

ПРИМЉЕНО: 28.01.2013			
Орг. јед.	Број	ПРИЛОГ	ВРЕДНОСТ
03	80/16	-	-

Institut saglasan


НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА У
КРАГУЈЕВЦУ

И

СТРУЧНОМ ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У
КРАГУЈЕВЦУ

**ПРЕДМЕТ: Извештај комисије за оцену и одбрану докторске дисертације
кандидата Владимира Михаиловића**

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу, одржаној 05.12.2012. године (број одлуке 840/X-1) одређени смо у комисију за подношење извештаја о урађеној докторској дисертацији под насловом:

„Секундарни метаболити биљака *Gentiana asclepiadea* L. и *Gentiana cruciata* L. са антибиотичком, антиоксидативном и хепатопротективном активношћу“

кандидата **Владимира Михаиловића**, дипломираног хемичара.

Владимир Михаиловић је Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу поднео рукопис своје докторске дисертације на оцену, у циљу наставка започетог стручног и административног поступка. Чланови комисије су пажљиво, добронамерно и одговорно прегледали понуђени рукопис, проценили научни квалитет дисертације и указали на потребне корекције у сврху повећања квалитета презентације научног материјала и научних резултата. Кандидат је учинио све тражене корекције чиме су се стекли услови да комисија приступи поступку подношења извештаја Наставно-научном већу Природно-математичког факултета у Крагујевцу, следеће садржине:

ИЗВЕШТАЈ

1. Значај и допринос докторске дисертације

Терапија биљкама представља третман који се карактерише употребом биљних лекова у различитим фармацутским производима, без изоловања активних супстанци.

На тржишту се налази велики број лекова који се могу класификовати као фитомедицименти, који укључују екстракте биљака (тинктуре, етарска уља, течне екстракте и боје), као и галенске препарате. Према истраживањима светске здравствене организације 80% популације користи лековите биљке у очувању здравља, а испитивања тржишта лекова такође иду у прилог значају самих природних производа. Тринаест лекова на бази природних производа је уведено у употребу од 2005. до 2007. године, а пет таквих лекова представља прве чланове нових класа лекова. Према томе, употреба природних производа је једна од најуспешнијих стратегија за откривање нових лекова. Судама по досадашњем успеху код проналажења нових лекова, природни производи су погодни и пожељни за наставак истраживања развоја нових комерцијално доступних лекова. Епидемиолошке студије показују да је повећан унос намирница биљног порекла путем исхране повезан са смањењем ризика настајања многих обољења (канцера, кардиоваскуларних промена, неуродегенеративних промена..), што истраживаче мотивише да идентификују и окарактеришу биолошке особине природних производа биљака које се могу употребити у исхрани. Један од основних задатака примене лековитих биљака је одређивање њиховог хемијског састава и количине секундарних метаболита, хемијских једињења која могу бити од великог значаја за медицину, фармацеутску и прехранбenu индустрију.

Посебно место у испитивањима биљака заузимају секундарни метаболити који испољавају антимикуробну активност. Инфективне болести које изазивају бактерије, гљивице, вируси и паразити су и даље главна претња јавном здрављу, упркос огромном позитивном помаку на том плану. Основни разлог трагања за новим антибиотцима је појава смањене осетљивости и резистентности бактерија на комерцијалне антибиотике данас. У том погледу трагање за новим антимикуробним супстанцама се наставља као и испитивања могућих извора антимикуробних супстанци. Поред синтетисаних молекула, природни производи су један од главних извора иновативних терапијских агенаса за различите узрочнике болести, укључујући и инфективне болести. Многе биљке садрже хемијска једињења са антимикуробним особинама. Најпознатија једињења изолована из биљака која поседују антимикуробну активност припадају простим фенолима и фенолним киселинама (кафена киселина, катехол, еугенол), хинонима (хиперицин), флавонима и флавоноидима (катехин, хризин), танинима (пентагалоилглукоза, процијанидин В-2), кумаринима (варфарин, 7-хидроксикумарин), терпенима (ментол, артемисин, капсаицин) и алкалоидима (берберин).

