

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

Наставно-научно веће

Предмет: Образложење теме докторске дисертације кандидаткиње Милице Јанков

Тема: Фитохемијски профил и потенцијална биолошка активност листа чуваркуће (*Sempervivum tectorum* L.)

1. Научна област: Аналитичка хемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет научног истраживања предложене докторске дисертације обухвата хемијску карактеризацију, испитивање антиоксидативне, антимикробне и антидијабетске активности екстракта листа чуваркуће. Планирано је поређење резултата добијених за различите екстракте међусобно као и поређење са резултатима који су добијени испитивањем екстракта чуваркуће у меду.

3. Основне хипотезе

Лековите биљке се у народној медицини користе за превенцију или као додатна терапија код различитих болести. Откривањем нових хемијских својстава и биолошких дејстава биљака, традиционална медицина све више добија на значају и користи се као додатак савременој медицини. Чуваркућа је лековита биљка која припада породици сукулентних биљака (*Crassulaceae*) које задржавају велику количину воде у својим листовима. Има широку примену у традиционалној медицини, а добро је позната и на нашим просторима. Наводи се да се уситњено лишће и исцеђени сок из листова користе за спољашњу употребу остварујући позитивне ефекте третирањем различитих промена на кожи као што су улцер, опекотине, брадавице, уједи инсеката као и код инфекције ува директним укапавањем сока. Код инфекције мокраћне бешике, чира на желуцу, лошег варења као и за снижавање високог нивоа шећера у крви, ублажавање менструалних тегоба и подизање имунитета може се користити *per os* у облику чаја, свеже сажваканих листова или у комбинацији са медом, у зависности од стања за које се примењује (Stojković, 2015).

Прегледом литературе утврђено је да је до сада испитан полифенолни профил различитих екстракта чуваркуће који су припремљени различитим методама екстракције, као и садржај укупних фенола и њихова антиоксидативна активност (Stojičević, 2008; Alberti, 2016). До сада, ни у једном научном раду није коришћен већи број узорака чији су екстракти

међусобно класификовани на основу физичких и фитохемијских параметара као ни раздвајање једињења фитохемијског профила добијеног високоефикасном танкослојном хроматографијом. До сада је антимикуробна активност екстракта чуваркуће испитана методом микродилуционог теста, док је антиоксидативна активност испитана спектрофотометријски (Abram et Donko, 1999). У расположивој литератури нема података о испитивању потенцијалних биолошких активности чуваркуће директном биоаутографијом за коју се може претпоставити да би могла бити метода погодна за ефикаснију (бржу и потпунију) анализу и даља испитивања. Садржај укупних и редукујућих шећера одређен је спектрофотометријски (Uzun, 2016). Садржај метала сведен је само на мали број токсичних и неесенцијалних елемената (Szentmihalyi, 2004).

Као једна од традиционалних примена чуваркуће на разним интернет страницама, без помињања у научној литератури, наводи се припрема комбинације меда и свежих, самлевених листова чуваркуће у одговарајућем односу за третман полицистичних јајника (<https://iskramudrosti.com/cuvarkuca-lekovita-svojstva-i-nacin-upotrebe>). Наведено је да се екстракт чуваркуће у меду користи код неких тежих болести за подизање имунитета (Stojković, 2015). Детаљном анализом овог екстракта добили бисмо увид у комплетан полифенолни профил, садржај укупних и редукујућих шећера, садржај метала, као и могућност испољавања потенцијалне биолошке активности (Kalaba, 2019). Претпостављено је да ће бити интересантно да се резултати анализа претходно испитаних листова чуваркуће упореде са резултатима који ће бити добијени за овај екстракт и да се дође до закључка какав ће бити утицај чуваркуће и меда на испољавање антимикуробне, антидијабетске и антиоксидативне активности.

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

Циљ истраживања је систематска фитохемијска карактеризација статистички значајног броја узорак обичне чуваркуће из различитих крајева Србије и одређивање њихове биолошке активности, пре свега антиоксидативне, антимикуробне и антидијабетске. Планирано је да испитивање обухвати различите екстракте листа чуваркуће, њихово међусобно поређење као и поређење са карактеристикама које ће испољавати екстракти припремљени од листа чуваркуће и различитих врста меда. На основу ових резултата, први пут ће бити систематски упоређени узорци чуваркуће различитог регионалног порекла. Такође ће први пут бити одређен фитохемијски профил екстракта чуваркуће у меду који се користи у традиционалној медицини. Од великог значаја биће одређивање профила шећера код чуваркуће као биљке за коју се наводи да се користи за снижавање нивоа шећера у крви, а због могућности *per os* примене веома је важно одредити и садржај макро- и микроелемената.

