

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Презиме, име једног
родитеља и име
Датум и место рођења

Миљковић Милисав Војкан
06.04.1986. Ниш

Примљено	14. VII 2012.
Орган	Б1
Јединица	Б1
Вредност	
04	1268/1
	- -

Основне студије

Универзитет
Факултет
Студијски програм
Звање
Година уписа
Година завршетка
Просечна оцена

Ниш
Медицински
Фармација
Дипломирани фармацеут
2005.
2011.
8,71

Мастер студије, магистарске студије

Универзитет
Факултет
Студијски програм
Звање
Година уписа
Година завршетка
Просечна оцена
Научна област
Наслов завршног рада

Докторске студије

Универзитет
Факултет
Студијски програм
Година уписа
Остварен број ЕСПБ бодова
Просечна оцена

Ниш
Технолошки факултет
Технолошко инжењерство
2012.
180
10,00 (десет)

НАСЛОВ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов теме докторске
дисертације
Име и презиме ментора,
звање
Број и датум добијања
сагласности за тему
докторске дисертације

Развој фитопрепарата за дерматолошку примену на бази екстраката плода и листа
биљних врста рода *Morus L.* (Moraceae)
Горан С. Николић, редовни професор
НСВ број 8/20-01-003/16-026 у Нишу, 18.04.2016. године

ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Број страна
Број поглавља
Број слика (шема, графикона)
Број табела
Број прилога

144
8
31
19
1

**ПРИКАЗ НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КАНДИДАТА
који садрже резултате истраживања у оквиру докторске дисертације**