Осим обољења изазваних бактеријским и гљивичним инфекцијама, многе болести настају и као последица оксидативног оштећења ДНК, протеина и других макромолекула у присуству слободних радикала, пре свега реактивних кисеоничних врста (ROS) и реактивних азотових врста (RNS). Међу најреактивније хемијске врсте које доводе до оксидативног оштећења убрајају се слободни радикали, али и нерадикалски облици који се лако конвертују у радикале. Термин “антиоксиданси” не подразумева једну одређену групу једињења сличних по хемијској природи: то је општи назив за све супстанце које могу спречити или значајно смањити оксидацију супстрата. Неензимски антиоксиданси обухватају природне ендogene продукте ћелије, хранљиве егзогене супстанце и синтетичке продукте. Због присуства витамина С, витамина Е, каротина, ксантофила, танина и фенолних једињења (фенолних киселина, полифенола и флавоноида), лековите биљке су често у употреби због њихових антиоксидативних својстава. Природни феноли су најпознатија и највише изучавана једињења изолована из биљака која поседују антиоксидативни капацитет према слободним радикалима, који се нормално производе у организму или настају под дејством екстерних фактора. На молекулском нивоу, полифеноли могу да испољавају своје антиоксидативне особине различитим механизмима, који произилазе из директне реакције са слободним радикалима или хелатизацијом јона метала, који би у даљим реакцијама произвели слободне радикале.

Јетра је најбитнији орган човека који учествује у метаболизму, детоксикацији и екскрецији различитих ендogenих и егзогенних супстанци као што су ксенобиотици. Има веома важну улогу у низу метаболичких, како катаболичких тако и анаболичких процеса, па се назива „централном лабораторијом“ организма. Такође је подложна разним обољењима која укључују: инфекције као што су хепатитис А, Б, Ц и Е, оштећења изазвана алкохолизмом, масне промене јетре, цирозу, канцер и оштећења изазвана лековима (нарочито ацетаминофеном и лековима за терапију канцера). Ризик оштећења јетре различитим токсинима у последње време знатно је у порасту због све веће изложености људи загађивачима из окружења, пестицидима или хемотерапеутицима. Многа једињења, укључујући и корисне лекове, могу изазвати оштећења ћелија јетре током њиховог метаболизма као последица њиховог претварања у високореактивне супстанце и стварања слободних радикала. Иако акутна и хронична обољења јетре представљају глобални проблем, модерна медицина, за сада, нема најадекватнија решења за обољења јетре, терапије које су доступне пружају ограничена решења. Третман стероидним лековима, вакцинама и антивиралним

лековима, у обољењима јетре, пружају слабе терапеутске ефекте, а њихова примена је често повезана са ризиком токсичности ако се примењују хронично или субхронично. Јасно је да постоји потреба за проналажењем нових и алтернативних лекова за третман болести јетре. У том смислу, велики број лековитих биљака се проучава са циљем употребе у лечењу поремећаја функције јетре.

Биљке из рода *Gentiana* популарни су састојци многих биљних препарата и дијететских додатака, а као извор карактеристичне ароме састојци су алкохолних и безалкохолних пића. Различити екстракти *Gentiana* врста су састојци биљних препарата који имају функцију побољшања апетита, регулације дигестивних проблема и побољшања функције јетре. Род *Gentiana* је описан у многим студијама које се односе на фитохемијске и фармаколошке особине овог рода, пре свега засноване на присуству иридоида, секоиридоида, ксантона и флавоноида као главних биоактивних једињења. Секоиридоиди (сверцијамарин, генциопикрин, сверозид и амрогенцин) су горки принципи различитих генцијана који се користе као горки тоници. Генциопикрин, секоиридоид који се у највећој количини налази у *Gentiana* биљкама, описан је као хепатопротективна супстанца која повећава лучење жучи. Сверцијамарин и сверозид су присутни у многим традиционалним лековитим препаратима који поседују хепатопротективну активност. Поред тога ова хемијска једињења показују значајну антибактеријску и антифунгалну активност.

Имајући у виду традиционалну употребу биљака из рода *Gentiana* и фармаколошки значај њихових секундарних метаболита, у оквиру ове докторске дисертације испитана је антимикробна, антиоксидативна и хепатопротективна активност екстраката надземног дела и корена биљака *Gentiana asclepiadea* L. и *G. cruciata* L. Такође, одређена је и количина секоиридоида, мангиферина, укупних фенола, флавоноида и флавонола у екстрактима, у циљу корелације обима биолошке активности са количином секундарних метаболита испитиваних биљака.

2. Оцена оригиналности научног рада

У овој докторској дисертацији приказани су резултати неколико облика биолошке активности метанолских екстраката надземног дела и корена биљака *Gentiana asclepiadea* L. и *G. cruciata* L. у *in vitro* и *in vivo* условима. Применом физико-хемијске HPLC методе одређене су количине биолошки важних секундарних метаболита (генциопикрина, сверозида, сверцијамарина и мангиферина), а

спектрофотометријским методама одређена је количине укупних фенола, флавоноида и флавонола у екстрактима биљака. Квантитативна анализа секундарних метаболита биљака омогућила је утврђивање везе између испољених антимикуробних, антиоксидативних и хепатопротективних активности екстраката и количине присутних секундарних метаболита.