У складу са постављеним циљевима планирана су следећа истраживања:

Ултразвучна екстракција полифенола из прикупљених различитих узорака осушених листова чуваркуће коришћењем одговарајућег растварача. Применом ултра-високоефикасне течне хроматографије спрегнуте са хибридном масеном спектрометријом (UHPLC-MS) биће раздвојена, идентификована и квантификована фенолна једињења из добијених екстраката. Раздвајање и идентификација фенолних једињења извршиће се и високоефикасном танкослојном хроматографијом (HPTLC) коришћењем погодне мобилне фазе и реагенса за дериватизацију хроматограма. Планирано је да се спектрофотометријски одреди садржај укупних фенолних једињења (TPC) *Folin-Ciocalteu* тестом и садржај укупних флавоноида (TFC). Спектрофотометријски ће бити одређен и антиоксидативни капацитет екстраката DPPH• и ABTS тестом. Антиоксидативна, антимикуробна и антидијабетска активност биће одређена и методом директне биоаутографије, на развијеним HPTLC плочама. Биће идентификован и квантификован садржај великог броја шећера и елемената у испитиваним екстрактима. Овим истраживањима добиће се детаљни подаци о фитохемијским параметрима, антиоксидативној и антимикуробној и антидијабетској активности екстраката чуваркуће.

Након испитивања појединачних узорака осушених листова чуваркуће, спровешће се иста испитивања за екстракт чуваркуће у меду како би се добили карактеристични подаци за ову комбинацију и да би њихове карактеристике могле међусобно да се упореде.

5. Методе истраживања

У оквиру ове докторске дисертације биће коришћене следеће методе у складу са циљевима рада:

- одређивање полифенолног профила коришћењем ултра-високоефикасне течне хроматографије спрегнуте са масеном спектрометријом (UHPLC-MS)
- раздвајање и идентификација полифенола применом високоефикасне танкослојне хроматографије (HPTLC)
- спектрофотометријско одређивање садржаја укупних фенолних једињења (TPC) *Folin-Ciocalteu* тестом
- спектрофотометријско одређивање антиоксидативног капацитета DPPH• и ABTS тестом
- одређивање антиоксидативне, антидијабетске и антимикуробне активности екстраката биоаутографијом са високоефикасном танкослојном хроматографијом (HPTLC)
- одређивање шећера високоефикасном јонском хроматографијом са пулсно-амперометријском детекцијом (HPAEC/PAD)
- одређивање елементалног састава индукованом спрегнутом плазмом са оптичко-емисионом спектроскопском детекцијом (ICP-OES)

- ImageJ програм и хеометријске методе за обраду резултата

6. Литература

Dejan Stojković, Lillian Barros, Jovana Petrović, Jasmina Glamoclija, Celestino Santos-Buelga, Isabel C.F.R. Ferreira, Marina Soković: “Ethnopharmacological uses of *Sempervivum tectorum* L. in southern Serbia: Scientific confirmation for the use against otitis linked bacteria” *Journal of Ethnopharmacology* 176 (2015) 297-304

Saša S. Stojičević, Ivana T. Stanisavljević, Dragan T. Veličković, Vlada B. Veljković, Miodrag L. Lazić: “Comparative screening of the anti-oxidant and antimicrobial activities of *Sempervivum marmoreum* L. extracts obtained by various extraction techniques” *J. Serb. Chem. Soc.* (2008) 73 (6) 597–607

Ágnes Alberti, Eszter Riethmüller, Szabolcs Béni, Ágnes Kéry: “Evaluation of radical scavenging activity of *Sempervivum tectorum* and *Corylus avellana* extracts with different phenolic composition” *Natural Product Communications* (2016) Vol. 11, No. 4 469 – 474

Veronika Abram, Marjan Donko: ”Tentative Identification of Polyphenols in *Sempervivum tectorum* and Assessment of the Antimicrobial Activity of *Sempervivum* L.” *J. Agric. Food Chem.* (1999) 47, 485-489

Yusuf Uzun, Abdullah Dalar, Izabela Konczak: “*Sempervivum davisii*: phytochemical composition, antioxidant and lipase-inhibitory activities“ *Pharmaceutical biology* (2016) vol. 55, no. 1, 532–540

Klara Szentmihalyi, Erzsebet Feher, Peter Vinkler, Agnes Kery, Anna Blazovics: “Metabolic alterations of toxic and nonessential elements by the treatment of *Sempervivum tectorum* extract in a hyperlipidemic rat model” *Toxicologic Pathology* (2004) 32:50–57,

<https://iskramudrosti.com/cuvarkuca-lekovita-svojstva-i-nacin-upotrebe>

Vesna Kalaba, Željko Sladojević, Željka Marjanović Balaban, Dragana Kalaba: “TESTING ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *SEMPERVIVUM TECTORUM*“ *Proceedings of the X International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2019”* Jahorina (2019) ISBN 978-99976-787-2-0, 829-834