Р. бр.	Аутор-и, наслов, часопис, година, број волумена, странице	Категорија
1	<p>Radulović N.S., Miljković V.M., Mladenović M.Z., Nikolić G.S., Essential oils of <i>Morus alba</i> and <i>M. nigra</i> leaves: Effect of drying on the chemical composition, <i>Natural Product Communications</i> 12(1) (2017) 115-118.</p> <p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i> Анализиран је ефекат сушења лишћа врста <i>Morus alba</i> L. и <i>Morus nigra</i> L. на квалитет и хемијски састав етарских уља (добитих поступком хидродестилације), са циљем утврђивања њиховог биолошко/фармаколошког потенцијала. Детаљна GC/MS анализа је омогућила идентификовање 131 компоненте (96,4%) у испитиваним узорцима, које се сврставају у класе алкана, дитерпеноида, каротеноида и масних киселина. Као резултат процеса сушења лишћа, регистровано је повећање садржаја каротеноидних деривата и (Z)-бОВОЛИДА у етарском уљу <i>Morus alba</i> L., односно смањење садржаја транс-фитола и укупних алкана у етарском уљу <i>Morus nigra</i> L. Новоидентификована супстанца бОВОЛИД се може користити у процени свежине биљног материјала.</p>	M-23
2	<p>Miljković V., Nikolić LJ., Radulović N., Arsić B., Nikolić G., Kostić D., Bojanić Z., Zvezdanović J., Flavonoids in mulberry fruit: Identification of nonanthocyanin phenolics in some mulberry fruit species (<i>Morus alba</i> L., <i>Morus rubra</i> L. and <i>Morus nigra</i> L.), <i>Agro Food Industry Hi Tech</i> 26(3) (2015) 38-41.</p> <p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i> Извршена је анализа хемијског састава метанолних екстраката плодова врста рода <i>Morus</i> (<i>Morus alba</i> L., <i>Morus rubra</i> L., <i>Morus nigra</i> L.) UHPLC-DAD-MS методом. Идентификовано је 18 једињења која спадају у фенолне киселине, антоцијане и флавоноиде. Метода масене спектрометрије у комбинацији са 1D и 2D-NMR техником се показала нарочито значајном за идентификацију флавоноида у анализираним екстрактима. У случају екстракта <i>Morus rubra</i> L. доказано је присуство антоцијана 2D-NMR техником. Комбинована MS - 2D NMR метода је била нарочито ефикасна код брзе карактеризације неантоцијанских фенола у сировим екстрактима врста рода <i>Morus</i>. Развијена метода се може успешно користити у контроли квалитета пића и прехранбених производа на бази екстраката дуда.</p>	M-23
3	<p>Miljkovic V.M., Nikolic G., Nikolic LJ., Zvezdanovic J., Bojanic N., Miljkovic M.N., Antioxidant activity of dry methanol extracts of fruits of black (<i>Morus nigra</i> L.) and white mulberry (<i>Morus alba</i> L.) and bilberry (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.) and the estimation of their application as antioxidant agents. 34th Balkan Medical Week Congress, Bucharest, Romania, 7-8 October 2016., A68.</p> <p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i> Извршена је анализа фенолних једињења и флавоноида из плодова биљних врста <i>Morus alba</i> L., <i>Morus nigra</i> L. и <i>Vaccinium myrtillus</i> L., који су најодговорнији за антиоксидативну активност метанолних екстраката. Анализирани екстракти плодова су показали релативно добру способност неутрализације DPPH• радикала. Одређене су IC50 вредности од 0,048 mg/cm³ за суви екстракт плода <i>Morus alba</i> L., односно 0,059 mg/cm³ за суви екстракт плода <i>Morus nigra</i> L. Утврђено је да испитивани екстракти плодова дуда поседују мању антирадикалску активност од комерцијално коришћених ВНТ и ВНА. Висок садржај фенолних једињења и висока антиоксидативна активност екстракта белог дуда са подручја југоисточне Србије указују на нутритивни и фитомедицински потенцијал овог воћа.</p>	M-34
5	<p>Miljkovic V.M., Nikolic G., Nikolic LJ., Pavlovic A., Determination of the content of microelements in fruit and leaf of black and white mulberry with the aim to estimate the quality for human use, 34th Balkan Medical Week Congress, Bucharest, Romania, 7-8 October 2016., A68.</p> <p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i> Анализиран је садржај макро и микроелемената у плодовима и лишћу белог и црног дуда, са посебним освртом на присуство тешких метала (Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Pb), у циљу процене квалитета екстраката за фармацеутско-козметичку примену. ICP-OES анализом екстраката биљног материјала утврђено је да лист <i>M. nigra</i> садржи највише Са (27,4 mg/g) и Si (9,1 mg/g), двоструко више у поређењу са <i>M. alba</i> за који је карактеристичан знатно већи садржај К (8,2 mg/g) и Р (2,8 mg/g). Екстракти плодова <i>M. alba</i> и <i>M. nigra</i> нису показали значајну разлику по питању садржаја анализираних елемената. Од макроелемената су најзаступљенији К (13,4 mg/g) и Са (3,9 mg/g), а од микроелемената Р (3,8 mg/g). У погледу садржаја тешких метала, нарочито Pb и Cd (0,096 mg/kg < MDK), утврђено је да су екстракти плодова и лишћа <i>M. alba</i> и <i>M. nigra</i> безбедни за примену.</p>	M-34
	<p>Miljkovic V.M., Nikolic G., Mihajlov-Krstev T., Arsic B., Antibacterial activities of fruits extracts of three mulberry species (<i>Morus alba</i> L., <i>Morus rubra</i> L. and <i>Morus nigra</i> L.) and bilberry (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.), <i>Acta Medica Medianae</i> (2017) in press (DOI број 10.5633/амм.2018.0301).</p>	
	<p><i>Кратак опис садржине (до 100 речи)</i> Тестирана је антимицробна активност метанолних екстраката плодова три врсте дуда (<i>Morus alba</i> L., <i>Morus rubra</i> L., <i>Morus nigra</i> L.) и боровнице (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.) на бактеријским ATCC сојевима грам-позитивних и грам-негативних бактерија, као и на изолатима рана (<i>in vitro</i>). Резултати су показали да је екстракт <i>M. nigra</i> активнији од екстракта <i>M. alba</i> у случају сојева <i>Staphylococcus epidermidis</i> i <i>Proteus mirabilis</i> из изолата ране (MIC / MBC = 62,52 / 125,05 mg/cm³). Екстракт <i>M. alba</i> је при највећој концентрацији показао инхибиторну активност против сојева <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Streptococcus epidermidis</i> и <i>Streptococcus pyogenes</i> (MIC / MBC = 100 mg/cm³).</p>	M-52