На основу добијених резултата утврђено је:

1. Спектрофотометријско одређивање количине укупних фенола, флавоноида и флавонола је показало да се екстракти надземних делова биљака одликују значајно већом количином укупних фенола, флавоноида и флавонола у односу на екстракте корена. Екстракт надземног дела биљке *G. cruciata* садржи највећу количину укупних фенола (63,61 mg GA/g) и флавоноида (69,45 mg RU/g), док екстракт надземног дела биљке *G. asclepiadea* садржи највећу количину флавонола (36,09 mg RU/g). Садржај појединачних секоиридоида и ксантона мангиферина у екстрактима биљака *G. asclepiadea* и *G. cruciata* одређен је HPLC методом применом DAD детектора. Приликом квантитативне HPLC анализе коришћени су стандарди сверцијамарина, генциопикрина, сверозида и мангиферина. HPLC анализом добијених екстраката утврђено је да се екстракти одликују високим садржајем секоиридоида, док је мангиферин идентификован само у екстракту надземног дела биљке *G. asclepiadea*. Пронађено је да екстракти садрже генциопикрин у највећој концентрацији у опсегу од 19,870 до 155,804 mg/g екстракта. Код свих екстраката су идентификовани сверцијамарин (24,805-2,888 mg/g екстракта) и сверозид (7,064-0,684 mg/g екстракта) у мањим количинама у односу на генциопикрин. Корен испитиваних биљака се одликује значајно већим садржајем ($p < 0,05$) генциопикрина у односу на екстракте надземног дела, при чему је највећа концентрација овог једињења нађена у екстракту корена биљке *G. asclepiadea* (155,804 mg/g екстракта).
2. Испитивани екстракти су показали слабу до умерену антибактеријску активност, при чему се екстракт надземног дела биљке *G. asclepiadea* показао као најефикаснији у заустављању раста испитиваних бактерија са МИС вредностима од 0,2 до 8 mg/mL. Екстракт надземног дела биљке *G. asclepiadea* је показао највиши ниво активности на бактеријске врсте *S. aureus* (ATCC 25923), *E. faecalis* (FSB 24) и *M. lysodeikticus* (ATCC 4698) са МИС вредностима од 0,2 mg/mL. Екстракт надземног дела биљке *G. cruciata* је у испитиваном

опсегу концентрација показао MIC једино за бактеријске врсте *E. faecalis* (ATCC 29212) и *B. subtilis* (FSB 2), са MIC вредностима 8, односно 4 mg/mL. Све испитиване бактеријске културе, као и *C. albicans* испољиле су резистентност на дејство екстракта корена. Екстракти су показали знатно бољу инхибицију развоја гљивица (антифунгалну активност) са мањим MIC вредностима. Најефикаснији утицај на раст *Penicillium* spp., *T. viride* и *A. glaucus* показао је екстракт надземног дела биљке *G. asclepiadea*, док је екстракт корена биљке *G. cruciata* био најефикаснији у дејству на гљиве *T. harzianum* и *F. oxysporum*, са MIC вредностима 0,3125, односно 0,156 mg/mL. Сви испитивани екстракти у опсегу концентрација до 10 mg/mL нису показали способност заустављања раста гљиве *A. niger*.

3. *In vitro* тестирање антиоксидативне активности је показало да екстракт надземног дела биљке *G. asclepiadea* је најактивнији, са најмањим IC₅₀ вредностима код свих примењених метода. Једино у случају испитивања укупног антиоксидативног потенцијала, екстракт надземног дела биљке *G. cruciata* показао је најјаче антиоксидативне способности. У складу са количином укупних фенола, флавоноида и флавонола, екстракти надземног дела испољили су већу антиоксидативну активност и способност неутрализације слободних радикала, што сугерише да су једињења из ове групе у највећем степену заслужна за антиоксидативни потенцијал испитиваних биљака. Већи антиоксидативни потенцијал екстракта надземног дела биљке *G. asclepiadea* од осталих екстраката може се приписати присуству мангиферина, који је идентификован у овом екстракту у концентрацији од (11,441 mg/g), као једињењу са добро познатим антиоксидативним својствима.
4. Испитивање хепатопротективне активности екстраката биљака *G. asclepiadea* и *G. cruciata*, засновано на њиховој традиционалној употреби, показало је да биљке поседују значајну способност заштите јетре од интоксикације угљен-тетрахлоридом. У *in vivo* условима, применом екстраката на пацовима соја Wistar, екстракти су показали, нарочито у количини од 400 mg/kg телесне масе, високу моћ нормализације активности серумских аминотренсфераза и алкалне фосфатазе, при чему је екстракт корена биљке *G. asclepiadea* у највећем степену довео до нормализације ових параметра. Оксидативно оштећење јетре које

