циљ рада** (1 страна), **Материјал и методе** (13 страна), **Резултати и дискусија** (27 страна), **Закључци** (1 страна) и **Литература** (13 страна). Дисертација садржи 16 слика и 18 табела. Поглавље Литература садржи 116 библиографских јединица.

## Анализа докторске дисертације:

У докторској дисертацији кандидат Александра Т. Талевска бавила се проучавањем хемијског састава и биолошке активности слатководног сунђера *Ochridaspongia rotunda* (Arndt, 1937), ендемске и реликтне врсте из Охридског језера. Наиме, ради се о пионирском истраживању како на подручју Републике Македоније, тако и шире, у региону Западног Балкана. У поглављу **УВОД**, у оквиру шест подпоглавља, дат је сажет приказ општих сазнања о филуму Porifera (Spongia), ендемитима у Охридском језеру, употреби сунђера у традиционалној (етно) медицини, као и о биолошки активним супстанцама пореклом из ових организама, са акцентом на активности које су анализирани у овој дисертацији. Посебна пажња посвећена је опису саме врсте *O. rotunda*, као и дистрибуцији слатководних сунђера у Р. Македонији.

У оквиру поглавља **ЦИЉ РАДА** колегиница Талевска заправо је поставила неколико циљева: *in vitro* "скрининг" антимикуробне са "anti-quorum sensing" активношћу, антитуморске, мутагене, антиоксидативне и анти-ацетилхолинестеразне активности екстраката сунђера *O. rotunda*, ради процене њиховог медицинског потенцијала; одређивање елементарног хемијског састава дате врсте, испарљивих органских једињења, као и садржаја укупних једноставних (простих) фенола; коначно, прелиминарну хемијску карактеризацију (помоћу инфрацрвене спектроскопије са Фуријеовом трансформацијом, FTIR – техника ATR) екстраката са најпотентнијом биолошком активношћу.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** организовано је у четири подпоглавља. Дат је опис сакупљеног биолошког материјала. Описани су поступци екстракције, одређивања садржаја једноставних (простих) фенола (стандардна метода SRPS ISO за хидроксилне деривате бензена и аналогна једињења), испарљивих органских једињења ("headspace" GC-MS анализа), елементарног хемијског састава (атомска апсорпциона спектроскопија, ЕРА методе), као и FTIR анализа (техника ATR). Такође, приказани су поступци одређивања антимикуробне активности (конкретно, на по четири Грам-негативне и Грам-позитивне бактерије, као и на осам гљива – модификована микродилуциона метода, вредности MIC/MBC и MIC/MFC, респективно); "anti-quorum sensing" активности (за тест микроорганизам одабран је изолат бактеријског соја *Pseudomonas aeruginosa* PAO1) која је обухватила процену инхибиције синтезе зеленог пигмента пиоцијанина (продукт соја *P. aeruginosa* PAO1), антибиофилм активност, као и тестове покретљивости; антитуморске активности (колориметријски МТТ есеј); мутагене активности (Ејмсов тест и комет есеј); антиоксидативне активности (поларографски есеји НРМС и MRAP); као и инхибиције ензима ацетилхолинестеразе у условима *in solid* и *in liquid*.

Поглавље **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА** организовано је у 10 подпоглавља. У датом поглављу колегиница Талевска јасно је презентовала експериментално добијене податке истовремено их компетентно дискутујући, кроз поређење са подацима других аутора. У прва два подпоглавља представљени су резултати који се односе на идентификацију класа органских једињења присутних у екстрактима (FTIR спектроскопија) и садржај једноставних (простих) фенола. Наиме, у најпотентнијим екстрактима (са аспекта биоактивности) слатководног сунђера *O. rotunda*, конкретно, у метанолном (МЕ) и ацетонском (АЕ) екстракту, уочено је присуство сличних органских супстанци. Прецизније речено, FTIR спектар МЕ указао је на присуство карбонилних једињења, стерола и/или дуголанчаних алкохола. Ови подаци у добром су слагању са онима из литературе. Посебно је вредно помена присуство стерола у датим екстрактима чија савремена истраживања у сунђерима датирају од раних седамдесетих година прошлог века. У принципу, сунђери са већим процентом масти у облику стерола садрже мање количине терпена. Ова једињења заправо имају исте прекурсоре, те представљају метаболичке алтернативе. Неки типични стероли сунђера нађени су и код слатководних алги. Стога се не може искључити могућност да су поједини стероли (типични за сунђере, а детектовани у води), у ствари, алгалног порекла. С друге стране, релативно низак садржај једноставних (простих) фенола указао је на податак да ова врста слатководног сунђера, заједно са својим микросимбионтима (на првом месту, бактеријама), не продукује овај тип једињења (као ни њихове аналоге) у знатнијој мери. Сходно томе, може се претпоставити да поменуте супстанце вероватно не представљају кључне биоактивне принципе одговорне за антиоксидативни потенцијал екстраката сунђера *O. rotunda* утврђен наведеним поларографским есејима. Даље, у трећем и четвртом подпоглављу говори се о испарљивим компонентама ове врсте, као и о њеном елементарном хемијском саставу. По хемијском саставу, већина датих компоненти представљају алдехиде од којих 80% припада засићеним алифатичним алдехидима нормалног низа (ланца). Преостале испарљиве компоненте (2-пентилфуран и 2-хексилфуран) припадају класи фурана. Поређења ради, испарљиве компоненте еволутивно једноставнијих биљних организама (бриофите), по правилу, одликује већа хемијска разноликост. Што се тиче елементарног састава, висок садржај гвожђа (4606,80 mg/kg) делимично би могао да буде последица присуства симбионтних микроорганизама способних да га акумулирају. Заправо, садржај овог хемијског елемента у овом сунђеру значајно је већи од концентрације у води Охридског језера. Иначе, елементарни састав врсте *O. rotunda* веома је сличан саставу запаженом за слатководне сунђере из Бајкалског језера. Наредних пет поглавља односи се на приказ експериментално добијених података за биолошке активности, редом од антимикробне преко антитуморске до анти-ацетилхолинестеразне активности. Највећу