Miljković V., Nikolić G., Cekić N., Tasić Kostov M., Formulacije bioaktivnog U/V emulzionog sistema na bazi ekstrakata ploda belog i crnog duda, Tehničko rešenje (M83) – Novi tehnološki postupak, Ev. br. 06-1412/1, 29.08.2016. Tehnološki fakultet, Leskovac. Usvojeno na NNV 26.09.2016. (Odluka br. 04-4/85-XVII).

Кратак опис садржине (до 100 речи)

Развијене су формулације и извршена је оптимизација поступка за израду биоактивних У/В емулзионих система на бази стандардизованих метанолних екстраката плодова *Morus alba* L. и *Morus nigra* L., чије биоактивне компоненте имају научно доказано деловање на кожу без могућих инкомпатибилности. У складу са ЕУ стандардима за израду козметичких производа развијен је поступак који не нарушава фармаколошку активност и биолошко дејство екстраката као активног састојка емулзионог производа, који у свом саставу садрже биоактивне супстанце широког спектра дејства (антиоксидативна, емолијентна, anti-age и антиинфламаторна). Неинвазивном методом биоинжењеринга коже извршено је тестирање формулација креме на кожу испитаника у сагласности са одредбама Етичког комитета. Адекватан поступак израде и релевантне формулације су директно утицали на примену крема у одговарајућем индикацијском подручју, са циљем побољшања физиолошког стања и неге коже.

M-83

НАПОМЕНА: уколико је кандидат објавио више од 3 рада, додати нове редове у овај део документа

ИСПУЊЕНОСТ УСЛОВА ЗА ОДБРАНУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кандидат испуњава услове за оцену и одбрану докторске дисертације који су предвиђени Законом о високом образовању, Статутом Универзитета и Статутом Факултета.

ДА

Образложење

Докторска дисертација Војкана М. Миљковића садржи структурно све делове прописане Статутом Технолошког факултета и Универзитета у Нишу, те је у складу са Законом о високом образовању. Дисертација је написана добрим научним речником, тема дисертације је систематично обрађена и успешно реализована у складу са постављеним циљевима и предвиђеним методама. Текст је логично распоређен, разумљив и читак. Део резултата истраживања спроведених у оквирима научне и стручне проблематике дисертације кандидат је већ објавио у облику два рада у међународним часописима са импакт фактором (M23), као првопотписани аутор једног рада у часопису националног значаја чији је издавач Универзитет у Нишу (M52), путем два саопштења на међународном скупу (M34) и једног техничког решења (M83).

ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кратак опис појединих делова дисертације (до 500 речи)

Докторска дисертација садржи, поред резимеа на српском и енглеском језику, следеће делове: увод, теоријски део, експериментални део, резултате и дискусију, закључак, попис литературе, прилог и биографију са библиографијом.

У уводу је стављен акценат на све актуелнија истраживања врсте рода *Morus*, било да се ради о фитохемијским, биолошким, фармацеутским или технолошким студијама, у циљу њихове ближе карактеризације и формулисања биоактивних производа који могу имати примену у медицинске, фармацеутско-козметичке или прехранбене сврхе. Сви наводи су верификовани адекватном научном литературом. Као један од доприноса ове дисертације, посебно су наглашена истраживања која ниси досад рађена у овој области, а која се односе на студију антимикробне активности агликона екстраката плодова врсте рода *Morus*. Поред прегледа постављених циљева истраживања, као и примењених научних метода, на крају уводног дела је образложен научни допринос дисертације.