изазива CCl_4 , које се огледа у опадању активности CAT и SOD, смањењу концентрације GSH и повишеном нивоу MDA, значајно је смањено применом екстраката, код испитиваних животиња. Резултати добијени испитивањем антиоксидативног статуса јетре и *in vitro* антиоксидативна активност указују да један од механизма хепатопротективног дејства биљака је пут антиоксидативне заштите хепатоцита. Екстракти су показали превенцију стварања промена на ткиву јетре, као што су некроза, фиброза, балон дегенерација хепатоцита, инфилтрација инфламаторних ћелија и макро- и микроваскуларне промене, у значајној мери. Узимајући у обзир анализу параметара крвног серума експерименталних животиња, који указују на оштећење ћелијске мембране хепатоцита, и патолошке промене ткива јетре, екстракти корена су се показали као ефикаснији, сугеришући да су секоиридоиди једињења са највећим доприносом заштите јетре од утицаја хемијске токсичности, ако се има у виду да су процентуално више заступљени у корену него у надземном делу.

Резултати ове докторске дисертације верификовани су публикавањем у облику три научна рада у међународним часописима са SCI листе (два рада из категорије M21 и једног рада из категорије M23) и већег броја саопштења на конференцијама домаћег и међународног значаја.

Из свега наведеног може се закључити да је поднета докторска дисертација кандидата Владимира Михаиловића, дипл. хемичара, резултат оригиналног научног рада из области биохемије метаболита и биохемије биљака.

3. Преглед остварених резултата кандидата у области биохемије

Владимир Михаиловић је до сада постигао значајне резултате из области биохемије метаболита, биохемије биљака и хемије природних производа, штампаних у облику већег броја научних радова и саопштења на међународним и националним научним конференцијама.

3.1. Списак публикованих научних радова:

- 3.1.1. Milan Stanković, Marina Topuzović, Slavica Solujić, **Vladimir Mihailović**.
Antioxidant activity and concentration of phenols and flavonoids in the whole

plant and plant parts of *Teucrium chamaerdys* L. var. *glanduliferum* Haussk, Journal of Medicinal Plants Research 4, 2010, 2092-2098.

ISSN: 1996-0875

IF₂₀₁₀=0,879, Chemistry, Medicinal, 45/54

M₂₃

- 3.1.2. Neda Nićiforović, **Vladimir Mihailović**, Pavle Mašković, Slavica Solujić, Ana Stojković, Dragana Pavlović-Muratspahić, Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants, Food and Chemical Toxicology, 48 (2010), 3125-3130.

ISSN: 0278-6915

doi:10.1016/j.fct.2010.08.007

IF₂₀₁₁=2,999, Food Science & Technology 13/128

M₂₁

- 3.1.3. **Vladimir Mihailović**, Nenad Vuković, Neda Nićiforović, Slavica Solujić, Milan Mladenović, Pavle Mašković, Milan S. Stanković. Studies on the antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils and alcoholic extracts of *Gentiana asclepiadea* L., Journal of Medicinal Plants Research, 5 (2011), 1164-1174.

ISSN: 1996-0875

IF₂₀₁₀=0,879, Chemistry, Medicinal, 45/54

M₂₃

- 3.1.4. Nenad Vuković, Slobodan Sukdolak, Slavica Solujić, **Vladimir Mihailović**, Milan Mladenović, Jelica Stojanović and Milan S. Stanković, Chemical composition and antimicrobial activity of *Teucrium arduini* essential oil and cirsimarin from Montenegro, Journal of Medicinal Plants Research 5, 2011, 1244-1250.

ISSN: 1996-0875

IF₂₀₁₀=0,879, Chemistry, Medicinal, 45/54

M₂₃

- 3.2.5. Milan Mladenović, Mirjana Mihailović, Desanka Bogojević, Sanja Matić, Neda Nićiforović, **Vladimir Mihailović**, Nenad Vuković, Slobodan Sukdolak and Slavica Solujić, *In Vitro* Antioxidant Activity of Selected 4-Hydroxy-Chromene-2-One Derivatives—SAR, QSAR and DFT Studies, International Journal of Molecular Sciences, 12 (2011) 2822-2841.