антибактеријску и антифунгалну активност у условима *in vitro* показали су МЕ (MIC 7,5-15,0  $\mu\text{g/mL}$  и MBC 15,0-30,0  $\mu\text{g/mL}$ ) и АЕ (MIC 7,5-45,0  $\mu\text{g/mL}$  и MFC 15,0-60,0  $\mu\text{g/mL}$ ), респективно. Осим тога, дати екстракти били су ефикаснији од одговарајућих позитивних контрола (стрептомицин/ампицилин и бифоназол/кетоназол, респективно). Осим тога, МЕ се показао као добар инхибитор продукције пиоцијанина (49,90%), а АЕ формирања биофилма (53,99%) бактеријског соја *P. aeruginosa* PAO1. Добијени експериментални подаци указују да се сунђер *O. rotunda* може сматрати значајним извором нових и потентних антимикуробних супстанци природног порекла ширег спектра дејства. И када је о антитуморској активности реч, истакла су се поменути два екстракта. Заправо, МЕ је ефикасно ( $\text{IC}_{50}$  5,03  $\mu\text{g/mL}$ ) и селективно (приближно 59 пута) деловао на туморске ћелије дојке MCF-7 (vs. ћелије MRC-5), за разлику од скромне селективности доксорубина (свега 4 пута). АЕ је, међутим, највећу цитотоксичну активност испољио према туморским ћелијама плућа A-549 ( $\text{IC}_{50}$  5,01  $\mu\text{g/mL}$ ), само 2 пута мању од доксорубина, уз око 35 пута већу селективност од поменутог хемотерапеутика. Према Националном институту за рак Сједињених Америчких Држава, сиров екстракт сматра се активним уколико му је вредност  $\text{IC}_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ . Другим речима, наведени резултати јасно указују на изузетан потенцијал слатководних екосистема који се, практично, још увек игнорише од стране највећег броја истраживача у релевантној области. Тим више што резултати Ејмсовог теста и комет есеја говоре у прилог немутагености (тј. нетоксичности) датих екстраката (МЕ и АЕ). Коначно, оба екстракта, како у условима *in solid*, тако и у условима *in liquid*, показала су обећавајућу анти-ацетилхолинестеразну активност. Важно је да се тежи ка проналаску нових инхибитора овог ензима који не спадају у класу алкалоида, инхибитора датог ензима које осим бенефитних, карактерише и већи број нежељених (споредних) ефеката.

Даља истраживања ове пионирске студије требало би усмерити ка формирању аквакултуре реликтне и ендемске врсте *O. rotunda* (*in situ* и *ex situ*, ради заштите и очувања биодиверзитета) у циљу обезбеђивања оптималне количине биолошког материјала за изоловање и идентификацију биоактивних принципа.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** колегиница Талевска сумира добијене резултате из оквира њене докторске дисертације.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 116 библиографских јединица. Литературни извори адекватно су цитирани у тексту дисертације.

Истраживања обухваћена у овој дисертацији урађена су у оквиру једног националног и једног међународног пројекта. Резултати који су из ње проистекли штампани су у укупно 4 рада у међународним часописима, конкретно, у 1 раду категорије M<sub>22</sub> и 3 рада категорије M<sub>23</sub>, што указује на добар приступ одабраној проблематици.

#### Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

##### Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. M<sub>22</sub> **A. Talevska**, B. Pejin, T. Beric, S. Stankovic.  
Further insight into biological activity of the freshwater sponge *Ochridaspongia rotunda* (Arndt, 1937).  
*Pharmaceutical Biology* 2017 **55**(1), 1313-1316.  
<http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2017.1297468>  
(IF 1,546 за 2015. godinu)
2. M<sub>23</sub> **A. Talevska**, B. Pejin, V. Kojic, T. Beric, S. Stankovic.  
A contribution to pharmaceutical biology of freshwater sponges.  
*Natural Product Research* 2017, In Press, DOI: 10.1080/14786419.2017.1315719  
(IF 1,057 за 2015. godinu)
3. M<sub>23</sub> B. Pejin, **A. Talevska**, A. Ciric, J. Glamoclija, M. Nikolic, T. Talevski., M. Sokovic.  
Anti-quorum sensing activity of selected sponge extracts: a case study of *Pseudomonas aeruginosa*.  
*Natural Product Research* 2014 **28**(24), 2330-2333.  
(IF 0,919 за 2014. godinu)
4. M<sub>23</sub> B. Pejin, **A. Talevski**, A. Ciric, J. Glamoclija, M. Nikolic, T. Talevski, M. Sokovic.  
*In vitro* evaluation of antimicrobial activity of the freshwater sponge *Ochridaspongia rotunda* (Arndt, 1937).  
*Natural Product Research* 2014 **28**(18), 1489-1494.  
<http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2014.911297>  
(IF 0,919 за 2014. godinu)

##### Б2. Конгресна саопштења у целини на скуповима међународног значаја (M<sub>33</sub>)

1. M<sub>33</sub> B. Pejin, **A. Talevska**, S. Gorjanović, F. Pastor, T. Talevski, D. Sužnjević.  
Evaluation of the antioxidant activity of the freshwater sponge *Ochridaspongia rotunda* (Arndt, 1937) using two polarographic assays.  
*Physical Chemistry 2014*, Belgrade, Serbia, September 22-26, 2014,  
Proceedings (Volume II), p. 498-501.

## Мишљење и предлог Комисије:

Докторска дисертација колегинице Александре Талевске, под насловом "**Хемијски састав и биолошка активност екстракта слатководног сунђера *Ochridaspongia rotunda* (Arndt, 1937)**" представља савремену студију из биолошких наука.

По свом садржају, оригиналности резултата, начину њиховог приказа и интерпретацији, уз релевантно цитирану литературу, поднети текст има све одлике докторске дисертације. Колегиница Талевска на примерен је начин представила експерименталне податке до којих је дошла. Осим тога, јасно је формулисала правце даљих истраживања који се, на основу актуелне литературе и становишта, крајње оправдани и перспективни.

Комисија сматра да докторска дисертација Александре Талевске по свом приступу и интерпретацији резултата представља значајан допринос у познавању биолошке активности слатководних сунђера која је од фармаколошког (медицинског) значаја. Изузев одговора на непосредне циљеве истраживања, добијени експериментални подаци представљају добру полазну основу за будућа истраживања мултидисциплинарног карактера, уз сарадњу са експертским тимовима како са подручја Републике Србије и Републике Македоније, тако и из иностранства.

Комисија са посебним задовољством истиче да је колегиница Талевска до сада, на основу резултата који улазе у састав њене докторске дисертације, публиковала укупно 4 рада у међународним часописима од чега 1 рад у категорији M<sub>22</sub> (на којем је први аутор), 1 рад у категорији M<sub>23</sub> (на којем је први аутор) и 2 рада у категорији M<sub>23</sub> (на којима је други аутор). Коначно, колегиница Талевска аутор је једног конгресног саопштења у целини које је успешно презентовала на скупу Друштва физикохемичара Србије од међународног значаја септембра месеца 2014. године.

Током израде докторске дисертације колегиница Александра Талевска овладала је знањима и вештинама неопходним за самосталан научно-истраживачки рад што се може закључити како на основу увида у њене досадашње научне активности, тако и кроз публиковане резултате у међународним часописима.

На основу свега изложеног, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитиван Извештај и одобри јавну одбрану ове докторске дисертације.

У Београду,  
5. IV 2017. године

Комисија:

---

др Славиша Станковић,  
редовни професор,  
Биолошки факултет, Универзитет у Београду

---

др Борис Пејин,  
научни сарадник,  
Институт за мултидисциплинарна истраживања,  
Универзитет у Београду

---

др Тања Берић,  
ванредни професор,  
Биолошки факултет, Универзитет у Београду

---

др Ана Ћирић,  
виши научни сарадник,  
Институт за биолошка истраживања  
"Синиша Станковић", Универзитет у Београду

---

др Марина Соковић,  
научни саветник,  
Институт за биолошка истраживања  
"Синиша Станковић", Универзитет у Београду