У теоријском делу су најпре описани значај и употреба врсте рода *Morus*. Пажња је била усмерена на плод и лист, са освртом на хемијски састав и биолошку активност идентификованих хемијских једињења са потенцијалним или доказаним лековитим својствима. Затим следи опис патогених микроорганизама као узрочника разних болести коже, са прегледом основних карактеристика бактеријских сојева који су тестирани у овим истраживањима. У складу са тим, представљени су одговарајући антимикробни агенси плодова и лишћа врсте рода *Morus*, као и тест антибиотици (гентамицин, доксициклин, ципрофлоксацин и метронидазол) за поређење антимикробне активности. Посебан део овог поглавља је посвећен актуелним фитопрепаратима за поређење примену на кожи, где су дефинисани значај примене и поступци израде биоактивних производа формулисаних са хидрогелима и емулзијама као носачима. На крају поглавља је дат литературни преглед примене разних метода анализе од значаја за постизање постављених циљева дисертације.

Експериментални део детаљно описује начин припреме коришћеног биљног материјала, одговарајућу апаратуру и примењене поступке, као и методе екстракције плодова и лишћа врсте рода *Morus*. Адекватно су представљене све аналитичке методе и коришћени поступци за карактеризацију добијених екстраката (ICP, HPLC-MS, GC-MS, MS-MS), као и одређивање антиоксидативне (UV-VIS) и антимикробне активности биоактивних једињења. Посебно су описани фармацеутско-технолошки поступци на лабораторијском нивоу за израду хидрогела и У/В емулзија са стандардизованим екстрактима врсте рода *Morus*, као фитопрепарата за локалну примену на кожи. Након приказа метода испитивања стабилности и реолошких својстава производа, дат је опис начина извођења студије безбедности примене производа (употребом неинвазивних метода мерења релевантних биофизичких параметара коже) на добровољним испитаницима уз адекватну статистичку обраду података (ANOVA и LSD тест).

Поглавље „Резултати и дискусија“ најпре презентује резултате физичко-хемијске карактеризације и утврђених биолошких својстава екстраката плодова или уља лишћа *Morus alba* L. и *Morus nigra* L. адекватним табеларним и графичким приказима. Потом следи детаљна дискусија о битним параметрима за развој формулација и оптимизацију поступака израде фитопрепарата у форми хидрогела или емулзионог У/В система (креме). У оквиру разраде формулација дискутован је утицај састава и садржаја метанолних екстраката плодова и етарских уља лишћа на карактеристике полуврстних препарата за потенцијалну локалну примену. Део који се односи на сам поступак израде фитопрепарата разматра компатибилност и утицај активних састојака, носача и ексципијенаса на стабилност, органолептичка и реолошка својства од значаја за апликовање на кожу. У циљу дефинисања безбедности примене формулисаних препарата дискутовани су резултати теста једнодневне и седмодневне студије ефеката на биофизичке параметре (EI, EC, TEWL, pH) здраве и вештачки иритиране коже добровољних испитаника, уз сагласност Етичког комитета. Резултати ове студије су указали на бољи безбедоносни профил емулзија са 2% сувим метанолним екстрактом плодова врсте рода *Morus* у поређењу са тестираним узорцима са хидрогелима као носачима. Утврђено је да примењени поступак израде емулзије не нарушава фармако-биолошку активност коришћеног екстракта, који у свом саставу садржи биоактивне супстанце широког спектра дејства (антиоксидативна, емолијентна, anti-age и антиинфламаторна).