ISSN: 1422-0067

doi:10.3390/ijms12052822

IF₂₀₁₀=2,279, Chemistry, Multidisciplinary, 41/147

M₂₁

- 3.1.6. Pavle Mašković, Slavica Solujić, **Vladimir Mihailović**, Milan Mladenović, Milica Cvijović Jelena Mladenović, Gordana Aćamović-Đoković, Vladimir Kurćubić, Phenolic compounds and biological activity of *Kitaibelia vitifolia*, Journal of Medicinal Food, 14 (2011) 1617–1623.

ISSN: 1096-620X

doi:10.1089/jmf.2011.0013

IF₂₀₁₁=1,408, Food Science & Technology, 55/128

M₂₂

- 3.1.7. Milan S. Stanković, Neda Niciforović, **Vladimir Mihailović**, Marina Topuzović, Slavica Solujić, Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of different plant parts of *Teucrium polium* L. subsp. *Polium*, Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 81 (2012) 117-122.

ISSN: 0001-6977

doi:10.5586/asbp.2012.010

IF₂₀₁₁=0,360, Plant Sciences, 167/190

M₂₃

- 3.1.8. Milan Mladenović, Mirjana Mihailović, Desanka Bogojević, Nenad Vuković, Slobodan Sukdolak, Sanja Matić, Neda Nićiforović, **Vladimir Mihailović**, Pavle Mašković, Miroslav M. Vrvic, Slavica Solujić. Biochemical and pharmacological evaluation of 4-hydroxychromen-2-ones bearing polar C-3 substituents as anticoagulants, European Journal of Medicinal Chemistry 54 (2012) 144-158.

ISSN: 0223-5234

doi:10.1016/j.ejmech.2012.04.036

IF₂₀₁₁=3.346, Chemistry, Medicinal, 13/59

M₂₁

- 3.1.9. Sanja Matić, Snežana Stanić, Slavica Solujić, Milan Mladenović, **Vladimir Mihailović**, *In vivo* antigenotoxic potential and possible mechanism of action of selected 4-hydroxy-2H-chromen-2-one derivatives, Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 26 (2012) 322–330.

ISSN: 1095-6670

doi: 10.1002/jbt.21426

IF₂₀₁₁=1,380, Biochemistry & Molecular Biology, 236/290

M₂₃

- 3.1.10. **Vladimir Mihailović**, Mirjana Mihailović, Aleksandra Uskoković, Jelena Arambašić, Danijela Mišić, Vesna Stanković, Jelena Katanić, Milan Mladenović, Slavica Solujić, Sanja Matić. Hepatoprotective effects of *Gentiana asclepiadea* L. extracts against carbon tetrachloride induced liver injury in rats, Food and Chemical Toxicology 52 (2013), 83-90.

ISSN: 0278-6915

doi:10.1016/j.fct.2012.10.034

IF₂₀₁₁=2,999, Food Science & Technology 13/128

M₂₁

3.2. **Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M₃₃)**

- 3.2.1. M. Stanković, M. Topuzović, A. Marković, D. Pavlović, S. Solujić, N. Nićiforović and **V. Mihailović**, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of different *Teucrium chamaedrys* L. extracts, Second Balkan Conference on Biology (Plovdiv, Bulgaria, May 21-23, 2010), Biotechnology & Biotechnological Equipment (24) 2010 Special Edition, p. 82-86 (ISBN 1310-2818)

3.3. **Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M₃₄)**

- 3.3.1. T. Milošević, N. Nićiforović, **V. Mihailović**, N. Vuković, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of flowers, leaves and stems of *Cotinus coggygia*, Book of Abstracts of the 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF (Athens, Greece, August 3-8, 2008), Planta Medica, 74 (2008) p. 1194 (ISBN: 0032-0943).
- 3.3.2. **V. Mihailović**, N. Vuković, J. Stojanović, N. Nićiforović, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of the underground parts of *Gentiana asclepiadea*, Book of Abstracts of the 57th International Congress and Annual Meeting of the GA (Geneva, Switzerland, August 16-20, 2009) Planta Medica, 75 (2009), p. 1060 (ISBN: 0032-0943).

- 3.3.3. N. Nićiforović, **V. Mihailović**, M. Mladenović, N. Vuković, M. Stanković, Preliminary determination of biochemical activity of the three plants of the *Echium* genus, Book of Abstracts of the 57th International Congress and Annual Meeting of the GA (Geneva, Switzerland, August 16-20, 2009) *Planta Medica*, 75 (2009), p. 1055 (ISBN: 0032-0943).
- 3.3.4. N. Niciforović, **V. Mihailović**, S. Solujić, D. Pavlović-Muratspahić, In vitro antioxidant activity and tannin content of *Echium italicum* L., Book of Abstracts of the 58th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (Berlin, Germany, 29th August – 2nd September 2010) *Planta Medica*, 76 (2010), p. 1255 (ISBN: 0032-0943).
- 3.3.5. M. Stanković, M. Topuzović, S. Solujić, D. Pavlović, A. Marković, N. Nićiforović, **V. Mihailović**, Total phenol and flavonoid contents of extracts from different plant parts of *Teucrium montanum*, Book of Abstracts of the 58th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (Berlin, Germany, 29th August – 2nd September 2010) *Planta Medica*, 76 (2010), p. 1261-1262 (ISBN: 0032-0943).
- 3.3.6. T. Milošević, C. Argyropoulou, **V. Mihailović**, M. Stanković, S. Solujić, H. Skaltsa, Essential oil of *Centaurea pannonica* (Heufel) Simonkai and antioxidant activity of the methanol extract, Book of Abstracts of the 58th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (Berlin, Germany, 29th August – 2nd September 2010) *Planta Medica*, 76 (2010), p. 1249 (ISBN: 0032-0943).
- 3.3.7. **V. Mihailović**, N. Nićiforović, M. Mladenović, S. Solujić, M. Stanković, Antioxidant activity and phenolic contents of different root extracts of *Gentiana asclepiade* L. Book of Abstracts of the 19th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society (Banja Vrujci, Serbia, 13-15 June 2011), p. 48 (ISBN: 978-86-912591-1-2)
- 3.3.8. M. S. Stanković, M. Topuzović, S. Solujić, N. Nićiforović, **V. Mihailović**, Phenolic content and antioxidant activity of *Teucrium scordium* L. sbsp. *scordium*, Book of Abstracts of the 19th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society (Banja Vrujci, Serbia, 13-15 June 2011), p. 48 (ISBN: 978-86-912591-1-2)

- 3.3.9. **V. Mihailović**, N. Nićiforović, M. Mladenović, S. Solujić, M. Stanković, Antioxidant activity and phenolic content of different extracts of *Gentiana cruciata* L., Book of Abstracts of the 59th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (Antalya, Turkey, 4.-9. September 2011) *Planta Medica*, 77 (2011), p. 1424 (ISBN: 0032-0943)
- 3.3.10. **V. Mihailović**, D. Mišić, S. Solujić, M. Mladenović, M. S. Stanković, HPLC analysis of the secoiridoid glycosides and mangiferin content in methanol extract and its fractions of *Gentiana asclepiadea* L. Roots, Book of Abstracts of the International conference „Medicinal and aromatic plants in generating of new values in 21st century“ (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 9.-12. November 2011), p. 63-64. (ISBN: 978-9958-501-68-50)
- 3.3.11. M. S. Stanković, M. Topuzović, S. Solujić, Z. Dajić-Stevanović, D. Pavlović, G. Đelić, **V. Mihailović**, Population variability in secondary metabolites content of *Teucrium chamedrys* L. from localities in Serbia and Bosnia and Herzegovina, Book of Abstracts of the International conference „Medicinal and aromatic plants in generating of new values in 21st century“ (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 9.-12. November 2011), p. 68. (ISBN: 978-9958-501-68-50)
- 3.3.12. **Mihailović V**, Katanić J, Mihailović M, Šipovac K, Stanković V, Solujić S, Mladenović M, Stanković N, Matić S, Hepatoprotective activity of methanolic extract of root of *Gentiana asclepiadea* L. in carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats, Book of Abstracts of the 32th Balkan Medical Week, 21-23. September 2012. Niš, Serbia
- 3.3.13. Matić S, Stanić S, Solujić S, Stanković N, Mladenović M, Katanić J, **Mihailović V**, Antigenotoxic and antioxidant properties of the methanol extract obtained from the underground parts of *Gentiana cruciata*, Book of Abstracts of the 32th Balkan Medical Week, 21-23. September 2012. Niš, Serbia
- 3.3.14. Matić S, Stanić S, Solujić S, Stanković N, Mladenović M, **Mihailović V**, Comparative analysis of the antigenotoxicity of five selected 4-hydroxy-2H-chromen-2-one derivatives: possible mechanism of action, Book of Abstracts of the 32th Balkan Medical Week, 21-23. September 2012. Niš, Serbia