У закључку дисертације сумиране су најважније констатације, које се односе на: безбедну употребу испитиваног биљног материјала са аспекта здравствене исправности, ефикасност метанолних екстраката плодова и етарског уља лишћа врсте рода *Morus* са аспекта антиоксидативне и антимикробне активности у поређењу са тест антибиотицима, значај примене агликонске компоненте екстракта плода *Morus nigra* L. која је први пут испитивана у ове сврхе, бољи безбедоносни профил и ефикасност емулзије у односу на хидрогел за локалну примену фитопрепарата на здраву или иритирану кожу, као и примену новоидентификоване супстанце боволид за процену свежине биљног материјала.

Посебан део дисертације се односи на Прилог у коме су презентовани MS-MS спектри скоро свих биоактивних једињења у екстрактима плодова *Morus alba* L. и *Morus nigra* L. Квалитету ове дисертације доприноси и 249 релевантних литературних навода, од којих је велика већина из последње деценије.

ВРЕДНОВАЊЕ РЕЗУЛТАТА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ниво остваривања постављених циљева из пријаве докторске дисертације (до 200 речи)

Предмет овог докторског рада био је развој нових фитопрепарата на бази екстраката плода или етарских уља листа биљних врста рода *Morus* са територије Србије, обзиром да у литератури постоји веома мало података о њиховом фитохемијском саставу и примени као активне компоненте за израду дермокозметичких производа. Због тога су на почетку израде ове дисертације постављени следећи главни циљеви:

- избор оптималне технике екстракције плода и методе изоловања етарских уља из листа биљних врста *Morus alba* L. и *Morus nigra* L. у циљу добијања активних секундарних метаболита за даљу примену,
- карактеризација екстраката плодова и етарских уља листа испитиваних биљних врста рода *Morus* L.,
- одређивање микроелемената у плоду и листу испитиваних биљних врста рода *Morus* L., са акцентом на садржај токсичних елемената у екстрактима ради утврђивања њихове здравствене исправности за примену,
- тестирање антимикробне активности екстраката плода врста рода *Morus* L. против патогених бактерија коже, и других патогених сојева у поређењу са референтним антибиотицима,
- одређивање подручја примене сваког екстракта на основу доказане биолошке активности и разрада одговарајуће формулације фитопрепарата за локалну примену на кожи,
- развој поступка израде производа у форми У/В емулзије или хидрогела за дерматолошку примену,
- тестирање готових производа техникама квантификације биофизичких параметара коже и утврђивање ефекта формулација на кожу здравих испитаника.

Континуалним праћењем спроведених експеримената овог докторског рада, а на основу прочитаног текста докторске дисертације и публикованих радова који садрже резултате истраживања у оквиру дисертације, Комисија констатује да је кандидат успешно остварио све постављене циљеве докторског рада.

Вредновање значаја и научног доприноса резултата дисертације (до 200 речи)

Резултати истраживања постигнути у овом докторском раду представљају оригинални научни допринос проучавању фитохемијског састава плода и листа биљних врста рода *Morus* L. са територије југоисточне Србије, дефинисању фармако-биолошке активности екстракта плода и изолованог уља листа врста *Morus alba* L. и *Morus nigra* L. са циљем примене у фармацеутско-козметичке сврхе, развоју нових формулација и поступака израде фитопрепарата на бази биоактивних принципа врста рода *Morus* L., као и дефинисању ефикасности стандардизованих биоактивних производа на биофизичке параметре здраве или вештачки иритиране коже. Имајући у виду да су врсте рода *Morus* L. постале озбиљан предмет научних истраживања тек у новије време, поред карактеризације и примене екстракта плода, посебна пажња у овој дисертацији је усмерена на анализу састава и биолошку активност етарског уља листа дуда, имајући у виду могућност његове потенцијалне примене у лековите сврхе. Овакав приступ је имао значајан утицај на развој нових фармацеутско-козметичких формулација. Од посебног значаја су резултати истраживања ефеката сушења листа врста рода *Morus* L. на квалитет изолованог етарског уља, при чему је идентификована нова супстанца (Z)-боволид, која се може користити као тест за процену свежине биљног материјала, што је публиковано у међународном часопису категорије M23. Избор адекватне методе и оптимизација процеса добијања екстраката плода допринели су