3.3.15. Šipovac K, **Mihailović V**, Solujić S, Vrvic M, Mladenović M, Antioxidant activity of two species of the *Scrophularia* genus, Book of Abstracts of the 32th Balkan Medical Week, 21-23. September 2012. Niš, Serbia

3.4. Саопштења са скупова од националног значаја штампана у целини (M₆₃)

3.4.1. **V. Mihailović**, N. Nićiforović, S. Solujić, M. Stanković, M. Mladenović, Violeta Ninković, Antioksidativna aktivnost različitih ekstrakata biljke *Gentiana asclepiadea* L., Zbornik radova XVI savetovanja o biotehnologiji (Agronomski fakultet, Čačak, 4-5 mart 2011.), p. 569-574. (ISBN 978-86-87611-15-3)

3.4.2. N. Nićiforović, **V. Mihailović**, M. Mladenović, S. Solujić, M. Stanković, Dragana Ivanović, Antioksidativna aktivnost tri biljne vrste roda *Verbascum*, Zbornik radova XVI savetovanja o biotehnologiji (Agronomski fakultet, Čačak, 4-5 mart 2011.), p. 563-568. (ISBN 978-86-87611-15-3)

3.4.3. M. S. Stanković, M. Topuzović, S. Solujić, N. Nićiforović, **V. Mihailović**, Antioksidativna aktivnost, sadržaj fenolnih jedinjenja i koncentracija flavonoida u ekstraktima biljke *Teucrium polium* L., Zbornik radova XVI savetovanja o biotehnologiji (Agronomski fakultet, Čačak, 4-5 mart 2011.), p. 503-508. (ISBN 978-86-87611-15-3)

4. Оцена испуњености обима и квалитета докторске дисертације у односу на пријављену тему

Планирани обим експерименталног рада, научни и стручни садржај рада као и методолошки приступи у реализацији наведених задатака а који су јасно прецизирани у поступку предлагања теме ове докторске дисертације су у комплетном обиму и реализовани. Постоје и приказан је проширени обим резултата идентификације метаболита, квантификовања метаболичког ефекта екстраката и сумирање услова њихове примене као корисних фармаколошких препарата.

Изузетан квалитет ове докторске дисертације последица је огромног ангажовања кандидата у савладавању и примени нових не само хемијских и физико-хемијских метода већ и метода идентификације метаболита које припадају области медицинске биохемије.

5. Научни резултати поднете докторске дисертације

Научни резултати поднете докторске дисертације публиковани су у оквиру 3 (три) научна рада:

5.1. Neda Nićiforović, **Vladimir Mihailović**, Pavle Mašković, Slavica Solujić, Ana Stojković, Dragana Pavlović-Muratspahić, Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants, *Food and Chemical Toxicology*, 48 (2010), 3125-3130.

ISSN: 0278-6915

doi:10.1016/j.fct.2010.08.007

IF₂₀₁₁=2,999, *Food Science & Technology* 13/128

M₂₁

5.2. **Vladimir Mihailović**, Nenad Vuković, Neda Nićiforović, Slavica Solujić, Milan Mladenović, Pavle Mašković, Milan S. Stanković. Studies on the antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils and alcoholic extracts of *Gentiana asclepiadea* L., *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (2011), 1164-1174.

ISSN: 1996-0875

IF₂₀₁₀=0,879, *Chemistry, Medicinal*, 45/54

M₂₃

5.3. **Vladimir Mihailović**, Mirjana Mihailović, Aleksandra Uskoković, Jelena Arambašić, Danijela Mišić, Vesna Stanković, Jelena Katanić, Milan Mladenović, Slavica Solujić, Sanja Matić. Hepatoprotective effects of *Gentiana asclepiadea* L. extracts against carbon tetrachloride induced liver injury in rates, *Food and Chemical Toxicology* 52 (2013), 83-90.

ISSN: 0278-6915

doi:10.1016/j.fct.2012.10.034

IF₂₀₁₁=2,999, *Food Science & Technology* 13/128

M₂₁

6. Примењивост резултата у теорији и пракси

Резултати приказани у оквиру ове докторске дисертације представљају резултат оригиналног научног рада кандидата у области динамичке биохемије, биохемије

метаболита и биохемије биљака. Приказани резултати ове докторске дисертације, осим очекиваног теоријског помака у испитивању и идентификацији секундарних метаболита биљака као фармаколошких препарата, имају доказану и практичну вредност која потврђује да су наведене биљке примењене као екстракти, у одређеној количини, ефикасни природни антиоксиданси и још важније, ефикасне хепатопротективне смеше, са изразитим ефектом заштите јетре од токсичних хемијских агенаса. Испитивани параметри метаболизма јетре указују на одсуство било какве хепатотоксичности чиме су практично окарактерисани услови примене екстраката ових биљака као природних фармаколошких препарата.

7. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Постигнути резултати ове докторске дисертације имају значајан допринос у испитивању хемијског састава и биолошких активности лековитих биљака са простора Србије. Резултати су дефинисали фармаколошку активност испитиваних биљака и јасно указали на биљке *Gentiana asclepiadea* и *Gentian cruciata* као врсте које имају све предуслове за примену у фармацеутске сврхе, при чему се издваја њихов хепатопротективни потенцијал, а добијени резултати сугеришу да испитивани екстракти могу бити искоришћени за развој дијететских суплемената који имају заштитну улогу очувања функције јетре.

8. Начин презентирања резултата докторске дисертације научној јавности

Научни допринос ове докторске дисертације је верификован објављивањем у облику три научна рада у часописима са SCI листе (два M21 и један M23) и већег броја саопштења на домаћим и међународним конференцијама.

Докторска дисертација написана је на 159 страна и садржи 50 слика, 15 схема, 20 табела и 181 литературних података. Дисертација је подељена на Општи део (1-52), Експериментални део (53-84), Резултате и дискусију (85-137), Закључак (138-142) и Литературу (143-159). Поред тога, дисертација садржи Извод на српском и енглеском језику, приложене радове у којима су публиковани резултати докторске дисертације и биографију кандидата.

Такође, резултати ће бити презентовани и на јавној одбрани докторске дисертације, након прихватања овог извештаја од стране Наставно-научног већа

Природно-математичког факултета и Стручног већа за природно-математичке науке
Универзитета у Крагујевцу.

ЗАКЉУЧАК

Поднети рукопис докторске дисертације кандидата **Владимира Михаиловића**
под насловом:

**„Секундарни метаболити биљака *Gentiana asclepiadea* L. и *Gentiana cruciata* L. са
антибиотичком, антиоксидативном и хепатопротективном активношћу“**

представља оригинални научни рад из области динамичке биохемије, биохемије метаболита и биохемије биљака. Приказани резултати ове докторске дисертације, осим очекиваног теоријског помака у испитивању и идентификацији секундарних метаболита биљака као фармаколошких препарата, имају доказану и практичну вредност која потврђује да су наведене биљке аплициране као екстракти, у одређеној количини, ефикасни природни антиоксиданси и још важније, ефикасне хепатопротективне смеше, са изразитим ефектом регенерације хепатоцита. Резултати контроле метаболизма јетре указују одсуство било какве хепатотоксичности чиме су практично окарактерисани услови примене екстраката ових биљака као природних фармаколошких препарата.

Квалитет научних резултата ове докторске дисертације верификован је њиховом публикацијом у облику **три научна рада** у часописима са SCI листе (**два M21 и један M23**) и већег броја саопштења на домаћим и међународним конференцијама. Сматрамо да су испуњени сви научни, стручни и административни услови за прихватање наведене докторске дисертације као оригиналног научног рада. У том смислу, предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу да кандидату Владимиру Михаиловићу одобри јавну одбрану **докторске дисертације** под насловом:

**„Секундарни метаболити биљака *Gentiana asclepiadea* L. и *Gentiana cruciata* L. са
антибиотичком, антиоксидативном и хепатопротективном активношћу“**

У Крагујевцу

16.01.2013.

КОМИСИЈА

S. Solujic

др Славица Солујић,

-ментор докторске дисертације-
ред. проф. Природно-математичког
факултета у Крагујевцу
научна област: биохемија

Miroslav M. Vrvic

др Мирослав М. Врвић,

ред. проф. Хемијског факултета,
Универзитета у Београду
научна област: биохемија

Mirijana Mijic

др Данијела Мишић,

научни сарадник Института за
биолошка истраживања „Синиша
Станковић“, Универзитета у Београду
научна област: физиологија биљака

L. Israel-Zivkovic

др Лидија Израел-Живковић,

доцент Медицинског факултета,
Универзитета у Београду,
научна област: хемија у медицини