максималном приносу биоактивних компоненти од значаја за индиковано подручје. Утврђена антимикуробна активност екстракта плода против патогених бактеријских сојева као изазивача инфекција и других кожных обољења дала је допринос развоју комбинованих лековитих формулација, у циљу веће ефикасности и смањења ризика од употребе антибиотика код локалне примене, као и безбеднијег начина лечења. Посебно треба истаћи да су по први пут спроведена испитивања антимикуробне активности агликона екстракта плодова врсте рода *Morus L.*, одакле је изведен закључак да агликон метанолног екстракта *Morus alba L.* поседује већу антимикуробну активност у поређењу са агликоном *Morus nigra L.* на грам-позитивне бактерије, карактеристичних за инфекције коже и настајања акни, што отвара ново поље примене екстракта. Поред научног значаја, потврђена ефикасност производа кроз студије безбедности указује и на јако важан практични допринос развоју и примени нове генерације дермокозметичких препарата за негу како здраве тако и патолошки измењене коже, на шта указују већ публиковани научно-истраживачки резултати.

Оцена самосталности научног рада кандидата (до 100 речи)

Војкан М. Миљковић је показао велику самосталност у формулисању и разради теме докторске дисертације, нарочито након детаљног упознавања са научном литературом из ове области. Сам је одабрао адекватну методу екстракције биљног материјала за максимално искоришћење секундарних метаболита и самостално извршио већи део карактеризације добијених екстраката, о чему сведоче публиковани резултати М23, М52 и М34. Стечено знање из области технолошког инжењерства искористио је за развој фармацеутско-технолошких поступака на лабораторијском нивоу за израду фитопрепарата у форми креме или хидрогела, уз очување фармако-биолошке активности стандардизованих екстраката, што је потврдио техничким решењем из категорије М83. Добијене експерименталне резултате је самостално систематизовао и успешно анализирао, што је олакшало повезивање активности појединих биоактивних једињења са резултатима мерења биофизичких параметара коже. Након студије безбедности и ефеката фитопрепарата на кожу, самостално је изводио научно засноване закључке, као и могућности примене развијених фитопрепарата у одговарајућем индикацијском подручју са практичног аспекта.





ЗАКЉУЧАК (до 100 речи)

На основу изнетих чињеница, Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације предлаже Наставно-научном већу Технолошког факултета у Лесковцу да усвоји овај извештај и одобри одбрану докторске дисертације кандидата Војкана М. Миљковића, под називом „Развој фитопрепарата за дерматолошку примену на бази екстракта плода и листа биљних врста рода *Morus L.* (Moraceae)“.

КОМИСИЈА

Број одлуке ННВ о именовању Комисије НСВ број 8/20-01-005/17-027

Датум именовања Комисије 04.07.2017. године

Р. бр.	Име и презиме, звање		Потпис
1.	др Љубиша Николић, редовни професор	председник	
	Технолошко инжењерство, хемија и хемијске технологије (Научна област)	Универзитет у Нишу, Технолошки факултет у Лесковцу (Установа у којој је запослен)	
2.	др Горан Николић, редовни професор	ментор, члан	
	Технолошко инжењерство, хемија и хемијске технологије (Научна област)	Универзитет у Нишу, Технолошки факултет у Лесковцу (Установа у којој је запослен)	
3.	др Татјана Михајлов-Крстев, ванредни професор	члан	
	Биологија, експериментална биологија и биотехнологија (Научна област)	Универзитет у Нишу, Природно-математички факултет (Установа у којој је запослен)	
4.	др Марија Тасић-Костов, доцент	члан	
	Фармација, фармација-козметологија (Научна област)	Универзитет у Нишу, Медицински факултет (Установа у којој је запослен)	

Датум и место:

12.07.2017. у Лесковцу и Нишу